

Defesa de Plantas contra o Ataque de Fitopatógenos

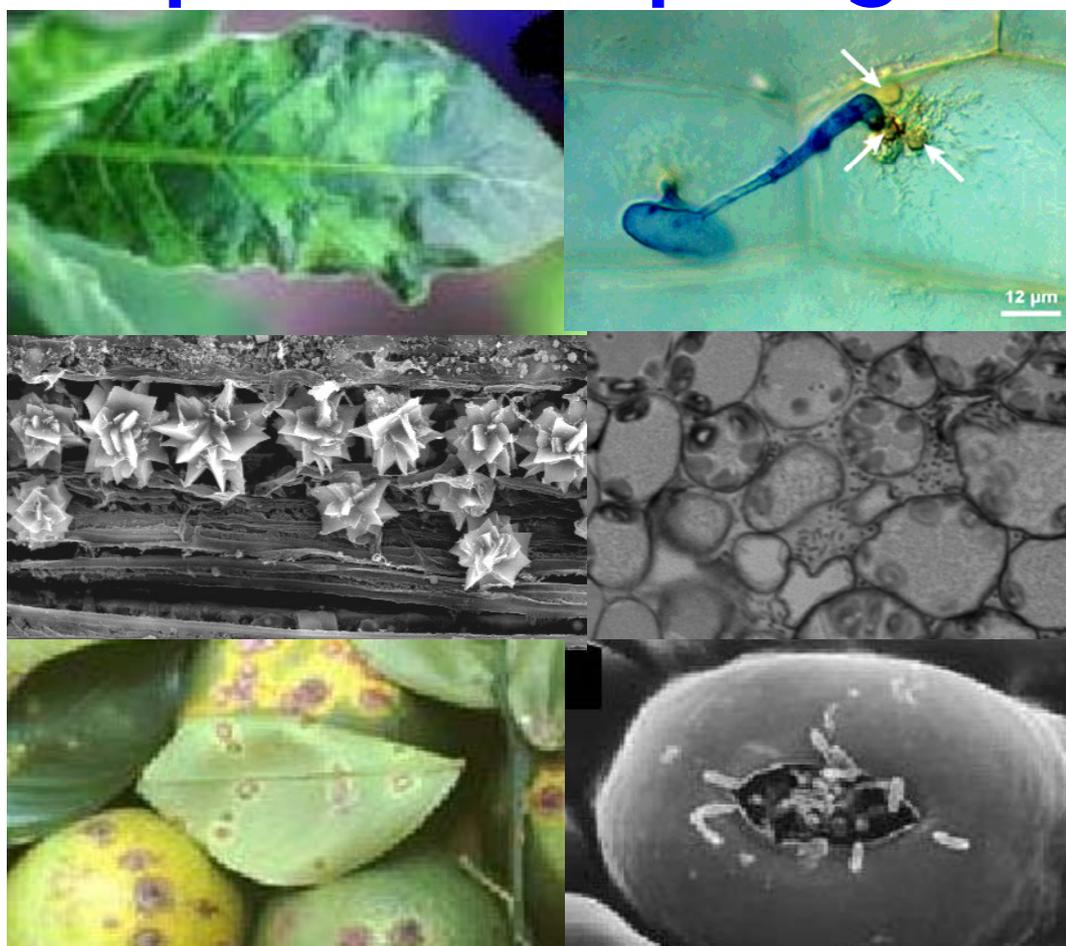


Figura 1. www.bio.puc.cl/labs/arce/mosaico.jpg

Figura 2. HÜCKELHOVEN, R. Cellwall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annual Review of Phytopathology*, v.45, p.101-27, 2007.

Figura 3-4 – DO AUTOR – NÃO PUBLICADO

Figura 5 - <http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/agricultura/aa-enfermedades/xanthomonas-sp..htm>

Figura 6 - <http://www.bspp.org.uk/publications/pathprofiles/pathprofile35-1.jpg>



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

*ISSN 1517-8498
Maio/2008*

Documentos 250

**Defesa de Plantas contra o Ataque de
Fitopatógenos**

Ricardo Alexandre da Silva
Veronica Massena Reis
José Ivo Baldani
Fábio Lopes Olivares

*Seropédica – RJ
2008*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridas na:

Embrapa Agrobiologia

BR 465 – km 7

Caixa Postal 74505

23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil

Telefone: (0xx21) 2682-1500

Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

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

Expediente:

Revisores e/ou ad hoc: Elen de Lima Aguiar-Menezes e Francisco Adriano de Souza

Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

1ª impressão (2008): 50 exemplares

S586d Silva, Ricardo Alexandre da

Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos / Veronica Massena Reis, José Ivo Baldani, Fábio Lopes Olivares. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. 49 p. (Documentos / Embrapa Agrobiologia, ISSN 1517-8498; 250)

1. Doença de planta. 2. Patógeno. 3. Defesa vegetal. I. Reis, V. M., colab. II. Baldani, J. I., colab. III. Olivares, F. L., colab. IV. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). V. Título. VI. Série.

CDD 632.3

Autores

Ricardo Alexandre da Silva

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro – CCX/PBV –
Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal.

Veronica Massena Reis

Eng^a 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

José Ivo Baldani

Eng^o Agrônomo, PhD em Ciência do Solo, Pesquisador da
Embrapa Agrobiologia.

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

e-mail: ibaldani@cnpab.embrapa.br

Fábio Lopes Olivares

Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do
Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

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).

As atitudes de usar com responsabilidade os recursos naturais (solo, água, ar, flora, fauna, energia), de preservar e conservar a natureza são cada vez mais necessárias para a sociedade moderna acarretando em uma busca constante por sistemas de produção agropecuários apoiados em princípios ecológicos e naturais.

Dentro desse cenário, a Embrapa Agrobiologia construiu o seu atual plano diretor de pesquisa (2008-2011), desenvolvimento e inovação com a seguinte missão “gerar conhecimentos e viabilizar tecnologias e inovação apoiados nos processos agrobiológicos, em benefício de uma agricultura sustentável para a sociedade brasileira”.

A série documentos nº 250 intitulada “Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos” apresenta em linhas gerais os processos naturais das espécies vegetais para resistirem aos diversos agentes causadores de doenças tais como bactérias, fungos e vírus. A existência de barreiras físicas e bioquímicas, bem como da indução à resistência são mecanismos existentes nas plantas e que são apresentados neste trabalho com o objetivo de dar uma visão geral a todos interessados na temática. As perspectivas do uso da biotecnologia para ampliar a resistência dos vegetais como forma de aumentar a produtividade agrícola e reduzir custos de produção e ambientais também são abordados indicando um vasto campo de pesquisa ainda a ser explorado.

O grande desafio de conciliar a produção agropecuária com a redução de impactos negativos sobre o meio ambiente sem dúvida perpassa o avanço do conhecimento sobre como otimizar os mecanismos naturais das plantas e a presente publicação mostra parte deste imenso potencial agrobiológico, boa leitura a todos.

Eduardo Francia Carneiro Campello
Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia

SUMÁRIO

Introdução.....	7
Indução de resistência.....	8
Resistência Local ou Reação Hipersensível (RH)	9
Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) e Resistência Sistêmica Induzida (RSI)	10
Processos de indução de resistência	12
Reconhecimento	13
Sinalização.....	16
Sinalizadores	17
Respostas de defesa	19
Barreiras bioquímicas como mecanismo de resistência a fitopatôgenos ...	20
Fenóis	20
Fitoalexinas.....	21
Proteínas-PR (“pathogenesis-related proteins”)	22
Produção de radicais livres (estresse oxidativo).....	25
Lectinas.....	26
Barreiras estruturais como mecanismo de resistência a fitopatôgenos	26
Síntese de géis e gomas em resposta a infecção vascular	27
Deposição de parede celular (cordões de infecção).....	27
Papilas, lignificação e calose	28
Características anatômicas do vegetal	29
Estratégias de ataque desenvolvidas por fitopatógenos	29
Síntese de exopolissacarídeos (EPS).....	30
Síntese de toxinas	31
Enzimas de degradação da parede celular.....	31
Produção de hormônios vegetais.....	32
Estratégias e avanços biotecnológicos na defesa de plantas contra doenças	33
Considerações Finais	35
Referências Bibliográficas	36

Defesa de Plantas contra o Ataque de Fitopatógenos

Ricardo Alexandre da Silva

Verônica Massena Reis

José Ivo Baldani

Fabio Lopes Olivares

Introdução

Como em animais, as plantas estão continuamente expostas ao ataque de patógenos. Porém, tendo em vista a inexistência de resposta imune mediada por anticorpos, as plantas desenvolveram durante o processo de evolução, mecanismos diferenciados de defesa que, quando acionados (na maioria das vezes por fungos, bactérias e vírus) percebem a agressão, traduzindo essa percepção em uma resposta apropriada e de forma adaptativa (PIETERSE et al., 2005; SHEWRY & LUCAS, 1997; WIT, 2007).

De forma geral, são capazes de se defenderem do ataque de maneira efetiva, dada a multiplicidade e eficiência desses mecanismos, de maneira que, na natureza, a resistência é uma regra e a susceptibilidade uma exceção (AGRIOS, 1997).

Assim sendo, podemos afirmar que as plantas não permitem de forma passiva a entrada de patógenos no seu interior. Pelo contrário, elas percebem as agressões e a sua alta capacidade de adaptação permite que sobrevivam, mesmo tendo, muitas vezes, seu desenvolvimento prejudicado (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999).

A resistência da planta a um determinado patógeno é definida, sob o aspecto genético funcional, como sendo a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos (NOJOSA et al., 2005; ATHAYDE SOBRINHO et al., 2005). De maneira geral, ocorre por um conjunto de mecanismos ou barreiras pré ou pós-formados.

Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo discutir de forma sumária os processos e mecanismos envolvidos na defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos.

Indução de resistência

O conhecimento sobre a indução de resistência em plantas contra patógenos é secular e sabe-se que envolve a ativação de mecanismos inativos ou latentes na planta (STICHER et al., 1997). Foi conceituada como sendo a ativação de um estado de resistência contra doenças, o qual é induzido sistemicamente em plantas pela utilização de agentes externos (indutores) bióticos ou abióticos, sem qualquer alteração do genoma da planta, ocorrendo de maneira não-específica, por meio da ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa (STADNIK, 2000; HAMMERSCHMIDT et al., 2001).

É importante salientar que, a atividade do agente indutor não é devida à ação antimicrobiana ou a sua transformação em agentes antimicrobianos, mas sim devida à capacidade do mesmo em sensibilizar a planta e a mesma ativar os seus mecanismos de defesa estruturais e bioquímicos em resposta à presença de um patógeno em potencial. Usualmente é complexa e tem como base, a ação combinada de diversos fatores e não apenas um componente (SOARES & MACHADO, 2007).

Conhecido desde o começo do século passado, os primeiros trabalhos sobre o fenômeno da indução de resistência datam de 1901, em trabalhos realizados com a interação *Botrytis cinerea* x *Begonia* sp. (KESSMAN et al., 1994). Em 1933, CHESTER observou que as plantas normalmente susceptíveis podiam adquirir resistência contra doenças após uma infecção primária causada por patógenos ou após o tratamento com formas atenuadas de agentes patogênicos. Um trabalho utilizando tubérculos de batata foi observado que a inoculação de uma área do tubérculo com uma raça avirulenta de *Phytophthora infestans* resultava em uma reação de hipersensibilidade e no acúmulo de fitoalexinas, o que impedia o crescimento da raça compatível nos tecidos (GOODMAN & WOOD, 1986).

Apesar da existência de outros estudos, somente em 1961 a resistência induzida foi alvo de análise mais detalhada (LUCAS, 1999).

ROSS (1961) demonstrou que plantas de fumo após a infecção localizada com o tobacco mosaic vírus (TMV- vírus do mosaico do fumo), adquiriam resistência sistêmica contra vários patógenos resultando na concepção do termo “resistência sistêmica adquirida”

(RSA ou SAR), designando as respostas de defesa induzidas de forma sistêmica pela interação com fatores externos, como radiação ultravioleta, produtos químicos e estruturas de microrganismos.

No Brasil, na década de 70, as primeiras pesquisas sobre resistência induzida abordaram o patossistema cafeeiro x *Hemileia vastatrix*, por meio da utilização de diversos indutores de origem biótica.

Atualmente o fenômeno envolve três manifestações diferentes de resposta; a saber:

Resistência Local ou Reação Hipersensível (RH)

A interação entre a planta e o patógeno pode ser dividida em dois tipos básicos: a interação compatível e a interação incompatível (Tabela 1). Na interação compatível, o patógeno invade o tecido vegetal, se multiplica e provoca a doença na planta. Na interação incompatível, o patógeno ao penetrar no tecido vegetal, encontra as defesas da planta, que irão impedir sua multiplicação (CORDEIRO & SÁ, 1999).

Dessa forma, a infecção de plantas por um microrganismo fitopatogênico incompatível ou um microrganismo não patogênico pode induzir mudanças drásticas na atividade metabólica das células vegetais ao redor do sítio de invasão e levar a indução de resistência. Este mecanismo é conhecido como reação hipersensível (RH), que é caracterizada por uma rápida morte celular no local da infecção (DURRANT & DONG, 2004; HAMMOND-KOSACK & JONES, 1996), sendo um dos mecanismos de resistência mais efetivos e importantes da natureza.

Tabela 1. Possíveis interações entre planta e patógeno.

TIPO DE PLANTAS	PATÓGENOS VIRULENTOS (AUSÊNCIA DO GENE AVR)	PATÓGENOS AVIRULENTOS (PRESENÇA DO GENE AVR)
Plantas com gene de resistência	Doença (interação compatível)	Sobrevivência da planta (interação incompatível)
Plantas sem gene de resistência	Doença (interação compatível)	Doença (interação compatível)

Fonte: CORDEIRO & SÁ (1999).

Embora essa reação tenha sido identificada há quase 100 anos, não está claro se sua característica primária (morte celular) tem alguma função direta na resistência ou é consequência de mecanismos de sinalização que de fato levariam aos eventos capazes de inibir a ação do patógeno (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999). Este mecanismo de reação hipersensível é caracterizado pela restrição e limitação do crescimento da bactéria no sítio de infecção, associada a mudanças na célula hospedeira que incluem alterações na permeabilidade da plasmalema, rápido movimento e agregação citoplasmática, elevação de taxas de respiração, liberação de eletrólitos e materiais eletrondensos e síntese de fitoalexinas, que resultam na formação rápida (menos de 24 horas após a inoculação) de halos necróticos ao redor do sítio de invasão e o consequente confinamento do fitopatógeno.

Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) e Resistência Sistêmica Induzida (RSI)

Ambas designam o mecanismo pelo qual as plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução, como também em outros locais dele distantes, de forma mais ou menos generalizada (STICHER et al., 1997; CONRATH et al., 2006).

Apesar de ao longo dos anos serem consideradas sinônimas e de funções análogas, atualmente, estudiosos acordam sobre a distinção das formas através das quais esses mecanismos de resistência são induzidos, portanto, a RSA e a RSI são fenômenos distintos, embora fenotipicamente semelhantes.

A RSA é explicada pela manifestação ou produção de um sinal liberado a partir do sítio de infecção que provoca a necrose e a translocação deste sinal para outras partes da planta, induzindo reações de defesa que protegerá a planta contra agressões subseqüentes. Na resistência sistêmica induzida (RSI), o indutor não provoca sintomas, como necrose no local da infecção, mas que induz a planta a se proteger sistemicamente.

Dentre os mecanismos induzidos de defesa pela RSA estão as modificações de parede celular, produção de fitoalexinas, e concomitantemente, um aumento de expressão de um grupo enorme

de genes (WARD et al., 1991), incluindo aqueles que traduzem para proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-PR) (VAN LOON & VAN STRIEN, 1999). Ela tem sido descrita em várias espécies de plantas, tais como, fumo (VERNOOIJ et al., 1995), pepino (MADAMANCHI & KUC, 1991), *Arapdopsis* (LAWTON et al., 1995), além de outras culturas como, soja, feijão, cacau, trigo, arroz, milho, batata, tomate, café, algodão, maçã, pêra e melancia dentre outras (STICHER et al., 1997; HAMMERSCHMIDT et al., 2001; TUZUN, 2001). Apresenta características como a expressão contra um amplo espectro de microrganismos, necessidade de um tempo após o tratamento indutor para que ocorra o estabelecimento do fenômeno, duração da proteção por um longo período e atuação através de um processo multicomponente, podendo ser transmissível via enxertia e ser dependente das condições ambientais como luz, temperatura, das concentrações do indutor e do inóculo (GUZZO, 2004). Sua indução é salicilato dependente e geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos.

No caso de RSI, não há acúmulo de proteínas-PR, a planta que sofreu indução não exibe alterações (necrose), o agente indutor é, usualmente, um não-patógeno e sua indução não é salicilato dependente, parecendo haver uma outra rota de sinalização mais associada a jasmonatos e etileno (PIETERSE et al., 1998; VAN LOON et al., 1998). Exemplo claro dessa forma de resistência foi descrito utilizando rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV). Quando aplicadas ao solo, permaneceram localizadas na superfície radicular da planta induzindo resistência nas folhas e caules (PIETERSE et al., 1996). Apresentando também um amplo espectro de atuação, ou seja, elas apresentam efetividade contra diferentes patógenos (VAN WESS et al., 1997).

De qualquer maneira, independentemente do agente biótico indutor, a comunicação cruzada entre as diferentes rotas foi demonstrada (PIETERSE et al., 2005). Portanto, para se evitar confusões, alguns autores preferem o uso do termo geral “resistência induzida” (MÉTRAUX, 2001).

Um dos paralelos entre a RSI e a RSA é que ambos tipos de resistência induzida são efetivas contra um amplo espectro de patógenos de plantas (KUC, 1982; VAN LOON et al., 1998). PIETERSE et al. (2005) em uma revisão recente compara o espectro

de efetividade entre as duas. Para tanto, um grande número de patógenos (vírus, bactéria, fungos e oomicetos) de *Arabidopsis* foi testado. A RSI e a RSA em WCS417r (uma estirpe não patogênica da rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*) foram induzidas por uma estirpe avirulenta do patógeno *Pst* DC3000 (*Pseudomonas syingae* pv. *tomato*), sendo efetivo contra a mancha bacteriana e a podridão negra (PIETERSE et al., 1996; TON et al., 2002). A murcha causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *raphani* também foi afetada por respostas defensivas ativadas durante RSI e RSA (PIETERSE et al., 1996; VAN WEES et al., 1997). Além disso, a doença míldio cotonoso, foi inibida em ambos os casos, apesar de que a RSA foi significativamente mais efetiva do que RSI (TON et al., 2002). Além desses efeitos similares, eles ressaltam que, existem algumas diferenças claras. Por exemplo, plantas expressando RSI demonstram um aumento na resistência contra infecção pelo fungo *Alternaria brassicicola*, enquanto RSA não é efetiva contra esse patógeno. Contrariamente, a expressão de RSA inibe a multiplicação do vírus do crestamento do nabo e fortemente reduz os sintomas causados por esse vírus, enquanto RSI não tem efeito nenhum (TON et al., 2002). Desse modo, o espectro de efetividade de RSI e RSA sobrepõe-se parcialmente, mas também diverge, sugerindo que as respostas defensivas ativadas durante os dois tipos de resistência induzida são no mínimo, diferentes.

Processos de indução de resistência

O processo de indução de resistência de plantas contra patógenos está relacionado com a ativação de um conjunto diverso de mecanismos de defesa. A resposta envolve a transdução de sinais, como abertura de canais de íons, modificações do status de fosforilação de proteínas e ativação transcricional de numerosos genes relacionados à defesa e de enzimas pré-formadas para promover modificações específicas no metabolismo primário e secundário (CORDEIRO & SÁ, 1999).

De maneira geral, para que os mecanismos de defesa sejam induzidos, a planta desencadeia certos processos, que resumidamente inicia pelo reconhecimento do patógeno, emissão de um sinal primário ou mensageiro que irá desencadear uma série de outros sinais e, por fim, ativa genes ligados à defesa ou aumento da atividade de enzimas

importantes para reações de defesa (VAN LOON & VAN STRIEN, 1999), os quais serão discutidos detalhadamente a seguir.

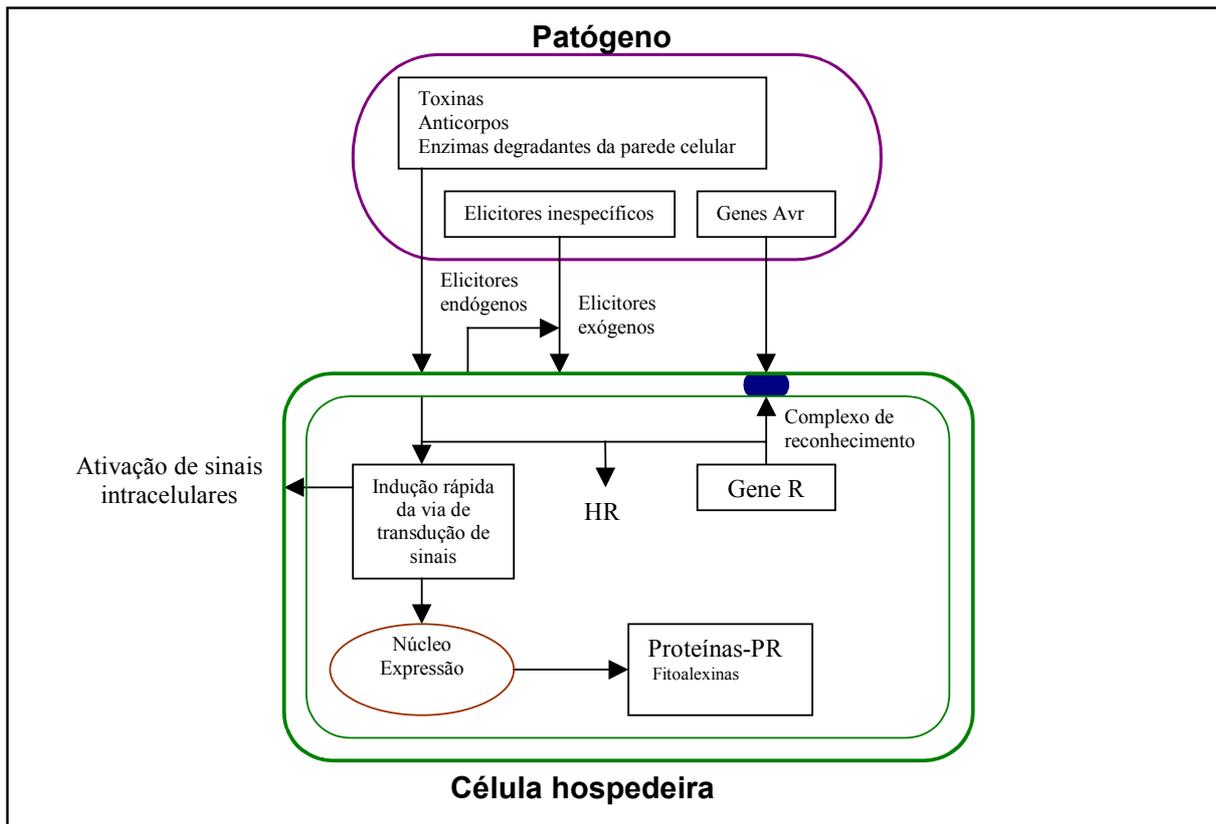
Reconhecimento

A habilidade para reconhecer é um atributo geral de todos os organismos, sendo um mecanismo básico para que atividades fundamentais nos seres vivos se processem, tal como, a fertilização, o desenvolvimento, a diferenciação celular e as respostas imunológicas.

Antigamente, o reconhecimento foi definido como um evento específico que causava uma resposta rápida no hospedeiro, facilitando ou impedindo a multiplicação do fitopatógeno (SEQUEIRA, 1978). Atualmente, sabemos que o reconhecimento de fitopatógenos e seus produtos são eventos primários e essenciais para indução da expressão dos mecanismos de resistência ou suscetibilidade nas plantas. Este reconhecimento, normalmente, se dá por meio da ligação de um elicitor, produzido pelo fitopatógeno, a um receptor presente na membrana plasmática da parede celular da célula vegetal. A partir desta ligação ocorre a sinalização e a síntese de compostos de defesa (LABANCA, 2002) (**Figura 1**).

Há alguns anos atrás, os elicitores eram definidos como sendo moléculas capazes de induzir a síntese de fitoalexinas em tecido vegetal. Atualmente, elicitor é definido como uma molécula capaz de induzir qualquer resposta de defesa (GRAHAM, 1995). Dessa forma, os termos elicitor e indutor podem ser usados como sinônimos.

Os elicitores podem ser espécie-específicos, que são moléculas codificadas por genes de avirulência (*Avr*) do patógeno, ou não ser espécie-específicos, como fragmentos da parede celular da planta liberados durante o processo da infecção, que provocam uma resposta de defesa para minimizar a doença (WIT, 2007). A resistência envolve o reconhecimento específico do patógeno invasor por um produto codificado por um gene de resistência (gene *R*) da planta. Este tipo de interação é denominado “gene-a-gene”, onde para cada gene que confere resistência no hospedeiro, existe um gene correspondente no patógeno que confere sua virulência (BENT, 1996) (**Figura 1**).



SLATER et al., 2003

Figura 1 – Esquema do sistema de defesa da planta quando infectado por um patógeno

A maioria dos elicitores de origem biótica pode ser isolada tanto a partir de tecido vegetal, bem como, de fungos, bactérias ou vírus, sendo na maioria dos casos, proteínas, carboidratos ou glicoproteínas (HAHN, 1996). Entretanto, estresses abióticos como, por exemplo, injúrias, podem liberar moléculas que vão agir como sinalizadores ou mesmo elicitores, sendo, portanto, considerados como elicitores abióticos (FAUTH et al., 1996). Diferentes compostos inorgânicos ou orgânicos não relacionados estruturalmente e diversas substâncias de origem biológica induziram resistência em plantas ao ataque por insetos herbívoros e contra doenças causadas por nematóides, bactérias, fungos e vírus (HAMMERSCHMIDT et al., 2001; HEIL & BOSTOCK, 2002)

A ativação das defesas das plantas pode ocorrer a partir da elicitação por compostos presentes em extratos de plantas, preparações de leveduras, exopolissacarídeos bacterianos, rizobactérias promotoras de crescimento, fungos promotores de crescimento, e ainda raças não virulentas do patógeno, além do próprio patógeno inativado pelo calor.

Pode-se ainda utilizar elicitores químicos ou físicos, como silício (Si), ácido salicílico (AS), ácido D-L-aminobutírico (BABA), quitosana, cloreto férrico, fosfato de potássio dibásico, acibenzolar-S-metil (ASM), ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA), fosfato de potássio monobásico, ácido jasmônico (AJ), metil jasmonato (MeJa), ácidos gráxos ou luz em comprimento de onda específicos (KUHN, 2007).

O éster-S-metil do ácido benzol (1,2,3) tiadiazol-7-carbotiólico (acibenzolar-S-metil, ASM) é um benzotiadiazole análogo ao ácido salicílico. Da mesma forma que o ácido salicílico (AS), o ASM é um ativador químico de resistência, fornecendo proteção contra o mesmo espectro de patógenos e a ativando a expressão dos mesmos genes, quando comparado com a indução biológica da RSA (FRIENDRICH et al., 1996). Se constitui no primeiro ativador vegetal sintético de RSA disponível no mercado (Bion[®] – nome comercial), registrado para as culturas do cacau, tomate e citros.

Além do Bion, outros quatro indutores de resistência se destacam no mercado mundial: o Oryzemat[®], o Messenger[®], o OxycomTM e o Elexa[®] (LABANCA, 2002).

O Oryzemat[®] (probenazole) é um produto para proteção do arroz contra a brusone, sendo também usado em algumas culturas hortícolas, mostrando-se efetivo, não só para o controle de fungos e bactérias, mas também para o controle de viroses (KOGANEZAWA et al., 1998). O OxycomTM é formado pela combinação de dois compostos, o primeiro é uma mistura de nutrientes e o segundo uma mistura de ácido peracético, ácido acético e H₂O₂. O produto é capaz de aumentar a atividade de enzimas importantes ligadas a RSA, como a fenilalanina amônia-liase (FAL), chalcona sintase e peroxidases (PO) e proteger plantas contra nematóides e fungos (KIM et al., 2001).

No caso dos receptores, LABANCA (2002) cita que, normalmente, o receptor é de natureza protéica e pode estar localizado tanto na membrana plasmática como no interior da célula vegetal. Por fim, ressalta que não existem muitos dados a respeito do modo como é realizada a ligação entre o elicitor e o receptor, mas se houver semelhança com o reconhecimento em mamíferos, a ligação receptor-elicitor pode ser multivalente. Neste caso, um elicitor pode se ligar a mais de um receptor ou a mais de um sítio de um mesmo receptor (BERTOZZI & KIESSLING, 2001).

Sinalização

Após o reconhecimento, é iniciada a resposta de defesa por parte da planta. Entretanto, antes de haver a resposta de defesa é preciso que a planta receba algum tipo de sinal primário para desencadear esse processo. Presume-se que algum tipo de sinal químico, bioquímico, energético ou de natureza ainda desconhecida deva acionar genes relacionados ao processo de defesa no sítio de indução ou, sistemicamente, em locais mais distantes da planta, numa espécie de reação biológica em cadeia, todavia, até o momento, não existem conclusões definitivas a esse respeito (KUC, 1995; ROMEIRO, 2002; LABANCA, 2002).

Recentemente, pesquisas e investigações têm sugerido substâncias e alguns mecanismos a eles associados que podem ser interpretados como sinais biológicos, mas nenhum deles pode ser apontado, com certeza, como sinal primário. Segundo CARDOSO FILHO (2003), para que um composto seja considerado um sinalizador é necessário que este seja sintetizado pela planta, induza a síntese de substâncias de defesa e aumente a resistência a patógenos.

Recentes avanços nas pesquisas em sinalização de defesa mostraram que as plantas são capazes de induzir diferentemente os amplos espectros de mecanismos de defesa, dependendo do tipo invasor encontrado (PIETERSE et al., 2005). Os fitohormônios AS, AJ e ET são importantes fatores na rede da rota de sinalização e estão envolvidos em uma reação de defesa refinada, eventualmente levando a ativação de um ótimo 'mix' de respostas de defesa para resistir ao invasor (PIETERSE & VAN LOON, 1999; KOORNNEEF & PIETERSE, 2008).

Contudo, a natureza do sinalizador primário ainda é desconhecida (GOELLNER & CONRATH, 2008, CONRATH et al., 2006; DURRANT & DONG, 2004). PIETERSE et al. (2005) relata que AS, AJ e ET têm um papel primário importante no arranjo das respostas de defesa da planta, mas outros mecanismos reguladores como por exemplo, a comunicação entre as rotas ou sinais adicionais induzidos pelos invasores, eventualmente modelam fortemente o complexo dos sinais de defesa específicos para cada invasor.

Sinalizadores

Para que um composto seja considerado um sinalizador, é necessário que este seja sintetizado pela planta, aumente significativamente após o ataque de patógeno ou após o tratamento com o indutor, seja móvel pelo floema da planta, induza a síntese de substâncias de defesa, como as proteínas-PR, peroxidases ou fitoalexinas e aumente a resistência à patógenos (BOSTOCK, 1999; MORAES, 1998).

- *Ácido salicílico (AS), salicilato e seus análogos*

Provavelmente sintetizado na via dos fenilpropanóides, o AS tem o ácido benzóico como precursor (HAMMERSCHMIDT & KUC, 1995). Quando aplicado de forma exógena, é capaz de induzir aumento da síntese do próprio AS nos tecidos vegetais (REPKA et al., 2001), devido ao aumento da atividade de enzimas da via dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônio-liase (FAL), através do qual o AS é sintetizado, podendo induzir a produção de proteínas-PR e, conseqüentemente, proteger as plantas contra o ataque de patógenos (SPLETZER & ENYEDI, 1999). Além disso, pode gerar em várias plantas a produção de um composto volátil, o metil-salicilato (MeSA) que, por sua vez, pode induzir plantas a sintetizar o AS, podendo tornar plantas saudias resistentes ao ataque de patógenos, induzindo a produção de proteínas-PR e a ativação de genes de resistência (SHULAEV et al., 1997).

DELANEY et al., (1994) demonstraram que a acumulação de AS é essencial para expressão dos mecanismos de resistência responsáveis pelo estabelecimento da RSA. Estes autores trabalharam com plantas transgênicas de fumo e arabis, as quais expressavam a enzima bacteriana salicilato hidroxilase, e desta forma, não poderiam acumular o ácido salicílico. Como resultado, as plantas não induziram RSA, sendo então mais susceptíveis a fitopatógenos compatíveis como *Pseudomonas syringae*, *Phytophthora* e *Cercospora*, bem como também a fitopatógenos incompatíveis. Dessa forma, a expressão dos genes que impediram a acumulação de ácido salicílico na planta produziu um fenótipo altamente susceptível a doenças e a supressão da resistência genética. O tratamento destas plantas transgênicas com um análogo químico do ácido salicílico, o ácido isonicotínico (INA), antes da inoculação com o patógeno, restituiu a capacidade de indução da RSA. Os autores demonstraram ainda que

o estado de resistência é dependente da síntese endógena de ácido salicílico, sendo esta acumulação crítica para a indução do conjunto de genes ligados a RSA. Estes genes incluem genes que codificam a síntese das proteínas-PR (VAN LOON, 1985), muitas das quais possuem ação antimicrobiana e serão abordados a seguir.

- *Ácido jasmônico e seus derivados*

O ácido jasmônico (JA) e seus derivados encontram-se largamente distribuídos em tecidos de plantas participando de múltiplos processos anato-fisiológicos, como alongamento de raízes, abertura de estômatos, senescência, entre outros (KODA, 1992). O seu papel na sinalização e, mesmo, na resposta de defesa de planta, é menos esclarecido do que a do AS. No entanto, o jasmonato (JA) é proposto por STICHER et al. (1997) como um sinalizador secundário da RSA, lembrando que sua aplicação em plantas induz a síntese de eventos tipicamente associados à fenomenologia de RSA, como por exemplo, a síntese de osmotina (um dos tipos de proteínas-PR), apresentando funções hormonais e de defesa contra fitopatógenos e insetos. São produzidos nas plantas após injúrias ou tratamentos com elicitores (ATHAYDE SOBRINHO; FERREIRA; CAVALCANTI, 2005), apresentando funções hormonais e de defesa contra fitopatógenos e insetos. A ação de defesa está ligada à capacidade de induzir a síntese ou acúmulo de proteínas inativadoras.

- *Etileno*

O etileno é um hormônio vegetal volátil de múltiplas funções fisiológicas nas plantas. Derivado a partir da metionina, sendo produzido como resposta após injúrias ou infecção por patógenos, bem como por exposição a elicitores de mecanismos de defesa e através de vários processos metabólicos (GROSSKOPF et al., 1991).

A participação do etileno como sinalizador de respostas de defesa ainda não é clara. Enquanto, alguns estudos mostram sua necessidade para expressão da resistência (KNOESTER et al., 1999), outros indicam que a síntese de etileno após uma infecção deve ser um sintoma e não uma causa da indução de respostas de defesa (STICHER et al., 1997). Outros mostram que o etileno é um intermediário necessário, junto com o JA, para regular a expressão de genes de defesa (O' DONNEL et al., 1996).

Com intuito de investigar se a RSI é associada com mudanças na expressão gênica de AJ e ET, VAN WEES et al. (1997) monitoraram a expressão de um grupo de genes bem caracterizados relacionados com AJ e ET em *Arabidopsis* expressando RSI por WCS417r (estirpe não patogênica da *Pseudomonas fluorescens*). Nenhum desses genes testados teve suas expressões alteradas (superexpressadas) na planta indutora, nem localmente nas raízes ou sistematicamente nas folhas, sugerindo que a resistência alcançada não foi associada com maiores mudanças nos níveis de AJ e ET. De fato, análises local e sistêmica dos níveis de AJ e ET mostraram que RSI por WCS417r não está associada com a produção dessas moléculas sinais (PIETERSE et al., 2000). Esse resultado sugere que a dependência de AJ e ET a RSI é baseada no aumento da sensibilidade a esses hormônios, do que a um aumento na produção deles (PIETERSE et al., 2005).

Respostas de defesa

A etapa seguinte à sinalização é a manifestação de respostas de defesa. Normalmente estas respostas são divididas em barreiras estruturais e em barreiras bioquímicas. Didaticamente, esses mecanismos são subdivididos em pré e pós-formados, isto é, existem antes da chegada do patógeno ou são ativados após sua chegada.

De forma resumida, no caso das barreiras estruturais pré-formadas podemos citar fatores como a cutícula, tricomas, estômatos e vasos condutores. As barreiras estruturais pós-formadas podem envolver a lignificação, suberificação, formação de papilas e de camadas de abscisão e de cortiça, bem como as tiloses.

As barreiras bioquímicas pré-formadas envolvem a presença de fenóis, alcalóides, fototoxinas, glicosídeos cianogênicos e glicosídeos fenólicos. Enquanto as barreiras bioquímicas pós-formadas podem englobar o acúmulo de fitoalexinas e de proteínas-PR, bem como a formação de radicais livres, oriundos principalmente do estresse oxidativo.

O objetivo final da atuação desses diferentes mecanismos é evitar ou atrasar a entrada de um microrganismo no interior da planta, bem como criar condições adversas para a colonização dos tecidos vegetais pelo mesmo (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Barreiras bioquímicas como mecanismo de resistência a fitopatógenos

A despeito do aparato bioquímico pré-formado, representado principalmente pelos fenóis, as barreiras bioquímicas das plantas contra a invasão de fitopatógenos podem ser sintetizadas a partir da presença do patógeno ou de seus produtos, sendo induzidas por eliciadores ou inibidores alocados na superfície do microrganismo em interação com receptores presentes na planta por meio de fenômenos de reconhecimento. Nesse caso, genes de alerta são ativados, resultando na síntese de novos compostos e no aumento da atividade enzimática, importantes para a defesa da planta, além de, formar barreiras estruturais e produzir compostos tóxicos, que resultam no atraso da infecção.

Em adição aos genes específicos de resistência, as plantas possuem genes que codificam proteínas que estão envolvidas na resposta de defesa a planta contra patógenos. Dessas proteínas-PR, algumas são enzimas que fazem parte das respostas de defesa natural da planta e algumas acompanham a resposta de hipersensibilidade.

Numerosas moléculas presentes na parede celular das plantas podem mediar a indução dos mecanismos bioquímicos de resistência a doenças, dentre os quais se destacam eliciadores da síntese de fitoalexinas, presença de lectinas como sítios de reconhecimento e aglutinação e eliciadores da acumulação de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, ácido salicílico, bem como estresse oxidativo e a síntese de inibidores de proteinases.

Fenóis

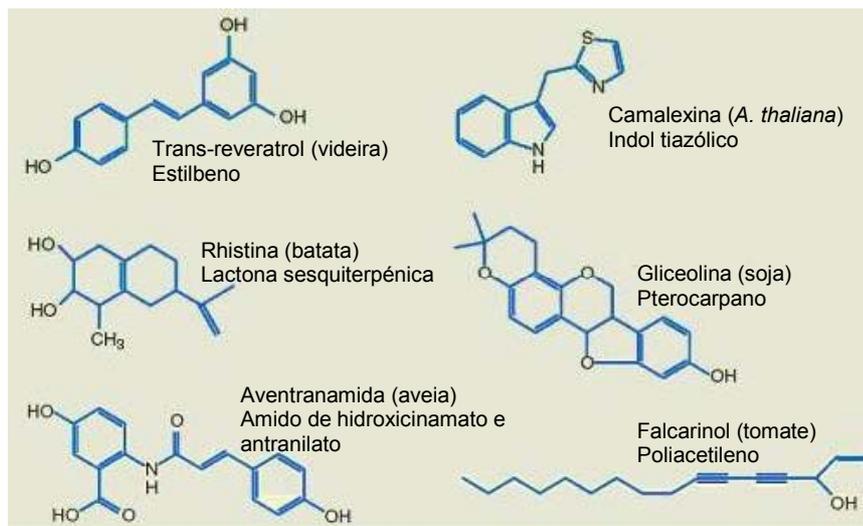
Os fenóis produzidos pelas plantas apresentam grande diversidade estrutural e funcional (HAGERMAN & BUTLER, 1991), onde nem todos têm função conhecida, sendo que alguns deles parecem ser simples intermediários do metabolismo normal das plantas (BECKMAN, 2000), enquanto outros são sintetizados pelas plantas em resposta a uma injúria física, infecção por bactéria, fungo, nematóides ou vírus ou qualquer outro tipo de estresse (nutricional, hídrico, poda etc.) (NICHOLSON & HAMMERSCHMIDT, 1992). Produzidos em células especializadas distribuídas pelos tecidos, ao acaso ou em

locais estratégicos, as enzimas envolvidas na síntese de fenóis estão associadas ao retículo endoplasmático, o que permite que, logo após a produção, esses compostos sejam armazenados em vesículas, na sua forma original ou glicolisada (LABANCA, 2002). A compartimentalização é fundamental para o funcionamento das células, pois os fenóis são tóxicos e devem ser mantidos na sua forma reduzida. Assim sendo, quando a planta é submetida a qualquer tipo de estresse biótico ou abiótico, esses compostos passam de uma forma atóxica, reduzida e compartimentalizada, para uma forma tóxica, não reduzida, ocorrendo a descompartimentalização. Fenóis que se mantêm livres no citoplasma podem ter ação tóxica tanto sobre patógenos como sobre a própria célula vegetal e contribuir para a reação de hipersensibilidade (HRAZDINA, 1994).

Dentre suas funções estão: a coloração do aparato polinizador da planta (cor de flores e pétalas); proteção contra injúria provocada pela radiação UV; ação repelente contra animais herbívoros e insetos, devido a sua natureza tóxica; resistência a patógenos; barreiras estruturais e bioquímicas pré e pós-formadas e efeito alelopático através da liberação de compostos voláteis que podem estimular ou inibir o desenvolvimento de plantas vizinhas.

Fitoalexinas

Fitoalexinas são compostos secundários sintetizados pelas plantas em resposta a infecção por microrganismos, estresses físicos ou químicos, sendo fator importante na resistência a doenças de plantas. Caracteriza-se como uma molécula de composição química heterogênea, baixo peso molecular e com propriedades antimicrobianas (Figura - 2) (LYON & WOOD, 1975).



FLORES et al., 2005

Figura -2. As fitoalexinas são de origem química muito diversa

Proteínas-PR (“pathogenesis-related proteins”)

A infecção de plantas por microrganismos fitopatogênicos é frequentemente acompanhada pelo incremento da síntese de um grande número de proteínas. Estas proteínas induzíveis pertencem a um grupo conhecido como proteínas-PR (LINTHORST, 1991).

Essas proteínas são classificadas dentro de 17 famílias (**Tabela-2**), sendo numeradas na ordem em que foram descobertas. Um membro padrão, geralmente o primeiro ou um mais destacado, é escolhido e as famílias são definidas com base em propriedades bioquímicas e biológicas comuns (VAN LOON et al., 2006). Dentro de cada família, existem várias classes composta de diferentes isoformas.

Originalmente, as proteínas-PR foram classificadas com base nas suas características de proteínas vegetais induzidas ou relacionadas com situações patológicas. No entanto, observações posteriores indicaram a presença de proteínas-PR em plantas na ausência de patógenos. Dessa forma, o termo “proteínas relacionadas à patogênese” tornou-se mais abrangente, incluindo as proteínas induzidas por microrganismos ou pelo ataque de insetos e seus homólogos presentes nos processos de desenvolvimento de tecidos e órgãos ou em situações de estresse (VAN LOON & VAN STRIEN, 1999; VAN LOON et al., 2006).

Tabela 2. Famílias reconhecidas de proteínas relacionadas à patogênese.

Famílias	Membro padrão	Propriedades
PR-1	Tabaco PR-1 ^a	Desconhecido
PR-2	Tabaco PR-2	B-1,3-glucanase
PR-3	Tabaco P,Q	Quitinase tipo , I, V, V, VI, VII
PR-4	Tabaco 'R'	Quitinase tipo I, II
PR-5	Tabaco S	Taumatina – like
PR-6	Tomate inibidor I	Proteinase – inibidor
PR-7	Tomate P ₆₉	Endoproteinase
PR-8	Pepino quitinase	Quitinase tipo III
PR-9	Tabaco “lignin-forming peroxidase”	Peroxidase
PR-10	Salsa “PR1”	Ribonuclease – like
PR-11	Tabaco “classe V” quitinase	Quitinase, tipo I
PR-12	Rabanete Rs-AFP3	Defensina
PR-13	Arabidopsis THI2.1	Tionina
PR-14	Cevada LTP4	Proteína de transferência de lipídeo
PR-15	Cevada OxOa (germin)	Oxalato oxidase
PR-16	Cevada OxOLP	Oxalato oxidase
PR-17	Tabaco PRp27	Desconhecido

VAN LOON et al., 2006

As proteínas-PR acumulam-se em locais de infecção e em sítios remotos destes (STICHER et al., 1997). Elas ocorrem através de elicitores produzidos pelo patógeno no momento do estabelecimento do contato com a planta (Figura 3). Sua síntese e acúmulo possuem caráter de resposta ativa e sistêmica, em casos de resposta induzida (VAN LOON, 1985). Todas são solúveis em meio ácido, têm baixo peso molecular e resistem a proteases (enzimas que decompõem proteínas) (HOGUE & ASSELIN, 1987). Tais características são importantes na funcionalidade destas proteínas, já que estando presente no fluído intercelular, estão sujeitas a condições de baixo pH e ação de enzimas proteolíticas como resultado, durante a patogênese, como resultado do colapso de células hospedeiras e extravasamento do conteúdo dos vacúolos.

Dentre as proteínas PR mais estudadas estão as quitinases e as β -1,3 glucanases. Essas duas enzimas têm atividade hidrolítica, quebrando polímeros estruturais presentes na parede dos patógenos (ANDREU et al., 1998; WALTON, 1997). A modificação genética de plantas para expressão constitutiva dessas proteínas faz com que a resistência contra infecções seja aumentada (COVENTRY & DUBERY, 2001). Além disso, a atividade dessas enzimas é aumentada quando plantas são tratadas com elicitores de respostas de defesa ou indutores de resistência (SCHWEIZER, et al., 2000). O incremento na atividade dessas enzimas e a restrição de patógenos, tanto em plantas modificadas geneticamente como em plantas tratadas com elicitores, leva a crer que as proteínas-PR desempenham papel importante na contenção de infecções (LABANCA, 2002).

A acumulação e a atividade destas enzimas concomitante à invasão do patógeno e à aquisição de resistência ao ataque subsequente de fitopatógenos têm levado muitos pesquisadores a relevar o papel das proteínas-PR no fenômeno de RSA. A correlação entre o fenômeno da RSA e a síntese das proteínas-PR sugere o envolvimento das últimas no controle da multiplicação de fitopatógenos no tecido da planta hospedeira. Esta assunção tem sido subsidiada pela ação hidrolítica de muitas destas enzimas a polissacarídeos presentes na parede celular de muitos fitopatógenos (LEGRAND et al., 1987; KAUFFMANN et al., 1987).

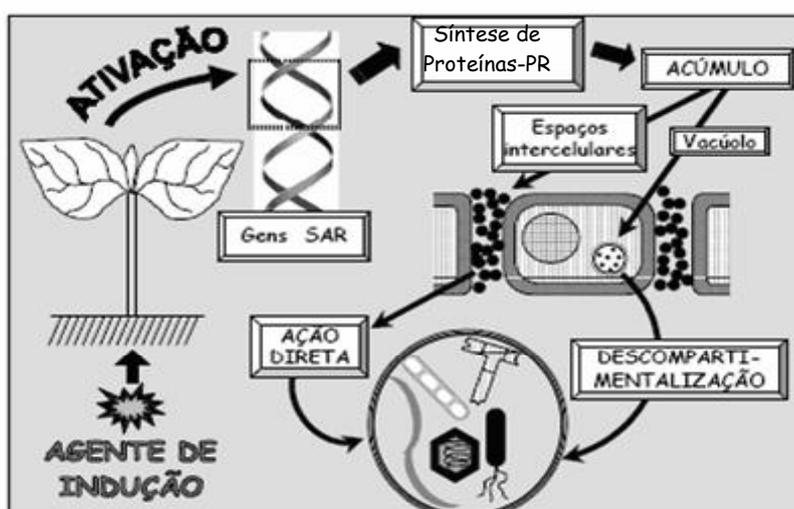


Figura 3: Indução, gênese e modo de ação das proteínas-PR como mecanismos ativáveis de defesa de plantas (ROMEIRO, R. da S., 2006)

Produção de radicais livres (estresse oxidativo)

Um dos mais estudados é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e vários indícios sugerem sua participação nas respostas de defesa das plantas. Na verdade, processos oxidativos em geral parecem ter papel crucial nos estágios iniciais da indução dessas respostas. É atribuído a ele seguintes ações: (1) ação como sinalizador para outras respostas de defesa; (2) participação em reações catalizadas por peroxidases que levam a polimerização de fenóis e a formação de lignina; (3) participação em reações catalizadas por peroxidases que levam a formação de ligações cruzadas de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina e ao fortalecimento da parede celular vegetal e (4) toxidez direta sobre patógenos (LABANCA, 2002).

Embora o oxigênio molecular, essencial ao metabolismo aeróbico, seja muito pouco reativo, é fonte potencial de formas reativas. Nos vegetais, os cloroplastos (onde ocorre a fotossíntese, liberando oxigênio) são fontes particularmente ricas de radicais livres - moléculas muito reativas, por terem um elétron livre, e tóxico para as células. Durante o metabolismo normal da célula vegetal, o oxigênio é incorporado em moléculas orgânicas e vários compostos citotóxicos como peróxido de hidrogênio, superóxido e radicais de oxigênio e hidroxílicos são gerados. Destes, os radicais livres são os mais tóxicos atuando principalmente sobre a membrana plasmática, mas também sobre enzimas, ácidos nucleicos e pigmentos. Em plantas, existe naturalmente uma série de sistemas para prevenção contra os efeitos negativos do acúmulo desses radicais.

A membrana das bactérias é igualmente sensível a radicais livres, e desse modo, o estresse oxidativo é considerado como parte das estratégias de defesa das plantas na limitação da colonização pelo patógeno invasor (ELSTNER, 1982).

Os tecidos da planta respondem a invasão por bactérias fitopatogênicas através da elevação da produção de H_2O_2 e radicais superóxido e hidroxílicos que podem inibir o desenvolvimento da doença. A capacidade de bactérias fitopatogênicas se multiplicarem nos tecidos da planta pode ser em parte, devido à capacidade de destoxificar o meio ao redor do sítio de infecção da presença do H_2O_2 , o qual, dentre os compostos de oxigênio, é o que penetra mais facilmente através da membrana, afetando uma série de processos

celulares. O provável candidato para modulação da ação de H_2O_2 é a enzima catalase, que converte H_2O_2 em H_2O e O_2 . KLOTZ & HUTCHESON (1992), trabalhando com estirpes do fitopatógeno *Pseudomonas syringae*, verificaram que esta bactéria era capaz de resistir a concentrações mais elevadas de H_2O_2 quando comparadas a bactérias não-patogênicas, com taxas de atividade de catalase a níveis variando de 10 a 100 vezes. Esses mesmos autores verificaram ainda a presença de múltiplas atividades da catalase no espaço periplasmático e no fluído citoplasmático da bactéria e sugeriram que essa alta atividade da catalase associada a indução de múltiplas formas isoenzimáticas da catalase e em diferentes locais da célula, são decisivos para o combate ao estresse oxidativo, sendo um fator de virulência determinante no sucesso da colonização desta bactéria.

Lectinas

Podem também ter um papel importante na resistência de plantas a doenças. Estas são proteínas não catalíticas que interagem com resíduos de carboidratos específicos. Lectinas funcionam como efetores nas respostas de defesa do hospedeiro, aglutinando o patógeno e impedindo sua multiplicação. O papel de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina na aglutinação de bactérias incompatíveis, como um pré-requisito para iniciação da resposta hipersensível, foi demonstrado pelo trabalho de SEQUEIRA & GRAHAM (1977).

Barreiras estruturais como mecanismo de resistência a fitopatógenos

Além do aparato bioquímico de resistência, as plantas podem reagir à invasão microbiana sintetizando substâncias que reforcem a parede celular, dificultando ou mesmo impedindo o avanço do microrganismo por um efeito puramente físico. Denominadas de defesas constitutivas, inespecíficas, estáticas ou passivas, englobam os mecanismos de defesa presentes nas plantas mesmo sem a ação dos agentes agressores, sendo intrínseca do corpo do vegetal, incluindo aqui, a defesa estrutural, baseada nas características anatômicas estruturais e ultra-estruturais do vegetal como cutícula, tricomas, estômatos, fibras/vasos condutores. No entanto uma série de compostos pode ser sintetizada em virtude da presença do patógeno nos tecidos da planta.

Síntese de géis e gomas em resposta a infecção vascular

As plantas restringem o avanço da colonização dos vasos do xilema por patógenos através da deposição de géis e gomas ou materiais fibrilares no lúmen dos vasos. Géis e gomas são produzidas nas placas perfuradas, nas terminações das paredes celulares e nas pontuações de membrana dos vasos por um processo de distensão dos constituintes da parede primária e lamela média, sendo considerado um fenômeno geral de resposta a infecção vascular (VANDERMOLEN et al., 1977, KAO & DAMANN JR., 1980). Em adição, materiais fibrilares sintetizados pela planta hospedeira ou produzidos pela degradação da parede celular, possuem um papel na resistência a doenças, como mecanismo de prevenção e retardamento da disseminação e multiplicação do patógeno. Em experimentos conduzidos por BRETSCHEIDER et al. (1989), trabalhando com duas variedades de couve (*Brassica oleraceae*) com níveis de resistência diferentes a podridão negra causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, observou-se que grande quantidade de material fibrilar foi encontrado associado aos sítios de colonização da bactéria. Diversos autores relatam a presença de taninos, fenóis, glicoproteínas, lectinas, calose e outros agentes de defesa antimicrobianos (OUCHI, 1983; BESTWICK et al., 1995).

Deposição de parede celular (cordões de infecção)

Um exemplo de infecção localizada se dá pela síntese de uma estrutura que advém da simbiose de *Rhizobium*-leguminosas. Neste caso, o endossimbionte ao acessar o interior do pêlo radicular é circundado por uma estrutura tubular formada pelo depósito de constituintes da parede celular. Esta estrutura é conhecida como cordão de infecção, que conduz as bactérias através das células do córtex, liberando-as no interior de células recém divididas. Tais estruturas são restritas a interações simbióticas envolvendo leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium*, entretanto estruturas similares a cordões de infecção têm sido relatadas em interações envolvendo gramíneas (JAMES et al., 1994; REINHOLD-HUREK & HUREK, 1993).

Papilas, lignificação e calose

Uma série de compostos que restringem a invasão têm sido descritas, tais como a secreção de compostos similares a lignina (VANCE et al., 1980), silicone (HEATH, 1981), celulose, bem como formação de camadas de calose na parede celular como mecanismo de restrição à infecção (ALLISON & SHALLA, 1974). A deposição de calose (1,3- β -glucano) ocorre na parede oposta ao sítio de infecção e é acompanhada por posterior lignificação. Esta tem sido considerada como um mecanismo geral de defesa da planta, no entanto tal fenômeno pode, de fato, ser determinante na direção da resistência ou susceptibilidade na interação patógeno-planta hospedeira, já que existem diferenças quantitativas na resposta (BECKMAN et al., 1989).

Outra resposta morfológica muito freqüente também é a formação de papila, caracterizada como um espessamento hemisférico da superfície interna da parede celular no sítio de penetração da hifa fúngica. A presença de papila é freqüentemente associada a falha na colonização do fungo na planta hospedeira (AIST, 1977). As papilas parecem atuar na resistência em algumas plantas, pois a calose só se deposita nas resistentes, e não nas suscetíveis a doenças. Além disso, a deposição de lignina parece aumentar a resistência da parede celular a enzimas digestivas dos agressores. Acredita-se ainda que as enzimas peroxidase e catalase aceleram a oxidação de substâncias (do grupo dos fenóis) precursoras na síntese da lignina. Em células tratadas com indutores também há rápido acúmulo de outras enzimas ligadas à síntese de ligninas (orto-metiltransferases e cinamil-álcool-desidrogenase) (MARGIS-PINHEIRO et al., 1993).

Embora se saiba que a síntese de lignina é uma resposta da resistência da planta, que esta biosíntese pode ser induzida por fatores bióticos e abióticos, que possui caráter de sistemicidade e que está associada a RSA, o modo como a lignina protege ainda é pouco conhecido. Podemos mencionar: 1. papilas (aposições): geralmente se formam em locais da parede celular, como resposta ativa da planta, à tentativa de penetração por patógeno (SCHNEIDER & ULLRICH, 1994) e são formadas por calose, silício e diversos compostos orgânicos que fluorescem sob luz UV; 2. precursores de lignina: são substâncias tóxicas aos patógenos tais como coniferol (HAMMERSCHMIDT & KUC, 1982); e 3. enrijecimento de paredes de hifas por deposição de lignina (KOVATS et al., 1991), dificultando o

alongamento e diminuindo a permeabilidade de suas paredes, dificultando a absorção de água e nutrientes pelo patógeno (MATTA & GULLINO, 1997).

Características anatômicas do vegetal

Diferenças anatômicas entre genótipos da planta podem ser determinantes no sentido da resistência ou susceptibilidade. HARRISON & DAVIS (1988) trabalhando com plantas de cana-de-açúcar com diferentes graus de susceptibilidade ao raquitismo das soqueiras verificaram que genótipos susceptíveis apresentavam uma pequena ramificação dos vasos do xilema que atravessam a região dos nós e intercomunicam entrenós vizinhos, ao passo que variedades resistentes apresentavam um grau maior de ramificação dos tecidos condutores. Desse modo, prejuízos no fluxo da seiva seriam mais drásticos nos genótipos de cana-de-açúcar que apresentam menor ramificação dos vasos. A morfologia e a estrutura dos estômatos tem um papel importante na resistência a doenças impondo limitações a penetração de patógenos. McLEAN (1921) trabalhando com duas espécies de citrus e o agente causal do cancro cítrico, *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, conclui que a base da resistência ao patógeno estava na abertura máxima do poro estomático, que na variedade resistente não passava de 1,5 μm , enquanto que na susceptível poderia atingir 11 μm . Não só diferenças no diâmetro dos poros estomáticos poderiam constituir-se como um fator de resistência natural, mas também a densidade de estômatos por unidade de área como demonstrado por DAUB & HAGEDORN (1979).

Estratégias de ataque desenvolvidas por fitopatógenos

Patógenos, por outro lado, têm desenvolvido uma variedade de mecanismos para sobrepor as barreiras físicas e químicas das plantas, estabelecendo-se e provendo sua sobrevivência. Bactérias produzem vários compostos para infectar a planta hospedeira e causar sintomas. Toxinas, exopolissacarídeos (EPS), enzimas de degradação de parede e certos hormônios são alguns produtos de fitobactérias responsáveis pelo seu estabelecimento na planta.

Síntese de exopolissacarídeos (EPS)

A razão para produção de EPS por bactérias fitopatogênicas têm sido relatados, como aumento da sobrevivência fora e no interior dos tecidos do hospedeiro, quelante de metais, matriz para retenção de nutrientes e água. Entretanto, o bloqueio do reconhecimento de sítios de ligação da bactéria a sítios receptores específicos na parede do hospedeiro e o conseqüente impedimento da iniciação dos mecanismos de resistência da planta parece ser o papel mais significativo (SEQUEIRA & GRAHAM, 1977, EL-BANOBY & RUDOLPH, 1979). SEQUEIRA et al. (1977), trabalhando com estirpes virulentas e não virulentas de *Pseudomonas solanacearum* em plantas de fumo inoculadas via infiltração no mesófilo, verificaram que estirpes avirulentas e estirpes incompatíveis eram aglutinadas pela parede das células do mesófilo de fumo, sendo envolvidas por um material fibrilar e granular liberado pela parede da célula hospedeira. Em contraste, estirpes virulentas não foram aderidas, podendo multiplicar-se livremente nos espaços intercelulares. A aparente falta de adesão da forma compatível à parede celular do hospedeiro, seguida de sua livre multiplicação nos meatos foi amplamente correlacionada com a maior capacidade de produzir EPS. Ficou claro que EPS presentes na parede celular bacteriana, preveniram a interação entre estes compostos eliciadores, não ocorrendo adesão nem expressão dos mecanismos iniciais de defesa da planta, o que permitiu a multiplicação da bactéria compatível no interior da planta. Mais evidências foram obtidas por SEQUEIRA & GRAHAM (1977), investigando a aglutinação de estirpes virulentas a não virulentas de *Pseudomonas solanacearum* por lectinas de batata. Neste trabalho 34 estirpes avirulentas foram aglutinadas e 55 estirpes virulentas foram fracamente ou não aglutinadas. A incapacidade de aglutinação de estirpes virulentas foi atribuída a presença de EPS, que quando removidos por lavagem, resultou em aglutinação. Em adição, técnicas de imunofluorescência revelaram a presença de lectinas na parede celular de células do mesófilo de batata e fumo (LEACH et al., 1982). A análise dos resultados sugeriu o papel de glicoproteínas no processo de doença. Em alguns casos, EPS produzidos pela bactérias participam na indução de sintomas, como no caso da murcha bacteriana por *Pseudomonas solanacearum*, no qual os EPS, devido sua viscosidade elevada, inibem o movimento de água no interior dos vasos do xilema.

Síntese de toxinas

As toxinas excretadas por bactérias durante a patogênese têm papel fundamental no estabelecimento da infecção e desenvolvimento de sintomas, pois comprometem várias vias metabólicas da planta hospedeira, facilitando a multiplicação nos tecidos ou danificando alvos específicos na planta, suprimindo a expressão das reações de defesa iniciais e incitando sintomas específicos (DURBIN, 1982). São ativas em concentrações muito pequenas, possuindo baixo peso molecular, geralmente atuam como inibidoras de enzimas vegetais. De acordo com GROSS & CODY (1985) a grande maioria das toxinas relatadas na literatura estão restritas aos diversos patovares de *Pseudomonas syringae*, um fitopatógeno causador de necrose foliar, principalmente em plantas de regiões temperadas. GROSS & CODY (1985) e MITCHELL (1981) descreveram o mecanismo de ação de uma série de toxinas, entretanto a estrutura química de muitas dessas toxinas não é bem conhecida. A título de exemplo citamos, siringomicina (agente biocida de amplo espectro, induz clorose, necrose e anasarca), coronatina (produzida por patovares de *Pseudomonas* que afetam gramíneas), phaseolotoxina (produzida por *S. phaseolicola*, sendo caracterizado como um tripeptídeo sistêmico que bloqueia a síntese de arginina, induz extensos halos cloróticos e necróticos), tabtoxina (dipeptídeo produzido por *S. tabaci* inibe a ação da glutamina sintetase).

Enzimas de degradação da parede celular

Muitos fitopatógenos são capazes de produzir enzimas que degradam polissacarídeos. Desse modo, podem alterar ou degradar carboidratos poliméricos encontrados na parede celular das plantas superiores. Tais enzimas facilitam a penetração do patógeno através da parede celular, maceração de tecidos e desmembramento de componentes da parede, representando parte dos mecanismos de ataque de fungos e bactérias fitopatogênicas. Dentre as enzimas que degradam substâncias pécticas temos enzimas que quebram ligações α -1,4 entre resíduos de uronida em pectinas e ácidos pécticos, incluindo hidrolases e liases, como exemplo poligalacturonases (PGA's), pectatos liases que quebram ligações α -1,4 galacturonida, e pectina metil esterases que hidrolizam terminações metil esterres do ácido urônico. Dentro das enzimas hemicelulases temos endo- β -1,4-

xilanases e xilobiases, que degradam a cadeia de xiloglucano. A degradação de celulose a glucose envolve um complexo de enzimas, originalmente designadas C₁, C_x (endo-β-1,4-glucanase) e celulases. Não existe dúvida sobre a capacidade de alguns patógenos em excretar enzimas que degradam a parede celular em tecidos infectados, ou a capacidade de alteração e disrupção da parede celular por tais enzimas durante a patogênese. No entanto existe uma necessidade de apurar o envolvimento destas enzimas nos estágios iniciais de infecção pelo patógeno. COOPER (1983) afirma que a dissolução da parede celular no sítio de infecção tem como principal objetivo colocar a superfície do patógeno em íntimo contato com a plasmalema do hospedeiro, permitindo o reconhecimento e eliciando uma resposta específica. Em muitos casos, a perda de capacidade da hidrólise de componentes da parede celular implica em perda de virulência, como citado por BOCCARA et al. (1988) em *Erwinia chrysanthemi*.

Produção de hormônios vegetais

Alguns fitopatógenos produzem hormônios vegetais “in vitro”. Porém em associação com a planta tem-se observado que a estimulação do aumento da síntese de hormônios pela planta hospedeira induzido pelo patógeno parece mais importante. Por exemplo, *Pseudomonas solanacearum* produz ácido indol-acético (AIA) e etileno “in vitro”, mas induz mudanças na planta hospedeira no sentido da acumulação de triptofano e conseqüente aumento de AIA e etileno. Qualquer que seja a origem destes fatores de crescimento, muitos dos sintomas externos e internos de murcha são atribuídos aos níveis anormais desses hormônios (BUDDENHAGEN & KELMAN, 1964). No caso do parasitismo refinado envolvendo *Agrobacterium tumefaciens* e plantas dicotiledóneas, a bactéria produz níveis baixos de reguladores de crescimento “in vitro”, porém através da inserção do plasmídeo Ti em células da planta e conseqüente transformação de seu genoma, grandes quantidades de hormônio são produzidas, ocorrendo proliferação não controlada de células vegetais e formação de galhas radiculares.

Já o etileno é um hormônio vegetal volátil que possui múltiplas funções fisiológicas em plantas. Sabe-se que as plantas o sintetizam em

resposta a ferimentos como infecção por patógenos e a exposição a eliciadores de mecanismos de defesa (GROSSKOPF et al., 1991).

Estratégias e avanços biotecnológicos na defesa de plantas contra doenças

Nas últimas décadas, a produção agrícola brasileira teve um enorme impulso, graças a crescente utilização de tecnologias modernas, sobretudo as associadas a programas de melhoramento vegetal, tais como: a cultura de tecidos, a biologia molecular, a bioquímica e a genética.

Medidas preventivas tradicionais de proteção de plantas contra doenças como: a utilização de sementes saudáveis, o emprego de materiais resistentes, a rotação de culturas, manejo adequado de práticas fitossanitárias, inspeções periódicas, dentre outras, são aliadas, cada vez mais, a estratégias biotecnológicas específicas de ativação de mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de determinados microrganismos patogênicos.

Nesse sentido, o uso da tecnologia do DNA recombinante (DNAr), tem permitido ampliar as estratégias que podem ser utilizadas pelos programas de melhoramento vegetal.

A maior contribuição da tecnologia de DNAr para a geração de plantas resistentes a pragas até o momento vem do desenvolvimento de estratégias contra doenças virais. Sanford e Johnson foram os primeiros a propor, em 1985, a possibilidade de se obter plantas resistentes a patógenos modificando-as geneticamente a partir da introdução de seqüências genômicas dos próprios patógenos (ARAGÃO, 2003).

O primeiro caso de sucesso foi a expressão da capa protéica do TMV em plantas de fumo, gerando linhagens resistentes ao vírus. Desde então, centenas de publicações têm sido apresentadas, relatando a obtenção de plantas geneticamente modificadas resistentes a vírus dos mais variados grupos. As primeiras plantas liberadas para o setor produtivo foram as de fumo resistente ao TMV na China, e o mamoeiro resistente ao vírus da mancha anelar (PRSV) nos Estados Unidos. A partir do uso da técnica de expressão do gene da capa protéica viral,

também foram obtidas plantas de mamoeiro resistentes ao PRSV e batatas resistentes ao PVY e vírus do enrolamento.

SOUZA JR & GONÇALVES (1999), listam uma série de estratégias com a utilização de genes estruturais e não estruturais: (1) expressão da capa protéica, (2) uso de satélites, (3) RNA senso e antisenso, (4) RNAs defectivos, (5) expressão da replicase, (6) expressão de proteínas do movimento, (7) expressão de anticorpos (plantbodies).

Um caso brasileiro de sucesso desenvolvido pela EMBRAPA tem sido a utilização da estratégia de expressão da replicase do vírus do mosaico dourado do feijoeiro (BGMV) -- em que as plantas são modificadas para produzir o RNA ou a enzima capaz de multiplicar o genoma do vírus -- em plantas de feijão. Foi possível obter exemplares resistentes a essa doença, responsável por perdas de 40% a 60%, podendo chegar a 100%, dependendo da fase de cultivo em que ocorre a infestação pelo vírus.

Grande número de estudos envolvendo resistência a fungos também tem sido desenvolvido. As principais estratégias buscam expressar proteínas hidrolíticas (glucanases, quitinases etc.), proteínas dos patógenos (defensinas, osmotinas etc.), expressão de proteínas heterólogas antimicrobianas (tioninas, defensinas, peroxidases, lisozimas etc.), expressão de fitoalexinas (restaverol), inibição da virulência do patógeno e alteração de componentes estruturais. Vários peptídeos antimicrobianos presentes em plantas e animais têm sido caracterizados e genes sintéticos foram obtidos e introduzidos em plantas como banana, soja e alface. Estas estão agora em avaliação para resistência à muitas doenças fúngicas importantes, como a ferrugens asiática da soja, a podridão da alface e a sigatoga negra da banana.

Outra estratégia que, cada vez mais, vem sendo estudada como um mecanismo de defesa de plantas é o silenciamento de RNA.

O silenciamento de RNA engloba uma série de processos nucleares e citoplasmáticos envolvidos na regulação da expressão gênica a nível póstranscricional, por meio da degradação seqüência-específica de mRNAs alvos ou do bloqueio de sua tradução (ZERBINI et al., 2005).

Logo após os primeiros estudos com plantas transgênicas resistentes a vírus, percebeu-se que o silenciamento de RNA representava um

sistema ancestral de defesa contra vírus e retrotransposons (LINDBO et al., 1993). A primeira função biológica proposta para o silenciamento de RNA foi estabelecida em plantas durante estudos sobre a resistência derivada do patógeno. A observação de que plantas recuperadas de uma primeira infecção viral tornavam-se resistentes à reinfecção pelo mesmo vírus, devido à ativação e manutenção do silenciamento, levou à hipótese de que o silenciamento de RNA seria uma resposta adaptativa de defesa contra vírus (ZERBINI et al., 2005).

A função do silenciamento de RNA na defesa contra vírus e transposons levou à sugestão de que o mecanismo funcionaria como um “sistema imune” do genoma. De forma análoga ao sistema imunológico presente em aves e mamíferos, o silenciamento de RNA é específico contra elementos exógenos, a resposta pode ser amplificada e desencadeia uma resposta massiva contra um invasor (nesse caso, uma molécula de ácido nucléico) (ZERBINI et al., 2005).

Em recente revisão, COLLINGE et al., (2008) discutem mais amplamente, estratégias biotecnológicas utilizadas na resistência de plantas contra doenças principalmente no tocante à plantas geneticamente modificadas.

Considerações Finais

Como podemos observar, as plantas desenvolveram uma série de mecanismos que a protegem contra patógenos bacterianos. LYON et al. (1996) postula que o controle de enfermidades de plantas, tenham elas etiologia fúngica, bacteriana ou virótica, pode ser conseguida pelo estímulo apropriado de mecanismos de resistência de plantas a doenças, sejam esses mecanismos bióticos ou abióticos. Afinal, plantas possuem seus próprios mecanismos de defesa – altamente eficientes, por sinal – e é preciso que se aprenda a desenvolver tecnologia específica para ativá-los. A grande esperança advém das novas tecnologias de obtenção de plantas geneticamente modificadas, que possam incorporar genes de defesa em seu genoma, advindo de outras plantas ou variedades. Com isto se reduziria o uso de controle químico, que agride o meio ambiente e, na maioria das vezes, torna o patógeno mais resistente.

Referências Bibliográficas

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4 ed. San Diego: Academic. 1997. 635 p.

AIST, J. R. Mechanically induced wall appositions of plant cells can prevent penetration by a parasitic fungus. **Science**, Madison, v. 197, p. 568-570, 1977.

ALLISON, A. V.; SHALLA, T. A. The ultrastructure of local lesions induced by potato virus X: a sequence of cytological events in the course of infection. **Phytopathology**, St. Paul, v. 64, p. 783-793, 1974.

ANDREU, A.; TONÓN, C.; VAN DAMME, M.; HUARTE, M.; DALEO, G. Effect of potato tuber. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 104, p. 777-783, 1998.

ARAGÃO, F. J. L. **Organismos transgênicos**: explicando e discutindo a tecnologia. Barueri, SP: Manole, 2003. 115 p.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; FERREIRA, P. T. de; CAVALCANTI, L. S. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; VILELA DE RESENDE, M. L.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 13. p. 51-80.

BECKMAN, C. H. Phenolics-Storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in disease resistance and in general defence responses in plants? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 57, p. 101-110, 2000.

BECKMAN, C. H.; VERDIER, P. A.; MUELLER, W. C. A system of defence provided by vascular parenchyma cells of tomato in response to vascular infection with *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici*, race 1. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 34, p. 227-239, 1989.

BENT, A.F. Plant disease resistance genes: function meets structure. **Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1757-1771, 1996.

BERTOZZI, C. R.; KIESSLING, L. L. Chemical glycobiology. **Science**, Madison, v. 291, p. 2357-2364, 2001.

BESTWICK, C. S.; BENNETT, M. H.; MANSFIELD, J. W. Hrp mutant of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolica* induces cell wall alterations but not membrane damage leading to the hypersensitive reactions in lettuce. **Plant Physiology**, Rockville, v. 108, p. 503-516, 1995.

BOCCARA, M.; DIOLEZ, A.; ROUVE, M.; KOTOUJANSKY, A. The role of individual pectate lyases of *Erwinia chrysanthemi* strain 3937 in pathogenicity on saint paulia plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 33, p. 95-104, 1988.

BONALDO, S. M. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e sorgo a *Colletotrichum sublineolum*. Piracicaba, 2005, p. 166. Tese (Doutorado) – Agronomia – Fitopatologia. Esalq/USP.

BOSTOCK, R. M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, p. 99-109, 1999.

BRETSCHNEIDER, K. E.; GONELLA, M.; ROBESON, D. J. A comparative light and electron microscopical study of compatible and incompatible interactions between *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and cabbage (*Brassica oleracea*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 34, p. 285-297, 1989.

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.

CARDOSO FILHO, J. A. **Efeito de extratos de albedo de laranja (*Citrus sinensis*) e dos indutores de resistência ácido salicílico, acilbenzolar-s-metil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa* (Telemorfo: *Guignardia citricarpa*)**. 2003. 145 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

CHESTER, K. S. The problem of acquired physiological immunity in plants. **Quarterly Reviews Biophysics**, New York, v. 8, p. 275-324, 1933.

COLLINGE, D. B.; LUND, O. S.; THORDAL-CHRISTENSEN, H. What are the prospects for genetically engineered, disease resistant plants? **European Journal Plant of Pathology**, Dordrecht, v. 121, p. 217–231, 2008.

CONRATH, U.; BECKERS, G. J. M.; FLORS, V.; GARCÍA-AGUSTÍN, P.; JAKAB, G.; MAUCH, F.; PRIME-A-PLANT GROUP, et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 19, p. 1062–1071, 2006.

COOPER, R. M. The mechanisms and significance of enzymatic degradation of host cell wall by parasites. In: CALLOW, J. A. (Ed.). **Biochemical plant pathology**. Chichester: John Wiley, 1983. p. 101-135.

CORDEIRO, M. C. R.; SÁ, M. de F. G. Biotecnologia e resistência a patógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 2, n. 10, p. 34-39, 1999.

COVENTRY, H. S.; DUBERY, I. A. Lipopolyssacharides from *Burkholderia cepacia* contribute to an enhance defensive capacity and the induction of pathogenesis-related proteins in *Nicotiana tabacum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 58, p. 149-158, 2001.

DAUB, M. E.; HAGEDORN, D. J. Resistance of *Phaseolus* line WBR 133 to *Pseudomonas syringae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, p. 946-951, 1979.

DELANEY, T. P.; UKNES, S.; VERNOOIJ, B.; FRIEDRICH, L.; WEYMANN, K.; NEGROTTO, D.; GAFFNEY, T.; GUTRELLA, M.; KESSMANN, H.; WARD, E.; RYALS, J. A central role of salicylic acid in plant disease resistance. **Science**, Madison, v. 266, p. 1247-1250, 1994.

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

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, p. 185-209, 2004.

EL-BANOBY, F. E.; RUDOLPH, K. Induction of water-soaking in plant leaves by extracellular polysaccharides from phytopathogenic pseudomonads and xanthomonads. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 15, p. 341-349, 1979.

ELSTNER, E. F. Oxygen activation and oxygen toxicity. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p. 73-96, 1982.

FAUTH, M.; MERTEN, A.; HAHN, M. G.; JEBLICK, W.; KAUSS, H. Competence for elicitation of H₂O₂ in hypocotyls of cucumber (*Cucumis sativus* L.) is induced by breaching the cuticle and is enhanced by salicylic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 110, p. 347-354, 1996.

FLORES, H. E.; COSIO, E.; VIVANCO, J. M.; LOYOLA-VARGAS, V. Mecanismos químicos de defensa em las plantas. **Investigacion y Ciencia**, Barcelona, n. 341, p. 68-75, 2005.

FRIENDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; RELLA, M. G.; MEIER, B.; DINCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; MÉTRAUX, J.-P.; KESSMANN, H.; RAYLS, J. Benzothiadiazole derivate induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal**, Oxford, v. 10, p. 61-70, 1996.

GOELLNER, K.; CONRATH, U. Priming: it's all the world to induced disease resistance. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 121, p. 233-242, 2008.

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

GRAHAM, T. L. Cellular biochemistry of phenylpropanoid responses of soybean to infection by *Phytophthora sojae*. In: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R. P. (Ed.). **Handbook of phytoalexin metabolism and activity**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 85-117.

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

GROSSKOPF, D. G.; FELIX, G.; BOLLER, T. A yeast-derived glycopeptide elicitor and chitosan or digitonin differentially induce ethylene biosynthesis, phenylalanine ammonia-lyase and callose formation in suspensioncultured tomato cells. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 138, p. 741-746, 1991.

GUZZO, S. D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia Vastatrix***. 2004. 256 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

HAGERMAN, A. E.; BUTLER, L.G. Tannins and Lignins. In: ROSENTHAL, G. A.; BERENBAUM, M. R. (Ed.). **Herbivores**; their interactions with secondary plant, metabolites, the chemical participants. San Diego: Academic, 1991. V. 1. p. 355–387.

HAHN, M. G. Microbial elicitors and their receptors in plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, p. 387-412, 1996.

HAMMERSCHMIDT, R. Phytoalexins: What have we learned after 60 years? **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 37, p. 285–306, 1999.

HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, p. 61-71, 1982.

HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. **Induced resistance to disease in plants - developments in plant pathology**. Dordrecht: Kluwer, 1995. v. 4. 182 p.

HAMMERSCHMIDT, R.; MÉTRAUX, J. P.; VAN LOON, L. C. Inducing Resistance: a summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant diseases, corfu. **European Journal Plant of Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 1–6, 2001.

HAMMOND–KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1773–1791, 1996.

HARRISON, N. A.; DAVIS, M. J. Colonization of vascular tissues by *Clavibacter xyli* subs *xyli* in stalks of sugarcane cultivars differing in susceptibility to ratoon-stuning disease. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 722-727, 1988.

HEATH, M. C. Insoluble silicon in necrotic cowpea cells following infection with an incompatible isolate of the cowpea rust fungus. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 19, p. 273-276, 1981.

HEIL, M.; BOSTOCK, R. M. Induced systemic (ISR) in the context of induced plant defences. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 503-512, 2002.

HOGUE, R.; ASSELIN, A. Detection of 10 additional pathogenesis-related (b) proteins in intracellular fluid extracts from stressed “Xanthine” tobacco leaf tissue. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, p. 476, 1987.

HRAZDINA, G. Compartmentation in phenolic metabolism. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 1, n. 381, p. 8693, 1994.

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.

KAO, J.; DAMANN JR., K. E. “In situ” localization and morphology of the bacterium associated with ratoon stunting of sugar cane. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 58, p. 310-315, 1980.

KAUFFMANN, S.; LEGRAND, M.; GEOFFROY, P.; FRITIG, B. Biological function of pathogenesis-related proteins – 4 PR proteins of tobacco have 1,3-Beta-glucanase activity. **EMBO Journal**, Oxford, v. 6, p. 3209-3212, 1987.

KESSEMAN, H.; STAUB, T.; HOFFMAN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

KIM, Y. C.; BLEE, K. A.; ROBINS, J.; ANDERSON, A. J. Oxycom TM under field and laboratory conditions increases resistance responses in plants. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 1, p. 129-136, 2001.

KLOTZ , M. G.; HUTCHESON, S. W. Multiple periplasmatic catalases in phytopathogenic strains of *Pseudomonas syringae*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, p. 2468-2473, 1992.

KNOESTER, M.; PIETERSE, C. M.; BOL, J. F.; LOON, L. C. van. Systemic resistance in Arabidopsis induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 12, p. 720-727, 1999.

KODA, Y. The role of the jasmonic acid and related compounds in the regulation of plant development. **International Review of Cytology**, New York, v. 135, p. 155-199, 1992.

KOGANEZAWA, H.; SATO, T.; SASAYA, T. Effects of probenazole and saccharin in symptom appearance of tobacco mosaic virus in tobacco. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, Japan, v. 64, p. 80-84, 1998.

KOORNNEEF, A.; PIETERSE, C. M. J. Cross talk in defense signaling. **Plant Physiology**, Rockville, v. 146, p. 839-844, 2008.

KOVATS, K.; BINDER, A.; HOHL, H. R. Cytology of induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Planta**, New York, v. 183, p. 484-490, 1991.

KUC, J. Induced immunity to plant disease. **Bioscience**, Washington, v. 32, p. 854-860, 1982.

KUC, J. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 275-297, 1995.

LABANCA, E. R. G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*).** 2002. 118 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

LAWTON, K.; WEYMANN, K.; FRIEDRICH, L.; VERNOOIJ, B.; UKNES, S.; RYALS, J. Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but not ethylene. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 8, p. 863-870, 1995.

LEACH, J. E.; CANTRELL, M. A.; SEQUEIRA, L. A hydroxiprolin-rich bacterial agglutinin from potato: Its localisation by immunofluorescence. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 21, p. 319-325, 1982.

LEGRAND, M.; KAUFFMANN, S.; GEOFFROY, P.; FRITIG, B. Biological function of "pathogenesis-related" proteins: four tobacco PR-proteins are chitinases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 84, p. 6750, 1987.

LINDBO, J. A.; SILVA-ROSALES, L.; PROEBSTING, W. M.; DOUGHERTY, W. G. Induction of a highly specific antiviral state in transgenic plants: Implications for regulation of gene expression and virus resistance. **Plant Cell**, Rockville, v. 5, p. 1749-59, 1993.

LINTHORST, H. J. M. Pathogenesis-related proteins of plant. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 10, p. 123-150, 1991.

LUCAS, J. A. Plant immunization: from myth to SAR. **Pesticide Science**, Oxford, v. 55, p. 193-196, 1999.

LYON, F. M.; WOOD, R. K. S. Production of phaseollin coumesterol and related compounds in bean leaves inoculated with *Pseudomonas* sp. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 70, p. 406-409, 1975.

LYON, G. D.; FORREST, R. S.; NEWTON, A. C. SAR – the potential to immunise plants against infection. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE: PESTS & DISEASES, 1996, Brighton. **Proceedings...** Surrey: BCPC, 1996. p. 939-946.

MADAMANCHI, N. R.; KUC, J. Induced systemic resistance in plants. In: COLE, G. T.; HOCH, H. C. (Ed.). **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum, 1991. p. 347-362.

MARGIS-PINHEIRO, M.; MARTIN, C.; DIDIERJAN, L.; BURKARD, G. Differential expression of bean chitinase genes by virus infection, chemical treatment and UV irradiation. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 22, p. 659-668, 1993.

MARGIS-PINHEIRO, M.; SANDRONI, M.; LUMMERZEIM, M.; OLIVEIRA, D. A Defesa das plantas contra as doenças. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 147, p. 24-31, 1999.

MATTA, A.; GULLINO, M. L. Induction of resistance by chemical methods to plant fungal pathogens. **Informatore Fitopatologico**, Bologna, v. 47, p. 3-13, 1997.

McLEAN, F. T. A study of the structure of the stomata of two species of citrus canker. **Bulletin of the Torrey of Botanical Club**, Minnesota, v. 48, p. 101-106, 1921.

MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 13-18, 2001.

MITCHELL, R. E. Structure: bacterial. In: DURBIN, R. D. (Ed.). **Toxins in plant disease**. New York: Academic, 1981. p. 259-293.

MORAES, M. G. Mecanismos da resistência sistêmica adquirida em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 6, p. 261-284, 1998.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p.369-89, 1992.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

O'DONNELL, P. J.; CALVERT, C.; ATZORN, R.; WASTERACK, C.; LEYSER, H. M. O.; BOWLES, D. J. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. **Science**, Madison, v. 274, p. 1914-1917, 1996.

OUCHI, S. Induction of resistance or susceptibility. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 21, p. 289-315, 1983.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiros: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1995. v. 1. p. 417-453.

PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Salicylic acid-independent plant defence pathways. **Trends in Plant Science**, London, v. 4, p. 52-58, 1999.

PIETERSE, C. M. J.; VAN PELT, J. A.; VAN WEES, S. C. M.; TON, J.; VERHAGEN, B. W. M.; LEÓN-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; RESENDE, M. L. V.; VAN LOON, L. C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p. 277-295, 2005.

PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M.; HOFFLAND, E.; VAN PELT, J. A.; VAN LOON, L. C. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. **Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1225-37, 1996.

PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M.; VAN PELT, J. A.; KNOESTER, M.; LAAN, R.; GERRITS, N.; WEISBEEK, P. J.; VAN LOON, L. C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v. 10, p. 1571- 1580, 1998.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Capacities of *Azoarcus* s, a new genus of grass-associated diazotrophs. In: PALACIOS, R.; MORA, J.; NEWTON, W. E. (Ed.). **New horizons in nitrogen fixation**. Dordrecht: Kluwer, 1993. p. 691-694.

REPKA, V.; FISCHEROVA, I.; SILHAROVA, K. Biological activity of the elicitor released from mycelium of a grapevine isolate of the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. **Vitis**, Germany, v. 40, p. 205-212, 2001.

ROMEIRO, R. da S. ISR-SAR: Pesquisa com procariotas para indução de resistência em plantas a patógenos, na Universidade Federal de Viçosa. In: SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS A PATÓGENOS, 1., 2002, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002. p. 87-119.

ROMEIRO, R. da S. Indução de resistência em plantas a patógenos. 46 p. Disponível em: <http://www.ufv.br/dfp/bac/indures.pdf>. Acesso em: 04 mai 2006.

ROSS, A. F. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. **Virology**, San Diego, v. 14, p. 340-358, 1961.

SCHNEIDER, S.; ULLRICH, W. R. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 45, p. 291-304, 1994.

SCHWEIZER, P.; KMECL, A.; CARPITA, N.; DUDLER, R. A soluble carbohydrate elicitor from *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* is recognized by a broad range of cereals. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht., v. 56, p. 157-167, 2000.

SPLETZER, M. E.; ENYEDI, A. J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 722-727, 1999.

SEQUEIRA, L. Lectins and their role in host-pathogen specificity. **Annual Reviews of Phytopathology**, Palo Alto, v. 16, p. 453-81, 1978.

SEQUEIRA, L.; GAARD, G.; DE ZOETEN, G. A. Interaction of bacteria and host cell wall: its relation to mechanisms of induced resistance. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 10, p. 43-50, 1977.

SEQUEIRA, L.; GRAHAM, T. L. Agglutination of avirulent strains of *Pseudomonas solanacearum* by potato lectin. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 11, p. 43-54, 1977.

SHEWRY, P. R.; LUCAS, J. A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. **Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology**, v. 26, p. 135-192, 1997.

SHULAEV, V.; SILVERMANN, P.; RASKIN, I. Methyl salicylate-an airborne signal in pathogen resistance. **Nature**, London, v. 385, p. 718-721, 1997.

SLATER, A.; SCOTT, N.; FOWLER, M. Plant disease resistance. In: SLATER, A.; SCOTT, N.; FOWLER, M. Plant biotechnology: The genetic inoculation of plants. Oxford: New York. p.157-178, 2003.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, MA, v. 1, n. 1, p. 9, 2007.

SOTOKAWA, N.; TAKIKAWA, Y. Occurrence of bacterial rot of onion bulbs caused by *Burkholderia cepacia* in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, Japan, v. 70, n. 6, p. 348-352, 2004.

SOUZA JUNIOR, M. T.; GONSALVES, D. Genetic engineering resistance to plant virus diseases, an effort to control papaya ringspot potyvirus in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, p. 485-506, 1999.

SPLETZER, M. E.; ENYEDI, A. J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 722-727, 1999.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 23., 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: GPF, 2000. p. 176-181.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. Systematic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

TON, J.; VAN PELT, J. A.; VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J. Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 15, p. 27-34, 2002.

TUZUN, S. The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 39-50, 2001.

VANCE, C.; KIRK, T. K.; SHERWOOD, R. T. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annual Review of Plant Pathology**, Palo Alto, v. 18, p. 259-288, 1980.

VANDERMOLEN, G. E.; BECKMAN, C. H.; RODEHORST, E. Vascular gelation: a general response phenomenon following infection. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 11, p. 95-100, 1977.

VAN LOON, L. C. Pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 4, p. 111-116, 1985.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, p. 85-97, 1999.

VAN LOON, L. C. REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defence-related proteins in infected plants. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.44, p.135-162, 2006.

VAN WEES, S. C. M.; PIETERSE, C. M. J.; TRIJSSENAAR, A.; VAN 'T WESTENDE, Y. A. M.; HARTOG, F.; VAN LOON, L. C. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 10, p. 716-24, 1997.

VERNOOIJ, B.; FRIEDRICH, L.; AHL GOY, P.; STAUB, T.; KESSMANN, H.; RYALS, J. 2,6-Dichloroisonicotinic acid-induced resistance to pathogens without the accumulation of salicylic acid. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 8, p. 228-234, 1995.

WALTON, J. D. Biochemical plant pathology. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**. London: Academic, 1997. p. 487-502.

WARD, E. R.; UKNES, S. J.; WILLIAMS, S. C.; DINCHER, S. S.; WIEDERHOLD, D. L.; ALEXANDER, D. C.; AHL GOY, P.; MÉTRAUX, J. -P.; RYALS, J. A. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 1085-1094, 1991.

WIT, P. J. G. M. Visions & reflections (minireview) - How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Switzerland, v. 64, p. 2726-2732, 2007.

ZERBINI, F. M.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, E. C. O silenciamento de RNA como um mecanismo de defesa de plantas a vírus. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p. 191-243, 2005.

Embrapa

Agrobiologia

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

