



**UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
E PÓS-GRADUAÇÃO**



**PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Genômica comparativa de espécies de *Pectobacterium*
causadoras de podridão mole**

Bárbara Gomes Ribeiro

Recife – PE

2020

BÁRBARA GOMES RIBEIRO

**GENÔMICA COMPARATIVA DE ESPÉCIES DE *Pectobacterium* CAUSADORAS DE
PODRIDÃO MOLE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Marco Aurélio Siqueira da Gama
Coorientadora : Flávia Figueira Aburjaile

RECIFE-PE

SETEMBRO – 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- 484g Ribeiro, Bárbara Gomes
 GENÔMICA COMPARATIVA DE ESPÉCIES DE *Pectobacterium* CAUSADORAS DE PODRIDÃO MOLE /
 Bárbara Gomes Ribeiro. - 2020.
 62 f. : il.
- Orientador: Marco Aurelio Siqueira da .
 Coorientadora: Flavia Figueira Aburjaile.
 Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
 Recife, 2020.
1. Genoma. 2. *Pectobacterium aroidearum*. 3. *P. brasiliense*. 4. *P. carotovorum*. 5. Podridão mole. I. , Marco Aurelio
 Siqueira da, orient. II. Aburjaile, Flavia Figueira, coorient. III. Título

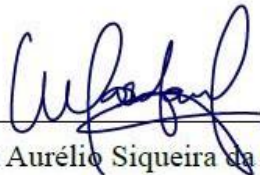
CDD 632

**GENÔMICA COMPARATIVA DE ESPÉCIES DE *Pectobacterium*
CAUSADORAS DE PODRIDÃO MOLE**

BÁRBARA GOMES RIBEIRO

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 17/09/2020.

ORIENTADOR:



Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama (UFRPE)

EXAMINADORES:




Prof.ª Dr.ª Ana Maria Benko Iseppon
Professora Titular, Chefe do Laboratório de
Genética e Biotecnologia Vegetal
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
UFPE/CCG Genética - 50670-901 - Recife, PE

Prof.ª. Dra. Ana Maria Benko Iseppon (UFPE)

Elineide Barbosa de Souza

Prof.ª. Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

**RECFE-PE
SETEMBRO – 2020**

*Aos melhores pais que tenho o prazer de ter
nessa encarnação, Sirly e Rilvo, e ao meu
irmão, jamais trocado na maternidade,
Bernardo. Vocês são a minha fonte de força
e inspiração.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por todo auxílio e carinho para comigo. Nesses dois últimos anos o Senhor caprichou. Trouxe até reforço do plano superior pra ver essa desgarrada prosseguir.

À Sra. Minha mãe, Sirly, e ao Sr. Meu pai, Rilvo, por todo afeto e tempo que dispensaram comigo, sem o apoio de vocês eu nada seria.

Ao Sr. Meu irmão, Bernardo, por me fornecer o seu PC gamer afim de que eu finalizasse minhas análises, e por todo carinho também.

Aos profissionais da saúde que cuidam de mim, Arlinda Martins e Antônio José.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e a Coordenação de Apoio e Pesquisa (CAPES), pela estrutura para realização da pesquisa e concessão de bolsa de estudo, respectivamente.

Ao Prof. Dr. Marco A. S. da Gama e a Profa Dra. Flávia F. Aburjaile pela orientação.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fitopatologia – UFRPE por todos os ensinamentos e amizade.

À Darci, Romildo e todos os funcionários que compõem o PPGF, pela prestatividade e alegria.

Ao Laboratório de Fitobacteriologia, onde pude conhecer mil formas diferentes de contaminar meus crescimentos bacterianos, mas essencialmente onde fiz amigos e cresci profissionalmente nestes anos.

Ao Laboratorio de Genética e Biotecnologia Vegetal, instituição parceira e onde pude conhecer o Grupinho do Café, agradeço a vocês também!.

Aos amigos Karolina, Roberto e Leandro Velez por me auxiliarem diversas vezes neste mundo da bioinformática.

Aos meus queridos amigos Lafibaqueanos, vocês sabem que nesse momento eu não consigo escrever o nome de todo mundo, pois cansaço mental e horas sem dormir, cada um de vocês me ajudou e ensinou muito ao longo destes anos.

À Beatriz Cruz, Bruno Mendes, Maria Gabriela e Pedro Henrique pela amizade e escuta dos meus desabafos.

À Fabienne Vailliau e Fabien Lonjon, por plantarem a semente da fitobacteriologia em 2015.

Ao Jacqueline Colares- Atelier de dança, por ser o recanto de arte e tranquilidade em meu coração.

À Ághata, Jacqueline, Ari e Aninha pela amizade e suporte.

Ao Instituto Espirita Semeadores da Fé e sua equipe, por todo suporte e carinho.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	9
GENERAL ABSTRACT.....	10
CAPÍTULO I.....	11
INTRODUÇÃO GERAL	12
1. Cultivo de hortaliças.....	12
2. Podridão Mole	13
3. Gênero <i>Pectobacterium</i>	14
4. Mecanismos de patogenicidade em espécies de <i>Pectobacterium</i>	20
5. Estudos genômicos no gênero <i>Pectobacterium</i>	22
Referências Bibliográficas.....	26
CAPÍTULO II	38
Abstract.....	39
1.Introduction	40
2. Materials and methods.....	41
2.1. Strains isolation and DNA extraction.....	41
2.2. Whole-genome DNA sequencing, assembly, and annotation	41
2.3. Comparative genomic analysis.....	42
3. Results	43
3.1. Whole-genome DNA sequencing, assembly, and annotation	43
3.2. Comparative genomic analysis	43
3.3. Genomic comparative analyses	45
3.4. Pectinases	47
3.5. Type II secretion system.....	48
3.6. Quorum sensing.....	48
4. Discussion.....	49
5. Conclusion.....	50

Acknowledgements	50
References	50
Supplementary data	55
CONCLUSÕES GERAIS	62

RESUMO GERAL

As podridões moles são consideradas importantes doenças no cultivo de hortaliças e as espécies do gênero *Pectobacterium* são um dos principais agentes causais desta doença. Desde 2017 espécies têm sido constantemente identificadas causando podridão mole em uma variedade de hortaliças no Nordeste do Brasil, como por exemplo *Pectobacterium brasiliense* e *P. aroidearum*. Assim, objetivamos sequenciar, montar, e anotar os genomas de três isolados de *Pectobacterium brasiliense*, um de *P. aroidearum* e um de *P. odoriferum* e realizar análises de genômica comparativa afim de identificar genes responsáveis por fatores de patogenicidade com potencial de determinar vantagem competitiva a infecção em diferentes plantas hospedeiras. As análises de taxonomia genômica confirmaram as identificações realizadas previamente por meio de abordagem polifásica para os três isolados de *P. brasiliense* (CCRMPB15, CCRMPB185 e CCRMPB596) e para o isolado de *P. aroidearum* (CCRMPA174), enquanto o isolado anteriormente identificado como *P. odoriferum* (CCRMPC339) foi identificado como *P. carotovorum*. As análises de genômica comparativa mostraram a conservação entre genes de pectinases, T2SS e quorum sensing, exceto pelo gene *expI*, responsável pela síntese de N-acil homoserina lactona, o qual apresentou relações filogenéticas com porcentagem de bootstrap de 75%. Conclui-se que os isolados apresentam semelhanças a nível de funcionamento de fatores de patogenicidade e talvez a adaptação aos seus respectivos hospedeiros esteja relacionada ao gene de síntese da N-acil homoserina lactona, estudos posteriores de modelagem de proteína poderão favorecer a compreensão de tais diferenças nesta proteína e possíveis relações com as suas plantas hospedeiras. A avaliação destes mecanismos de patogenicidade em espécies de *Pectobacterium* são importantes para desvendar as interações moleculares que guiam a relação patógeno-hospedeiro.

Palavras-chaves: Genoma; *Pectobacterium aroidearum*; *P. brasiliense*; *P. carotovorum*; Podridão mole.

GENERAL ABSTRACT

Soft rot is considered a significant disease in vegetable crops, and species of the genus *Pectobacterium* are among the main causal agents of this disease. Since 2017, species have been constantly identified, causing soft rot in various vegetables in northeastern Brazil, such as *Pectobacterium brasiliense* and *P. aroidearum*. Thus, we aim to sequence, assemble, and annotate the genomes of three isolates of *P. brasiliense*, one of *P. aroidearum* and one of *P. odoriferum* and perform comparative genomics analyses to identify genes responsible for pathogenicity factors with the potential to determine competitive advantage infection in different host plants. The genomic taxonomy analyzes confirmed the previously performed identifications using a polyphasic approach for the three strains of *P. brasiliense* (CCRMPB15, CCRMPB185 and CCRMPB596) and the strain of *P. aroidearum* (CCRMPA174). In contrast, the strain previously identified as *P. odoriferum* (CCRMPC339) was identified as *P. carotovorum*. The comparative genomics analyzes showed conservation of pectinases, T2SS, and quorum sensing genes, except for the *expI* gene, responsible for synthesizing N-acyl homoserine lactone, which presented phylogenetic relationships with a bootstrap percentage of 75%. These strains have similarities in pathogenicity factors, and apparently, the adaptation to their respective hosts is related to the synthesis gene of N-acyl homoserine lactone. Further modeling protein studies may help to understand such differences and possible relationships with their host plants. Evaluating these pathogenicity mechanisms in *Pectobacterium* species is essential to unveil the molecular interactions that guide the pathogen-host relationship.

Keywords: Genome; *Pectobacterium aroidearum*; *P. brasiliense*; *P. carotovorum*; Soft rot. .

CAPÍTULO I

Introdução Geral

GENÔMICA COMPARATIVA DE ESPÉCIES DE *Pectobacterium* CAUSADORAS DE PODRIDÃO MOLE NO ESTADO DE PERNAMBUCO

INTRODUÇÃO GERAL

1. Cultivo de hortaliças

As hortaliças são as fontes mais acessíveis de vitaminas A, B1, B6, B9, C e E, minerais, fibras e fitoquímicos que desempenham importante função na nutrição humana (SEDANI *et al.*, 2019). De acordo com Organização Mundial de Saúde, comer pelo menos 400 g/pessoa/dia, ou cinco porções, de frutas e hortaliças por dia reduz o risco de doenças crônicas, especialmente doenças cardiovasculares, cânceres, diabetes e doenças respiratórias (WHO, 2018).

A produção mundial de hortaliças no ano de 2018 foi de 1,1 bilhões de toneladas, onde a China foi responsável por 50,7% desta produção (FAO *et al.*, 2020). No mesmo ano, o Brasil apresentou uma produção de aproximadamente 9 milhões toneladas de hortaliças (FAO *et al.*, 2020). Estima-se que mais de 100 espécies de hortaliças sejam cultivadas no Brasil e somente no ano de 2016, esta atividade gerou cerca de 2,2 milhões de empregos diretos e uma movimentação financeira de U\$19 bilhões (CNA, 2017).

Toda a cadeia produtiva de hortaliças oferece oportunidades potenciais de trabalho, os principais atraentes são a possibilidade de produção em pequenas áreas de terra, e a obtenção de altos lucros em período relativamente curto de tempo (SCHREINEMACHERS; SIMMONS; WOPEREIS, 2018). Além disso, os baixos níveis de mecanização na produção de hortaliças e a necessidade de manuseio cuidadoso da produção, frequentemente cria uma demanda específica de mão de obra feminina (SCHREINEMACHERS; SIMMONS; WOPEREIS, 2018).

Mesmo diante do imenso potencial socioeconômico e nutricional, o cultivo de hortaliças é uma atividade de alto risco, pois apresenta maior susceptibilidade a problemas fitossanitários, sensibilidade às condições climáticas e instabilidade de preços praticados na comercialização. Além de ser um produto vivo, onde processos fisiológicos ocorrem entre a colheita e consumo podendo resultar na perda de qualidade, o que leva ao descarte ou a redução da aceitação pelo consumidor (SHEWFELT *et al.*, 2014; ZÁRATE *et al.*; 2018).

Em geral, países de baixa renda dependem mais de alimentos básicos e menos de frutas, vegetais e alimentos de origem animal do que os países de alta renda. Apenas a Ásia e países de renda média alta possuem acesso à quantidade recomendada de hortaliças para consumo

humano de acordo com as recomendações da OMS. Uma forma de lidar com a insegurança alimentar é reduzir as perdas pré e pós-colheita em quantidade e qualidade, afim de também reduzir o seu custo. (FAO, 2020).

Apesar do Brasil ser classificado como um país de renda média-alta, cerca de 14,5% da sua população não possui acesso a uma dieta saudável (FAO, 2020). Avaliações de perdas pré e pós colheita na cadeia de produtiva de hortaliças do país atingem até a ordem de 50% (LANA, 2016), podendo ser considerada como fator agravante para inacessibilidade dos brasileiros a uma dieta de qualidade. O manejo das doenças de hortaliças durante a cadeia produtiva é essencial para minizar as perdas, cabe destacar a podridão mole como importante doença no cultivo de hortaliças, sendo as bactérias os principais agentes causais (LOPES; HENZ, 1998).

2. Podridão Mole

A podridão mole é uma doença que pode ocorrer no campo, durante o transporte, armazenamento, ou na fase de comercialização, resultando em perdas econômicas que são estimadas entre 15-30% (AGRIOS, 2005). Os sintomas iniciais da podridão mole são pequenas lesões encharcadas, aumentando rapidamente de dimensão, causando maceração e apodrecimento do tecido parenquimatoso do órgão vegetal afetado (MARIANO *et al.*, 2005).

Esta doença ocorre em vasta distribuição geográfica e é tipicamente vista em caules, frutos e órgãos de armazenamento de plantas, como tubérculos, rizomas e bulbos, podendo apresentar diferentes nomes a depender da área afetada e das características sintomatológicas (AMORIM *et al.*, 2016; MA *et al.*, 2007). A doença adquire o nome de canela preta ao afetar plantas em estágio vegetativo no campo, geralmente acometendo solanáceas. Os ramos apresentam enegrecimento do colo, as folhas mais novas murcham, as mais velhas amarelecem e o caule da planta apresenta-se externamente encharcado e enegrecido, com ou sem fendas longitudinais (AMORIM *et al.*, 2016; MARIANO *et al.*, 2005). Sintomas tardios de canela preta recebem o nome de talo-oco, pois o caule se encontra vazio (MARIANO *et al.*, 2005). Além destes, outros sintomas menos comuns podem ser vistos como requeimas, cancos, manchas foliares, murchas, descoloração de tecidos vegetais e nanismo (GARRITY *et al.*, 2005)

O surgimento da podridão mole é favorecido por temperaturas entre 25°C a 35°C e condições de umidade próximas a 100% (MARIANO *et al.*, 2005). Entre as principais medidas de controle da doença destacam-se o uso de sementes certificadas, escolha de área com boa drenagem, plantios não adensados, evitar o plantio em períodos chuvosos, eliminar restos

culturais, realizar rotação de culturas no intervalo de três a quatro anos, e evitar ferimentos na planta durante os tratamentos culturais e a colheita (LOPES; HENZ, 1998; MARIANO *et al.*, 2005).

Embora múltiplos gêneros bacterianos possam deteriorar hortaliças e gerar sintomas de podridão mole, como *Bacillus* Cohn, *Burkholderia* Yabuuchi *et al.*, *Clostridium* Prazmowski, *Enterobacter* Hormaeche & Edwards, *Klebsiella* Trevisan, *Leuconostoc* van Tieghem, *Pantoea* Gavini *et al.* e *Pseudomonas* Migula, os agentes causais mais conhecidos pertencem aos gêneros *Pectobacterium* Waldee e *Dickeya* Samson *et al.* (CHARKOWSKI, 2018).

No Brasil, o gênero *Dickeya* foi detectado no ano de 2014 associada à batata (*Solanum tuberosum* L.) no estado de Minas Gerais, e em 2017 causando sintomas de cancro em macieiras (*Malus pumila* Mill.) no estado de Santa Catarina (CARDOZA *et al.*, 2017; OGOSHI *et al.*; 2019), no entanto espécies do gênero *Pectobacterium* têm sido detectadas nas mais diversas regiões do país associadas a sintomas de podridão mole e canela preta em batatas e outras hortaliças (KIMATI *et al.*, 2005; BARROSO *et al.*, 2019; DUARTE *et al.*, 2004; MORAES *et al.*, 2017).

3. Gênero *Pectobacterium*

Pectobacterium é um gênero membro do Filo Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria. As espécies do gênero são Gram negativas, pectinolíticas e que atuam de forma saprofítica (ADEOLU *et al.*, 2016). Apresentam formato de bastonete, com cerca de 0,5 a 1,0 µm de largura por 1,0 a 3,0 µm de comprimento (GARRITY *et al.*, 2005). Compreende bactérias anaeróbicas facultativas, com temperaturas ideais de crescimento em torno de 30°C a 37°C e móveis por flagelos peritríquios (GARRITY *et al.*, 2005). Apresentando ampla gama de hospedeiros e vasta distribuição geográfica, sendo capaz de causar doenças em 35% das espécies de angiospermas (MA *et al.*, 2007)

Este gênero foi proposto em 1942, a fim de abrigar as bactérias pectinolíticas da então família Enterobacteriaceae, classificadas previamente no gênero *Erwinia* Winslow *et al.*. Apenas em 1980 *Pectobacterium* figurou na Approved Lists of Bacterial Names (SKERMAN; MCGOWAN; SNEATH, 1980; WALDEE, 1942). Apesar da nomenclatura aprovada, a comunidade científica não adotou seu uso, continuando as classificações dentro do gênero *Erwinia*. Em 1998, estudo baseado na comparação e reconstrução filogenética de sequências do gene ribossomal (rDNA) 16S propôs a reclassificação dos fitopatógenos enterobacteriáceos, (HAUBEN *et al.*, 1998), o que posteriormente levou a aceitação do gênero *Pectobacterium* pela

comunidade científica.

Nas últimas décadas a taxonomia de *Pectobacterium* tem sofrido alterações em função do desenvolvimento e popularização de técnicas moleculares e genômicas (HAYASHI SANT'ANNA *et al.*, 2019; PORTIER *et al.*, 2019; ZHANG; FAN; LORIA, 2016). A comunidade científica vem entrando em consenso a respeito dessas modificações (PARTE, 2018). Em 2016 ocorreu a reavaliação da ordem Enterobacteriales baseada na identificação de inserções/deleções (*indels*) de assinaturas genômicas conservadas e análises filogenéticas, levando à proposição da criação da ordem Enterobacterales Adeolu *et al.* e outras sete famílias (ADEOLU *et al.*, 2016). O gênero *Pectobacterium*, anteriormente pertencente à família Enterobacteriaceae Rahn, passou a compor a família Pectobacteriaceae Adeolu *et al.* juntamente aos gêneros *Brenneria* Hauben *et al.*, *Dickeya*, *Lonsdalea* Brady *et al.* e *Sodalis* Dale & Maudlin diferenciando-se das demais famílias por quatro *indels* conservados nos genes do ativador transcricional de *RhaS*, da proteína motora flagelar MotB, do sensor da proteína histidina quinase de dois componentes e de uma proteína hipotética (ADEOLU *et al.*, 2016).

Atualmente existem 17 espécies reconhecidas de *Pectobacterium* e ainda em processo de aceitação pelo Comitê ad hoc encontram-se duas espécies: "*Pectobacterium peruvienne*" Waleron *et al.* e "*Pectobacterium zantedeschiae*" Waleron *et al.* (Tabela 1) (PARTE, 2018, WALERON *et al.*, 2018; WALERON *et al.*, 2019a), ambas possuem genomas disponíveis no National Center for Biotechnology Information Search database (NCBI, 2020).

Os primeiros relatos de *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee, foram baseados em técnicas de fenotipagem, e não apresentavam informações suficientes para distinguir as espécies com segurança (CHARKOWSKI, 2018; NABHAN *et al.*, 2013). Assim, a espécie *P. carotovorum* serviu por muito tempo como uma nomenclatura generalista para isolados de bactérias pectinolíticas que diferiam das descrições específicas dos outros táxons do gênero (CHARKOWSKI, 2018; NABHAN *et al.*, 2013). Nesse contexto, a espécie tornou-se conhecida por sua ampla gama de hospedeiros e elevada heterogeneidade, que veio a ser compreendida com as técnicas de genômica comparativa, baseadas em análises de identidade média de nucleotídeos (ANI) e hibridização DNA-DNA in silico (isDDH) e filogenia genômica (CHARKOWSKI, 2018; LI *et al.*, 2018; PORTIER *et al.*, 2019, ZOLEDOWSKA *et al.*, 2018). Recentemente, isolados de *P. carotovorum* foram reclassificados em novas espécies como *Pectobacterium aroidearum* Nabhan *et al.*, "*P. peruvienne*", *Pectobacterium polaris* Sarfraz *et al.* e *Pectobacterium versatile* PORTIER *et al.*, bem como as suas subespécies foram elevadas ao nível de espécie, a saber: *Pectobacterium actinidiae* Portier *et al.*, *Pectobacterium brasiliense* Portier *et al.* e *Pectobacterium odoriferum* (Gallois *et al.*) Portier *et al.* (PORTIER

et al., 2019; ZHANG; FAN; LORIA, 2016).

Tabela 1. Lista das espécies do gênero *Pectobacterium* e respectivas origens de isolamento. As espécies ainda não reconhecidas pelo Comitê Internacional de Sistemática de Procariotas encontram-se delimitada por aspas

Espécie	Hospedeiro		Referência
	Nome comum	Nome científico	
<i>Pectobacterium actinidiae</i> Portier <i>et al.</i>	Kiwi	<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	PORTIER <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium aquaticum</i> Pédrón <i>et al.</i>	Água de rio	Sul da França	PÉDRON <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium aroidearum</i> Nabhan <i>et al.</i>	Copo-de-leite	<i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Spreng.	NABHAN <i>et al.</i> , 2013
	Abacate	<i>Persea americana</i> Mill.	
	Ornithogalo	<i>Ornithogalum dubium</i> Houtt.	
	Cana-de-açúcar	<i>Saccharum</i> L.	
<i>Pectobacterium atrosepticum</i> (van Hall) Gardan <i>et al.</i>	Batata	<i>Solanum tuberosum</i> L.	GARDAN <i>et al.</i> , 2003
	Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> L.	GARDAN <i>et al.</i> , 2003
<i>Pectobacterium brasiliense</i> Portier <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	PORTIER <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium cacticida</i> corrig. (Alcorn <i>et al.</i>) Hauben <i>et al.</i>	Cacto	<i>Carnegiea gigantea</i> Britton & Rose	HAUBEN <i>et al.</i> , 1998
<i>Pectobacterium carotovorum</i> (Jones) Waldee	Cenoura	<i>Daucus carota</i> L.	PORTIER <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium fontis</i> Oulghazi <i>et al.</i>	Nascente de um rio	Malásia	OULGHAZI <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium odoriferum</i> (Gallois <i>et al.</i>) Portier <i>et al.</i>	Chicória	<i>Cichorium intybus</i> L.	PORTIER <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium parmentieri</i> Khayi <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	KHAYI <i>et al.</i> , 2016
<i>Pectobacterium parvum</i> Pasanen <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	PASANEN <i>et al.</i> , 2020
<i>Pectobacterium polaris</i> Dees <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	DEES <i>et al.</i> , 2017
<i>Pectobacterium polonicum</i> Waleron <i>et al.</i>	Campos de produção de hortaliças	Polônia	WALERON <i>et al.</i> , 2019b
<i>Pectobacterium punjabense</i> Sarfraz <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	SARFRAZ <i>et al.</i> , 2018
<i>Pectobacterium versatile</i> Portier <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	PORTIER <i>et al.</i> , 2019
<i>Pectobacterium wasabiae</i> (Goto & Matsumoto) Gardan <i>et al.</i>	Wasabi	<i>Eutrema japonicum</i> (Miq.) Koidz.	GARDAN <i>et al.</i> , 2003
" <i>Pectobacterium peruviense</i> " Waleron <i>et al.</i>	Batata	<i>S. tuberosum</i>	WALERON <i>et al.</i> , 2018
" <i>Pectobacterium zantedeschiae</i> " Waleron <i>et al.</i>	Copo-de-leite	<i>Z. aethiopica</i>	WALERON <i>et al.</i> , 2019a

A espécie *P. brasiliense* PORTIER *et al.* foi inicialmente descrita no Brasil em 2004 como principal agente causal da canela preta em batateira, no estado do Rio Grande do Sul (DUARTE *et al.*, 2004a). Posteriormente, esta espécie surgiu como um problema global com relatos de ocorrência, até julho de 2020, em 31 países distribuídos na África, América, Ásia, Europa e Oceania atingindo as mais diversas espécies vegetais de interesse agrícola, ornamental

e plantas nativas sem interesse agrícola (Tabela 2). Na literatura, este táxon já foi identificado como *E. carotovora* subsp. *brasiliensis* (DUARTE *et al.*, 2004a) acompanhando a mudança de nomenclatura de gênero, sendo reclassificado como *P. carotorum* subsp. *brasiliensis* (EL TASSA; DUARTE, 2006; MA *et al.*, 2007). Após uma descrição completa oficial ocorrer em 2012, o táxon passou ser identificado com epíteto específico modificado, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* (NABHAN *et al.*, 2012). Os dois epítetos foram utilizados simultaneamente, apesar disto nenhuma das nomenclaturas figurou em uma lista de nomes validados (PARTE, 2018). Apenas em 2019, na presença de uma caracterização polifásica e do uso de métricas genômicas como ANI e isDDH adquiriu o status de espécie e foi reconhecido na Approved Lists of Bacterial Names (PARTE, 2018; PORTIER *et al.*, 2019).

Tabela 2. Países onde a espécie *Pectobacterium brasiliense* já foi detectada causando doenças em plantas segundo a literatura

País	Hospedeiro		Referência
	Nome comum	Nome científico	
África do Sul	Batata	<i>Solanum tuberosum</i> L.	NGADZE <i>et al.</i> , 2012
Alemanha		não informado	DE BOER; LI; WARD, 2012
Algéria	Batata	<i>S. tuberosum</i>	NAAS <i>et al.</i> , 2018
Áustria	Abóbora	<i>Cucurbita pepo</i> L. subsp. <i>pepo</i> var. <i>styriaca</i> Greb.	GOTTSBERGER; HUSS, 2016
Bélgica		não informado	DE BOER; LI; WARD, 2012
Brasil	Abobrinha	<i>Cucurbita pepo</i> L.	MORAES <i>et al.</i> , 2017
	Batata	<i>S. tuberosum</i>	DUARTE <i>et al.</i> , 2004
	Couve	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> DC.	QUEIROZ <i>et al.</i> , 2017
	Couve Chinesa	<i>Brassica pekinensis</i> (Lour.) Rupr.	QUEIROZ, 2018
Canadá	Batata	<i>S. tuberosum</i>	DE BOER; LI; WARD, 2012
China	Batata	<i>S. tuberosum</i>	ZHAO <i>et al.</i> , 2018
	Pepino	<i>Cucumis sativus</i> L.	MENG <i>et al.</i> 2017
	Pimenta	<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>grossum</i> Sendt.	SHE <i>et al.</i> , 2017
	Rabanete	<i>Raphanus sativus</i> L.	LIU <i>et al.</i> , 2019
	Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	WANG <i>et al.</i> , 2017
Colômbia	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	JARAMILLO; HUERTAS; GÓMEZ, 2017
Coreia do Sul		<i>Amaranthus</i> spp. L.	JEE <i>et al.</i> , 2018
	Batata	<i>S. tuberosum</i>	LEE <i>et al.</i> , 2014

	Beringela	<i>Solanum melongena</i> L.	LEE <i>et al.</i> , 2014
		<i>Chrysanthemum</i> L.	LEE <i>et al.</i> , 2014
	Couve Chinesa	<i>B. pekinensis</i>	LEE <i>et al.</i> , 2014
		<i>Nepenthes</i> L.	LEE <i>et al.</i> , 2014
	Tomate	<i>S. lycopersicum</i>	LEE <i>et al.</i> , 2014
Estados Unidos	Batata	<i>S. tuberosum</i>	MCNALLY <i>et al.</i> , 2017
	Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> L.	SECOR <i>et al.</i> , 2016
	Tomate	<i>S. lycopersicum</i>	ROSSKOPF; HONG, 2016
França		não informado	VAN DER WOLF <i>et al.</i> , 2017
Havaí	Batata	<i>S. tuberosum</i>	ARIZALA <i>et al.</i> , 2020
Índia	Batata	<i>S. tuberosum</i>	NGADZE <i>et al.</i> , 2012
Israel	Batata	<i>S. tuberosum</i>	MA <i>et al.</i> , 2007
		<i>Malva nicaeensis</i> All.	TSROR <i>et al.</i> , 2019
Itália	Alcachofra	<i>Cynara Cardunculus</i> var. <i>scolymus</i> (L.) Fiori	CARIDDI; BUBICI, 2016
	Tomate	<i>S. lycopersicum</i>	CARUSO <i>et al.</i> , 2016
Japão	Batata	<i>S. tuberosum</i>	FUJIMOTO <i>et al.</i> , 2017
Marrocos	Batata	<i>S. tuberosum</i>	OULGAZHI <i>et al.</i> , 2020
México	Cacto	<i>Neobuxbaumia tetetzo</i> (Coul.) Backeb.	MEJÍA-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2019
Nova Zelândia	Batata	<i>S. tuberosum</i>	PANDA <i>et al.</i> , 2012
Países Baixos	Batata	<i>S. tuberosum</i>	LEITE <i>et al.</i> , 2014
Peru		não informado	DE BOER; LI; WARD, 2012
Polônia	Batata	<i>S. tuberosum</i>	WALERON <i>et al.</i> , 2015
	Beterraba	<i>B. vulgaris</i>	WALERON <i>et al.</i> , 2015
	Couve	<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i>	WALERON <i>et al.</i> , 2015
	Pepino	<i>C. sativus</i>	WALERON <i>et al.</i> , 2015
Quênia	Batata	<i>S. tuberosum</i>	ONKENDI <i>et al.</i> , 2014
Reino Unido	Batata	<i>S. tuberosum</i>	DE BOER; LI; WARD, 2012
Rússia	Batata	<i>S. tuberosum</i>	VORONINA <i>et al.</i> , 2019
Sérvia	Abobrinha	<i>C. pepo</i>	ZLATKOVIC <i>et al.</i> , 2019
	Melancia	<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	ZLATKOVIC <i>et al.</i> , 2019
Suíça	Batata	<i>S. tuberosum</i>	DE WERRA <i>et al.</i> , 2015
Turquia	Batata	<i>S. tuberosum</i>	OZTURK; AKSOY, 2016
Venezuela	Pimenta	<i>Capsicum annuum</i> L.	GILLIS <i>et al.</i> 2017
Zimbábue	Batata	<i>S. tuberosum</i>	NGADZE <i>et al.</i> , 2012

P. aroidearum foi proposta como espécie em 2013, a partir da reclassificação de isolados que eram principalmente, porém não exclusivamente, obtidos de lesões de podridão mole em plantas monocotiledôneas (GARDAN *et al.*, 2003; NABHAN *et al.*, 2013). A espécie já foi identificada na África do Sul, Israel, Brasil, China, Jamaica, Líbano e Zimbábue (Tabela 3) (MORAES *et al.*, 2017; MORETTI *et al.*, 2016; NABHAN *et al.*, 2013; XIE *et al.*, 2018).

Tabela 3. Países onde a espécie *Pectobacterium aroidearum* já foi detectada causando doenças em plantas segundo a literatura

País	Hospedeiro		Referência
	Nome comum	Nome Científico	
África do sul	Copo-de-leite	<i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Spreng.	NABHAN <i>et al.</i> , 2013
Brasil	Abobrinha	<i>Cucurbita pepo</i> L.	MORAES <i>et al.</i> , 2017
	Alface	<i>Lactuca sativa</i> L.	BARROSO <i>et al.</i> , 2019
China	Couve chinesa	<i>Brassica pekinensis</i> (Lour.) Rupr.	BARROSO <i>et al.</i> , 2019
	Pimenta	<i>Capsicum annuum</i> L.	MORAES <i>et al.</i> , 2020
		<i>Amorphophallus konjac</i> K. Koch	WEI <i>et al.</i> , 2019
China	Couve chinesa	<i>B. pekinensis</i>	XIE <i>et al.</i> , 2018
	Singônio	<i>Syngonium podophyllum</i> Schott	XU <i>et al.</i> , 2020
Israel	Abacate	<i>Persea americana</i> Mill.	NABHAN <i>et al.</i> , 2013
	Ornithogalo	<i>Ornithogalum dubium</i> Houtt.	NABHAN <i>et al.</i> , 2013
Jamaica	Cana-de-açúcar	<i>Saccharum</i> L.	NABHAN <i>et al.</i> , 2013
Líbano	Batata	<i>Solanum tuberosum</i> L.	MORETTI <i>et al.</i> , 2016
Zimbábue	Batata	<i>S. tuberosum</i>	NABHAN <i>et al.</i> , 2013

Levantamentos realizados no ano de 2007 em regiões produtoras de hortaliças folhosas do estado de Pernambuco, nas mesorregiões da Zona da Mata e do Agreste, indicaram *P. carotovorum* como único agente causal da podridão mole, apresentando prevalência de 42.9% e 100% em campos de cultivo de alface (*Lactuca sativa* L.) e couve chinesa (*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr.), respectivamente (SILVA *et al.*, 2007). No entanto, desde 2017, com o emprego de técnicas moleculares robustas e novas coletas realizadas no estado, outras espécies têm sido constantemente identificadas, como *P. brasiliense*, encontrada causando podridão mole em abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) (MORAES *et al.*, 2017) e em couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) (QUEIROZ *et al.*, 2017) e *P. aroidearum*, detectada em abobrinha, alface, couve-chinesa e pimenta (*Capsicum annuum* L.), determinando assim o caráter emergente destes patógenos em Pernambuco (BARROSO *et al.*, 2019; MORAES *et al.*, 2017, 2020).

A ampla gama de hospedeiros vegetais das espécies de *Pectobacterium*, bem como a sua vasta distribuição geográfica impulsionou uma variedade de estudos afim de compreender a capacidade adaptativa e os mecanismos de patogenicidade que tornam estas bactérias tão destrutivas e relevantes para a agricultura (LI *et al.*, 2018; TOTH *et al.*, 2003).

4. Mecanismos de patogenicidade em espécies de *Pectobacterium*

Os principais fatores de virulência são as exoenzimas degradadoras de parede celular, secretadas pelo sistema de secreção tipo II (T2SS) que são produzidas em níveis altos durante o processo de infecção (CHARKOWSKI *et al.*, 2012; TOTH *et al.*, 2003). Dentre essas enzimas destacam-se as pectinases, as quais degradam as substâncias pécticas presentes na lamela média, componente da parede primária da célula vegetal, por meio da hidrólise das ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica da pectina (AGRIOS, 2005; VORAGEN *et al.*, 2009). Por sua vez, o tecido macerado apresenta alta pressão osmótica resultando na liberação de água para os espaços intercelulares, causando a plasmólise, colapso e morte das células vegetais. Enquanto as células bacterianas continuam a se multiplicar nos espaços intercelulares, as exoenzimas atuam sobre o tecido sadio o preparando para uma nova invasão (AGRIOS, 2005). As pectinases encontradas no gênero *Pectobacterium* são rhamnogalacturonan hidrolases, pectina metil esterase, pectina acetil esterase, poligalacturonases, pectina liase, pectato liase e poligalacturonase (DUBEY *et al.*, 2016; TOTH *et al.*, 2003). Pectato liases são as principais pectinases envolvidas na patogênese e assim como outras exoenzimas seu número varia entre espécies e isolados da mesma espécie (TOTH *et al.*, 2003).

Neste contexto, o mecanismo de *quorum sensing* (QS), responsável pela regulação da expressão de genes bacterianos em função da alta densidade de células bacterianas, é essencial para ativar o arsenal enzimático de *Pectobacterium* spp (CHARKOWSKI *et al.*, 2012; PÖLLUMAA; ALAMÄE; MÄE, 2012). Dois sistemas de QS especificados pela natureza dos sinais químicos foram detectados em *Pectobacterium* spp. (ABISADO *et al.*, 2018).

O primeiro sistema de QS é dependente de N-acil homoserina lactona (AHL). Ele foi descoberto na década de 1960 controlando o efeito de bioluminescência na associação simbiótica da bactéria *Aliivibrio fischeri* (Beijerinck) Urbanczyk *et al.* e a lula *Euprymna scolopes* Berry (ABISADO *et al.*, 2018) Em condições de alta densidade celular *A. fischeri* ativa a bioluminescência através de duas proteínas, LuxI é uma molécula sinal que produz N-

3-oxo-hexanoil-homoserina lactona (3OC6- HSL), e se liga a proteína LuxR, um fator de transcrição ativador da expressão do óperon que contém os genes da bioluminescência (ABISADO *et al.*, 2018).

Pectobacterium spp. foi a primeira fitobactéria a ter o QS dependente de AHL identificado (JONES *et al.*, 1993). As moléculas sinalizadoras são N-(3-oxo-octanoil)-L-homoserina lactona (3-oxo-C8-AHL) e 3-(oxo-hexanoil)-L-homoserina lactona (3-oxo-C6-AHL) codificadas pelo gene *expI*, homólogo do gene *LuxI* presente em *A. fischeri*, e detectadas pelas proteínas ExpR1 e ExpR2. Para que haja uma resposta em cadeia, a primeira proteína liga-se apenas a 3-oxo-C6-AHL e a segunda liga-se as duas moléculas (CHARKOWSKI *et al.*, 2012; CHATTERJEE *et al.*, 2005). A presença de genes codantes para ExpR2 é variável nas cepas de *Pectobacterium* (PÖLLUMAA; ALAMÄE; MÄE, 2012).

O segundo sistema de QS é dependente da molécula autoindutora AI-2, descoberto na bactéria marinha *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk) Baumann *et al.*, cuja atividade de bioluminescência é dependente da síntese da molécula AI-2, produzida pela enzima LuxS (COULTHURST *et al.*, 2006). Em *Pectobacterium* spp. a ausência do gene homólogo a *LuxS*, não afeta a virulência dos isolados, porém reduz a sua mobilidade e a produção de exoenzimas (COULTHURST; LILLEY; SALMOND, 2006), no entanto a inativação do gene *expI* resulta na diminuição considerável da produção de enzimas pectinolíticas e por consequência torna os isolados avirulentos (PÖLLUMAA; ALAMÄE; MÄE, 2012).

Outros fatores que colaboram diretamente na virulência dos indivíduos deste gênero, porém apresentam maior ou menor importância, a depender das espécies sendo: a produção de celulases, proteases, lipopolissacarídeos, flagelina, mobilidade, sideróforos, sistemas de secreção do tipo III, IV e VI, bem como os sistemas CRISPR/CAS, os quais estão envolvidos na imunidade adaptativa destas bactérias (COULTHURST; LILLEY; SALMOND, 2006; EVANS *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2018).

Vários estudos foram realizados afim de desvendar os fatores de virulência e patogenicidade de *Pectobacterium* spp. (CHARKOWSKI *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2018; TOTH *et al.*, 2003). A associação de técnicas de sequenciamento do DNA, e a caracterização genômica nestes estudos, tem possibilitado reconhecer diversas enzimas degradadores da parede celular, sistemas de regulação gênica, sistemas de secreção e mecanismos de defesa bacteriana (CHARKOWSKI *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2018; TOTH *et al.*, 2003).

5. Estudos genômicos no gênero *Pectobacterium*

O sequenciamento do DNA é o processo pelo qual se determina a ordem dos nucleotídeos de uma determinada cadeia de polinucleotídeos do DNA, em termos simples consiste na “leitura do DNA” (VILGIS; DEIGNER, 2018). A primeira geração de tecnologias de sequenciamento foi marcada pelos métodos de Maxam-Gilbert (MAXAM; GILBERT, 1977) e o Método de Sanger (SANGER; COULSON, 1975). O método de Maxam-Gilbert por ser laborioso foi gradualmente sendo substituído pelo Método de Sanger (WONG *et al.*, 2019).

No entanto, a demanda por alto rendimento e menor tempo de sequenciamento levou ao surgimento da segunda geração, também conhecida como sequenciamento de última geração, marcada por métodos capazes de sequenciar várias amostras em paralelo, fornecer alto rendimento a um baixo custo, e gerar dados com alto nível de cobertura apresentando alta confiança estatística (VILGIS; DEIGNER, 2018; WONG *et al.*, 2019). Os sistemas Roche 454 (MARGULIES *et al.*, 2005), Illumina (BENTLEY *et al.*, 2008), SOLiD (VALOUEV *et al.*, 2008) e o sistema Ion Torrent (ROTHBERG *et al.*, 2011) são exemplos de tecnologias de última geração.

O conhecimento das sequências de DNA é obrigatório ou pelo menos útil em quase qualquer área da pesquisa biológica (VILGIS; DEIGNER, 2018). A genômica é uma ferramenta indispensável no estudo do gênero *Pectobacterium*, tanto no esclarecimento da sua taxonomia, quanto na compreensão de como este patógeno se adapta no ambiente, e de qual forma suas variadas espécies são capazes de causar doenças em plantas (TOTH *et al.*, 2015). Nesse contexto, o sequenciamento genômico de última geração permite análises estruturais, funcionais e comparativas, que esclarecem como procariotos se adaptaram para explorar uma enorme diversidade de hospedeiros, tecidos de plantas e ambientes (NIEMI *et al.*, 2017).

O sequenciamento de genomas microbianos começou no final dos anos 90 e revolucionou a forma como a pesquisa é conduzida (SUEN *et al.*, 2007). Atualmente, existem enorme quantidade de sequências genômicas de procariotas disponíveis em bancos de dados e a etapa inicial de sequenciamento foi amplamente aprimorada (NCBI, 2020; SUEN *et al.*, 2007; VILGIS; DEIGNER, 2018). Nesse contexto, o sequenciamento completo de algumas espécies de *Pectobacterium* revelou a presença de um cromossomo circular com cerca 4,9 Mb, podendo ou não ser encontrado um plasmídeo de tamanho variável (NIEMI *et al.*, 2017; NIKOLAICHIK *et al.*, 2014).

Pectobacterium atrosepticum (van Hall) Gardan *et al.* isolado SCRI1043 (acesso: BX950851) foi o primeiro fitopatógeno da antiga ordem Enterobacteriales a ser sequenciado,

atualmente Enterobacterales (ADEOLU *et al.*, 2016; BELL *et al.*, 2004). Em julho de 2018 existiam 17 genomas completos de *Pectobacterium* publicamente disponíveis (LI *et al.*, 2018). Em julho de 2020, esse número passou para 38 genomas completos e 167 montagens de genomas das espécies de *Pectobacterium* disponíveis no National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2020). Deste total, *P. carotovorum* apresenta quatro genomas completos, um genoma em nível de cromossomo, nove em nível de scaffolds e 12 em nível de contigs. Apresenta conteúdo GC variando entre 51,3 – 52%. e tamanho variando entre 4,64 - 4,94 Mb e sem plasmídeos detectados (NCBI, 2020).

Com relação a espécie *P. brasiliense*, ela apresenta cinco genomas completos, 18 genomas em nível de scaffold e 11 em nível de contigs (NCBI, 2020). O isolado tipo IBSBF1692 (=CFBP 6617 =212 = LMG 21371), originado do isolamento de batateiras no estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, foi sequenciado três vezes, a primeira montagem, identificada como PBR1692 (acesso: ABVX01000001) foi realizada no ano de 2008 é atualmente classificada pelo banco de dados NCBI como montagem anômala, a segunda montagem, isolado nomeado LMG 21371 (acesso: NZ_JQOE01000001) encontra-se em nível de contigs e a terceira montagem, isolado 1692 (acesso: NZ_CP047495) do ano de 2020, apresenta o genoma completo resultado do sequenciamento por duas estratégias, na plataforma Illumina com reads de 500 bp e no MinION para obtenção de reads longos afim de obter a estrutura completa do genoma (GLASNER *et al.*, 2008; LIU; FILIATRAULT, 2020; NCBI, 2020). Outro isolado brasileiro, LMG 21372 (acesso: NZ_JQOD01000001), encontra-se sequenciado e em nível de contigs também oriundo de batateiras do RS (NCBI, 2020). Genomas desta espécie apresentam conteúdo GC variando entre 51,3 – 52,2 %. e tamanho variando entre 4,60 - 4,97 Mb e sem plasmídeos detectados no GenBank (NCBI, 2020).

P. aroidearum apresentava até julho de 2020 apenas um representante, o isolado PC1, sendo este completo e depositado no banco de dados do NCBI como isolado da espécie de *P. carotovorum* (NCBI). O isolado PC1 foi utilizado em 2013 no estudo para proposta da criação da espécie *P. aroidearum* (NABHAN *et al.*, 2013), e é utilizado em diferentes estudos do gênero com a nomenclatura correta (PASANEN *et al.*, 2020; WALERON *et al.*, 2019b).

A genômica é metodologia necessária na taxonomia de procariotos pois é um meio reprodutível, confiável e altamente informativo na inferência de relações filogenéticas (CHUN; RAINEY, 2014). Em 2018, uma proposta foi realizada para uso de dados genômicos na taxonomia de procariotos, onde as análises de bioinformática foram separadas em duas grandes categorias. A primeira é baseada em métricas indicando quão semelhantes duas sequências de genoma são, nesta abordagem destacam-se a ANI e a isDDH, cujos limites de delimitação de

espécies, geralmente aceitos, são de 95 ~ 96 e 70%, respectivamente (CHUN *et al.*, 2018; CHUN; RAINEY, 2014). A segunda categoria é fundamenta na reconstrução de árvores filogenômicas, afim de explorar a relação filogenética em diversos níveis taxonômicos, recomenda-se o uso de no mínimo 31 genes core para esta reconstrução (CHUN *et al.*, 2018).

A genômica comparativa permite a realização de estudos estruturais e funcionais, fornecendo informações quanto a sua capacidade de explorar diferentes nichos ecológicos (GLASNER *et al.*, 2008). Em bactérias fitopatogênicas os fatores chaves de interação com a planta hospedeira foram descobertos a partir de estudos de genômica comparativa entre bactérias patogênicas a animais (GLASNER *et al.*, 2008). O primeiro trabalho de genômica comparativa envolvendo uma espécie de bactéria pectinolítica foi realizado por Toth; Pritchard; e Birch em 2006 entre *P. atrosepticum* SCRI1043 e os patógenos humanos *Escherichia coli* (Migula) Castellani & Chalmers e *Salmonella* spp. Stach, onde foi revelado o compartilhamento de muitos genes entre estas espécies. Neste estudo, *P. atrosepticum* também apresentou ilhas genômicas semelhantes a outros patógenos de plantas, levantando a hipótese de uma possível aquisição via transferência horizontal. Tais ilhas genômicas são compostas por genes responsáveis por funções conhecidas ou previstas para a adaptação de vida parasitária em vegetais, como enzimas degradadoras da parede celular das plantas, fitotoxinas, sistema de secreção do tipo III (T3SS) associado a patógenos, fixação de nitrogênio e ligação radicular (TOTH; PRITCHARD; BIRCH, 2006) .

Até o momento, existem cinco estudos de genômica comparativa entre espécies de *Pectobacterium*(GLASNER *et al.*, 2008; KHAYI *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2019, 2018; NYKYRI *et al.*, 2012). O primeiro consistiu na avaliação entre *P. atrosepticum*, *P. carotovorum* e *P. brasiliense* e revelou que as ilhas genômicas horizontalmente adquiridas de *P. atrosepticum* estão ausentes em *P. carotovorum* e *P. brasiliense*, confirmando a maior proximidade dessas duas últimas espécies (GLASNER *et al.*, 2008) . Em 2012 Nykiri *et al.* compararam *P. parmentieri* e *P. wasabiae*, e destacaram a ausência do T3SS e seus efetores em *P. parmentieri*, sendo ratificado posteriormente por trabalho desenvolvido apenas com isolados desta espécie quatro anos depois (KHAYI *et al.*, 2016). Em 2018, outro estudo foi publicado comparando 84 isolados de *Pectobacterium* spp. para detectar variações em fatores de patogenicidade como enzimas de degradação da parede celular, sistemas de secreção, flagelina, sideróforos, polissacarídeos e sistemas CRISPR-Cas. A busca por genes homólogos realizada no BLASTP demonstrou o caráter altamente conservado dos genes de síntese de enzimas degradadoras de parede celular entre todas as espécies de *Pectobacterium*. Foi descoberto que *P. carotovorum*, *P. odoriferum* e *P. brasiliense* abrigam dois subtipos do sistema CRISPR/CAS (I-E, I-F), e

possivelmente contribuem para a virulência e imunidade adaptativa destas espécies (LI *et al.*, 2018). Detectou-se também um operon *srl* relacionado ao metabolismo do sorbitol específico para os genomas de *P. odoriferum*, testes bioquímicos confirmaram a produção de ácido a partir de sorbitol ou a utilização desta fonte de carbono (LI *et al.*, 2018). Adicionalmente, o último estudo de genômica comparativa foi realizado entre isolado de *P. brasiliense* SX309 e outras oito espécies do gênero, revelando o compartilhamento de 2.995 genes core e 371 genes únicos deste isolado, de funções ainda desconhecidas (LI *et al.*, 2019).

Deste modo a genômica comparativa é uma importante ferramenta para compreensão de relações taxonômicas e a adaptação das diferentes espécies de *Pectobacterium* aos seus diversos hospedeiros. Assim, objetivamos sequenciar, montar, e anotar os genomas de três isolados de *P. brasiliense*, um de *P. aroidearum* e um de *P. odoriferum* e realizar análises de taxonomia genômica e genômica comparativa afim de identificar genes responsáveis por fatores de patogenicidade com potencial de determinar vantagem competitiva a infecção em diferentes plantas hospedeiras. Portanto, o presente estudo contribui no entendimento tanto das relações taxonômicas quanto do comportamento bacteriano, e disponibiliza sequências e informações genômicas consistentes sobre *P. aroidearum*, *P. brasiliense* e *P. carotovorum* originadas de diferentes hortaliças cultivadas no Nordeste brasileiro.

Referências Bibliográficas

- ABBY, S. S.; CURY, J.; GUGLIELMINI, J.; NÉRON, B.; TOUCHON, M.; ROCHA, E. P. C. Identification of protein secretion systems in bacterial genomes. **Scientific Reports**, England, v. 6, n. 1, p. 23080, 2016.
- ABISADO, R. G.; BENOMAR, S.; KLAUS, J. R.; DANDEKAR, A. A.; CHANDLER, J. R. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. **mBio**, Washington, v. 9, n. 3, p. e02331-17, 2018.
- ADEOLU, M.; ALNAJAR, S.; NAUSHAD, S.; S. GUPTA, R. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 66, n. 12, p. 5575–5599, 2016.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005, 952 p.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. F. A. **Manual de fitopatologia**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, 810 p.
- ARIZALA, E.; DOBHAL, S.; PAUDEL, S.; BOLUK, G.; SILVA, J.; AHMAD, A.; UYEDA, J.; SUGANO, J.; ALVAREZ, A.; ARIF, M. First report of *Pectobacterium brasiliense* causing bacterial soft rot and blackleg diseases of potato in Hawaii. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 104, n. 9, 2020.
- AUCH, A. F.; KLENK, H.-P.; GÖKER, M. Standard operating procedure for calculating genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs. **Standards in Genomic Sciences**, England, v. 2, n. 1, p. 142–148, 2010.
- BANKEVICH, A.; NURK, S.; ANTIPOV, D.; GUREVICH, A. A.; DVORKIN, M.; KULIKOV, A. S.; LESIN, V. M.; NIKOLENKO, S. I.; PHAM, S.; PRJIBELSKI, A. D.; PYSHKIN, A. V.; SIROTKIN, A. V.; VYAHHI, N.; TESLER, G.; ALEKSEYEV, M. A.; PEVZNER, P. A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. **Journal of Computational Biology**, New York, v. 19, n.5, p. 455-477 2012.
- BARROSO, K. A.; MORAES, A. J. G.; MARIANO, R. L. R.; GAMA, M. A. S.; SOUZA, E. B.; QUEIROZ, M. F.; SILVA, G. S. P.; DA PAZ, C. D.; PEIXOTO, A. R. First report of *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot in lettuce and chinese cabbage in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 103, n. 12, p. 3274, 2019.
- BELL, K. S.; SEBAIHIA, M.; PRITCHARD, L.; HOLDEN, M. T. G.; HYMAN, L. J.; HOLEVA, M. C.; THOMSON, N. R.; BENTLEY, S. D.; CHURCHER, L. J. C.; MUNGALL, K.; ATKIN, R.; BASON, N.; BROOKS, K.; CHILLINGWORTH, T.; CLARK, K.; DOGGETT, J.; FRASER, A.; HANCE, Z.; HAUSER, H.; JAGELS, K.; MOULE, S.; NORBERTCZAK, H.; ORMOND, D.; PRICE, C.; QUAIL, M. A.; SANDERS, M.; WALKER, D.; WHITEHEAD, S.; SALMOND, G. P. C.; BIRCH, P. R. J.; PARKHILL, J.; TOTH, I. K. Genome sequence of the enterobacterial phytopathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and characterization of virulence factors. **Proceedings of the National**

Academy of Sciences of the United States of America, Washington, v. 101, n. 30, p. 11105–11110, 2004.

BENTLEY, D. R.; BALASUBRAMANIAN, S.; SWERDLOW, H. P.; SMITH, G. P.; MILTON, J.; BROWN, C. G.; HALL, K. P.; EVERS, D. J.; BARNES, C. L.; BIGNELL, H. R.; BOUTELL, J. M.; BRYANT, J.; CARTER, R. J.; CHEETHAM, R. K.; COX, A. J.; ELLIS, D. J.; FLATBUSH, M. R.; GORMLEY, N. A.; HUMPHRAY, S. J.; IRVING, L. J.; KARBELASHVILI, M. S.; KIRK, S. M.; LI, H.; LIU, X.; MAISINGER, K. S.; MURRAY, L. J.; OBRADOVIC, B.; OST, T.; PARKINSON, M. L.; PRATT, M. R.; RASOLONJATOVO, I. M.; REED, M. T.; RIGATTI, R.; RODIGHIERO, C.; ROSS, M. T.; SABOT, A.; SANKAR, S. V.; SCALLY, A.; SCHROTH, G. P.; SMITH, M. E.; SMITH, V. P.; SPIRIDOU, A.; TORRANCE, P. E.; TZONEV, S. S.; VERMAAS, E. H.; WALTER, K.; WU, X.; ZHANG, L.; ALAM, MD.; ANASTASI, C.; ANIEBO, IC.; BAILEY, DM.; BANCARZ, I. R.; BANERJEE, S.; BARBOUR, S. G.; BAYBAYAN, P. A.; BENOIT, V. A.; BENSON, K. F.; BEVIS, C.; BLACK, P. J.; BOODHUN, A.; BRENNAN, J. S.; BRIDGHAM, J. A.; BROWN, R. C.; BROWN, A. A.; BUERMANN, D. H.; BUNDU, A. A.; BURROWS, J. C.; CARTER, N. P.; CASTILLO, N.; CHIARA, E. CATENAZZI, M.; CHANG, S.; COOLEY, R. N.; CRAKE, N. R.; DADA, O. O.; DIAKOUMAKOS, K. D.; DOMINGUEZ-FERNANDEZ, B.; EARNSHAW, D. J.; EGBUJOR, U. C.; ELMORE, D. W.; ETCHIN, S. S.; EWAN, M. R.; FEDURCO, M.; FRASER, L. J.; FAJARDO, K. V. F.; FUREY, W. S.; GEORGE, D.; GIETZEN, K. J.; GODDARD, C. P.; GOLDA, G. S.; GRANIERI, P. A.; GREEN, D. E.; GUSTAFSON, D. L.; HANSEN, N. F.; HARNISH, K.; HAUDENSCHILD, C. D.; HEYER, N. I.; HIMMS, M. M.; HO, J. T.; HORGAN, A. M.; HOSCHLER, K.; HURWITZ, S.; IVANOV, D. V.; JOHNSON, M. Q.; JAMES, T.; JONES, T. A. H.; KANG, G. D.; KERELSKA, T. H.; KERSEY, A. D.; KHREBTUKOVA, I.; KINDWALL, A. P.; KINGSBURY, Z.; KOKKO-GONZALES, P. I.; KUMAR, A.; LAURENT, M. A.; LAWLEY, C. T.; LEE, S. E.; LEE, X.; LIAO, A. K.; LOCH, J. A.; LOK, M.; LUO, S.; MAMMEN, R. M.; MARTIN, J. W.; MCCAULEY, P. G.; MCNITT, P.; MEHTA, P.; MOON, K. W.; MULLENS, J. W.; NEWINGTON, T.; NING, Z.; NG, B. L.; NOVO, S. M.; O'NEILL, M. J.; OSBORNE, M. A.; OSNOWSKI, A.; OSTADAN, O.; PARASCHOS, L. L.; PICKERING, L.; PIKE, A. C.; PIKE, A. C.; CHRIS, PINKARD, D.; PLISKIN, D. P.; PODHASKY, J.; QUIJANO, V. J.; RACZY, C.; RAE, V. H.; RAWLINGS, S. R.; RODRIGUEZ, A. C.; ROE, P. M.; ROGERS, J.; BACIGALUPO, M. C.R.; ROMANOV, N.; ROMIEU, A.; ROTH, R. K.; ROURKE, N. J.; RUEDIGER, S. T.; RUSMAN, E.; SANCHES-KUIPER, R. M.; SCHENKER, M. R.; SEOANE, J. M.; SHAW, R. J.; SHIVER, M. K.; SHORT, S. W.; SIZTO, N. L.; SLUIS, J. P.; SMITH, M. A.; SOHNA, J. E. S.; SPENCE, E. J.; STEVENS, K.; SUTTON, N.; SZAJKOWSKI, L.; TREGIDGO, C. L.; TURCATTI, G.; VANDEVONDELE, S.; VERHOVSKY, Y.; VIRK, S. M.; WAKELIN, S.; WALCOTT, G. C.; WANG, J.; WORSLEY, G. J.; YAN, J.; YAU, L.; ZUERLEIN, M.; ROGERS, J.; MULLIKIN, J. C.; HURLES, M. E.; MCCOOKE, N. J.; WEST, J. S.; OAKS, F. L.; LUNDBERG, P. L.; KLENERMAN, D.; DURBIN, R.; SMITH, A. J. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*, London, v. 456, n. 7218, p. 53-59, 2008.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, Oxford, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 2014.

BRADY, C.; CLEENWERCK, I.; DENMAN, S.; VENTER, S.; RODRIGUEZ, P.; COUTINHO, T.; DE VOS, P. Proposal to reclassify *Brenneria quercina* (Hildebrand and Schroth 1967) Hauben *et al.* 1999 into a new genus, *Lonsdalea* gen. nov., as *Lonsdalea quercina* comb. nov., descriptions of *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina* comb. nov., *Lonsdalea quercina* subsp. *iberica* subsp. nov. and *Lonsdalea quercina* subsp. *britannica*

subsp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, England, v. 62, p. 1592–1602, 2011.

BRADY, C.; HUNTER, G.; KIRK, S.; ARNOLD, D.; DENMAN, S. Description of *Brenneria roseae* sp. nov. and two subspecies, *Brenneria roseae* subspecies *roseae* ssp. nov. and *Brenneria roseae* subspecies *americana* ssp. nov. isolated from symptomatic oak. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 37, n. 6, p. 396–401, 2014.

CARIDDI, C.; BUBICI, G. First report of bacterial pith soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* on artichoke in Italy. **Journal of Plant Pathology**, Pisa v. 98, n. 03, p. 563–568, 2016.

CARUSO, A.; LICCIARDELLO, G.; LA ROSA, R.; CATARA, V.; BELLA, P. Mixed infection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis* in tomato stem rot in Italy. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 98, n. 3, p. 661–665, 2016.

CHARKOWSKI, A. O. The changing face of bacterial soft-rot diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 56, n. 1, p. 269–288, 2018.

CHARKOWSKI, A.; BLANCO, C.; CONDEMINA, G.; EXPERT, D.; FRANZA, T.; HAYES, C.; HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT, N.; SOLANILLA, E. L.; LOW, D.; MOLELEKI, L.; PIRHONEN, M.; PITMAN, A.; PERNA, N.; REVERCHON, S.; RODRÍGUEZ PALENZUELA, P.; SAN FRANCISCO, M.; TOTH, I.; TSUYUMU, S.; VAN DER WAALS, J.; VAN DER WOLF, J.; VAN GIJSEGEM, F.; YANG, C.-H.; YEDIDIA, I. The role of secretion systems and small molecules in soft-rot Enterobacteriaceae pathogenicity. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 50, n. 1, p. 425–449, 2012.

CHATTERJEE, A.; CUI, Y.; HASEGAWA, H.; LEIGH, N.; DIXIT, V.; CHATTERJEE, A. K. Comparative analysis of two classes of quorum-sensing signaling systems that control production of extracellular proteins and secondary metabolites in *Erwinia carotovora* subspecies. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 187, n. 23, p. 8026–8038, 2005.

CHUN, J.; OREN, A.; VENTOSA, A.; CHRISTENSEN, H.; ARAHAL, D. R.; DA COSTA, M. S.; ROONEY, A. P.; YI, H.; XU, X.-W.; DE MEYER, S.; TRUJILLO, M. E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 68, n. 1, p. 461–466, 2018.

CHUN, J.; RAINEY, F. A. Integrating genomics into the taxonomy and systematics of the Bacteria and Archaea. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 64, n. 2, p. 316–324, 2014.

COULTHURST, S. J.; LILLEY, K. S.; SALMOND, G. P. C. Genetic and proteomic analysis of the role of *luxS* in the enteric phytopathogen, *Erwinia carotovora*. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 31–45, 2006.

DALE, C.; MAUDLIN, I. *Sodalis* gen. nov. and *Sodalis glossinidius* sp. nov., a microaerophilic secondary endosymbiont of the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 49, n. 1, p. 267–275, 1999.

DARLING, A. C. E.; MAU, B.; BLATTNER, F. R.; PERNA, N. T. Mauve: multiple

alignment of conserved genomic sequence with rearrangements. **Genome Research**, New York, v. 14, n. 7, p. 1394–1403, 2004.

DE BOER, S. H.; LI, X.; WARD, L. J. *Pectobacterium* spp. associated with bacterial stem rot syndrome of potato in Canada. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 102, n. 10, p. 937-947, 2012.

DE WERRA, P.; BUSSEREAU, F.; KEISER, A.; ZIEGLER, D. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Switzerland. **Plant disease**, Saint Paul, v. 99, n. 4, p. 551, 2015.

DEES, M. W.; LYSØE, E.; ROSSMANN, S.; PERMINOW, J.; BRURBERG, M. B. *Pectobacterium polaris* sp. nov., isolated from potato (*Solanum tuberosum*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 67, n. 12, p. 5222–5229, 2017.

DUARTE, V.; DE BOER, S. H.; WARD, L. J.; OLIVEIRA, A. M. R. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 96, n. 3, p. 535–545, 2004.

DUBEY, A. K.; YADAV, S.; KUMAR, M.; ANAND, G.; YADAV, D. Molecular biology of microbial pectate lyase: a review. **Biotechnology Journal International**, Gurgaon, v. 13, n. 1, p. 1–26, 2016.

EL TASSA, S. O. M.; DUARTE, V. Identificação de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* através de PCR-RFLP do gene recA. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 23–2006.

EVANS, T. J.; IND, A.; KOMITOPOULOU, E.; SALMOND, G. P. C. Phage-selected lipopolysaccharide mutants of *Pectobacterium atrosepticum* exhibit different impacts on virulence. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 109, n. 2, p. 505–514, 2010.

FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO. **The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets**. Rome, Food and Agriculture Organization, 2020, p. 320.

FUJIMOTO, T.; YASUOKA, S.; AONO, Y.; NAKAYAMA, T.; OHKI, T.; SAYAMA, M.; MAOKA, T. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Japan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 1, p. 241, 2017.

GARDAN, L.; GOUY, C.; CHRISTEN, R.; SAMSON, R. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Oxford, v. 53, n. 2, p. 381–391, 2003.

GARRITY, G.; BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. R. (Eds). **Bergey's manual® of systematic bacteriology: volume 2: the proteobacteria, part B: the Gammaproteobacteria**. 2. ed. New York: Springer US, 2005, 1023 p.

GILLIS, A.; SANTANA, M. A.; RODRÍGUEZ, M.; ROMAY, G. First report of bell pepper soft-rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Venezuela. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 9, p. 1671–1671, 2017.

- GLASNER, J. D.; MARQUEZ-VILLAVICENCIO, M.; KIM, H.-S.; JAHN, C. E.; MA, B.; BIEHL, B. S.; RISSMAN, A. I.; MOLE, B.; YI, X.; YANG, C.-H.; DANGL, J. L.; GRANT, S. R.; PERNA, N. T.; CHARKOWSKI, A. O. Niche-specificity and the variable fraction of the *Pectobacterium* pan-genome. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 21, n. 12, p. 1549–1560, 2008.
- GOTTSBERGER, R. A.; HUSS, H. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing a soft rot on Styrian oil pumpkin in Austria. **New Disease Reports**, London, v. 33, p. 12–12, 2016.
- GOTTSBERGER, R. A.; HUSS, H. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing a soft rot on styrian oil pumpkin in Austria. **New Disease Reports**, London, n. 33, p. 12, 2016.
- HAUBEN, L.; MOORE, E. R. B.; VAUTERIN, L.; STEENACKERS, M.; MERGAERT, J.; VERDONCK, L.; SWINGS, J. Phylogenetic Position of Phytopathogens within the Enterobacteriaceae. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 21, n. 3, p. 384–397, 1998.
- HAYASHI SANT'ANNA, F.; BACH, E.; PORTO, R. Z.; GUELLA, F.; HAYASHI SANT'ANNA, E.; PASSAGLIA, L. M. P. Genomic metrics made easy: what to do and where to go in the new era of bacterial taxonomy. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v. 45, n. 2, p. 182–200, 2019.
- JARAMILLO, A.; HUERTAS, C. A.; GÓMEZ, E. D. First report of bacterial stem rot of tomatoes caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Colombia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 5, p. 830, 2017.
- JARAMILLO, A.; HUERTAS, C. A.; GÓMEZ, E. D. First report of bacterial stem rot of tomatoes caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Colombia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 5, p. 830, 2017.
- JEE, S.; CHOI, J. G.; HONG, S.; LEE, Y. G.; KWON, M. First report of soft rot by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* on amaranth in Korea. **Research in Plant Disease**, Seoul, v. 24, n. 4, p. 339-341, 2018.
- JONES, S., YU, B., BAINTON, N. A., BIRDSALL, M., BYCROFT, B. W., CHHABRA, S. R., COX, A. J. R., GOLBY, P.; REEVES, P. J.; STEPHENS, S.; WINSON, M. K., SALMOND, G. P. C.; STEWART, G. S. A. B.; WILLIAMS, P. The lux autoinducer regulates the production of exoenzyme virulence determinants in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas aeruginosa*. **The EMBO journal**, Oxford, v. 12, n. 6, p. 2477-2482, 1993.
- KHAYI, S.; CIGNA, J.; CHONG, T. M.; QUÊTU-LAURENT, A.; CHAN, K.-G.; HÉLIAS, V.; FAURE, D. Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 66, n. 12, p. 5379–5383, 2016.
- KIM, H.-S.; MA, B.; PERNA, N. T.; CHARKOWSKI, A. O. Phylogeny and virulence of naturally occurring type III secretion system-deficient *Pectobacterium* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, n. 13, p. 4539–4549, 2009.
- LANA, M. M. Estação de trabalho: infraestrutura para beneficiamento de hortaliças em pequenas propriedades rurais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 443–447, 2016.

LEE, D.-H.; KIM, J. B.; LIM, J. A.; HAN, SANG-WOOK; HEU, SUNGGI. Genetic Diversity of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* isolated in Korea. **The Plant Pathology Journal**, Suwon, v. 30, n. 2, p. 117–124, 2014.

LI, L.; YUAN, L.; SHI, Y.; XIE, X.; CHAI, A.; WANG, Q.; LI, B. Comparative genomic analysis of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* SX309 provides novel insights into its genetic and phenotypic features. **BMC Genomics**, London, v. 20, n. 1, p. 486, 2019.

LI, X.; MA, Y.; LIANG, S.; TIAN, Y.; YIN, S.; XIE, S.; XIE, H. Comparative genomics of 84 *Pectobacterium* genomes reveals the variations related to a pathogenic lifestyle. **BMC Genomics**, London, v. 19, n. 1, p. 889, 2018.

LIU, H., ZHOU, M., YANG, L., LUO, W., CHE, S., SU, J., ZHAO, B.; LU, Y.; HU, B.; FAN, J. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing soft rot on *Raphanus sativus* in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 103, n. 6, p. 1409-1409, 2019.

LOPES, C. A.; HENZ, G. P. **Podridões-moles das hortaliças causadas por bactérias**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1998, 6 p. (Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças, 8).

MA, B.; HIBBING, M. E.; KIM, H.-S.; REEDY, R. M.; YEDIDIA, I.; BREUER, J.; BREUER, J.; GLASNER, J. D.; PERNA, N. T.; KELMAN, A.; CHARKOWSKI, A. O. Host range and molecular phylogenies of the soft rot Enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 97, n. 9, p. 1150–1163, 2007.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ALVARADO, I. C. M.; SILVA, A. M. F. Bactérias fitopatogênicas pectinolíticas dos gêneros *Pectobacterium* e *Dickeya*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 2, p. 121–153, 2005.

MARGULIES, M.; EGHOLM, M.; ALTMAN, W. E.; ATTIYA, S.; BADER, J. S.; BEMBEN, L. A.; BERKA, J.; BRAVERMAN, M. S.; CHEN, Y. J.; CHEN, Z.; DEWELL, S. B.; DU, L.; FIERRO, J. M.; GOMES, X. V.; GODWIN, B. C.; HE, W.; HELGESEN, S.; HO, C. H.; IRZYK, G. P.; JANDO, S. C.; ALLENQUER, M. L.; JARVIE, T. P.; JIRAGE, K. B.; KIM, J. B.; KNIGHT, J. R.; LANZA, J. R.; LEAMON, J. H.; LEFKOWITZ, S. M.; LEI, M.; LI, J.; LOHMAN, K. L.; LU, H.; MAKHIJANI, V. B.; MCDADE, K. E.; MCKENNA, M. P.; MYERS, E. W.; NICKERSON, E.; NOBILE, J. R.; PLANT, R.; PUC, B. P.; RONAN, M. T.; ROTH, G. T.; SARKIS, G. J.; SIMONS, J. F.; SIMPSON, J. W.; SRINIVASAN, M.; TARTARO, K. R.; TOMASZ, A.; VOGT, K. A.; VOLKMER, G. A.; WANG, S. H.; WANG, Y.; WEINER, M. P.; YU, P.; BEGLEY, R. F.; ROTHBERG, J. M. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. **Nature**, London, v. 437, n. 7057, p. 376-380, 2005.

MAXAM, A. M.; GILBERT, W. A new method for sequencing DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 74, n. 2, p. 560-564, 1977.

MCNALLY, R. R.; CURLAND, R. D.; WEBSTER, B. T.; ROBINSON, A. P.; ISHIMARU, C. A. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg and stem rot in commercial and seed potato fields in Minnesota and North Dakota. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 9, p. 1672-1672, 2017.

MEJÍA-SÁNCHEZ, D.; ARANDA-OCAMPO, S.; NAVA-DÍAZ, C.; TELIZ-ORTIZ, D.; LIVERA-MUÑOZ, M.; DE LA TORRE-ALMARÁZ, R.; RAMÍREZ-ALARCÓN, S. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causes soft rot and death of *Neobuxbaumia tetetzo* in Zapotitlan Salinas Valley, Puebla, Mexico. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 103, n. 3,

p. 398–403, 2019.

MENG, X.; CHAI, A.; SHI, Y.; XIE, X.; MA, Z.; LI, B. Emergence of bacterial soft rot in cucumber caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 2, p. 279–287, 2017.

MIKHEENKO, A.; PRJIBELSKI, A.; SAVELIEV, V.; ANTIPOV, D.; GUREVICH, A. versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. **Bioinformatics**, Oxford, v. 34, n. 13, p. i142–i150, 2018.

MORAES, A. J. G. DE; BAIA, A. D. B.; SOUZA, E. B.; PEIXOTO, A. R.; BARROSO, K. A.; ALMEIDA, C. DE O.; BALBINO, V. Q.; DA SILVA JÚNIOR, W. J.; GAMA, M. A. S. First report of *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot of pepper (*Capsicum annuum*) fruits in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 104, n. 11, p. 3054, 2020.

MORAES, A. J. G.; SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R.; SILVA, A. M. F.; LIMA, N. B.; PEIXOTO, A. R.; GAMA, M. A. S. First report of *Pectobacterium aroidearum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing soft rot of *Cucurbita pepo* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 2, p. 379, 2017.

MORETTI, C.; FAKHR, R.; CORTESE, C.; DE VOS, P.; CERRI, M.; GEAGEA, L.; CLEENWERCK, I.; BUONAURO, R. *Pectobacterium aroidearum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* as causal agents of potato soft rot in Lebanon. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 144, n. 1, p. 205–211, 2016.

NAAS, H.; SEBAIHIA, M.; ORFEI, B.; REZZONICO, F.; BUONAURO, R.; MORETTI, C. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* as causal agents of potato soft rot in Algeria. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 151, n. 4, p. 1027–1034, 2018.

NABHAN, S.; BOER, S. H.; MAISS, E.; WYDRA, K. Taxonomic relatedness between *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* subsp. nov. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 113, n. 4, p. 904–913, 2012.

NABHAN, S.; DE BOER, S. H.; MAISS, E.; WYDRA, K. *Pectobacterium aroidearum* sp. nov., a soft rot pathogen with preference for monocotyledonous plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 63, n. Pt_7, p. 2520–2525, 2013.

NCBI. **National Center for Biotechnology Information Search database**. 2020. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>> Acesso em: 31 jul. 2020.

NGADZE, E.; BRADY, C. L.; COUTINHO, T. A.; VAN DER WAALS, J. E. Pectinolytic bacteria associated with potato soft rot and blackleg in South Africa and Zimbabwe. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 134, n. 3, p. 533–549, 2012.

NGADZE, E.; BRADY, C.; COUTINHO, T.; WAALS, J. E. Pectinolytic bacteria associated with potato soft rot and blackleg in South Africa and Zimbabwe. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 134, p. 533–549, 2012.

NGUYEN, L.-T.; SCHMIDT, H. A.; VON HAESLER, A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies.

Molecular Biology and Evolution, Chicago, v. 32, n. 1, p. 268–274, 2015.

NIEMI, O.; LAINE, P.; KOSKINEN, P.; PASANEN, M.; PENNANEN, V.; HARJUNPÄÄ, H.; NYKYRI, J.; HOLM, L.; PAULIN, L.; AUVINEN, P.; PALVA, E. T.; PIRHONEN, M. Genome sequence of the model plant pathogen *Pectobacterium carotovorum* SCC1.

Standards in Genomic Sciences, London, v. 12, n. 1, p. 87, 2017.

NIKOLAICHIK, Y.; GORSHKOV, V.; GOGOLEV, Y.; VALENTOVICH, L.; EVTUSHENKOV, A. Genome sequence of *Pectobacterium atrosepticum* strain 21A. **Genome Announcements**, Washington v. 2, n. 5, p. e00935-14, 2014.

NUNES LEITE, L.; DE HAAN, E. G.; KRIJGER, M.; KASTELEIN, P.; VAN DER ZOUWEN, P. S.; VAN DEN BOVENKAMP, G. W.; TEBALDI, N. D.; VAN DER WOLF, J. M. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in the Netherlands. **New Disease Reports**, London, v. 29, p. 24, 2014.

NYKYRI, J.; NIEMI, O.; KOSKINEN, P.; NOKSO-KOIVISTO, J.; PASANEN, M.; BROBERG, M.; PLYUSNIN, I.; TÖRÖNEN, P.; HOLM, L.; PIRHONEN, M.; PALVA, E. T. Revised phylogeny and novel horizontally acquired virulence determinants of the model soft rot phytopathogen *Pectobacterium wasabiae* SCC3193. **PLOS Pathogens**, San Francisco, v. 8, n. 11, p. e1003013, 2012.

OULGHAZI, S.; CIGNA, J.; LAU, Y. Y.; MOUMNI, M.; CHAN, K. G.; FAURE, D. Transfer of the waterfall source isolate *Pectobacterium carotovorum* M022 to *Pectobacterium fontis* sp. nov., a deep-branching species within the genus *Pectobacterium*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 69, n. 2, p. 470–475, 2019.

OULGHAZI, S.; MOUMNI, M.; KHAYI, S.; ROBIC, K.; SARFRAZ, S.; LOPEZ-ROQUES, C.; VANDECASTEELE, C.; FAURE, D. Diversity of Pectobacteriaceae species in potato growing regions in Northern Morocco. **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 6, p. 895, 2020.

OZTURK, M.; AKSOY, H. M. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing blackleg and soft rot of potato in Turkey. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 98, n. 3, p. 692, 2016.

PANDA, P.; FIERS, M. A. W. J.; ARMSTRONG, K.; PITMAN, A. R. First report of blackleg and soft rot of potato caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in New Zealand. **New Disease Reports**, London, v. 26, n. 15, p. 2044-0588, 2012.

PARTE, A. C. LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 68, n. 6, p. 1825–1829, 2018. Disponível em <<https://bacterio.net/>> Acesso em: 01 set. 2020.

PASANEN, M.; WALERON, M.; SCHOTT, T.; CLEENWERCK, I.; MISZTAK, A.; WALERON, K.; PRITCHARD, L.; BAKR, R.; DEGEFU, Y.; VAN DER WOLF, J.; VANDAMME, P.; PIRHONEN, M. *Pectobacterium parvum* sp. nov., having a *Salmonella* SPI-1-like type III secretion system and low virulence. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 70, n. 4, p. 2440–2448, 2020.

PÉDRON, J.; BERTRAND, C.; TAGHOUTI, G.; PORTIER, P.; BARNY, M.-A. *Pectobacterium aquaticum* sp. nov., isolated from waterways. **International Journal of**

Systematic and Evolutionary Microbiology, England, v. 69, n. 3, p. 745–751, 2019.

PIRHONEN, M.; SAARILAHTI, H. T.; KARLSSON, M.-B.; PALVA, E. T. Identification of pathogenicity determinants of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by transposon mutagenesis. **Molecular Plant - Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 4, n. 3, p. 276–283, 1991.

PÖLLUMAA, L.; ALAMÄE, T.; MÄE, A. Quorum sensing and expression of virulence in pectobacteria. **Sensors**, Basel, v. 12, n. 3, p. 3327–3349, 2012.

PORTIER, P.; PÉDRON, J.; TAGHOUTI, G.; FISCHER-LE SAUX, M.; CAULLIREAU, E.; BERTRAND, C.; LAURENT, A.; CHAWKI, K.; OULGAZI, S.; MOUMNI, M.; ANDRIVON, D.; DUTRIEUX, C.; FAURE, D.; HÉLIAS, V.; BARNY, M.-A. Elevation of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* to species level as *Pectobacterium odoriferum* sp. nov., proposal of *Pectobacterium brasiliense* sp. nov. and *Pectobacterium actinidiae* sp. nov., emended description of *Pectobacterium carotovorum* and description of *Pectobacterium versatile* sp. nov., isolated from streams and symptoms on diverse plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 69, n. 10, p. 3207–3216, 2019.

QUEIROZ, M. F.; ALBUQUERQUE, G. M. R.; GAMA, M. A. S.; MARIANO, R. L. R.; MORAES, A. J. G.; SOUZA, E. B.; SOUZA, J. B.; DA PAZ, C. D.; PEIXOTO, A. R. First report of soft rot in kale caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 12, p. 2144–2144, 2017.

RAESIDE, C.; GAFFÉ, J.; DEATHERAGE, D. E.; TENAILLON, O.; BRISKA, A. M.; PTASHKIN, R. N.; CRUVEILLER, S.; MÉDIGUE, C.; LENSKI, R. E.; BARRICK, J. E.; SCHNEIDER, D. Large chromosomal rearrangements during a long-term evolution experiment with *Escherichia coli*. **mBio**, Washington, v. 5, n. 5, 2014.

RICHTER, M.; ROSSELLÓ-MÓRA, R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 106, n. 45, p. 19126-31. 2009.

ROSSKOPF, E.; HONG, J. First report of bacterial stem rot of “Heirloom” tomatoes caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in Florida. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 100, n. 6, p. 1233-1233, 2016.

ROTHBERG, J. M.; HINZ, W.; REARICK, T. M.; SCHULTZ, J.; MILESKI, W.; DAVEY, M.; LEAMON, J. H.; JOHNSON, K.; MILGREW, M. J.; EDWARDS, M.; HOON, J.; SIMONS, J. F.; MARRAN, D.; MYERS, J. W.; DAVIDSON, J. F.; BRANTING, A.; NOBILE, J. R.; PUC, B. P.; LIGHT, D.; CLARK, T. A.; HUBER, M.; BRANCIFORTE, J. T.; STONER, I. B.; CAWLEY, S. E.; LYONS, M.; FU, Y.; HOMER, N.; SEDOVA, M.; MIAO, X.; REED, B.; SABINA, J.; FEIERSTEIN, E.; SCHORN, M.; ALANJARY, M.; DIMALANTA, E.; DRESSMAN, D.; KASINSKAS, R.; SOKOLSKY, T.; FIDANZA, J. A.; NAMSARAEV, E.; MCKERNAN, K. J.; WILLIAMS, A.; ROTH, G. T.; BUSTILLO, J. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. **Nature**, London, v. 475, n. 7356, p. 348-352, 2011.

SANGER, F.; COULSON, A. R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. **Journal of molecular biology**, London, v. 94, n. 3, p. 441-448, 1975.

- SAMSON, R.; LEGENDRE, J. B.; CHRISTEN, R.; SAUX, M. F.-L.; ACHOUAK, W.; GARDAN, L. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.* 1953) Brenner *et al.* 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 55, n. 4, p. 1415–1427, 2005.
- SARFRAZ, S.; RIAZ, K.; OULGHAZI, S.; CIGNA, J.; SAHI, S. T.; KHAN, S. H.; FAURE, D. *Pectobacterium punjabense* sp. nov., isolated from blackleg symptoms of potato plants in Pakistan. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 68, n. 11, p. 3551–3556, 2018.
- SCHREINEMACHERS, P.; SIMMONS, E. B.; WOPEREIS, M. C. Tapping the economic and nutritional power of vegetables. **Global food security**, Amsterdam, v. 16, p. 36–45, 2018.
- SEDANI, S. R.; PARDESHI, I. L.; BHAD, R. G., NIMKARDE P. G. Vegetables: A Boon to Human Healthy Life. **Journal of Ready to Eat Food**, v. 5, n. 3, p. 22–30, 2018.
- SEEMANN, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. **Bioinformatics**, Oxford, v. 30, n. 14, p. 2068–2069, 2014.
- SHE, X. M.; LAN, G. B.; TANG, Y. F.; HE, Z. F. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing pepper black spot disease in China. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 99, n. 3, p. 769–772, 2017.
- SHEWFELT, R. L.; PRUSSIA, S. E.; SPARKS, S. A. Challenges in handling fresh fruits and vegetables. In: FLORKOWSKI, W.; SHEWFELT, R.; PRUSSIA, S.; BANKS, N.(Eds) **Postharvest Handling**. 3th ed. Oxford: Elsevier, 2014. p. 11–30.
- SILVA, A. M. F.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J.; SILVEIRA, E. B.; MEDEIROS, F. H. V. Levantamento da intensidade da podridão- mole em alface e couve-chinesa em Pernambuco. **REVISTA CAATINGA**, Mossoró, v. 20, n. 3, p. 84–93, 2007.
- SIMÃO, F. A.; WATERHOUSE, R. M.; IOANNIDIS, P.; KRIVENTSEVA, E. V.; ZDOBNOV, E. M. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. **Bioinformatics**, Oxford, v. 31, n. 19, p. 3210–3212, 2015.
- SKERMAN, V. B. D.; MCGOWAN, V.; SNEATH, P. H. A. Approved lists of bacterial names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 30, n. 1, p. 225–420, 1980.
- SUEN, G.; ARSHINOFF, B. I.; TAYLOR, R. G.; WELCH, R. D. Practical applications of bacterial functional genomics. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, England, v. 24, n. 1, p. 213–242, 2007.
- TOTH, I. K.; BELL, K. S.; HOLEVA, M. C.; BIRCH, P. R. J. Soft rot erwiniae: from genes to genomes. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 17–30, 2003.
- TOTH, I. K.; PRITCHARD, L.; BIRCH, P. R. J. Comparative Genomics Reveals What Makes An Enterobacterial Plant Pathogen. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 44, n. 1, p. 305–336, 2006.

- TOTH, I.; HUMPHRIS, S.; CAMPBELL, E.; PRITCHARD, L. Why genomics research on *Pectobacterium* and *Dickeya* makes a difference. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 92, n. 2, p. 218–222, 2015.
- TSROR, L., LEBIUSH, S., ERLICH, O., GALILOV, I., CHALUPOWICZ, L., REUVEN, M., DROR, O.; MANULIS-SASSON, S. First report of latent infection of *Malva nicaeensis* caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Israel. **New Disease Reports**, London, v. 39, p. 4, 2019.
- VALOUEV, A.; ICHIKAWA, J.; TONTHAT, T.; STUART, J.; RANADE, S.; PECKHAM, H.; ZENG, K.; MALEK, J. A.; COSTA, G.; MCKERNAN, K.; SIDOW, A.; FIRE, A.; JOHNSON, S.M. A high-resolution, nucleosome position map of *C. elegans* reveals a lack of universal sequence-dictated positioning. **Genome research**, New York, v. 18, n. 7, p. 1051–1063, 2008.
- VAN DER WOLF, J. M.; DE HAAN, E. G.; KASTELEIN, P.; KRIJGER, M.; DE HAAS, B. H.; VELVIS, H.; MENDES, O.; KOOMAN-GERSMANN, M.; VAN DER ZOUWEN, P. S. Virulence of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* on potato compared with that of other *Pectobacterium* and *Dickeya* species under climatic conditions prevailing in the Netherlands. **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 66, n. 4, p. 571–583, 2017.
- VILGIS, S.; DEIGNER, H. P. Sequencing in Precision Medicine. In: DEIGNER, H. P.; KOHL, K. (Eds) **Precision Medicine**. 1st ed. Amsterdam, Academic Press, 2018, p. 79 – 101.
- VINUESA, P.; OCHOA-SÁNCHEZ, L. E.; CONTRERAS-MOREIRA, B. GET_PHYLOMARKERS, a Software package to select optimal orthologous clusters for phylogenomics and inferring pan-genome phylogenies, used for a critical geno-taxonomic revision of the genus *Stenotrophomonas*. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne v. 9, 2018.
- VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G.-J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, Deerfield Beach, v. 20, n. 2, p. 263–275, 2009.
- VORONINA, M. V.; KABANOVA, A. P.; SHNEIDER, M. M.; KORZHENKOV, A. A.; TOSCHAKOV, S. V.; MIROSHNIKOV, K. K.; MIROSHNIKOV, K. A.; IGNATOV, A. N. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing blackleg and stem rot disease of potato in Russia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 103, n. 2, p. 364–364, 2019.
- WALDEE, E. L. **Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria**. 1942. PhD (Doctor of Philosophy) - Iowa State University, Ames, 1942.
- WALERON, M.; MISZTAK, A.; WALERON, M.; FRANCUK, M.; JOŃCA, J.; WIELGOMAS, B.; MIKICIŃSKI, A.; POPOVIĆ, T.; WALERON, K. *Pectobacterium zantedeschiae* sp. nov. a new species of a soft rot pathogen isolated from calla lily (*Zantedeschia* spp.). **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 42, n. 3, p. 275–283, 2019a.
- WALERON, M.; MISZTAK, A.; WALERON, M.; FRANCUK, M.; WIELGOMAS, B.; WALERON, K. Transfer of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strains isolated from potatoes grown at high altitudes to *Pectobacterium peruviense* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 41, n. 2, p. 85–93, 2018.
- WALERON, M.; MISZTAK, A.; WALERON, M.; JONCA, J.; FURMANIAK, M.;

- WALERON, K. *Pectobacterium polonicum* sp. nov. isolated from vegetable fields. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, England, v. 69, n. 6, p. 1751–1759, 2019b.
- WALERON, M.; WALERON, K.; LOJKOWSKA, E. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing soft rot on potato and other vegetables in Poland. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, n. 9, p. 1271, 2015.
- WANG, J.; WANG, Y. H.; DAI, P. G.; CHEN, D. X.; ZHAO, T. C.; LI, X. L.; HUANG, Q. First report of tobacco bacterial leaf blight caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 5, p. 830-830, 2017.
- WHO. **Healthy diet fact sheet N° 394**. World Health Organization , 2018, 6 p.
- XIE, H.; LI, X. Y.; MA, Y. L.; TIAN, Y. First report of *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot of Chinese cabbage in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 102, n. 3, p. 674–674, 2018.
- ZÁRATE, N. A. H. **Hortas: conocimientos básicos**. 1. ed. Dourados, MS: Seriema, 2018, 298 p..
- ZHANG, Y.; FAN, Q.; LORIA, R. A re-evaluation of the taxonomy of phytopathogenic genera *Dickeya* and *Pectobacterium* using whole-genome sequencing data. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 39, n. 4, p. 252–259, 2016.
- ZHAO, Y. Q.; DOU, J.; GENG, G. M.; TIAN, Y. L.; FAN, J. Q.; LI, X.; HU, B. S. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing blackleg and stem rot on potato in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 102, n. 8, p. 1653-1653, 2018.
- ZLATKOVIĆ, N.; PROKIĆ, A.; GAŠIĆ, K.; KUZMANOVIĆ, N.; IVANOVIĆ, M.; OBRADOVIĆ, A. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing soft rot on squash and watermelon in Serbia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 103, n. 10, p. 2667–2667, 2019.
- ZOLEDOWSKA, S.; MOTYKA-POMAGRUK, A.; SLEDZ, W.; MENGONI, A.; LOJKOWSKA, E. High genomic variability in the plant pathogenic bacterium *Pectobacterium parmentieri* deciphered from de novo assembled complete genomes. **BMC Genomics**, London, v. 19, n. 1, p. 751, 2018.

CAPÍTULO II

Comparative genomic of five strains of *Pectobacterium* spp. causing soft rot in different host plants in Brazil and comparison with related strains

1 **Comparative genomic of five strains of *Pectobacterium* spp. causing soft rot in**
2 **different host plants in Brazil and comparison with related strains**

3

4 Bárbara Gomes Ribeiro ^a, Flavia Aburjaile ^{b#}, Willams Oliveira ^a, Alessandra Jackeline
5 Guedes de Moraes ^a, Bertram Brenig ^c, Vasco Azevedo ^d, Ana Maria Benko-Iseppon ^b,
6 Elineide Barbosa de Souza ^a, and Marco Aurélio Siqueira da Gama ^a

7

8 ^a Department of Agronomy, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife,
9 Pernambuco, Brazil

10 ^b Department of Genetics, Universidade Federal Pernambuco, Recife, Pernambuco,
11 Brazil

12 ^c Institute of Veterinary Medicine, University Göttingen, Göttingen, Germany

13 ^d Department of Genetics, Ecology and Evolution, Universidade Federal de Minas Gerais,
14 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

15

16 **Abstract**

17 The genus *Pectobacterium* harbor species and subspecies causing economically
18 important diseases, as bacterial soft rot and blackleg disease. Since 2017, different species
19 of *Pectobacterium* have been consistently observed in several vegetables in the Northeast
20 region of Brazil. Hence, five strains of *Pectobacterium* were isolated from Chinese
21 cabbage, zucchini, cabbage, and lettuce plants exhibiting soft rot symptoms in the
22 Pernambuco state, Brazil. Genome sequencing of the strains allowed the identification by
23 average nucleotide identity (ANI) and in silico DNA-DNA hybridization (isDDH). The
24 strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596 were identified as *P. brasiliense*,
25 while CCRMPA174 and CCRMPC 339 were characterized as *P. aroidearum* and *P.*
26 *carotovorum*, respectively. Comparative genomic shown highly conserved genes of
27 pectinases, type 2 secretion system clusters and quorum sensing systems, responsible for
28 synthesizing N-acyl homoserine lactone. This gene helps in bacterial survival in its
29 different hosts. Later studies of protein modeling may favor understanding such
30 differences in this protein and possible relationships with its host plants.

31

32 **Keywords:** *Pectobacterium brasiliense*, *P. aroidearum*, *P. carotovorum*, quorum
33 sensing, pathogenicity.

34

35 **1.Introduction**

36 *Pectobacterium* spp. is a necrotrophic Gram-negative bacterium wide distributed
37 on the globe and causes soft rot and blackleg disease in various important crops
38 (PORTIER et al., 2019; VAN DER WOLF et al., 2017). It is a member of Proteobacteria,
39 Gammaproteobacteria class, and can cause disease in 35% of vascular plants (MA et al.,
40 2007).

41 In Brazil, *Pectobacterium carotovorum* is mostly described as causing soft rot in
42 leafy vegetables (SILVA et al.,2007). Other species with scientific importance
43 is *Pectobacterium brasiliense*. It was first described in Brazilian South and is the primary
44 causal agent of black leag disease in potato (*Solanum tuberosum* L.). Since 2017 new
45 species have been reported, namely *Pectobacterium aroidearum* detected causing soft
46 rot in zucchini (*Cucurbita pepo* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), Chinese cabbage
47 (*Brassica pekinensis* Rupr.), and pepper (*Capsicum annuum* L.) (BARROSO et al., 2019;
48 MORAES et al., 2019; MORAES et al., 2020). Also, *P. brasiliense* increased its
49 distribution on the Brazilian map once it is also present in the North of Brazil, causing
50 soft rot in zucchini and kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) (MORAES et al., 2017;
51 QUEIROZ et al., 2017). All the identification on the recent reports are based on 16S
52 rDNA gene phylogenetic reconstruction, even though genomic metrics are reliable tools
53 for the well taxonomic placement of prokaryotes and are highly recommend (CHUN et
54 al., 2018)

55 The pathogenicity factors of *Pectobacterium* spp. can explain the significant
56 amount of plants that are susceptible to its infection. The major pathogenicity factor is
57 the coordinated high-level production of multiple plant cell wall degrading exoenzymes
58 (PCWDE), including pectinases, cellulases, and proteases (CHARKOWSKI *et al.*, 2012;
59 TOTH *et al.*, 2003). The pectate lyase is a type of pectinase that plays an essential role in
60 soft rot symptoms development. As any other exoenzymes, its number varies
61 considerably among species and strains (TOTH *et al.*, 2003). The secretion of these
62 exoenzymes are effectuated by the Type II secretion system (T2SS). It is a double-
63 membrane-spanning protein secretion system composed of 12–15 different general
64 secretory pathway (Gsp) proteins present in various copy numbers (Korotkov et al.,
65 2012).

66 The regulation system quorum sensing is based on a high density of bacteria cell
67 population that controls the expression of the PCWDE's arsenal and T2SS
68 on *Pectobacterium* spp. The first system is dependent on the signal molecule n-acyl-

69 homoserine lactone; the *expI* gene codes two signal molecules, N-(3-oxo-octanoyl)-L-
70 homoserine lactone (3-oxo-C8-AHL) e 3-(oxo-hexanoyl)-L-homoserine lactone (3-oxo-
71 C6-AHL). They are detected by the proteins ExpR1 and ExpR2, and to have the positive
72 answer to produce PCWDE and to have a e detectadas pelas proteínas ExpR1 e ExpR2
73 (CHARKOWSKI *et al.*, 2012; CHATTERJEE *et al.*, 2005).The second system is based
74 on autoinducer molecule AI-2. Still, studies revealed that in the absense of the sintese
75 gene to AI-2 molecule strains only reduce their mobility and production of exoenzymes,
76 affecting their virulence but not their pathogenicity. (COULTHURST *et al.*, 2006,
77 COULTHURST; LILLEY; SALMOND, 2006),

78 The study of the primary pathogenicity factors of *Pectobacterium* spp. provides
79 information about the variability and specificities of factors, helping to better understand
80 the unique genetic features among species and strains (LI *et al.*, 2018). This study brings
81 the comparative genomics of five *Pectobacterium* strains isolated from different plant
82 hosts willing to detect the major pathogenicity factors genes that could help these strains
83 better adapt to their hosts.

84

85

86 **2. Materials and methods**

87 **2.1. Strains isolation and DNA extraction**

88 The five strains were obtained from different plants (**Table 1**), exhibiting soft rot
89 symptoms during field inspections carried out in September 2015 in municipalities of
90 Pernambuco state, Brazil. The strains are deposited at the culture collection of the
91 Laboratory of Phytobacteriology of Universidade Federal Rural de Pernambuco. The
92 strains were grown on the NYDA medium (20 g L⁻¹ of agar, 10 g L⁻¹of dextrose, 5 g L⁻¹
93 of peptone, 5 g L⁻¹ of yeast extract, and 3 L⁻¹g of meat extract) for 36 h at 28°C. Genomic
94 DNA was extracted using the Miniprep kit (Axygen Biosciences, EUA) and quantified
95 by Qubit (5 ng µl⁻¹).). The DNA quality control was performed through electrophoresis
96 gel.

97

98 **2.2. Whole-genome DNA sequencing, assembly, and annotation**

99 The genome sequencing was performed in Illumina HiSeq 2500 platform (Illumina,
100 EUA), and libraries were paired-sequenced (2x 150 bp). The quality of raw sequencing
101 data was evaluated using FastQC v0.11.8 (Babraham Institute, Cambridge, United
102 Kingdom; <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Adapter

103 screening and quality filtering of reads were performed using Trimmomatic 0.36
104 (BOLGER; LOHSE; USADEL, 2014). De novo genome assemblies were performed
105 using SPAdes v3.13.0 (BANKEVICH et al., 2012), selecting the careful option. The
106 quality of assemblies was checked using QUAST v5.0.2 (MIKHEENKO et al., 2018).
107 Assemblies' completeness level was checked with BUSCO Software (SIMÃO et al.,
108 2015). The genomes were structural annotated using PROKKA v. 1.13 (SEEMANN,
109 2014). The metabolic pathways were examined using the KEGG Automatic Annotation
110 Server (KAAS, <http://www.genome.jp/tools/kaas/>).

111

112 **2.3. Comparative genomic analysis**

113 The contigs were blasted against the NCBI Genome Database
114 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>), and 15 close related strains were selected
115 according to e-value to start the genomic taxonomy (Table S1). The average nucleotide
116 identity (ANI) values were calculated using Jspecies software (RICHTER; ROSSELLÓ-
117 MÓRA, 2009), and *in silico* DNA-DNA hybridization (*isDDH*) was performed in
118 Genome-to-Genome Distance Calculator (GGDC 2.0;
119 <http://ggdc.dsmz.de/distcalc2.php>)(AUCH; KLENK; GÖKER, 2010). Both results, were
120 compared to the identification performed by Multilocus sequence analysis (MLSA) using
121 concatenated partial sequences of the genes *icdA*, *gapA*, *mdh*, *recA*, and *proA*, unpushed
122 data. A core protein phylogeny was estimated under the maximum-likelihood (ML)
123 criterion using the consensus core-genome clusters computed by GET_HOMOLOGUES
124 (Contreras-Moreira and Vinuesa, 2013) based on 22 genomes of *Pectobacterium* strains
125 (Table S2). A tree was built using Fast Tree (NGUYEN et al., 2015) with single-copy
126 proteins filtered from the core proteins using GET_PHYLOMARKERS pipeline
127 (VINUESA; OCHOA-SÁNCHEZ; CONTRERAS-MOREIRA, 2018). Complete
128 genome comparisons were conducted using Mauve 2.3.1 comparison software
129 (DARLING et al., 2004). Pectinases genes were selected, namely: pectate lyase (*pel*),
130 pectin lyase (*pnl*), pectinesterase (*pemA*), polygalacturonases (*pehX*), oligogalacturonate
131 lyase (*ogl*), and rhamnogalacturonate lyase (*rhiE*), and curated manually, getting analysed
132 at the protein level to identify homology percentage, as well as QS system genes. T2SS
133 genes were identified using TXSScan MacSyFinder (ABBY et al., 2016), their
134 comparative analysis at the protein level using Uniprot database
135 (<https://www.uniprot.org/>).

136

137 3. Results

138 3.1. Whole-genome DNA sequencing, assembly, and annotation

139 There were obtained a total of 5,716,156, 6,031,584, 7,687,816, 5,957,242, and
 140 5,612,544 raw reads for CCRMPB15, for CCRMPB185, CCRMPB596, CCRMPA174,
 141 and CCRMPC339, respectively (Table 1). The five genomes were assembled in the least
 142 than 30 contigs each and presented sizes varying from 4.97 to 4.78 Mbp, GC content from
 143 51.8 to 52.1%, and a mean coverage of 300x. They were all composed of one circular
 144 chromosome and present 99.5-99.6% completeness level, according to BUSCO software.
 145 The strain CCRMPA174 showed the major N50 composed by 2,851,435 bp and
 146 CCRMPC339, the minor composed by 385,227 bp.

Table 1. Major genomic features of the five strains analyzed in this study.

Features	<i>P. aroidearum</i>	<i>P. brasiliense</i>			<i>P. carotovorum</i>
	CCRMPA174	CCRMPB15	CCRMPB185	CCRMPB596	CCRMPC339
Host	<i>Cucurbita pepo</i> L.	<i>Brassica pekinensis</i> (Lour.) Rupr.	<i>Cucurbita pepo</i> L	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.	<i>Lactuca sativa</i> L.
Genome size (pb)	4,855,864	4,780,950	4,942,207	4,974,696	4,944,520
No. of contigs	15	14	11	28	26
GC content (%)	51.9	51.8	52.1	52.1	51.9
N50 (pb)	2,851,435	318,561	426,132	497,462	385,227
Genome coverage (X)	317	322	312	449	335
Complete BUSCO (%)	99.6	99.5	99.5	99.6	99.6
CDs	4,313	4,265	4,396	4,390	4,430
tRNA	76	70	73	70	70
rRNA	21	10	9	12	13
Other RNA	1	1	1	1	1
GenBank acc. no.		PRJNA630737	PRJNA630728	PRJNA630737	

147

148

149 3.2. Comparative genomic analysis

150 The strains CCRMPA174 is closest related to *P. aroidearum* strains PC1 (NCBI
 151 accession number NC_012917) with the isDDH value of 82.6% and ANIm of 98.13%.
 152 The CCRMPC339 is identified as *P. carotovorum* with isDDH values of 83.6% and
 153 ANIm of 97.4% when compared to *P. carotovorum* strain JR1.1 (NCBI accession number
 154 NZ_CP034237), this result is the only one that reclassified a strain from a MLSA previous

155 study (unpublished), it was first described as a *P. odoriferum*. In turn, the strains
 156 CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596 were equally identified as *P. brasiliense*,
 157 showing isDDH values superior to 75% and ANIm values around 97% when compared
 158 to *P. brasiliense* SX309 (NCBI accession number NZ_CP020350) (Table S3).

159 To compare the Brazilian Northeast strains of *P. brasiliense* (CCRMPB15,
 160 CCRMPB185, and CCRMPB596) to that *P. brasiliense* originated from the Brazilian
 161 South, the strains 1692 (NCBI accession number NZ_CP047495) and LMG21372
 162 (accession number NZ_JQOD01000000) were added to these similarity sequences
 163 analysis. Interesting, the isDDH values varied to 68.2 to 65.4% when paired to all selected
 164 strains to represent *P. brasiliense* species. Once the *P. brasiliense* strains from Brazilian
 165 South, 1692, and LMG21372 are compared to each other, the isDDH value is raised to
 166 82.3%. The same discordance is not seen in ANIm values, that varies from 98.34 to
 167 96.20% in any comparison among the *P. brasiliense* strains (Resumed on Table 2).

168

Table 2. Summary of genomic taxonomy of the studied strains.

Species	Strain	Genomic identification		
		Paired strain	ANI	isDDH
<i>P. aroidearum</i>	CCRMPC174	<i>P. aroidearum</i> PC1	98.13	82.60
<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB15	<i>P. brasiliense</i> SX309	97.27	75.30
		<i>P. brasiliense</i> T 1692	96.20	67.00
		<i>P. brasiliense</i> LMG 21372	96.26	66.70
<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB185	<i>P. brasiliense</i> SX309	97.77	79.60
		<i>P. brasiliense</i> T 1692	96.30	67.80
		<i>P. brasiliense</i> LMG 21372	96.34	66.80
<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB596	<i>P. brasiliense</i> SX309	97.54	77.80
		<i>P. brasiliense</i> T 1692	96.41	68.60
		<i>P. brasiliense</i> LMG 21372	96.46	67.00
<i>P. carotovorum</i>	CCRMPC339	<i>P. carotovorum</i> JR1.1	97.57	77.70

169

170 A phylogenomic tree was built with core proteins (Fig. 1.) displays the proximity
 171 of the strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRM596 to the genomes of *P.*
 172 *brasiliense* strains BZA12, HNP1719, and SX309, also showing a near clade composed
 173 by *P. Brasiliense* strains 1692 and LMG21372. Furthermore, the CCMPC174 and
 174 CCRMPC339 strains are placed in clades composed of *P. aroidearum* and *P.*

175 *carotovorum*, respectively.

176

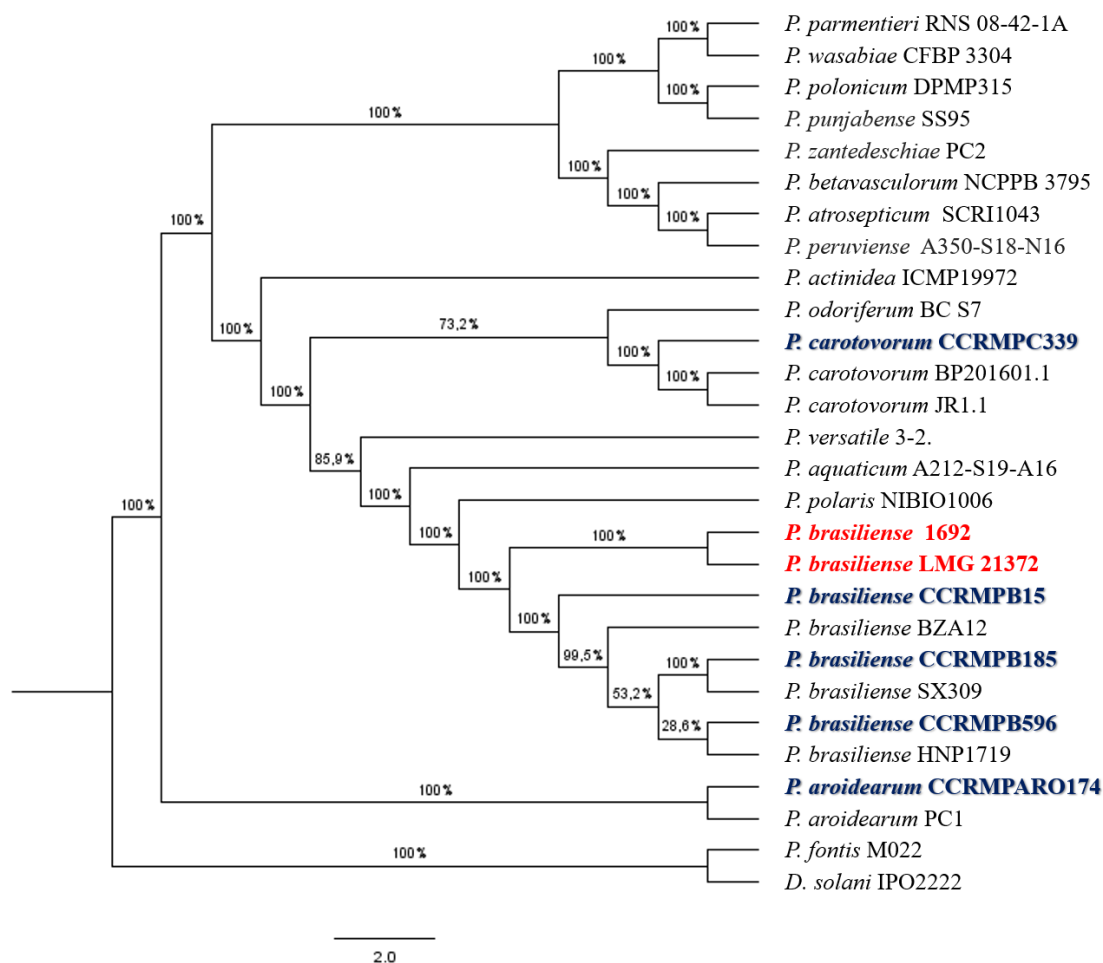


Fig. 1. Phylogenomic analysis of Brazilian *Pectobacterium* strains (CCRMPARO174, CCRMPB15, CCRMPB185, CCRMPB596 and CCRMP339) and members of the genus *Pectobacterium*, based on 988 core proteins. The maximum-likelihood tree was reconstructed using Fast Tree software (NGUYEN et al., 2015). In red, are the Brazilian *P. brasiliense* strains originated from the South.

177 3.3. Genomic comparative analyses

178 The alignments of the strains of *P. brasiliense* (CCRMPB15, CCRMPB185, and
179 CCRMPB596) showed that the three strains were close to each other and presented large
180 local collinear blocks (LCB) inversions (Fig. 2B). A core of 3,662 proteins cluster and
181 large number of unique proteins clusters were observed in the genomes of these three
182 strains (Fig. 3B).

183 The genome of the strain *P. aroidearum* CCRMPA174 was aligned against the

184 genomes *P. carotovorum* CCRMP339, showing the proximity of these strains.
 185 Together, they harbor a core of 3,531 proteins clusters s. A Ven diagram comparing
 186 CCRMPA174, CCRMPB15, CCRMPB185, CCRMPB596 and CCRMP339 strains
 187 showed a core of 3,386 proteins clusters, and *P. brasiliense* CCRMPB596 has only one
 188 unique protein cluster, while *P. brasiliense* CCRMPB15 presented eight unique protein
 189 cluster and *P. brasiliense* CCRMPB185 15 unique proteins clusters.

190

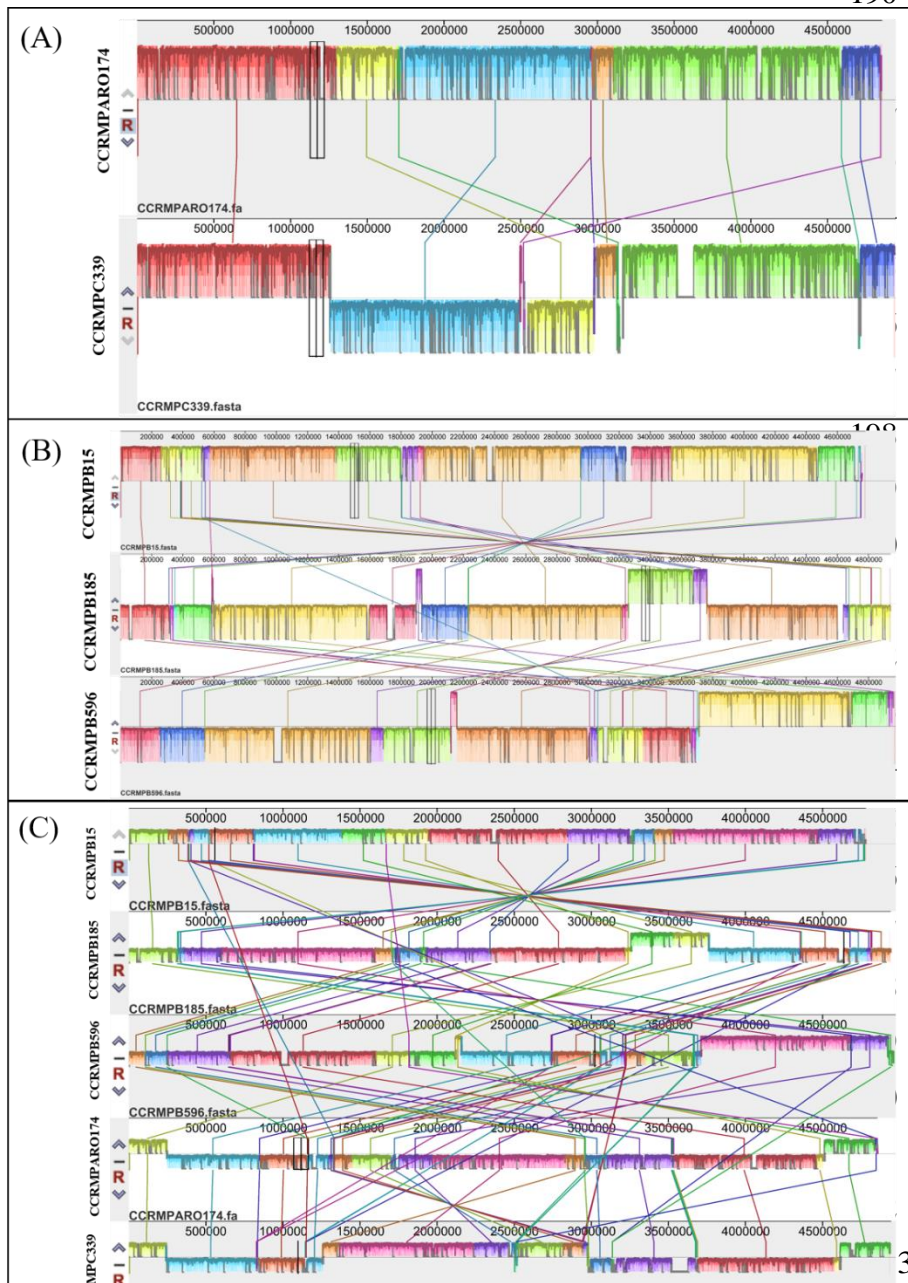


Fig. 2. A- Alignment of *P. carotovorum* strains CCRMP339 and *P. aroidearum* CCRMPARO174; **B-** Alignment of *P. brasiliense* strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596; **C-** Alignment of the five strains.

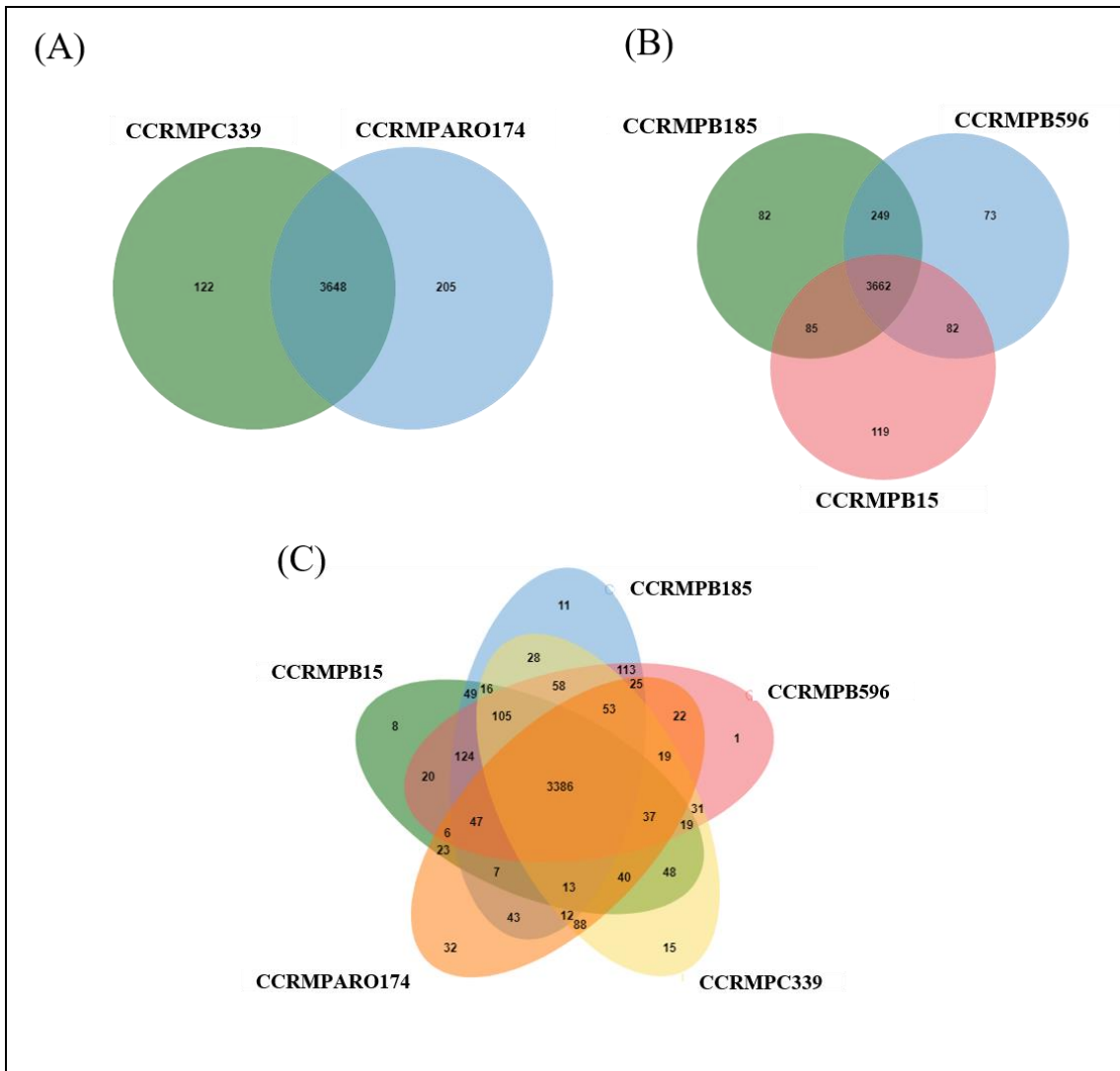


Fig. 3. A- Ven diagram clustering orthologous proteins clusters between of *P. carotovorum* strains CCRMPC339 and *P. aroidearum* CCRMPARO174; B- Comparison among *P. brasiliense* strains; C- Comparison made with the five strains of this study. shared and unique from each species .

220 **3.4. Pectinases**

221 The genes selected to the studied strains to represent different groups of pectinases,
 222 namely: pectate lyase (*pel*), pectin lyase (*pnl*), pectinesterase (*pemA*), polygalacturonases
 223 (*pehX*), oligogalacturonate lyase (*ogl*), and rhamnogalacturonate lyase (*rhiE*) showed
 224 high levels of identity, > 90% were observed among the strains CCRMPA174,
 225 CCRMPB15, CCRMPB185, CCRMPB596 and CCRMPC339 to the *pel*, *pnl*, *pehX*, *ogl*,

226 and *rhiE* genes and the only exception was the gene *pemA*, with identity inferior to around
 227 89% (Table S3). For this reason, a phylogenetic analysis of *pemA* was made to evaluate
 228 its evolution within the CCRM strains, showing that among the *P. brasiliense* strains this
 229 gene is highly conserved (Fig. 4A).

230

231 3.5. Type II secretion system

232 The comparative analysis of the T2SS gene cluster (*gspCDEFGHIJKLMN* and *pilD*)
 233 showed conservation at the protein level and in chromosome location of all the strains
 234 (Table S4). The gene *gspE* was selected for phylogenetic reconstruction and reaffirmed
 235 the conservation level among the studied strains (Fig. 4B).

236

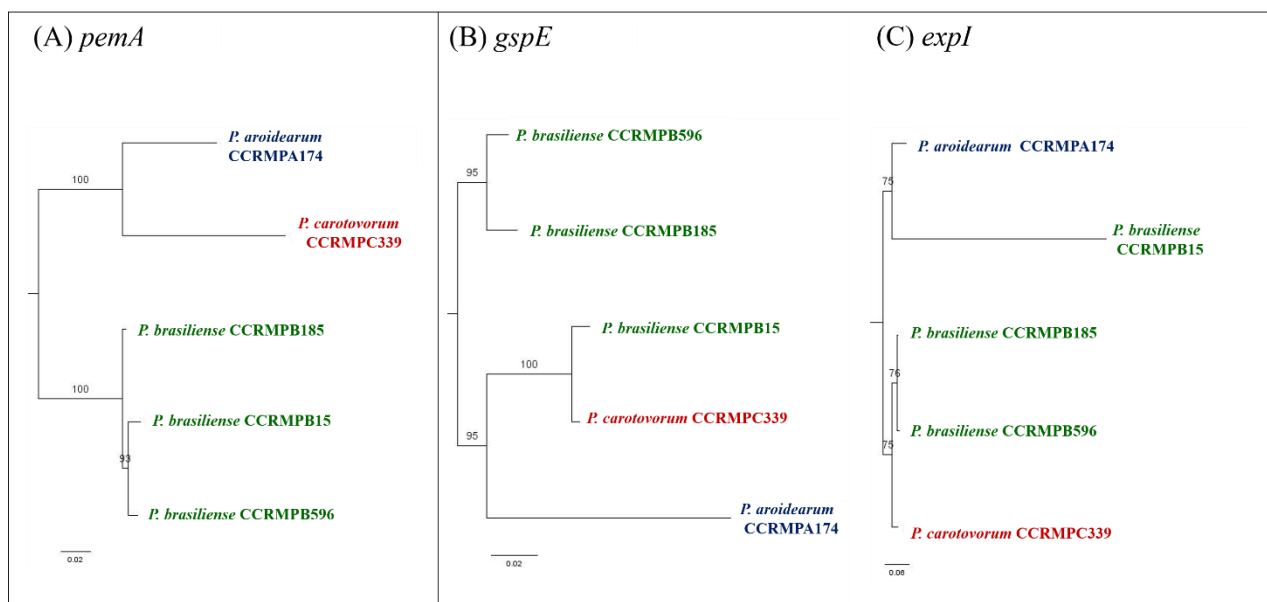


Fig. 4. Maximum-likelihood trees showing the phylogenetic relationship between *Pectobacterium aroidearum* CCRMPA174, *P. brasiliense* strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596, *P. carotovorum* CCRMP339 base on: A- *pemA*, B- *gspE* and C-*expI* genes

237

238 3.6. Quorum sensing

239 Two QS systems were identified. The N-acyl homoserine lactone (AHL)-
 240 dependent system based on *expI* (molecule synthase gene) and *expR1* (coding gene to
 241 the protein receptor) and also *ExpR2*, that may or not be present in *Pectobacterium* spp.
 242 They were all present in the strains genome and show high level of homology, except for
 243 strain CCRMPB15 of *P. brasiliense*, where *expI* showed 76% of identity and *expR1* 62%.

244 A phylogenetic reconstruction of the *expI* gene was made and displayed two clades, one
245 composed by *P. brasiliense* strains CCRM185, CCRMPB596 and *P. carotovorum*
246 CCRMPB339 and other composed by *P. brasiliense* CCRMPB15 and *P. aroidearum*
247 CCRMPA174, showing bootstraps of 75% (Fig. 4C). The *ExpR2* gene showed high
248 identity. The *LuxS* homologue, component of autoinducer 2 quorum sensing system, also
249 revealed high percentage of identity (Table S4).

250

251

252 **4. Discussion**

253 The genomic taxonomy identification offers a reproductive, reliable, and highly
254 informative inferences (CHUN; RAINEY, 2014). ANIm and isDDH were able to identify
255 the strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596 as *P. brasiliense*, while
256 CCRMPA174 and CCRMPB339 were identified as *P. aroidearum* and *P. carotovorum*,
257 respectively. These strains were isolated from different plant hosts but in similar
258 environmental conditions of crop production in fields of the Brazilian Northeast region.
259 The Southern Brazilian *P. brasiliense* strains 1962 and LMG21372 displayed isDDH
260 values below 70% when compared to other *P. brasiliense* strains. It is known that some
261 representants from *P. brasiliense* species, when submitted to multilocus sequence
262 analysis, shows two well defined clades (MENG et al., 2017). Thus, possibly the reduced
263 values from isDDH found in those species have resulted from a natural variability that
264 should be investigated further.

265 Alignment of the CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596 strains
266 displayed the occurrence of large local collinear blocks (LCB) inversions. These
267 processes of chromosomal rearrangements may have appeared during a long time of
268 evolution and selective pressure under specific environmental conditions assisting
269 adaptation processes in the microbial population (RAESIDE et al., 2014). Alignments of
270 pectinases genes and T2SS showed high percentage of identity. Different pectinases play
271 a major role in the virulence of *Pectobacterium* genus, they are encoded by independent
272 genes that can also appear duplicated (TOTH et al., 2003). T2SS is extremely important
273 to soft rot pathogens, once it allows the secretion of pectinases and cellulases
274 (CHARKOWSKI et al., 2012). Besides, studies revealed the inactivation of this secretory
275 system promotes avirulent *Pectobacterium* strains (PIRHONEN et al., 1991).

276 The quorum sensing is a regulatory mechanism in which gene expression is activated by
277 the accumulation of some chemical signaling molecules (ABISADO et al., 2018). The

278 five strains of this study showed the systems depending on N-acyl-homoserine lactone
 279 and the autoinducer 2. Interesting, only the *P. Brasiliense* CCRMPB15 displayed low
 280 values of homology among the *expI* and *expRI*. The phylogenetic reconstruction revealed
 281 a bootstrap value of 74% of *expI* gene in a clade formed by the three *P. brasiliense* strains.
 282

283 5. Conclusion

284 This study provided characterization of five new genomes resources of
 285 *Pectobacterium* strains in Northeast Brazilian: *P. aroidearum* CCRMPA174, *P.*
 286 *brasiliense* strains CCRMPB15, CCRMPB185 and CCRMPB596, and *P. carotovorum*
 287 CCRM339, originated from Brazilian Northeast, revealing the conserved proteins of
 288 pectinases, T2SS, and quorum sensing.
 289

290 Acknowledgements

291 We thank the Institute of Veterinary Medicine - University of Göttingen for the
 292 DNA sequencing
 293

294 **Funding:** This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
 295 Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
 296 Tecnológico (CNPq), and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de
 297 Pernambuco (FACEPE).
 298

299 References

- 300 .Abby, S.S., Cury, J., Guglielmini, J., Néron, B., Touchon, M., Rocha, E.P.C., 2016.
 301 Identification of protein secretion systems in bacterial genomes. *Sci Rep* 6, 23080.
 302 <https://doi.org/10.1038/srep23080>
- 303 Abisado, R.G., Benomar, S., Klaus, J.R., Dandekar, A.A., Chandler, J.R., 2018. Bacterial
 304 Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBio* 9, e02331-17,
 305 [/mbio/9/3/mBio.02331-17.atom](https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17). <https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17>
- 306 Auch, A.F., Klenk, H.-P., Göker, M., 2010. Standard operating procedure for calculating
 307 genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs. *Stand*
 308 *Genomic Sci* 2, 142–148. <https://doi.org/10.4056/sigs.541628>
- 309 Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A.A., Dvorkin, M., Kulikov, A.S., Lesin,
 310 V.M., Nikolenko, S.I., Pham, S., Prjibelski, A.D., Pyshkin, A.V., Sirotkin, A.V.,
 311 Vyahhi, N., Tesler, G., Alekseyev, M.A., Pevzner, P.A., 2012. SPAdes: A New
 312 Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing.
 313 *Journal of Computational Biology*. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- 314 Barroso, K.A., Moraes, A.J.G., Mariano, R.L.R., Gama, M. a. S., Souza, E.B., Queiroz,
 315 M.F., Silva, G.S.P., Da Paz, C.D., Peixoto, A.R., 2019. First Report of
 316 *Pectobacterium aroidearum* Causing Soft Rot in Lettuce and Chinese Cabbage in

- 317 Brazil. *Plant Disease* 103, 3274. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2237-PDN>
- 318 Bolger, A.M., Lohse, M., Usadel, B., 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina
319 sequence data. *Bioinformatics* 30, 2114–2120.
320 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- 321 Charkowski, A., Blanco, C., Condemine, G., Expert, D., Franza, T., Hayes, C.,
322 Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Solanilla, E.L., Low, D., Moleleki, L., Pirhonen,
323 M., Pitman, A., Perna, N., Reverchon, S., Rodríguez Palenzuela, P., San
324 Francisco, M., Toth, I., Tsuyumu, S., van der Waals, J., van der Wolf, J., Van
325 Gijsegem, F., Yang, C.-H., Yedidia, I., 2012. The Role of Secretion Systems and
326 Small Molecules in Soft-Rot Enterobacteriaceae Pathogenicity. *Annual Review of*
327 *Phytopathology* 50, 425–449. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-173013>
- 329 Chun, J., Oren, A., Ventosa, A., Christensen, H., Arahall, D.R., da Costa, M.S., Rooney,
330 A.P., Yi, H., Xu, X.-W., De Meyer, S., Trujillo, M.E., 2018. Proposed minimal
331 standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes.
332 *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68, 461–466.
333 <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002516>
- 334 Chun, J., Rainey, F.A., 2014. Integrating genomics into the taxonomy and systematics of
335 the Bacteria and Archaea. *International Journal of Systematic and Evolutionary*
336 *Microbiology*, 64, 316–324. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.054171-0>
- 337 Darling, A.C.E., Mau, B., Blattner, F.R., Perna, N.T., 2004. Mauve: Multiple Alignment
338 of Conserved Genomic Sequence With Rearrangements. *Genome Res.* 14, 1394–
339 1403. <https://doi.org/10.1101/gr.2289704>
- 340 Dees, M.W., Lysøe, E., Rossmann, S., Perminow, J., Brurberg, M.B., 2017.
341 *Pectobacterium polaris* sp. nov., isolated from potato (*Solanum tuberosum*).
342 *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67, 5222–
343 5229. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002448>
- 344 Duarte, V., De Boer, S.H., Ward, L.J., Oliveira, A.M.R., 2004. Characterization of
345 atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *J Appl*
346 *Microbiol* 96, 535–545. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02173.x>
- 347 Gardan, L., Gouy, C., Christen, R., Samson, R., 2003. Elevation of three subspecies of
348 *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp.
349 nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp.
350 nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, 381–
351 391. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02423-0>
- 352 Hauben, L., Moore, E.R.B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L.,
353 Swings, J., 1998. Phylogenetic Position of Phytopathogens within the
354 Enterobacteriaceae. *Systematic and Applied Microbiology* 21, 384–397.
355 [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(98\)80048-9](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(98)80048-9)
- 356 Khayi, S., Cigna, J., Chong, T.M., Quêtu-Laurent, A., Chan, K.-G., Hélias, V., Faure, D.,
357 2016. Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to
358 *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. *International Journal of Systematic and*
359 *Evolutionary Microbiology* 66, 5379–5383.
360 <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001524>
- 361 Korotkov, K. V., Sandkvist, M., Hol, W. G. 2012. The type II secretion system:
362 biogenesis, molecular architecture and mechanism. *Nature Reviews*
363 *Microbiology*, 10, 336–351. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2762>
- 364 Li, L., Yuan, L., Shi, Y., Xie, X., Chai, A., Wang, Q., Li, B., 2019. Comparative genomic
365 analysis of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* SX309 provides novel
366 insights into its genetic and phenotypic features. *BMC Genomics* 20, 486.

- 367 <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5831-x>
- 368 Li, X., Ma, Y., Liang, S., Tian, Y., Yin, S., Xie, S., Xie, H., 2018. Comparative genomics
369 of 84 *Pectobacterium* genomes reveals the variations related to a pathogenic
370 lifestyle. BMC Genomics 19, 889. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5269-6>
- 371 Ma, B., Hibbing, M.E., Kim, H.-S., Reedy, R.M., Yedidia, I., Breuer, Jane, Breuer,
372 Jeffrey, Glasner, J.D., Perna, N.T., Kelman, A., Charkowski, A.O., 2007. Host
373 Range and Molecular Phylogenies of the Soft Rot Enterobacterial Genera
374 *Pectobacterium* and *Dickeya*. Phytopathology 97, 1150–1163.
375 <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-9-1150>
- 376 Meng, X., Chai, A., Shi, Y., Xie, X., Ma, Z., Li, B., 2017. Emergence of Bacterial Soft
377 Rot in Cucumber Caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in
378 China. Plant Disease 101, 279–287. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0763-RE>
- 380 Mikheenko, A., Prjibelski, A., Saveliev, V., Antipov, D., Gurevich, A., 2018. Versatile
381 genome assembly evaluation with QUAST-LG. Bioinformatics 34, i142–i150.
382 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty266>
- 383 Moraes, A.J.G., Souza, E.B., Mariano, R.L.R., Silva, A.M.F., Lima, N.B., Peixoto, A.R.,
384 Gama, M.A.S., 2017. First Report of *Pectobacterium aroidearum* and
385 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* Causing Soft Rot of *Cucurbita*
386 *pepo* in Brazil. Plant Disease 101, 379. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-16-1168-PDN>
- 388 Moraes, A.J.G. de, Baia, A.D.B., Souza, E.B., Peixoto, A.R., Barroso, K.A., Almeida, C.
389 de O., Balbino, V.Q., da Silva Júnior, W.J., Gama, M.A.S., 2020. First report of
390 *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot of pepper (*Capsicum annuum*) fruits
391 in Brazil. Plant Disease. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0403-PDN>
- 392 Nabhan, S., De Boer, S.H., Maiss, E., Wydra, K., 2013. *Pectobacterium aroidearum* sp.
393 nov., a soft rot pathogen with preference for monocotyledonous plants.
394 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63, 2520–
395 2525. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.046011-0>
- 396 Nguyen, L.-T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: a fast and
397 effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies.
398 Mol. Biol. Evol. 32, 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- 399 Oulghazi, S., Cigna, J., Lau, Y.Y., Moumni, M., Chan, K.G., Faure, D., 2019. Transfer
400 of the waterfall source isolate *Pectobacterium carotovorum* M022 to
401 *Pectobacterium fontis* sp. nov., a deep-branching species within the genus
402 *Pectobacterium*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 69, 470–475.
403 <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003180>
- 404 Pasanen, M., Waleron, M., Schott, T., Cleenwerck, I., Misztak, A., Waleron, K.,
405 Pritchard, L., Bakr, R., Degefú, Y., van der Wolf, J., Vandamme, P., Pirhonen,
406 M., 2020. *Pectobacterium parvum* sp. nov., having a *Salmonella* SPI-1-like Type
407 III secretion system and low virulence. International Journal of Systematic and
408 Evolutionary Microbiology, 70, 2440–2448.
409 <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004057>
- 410 Pirhonen, M., Saarilahti, H.T., Karlsson, M.-B., Palva, E.T., 1991. Identification of
411 pathogenicity determinants of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by
412 transposon mutagenesis. Molecular Plant - Microbe Interactions 4, 276–283.
- 413 Portier, P., Pédrón, J., Taghouti, G., Fischer-Le Saux, M., Caullireau, E., Bertrand, C.,
414 Laurent, A., Chawki, K., Oulgazi, S., Moumni, M., Andrivon, D., Dutrieux, C.,
415 Faure, D., Hélias, V., Barny, M.-A., 2019. Elevation of *Pectobacterium*
416 *carotovorum* subsp. *odoriferum* to species level as *Pectobacterium odoriferum* sp.

- 417 nov., proposal of *Pectobacterium brasiliense* sp. nov. and *Pectobacterium*
418 *actinidiae* sp. nov., emended description of *Pectobacterium carotovorum* and
419 description of *Pectobacterium versatile* sp. nov., isolated from streams and
420 symptoms on diverse plants. International Journal of Systematic and Evolutionary
421 Microbiology 69, 3207–3216. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003611>
- 422 Queiroz, M.F., Albuquerque, G.M.R., Gama, M. a. S., Mariano, R.L.R., Moraes, A.J.G.,
423 Souza, E.B., Souza, J.B., Da Paz, C.D., Peixoto, A.R., 2017. First Report of Soft
424 Rot in Kale Caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in Brazil.
425 Plant Disease 101, 2144–2144. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-17-0266-PDN>
- 426 Raeside, C., Gaffé, J., Deatherage, D.E., Tenailon, O., Briska, A.M., Ptashkin, R.N.,
427 Cruveiller, S., Médigue, C., Lenski, R.E., Barrick, J.E., Schneider, D., 2014.
428 Large Chromosomal Rearrangements during a Long-Term Evolution Experiment
429 with *Escherichia coli*. mBio 5. <https://doi.org/10.1128/mBio.01377-14>
- 430 Richter, M., Rosselló-Móra, R., 2009. Shifting the genomic gold standard for the
431 prokaryotic species definition. PNAS. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906412106>
- 432 Sarfraz, S., Riaz, K., Oulghazi, S., Cigna, J., Sahi, S.T., Khan, S.H., Faure, D., 2018.
433 *Pectobacterium punjabense* sp. nov., isolated from blackleg symptoms of potato
434 plants in Pakistan. International Journal of Systematic and Evolutionary
435 Microbiology 68, 3551–3556. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003029>
- 436 Seemann, T., 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics 30,
437 2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- 438 Simão, F.A., Waterhouse, R.M., Ioannidis, P., Kriventseva, E.V., Zdobnov, E.M., 2015.
439 BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-
440 copy orthologs. Bioinformatics 31, 3210–3212.
441 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv351>
- 442 Toth, I.K., Bell, K.S., Holeva, M.C., Birch, P.R.J., 2003. Soft rot erwiniae: from genes to
443 genomes. Mol. Plant Pathol. 4, 17–30. [https://doi.org/10.1046/j.1364-](https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00149.x)
444 [3703.2003.00149.x](https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00149.x)
- 445 van der Wolf, J.M., de Haan, E.G., Kastelein, P., Krijger, M., de Haas, B.H., Velvis, H.,
446 Mendes, O., Kooman-Gersmann, M., van der Zouwen, P.S., 2017. Virulence of
447 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* on potato compared with that of
448 other *Pectobacterium* and *Dickeya* species under climatic conditions prevailing in
449 the Netherlands. Plant Pathol 66, 571–583. <https://doi.org/10.1111/ppa.12600>
- 450 Vinuesa, P., Ochoa-Sánchez, L.E., Contreras-Moreira, B., 2018.
451 GET_PHYLOMARKERS, a Software Package to Select Optimal Orthologous
452 Clusters for Phylogenomics and Inferring Pan-Genome Phylogenies, Used for a
453 Critical Geno-Taxonomic Revision of the Genus *Stenotrophomonas*. Frontiers in
454 Microbiology 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00771>
- 455 Waleron, Malgorzata, Misztak, A., Waleron, Michal, Franczuk, M., Jońca, J., Wielgomas,
456 B., Mikiciński, A., Popović, T., Waleron, K., 2019a. *Pectobacterium*
457 *zantedeschiae* sp. nov. a new species of a soft rot pathogen isolated from Calla
458 lily (*Zantedeschia* spp.). Systematic and Applied Microbiology 42, 275–283.
459 <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.08.004>
- 460 Waleron, Malgorzata, Misztak, A., Waleron, Michal, Franczuk, M., Wielgomas, B.,
461 Waleron, K., 2018. Transfer of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*
462 strains isolated from potatoes grown at high altitudes to *Pectobacterium*
463 *peruviense* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology 41, 85–93.
464 <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2017.11.005>
- 465 Waleron, Malgorzata, Misztak, A., Waleron, Michal, Jonca, J., Furmaniak, M., Waleron,
466 K., 2019b. *Pectobacterium polonicum* sp. nov. isolated from vegetable fields.

467 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 69, 1751–
468 1759. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003387>
469
470
471
472
473

Supplementary data

Supplementary table 1. List of bacterial strains used to perform analysis of average nucleotide identity (ANI) and in silico DNA-DNA hybridization (*isDDH*).

	Species	Strain	Acession Number
1	<i>P. aroidearum</i>	CCRMPA174	
2	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB15	PRJNA630737
3	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB185	PRJNA630728
4	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB596	PRJNA630770
5	<i>P. carotovorum</i>	CCRMPC339	
6	<i>P. aroidearum</i>	PC1	NC_012917
7	<i>P. atrosepticum</i>	SCRI1043	NC_004547
8	<i>P. brasiliense</i>	SX309	NZ_CP020350
9	<i>P. brasiliense</i>	HNP1719	CP046380
10	<i>P. brasiliense</i>	BZA12	NZ_CP024780
11	<i>P. brasiliense</i> *	1692	NZ_CP047495
12	<i>P. brasiliense</i> *	LMG 21372	NZ_JQOD01000000
13	<i>P. carotovorum</i>	JR1	NZ_CP034237
14	<i>P. carotovorum</i>	BP201601.1	NZ_CP034236
15	<i>P. odoriferum</i>	BC S7	NZ_CP009678
16	<i>P. odoriferum</i>	JK2.1	NZ_CP034938
17	<i>P. parmentieri</i>	RNS 08-42-1A	NZ_CP015749
18	<i>P. polaris</i>	NIBIO1006	NZ_CSTC01000000
19	<i>P. versatile</i>	3-2.	NZ_CP024842
20	<i>P. wasabiae</i>	CFBP 3304	NZ_CP015750

Supplementary table 2. List of bacterial strains used to perform analysis of average nucleotide identity (ANI) and in silico DNA-DNA hybridization (isDDH).

	Species	Strain	Acession Number
1	<i>P. aroidearum</i>	CCRMPA174	
2	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB15	PRJNA630737
3	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB185	PRJNA630728
4	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB596	PRJNA630770
5	<i>P. carotovorum</i>	CCRMPC339	
6	<i>P. actinidea</i>	ICMP19972	NZ_MPUJ01000001
7	<i>P. aquaticum</i>	A212-S19-A16	NZ_QHJR02000022.1
8	<i>P. aroidearum</i>	PC1	NC_012917
9	<i>P. atrosepticum</i>	SCRI1043	NC_004547
10	<i>P. betavascularum</i>	NCPFB 3795	NZ_JQHM01000001
11	<i>P. brasiliense</i>	SX309	NZ_CP020350
12	<i>P. brasiliense</i>	HNP1719	CP046380
13	<i>P. brasiliense</i>	BZA12	NZ_CP024780
14	<i>P. brasiliense</i>	1692	NZ_CP047495
15	<i>P. brasiliense</i>	LMG 21372	NZ_JQOD01000000
16	<i>P. carotovorum</i>	JR1	NZ_CP034237
17	<i>P. carotovorum</i>	BP201601.1	NZ_CP034236
18	<i>P. fontis</i>	M022	NZ_JSXC01000000
19	<i>P. odoriferum</i>	BC S7	NZ_CP009678
20	<i>P. parmentieri</i>	RNS 08-42-1A	NZ_CP015749
21	<i>P. peruviense</i>	A350-S18-N16	NZ_PYUP01000000
22	<i>P. polaris</i>	NIBIO1006	NZ_CSTC01000000
23	<i>P. polonicum</i>	DPMP315	NZ_RJTN01000000
24	<i>P. punjabense</i>	strain SS95	NZ_CP038498
25	<i>P. versatile</i>	3-2.	NZ_CP024842
26	<i>P. wasabiae</i>	CFBP 3304	NZ_CP015750
27	<i>P. zantedeschiae</i>	PC2	NZ_QETE01000000
28	<i>D. Solani*</i>	IPO2222	NZ_CM001859

Supplementary table 3. ANIm and isDDH values calculated for CCRMPARO174, CCRMPB15, CCRMPB185, CCRMPB596 and CCRMPC339 against 15 related *Pectobacterium* species. The lower left triangle shows the isDDH values and the upper right triangle shows the

ID	Species	Strains	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB15	-	97.28	97.30	93.55	90.89	97.27	97.32	97.28	96.20	96.26	93.59	93.56	90.87	94.19	93.05	92.65	92.79	89.74	89.34	89.26
2	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB185	75.3	-	97.53	93.42	90.90	97.77	97.73	97.47	96.30	96.34	93.49	93.44	90.79	94.19	93.04	92.57	92.72	89.67	89.42	89.26
3	<i>P. brasiliense</i>	CCRMPB596	75.3	77.80	-	93.41	90.87	97.54	97.54	97.45	96.41	96.46	93.46	93.41	90.78	94.19	93.00	92.54	92.74	89.65	89.43	89.21
4	<i>P. carotovorum</i>	CCRMPC339	52.00	51.30	51.50	-	90.47	93.44	93.40	93.42	93.23	93.29	97.57	97.57	90.47	93.48	95.52	95.22	95.47	89.87	89.36	89.27
5	<i>P. aroidearum</i>	CCRMPA174	41.80	41.80	41.60	40.20	-	90.86	90.88	90.94	90.81	90.88	90.49	90.43	98.13	90.52	90.31	90.20	90.30	89.19	88.87	88.87
6	<i>P. brasiliense</i>	SX309	75.30	79.60	77.80	51.40	41.70	-	97.66	97.46	96.27	96.30	93.56	93.51	90.87	94.21	93.07	92.62	92.80	89.75	89.45	89.28
7	<i>P. brasiliense</i>	HNP1719	75.90	78.90	77.80	51.60	41.90	78.00	-	97.45	96.29	96.33	93.48	93.42	90.85	94.23	93.05	92.58	92.74	89.71	89.32	89.29
8	<i>P. brasiliense</i>	BZA12	75.10	76.40	76.90	51.60	41.80	76.50	77.20	-	96.27	96.35	93.55	93.52	90.91	94.23	93.03	92.64	92.81	89.76	89.36	89.31
9	<i>P. brasiliense</i> (South Brazil)	1692	67.00	67.80	68.60	50.70	41.40	67.50	68.10	68.20	-	98.34	93.27	93.24	90.77	94.03	92.84	92.43	92.61	89.69	89.30	89.24
10	<i>P. brasiliense</i> (South Brazil)	LMG21372	66.70	66.80	67.00	50.50	41.70	65.40	67.30	67.00	82.30	-	93.30	93.24	90.83	94.05	92.89	92.47	92.57	89.72	89.29	89.23
11	<i>P. carotovorum</i>	JR1.1	52.20	51.70	51.80	77.70	40.30	52.00	52.00	52.30	51.00	50.50	-	98.19	90.43	93.58	95.58	95.27	95.52	89.95	89.40	89.37
12	<i>P. carotovorum</i>	BP201601.1	52.20	51.60	51.60	77.20	40.20	51.90	51.70	52.00	50.70	50.20	83.60	-	90.41	93.54	95.67	95.29	95.57	89.96	89.42	89.33
13	<i>P. aroidearum</i>	PC1	41.60	41.40	41.30	40.30	82.60	41.70	41.70	41.60	41.30	41.70	40.30	40.20	-	90.53	90.28	90.17	90.27	89.25	88.89	88.90
14	<i>P. polaris</i>	NIBIO1006	55.70	55.60	55.70	52.10	40.60	55.60	55.60	55.90	54.60	53.80	52.50	52.40	40.40	-	94.01	92.86	93.17	89.87	89.37	89.29
15	<i>P. versatile</i>	3-2.	50.00	50.00	49.90	62.90	39.80	50.10	50.20	50.10	49.20	48.40	63.60	64.10	39.80	54.70	-	95.05	95.45	89.92	89.39	89.31
16	<i>P. odoriferum</i>	BC S7	48.40	47.90	47.90	61.00	39.60	48.20	48.10	48.30	47.50	47.50	61.60	61.80	39.50	49.20	59.90	-	97.01	89.77	89.27	89.24
17	<i>P. odoriferum</i>	JK2.1	48.90	48.60	48.60	62.60	39.70	48.70	49.00	49.00	48.10	47.10	63.00	63.20	39.80	50.60	62.30	73.20	-	89.86	89.35	89.32
18	<i>P. atrosepticum</i>	SCRI1043	38.10	37.90	37.90	38.30	36.70	38.10	38.00	38.00	38.00	38.40	38.50	38.50	36.70	38.50	38.60	38.40	38.30	-	90.45	90.23
19	<i>P. wasabiae</i>	CFBP 3304	36.70	37.10	37.00	36.70	35.80	37.10	36.80	36.80	36.50	36.90	36.80	36.90	35.60	36.80	36.90	36.70	36.80	40.20	-	94.10
20	<i>P. parmentieri</i>	RNS 08-42-1A	36.50	36.50	36.30	36.60	35.60	36.60	36.70	36.50	36.40	36.70	36.60	36.70	35.70	36.60	36.80	36.50	36.70	39.40	54.70	-

Supplementary table 4. Pectinases analysis of *Pectobacterium aroidearum* CCRMPA174, *P. brasiliense* strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596, *P. carotovorum* strain CCRMPC339

PECTINASE GENES	<i>P. aroidearum</i> CCRMPA174			CCRMPB15				<i>P. brasiliense</i> CCRMPB185				CCRMPB596				<i>P. carotovorum</i> CCRMPC339				
	Start codon	Stop codon	Orientation	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	
Pectate lyase																				
<i>pell</i>	ATG	TAA	reverse	ATG	TAA	forward	99	ATG	TAA	reverse	98	ATG	TAA	reverse	98	ATG	TAA	reverse	99	
Pectin lyase																				
<i>pnl</i>	ATG	TAA	reverse	ATG	TAA	forward	94	ATG	TAA	reverse	94	ATG	TAA	reverse	94	ATG	TAA	reverse	97	
Pectinesterase																				
<i>pemA</i>	ATG	TAA	reverse	ATG	TAA	forward	89	ATG	TAA	reverse	88	ATG	TAA	reverse	89	ATG	TAA	forward	93	
Polygalacturonases																				
<i>pehX</i>	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	95	ATG	TAA	forward	96	ATG	TAA	forward	95	ATG	TAA	reverse	95	
Oligogalacturonate lyase																				
<i>ogl</i>	ATG	TAA	reverse	ATG	TAA	forward	99	ATG	TAA	reverse	99	ATG	TAA	forward	99	ATG	TAA	forward	99	
Rhamnogalacturonate lyase																				
<i>rhiE</i>	GTG	TAA	reverse	GTG	TAA	forward	95	GTG	TAA	reverse	95	GTG	TAA	reverse	95	GTG	TAA	reverse	94	

Supplementary table 5. Quorum sensing genes analysis of *Pectobacterium aroidearum* CCRMPA174, *P. brasiliense* strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596, and *P. carotovorum* strain CCRMPB339

QUORUM SENSING GENES	<i>P. aroidearum</i> CCRMPA174			CCRMPB15				<i>P. brasiliense</i> CCRMPB185				CCRMPB596				<i>P. carotovorum</i> CCRMPB339			
	Start codon	Stop codon	Orientation	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop codon	Orientation	Identity (%)
AHLs (N-Acyl homoserine lactones) quorum-sensing system																			
<i>expI</i>	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	forward	76	ATG	TGA	forward	97	ATG	TGA	reverse	97	ATG	TGA	forward	98
<i>expR1</i>	ATG	TAG	reverse	ATG	TAG	reverse	62	ATG	TAG	reverse	95	ATG	TAG	forward	94	ATG	TAG	reverse	95
<i>expR2</i>	ATG	TGA	forward	ATG	TAA	reverse	98	ATG	TAA	forward	98	ATG	TAA	forward	98	ATG	TAA	forward	98
LuxS/AI-2 (Autoinducer 2) quorum-sensing system																			
<i>luxS</i>	ATG	TAG	forward	ATG	TAG	reverse	99	ATG	TAG	forward	99	ATG	TAG	forward	99	ATG	TAG	forward	99

Supplementary table 6. T2SS analysis of *Pectobacterium aroidearum* CCRMPA174, *P. brasiliense* strains CCRMPB15, CCRMPB185, and CCRMPB596, and *P. carotovorum* CCRMPC339.

PROTEINS		<i>P. aroidearum</i>							<i>P. brasiliense</i>							<i>P. carotovorum</i>				
		CCRMPA174			CCRMPB15				CCRMPB185			CCRMPB596				CCRMPC339				
T2SS	Gene status	Start codon	Stop Codon	Orientation	Start codon	Stop Codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop Codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop Codon	Orientation	Identity (%)	Start codon	Stop Codon	Orientation	Identity (%)
<i>gspC</i>	accessory	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	94	ATG	TAA	forward	95	ATG	TAA	forward	95	ATG	TAA	reverse	94
<i>gspD</i>	mandatory	ATG	TGA	forward	TTG	TGA	reverse	97	TTG	TGA	forward	97	ATG	TGA	forward	97	ATG	TGA	reverse	97
<i>gspE</i>	mandatory	ATG	TGA	forward	ATG	TGA	reverse	96	ATG	TGA	forward	97	ATG	TGA	forward	97	ATG	TGA	reverse	97
<i>gspF</i>	mandatory	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	97	ATG	TAA	forward	97	ATG	TGA	forward	97	ATG	TAA	reverse	97
<i>gspG</i>	mandatory	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	98	ATG	TAA	forward	97	ATG	TAA	forward	97	ATG	TAA	reverse	97
<i>gspH</i>	mandatory	GTG	TGA	forward	GTG	TGA	reverse	94	ATG	TGA	forward	94	GTG	TGA	forward	95	ATG	TGA	reverse	95
<i>gspI</i>	mandatory	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	98	ATG	TAA	forward	99	ATG	TAA	forward	99	ATG	TAA	reverse	98
<i>gspJ</i>	mandatory	ATG	TGA	forward	ATG	TGA	reverse	94	ATG	TGA	forward	94	ATG	TGA	forward	95	ATG	TGA	reverse	94
<i>gspK</i>	mandatory	ATG	TGA	forward	ATG	TGA	reverse	94	ATG	TGA	forward	95	ATG	TGA	forward	95	ATG	TGA	reverse	95
<i>gspL</i>	accessory	ATG	TGA	forward	ATG	TGA	reverse	96	ATG	TGA	forward	96	ATG	TGA	forward	96	ATG	TGA	reverse	95
<i>gspM</i>	mandatory	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	89	ATG	TAA	forward	88	ATG	TAA	forward	89	ATG	TAA	reverse	90
<i>gspN</i>	accessory	ATG	TAA	forward	ATG	TAA	reverse	93	ATG	TAA	forward	92	ATG	TAA	forward	93	ATG	TAA	reverse	92
<i>pilD</i>	accessory	GTG	TAA	forward	GTG	TAG	reverse	91	GTG	TAG	forward	91	GTG	TAG	forward	91	GTG	TAG	reverse	92

CAPÍTULO III

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. Os cinco isolados de *Pectobacterium* oriundos de diferentes espécies vegetais foram identificados como *P. aroidearum* (CCRMPA174), *P. brasiliense* (CCRMPB15, CCRMPB185 e CCRMPB596) e *P. carotovorum* (CCRMPC339);
3. Os genes *pel*, *pnl*, *pemA*, *pehX*, *ogl*, e *rhiE* , destinados a produção de pectinases apresentam porcentagem de identidade elevada nos isolados de *P. aroidearum* (CCRMPA174), *P. brasiliense* (CCRMPB15, CCRMPB185 e CCRMPB596) e *P. carotovorum* (CCRMPC339);
4. Os genes cluster do T2SS apresentaram porcentagem de identidade elevada nos isolados de *P. aroidearum* (CCRMPA174), *P. brasiliense* (CCRMPB15, CCRMPB185 e CCRMPB596) e *P. carotovorum* (CCRMPC339);
5. O sistema de QS dependente da molécula N-acil homoserina lactona esta presente em todas as espécies do estudo, no entanto o gene de síntese da molécula, *expI*, apresentou porcentagem de identidade reduzida no isolado de *P. brasiliense* (CCRMPB15);