



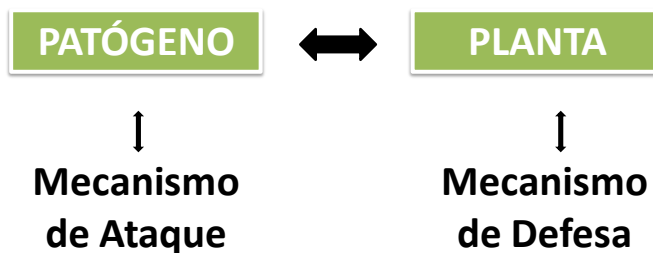
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Centro de Ciências Agrárias - CCA
Curso de Agronomia



Interações patógeno- hospedeiro: Mecanismo de ataque

Aline Cristina Velho
Junho, 2016

INTERAÇÕES PATÓGENO- HOSPEDEIRO

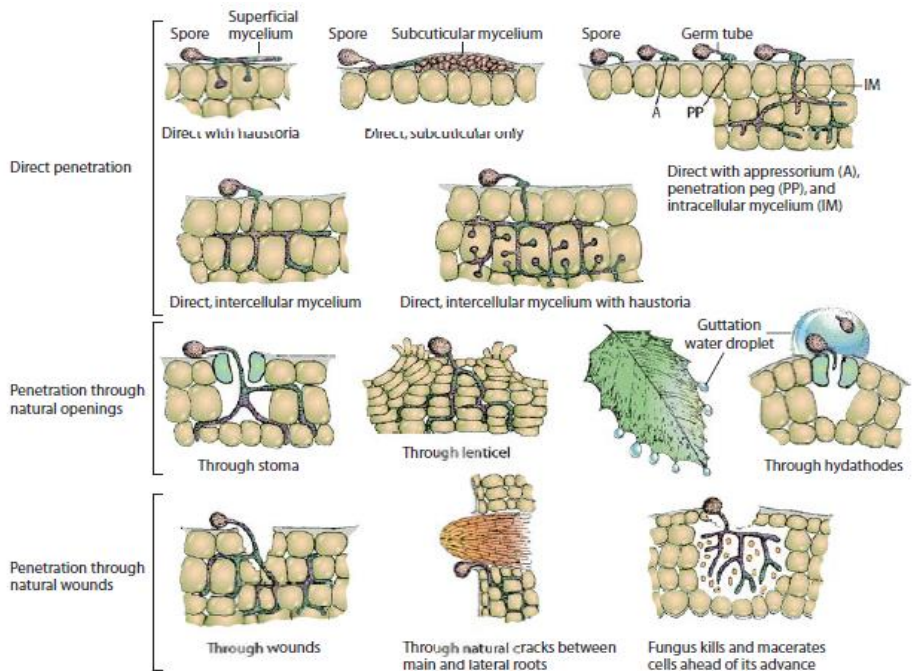


INTERAÇÕES PATÓGENO-HOSPEDEIRO

- **Patógenos necessitam do hospedeiro para:**
 - Retirar nutrientes para o seu metabolismo
 - Atividades vegetativas e reprodutivas
- **Onde os patógenos encontram esses nutrientes??**
 - Interior das células vegetais;
 - Necessitam de estratégias para vencer as barreiras externas e promover a colonização dos tecidos;

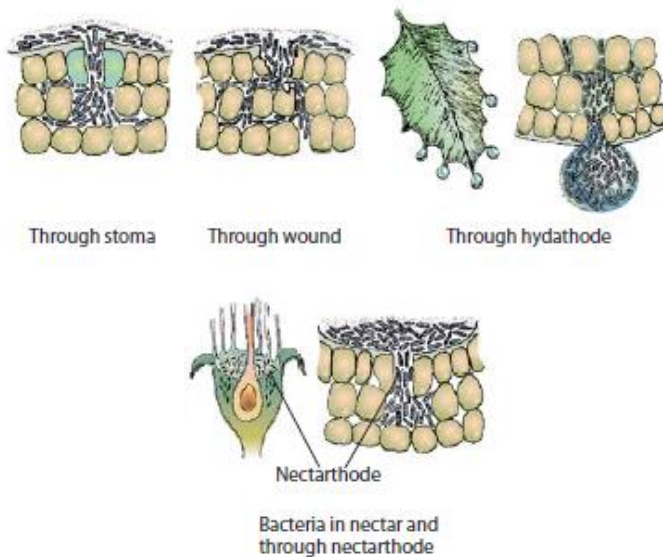
Mecanismos de ataque

- **Vias de Penetração:**
 - Direta (força mecânica, enzimas)
 - Aberturas naturais
 - Ferimentos
 - Bactérias são incapazes de penetrar diretamente;
 - Vírus, viróides e fitoplasmas necessitam de ferimentos
 - Fungos podem penetrar pelas três vias



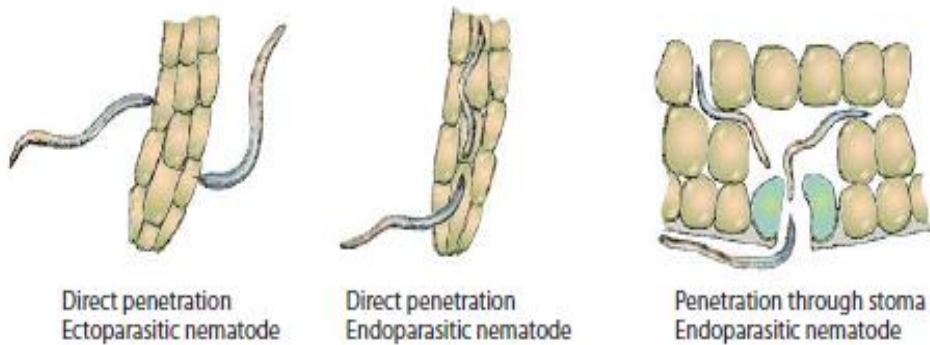
1-Vias de penetração dos fungos

(Agrios, 2005)



2-Vias de penetração das bactérias

(Agrios, 2005)



3-Vias de penetração dos nematóides

(Agrios, 2005)

Mecanismos de ataque

- **Enzimas:** desintegram componentes estruturais das células do hospedeiro;
 - Exoenzimas (podridão mole).
- **Toxinas:** alteram a permeabilidade das membranas;
 - Bipolaris* spp.
- **Hormônios:** alteram a divisão e crescimento celular;
 - Agrobacterium tumefaciens* (galhas da coroa).
- Todos fitopatógenos, exceto vírus.

Mecanismos de ataque

- **Penetração direta**
 - Vencer barreiras e neutralizar as reações de defesa da planta
 - Colonizar e retirar nutrientes
- **Parte aérea**
 - Cutícula na epiderme (**Cutina**)
- **Raízes e ramos lenhosos**
 - Periderme (**Suberina**)

Enzimas

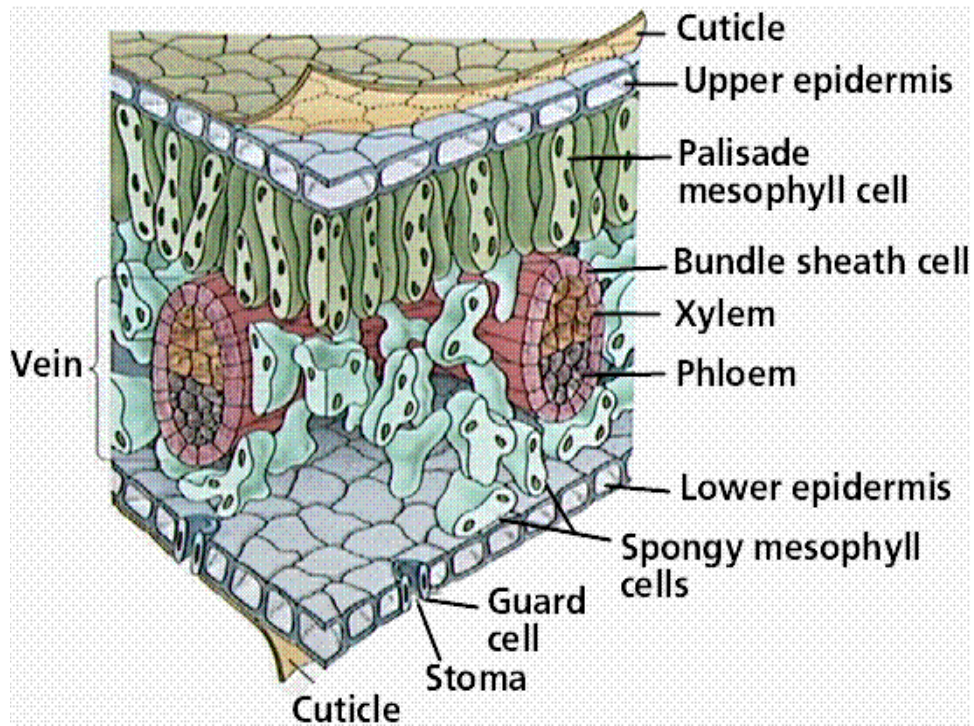
- Proteínas de alto peso molecular;
- Construídas por longas cadeias de aminoácidos;
- Responsáveis pelas reações de catabolismo e anabolismo nas células animais e vegetais;
- Denominadas em função do seu substrato;
- Utilização sufixo ASE

Enzimas

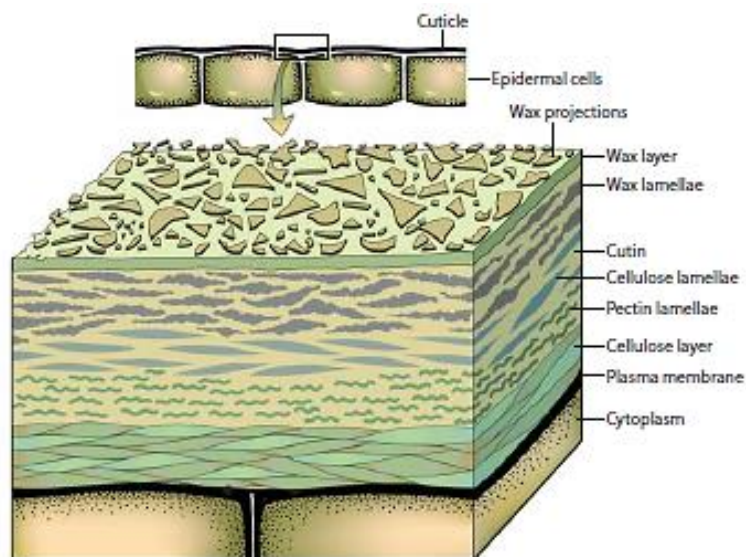
- Critérios para comprovar o envolvimento de uma enzima na patogênese
 - Capacidade do patógeno em produzir a enzima *in vitro*;
 - Detecção em tecido infectado;
 - Correlação da produção da enzima com patogenicidade;
 - Alteração nas paredes de tecidos infectados;
 - Reprodução das alterações na parede ou sintomas com o uso da enzima

CUTINASES

- Esterases que degradam a cutícula
 - Cutícula: camada lipídica contínua, que recobre a epiderme de folhas, frutos e talos jovens
 - Evita a difusão de água e nutrientes para o ambiente externo,
 - Protege a planta contra efeitos adversos e o ataque de fitopatógenos.
 - Componentes: compostos alifáticos (ceras) + polímero insolúvel (cutina)



Representação esquemática da estrutura e composição da cutícula e da parede celular das células epidérmicas (Agrios , 2005)



CUTINASES

- Formada por uma única cadeia polipeptídica
- Peso molecular entre 22 e 32 kDa
- 3-16% CHO'S na molécula
- Atividade máxima: pH 9-10
- Purificada pela primeira vez em 1975 a partir do fluído extracelular de *Fusarium solani* f. sp. *solani*
- Encontrada em diversos fungos, como:
 - *Colletotrichum*, *Blumeria*, *Bipolaris*, *Sclerotium*, *Uromyces*, *Venturia*, etc.

CUTINASES

- Produção *in vitro* desta enzima não necessariamente significa prova da importância dela nas plantas:
- Diversos estudos
 - Imunocitológicos
 - Transformação genética
 - Mutantes deficientes

***Fusarium solani* f. sp. *pisi* - Ervilha**

- Estudos com haste de ervilha;
- Microscopia eletrônica de varredura;
- Detectaram presença de anticorpos marcados com ferritina e específicos para cutinase em locais onde o patógeno foi inoculado;
- O fungo excreta cutinase somente quando em contato com o hospedeiro.

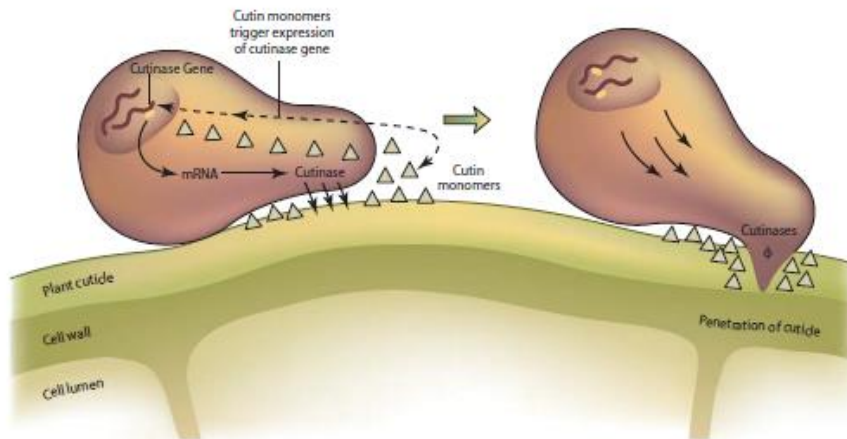


***Colletotrichum gloeosporioides* - mamão**

- Mutantes deficientes em cutinase mostraram-se patogênicos somente em frutos com ferimentos;
- Frutos intactos não manifestaram a doença;
- Aplicação exógena de cutinase, restaurou a capacidade patogênica do fungo;
- *C.g* penetra cutícula de frutos imaturos e pode permanecer latente até após o amadurecimento.



Representação esquemática da penetração da cutícula por um esporo do fungo durante a germinação. Cutinase constitutiva (pré formada) libera monômeros de cutina na cutícula vegetal. Estes, desencadeiam a expressão dos genes da cutinase, levando à produção de mais cutinases, permitindo assim a penetração do fungo (Agrios 2005).



CUTINASES

- Importância da descoberta:

Potencial para controle de doenças

- A desativação da enzima na superfície do hospedeiro, evitaria a penetração e conseqüentemente a doença;
- Uso de compostos antipenetrantes.

SUBERINA

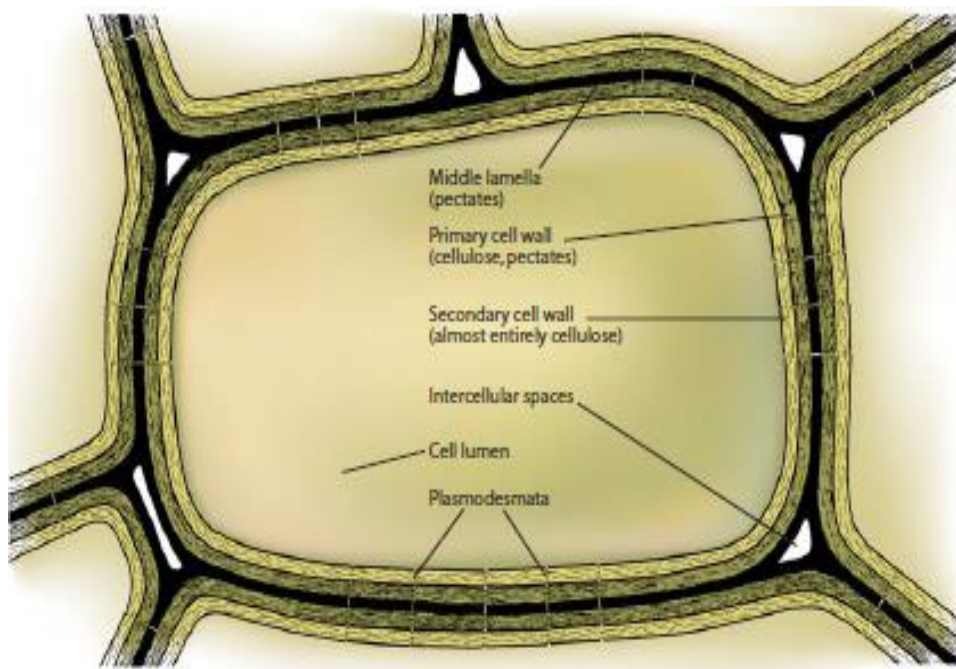
- Recobre os órgãos subterrâneos;
- Polímero insolúvel associado com ceras solúveis;
- A estrutura e a composição das paredes suberizadas não são bem compreendidas:
 - Matriz fenólica semelhante a lignina, ligada à parede celular. Os componentes alifáticos estariam ligados à matriz fenólica e embebidos numa camada de cera
- Alguns patógenos podem penetrar as paredes suberizadas, porém muito lentamente.

SUBERINA

- Evita a difusão da água e nutrientes;
- Também é formada quando há injúria mecânica e abscisão de folhas e frutos
- Existem indicações de que a bactéria *Ralstonia solanacearum* consegue degradar a suberina
- *Streptomyces scabiens* (sarna da batata)

DEGRADAÇÃO COMPONENTES DA PAREDE CELULAR

- Durante a penetração e colonização, os fitopatógenos atravessam as paredes celulares das plantas
- Regiões e composição da parede celular:
 - **lamela média**: entre as paredes celulares
 - **parede primária**: entre a membrana plasmática e a lamela média;
 - somente em células em ativo processo de crescimento, após a divisão celular ser completada
 - **parede secundária**: internamente à parede primária, formada após o término da expansão celular



Representação esquemática da estrutura e composição das paredes das células vegetais

Enzimas – degradação da parede celular

Lamela média
(substâncias pécnicas) ↔ Enzimas pectinolíticas

Parede primária e secundária:

Celulose ↔ Celulases

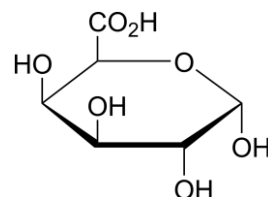
Hemicelulose ↔ Hemicelulases

Glicoproteínas ↔ Proteinases

Lignina ↔ Ligninases

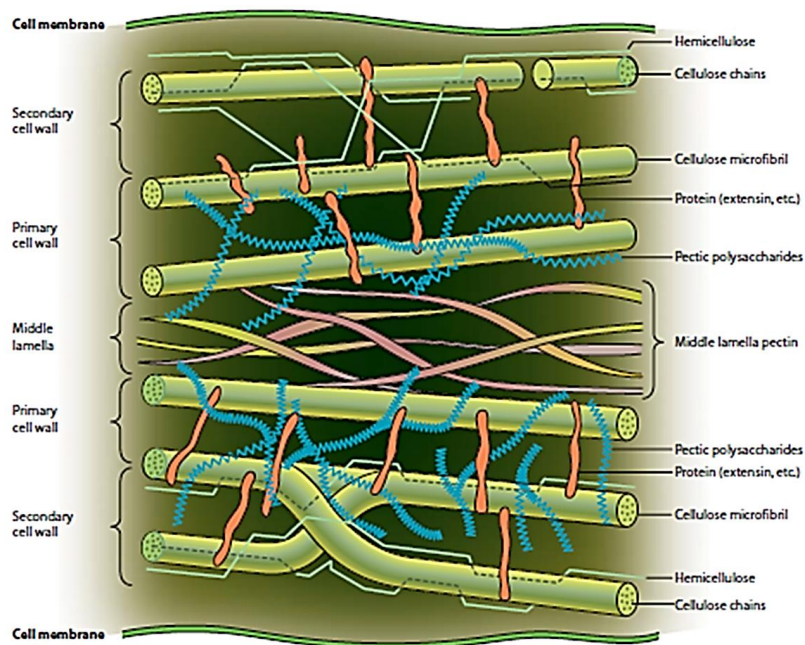
Lamela média

- Constituída por **substâncias pécnicas**
- Polissacarídeos formados por longas cadeias de ácido D-galacturônico/poligalacturônico
- Grau de metilação dos grupos carboxílicos
 - Ac. poligalacturônico (< 75%)
 - Pectina (> 75%)
- 35% Dicotiledôneas
- 9% Monocotiledôneas



Lamela média

- Substancia pécticas formam gel amorfo que preenche os espaços entre as microfibrilas de celulose
- Ligações entre cadeias por meio de íons de Ca
- “cimento intercelular”



Enzimas Pectinolíticas (pectinases)

- **Hidrolases:**

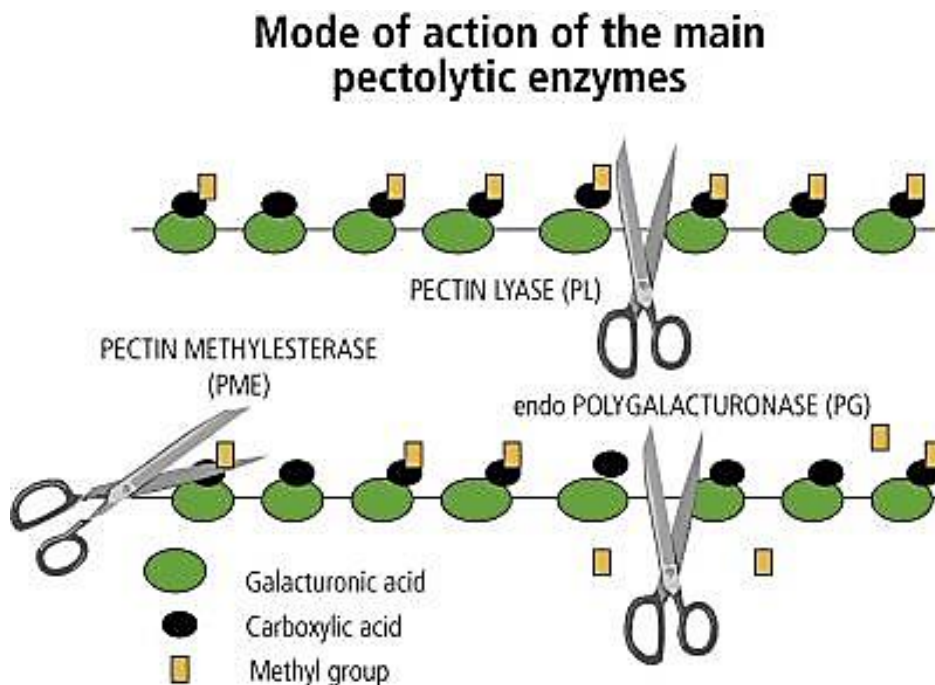
- MPG - Metilpoligalacturonases: mais específica para a ác. pectínico (pectina)
- PG - Poligalacturonases: mais específica para o ác. poligalacturônico
 - *exo* (libera monômeros) e *endo* (libera oligômeros)

- **Trans-eliminases (β -eliminases):**

- TE - Trans-eliminases do ác. pectínico =Pectina liase
- TEPG - Trans-eliminases do ác. poligalacturônico=Liase do ácido pectico
 - *exo* (libera monômeros) e *endo* (libera oligômeros)

- **Metilesterases da pectina**

- PE-Pectina esterase: promove demetilação da pectina (hidólise radicais metila)
- Alteram propriedades do polímero (ex: solubilidade)



Enzimas Pectinolíticas (pectinases)

- Degradação dos tecidos (separação das células)
- Mutantes de *Erwinia chrysanthemi*
 - Deficientes produção enzimas pectinolíticas
 - Transferência gene (Pat) para síntese de TEPG
 - Pat+ causam degradação dos tecidos de batata, cenoura e aipo
- Uso de transformantes de *Escherichia coli* com TE podem causar podridão mole

Enzimas pectinolíticas (AGRIOS, 2005)



Doença: Podridão em cebola
Agente causal: Botrytis sp.



Doença: podridão de batata
Agente causal: Pectobacterium

Parede primária e secundária

• Hemiceluloses

– Dicotiledôneas:

- **xilogucana**: parede primária
 - ligações glicosídicas β -1,4 e xilose β -1,6 com xilose
- **xilanas**: parede secundária
 - xilose com ligações β -1,4

– Monocotiledôneas:

- **arabinoxilanas**: cadeias laterais de arabinose
- β -glucanas: glicose unidos por ligações β -1,3 e β -1,4

• Hemicelulases

- A degradação das hemiceluloses requer atividades das **hemicelulases**

– Endoglucanases = β -1,4 xilogucana

– Endoxilanas β -1,4 xilanas

– Diversas outras hidrolases (β -glucosidases, β -galactosidase, etc.)

• Celulose

- Polissacarídeo (glicose em ligações β -1,4)
- 20-30% nas paredes primárias
- 40% parede secundária plantas lenhosas

• Celulases

- Degradação celulose e feita pelas **celulases**
- β -1,4 D-gluconase
- β -1,4 D-glucana celobiohidrolase
- β -glucosidase

• Celulases

- *Rhizoctonia solani*
 - Penetra as paredes celulares e destruindo a celulose;
 - Causa o colapso das células, resultando na formação de lesões deprimidas no hipocótilo do feijoeiro
- *Fusarium oxysporum* e *Verticillium albo-atrum*
 - Patógenos causadores de murcha
 - Liberam oligômeros no interior do xilema alterando o fluxo normal de água
 - Bloqueio dos elementos vasculares

Enzimas celulases (AGRIOS, 2005)



Fusarium sp. - podridão do colmo de milho. Destrói a celulose mas não o tecido vascular lignificado

• Ligninases

- Degradam **lignina**
- Principalmente em plantas lenhosas
- Podridão branca causada por fungos saprófitas
- Basidiomicetos (*Ganoderma*)

Enzimas ligninases - Basidiomicetos (AGRIOS, 2005)



Doença: Podridão do tronco
Hospedeiro: pinheiro
Agente causal: *Phellinus* sp.

Doença: Podridão de raízes e colo
Hospedeiro: pinheiro
Agente causal: *Phellinus* sp.

Enzimas – degradação de componentes da membrana plasmática

- Membranas são constituídas:
 - 40-50% proteínas
 - 40% lipídios
 - 0-10% carboidratos
- **Proteases/proteinases**
 - Degradam vários tipos de moléculas de proteínas
- **Amilases**
 - Degradam amido ou outros polissacarídeos de reserva
 - Produto final = glicose (utilizado diretamente pelos patógenos)

Enzimas – degradação de componentes da membrana plasmática

- **Lipases e fosfolipases**
 - Produto final = liberam ácidos graxos a partir da degradação dos fosfolipídios
 - Utilizado diretamente pelos patógenos

Toxinas/Fitotoxinas

- São produtos de patógenos microbianos, que causam danos aos tecidos vegetais e que estão reconhecidamente envolvidos no desenvolvimento da doença (Scheffer, 1983)
- Afetam diretamente o protoplasma;
- Afetam as funções celulares;
- Alteram a permeabilidade das membranas.

Toxinas/Fitotoxinas

- Substâncias de baixo peso molecular (<1000 daltons);
- Ativas em concentrações fisiológicas (<10⁻⁶ a 10⁻⁸ M);
- Móveis
- Não apresentam características enzimáticas, hormonais ou de ácidos nucleicos;
- Não exibem características estruturais comuns e incluem substâncias como peptídeos, glicopeptídeos, derivados de aminoácidos, terpenóides, etc.

Toxinas/Fitotoxinas

- Desenvolvimento sintomas: clorose, necrose, murcha;
- Alteram a permeabilidade e/ou potencial das membranas;
- Mudanças no equilíbrio iônico/Perda de eletrólitos;
- Inibição ou estímulo de enzimas específicas;
- Aumento na respiração e na biossíntese de etileno;
- Promovem e/ou aceleram a senescência dos tecidos;
- Induzem deficiências nutricionais na planta;

Classificação

- **Não seletivas ou não específicas ao hospedeiro**
 - Tóxicas a várias espécies de plantas, hospedeiras ou não hospedeiras.
 - Fatores de virulência ou determinantes secundários de patogenicidade
 - Contribuem para a severidade da doença, mas não são essenciais.
 - Maioria das toxinas se enquadra nesta categoria

Não seletivas ou não específicas ao hospedeiro

- Exemplos:
 - **Tabtoxina** - *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* – Fumo
 - **Faseolotoxina**-*P. syringae* pv. *phaseolicola*-Feijão
 - **Siringotoxina** - *P. syringae* pv. *syringae* – Citros
 - **Tentoxina** – *Alternaria tenuis* – algodoeiro
 - **Cercosporina** – *Cercospora beticola* – beterraba
 - **Ácido fusárico**- *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* -banana

Fitotoxinas não-seletivas ao hospedeiro

– Faseolotoxina

- *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*,
- Doença: Crestamento de halo em feijoeiro
- Sintoma primário: mancha de óleo
- Sintoma secundário: halos cloróticos, clorose sistêmica e nanismo.
- Baixas temperaturas favorecem a produção da toxina
- Tripeptídeo \Rightarrow ornitina, alanina e arginina



Não seletivas ou não específicas ao hospedeiro



(A) sintomas iniciais e (B) avançados em folhas jovens de fumo, manchas causadas por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* e halos cloróticos causados pela tabtoxina produzida pela bactéria.

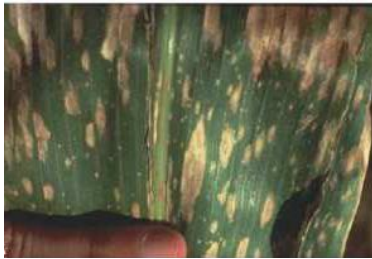
Classificação

- **Seletivas ou específicas (patotoxinas)**

- São tóxicas somente em espécies de plantas que são hospedeiras do patógeno produtor da toxina;
- Essenciais para o estabelecimento do patógeno no hospedeiro e para a manifestação da doença;
- São fatores de patogenicidade ou determinantes primários de patogenicidade;
- Produz sintomas característicos das doença

Exemplos de fitotoxinas seletivas (específicas) (Pascholati, 2011).

| Toxina | Fungo produtor | Hospedeiro |
|-------------------------|---|---|
| HV (victorina) | <i>Cochliobolus (Helminthosporium) victoriae</i> | Aveia (<i>Avena stiva</i>) |
| HC | <i>C. (Helminthosporium) carbonum</i> raça I | Milho (<i>Zea mays</i>) |
| HmT (toxina T) | <i>C. heterostrophus (Bipolaris maydis)</i> raça T | Milho (<i>Z. mays</i>) |
| HS (helminthosporoside) | <i>C. (Helminthosporium) sacchari</i> | Cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.) |
| PC | <i>Periconia circinata</i> | Sorgo (<i>Sorghum vulgare</i>) |
| AK | <i>Alternaria alternata</i> patótipo pera japonesa (<i>A. kikuchiana</i>) | Pera japonesa (<i>Pyrus serotina</i>) |
| AM | <i>A. alternata</i> patótipo macieira (<i>A. mali</i>) | Maçã (<i>Malus sylvestris</i>) |
| ACRL | <i>Alternaria citri</i> patótipo limão | Limão rugoso (<i>Citrus jambhiri</i>) |
| ACTG | <i>A. citri</i> patótipo tangerina | Tangerina Dancy e mandarinas (<i>C. reticulata</i>) |
| AL | <i>A. alternata</i> f.sp. <i>lycopersici</i> | Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) |
| CC | <i>Corynespora cassicola</i> | Tomate (<i>S. lycopersicum</i>) |
| PM | <i>Mycosphaerella zeae-maydis (Phyllosticta maydis)</i> | Milho (<i>Z. mays</i>) |



Mancha foliar de milho causada por *Cochliobolus heterostrophus* (T-toxina).



Mancha foliar do milho causada por *Cochliobolus carbonum* (HC-toxina)



Manchas em pêra japonesa causadas por *Alternaria alternata* (AK-toxina).



Mancha foliar em macieira causada por outro isolado de *Alternaria alternata* (AM-toxina).

Fitotoxinas seletivas

- **Toxina HV (victorina)**
 - *Helminthosporium victoriae*
 - Queima das folhas e podridão do colo e raízes de aveia
 - Cultivar Victoria - altamente suscetível (gene Vb-resistência a *Puccinia coronata*)
 - É a mais potente e seletiva
 - Causa sintomas macroscópicos e mudanças histoquímicas e bioquímicas no hospedeiro

Fitotoxinas seletivas

- **Toxina HmT (Toxina T)**

- *Bipolaris maydis*, raça T
- Queima da folha em milho com citoplasma T (macho esterilidade)
- Inibe o crescimento de raízes, altera fotossíntese, causa fechamento de estômatos, interferindo com o transporte de íons, K⁺ é perdido para ambiente externo

Fitotoxinas seletivas

- **Toxina AK**

- *Alternaria alternata* (Pêra japonesa);
- Mancha negra em folhas e frutos;
- A toxina é produzida durante a germinação do conídio e antes da invasão dos tecidos do hospedeiro;
- 20 min após a infecção ocorre perda de eletrólitos (K⁺ e fosfatos)
- Pêras suscetíveis exibem sintomas necróticos, enquanto as resistentes não;

Fitotoxinas seletivas

- **Toxina AM**

- *Alternaria alternata* (Maçã);
- Manchas em folhas e frutos;
- Perda de eletrólitos
- Alteração dos cloroplastos e rápida perda de colorofila

Hormônios

- São compostos que ocorrem naturalmente nas plantas;
- Ativos em baixas concentrações;
- Agem à distância do sítio de produção;
- Promovem, inibem o modificam o crescimento das plantas;
- Desequilíbrio hormonal;

Hormônios

- **Auxinas**

- Aumentam a plasticidade das células e alongamento celular
- ácido indolil-3-acético (AIA)
- *F. oxysporum* f. sp. *ubense*, *Phytophthora infestans*, *Ralstonia solanacearum*) etc.

Hormônios

- **Giberelinas (GA3)**

- Alongamento de entrenós, reversão do nanismo
- Isolado e purificado pela primeira vez- *Giberella fujikuroi* (*F. moniliforme*)
- Superalongamento em plantas de arroz
- Podem aumentar a síntese de Auxinas

Hormônios

- **Citocininas**

- Indução divisão celular;
- Inibem a senescência;
- Germinação sementes dormentes;
- *Agrobacterium tumefaciens*, *Nectria galligena*, etc.

Hormônios

- **Etileno**

- Desfolha
- Inibição do crescimento,
- Epinastia, etc.
- *Fusarium oxysporum*, *Ralstonia solanacearum*,
Pectobacterium carotovorum, etc.

- **Ácido Abscísico (ABA)**

- Inibição crescimento,
- Abcisão de folhas e frutos
- *Botrytis cinerea*, *Mycosphaerella cruenta*