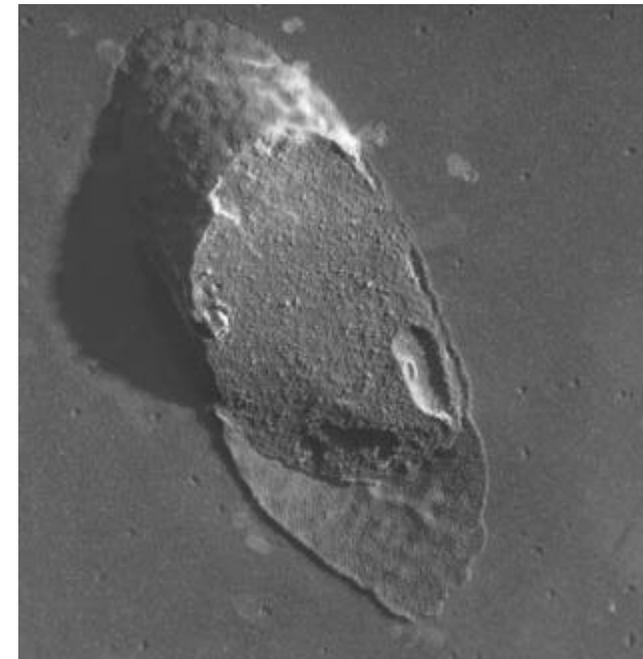


## Vias de Penetração e Infecção de Plantas por Bactérias



*Criofatura de uma célula de Gluconacetobacter diazotrophicus, bactéria que coloniza os tecidos internos de cana-de-açúcar, sem causar sintomas de doenças. Foto: Lucía Gracinda da Silva (UENF – Campos dos Goytacazes)*





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

*ISSN 1517-8498*

*Novembro/2006*

## **Documentos 216**

### **Vias de Penetração e Infecção de Plantas por Bactérias**

Verônica Massena Reis  
Fábio Lopes Olivares

*Seropédica – RJ  
2006*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridas na:

**Embrapa Agrobiologia**

BR465 – km 7

Caixa Postal 74505

23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil

Telefone: (0xx21) 2682-1500

Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: [www.cnpab.embrapa.br](http://www.cnpab.embrapa.br)

e-mail: [sac@cnpab.embrapa.br](mailto:sac@cnpab.embrapa.br)

Comitê Local de Publicações: Eduardo F. C. Campello (Presidente)  
José Guilherme Marinho Guerra  
Maria Cristina Prata Neves  
Verônica Massena Reis  
Robert Michael Boddey  
Maria Elizabeth Fernandes Correia  
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente:

Revisores e/ou ad hoc: Vera Lúcia Divan Baldani e Gustavo Ribeiro Xavier

Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

1ª impressão (2006): 50 exemplares

R375v Reis, Verônica Massena

Vias de penetração e infecção de plantas por bactérias / Fábio Lopes Olivares. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. 34 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 216).

ISSN 1517-8498

1. Bactéria. 2. Infecção de plantas. 3. Colonização de planta. I. Olivares, F. L., colab. II. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). III. Título. IV. Série.

CDD 579.3

WALLIS, F. M.; TRUTER, S. J. Histopathology of tomato plants infected with *Pseudomonas solanacearum*, with emphasis on ultrastructure. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 13, p. 307-317, 1978.

WEI, G.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 1508-1512, 1991.

WELLER, D. M. Colonization of wheat roots by a fluorescent pseudomonad suppressive to take-all. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, p. 1548-1553, 1983.

ZHU, J.; WINANS, S. C. Autoinducer binding by the quorum-sensing regulator TraR increases affinity for target promoters in vitro decreases TraR turnover rates in whole cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, p. 4832-4837, 1999.

## Autores

### **Verônica Massena Reis**

Eng<sup>a</sup>. Agrônoma, PhD em Ciência do Solo, Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia.

BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505, Cep 23851-970, Seropédica/RJ

e-mail: veronica@cnpab.embrapa.br

### **Fábio Lopes Olivares**

Engenheiro Agrônomo, PhD em Ciência do Solo, Professor do Centro de Biociências e Biotecnologia - Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego 2000, Cep 28013-602 - Campos dos Goytacazes/RJ

e-mail: fabioliv@uenf.br

ROSEN, H. R. **Mode of penetration and of progressive invasion of fire-blight bacteria into apple and pear blossoms.** Arkansas: University of Arkansas, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station, 1936. 68 p. (Bulletin, 331).

RUPPEL, S.; WACHE, H. Isolation and selection of phytoeffective bacteria. **Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie**, Stuttgart, v. 145, p. 599-603, 1989.

SCHMIT, J. Microscopic study of early stages of infection by *Pseudomonas solanacearum* E.F.S on *in vitro* grown tomato seedlings. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF PLANT PATHOLOGY AND BACTERIOLOGY, 4., 1978, Angers. **Proceedings...** Angers: Gilbert-Clarey, 1978. p. 841-856.

SCHNEIDER, R. W.; GROGAN, R. G. Tomato leaf trichomes, a habitat for resident population of *Pseudomonas tomato*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, p. 898-902, 1977.

SPRENT, J. I.; JAMES, E. K. N<sub>2</sub>-fixation by endophytic bacteria: questions of entry and operation. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; ZAMAROCZY, M. de. (Ed.) **Azospirillum VI and related microorganisms.** Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 15-30. (NATO ASI Series G, Ecological Sciences, 37).

TANAKA, Y.; NODA, N. Studies on the factors affecting survival of *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith, the causal agent of tobacco wilt disease. **Okayama Tobacco Experimental Station**, Okayama, v. 32, p. 81-94, 1973.

THOMSON, S. V. Stigmatic surfaces of pear flower pistils as source of inoculum for *Erwinia amylovora*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF PLANT PATHOLOGY AND BACTERIOLOGY, 4., 1978, Angers. **Proceedings...** Angers: Gilbert-Clarey, 1978. p. 816.

VASSE, J.; FREY, P.; TRIGALET, A. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 8, p. 241-251, 1995.

OLIVEIRA, M. M. **Aplicações e avanços na área de biotecnologia vegetal.** Disponível em:

[http://dequim.ist.utl.pt/bbio/66/pdf/Aplicacoes\\_e\\_Avancos\\_na%20Bio tec\\_Vegetal.pdf](http://dequim.ist.utl.pt/bbio/66/pdf/Aplicacoes_e_Avancos_na%20Bio tec_Vegetal.pdf). Acesso em: jun. 2006.

PATRIQUIN, D. G.; DÖBEREINER, J.; JAIN, D. K. Sites and processes of association between diazotrophs and grasses. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 29, p. 900-915, 1983.

PEARSON, J. P.; DELDEN, C. Van; IGLEWSKI, B. H. Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aureginosa* cell-to-cell signals. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 181, p. 1203-1210, 1999.

PINHEIRO, R. O. **Estudo da adesão de *Azospirillum* spp. às raízes de trigo.** 1992. 110 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

PUEPPKE, S. G. Adsorption of slow- and fast-growing rhizobia to soybean and cowpea roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 75, p. 924-928, 1984.

QUISPEL, A. A. Search for signals in endophytic microorganisms. In: VERMA, P. S. (Ed.). **Molecular signals in plant-microbe communications.** Boca Raton: CRC, 1992. p. 475-491.

REINHOLD, B.; HUREK, T. Location of diazotrophs in the root interior with special attention to the Kallar grass association. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 110, p. 259-268, 1988.

ROBSON, N. D.; COX, A. R.; MCGOWAN, S. J.; BYCROFT, B. W.; SALMOND, G. P. Bacterial N-acy-homocerine-lactone-dependent signaling and its potential biotechnological applications. **Trends in Biotechnology**, London, v. 15, p. 458-464, 1997.

ROMANTSCHUK, M. Attachment of plant pathogenic bacteria to plant surfaces. **Annual Review of Plant Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 225-243, 1992.

## Apresentação

A preocupação crescente da sociedade com a preservação e a conservação ambiental tem resultado na busca pelo setor produtivo de tecnologias para a implantação de sistemas de produção agrícola com enfoques ecológicos, rentáveis e socialmente justos. O enfoque agroecológico do empreendimento agrícola se orienta para o uso responsável dos recursos naturais (solo, água, fauna, flora, energia e minerais).

Dentro desse cenário, a Embrapa Agrobiologia orienta sua programação de P&D para o avanço de conhecimento e desenvolvimento de soluções tecnológicas para uma agricultura sustentável.

O Documento 216/06 aborda o processo de penetração e infecção de plantas por bactérias caracterizado como um evento dinâmico envolvendo o reconhecimento dos sinais moleculares, seguido da movimentação da bactéria em direção a planta hospedeira, sua adesão a superfície vegetal e posterior penetração e multiplicação no interior da planta. Para tanto, discute as diferentes vias de penetração (naturais e injúrias/ feridas) das bactérias e traça um paralelo entre o estabelecimento no interior da planta de bactérias fitopatogênicas e endofíticas, principalmente as fixadoras de nitrogênio, e as formas de adesão dos diferentes tipos de bactérias a superfície das plantas. O documento mostra que as etapas do processo de penetração e infecção estão bastante definidas para algumas associações como por exemplo no caso de rizóbio com plantas de leguminosas, porém outras associações como por exemplo a de bactérias endofíticas e gramíneas ainda requerem estudos mais detalhados visando desvendar o “diálogo molecular” que envolve a bactéria e a planta.

José Ivo Baldani  
Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia

# SUMÁRIO

1. Introdução .....	7
2. Penetração através de aberturas naturais .....	8
2.1. Estômatos ou estomas .....	8
2.2. Hidatódios .....	9
2.3. Nectários ou glândula nectarífera.....	10
2.4. Lenticelas .....	11
3. Penetração através de injúrias e feridas .....	11
3.1. Tricomas quebrados .....	11
3.2. Emergência de raízes laterais .....	12
3.3. Feridas .....	13
4. Estabelecimento de bactérias no interior da planta .....	14
4.1. Bactérias fitopatogênicas.....	14
4.2. Bactérias endofíticas.....	16
5. Infecção de plantas por ação do tamanho da população – Quorum sensing.....	16
6. Adesão de bactérias à superfície das plantas .....	17
6.1. Adesão de <i>Rhizobium</i> à superfície dos pêlos radiculares	19
6.2. Adesão de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> a dicotiledóneas.	20
6.3. Adesão de bactérias fixadoras de nitrogênio e rizobactérias promotoras de crescimento a superfície radicular.....	22
7. Referências Bibliográficas .....	26

MATTHYSSE, A. G.; GURLITZ, R. H. G. Plant-cell range for attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to tissue culture cells. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 21, p. 381-387, 1982.

MATTHYSSE, A. G.; HOLMES, K. V.; GURLITZ, R. H. G. Elaboration of cellulose fibrils by *Agrobacterium tumefaciens* during attachment to carrot cells. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 145, p. 583-595, 1981.

MATTHYSSE, A. G.; WYMAN, P. M.; HOLMES, K. V. Plasmid-dependent attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to plant tissue culture cells. **Infection and Immunity**, Washington, v. 22, p. 516-522, 1978.

MEIER, D. A cytological study of the early infection stages of the black rot of cabbage. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, Minnesota, v. 61, p. 173-190, 1934.

MEW, T. W.; MEW, I. C.; HUANG, J. S. Scanning electron microscopy of virulent and avirulent strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* on rice leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, p. 635-641, 1984.

MICHIELIS, K.; CROES, C.; VANDERLEYDEN, J. Two different modes of attachment of *Azospirillum brasilense* Sp7 to wheat roots. **Journal of General and Microbiology**, Washington, v. 137, p. 2241-2246, 1991.

MINARDI, P. Cloning of genes required for hypersensitivity and pathogenicity in *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 67, p. 201-210, 1995.

MITCHELL, R. E. The relevance of non host-specific toxins in the expression of virulence by pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 22, p. 215-245, 1984.

OLIVARES, F. L.; JAMES, E. K.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Colonização do tecido vascular por *Herbaspirillum* spp. em sorgo e cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 26., 1993, Aracaju. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 18, p. 313, 1993. Resumo. Suplemento.

KORHONEN, T. K.; TARKKA, E.; RANTA, H.; HAAHTELA, K. Type 3 fimbriae of *Klebsiella* sp.: molecular characterization and role in bacterial adhesion to plant roots. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 155, p. 860-865, 1983.

LEVANONY, H.; BASHAN, Y. Factors affecting adsorption of *Azospirillum brasilense* Cd to root hairs as compared with root surface of wheat. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 132, p. 2899-2908, 1989.

LEWENZA, S.; CONWAY, B.; GREENBERG, E. P.; SOKOL, P. A. Quorum sensing in *Burkholderia cepacia*: identification of the Lux RI homologs CEPRI. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 181, p. 748-756, 1999.

LIPPINCOTT, B. B.; LIPPINCOTT, J. A. Bacterial attachment to a specific wound site as a essential stage in tumour initiation by *Agrobacterium tumefaciens*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 97, p. 620-628, 1969.

LIPPINCOTT, J. A.; LIPPINCOTT, B. B. Nature and specificity of the bacterium-host attachment in *Agrobacterium* infection. In: SOLHIEM, B.; RAA, J. (Ed.). **Cell wall biochemistry related to specificity in host-plant pathogen interaction**. Tromsø, Norway: Universitets-Forlaget, 1976. p. 439-451.

MAAS, J. L.; FINNEY, M. M.; CIVEROLO, E. L.; SASSER, M. Association of an unusual strain of *Xanthomonas campestris* with apple. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, p. 438-445, 1985.

MARTINEZ-MOLINA, E.; MORALES, V. M.; HUBBELL, D. H. Hydrolytic enzyme production by *Rhizobium*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 38, p. 1186-1188, 1979.

MATSUDA, I.; SATO, Z. Bending symptoms of young rice seedlings grown in nursery flat caused by *Pseudomonas avenae*, the causal agent of bacterial stripe of rice. III. Mode of infection. **Bulletins National Institute of Agricultural Research Service Center**, Washington, v. 38, p. 169-180, 1983.

## Vias de Penetração e Infecção de Plantas por Bactérias

---

Veronica Massena Reis  
Fábio Lopes Olivares

### 1. Introdução

---

O processo de infecção e colonização de plantas por bactérias caracteriza-se como um evento dinâmico envolvendo o reconhecimento dos sinais moleculares, seguido do movimento da bactéria em direção a planta hospedeira, sua adesão à superfície vegetal e posterior penetração e multiplicação no interior da planta. Como regra geral, as bactérias diferem dos fungos por não possuírem estruturas ativas que permitem a penetração nos tecidos vegetais. Conseqüentemente, fitobactérias não possuem a capacidade de exercer força mecânica ou física para vencer barreiras como a da parede celular e a pressão de turgor da planta e por conseqüência penetrar em células epidérmicas intactas (GOODMAN, 1982). Diante disso, a grande maioria das bactérias penetra na planta hospedeira passivamente (exceção para bactérias do gênero *Rhizobium* e correlatas) através de aberturas naturais ou ferimentos.

Entretanto, células bacterianas possuem a capacidade de “sentir” o tamanho de sua população através de um mecanismo sofisticado de comunicação célula a célula e notar a expressão de determinados genes quando a população atinge uma certa densidade (DONG et al., 2001). Este tipo de regulação genética, que controla diversas funções biológicas das células bacterianas, incluindo virulência, é conhecido como “quorum-sensing” (FUQUA et al., 1996; ROBSON et al., 1997). Moléculas sinalizadoras como a acyl-homocerine lactonas (AHLs) são componentes essenciais da comunicação e reconhecem a expressão de genes de virulência que abrange patógenos de plantas, animais e humanos (LEWENZA et al., 1999). Desta forma podem promover a infecção de outros organismos pelo

tamanho de sua população, sobrepujando defesas naturais e causando a colonização dos tecidos.

## 2. Penetração através de aberturas naturais

### 2.1. Estômatos ou estomas

É um conjunto de células localizadas na epiderme dos traqueófitos, especialmente sobre a face dorsal (abaxial) das folhas e caules jovens, e apresentam um orifício central (ostíolo) cuja função é de estabelecer comunicação do meio interno com a atmosfera, constituindo-se em um canal para a troca de gases e a transpiração do vegetal. Os estômatos são, a princípio, constituídos por um par de células em forma de bastão dispostas lado a lado, chamadas células-guarda. Estas células, quando murchas, mantêm esta configuração, mas quando túrgidas, expandem-se para os lados, abrindo um espaço entre elas (o ostíolo) por onde ocorrem trocas gasosas. Essa expansão lateral deve-se à maior resistência da parede celular ao longo da zona de contato entre as células-guarda, o que força a pressão sobre o restante da parede quando ocorre turgência (figura 1).

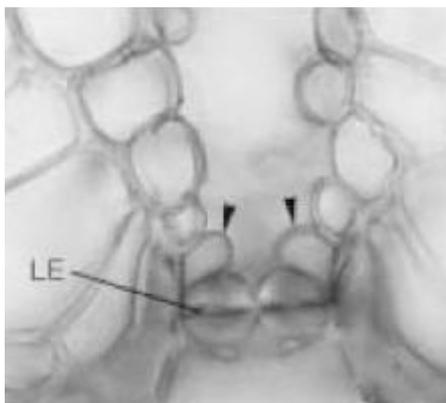


Figura 1. Superfície abaxial de uma folha evidenciando um estômato na depressão cujas células-guarda apresentam paredes espessadas e projeção da cutícula em forma de crista. LE – lúmen estreito. Orifício central – ostíolo.

Algumas bactérias fitopatogênicas infectam a planta hospedeira através de estômatos como por exemplo em *Pseudomonas syringae* pv. *ananae* em arroz (MATSUDA & SATO, 1983) e *Xanthomonas*

GOODMAN, R. N.; KIRALY, A.; WOOD, K. E. **The biochemistry and physiology of plant disease**. Columbia: University of Missouri, 1986. 433 p.

GROSS, D. C.; CODY, Y. S. Mechanisms of plant pathogenesis by *Pseudomonas* species. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 31, p. 403-410, 1985.

HAAHTELA, K.; LAAKSO, T.; KORHONEN, T. K. Associative nitrogen fixation by *Klebsiella* spp.: adhesion sites and inoculation effects on grass roots. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 52, p. 1074-1079, 1986.

HALVERSON, L. J.; STACEY, G. Signal exchange in plant-microbe interaction. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 50, p. 193-225, 1986.

HULTGREN, S. J.; ABRAHAM, S.; CAPARON, M.; FALK, P.; ST GEME, J. W.; NORMARK, S. Pilus and nonpilus bacterial adhesions: assembly and function in cell recognition. **Cell**, Cambridge, v. 73, p. 887-901, 1993.

JAMES, E. K.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonising vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L. Moench. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 48, p. 785-797, 1997.

JAMES, E. K.; REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 45, p. 757-766, 1994.

JAMES JR., D. W.; SUSLOW, T. V.; STEINBACK, K. E. Relationship between rapid, firm adhesion and long-term colonization of roots by bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 50, p. 392-397, 1985.

KAKU, H. Histopathology of red stripe of rice. **Plant Disease**, St. Paul, v. 88, p. 1304-1309, 2004.

DÖBEREINER, J.; REIS, V. M.; PAULA, M. A.; OLIVARES, F. L. Endophytic diazotrophs in sugar cane, cereals and tuber plants. In: PALACIOS, R.; MORA, J.; NEWTON, W. E. (Ed.). **New horizons in nitrogen fixation**. Dordrecht: Kluwer, 1993. p. 671-676.

DONG, Y.; WANG, L. -H.; XU L. -J.; ZHANG, H. -B.; ZHANG, X. -F.; ZHANG, L. -H. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by N-acyl-homoserine lactonase. **Nature**, London, v. 411, p. 813-817, 2001.

DOUGLAS, C. J.; HALPERIN, W.; NESTER, E. W. *Agrobacterium tumefaciens* mutants affected in attachment to plant cells. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 152, p. 1265-1275, 1982.

DURBIN, R. D. Site of action of disease determinants in relation to symptom expression. In: ASADA, Y.; BUSCHNELL, W. R.; OUCHI, S.; VANCE, C. P. **Plant Infection: the physiological and biochemical basis**. Tokyo: Japanese Science Society, 1982. p. 15-25.

FAHRAEUS, G. The infection of clover root hairs by nodule bacteria studied by a simple glass slide technique. **Journal of General Microbiology**, London, v. 16, p. 374-381, 1957.

FENG, T. Y.; KUO, T. T. Bacterial leaf blight of rice plant. VI. Chemotactic responses of *Xanthomonas oryzae* to water pores on the leaf of rice plants. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 16, p. 126-136, 1975.

FOX, R. T. V.; MANNERS, J. G.; MYERS, A. Ultrastructure of tissue disintegration and host reactions in potato tubers infected by *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. **Potato Research**, Wageningen, v. 15, p. 130-145, 1972.

FUQUA, C.; WINANS, S.; GREENBERG, E. P. Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. **Annual review of Microbiology**, Palo Alto, v. 50, p. 727-751, 1996.

GOODMAN, R. N. The infection process. In: MOUNT, M. S.; LACY, G. H. (Ed.). **Phytopathogenic prokaryotes**. New York: Academic, 1982. v. 1. p. 31-62.

*campestris* em maçã (MAAS et al., 1985). Bactérias chegam a superfície foliar por meio de correntes de vento e chuvas de forma aleatória. Aquelas próximas ou sobre os estômatos, podem multiplicar-se rapidamente e invadir a câmara sub-estomática e por conseguinte os espaços intercelulares das células do mesófilo (KAKU, 2004). A câmara sub-estomática funciona como via de entrada e saída para as bactérias, que em muitos dos casos emergem como uma massa de uma substância não identificada, provavelmente polissacarídeos de origem bacteriana, constituindo inóculo secundário para disseminação da bactéria. A infecção dos estômatos por bactérias fixadoras de nitrogênio foi relatada para *H. rubrisubalbicans* em cana-de-açúcar (OLIVARES et al., 1993) e para a bactéria *Pantoea agglomerans* em associação com trigo (RUPPEL & WACHE, 1989).

## 2.2. Hidatódios

São aberturas semelhantes aos estômatos que se encontram nas pontas e nas margens das folhas de algumas espécies de plantas. Ocorrem principalmente em bordos dentados e serrilhados de folhas ou no seu terço superior de plantas da família das brássicas, gramíneas, crassuláceas e saxifragáceas. São divididos em hidatódios epidermais e hidatódios epitêmiais, estes últimos também chamados de estômatos aquíferos. O hidatódio epitêmial é constituído de células estomáticas rígidas, permanecendo o ostíolo sempre aberto. A câmara subestomática é constituída por tecido parenquimático aquífero, chamado epítima, onde se encontram terminações de vasos lenhosos (ou nervuras) que conduzem água.

A função dos hidatódios está ligada à eliminação do excesso de água que eventualmente tenha entrado na planta. Essa eliminação ocorre na forma de gotas d'água contendo sais minerais (seiva bruta). Nestas estruturas, sob elevadas condições de umidade e baixa evapotranspiração, principalmente nos primeiras horas da manhã, ocorre secreção de gotas de água na superfície foliar. Com o aumento da transpiração, esta gota é reabsorvida, podendo arrastar bactérias em suspensão para o interior da planta, mais precisamente para o interior dos vasos do xilema. A gota de água secretada pelo hidatódio contém quantidades traços de substâncias

que podem servir como quimioatrativos e fonte de nutriente para as bactérias (FENG & KUO, 1975).

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, agente causal da podridão negra das crucíferas, foi o primeiro fitopatógeno relatado a penetrar através de hidatódios (MEIER, 1934; COOK et al., 1952). Estudos utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) indicaram também que hidatódios de plantas de arroz são porta de entrada para *X. campestris* pv. *oryzae*, estando envolvidas na especificidade parasita-hospedeiro (MEW et al., 1984).

### 2.3. Nectários ou glândula nectarífera

É toda glândula em um organismo vegetal a princípio capaz de produzir e secretar néctar. São comuns nectários em flores, oferecendo uma fonte de líquido e carboidratos a animais, que assim podem atuar na polinização das plantas, mas também ocorrem nectários em diversos outros órgãos, com as mais diferentes finalidades. Ocorrem na base das flores em pontos de emergência de estames e do estigma e excretam substâncias açucaradas. Estas estruturas consistem de duas células guarda, similar àquelas presentes em estômatos, porém não regulam a abertura do poro. Nesta região ocorre deposição de cutina, exceto na região sobre o poro. Abaixo do poro, existe uma zona de tecido contendo de 12 a 15 camadas de células formando um canal onde é produzido o néctar e algumas bactérias podem se multiplicar. Estudos conduzidos por ROSEN (1936) revelaram que de 24 a 48 horas após a inoculação de nectários de pêra, estes permanecem ativos na secreção e que *Erwinia amylovora* multiplicou-se especificamente em regiões onde existiam gotas de néctar, acessando e colonizando o interior dos tecidos via abertura do nectário.

Utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) de flores de pêra aparentemente sadias, coletadas sob condições naturais, foi observada a presença de grande número de células de *Erwinia amylovora*, quase que exclusivamente colonizando a superfície do estigma de pistilos excizados. Pistilos com mais de  $10^6$  células bacterianas freqüentemente desenvolveram frutos sadios, sugerindo

BODMAN, S. B. Von; MAJERCZAK, D. R.; COPLIN, D. L. A negative regulator mediates quorum-sensing control of exopolysaccharide production in *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 97, p. 3526-3532, 2000.

BUDDENHAGEN, I.; KELMAN, A. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 2, p. 203-230, 1964.

COOK, A. A.; WALKER, J. C.; LARSON, R. H. Studies on the disease cycle of black rot of crucifers. **Phytopathology**, St. Paul, v. 42, p. 162-167, 1952.

CROES, C.; MOENS, S.; BASTELAERE, E. Van; VANDERLEYDEN, J.; MICHIELIS, K. The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense* adsorption-induced to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, London, v. 139, p. 2261-2269, 1993.

DAZZO, F. B.; HUBBELL, D. H. Cross-reactive antigens and lectin as determinant of symbiotic specificity in the *Rhizobium*-clover association. **Applied Microbiology**, Washington, v. 30, p. 1017-1033, 1975.

DAZZO, F. B.; NAPOLI, C. A.; HUBBELL, D. H. Adsorption of bacteria to roots as related to host specificity in the *Rhizobium*-clover symbiosis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 32, p. 166-171, 1976.

DE WEGER, L. A.; LOOSDRECHT, M. C. M. VAN; KLAASEN, H. E.; LUGTENBERG, B. Mutational changes in physicochemical surface properties of plant-growth-stimulating *Pseudomonas* spp. do not influence the attachment properties of the cells. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 171, p. 2756-2761, 1989.

DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N<sub>2</sub> fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 44, p. 310-313, 1992.

## 7. Referencias Bibliográficas

---

ALBERSHEIM, P.; ANDERSON, A. J. Carbohydrates, proteins, cell surfaces, and the biochemistry of pathogenesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 26, p. 31-52, 1975.

ANDERSON, A. J. Isolation from root and shoot surfaces of agglutinins that show specificity for saprophytic pseudomonads. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 61, p. 3438-3443, 1983.

BALDANI, V. L. D.; ALVAREZ, M. A. de B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 90, p. 35-46, 1986.

BASHAN, Y. Migration of the rhizosphere bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* towards wheat roots in the soil. **Journal of General and Microbiology**, London, v. 132, p. 3407-14, 1986.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Active attachment of *Azospirillum brasilense* Cd to quartz sand and light textured soil by protein bridging. **Journal of General Microbiology**, London, v. 134, p. 2269-2279, 1988.

BASHAN, Y.; MITIKU, G.; ZIV-VECHT, O.; LEVANONY, H. Estimation of minimal numbers of *Azospirillum brasilense* using time-limited liquid enrichment combined with enzyme-linked immunosorbent assay. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 23, p. 135-138, 1991.

BASHAN, Y.; SHARON, E.; OKON, Y. Scanning electron and light microscopy of infection and symptom development in tomato leaves infected with *Pseudomonas tomato*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 19, p. 139-144, 1981.

BAUER, W. D. Infection of legumes by Rhizobia. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 32, p. 407-449, 1981.

BELL, G. I. Models for the specific adhesion of cells to cells. **Science**, Madison, v. 200, p. 618-627, 1978.

que esta região se caracteriza como um sítio de multiplicação. Além disto, precipitações pluviométricas que ocorreram 72 a 96 horas após a inoculação, causam um incremento nas taxas de infecção, provavelmente devido a lavagem das bactérias da superfície do estigma para a região dos nectários, onde ocorre a penetração (THOMSON, 1978).

### 2.4. Lenticelas

Órgãos de arejamento encontrados nos caules e raízes. São pequenos pontos de ruptura no tecido suberoso, que aparecem como orifícios na superfície do caule e fazem contacto entre o meio ambiente e as células do parênquima, tendo como função aumentar as trocas gasosas. Durante a transformação de estômatos em lenticelas, a primeira e a segunda camada de células sub-epidérmicas ao redor da câmara sub-estomática dividem-se para dentro e para fora do tecido, resultando na formação de uma massa de células de parênquima, frouxamente associadas com grandes espaços intercelulares. Devido a continuidade entre os espaços intercelulares das células das lenticelas e dos tecidos mais internos da planta, estas constituem sítios potenciais de infecção para muitos patógenos como *Erwinia carotovora* (agente da podridão mole) ou *Streptomyces scabies* (agente da sarna da batata). A infecção de lenticelas é altamente favorecida por umidade relativa elevada e a base de resistência das plantas esta na deposição de suberinas nos espaços intercelulares das células sob invasão bacteriana (FOX et al., 1972).

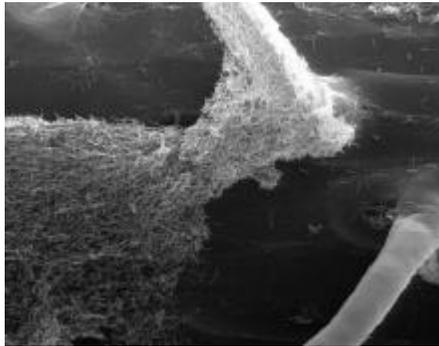
## 3. Penetração através de Injúrias e Feridas

---

### 3.1. Tricomas quebrados

São apêndices de origem celular presentes na superfície de qualquer órgão das plantas, constituindo seu indumento. Podem ser estruturas unicelulares, ou formadas por células em série, ou estruturas complexas com células especializadas, simples ou ramificadas. Podem ter origem no mesófilo ou nas epidermes. De maneira geral são vistos como "pêlos" ou pequenas "escamas" na superfície de folhas e caules e com função secretora ou não. Muitas

destas estruturas são extremamente frágeis, colapsando facilmente sob ligeira pressão. A frequência de tricomas na superfície foliar, varia com a espécie e com a idade da planta, sendo maior em folhas mais jovens e na face abaxial.



Tricoma quebrado: colonização bacteriana do tricoma que foi danificado.

Foto: Fabio Olivares

SCHNEIDER & GROGAN (1977) trabalhando com genótipos de tomate contrastantes quanto a densidade de tricomas na superfície foliar infectados com a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, concluíram que os tricomas foliares servem como habitat para sobrevivência de populações epífitas da bactéria durante períodos de seca. Ademais, a base dos tricomas serve também como sítio de multiplicação e penetração, pois como resultado da proliferação da bactéria, freqüentemente a base desta estrutura se rompe, permitindo infecção da planta (BASHAN et al., 1981).

### 3.2. Emergência de raízes laterais

Raízes laterais comumente originam-se no periciclo e crescem na direção do córtex da raiz parental, rompendo a camada de células da epiderme e emergindo para o exterior. Nestes sítios, formam-se grandes cavidades que se constituem sítios de infecção para muitas bactérias, incluindo bactérias diazotróficas como *Azospirillum* spp (PATRIQUIN et al., 1983), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (JAMES et al., 1994) e *Azoarcus* sp. (REINHOLD & HUREK, 1988). SCHMIT (1978) investigando o processo de infecção de *Pseudomonas solanacearum* em plântulas de tomate em um cultivo "in vitro", utilizando um MEV, verificou que 3 dias após a inoculação

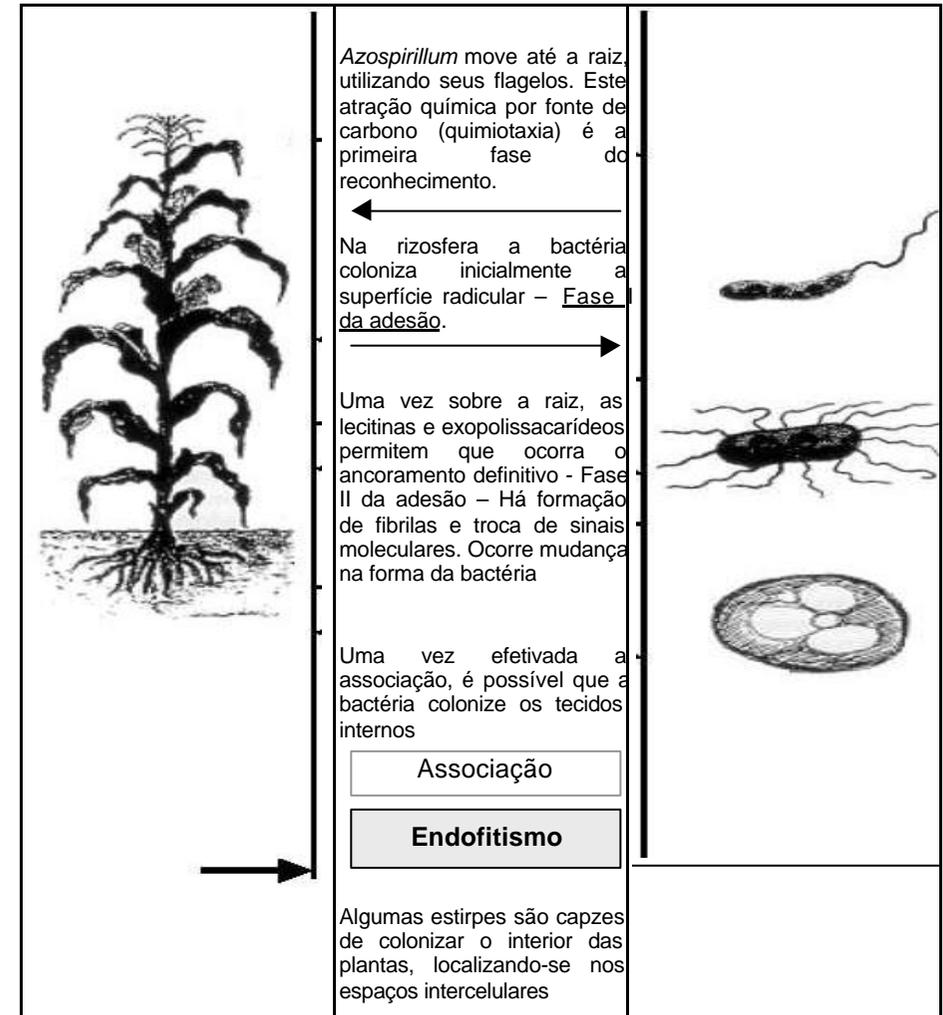
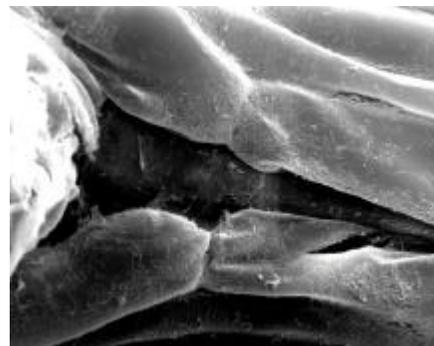


Figura 4: Modelo esquemático do processo de colonização de bactérias do gênero *Azospirillum* em raízes de plantas como o milho, por exemplo.

A colonização das raízes de plantas por rizobactérias promotoras ou deletérias ao crescimento deve ocorrer como pré-requisito para que a bactéria exerça seus efeitos. Neste sentido, a adesão assume papel relevante como característica seletiva na manutenção do contato da bactéria com a planta hospedeira. O grupo das pseudomonas fluorescentes é largamente reconhecido como potentes colonizadores de rizosfera, sendo amplamente utilizadas em programas de controle biológico de fitomoléstias radiculares e promoção do crescimento (WELLER, 1983). Inúmeros trabalhos demonstraram a inexistência de sítios específicos de adesão nos passos iniciais da interação. Os mesmos localizam-se ao longo de todo eixo radicular e podem ser ocupados por muitas bactérias (JAMES JR. et al., 1985; PINHEIRO, 1992).

Entretanto, ANDERSON (1983) relatou a presença de fatores de aglutinação específicos (glicoproteínas) conhecidos como aglutininas, que poderiam em parte responder pela elevada capacidade de colonização de pseudomonas não fluorescentes. O componente de superfície da bactéria que interage com aglutininas presentes em plantas ainda não é conhecido. Foi demonstrado por DE WEGER et al., (1989) que a porção O-antigênica do LPS de *P. fluorescens* e *P. putida* é essencial para a eficiência da colonização, porém não está envolvida na adesão de bactérias a raiz.

as bactérias foram predominantemente observadas nos pontos de emergência de raízes secundárias com raízes primárias, dispondo-se como micro-colônias.



*Abertura da raiz provocada pela emergência da raiz secundária.*

*Foto: Fabio Olivares*

### 3.3. Feridas

São danos na superfície das raízes devido a abrasão com o solo durante o processo de crescimento radicular ou na parte aérea devido a ação de chuvas e ventos. Estas feridas são a principal entrada dos microrganismos no vegetal.

Dentre as bactérias fitopatogênicas, *Agrobacterium tumefaciens* é aparentemente a única que requer feridas para infectar a planta hospedeira e induzir a formação de tumores (LIPPINCOTT & LIPPINCOTT, 1969). JAMES et al.; (1994) verificaram que feridas se constituem numa porta de entrada para *Gluconacetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar, notando que grande número de bactérias acumulavam-se nas regiões de ruptura de células da epiderme.

A seguir temos um modelo ilustrativo de como as bactérias podem penetrar nos tecidos vegetais e onde e que sintomas serão visíveis a sua infecção (Figura 2).

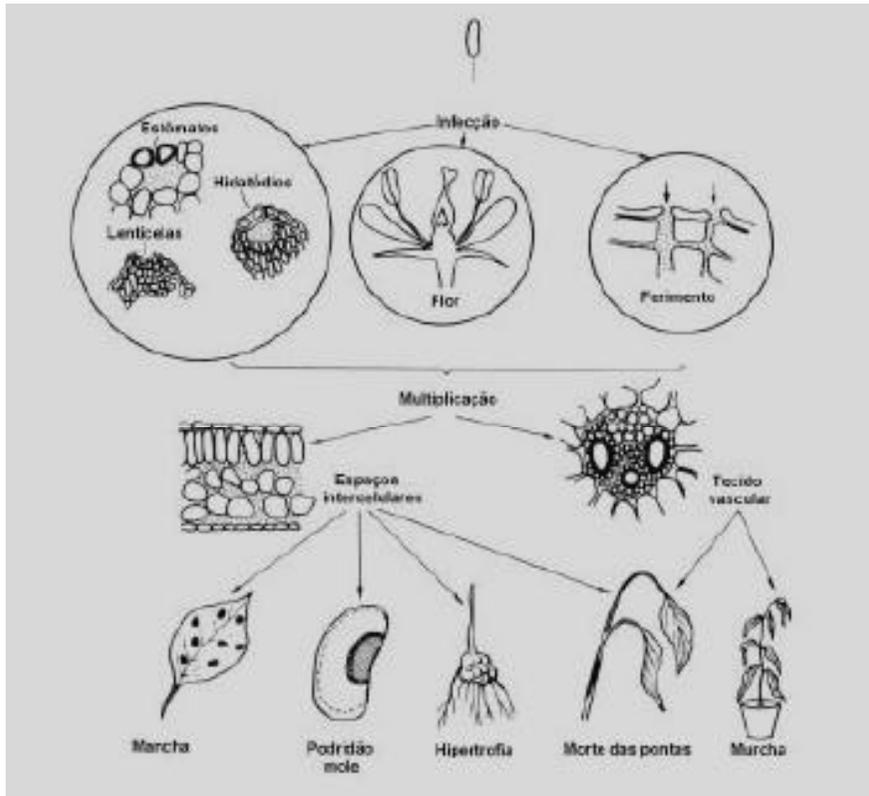


Figura 2: Penetração, multiplicação e sintomas causados por fitobactérias  
<http://www.ufrpe.br/fitopatologia/teoricas/T07.pdf>

## 4. Estabelecimento de Bactérias no Interior da Planta

### 4.1. Bactérias fitopatogênicas

A grande maioria das bactérias fitopatogênicas são parasitas facultativos, possuindo mecanismos versáteis de sobrevivência fora da planta hospedeira. Quando em interação com a planta, estirpes virulentas de bactérias iniciam o processo de patogênese, penetrando na planta hospedeira em sítios específicos próximos ou com acesso facilitado ao local de estabelecimento da doença.

firmemente aderida e outras bactérias em suspensão, aderem-se a esta formando agregados de bactérias no sítio de adesão. Recentemente, CROES et al., (1993) apresentaram evidências de que o flagelo polar de *A. brasilense* ou compostos presentes no mesmo, funcionam como adesivos, mediando a adesão radicular.

Estudos ao MEV, envolvendo a colonização de raízes de gramíneas por *Azospirillum* têm indicado que a região da raiz susceptível e o modo de adesão são similares em todas as espécies estudadas, envolvendo a formação de pequenos agregados ou células isoladas principalmente na superfície das zonas de alongamento e diferenciação e zona de formação de pêlos, com relativamente menos células aderidas aos pêlos radiculares e algum grau de colonização intercelular (BASHAN, 1986; LEVANONY & BASHAN, 1989). Contrário ao padrão uniforme de colonização observado em raízes de gramíneas, BASHAN et al., (1991) avaliando a colonização da superfície radicular de outras espécies não gramíneas, como tomate (*Lycopersicum esculentum*), pimenta (*Capsicum longum*) e algodão (*Gossypium herbaceum*) por *A. brasilense*, verificaram que o padrão de colonização das diferentes regiões anatômicas da raiz era dependente da espécie. Havia variações quanto a adesão a superfície dos pêlos e da zona de formação dos pêlos, diferenciando-se, desse modo, do padrão típico das gramíneas. Uma característica marcante da adesão radicular de *Azospirillum* é o ancoramento das células da bactéria a superfície da planta por meio de um material fibrilar, bastante visível ao MEV. É difícil afirmar se esta estrutura citada por BASHAN et al., (1991) é o polissacarídeo que se liga ao calcofluor como citado por MICHIELIS et al., (1991). De acordo com BASHAN & LEVANONY (1988) esta conexão fibrilar tem papel fundamental no ciclo de vida da bactéria, fixando-a na micela do solo e nas raízes de plantas. HAAHTELA et al., (1986) relataram adesão específica aos pêlos radiculares pela bactéria diazotrófica *Klebsiella* spp., não sendo observada a adesão a células da epiderme da superfície radicular. O modelo descrito na Figura 4 descreve as diferentes etapas da adesão e colonização de bactérias diazotróficas ao tecido vegetal, neste caso está sendo usado o exemplo do *Azospirillum* colonizando raízes de milho.

ancorar firmemente a bactéria ao sítio e permitem a formação de agregados. A bactéria possui enzimas como pectinase (MATTHYSSE et al., 1981), a qual altera a parede celular e permitindo uma associação mais estreita entre a bactéria e a planta.

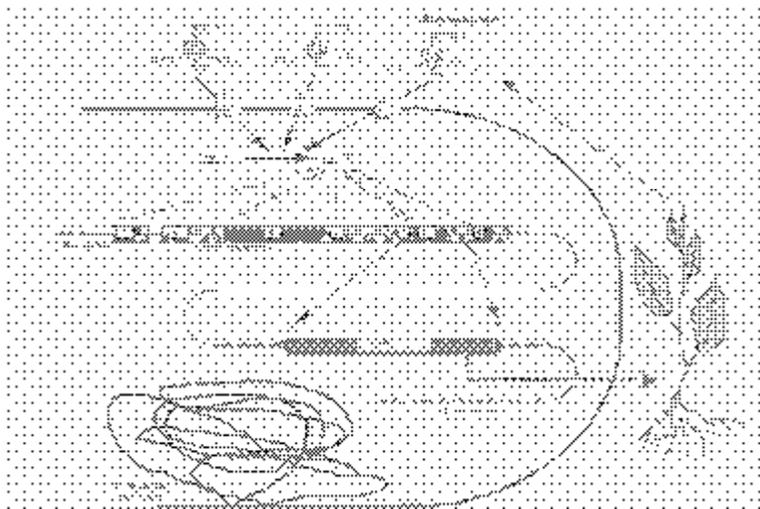


Figura 3: Esquema da interação molecular estabelecida entre a planta e o Agrobacterium que resulta na ativação dos genes de virulência e transferência do T-DNA, em cadeia simples, delimitado por seqüências de extremidade ("borders") e protegido por proteínas de virulência (OLIVEIRA, 2006)

### 6.3. Adesão de bactérias fixadoras de nitrogênio e rizobactérias promotoras de crescimento a superfície radicular

Poucos estudos têm sido conduzidos envolvendo a capacidade de adesão de bactérias benéficas e sua relevância. O maior volume de informação concentra-se no estudo da interação entre bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* e plantas da família das gramíneas. MICHIELIS et al., (1991) demonstraram que a adesão de *A. brasilense* às raízes de trigo ocorre em duas fases características, a primeira (fase de adsorção), consiste de uma ligação rápida e reversível, enquanto que na segunda fase (fase de ancoragem), a bactéria torna-se irreversivelmente ligada a superfície radicular, processo que envolve polissacarídeos não identificados que se ligam ao calco-fluor. Nesta etapa, a bactéria torna-se

Tomemos como exemplo os patovares de *Pseudomonas syringae*. Este grupo de patógenos é geralmente hospedeiro-específico e caracteristicamente coloniza o mesófilo foliar, aparecendo sintomas de clorose e/ou necrose que em muitos casos é atribuída a excreção de toxinas (GROSS & CODY, 1985). Estas bactérias penetram no limbo foliar através da abertura estomática, colonizam a câmara sub-estomática e os espaços intercelulares das células do mesófilo, secretando toxinas de ação específicas, que comprometem a integridade da membrana plasmática e o metabolismo celular. A dispersão da bactéria se dá pela multiplicação excessiva no mesófilo e posterior exsudação de colônias através da abertura estomática com a ação de chuvas e vento. A grande maioria destas bactérias sobrevive como epífitas (DURBIN, 1982; MITCHELL, 1984). Como um segundo exemplo, podemos citar a etiologia do agente causal da murcha bacteriana, *P. solanacearum*, uma bactéria com um amplo espectro de hospedeiros (BUDDENHAGEN & KELMAN, 1964). *Pseudomonas solanacearum* tem como sítio de infecção a região da extremidade radicular e as junções de raízes secundárias. A partir desses sítios de penetração, a bactéria multiplica-se nos espaços intercelulares das células do córtex, invade o parênquima vascular e finalmente acessa os vasos do protoxilema através da degradação da parede celular (WALLIS & TRUTER, 1978; VASSE et al., 1995). O interior do lúmen dos vasos é bloqueado pela multiplicação da bactéria e síntese de exopolissacarídeos, que impedem o transporte da água e nutrientes para a parte aérea. Com a morte da planta hospedeira, a bactéria pode sobreviver saprofiticamente no solo e na rizosfera de plantas residentes (BUDDENHAGEN & KELMAN, 1964; TANAKA & NODA, 1973).

Como podemos perceber pelos dois exemplos acima, em muitos casos, os sítios de infecção estão relacionados com o local de estabelecimento da bactéria no interior da planta. Diferentemente de parasitas obrigatórios, estes organismos possuem uma fase patogênica (no interior da planta hospedeira) e uma fase saprofítica (que envolve um mecanismo específico de sobrevivência) no solo. Parasitas obrigatórios como são inaptos em sobreviver na ausência

do hospedeiro, devem manter relações patogênicas mais sofisticadas e duradouras com a célula vegetal.

#### 4.2. Bactérias Endofíticas

Bactérias endofíticas possuem ciclo de vida similar a bactérias fitopatogênicas, diferindo obviamente destas por não induzirem sintomas de doença a planta hospedeira, muitas das vezes promovendo um efeito benéfico (QUISPEL, 1992). Estudos envolvendo bactérias endofíticas são muito recentes na literatura científica. Um número emergente de pesquisadores tem investigado mais detalhadamente seu papel ecológico e possíveis aplicações práticas deste tipo de interação (DÖBEREINER, 1992; DÖBEREINER et al., 1993; SPRENT & JAMES, 1995; WEI et al., 1991, JAMES et al., 1994, 1997). Embora exista um número grande de relatos mostrando que bactérias diazotróficas podem ocorrer no interior das raízes (BALDANI et al., 1986; LEVANONY & BASHAN, 1989), uma das grandes lacunas no conhecimento dentro desta linha de pesquisa está na definição dos sítios de infecção, estabelecimento e atividade de bactérias endofíticas. Neste sentido, estudos de anatomia e microscopia ganham um espaço importante. Em uma revisão recente SPRENT & JAMES (1995) dentro de um enfoque anatômico, discutem as regiões anatômicas mais aptas a abrigar bactérias diazotróficas endofíticas. Abaixo, serão discutidos os mecanismos de infecção e estabelecimento das principais bactérias fixadoras de nitrogênio associadas a gramíneas.

#### 5. Infecção de Plantas por Ação do Tamanho da População – Quorum-sensing

Bactérias que usam “quorum-sensing” produzem e secretam compostos sinalizadores (chamados de autoindutores) a exemplo das N-acyl-homoserine-lactonas (AHL). Estas bactérias possuem um receptor que detecta especificamente as AHL (indutor). Quando o indutor se liga ao receptor, ativa a transcrição de certos genes, incluindo aqueles que induzem síntese. Quando um pequeno número de outras bactérias do mesmo tipo estão nas redondezas, a difusão reduz a concentração do indutor das cercanias do

(“tumor inducing”), presente em todas as linhagens patogênicas de *Agrobacterium* spp. Os genes presentes no T-DNA codificam enzimas envolvidas na via de biossíntese de reguladores de crescimento, auxinas e citocininas. A síntese desses reguladores pelas células transformadas causa um desbalanço hormonal, levando à formação do tumor no local da infecção (Figura 3).

Outro grupo de genes presentes no T-DNA codifica enzimas responsáveis pela síntese de opinas, que são catabolisadas especificamente pela bactéria colonizadora, como fonte de nutrientes. Após a infecção das feridas, a bactéria se adere a parede celular do hospedeiro, sendo que a adesão é pré-requisito fundamental para a formação dos tumores, existindo uma relação direta entre virulência e adesão (LIPPINCOTT & LIPPINCOTT, 1969; DOUGLAS et al., 1982). Os pelos, “pili”, desta bactéria têm função dupla, tanto auxiliando na adesão quanto atuando no contato célula-célula para mediar a transferência de DNA (HULTGREN et al., 1993).

Diferentemente do rizóbio, lecitinas parecem não estar envolvida na adesão de *Agrobacterium* (LIPPINCOTT & LIPPINCOTT, 1976). Neste caso, a célula da planta possui um papel passivo na ligação da bactéria à planta. *Agrobacterium* é capaz de aderir-se a suspensão de células de cenoura, mortas por aquecimento ou fixadas em glutaraldeído, com a especificidade inalterada e apenas uma ligeira alteração na cinética de ligação (MATTHYSSE et al., 1981).

Estes achados sugerem a presença de um receptor constitutivo. O fato de a bactéria aderir-se a células intactas ou mesmo a protoplastos (células cuja parede celular foi removida), associadas a observações ao microscópio permitiram concluir que existam receptores alocados na parede celular e na plasmalema (MATTHYSSE & GURLITZ, 1982). Apesar da célula da planta ter um papel passivo no processo de adesão de *Agrobacterium*, a bactéria parece ter um papel decisivo. Os sítios de ligação estão localizados na superfície da célula, sendo constitutivos e contendo lipopolissacarídeos (LPS) e proteínas. Após a adesão, a bactéria inicia a síntese de fibrilas de celulose e estas têm a função de

horas após a inoculação, a bactéria já esta aderida a superfície do pêlo radicular, que começa a se curvar ou ramificar-se. Dentro de 16 a 24 horas, o pêlo está totalmente deformado. Nestas regiões, o rizóbio aparentemente digere a parede celular do hospedeiro, formando um sítio de entrada. A presença de enzimas pectinolíticas e enzimas que degradam celulosas e hemi-celulosas, têm sido demonstrada em *Rhizobium* (MARTINEZ-MOLINA et al., 1979). Estas enzimas hidrolisam a parede celular do pêlo radicular nas regiões onde a bactéria está aderida. A célula hospedeira responde sintetizando uma fina camada de parede celular, formando o cordão de infecção, que acompanhando a multiplicação da bactéria, invade o interior do córtex, liberando a bactéria no interior de células recém-divididas. O papel de lectinas na adesão do rizóbio a superfície da parede celular do pêlo radicular tem merecido muita atenção (ALBERSHEIM & ANDERSON, 1975; BAUER, 1981). Lectinas são proteínas ou glicoproteínas com sítios múltiplos para ligação a açúcares específicos presentes na parede celular da bactéria. De um modo geral, poderíamos dizer que o primeiro passo na formação de nódulos por *Rhizobium* é a adesão da bactéria à superfície do pêlo radicular. Esta ligação envolve polissacarídeos presentes na superfície da bactéria, podendo de acordo com DAZZO & HUBBELL (1975) incluir polissacarídeos extracelulares (EPS), polissacarídeos capsulares (CPS) e lipopolissacarídeos (LPS). A interação entre lectinas específicas presentes na parede celular do hospedeiro e polissacarídeos presentes na bactéria durante o processo de adesão poderia facilitar a iniciação do processo infeccioso, bem como, facilitar a troca de metabólitos e a atividade de enzimas que degradam polissacarídeos (HALVERSON & STACEY, 1986).

## 6.2. Adesão de *Agrobacterium tumefaciens* a dicotiledóneas

*Agrobacterium tumefaciens* é o agente causal da galha-da-coroa, doença que afeta a maioria das plantas dicotiledóneas e caracteriza-se pelo crescimento de tumores na junção entre o caule e a raiz (coroa). A formação desses tumores é o resultado de um processo natural de transferência de genes de *Agrobacterium* spp. para o genoma da planta infetada. Esses genes estão contidos em um plasmídeo de alto peso molecular (120 a 250 kb), denominado Ti

meio externo para praticamente zero, então a bactéria produz pouca quantidade de indutor. Do contrário, quando muitas bactérias do mesmo tipo estão presentes, a concentração do indutor passa a ser maior, induzindo a produção de mais indutor. Isto forma um ciclo positivo de indução e o receptor se torna ativo. Este mecanismo induz a regulação de alguns genes específicos, como a lusiferase. Uma grande variedade de bactérias Gram negativas e Gram positivas apresentam esse tipo de fenômeno para a regulação de diversos mecanismos celulares, entre eles a expressão de fatores de virulência, esporulação (Gram positivas), produção de toxinas, síntese de antibióticos, formação de biofilmes e motilidade.

Os genes que são alvo da regulação por *N*-acyl-homoserine-lactonas (AHLs) são extremamente diversos e o mecanismo regulatório também deve ser (BODMAN et al., 2000); entretanto, o mecanismo de sinalização de quorum-sensing é muito conservado. Geralmente, cada bactéria produz uma quantidade basal de AHLs que se move para dentro e para fora da membrana celular através de difusão ou transporte ativo (PEARSON, et al., 1999). Quando as AHLs alcançam a concentração advinda de uma alta população bacteriana, ela interage com o fator de transcrição da família do LuxR e inicia a expressão de um determinado gene (ZHU & WINANS, 1999). Tem sido sugerida a possibilidade de se estabelecer um modo de inibir este mecanismo de quorum-sensing para controlar infecções bacterianas (DONG et al., 2001).

## 6. Adesão de Bactérias à Superfície das Plantas

---

A fase inicial da invasão de tecidos por bactérias é um processo altamente dependente do acaso. Apesar da motilidade de algumas espécies de bactérias estar garantida pela presença dos flagelos (GOODMAN et al., 1986) estas usualmente dependem de ferimentos e/ou aberturas naturais para ganhar o interior das plantas (conforme citado anteriormente). A colonização tem início tão logo as condições favoráveis sejam encontradas aliadas a ausência de reações por parte dos tecidos das plantas. Algumas bactérias apresentam genes *hrp* (do inglês "hypersensitive reaction pathogenesis") que elicitam a reação de hipersensibilidade em determinados hospedeiros (MINARDI, 1995).

O papel da adesão em interações envolvendo plantas e bactérias não é completamente conhecido. No entanto, é fácil pressupor que uma vez que uma bactéria atinja um sítio favorável, sua habilidade para resistir a remoção constitui-se em uma vantagem seletiva. De outro lado, a adesão de bactérias fitopatogênicas a plantas susceptíveis, tem sido considerada em muitos casos, como um evento essencial no processo de infecção. Além disso, para que rizobactérias promotoras ou deletérias ao crescimento exerçam um efeito fisiológico significativo sobre a planta hospedeira, a bactéria deve colonizar efetivamente a superfície radicular.

De modo geral, a adesão de bactérias à superfície da planta é caracterizada por uma fase inicial reversível e inespecífica que envolve interações de carga ao nível de superfície, e uma segunda fase, caracterizada como tempo-dependente e irreversível, sendo mediada por propriedades adesivas de polímeros extracelulares, em certos casos altamente específicas (ROMANTSCHUK, 1992). A superfície das bactérias, assim como a das plantas, exhibe carga de superfície líquida negativa em meio aquoso, e desse modo forças eletrostáticas manteriam as células afastadas. Para aderir-se a uma superfície da planta, a célula bacteriana deve sobrepor a barreira energética repulsiva, estabelecendo pontes com cátions divalentes, ligações iônicas em regiões localizadas positivamente carregadas, pontes de hidrogênio e via forças de van der Waals (BELL, 1978; ROMANTSCHUK, 1992). Além disso, substâncias hidrofóbicas depositadas na superfície da planta (por ex.: ceras) e regiões hidrofóbicas da superfície da bactéria, podem permitir o íntimo contato entre as células e, desse modo, facilitar interações posteriores (BELL, 1978; ROMANTSCHUK, 1992). O efeito positivo de cátions divalentes como  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$  e o efeito negativo de cátions monovalentes como  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  na adesão tem sido amplamente discutido na literatura. A adesão de *Pseudomonas fluorescens* estirpe E6-22 a raízes de rabanete foi estimulada por concentrações variando de 5 a 10 mM de cálcio ou magnésio (JAMES JR et al., 1985).

Os detalhes moleculares do reconhecimento e ligação de sítios na superfície da planta hospedeira são conhecidos em poucos sistemas. Além do que, existem muitas controvérsias com respeito a

importância, a especificidade e a natureza dos fatores que contribuem para adesão da célula bacteriana a determinados alvos na superfície da planta. No trabalho conduzido por JAMES JR. et al., (1985) em condições de laboratório, tanto rizobactérias promotoras ou deletérias ao crescimento naturalmente isoladas de raízes de rabanete, quanto bactérias isoladas de outras fontes incluindo *Escherichia coli*, foram capazes de aderir-se a superfície radicular de plantas de rabanete. Para todas as bactérias estudadas o número de bactérias aderidas aumentou com o tempo e com a concentração inicial de inóculo. A saturação no número de bactérias aderidas seria esperada se sítios de alta afinidade de adesão estivessem presentes na superfície radicular. Entretanto isto não ocorreu neste estudo, demonstrando claramente a inexistência de especificidade na adesão rápida. A adesão inespecífica tem sido demonstrada também para *Rhizobium*. PUEPPKE (1984) observou que a adesão de diversas estirpes de rizóbio às raízes foi independente da espécie de planta e da especificidade de nodulação. Se de um lado tem sido amplamente relatada que a adesão rápida é um fenômeno inespecífico, de outro lado, várias estruturas ou biomacromoléculas presentes na superfície da bactéria têm sido relatadas como tendo um papel primordial na adesão permanente e em governar em parte a especificidade e a capacidade de colonização sob condições naturais. Estas estruturas incluem proteínas filamentosas não-flagelares conhecidas como fímbrias e pili (KORHONEN et al., 1983), polissacarídeos como fibrilas de celulose e moléculas solúveis como  $\beta$ -1,2-glucanos (MATTHYSSE et al., 1978), lectinas envolvidas na interação Rizóbio-Leguminosa (DAZZO et al., 1976) e aglutininas específicas para pseudomonas do grupo fluorescente (ANDERSON, 1983). A maioria dos estudos nesta área concentra-se em três sistemas, na simbiose leguminosa-rizóbio, na interação parasitária dicotiledóneas-agrobactéria e bactérias fitopatogênicas Gram negativas em interações resistentes, conforme discutido abaixo.

### 6.1. Adesão de *Rhizobium* à superfície dos pêlos radiculares

Estudos envolvendo *Rhizobium trifolii* e *Trifolium repens* (trevo branco), conduzidos por FAHRAEUS (1957), demonstraram que 5