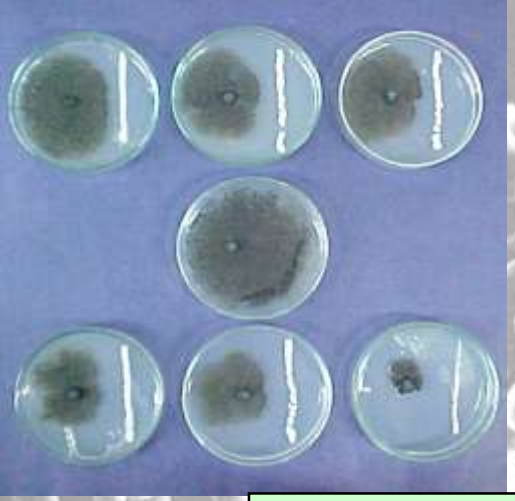
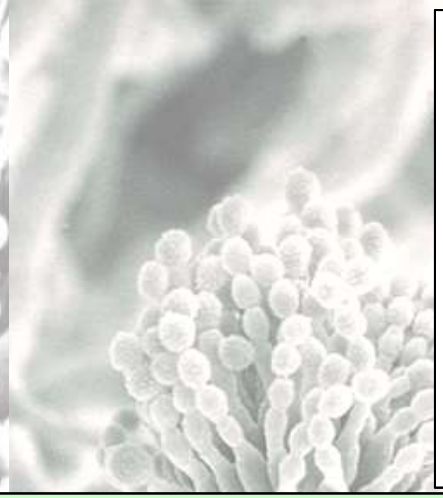
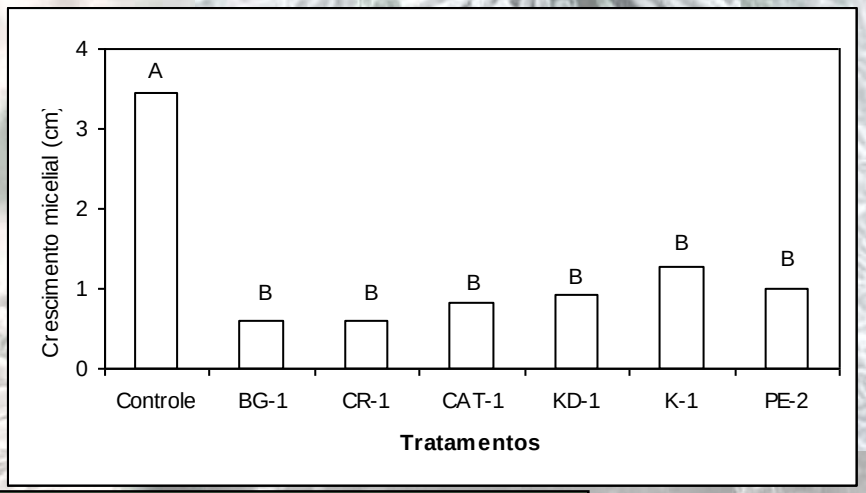
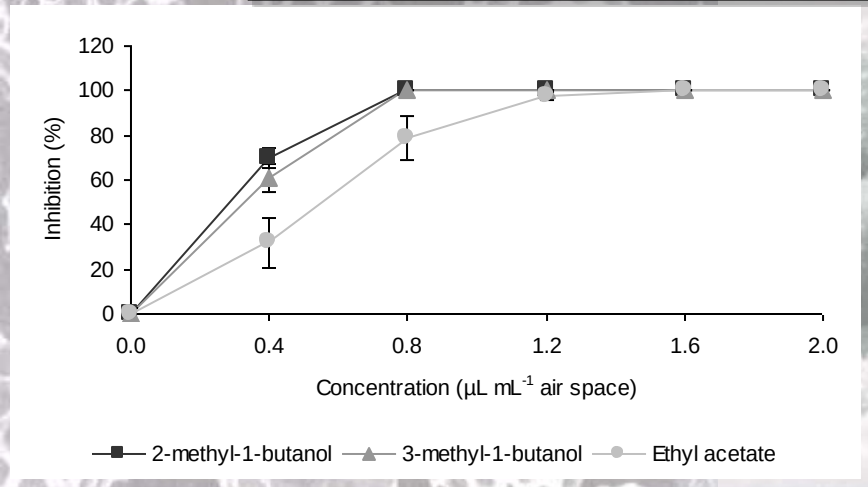




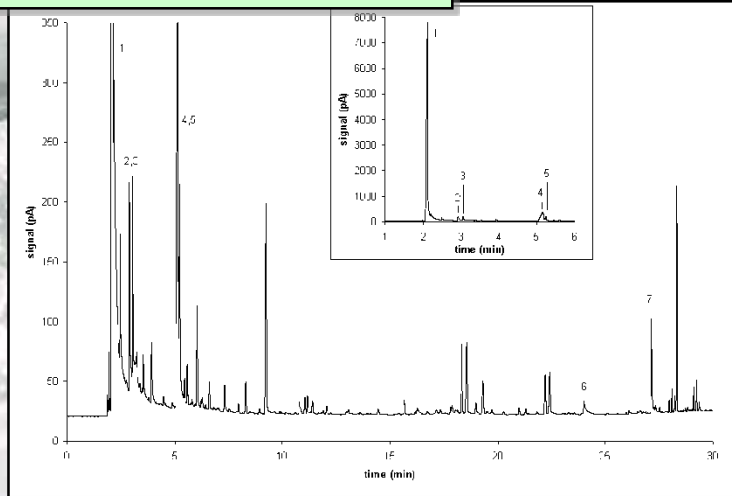



**LFT - 5830**

# Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica



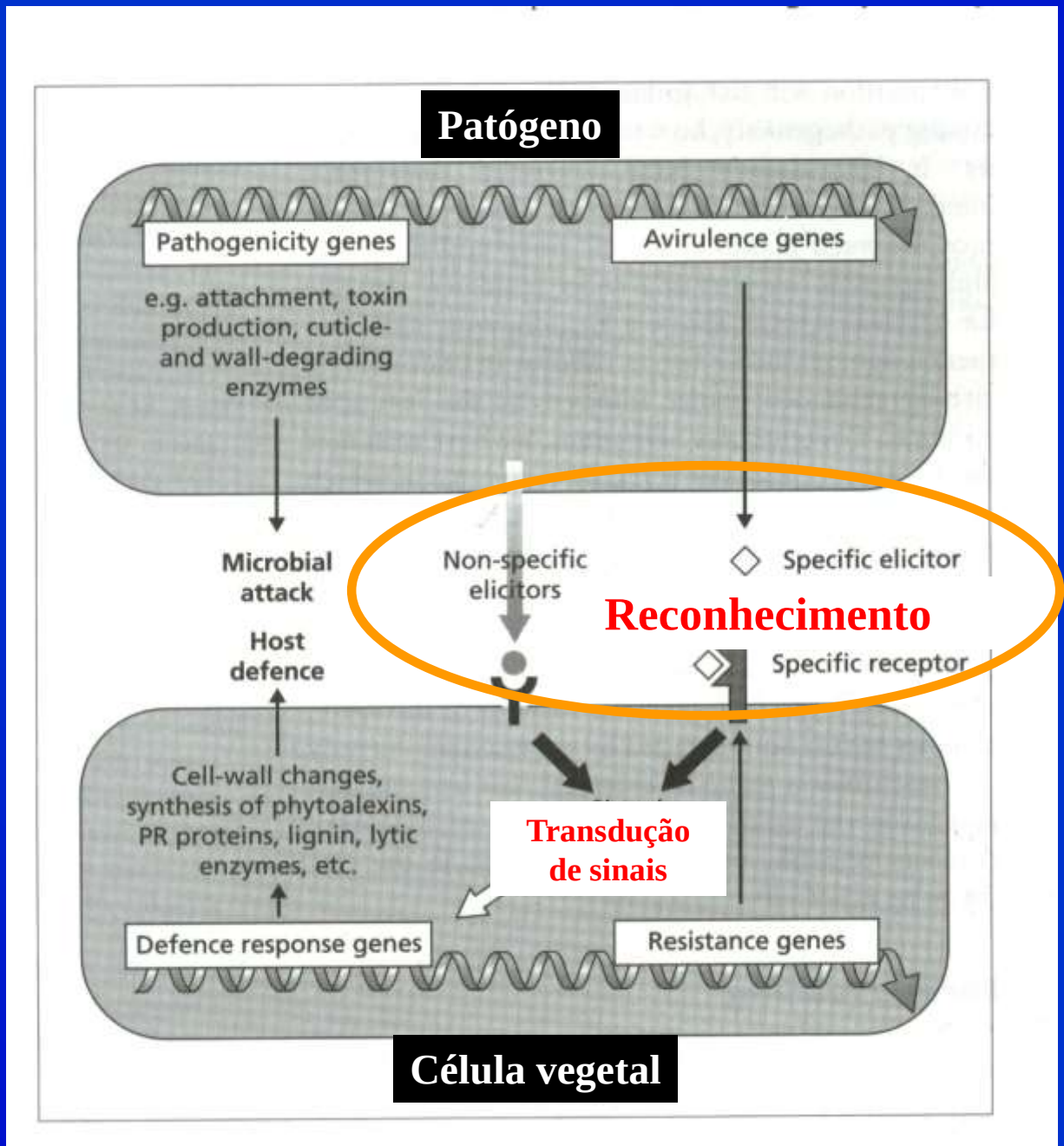
**Pascholati, Sérgio F.**



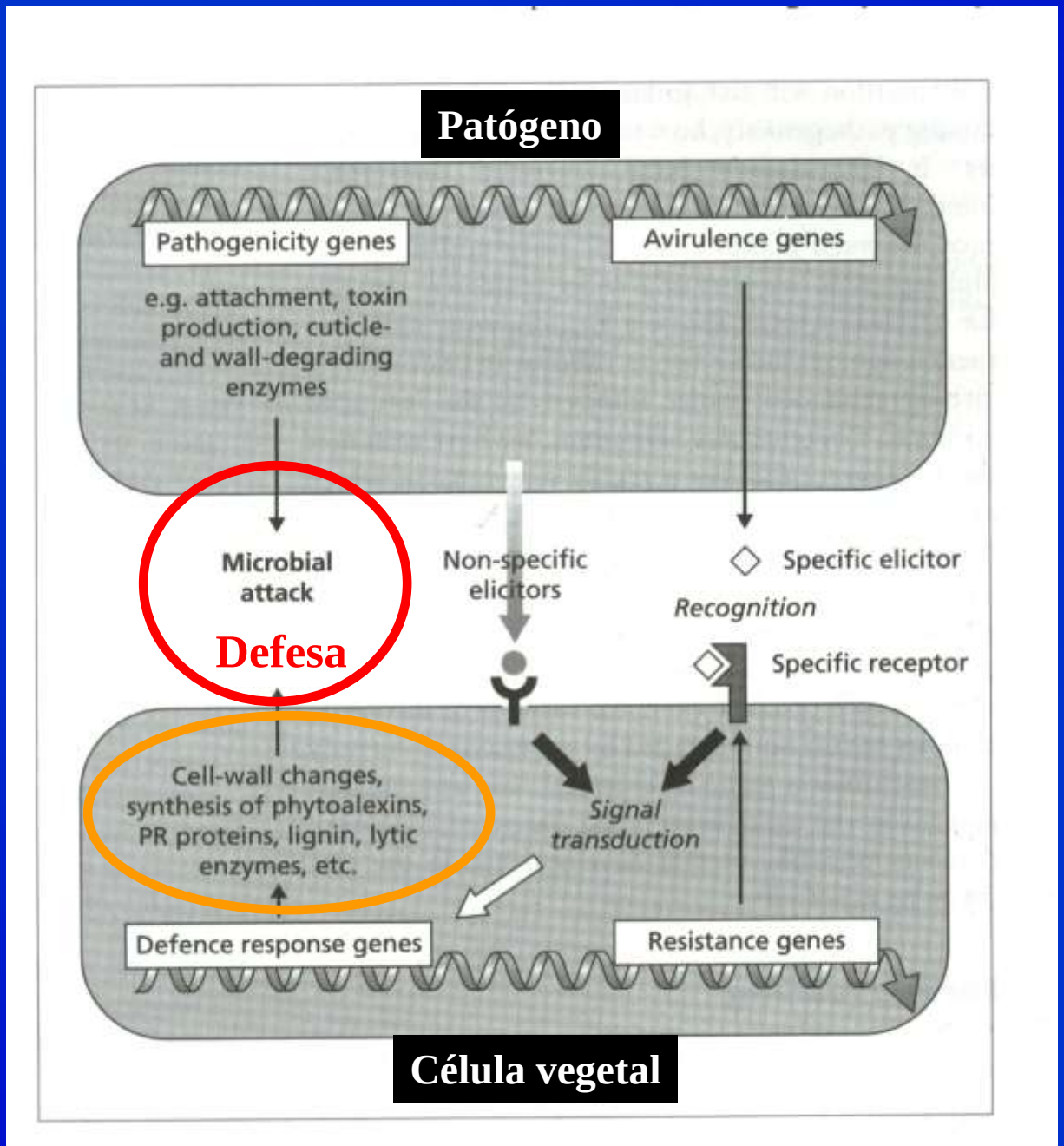
## Hospedeiros

# Mecanismos de resistência estruturais

# Patógeno x Planta



# Patógeno x Planta

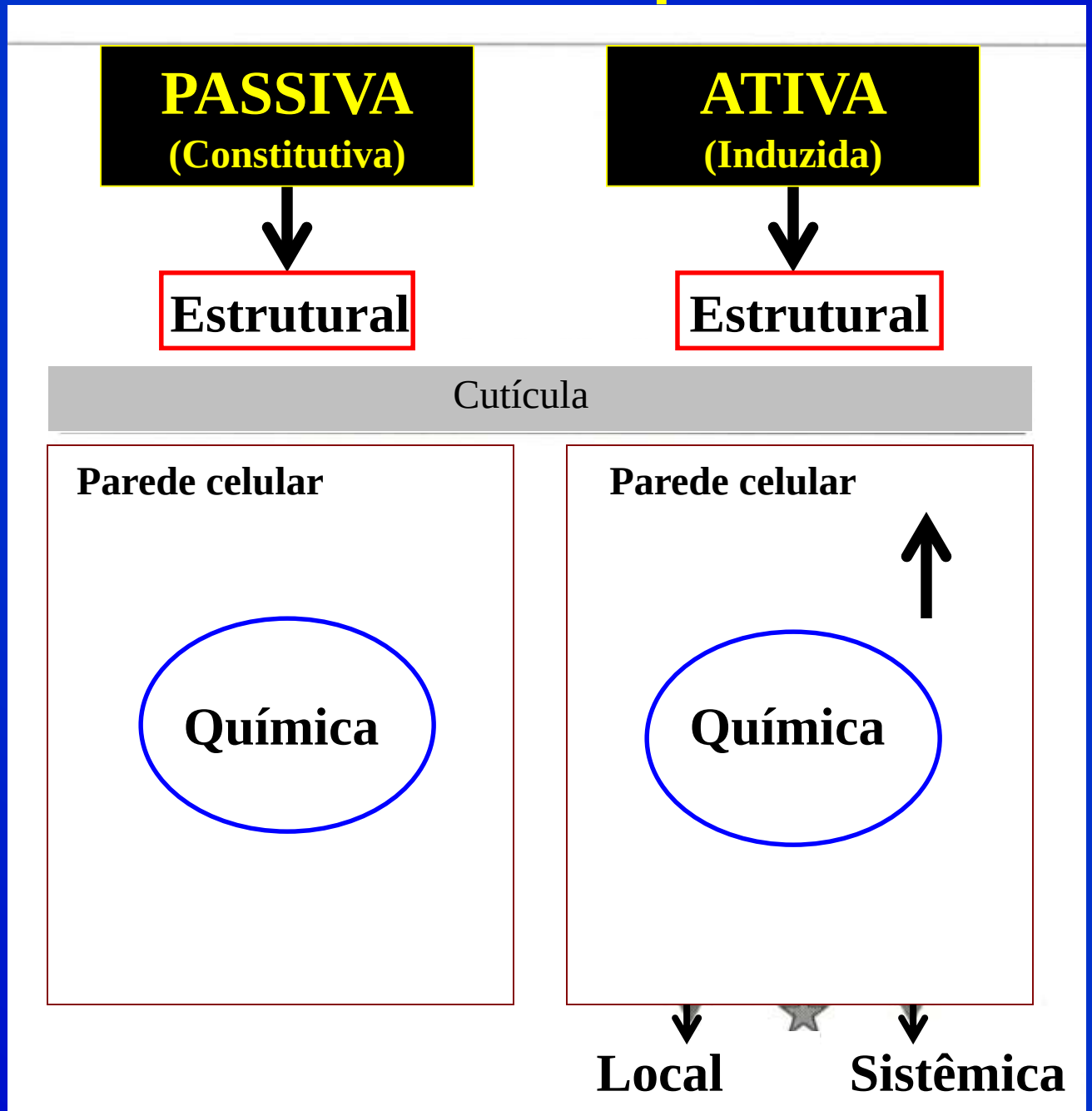


# “NA NATUREZA RESISTÊNCIA É A REGRA”

---

“Capacidade da planta em evitar ou atrasar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno”

# A defesa da planta



# MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

(Fatores de resistência)

1) ESTRUTURAIS (FÍSICOS)

⇨Atraso na penetração do hospedeiro

2) BIOQUÍMICOS

⇨Inibição do crescimento

⇨Condições adversas para a sobrevivência

# Resistência

→ **Sistema multicomponente**

# Resistência

→ Sistema multicomponente

→ **Resulta de um número de mecanismos operando de maneira integrada e coordenada**

# Resistência

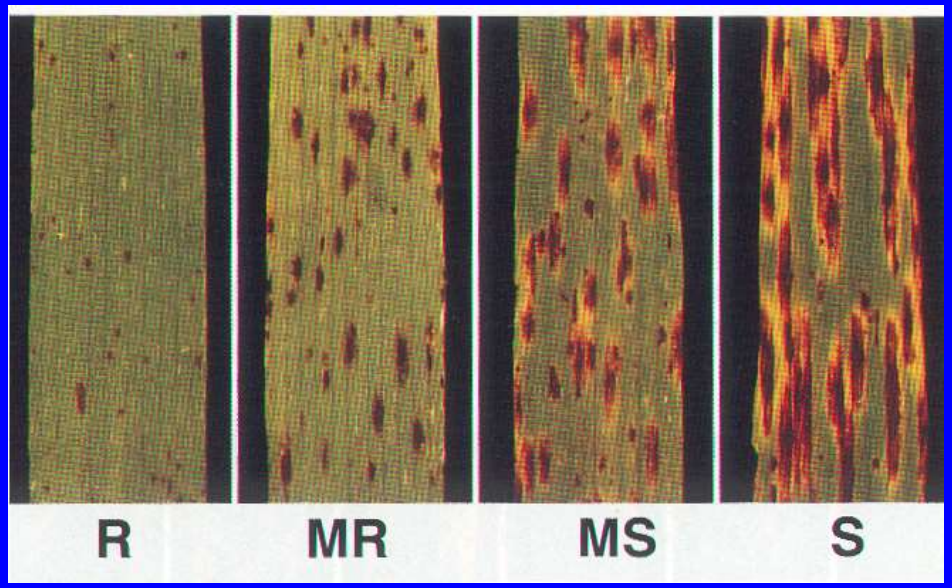
→ Sistema multicomponente

→ Resulta de um número de mecanismos operando de maneira integrada e coordenada

→ **Para serem efetivos os mecanismos de defesa devem ocorrer em uma seqüência específica durante a infecção e a colonização**

# Nível de resistência

"Soma das contribuições de um número de mecanismos de resistência (constitutivos / induzidos)"




(Plant Disease 83(3). 1999)

Cevada
X
*Cochliobolus sativus*

# Fatores de resistência estruturais

# Pré-formados

- Cutícula
- Estômatos
- Tricomas
- Vasos Condutore

# Pós-formados

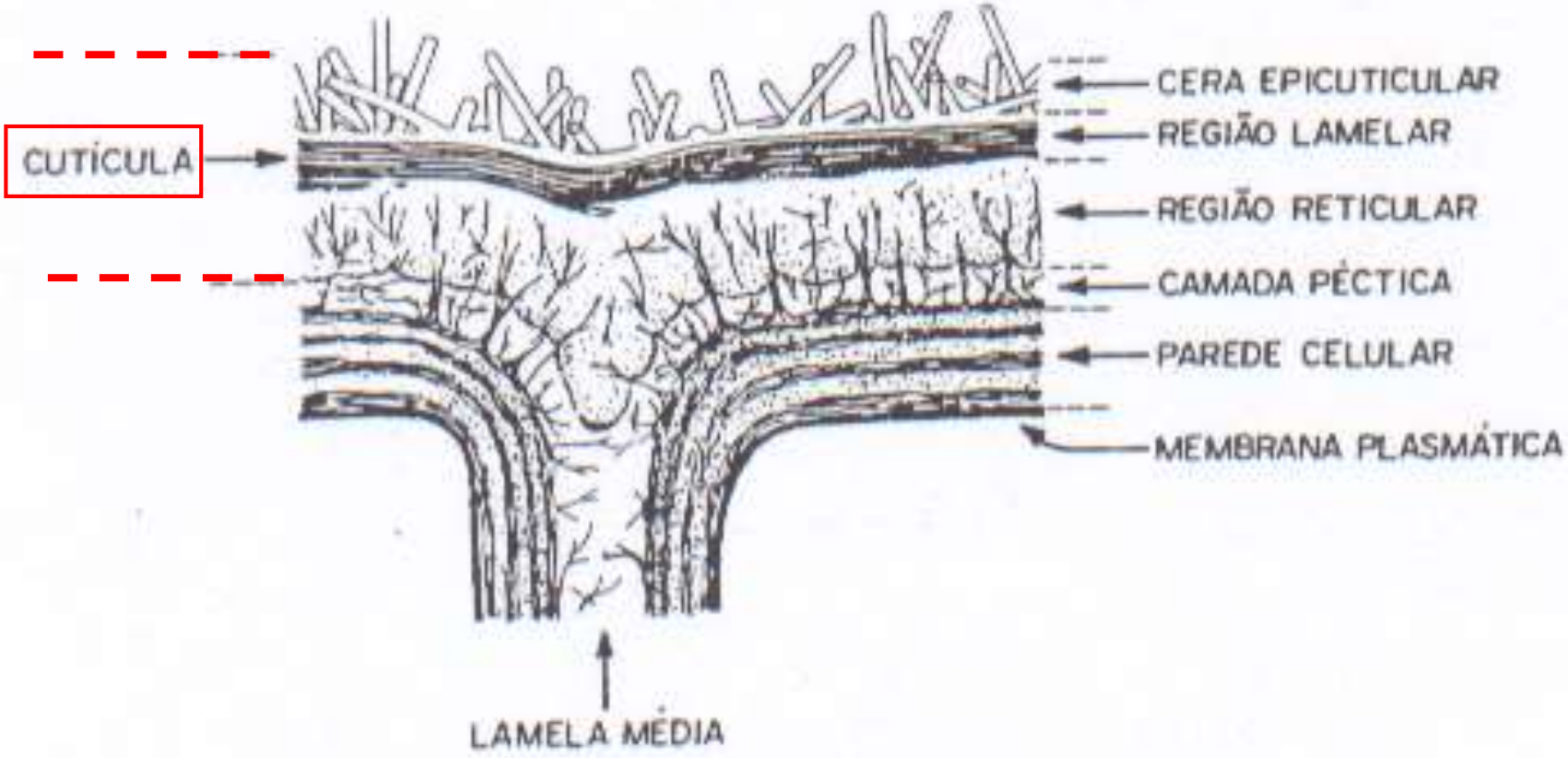
- Papilas
- Halos
- Lignificação
- Camadas de cortiça
- Camadas de Abscisão
- Tiloses

# PRÉ-FORMADOS

- **Cutícula**
- **Estômatos**
- **Tricomas**
- **Vasos condutores**

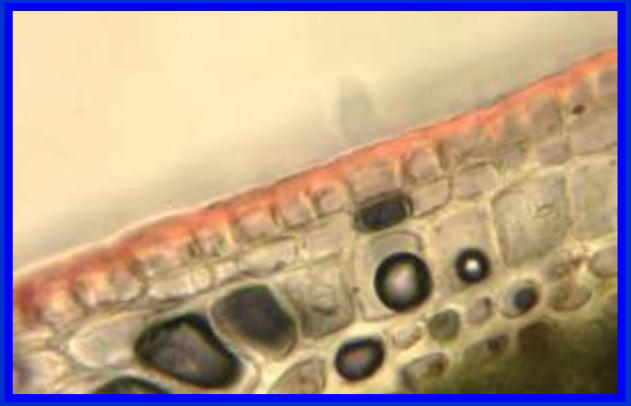
- **Cutícula**
- **Estômatos**
- **Tricomas**
- **Vasos condutores**

# Cutícula

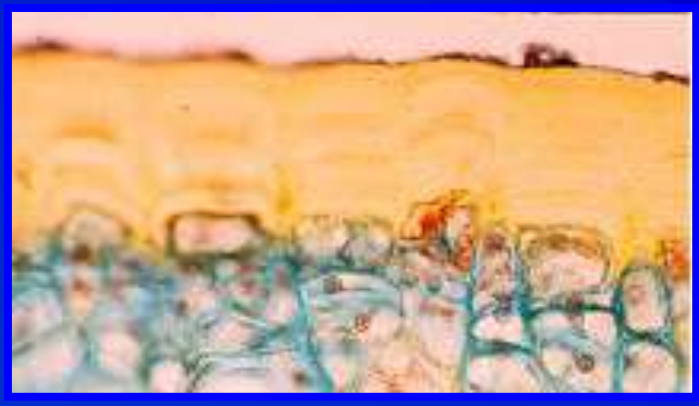



⇨ **Recobre as células epidérmicas de <u>folhas, flores, frutos e talos jovens</u>**

⇨ **Composta por uma <u>mistura de ceras e cutina</u> ⇨ superfície hidrofóbica**



# CUTÍCULA



- Barreira estrutural e tóxica
  - Espessura
  - Constituição
  - Quantidade / continuidade camada cerosa
- Ferimentos e dissolução da cutícula favorecem a infecção

- *Venturia inaequalis* em macieira 'Yarlington Mill' (sarna)

- Sintomas da doença mais intensos nos **tecidos vermelhos** X **verdes** (cutícula mais espessa → menor molhabilidade)

- (Fisher & Cooke, 1971)

*Peronospora tabacina*

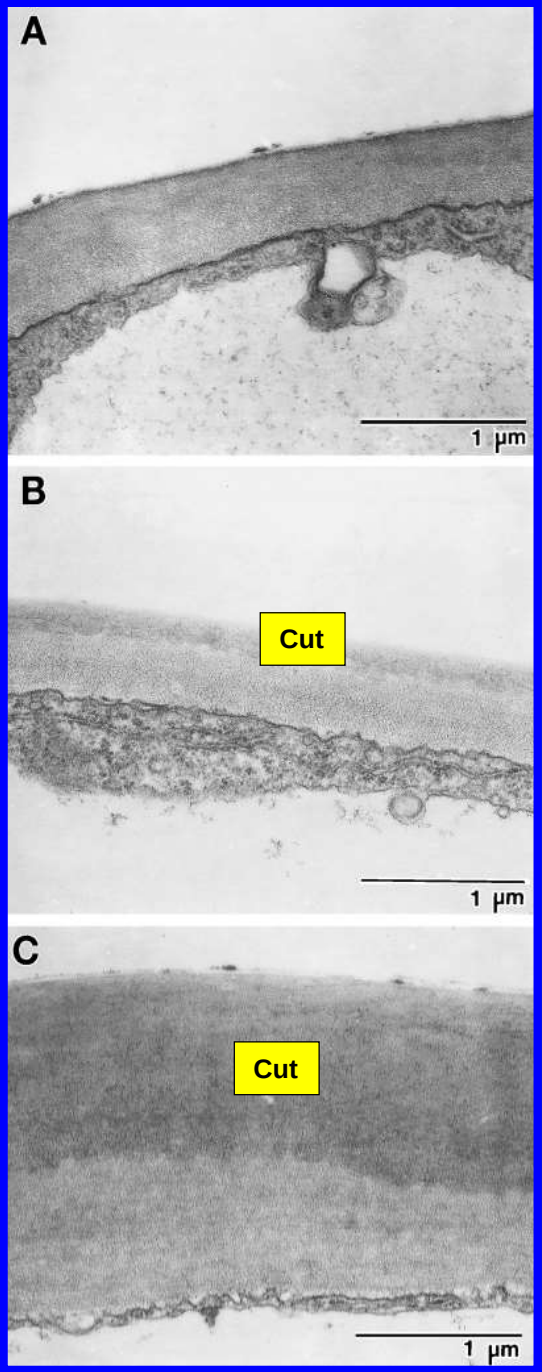
Esporângios

*Nicotiana debneyi*

Rápida germinação

*Nicotiana tabacum*

Presença inibidor germinação extraído da cutícula (4,8,13-duvatrieno-1,3-diol )




## Microscopia de transmissão da superfície abaxial da folha de *Citrus paradisi* em três estádios da expansão foliar

(A) Folhas 50% expandidas, a cutícula não está desenvolvida.

(B) Folhas 75% expandidas, a cutícula está com aproximadamente 15% da espessura completa.

(C) Folhas 100% expandidas, a camada de cutícula está completamente desenvolvida.

---

Em citros a suscetibilidade a *X. axonopodis* pv. *citri* decresce com a expansão foliar.

(Graham et al., 2004)

# Espessura da cutícula em variedades de cebola suscetíveis e resistentes a *Alternaria porri*

| | Espessura cutícula (µm) | Nº estômatos /cm$^2$ folha |
|---|---|---|
| **Variedades suscetíveis** | | |
| Bombay Red | 5,6 – 8,2 | 6.070 |
| Cape Flat | 8,3 – 9,9 | - |
| **Variedades resistentes** | | |
| Red Creole (híbrido) | 9,9 – 13,2 | 5.930 |
| Red Creole (polinização aberta) | 9,9 – 16,5 | 6.140 |
| Yellow Creole | 9,9 – 16,5 | 6.178 |
| White Mexican | 9,2 – 12,5 | - |
| Burgundy Red | 9,9 – 11,6 | 6.393 |
| White Creole | 6,6 – 11,6 | 6.710 |

(Bock, 1964)

# ***Phytophthora infestans* em *Solanum tuberosum***

- Correlação negativa da severidade com a espessura da cutícula em 26 genótipos

- Marcador para resistência a requeima em programas de melhoramento

(Ritu et al., 2000)

# SILÍCIO

- Cutícula e parede celular mais espessa

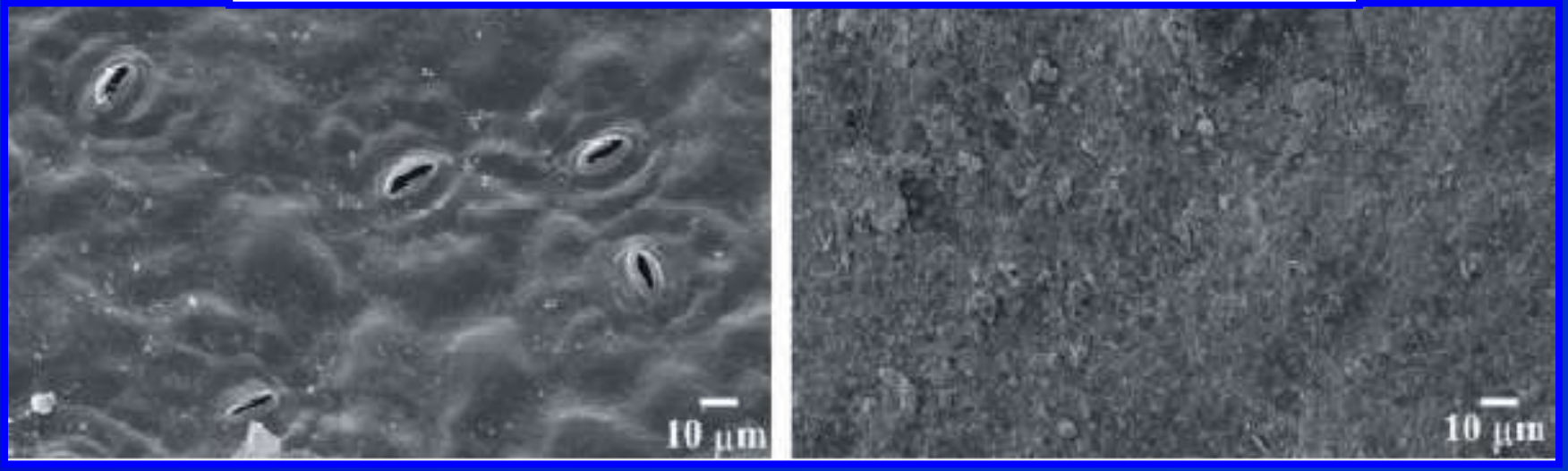
- Células mais rígidas pela complexação do silício com compostos fenólicos na parede das células da epiderme (Rodrigues et al., 2001)

- A incorporação de 1 g $CaSiO_3$/Kg de substrato reduziu em 63,2% a incidência e 43% a severidade de *Cercospora coffeicola* em cafeeiro 'Catuaí' (Pozza et al., 2004)

**TABELA 1** - Porcentagem de folhas de café (*Coffea arabica*), lesionadas por *Cercospora coffeicola*, por planta e total de lesões por planta, nas variedades catuaí, mundo novo e icatú, com e sem aplicação de silicato ao substrato para mudas em tubetes

| Variedade | Folhas lesionadas por planta (%) | | | Total de lesões por planta | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Com silicato | Sem silicato | Média | Com silicato | Sem silicato | Média |
| Catuaí | 16,0 a | 25,3.b | 20,6B | 18,8 a | 43,3 b | 31,1B |
| Mundo Novo | 22,9 ns | 23,3 ns | 23,1B | 24,2 ns | 30,5 ns | 27,4B |
| Icatú | 14,5 ns | 16,0 ns | 15,3A | 13,3 ns | 21,8 ns | 19,1A |

ns não significativo. Letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas na coluna não diferem entre si (Tukey, 5%).




Superfície inferior de folhas de cafeeiro 'Catuaí' tratadas (direita) e não tratadas (esquerda) com $CaSiO_3$

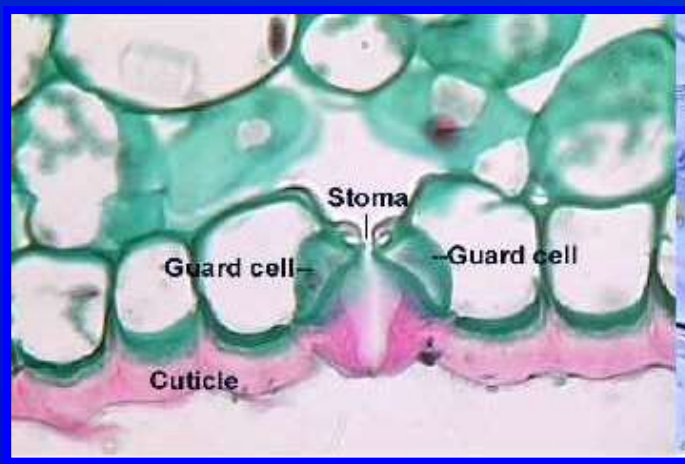
# Exemplos de resistência a fitopatógenos relacionados a cutícula espessa

| Espécie vegetal | Fitopatógenos | Bibliografias |
|---|---|---|
| *Arachis hypogaeae* | *Cercospora personata* | Sukhwinder et al., 1992 |
| *Arachis hypogaeae* | *Cercospora arachidicola* | Sukhwinder et al., 1992 |
| *Acacia auriculiformis* | *Oidium* sp. | Yu & Cen , 1990 |
| *Brassica napus* | *Alternaria brassicae* | Singh et al., 1999 |
| *Brassica juncea* | *Alternaria brassicae* | Singh et al., 1999 |
| *Cucumis melo* | *Pseudoperonospora cubensis* | Mahajan & Dhillon, 2002 |
| *Hevea brasiliensis* | *Corynespora cassiicola* | Syafiuddin et al., 1989 |
| *Lycopersicon esculentum* | *Botritys cinerea* | Rijkenberg et al., 1980 |
| *Manihot esculenta* | *Elsinoe brasiliensis* | Bonilla et al., 1992 |
| *Pisum sativum* | *Botritys cinerea* | Schwab et al., 1995 |
| *Pyrus malus* | *Marssonina coronaria* | Xie & Leng, 1990 |
| *Rosa sp.* | *Botritys cinerea* | Hammer & Evensen, 1994 |
| *Vitis vinifera* | *Uncinula necator* | Heintz & Blaich, 1989 |

- Cutícula
- Estômatos
- Tricomas
- Vasos condutores

# ESTÔMATOS

- Número, morfologia, localização e período de abertura
- 100-300 estômatos por $mm^2$ folha
- Abertos apresentam o ostíolo com 90 $um^2$



# LOCALIZAÇÃO DOS ESTÔMATOS

*Xanthomonas pruni* em pessegueiro

- Infecção apenas pela superfície foliar abaxial

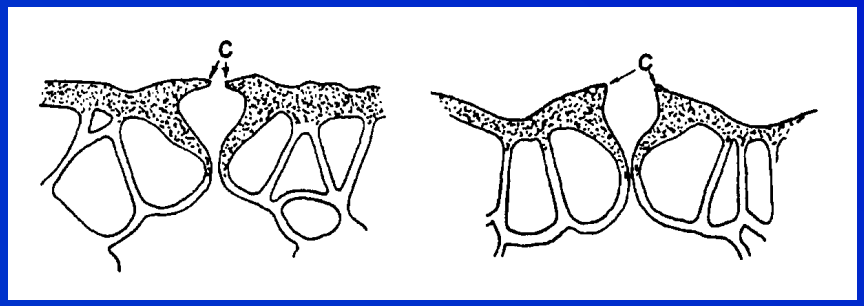
(Lee Campbell et al., 1980)

# MORFOLOGIA DOS ESTÔMATOS

*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (cancro cítrico)

Fundecitrus, 2003

Resistente Suscetível




C - Crista cuticular

Tangerina (*Citrus nobilis*)

↓ Crista cuticular abertura pequena

**Filme de água** ✗

Câmara sub-estomâtica

↓

Mesófilo

Laranjeiras / limões / "grapefruit (*C. grandis*)

↓ Estômatos

Mesófilo

(McLean, 1921)

**Crescimento do tubo germinativo e formação de apressórios por *Puccinia hordei* em folhas primárias de linhagens de *Hordeum chilense,* trigo e cevada**

| Accession | | Appressorium formation (%) | Germlings not reaching any stoma (%) | Germ tube length from uredinospore to first stoma (µm) | Ratio length/ width of germ tube projection | Germlings overgrowing at least one stoma (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *H. chilense* | H7 | $3^{b}$ | $22^{bc}$ | $202^{c}$ | $2{\cdot}9^{ab}$ | $68^{a}$ |
| | H17 | $7^{b}$ | $15^{c}$ | $218^{bc}$ | $3{\cdot}5^{a}$ | $69^{a}$ |
| | H47 | $14^{b}$ | $25^{ab}$ | $228^{bc}$ | $2{\cdot}4^{b}$ | $71^{a}$ |
| | H1 | $65^{a}$ | $31^{a}$ | $307^{a}$ | $3{\cdot}4^{a}$ | $15^{b}$ |
| Wheat | Little Club | $67^{a}$ | $19^{bc}$ | $244^{b}$ | $3{\cdot}0^{ab}$ | $3^{c}$ |
| *H. vulgare* | L94 | $71^{a}$ | $24^{ab}$ | $247^{b}$ | $2{\cdot}6^{b}$ | $5^{c}$ |

All data are the average of measurements on 25 germlings per leaf, six leaves per accession in two repeat experiments. Values with letter in common in each column are not statistically significant ($P < 0{\cdot}05$), LSD test.

(Rubiales & Niks, 1996)

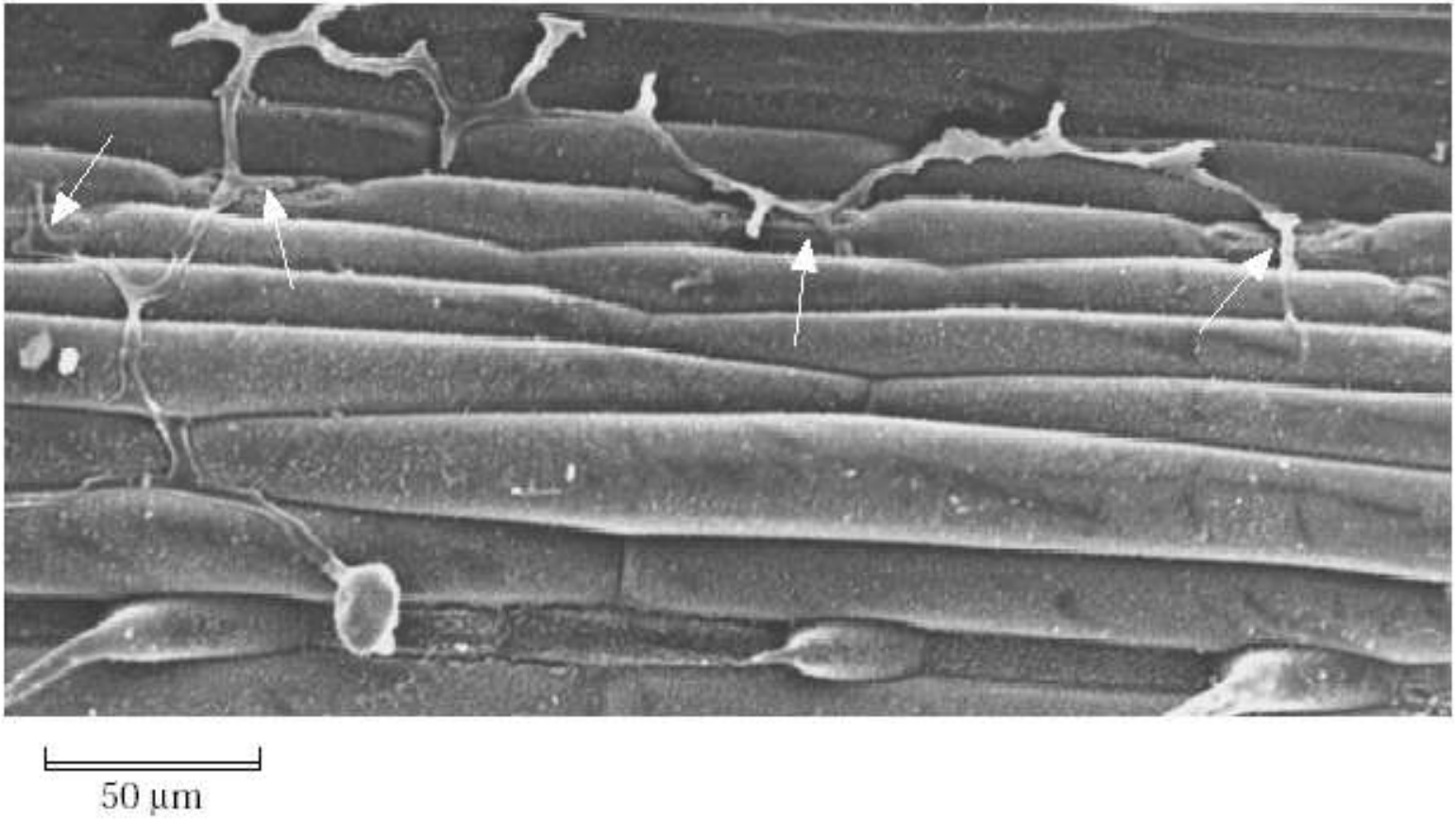



FIG. 1. Germ tube of *Puccinia hordei* overgrowing four stomata (arrowed) of *Hordeum chilense* line H55, without forming appressoria. (Scanning electron picture.)

Não reconhecimento do estômato devido a ausência de uma estrutura indutora de apressório ou a falha do tubo germinativo em contactá-la

# Relação entre a freqüência de estômatos em espécies de *Lycopersicon* e resistência a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

| *Lycopersicon* accessions | Frequency of stomata (per mm$^2$) | | Diseased plants (%) | Bacterial lesions (per cm$^2$) |
|---|---|---|---|---|
| | Adaxial | Abaxial | | |
| *L. esculentum* 'Flora-Dade' | 147 | 315 | 100 | 12·1 |
| *L. esculentum* 'Hayslip' | 137 | 296 | 97 | 12·1 |
| *L. cheesmanii* La 1401 | 101 | 157 | 33 | 5·1 |
| *L. pimpinellifolium* PI 127805 | 55 | 138 | 27 | 6·4 |
| *L. pimpinellifolium* PI 211838 | 50 | 116 | 33 | 6·7 |
| *L. glandulosum* PI 126440 | 47 | 100 | 13 | 3·0 |
| *L. peruvianum* var. *humifusum* PI 127829 | 49 | 151 | 20 | 3·0 |
| *L. peruvianum* PI 129145 | 40 | 177 | 33 | 1·5 |
| *L. peruvianum* PI 128643 | 41 | 116 | 15 | 1·5 |
| *L. hirsutum* PI 127826 | 26 | 79 | 27 | 4·1 |
| *L. hirsutum* var. *glabratum* PI 126449 | 41 | 136 | 20 | 2·5 |
| *L. hirsutum* var. *glabratum* PI 390517 | 19 | 79 | 53 | 2·8 |
| *L. esculentum* 'Flora-Dade' × *L. hirsutum* PI 127826 (F1) | 60 | 181 | 61 | 5·1 |

(Ramos et al., 1992)

⇨ Suscetibilidade do tomateiro a *Pseudomonas syringae* pv. *tomate* aumenta em proporção ao número de estômatos (Bashan et al. 1985)

⇨ Supressão de manchas bacterianas com o fechamento dos estômatos (fenil acetato de mercúrio ou ácido abscísico)

# NÚMERO E MORFOLOGIA

- Genótipos de amendoim resistentes a *Cercosporidium personatum* apresentam menor freqüência estomática (16.854/cm$^2$) e tamanho (17 µm), comparado a RM (17.810 e 25 µm) e S (18.738 e 26,1 µm) (Sukhwinder et al, 1989)

- Resistência de genótipos de sorgo a *Gloeocercospora sorghi* e cravo a *Uromyces caryophyllinus* associada ao menor número e menor tamanho dos estômatos (Kalappanavar & Hiremath, 2000; Vazquez et al, 1998)

# PERÍODO DE ABERTURA

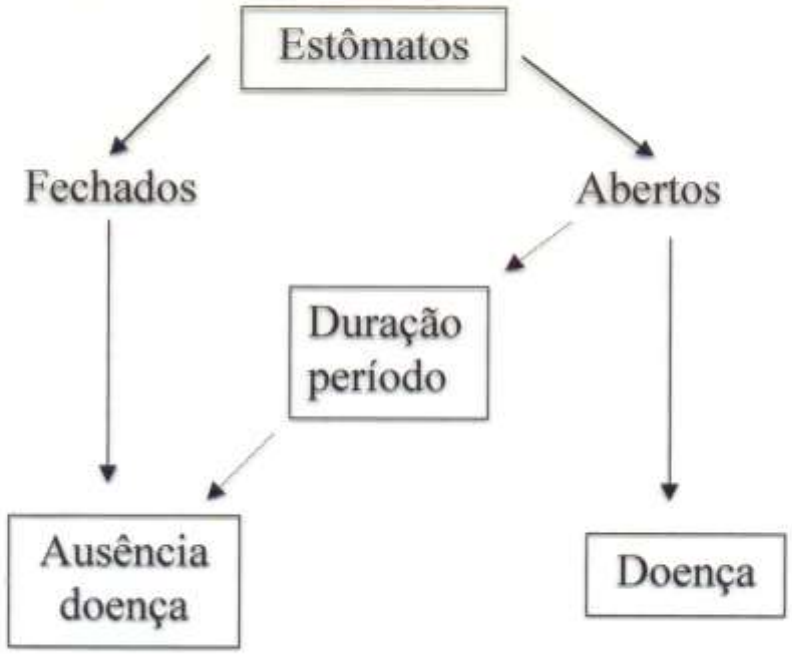
*P. graminis* (Ferrugem do colmo)

Não penetra através do estômato no escuro (sensibilidade ao $CO_2$)

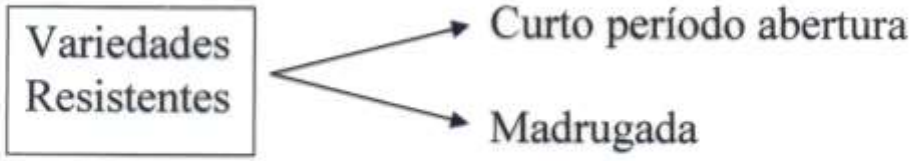
Esporos germinados durante a noite sofrem dessecamento – estômatos abrem tardiamente

(Romig & Caldwell, 1964)

## Ferrugens x Urediniosporos




→ *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* x trigo




(Pequeno número esporos germinados penetram)

- Cutícula
- Estômatos
- Tricomas
- Vasos condutores

# TRICOMAS (Pilosidade)

- Prolongamentos (pêlos) que se estendem a partir da epiderme

- Interferem na continuidade do filme d'água sobre o tecido vegetal (dificultam germinação esporos / multiplicação bactérias)

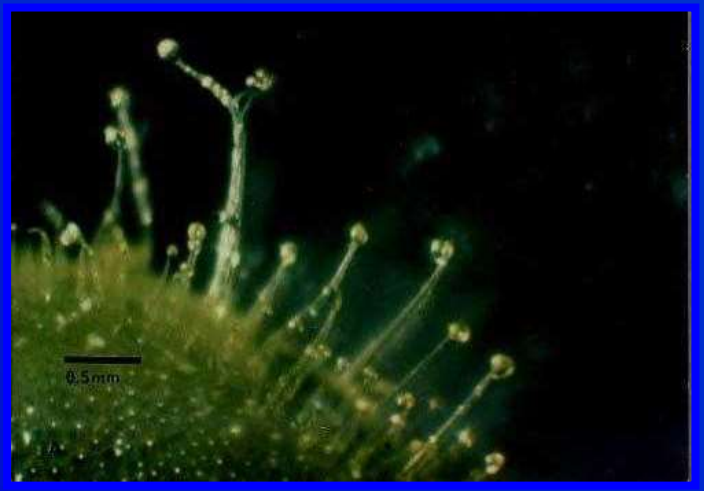
- Repelem insetos vetores de fitopatógenos
  - *Tomato yellow leaf curl bigeminivirus* (TYLCV), transmitido por mosca branca (Channarayappa et al., 1992)

# SUBSTÂNCIAS INIBIDORAS

- Tricomas glandulares (terpenos, fenóis e alcalóides)

  - *Cicer arietinum* resistente a queima de *Mycosphaerella* sp. ⇨ glândulas de ácido málico (inibe germinação esporos) (Goldman et al., 1967)

  - Híbridos de batata (*S. tuberosum x S. berthaultii*) resistentes a *Phytophthora insfestans* ⇨ densidade de tricomas e glândulas com polifenoloxidase (Lai et al. 2000)



## DENSIDADE DE TRICOMAS
(Número / área)

- Resistência de trigo e sorgo a *Tilletia indica* está associada ao maior número de tricomas (Grewal et al., 1999)

- Resistência de seis variedades de lentilha a *Stemphylium botryosum* e de *Cucumis melo* a *Pseudoperonospora cubensis* está associada ao maior número de tricomas, menor número de estômatos e cutícula mais espessa (Mamun et al., 1997; Prabhpreet et al., 1999)

- Cutícula
- Estômatos
- Tricomas
- **Vasos condutores**

# Vasos condutores

- Fibras esclerenquimáticas
- Xilema

Lignina

- Restringe a colonização – redução inóculo / menor número folhas doentes / planta

- Sintomas de manchas angulares

➢ Clones de cana-de-açúcar resistentes a *Leifsonia xyli* apresentam menor diâmetro dos vasos de xilema ⇨ menor fluxo de água (1,8 ml/min) comparado a suscetíveis (16,8 ml/min) (Gillaspie & Teakle, 1989)

## Fatores de resistência estruturais

# PÓS-FORMADOS

- DEFESAS (BARREIRAS) CELULARES

- DEFESAS (BARREIRAS) HISTOLÓGICAS

# ESTRUTURA DE DEFESA (BARREIRA) CELULAR

# ATAQUE DO PATÓGENO

**MUDANÇAS MORFOLÓGICAS**

**MUDANÇAS BIOQUÍMICAS**

# ATAQUE DO PATÓGENO

**MUDANÇAS MORFOLÓGICAS**

MUDANÇAS BIOQUÍMICAS

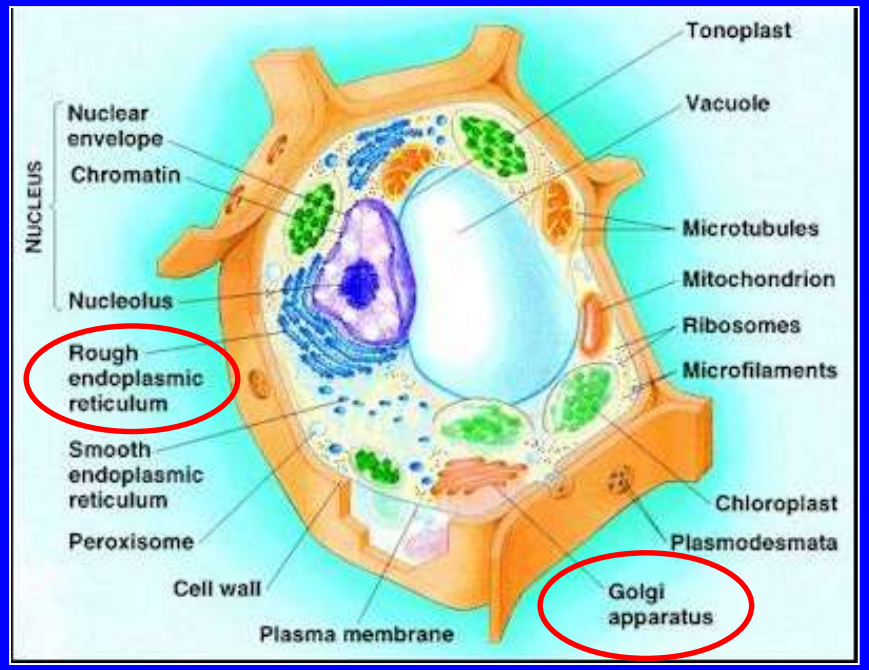
- ✓ **Aumento do fluxo citoplasmático em direção ao sítio de penetração**
- ✓ **Rearranjo do citoesqueleto**
- ✓ **Migração do núcleo**
- ✓ **Justaposição de materiais componentes da parede celular**
- ✓ **Barreiras estruturais pós-formadas**

- **Agregação citoplasmática**
- **Halos**
- **Papilas**
- **Lignificação**

- **Agregação citoplasmática**
- **Halos**
- **Papilas**
- **Lignificação**

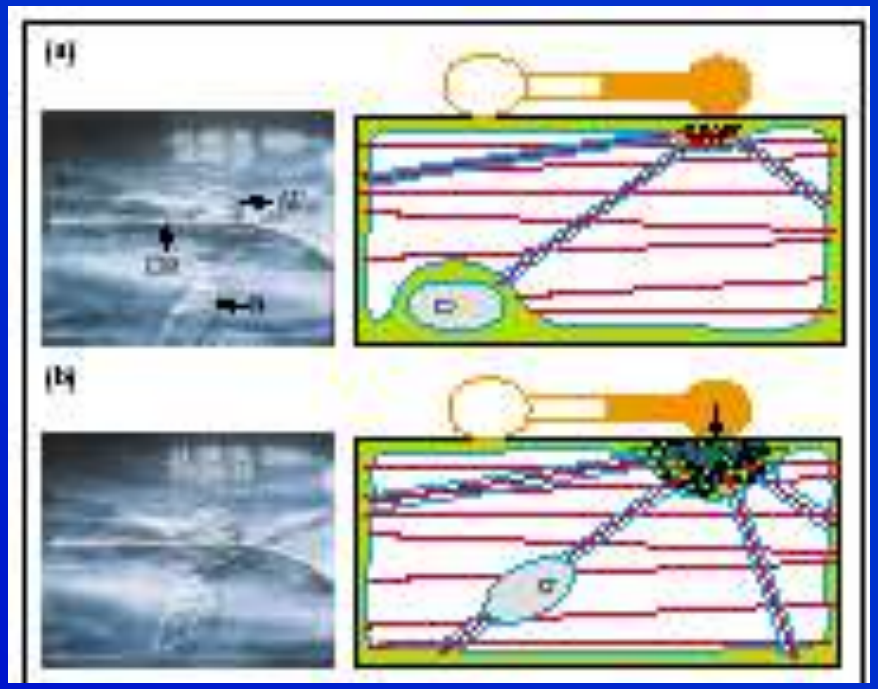
# AGREGAÇÃO CITOPLASMÁTICA

- Acúmulo de massa de citoplasma no sítio sob ataque
- Resposta rápida
- Composição: estruturas celulares do tipo retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi



# AGREGAÇÃO CITOPLASMÁTICA

***Phytophthora infestans* (batata)**

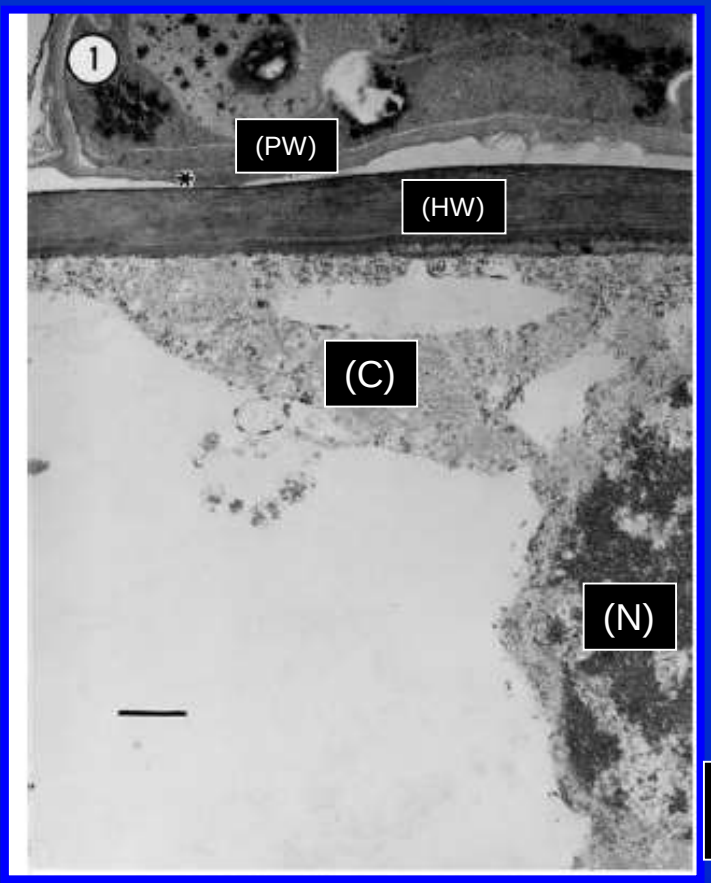


- **Polarização celular**
- **Movimentação de diferentes compostos**
- **Mudança na arquitetura celular**
- **Movimentação do núcleo**

(Schmelzer, E. Trends in Plant Science, v. 7, p. 411-415, 2002)

# AGREGAÇÃO CITOPLASMÁTICA

**_Blumeria graminis_ f. sp. _hordei_ (cevada)**

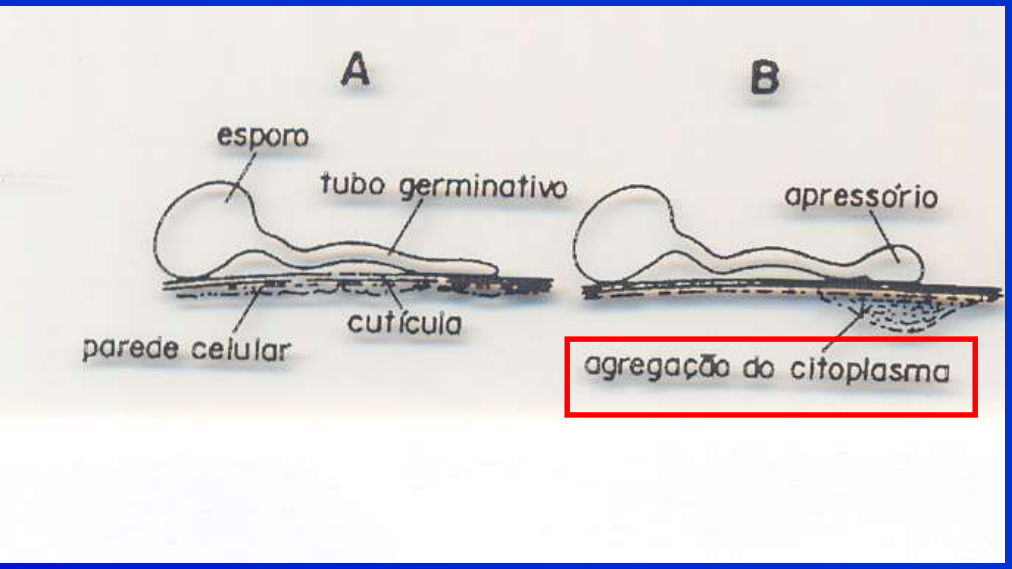



HW – parede hospedeiro
PW – parede patógeno

- Desenvolvimento de peg cuticular **(C)** - 3 h.a.i.
- Primeira resposta de defesa da planta
- Proximidade do núcleo **(N)**

(Edwards, H.H. Canadian Journal of Botany. 80:1121-1125, 2002)

# ESTRUTURA DE DEFESA (BARREIRA) CELULAR



- Agregação citoplasmática
- Halos
- Papilas
- Lignificação

# HALOS

- Alterações da parede celular no ponto (sítio) de penetração do patógeno
- Região parcialmente degradada / sofre reparos
- Após formação do halo pode ocorrer a formação de papila

# HALOS

- Acúmulo:
  - Lipídeos
  - Silício
  - Lignina / suberina
  - Calose

- Função:
  - Redução perda de água
  - Barreira penetração (lignificação)

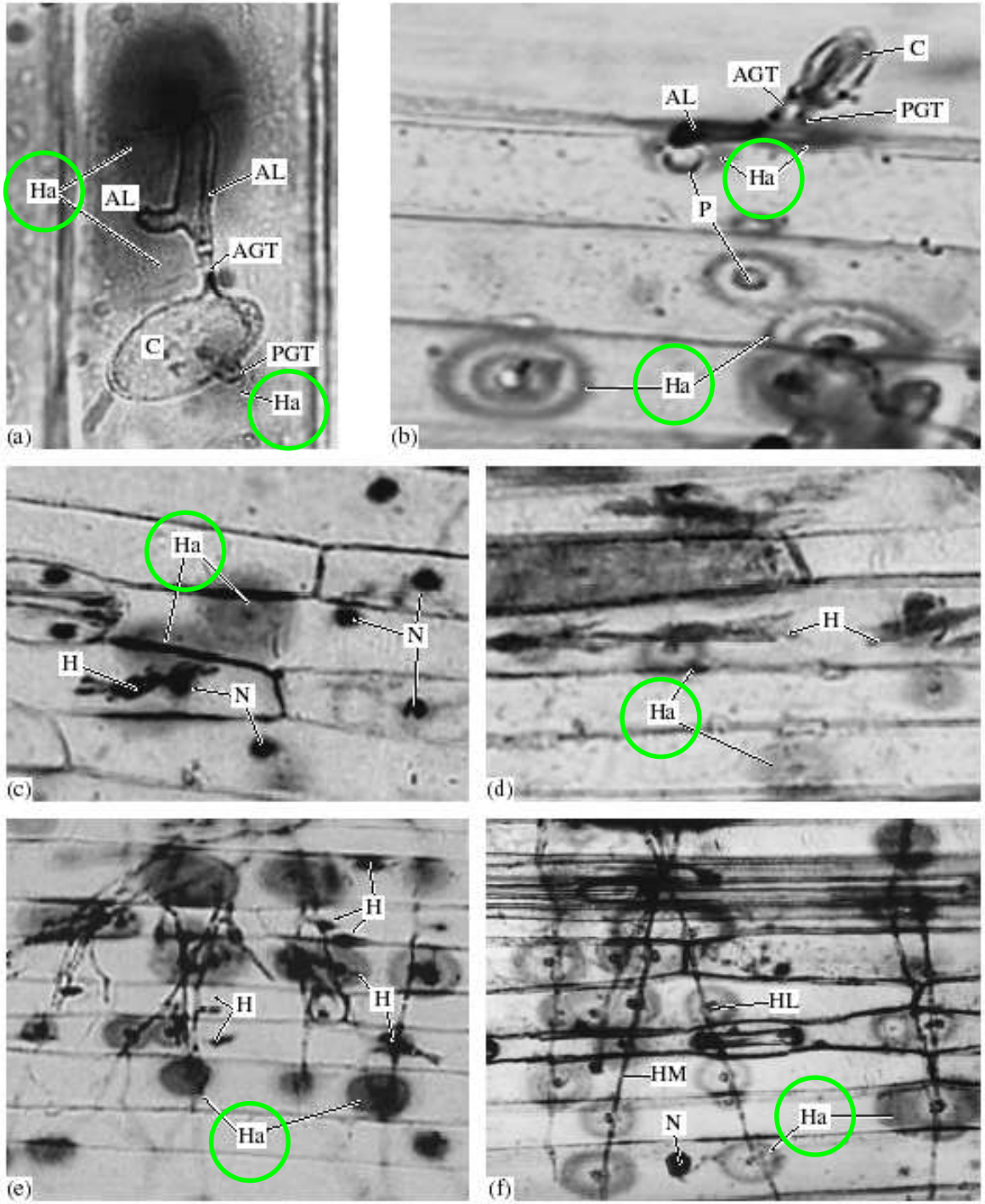
- Pepino x *Colletotrichum* sp →

[ ↑ halos na epiderme] ←

Indução resistência sistêmica

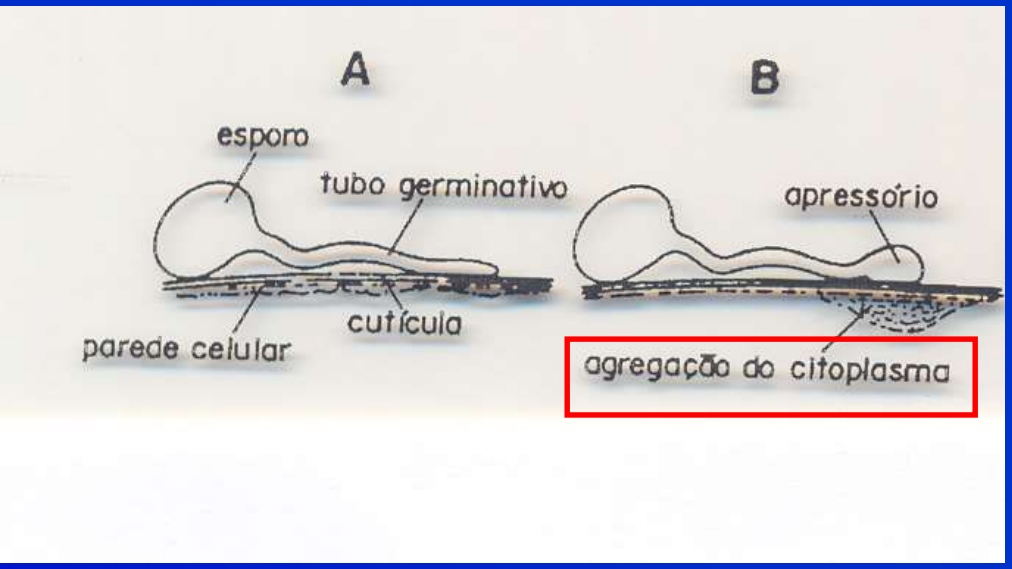
# HALOS

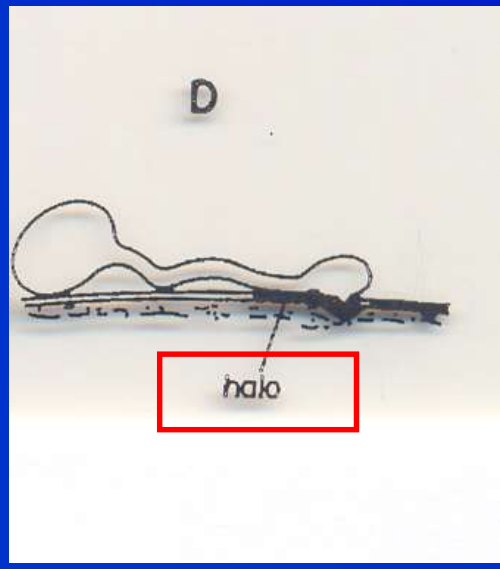
**Oidio**
**(trigo, cevada)**




(Mishina, G.N. et al., Biology Bulletin, 4: 354-360, 2001)

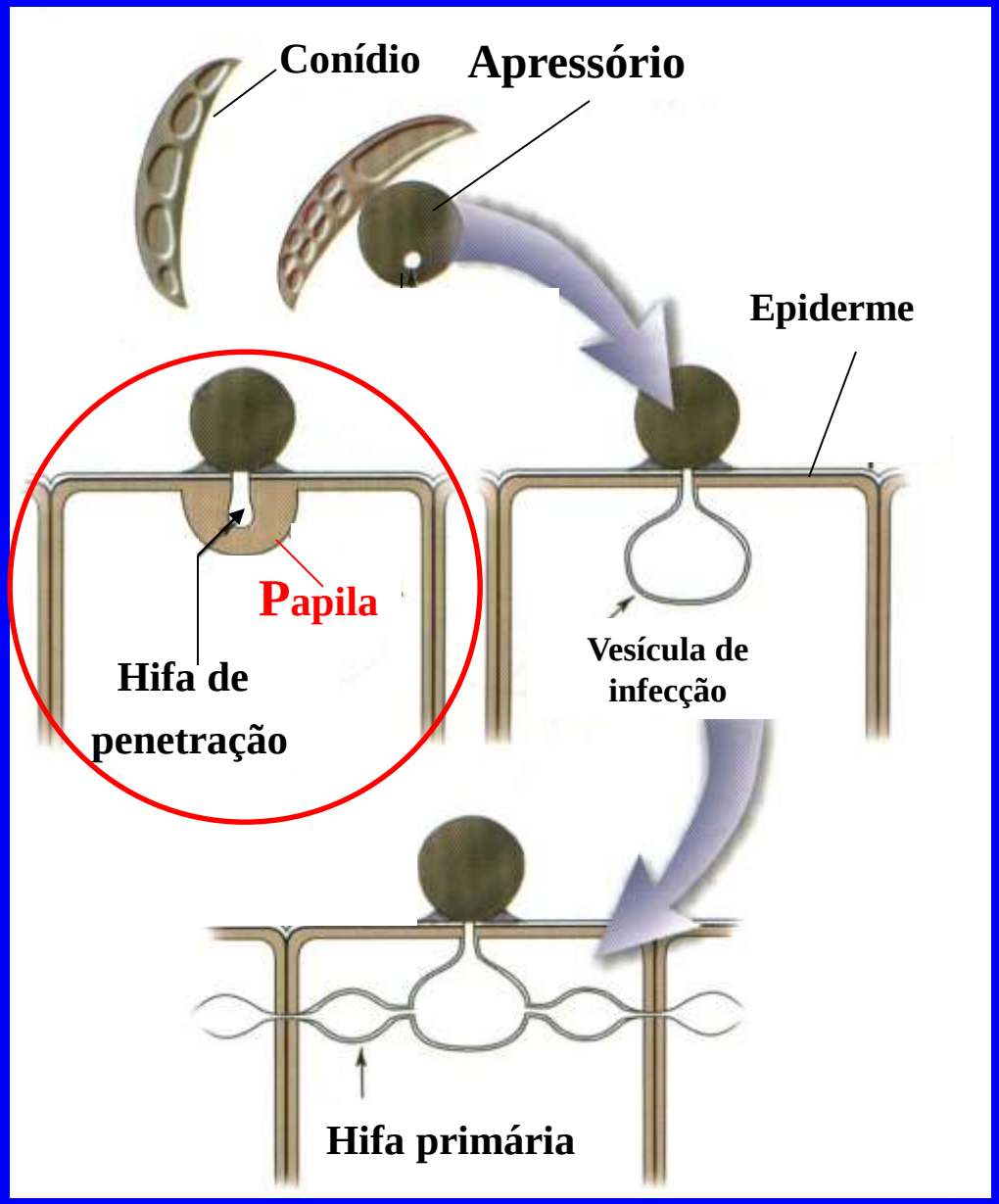
# ESTRUTURA DE DEFESA (BARREIRA) CELULAR



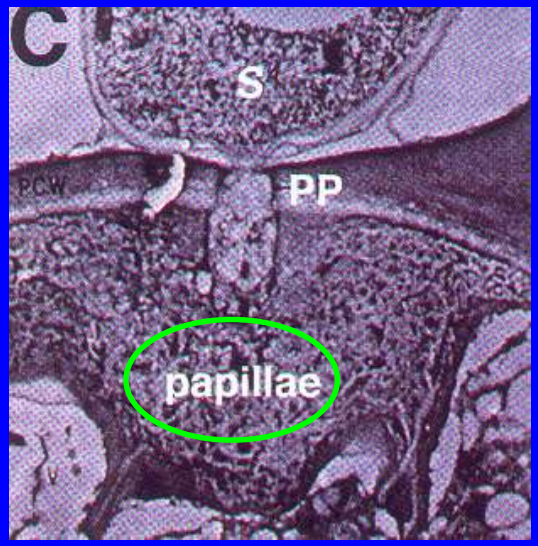
- Agregação citoplasmática
- Halos
- Papilas
- Lignificação

# PAPILAS



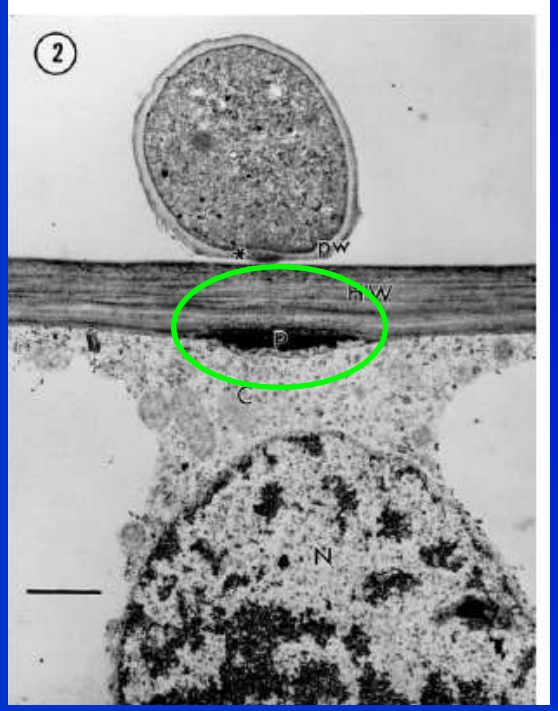

## ⇒ Papilas

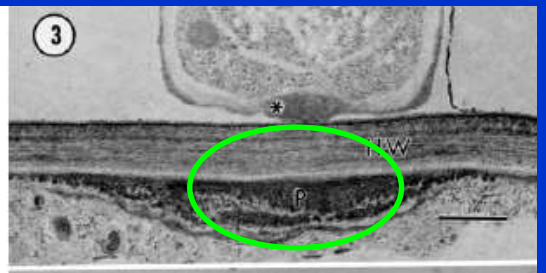
- Deposição de material heterogêneo entre a membrana plasmática e a parede celular no sítio de infecção.




Plant Cell 10(8). 1996.

# PAPILAS

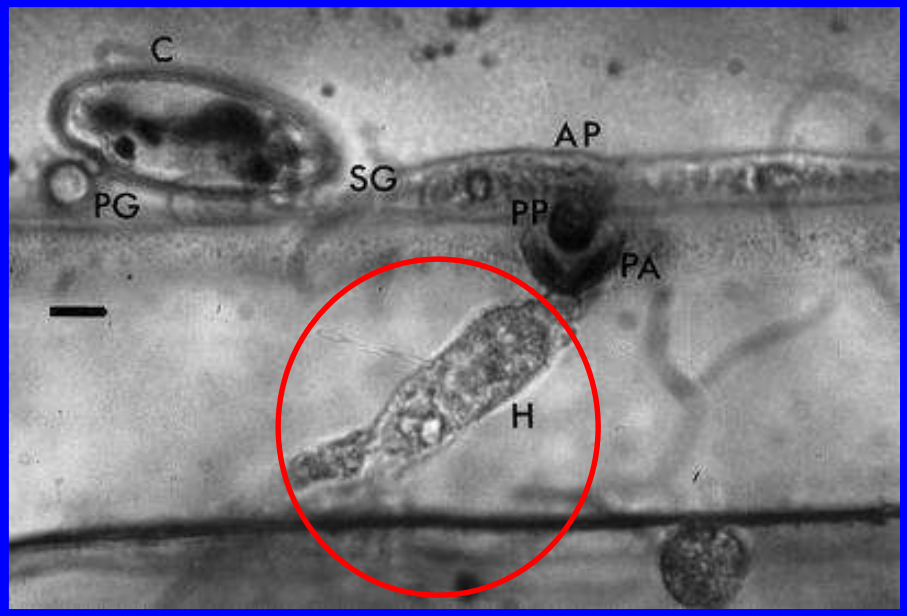


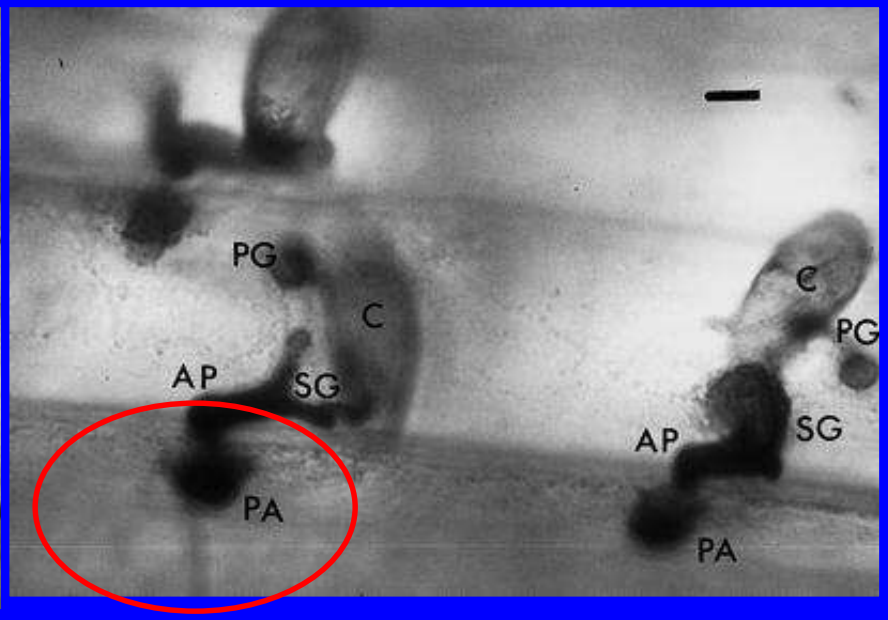



# PAPILAS

- Formação: pode iniciar antes da penetração do fungo e continuar após
- Composição: calose, lignina, derivados fenólicos, silício, suberina, celulose
- Função:
  - barreira contra penetração de fungos (lignificação)
  - dificulta troca de metabolitos (hospedeiro x patógeno)
  - mecanismo de reparo

# *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (cevada)




Interação Compatível

Interação Incompatível

C - conídio
H - hifa
PA - papila

(Rudolf Heitefuss. Naturwissenschaften, 88, 273-283, 2001)

# Reação de linhagens de cevada resistentes e sucetíveis ao patógeno *Blumeria graminis* (gene *mlo*)

| Tempo após germinação | N. de conídios germinados | Agregados citoplasmático em volta do apressório | Formação de papilas | Formação de haustório |
|---|---|---|---|---|
| (h) | (*n*) | (%)[a] | (%)[a] | (%)[a] |
| **RISÖ 5678 – resistente** | | | | |
| 10 | 308 | 54.8 | 5.5 | 0.0 |
| 12 | 316 | 34.2 | 74.0 | 0.0 |
| 16 | 295 | 6.1 | 84.0 | 0.0 |
| 24 | 312 | 0.0 | 90.0 | 0.1 |
| **RISÖ 5678 - suscetível** | | | | |
| 10 | 297 | 62.6 | 0.1 | 0.0 |
| 12 | 312 | 34.9 | 49.0 | 3.8 |
| 16 | 321 | 1.8 | 85.9 | 28.9 |
| 24 | 285 | 0.0 | 81.7 | 63.5 |

[a] Percentagem de sítios de infecção

Papila x resistência
Interação Resistente – papila com alta elasticidade
Interação Sucetível – papila com baixa elasticidade

(Zeyen et al. 1993)

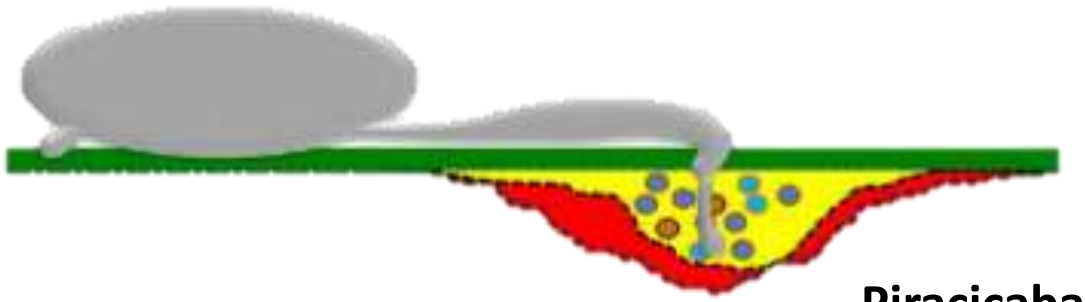
Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

# Differential accumulation of callose, arabinoxylan and cellulose in nonpenetrated versus penetrated papillae on leaves of barley infected with *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*

**Jamil Chowdhury[1], Marilyn Henderson[1], Patrick Schweizer[2], Rachel A. Burton[1], Geoffrey B. Fincher[1] and Alan Little[1]**

[1]ARC Centre of Excellence in Plant Cell Walls, School of Agriculture, Food and Wine, University of Adelaide, Waite Campus, Glen Osmond, SA 5064, Australia; [2]Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Corrensstrasse 3, D-06466 Gatersleben, Germany

**Arnaldo Esquivel Fariña**



**Piracicaba - 2016**

papillae can be classified as:

- **effective**
- **ineffective**

In general, most studies have focused on correlating papilla effectiveness with the:

1. timing of the formation of papillae
2. their architecture and their size
3. **papilla composition.**

Barley (*Hordeum vulgare*) papillae have been shown to contain:

1. **Callose**
2. Phenolics (lignin and phenolic conjugates)
3. Arabinogalactan proteins
4. Antimicrobial components
5. Inorganic elements
6. Reactive oxygen species (ROS)

(Aist, 1976; Zeyen et al., 2002; Underwood, 2012).

callose-rich ineffective papillae found (Aist, 1976)

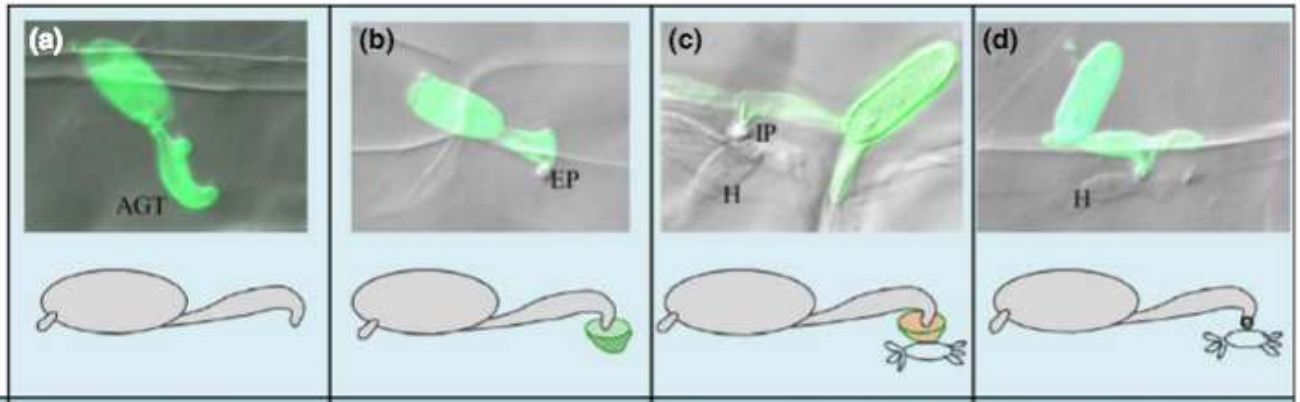
Callose gene: **GLUCAN SYNTHASE-LIKE 5 (GSL5)**

Mutantes deficiente: pouca diferencia entre tratamentos Arabidiopsis – *Golovinomyces cichoracearum*

Overexpresed: confere resistencia a *Golovinomyces cichoracearum*

**more information to improve understanding of the structural and compositional basis of papilla effectiveness?**

# Importance of effective papillae in pre-invasion resistance in the barley–Bgh interaction




| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| *Bgh* structure | | Appressorium | Appressorium | Appressorium & haustorium | Appressorium & haustorium |
| Papilla | | None | Effective | Ineffective | None |
| Susceptible line % (Golden Promise) | 24 h | 12.5 | 76.5 | 4.9 | 6.1 |
| | 48 h | 6.9 | 79.4 | 6.2 | 7.5 |
| | 72 h | 4.4 | 74.5 | 12.3 | 8.8 |

**Fig. 1** Possible infection outcomes from barley–*Blumeria graminis* f. sp. *hordei* interactions after the formation of an appressorium germ tube (AGT). Overlay images show *B. graminis* f. sp. *hordei* conidia labelled with chitin-specific WGA-AF 488 (green) and underlying papillae and haustoria visible using the reflective index of differential interference contrast (DIC) microscopy. (a) Unsuccessful penetration without any visible host responses, (b) unsuccessful penetration due to the formation of an effective host papilla, (c) successful penetration through an ineffective host papilla, and (d) successful penetration in the absence of a detectable papilla. Percent frequencies were estimated from 200 conidial observations at each time-point using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. EP, effective papilla; IP, ineffective papilla; H, haustorium.

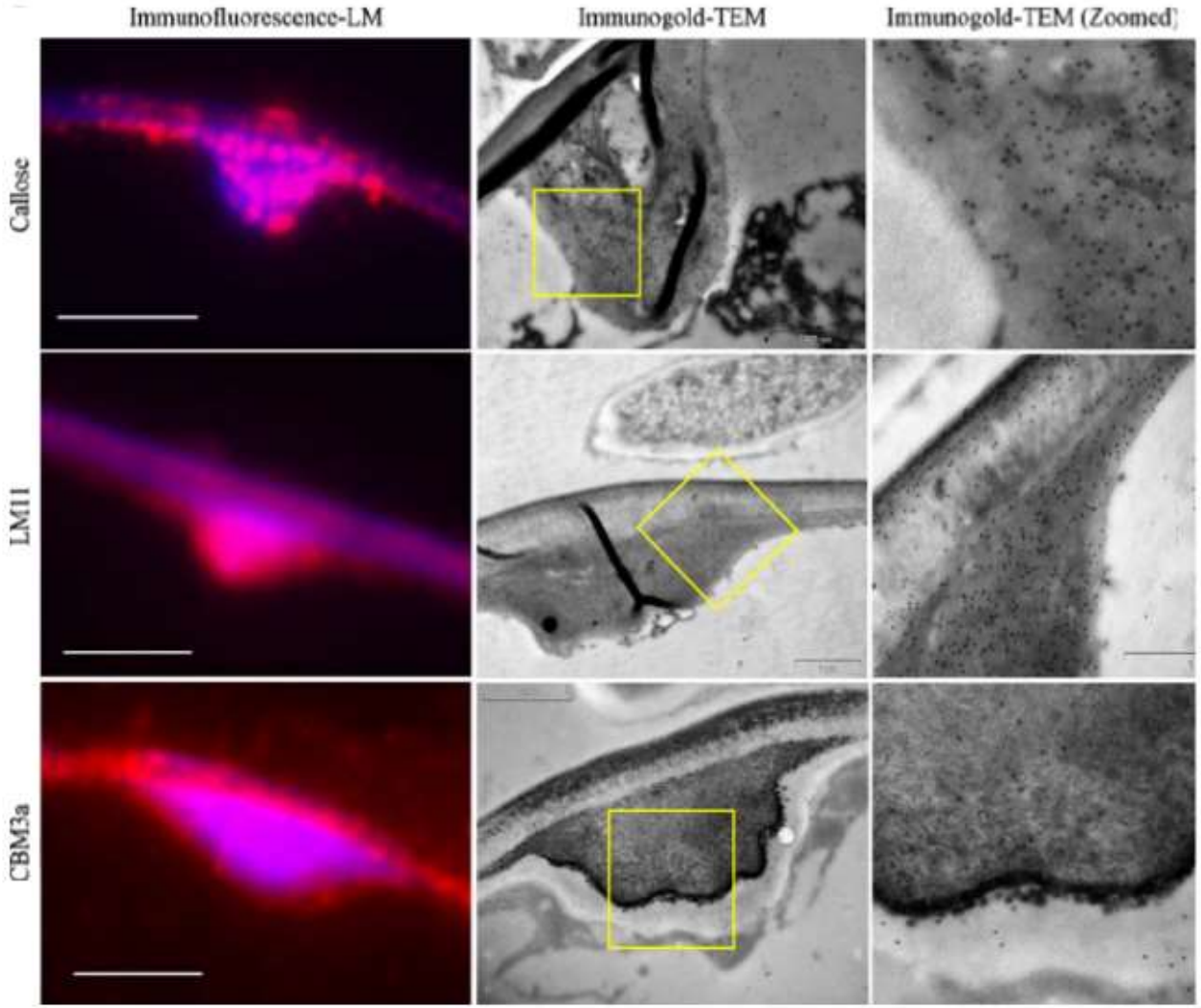



**Fig. 2** Transverse sections of barley papillae formed against *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* at 24 h after inoculation (hai) labelled with callose-, arabinoxylan- and crystalline cellulose-specific probes. All intensities were observed in 1-µm-thick transverse sections using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. Left column, red fluorescence, AF555-secondary antibodies attached to respective primary antibodies; blue fluorescence, phenolic acid-associated autofluorescence; bars, 5 µm. Middle column, immunogold-labelled transmission electron micrograph; bars, 1 µm. Right column, magnified view of boxed area from second column. LM, light microscopy; TEM, transmission electron microscopy.

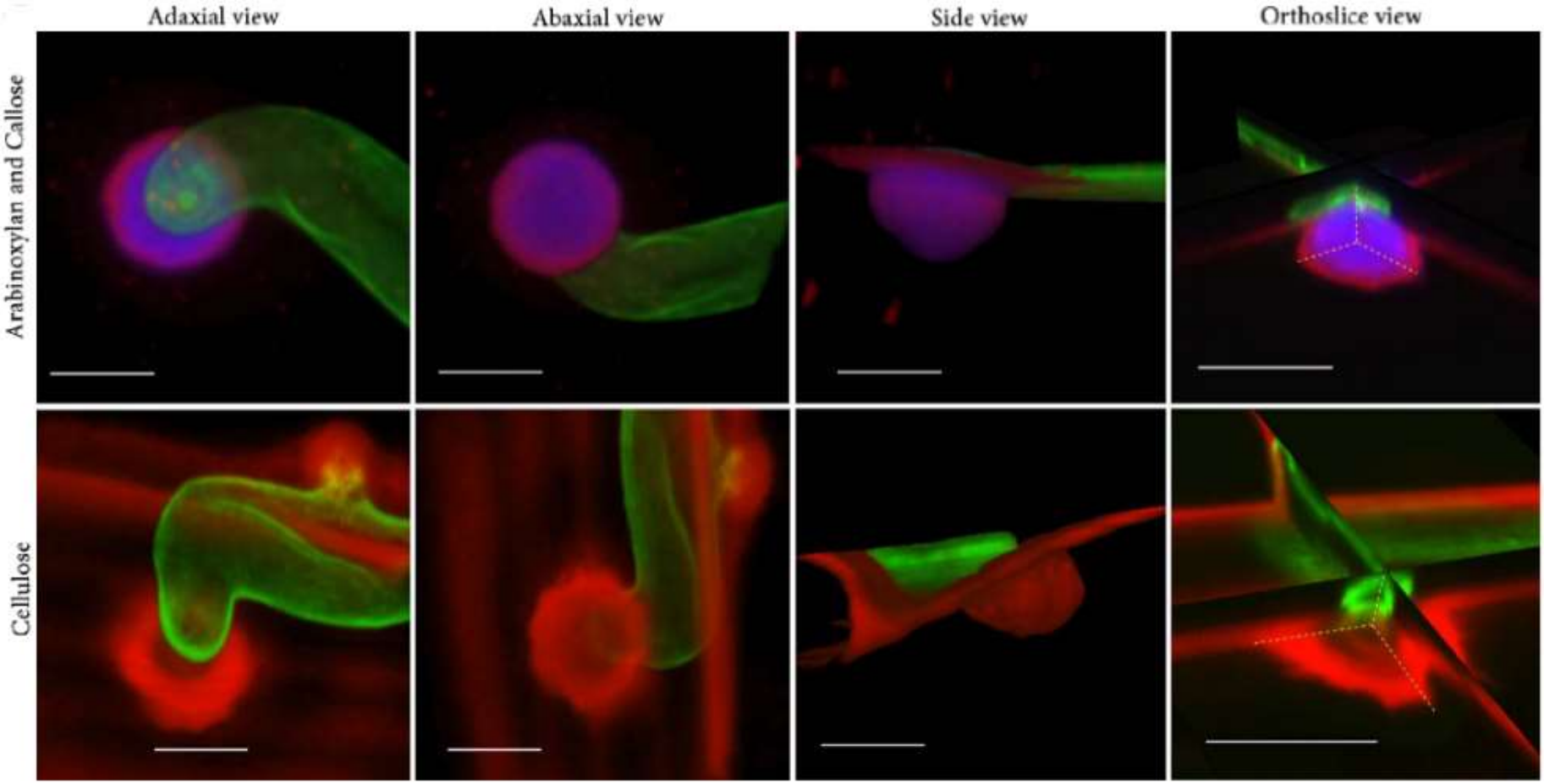



**Fig. 3** Confocal microscopy of polysaccharide deposition patterns in effective barley papillae formed against *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* at 24 h after inoculation (hai). All intensities were observed using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. Fungal appressoria were labelled with WGA-AF488 (green). Upper panels, different views of a papilla labelled with an arabinoxylan probe (LM11; red) and a callose probe (aniline blue; blue). Lower panels, different views of a papilla labelled with a cellulose probe (Pontamine fast scarlet 4B; red). Bars, 5 μm.

The effective papillae are therefore composed of two layers; the innermost layer containing callose and arabinoxylan

the second outer layer containing cellulose and arabinoxylan.

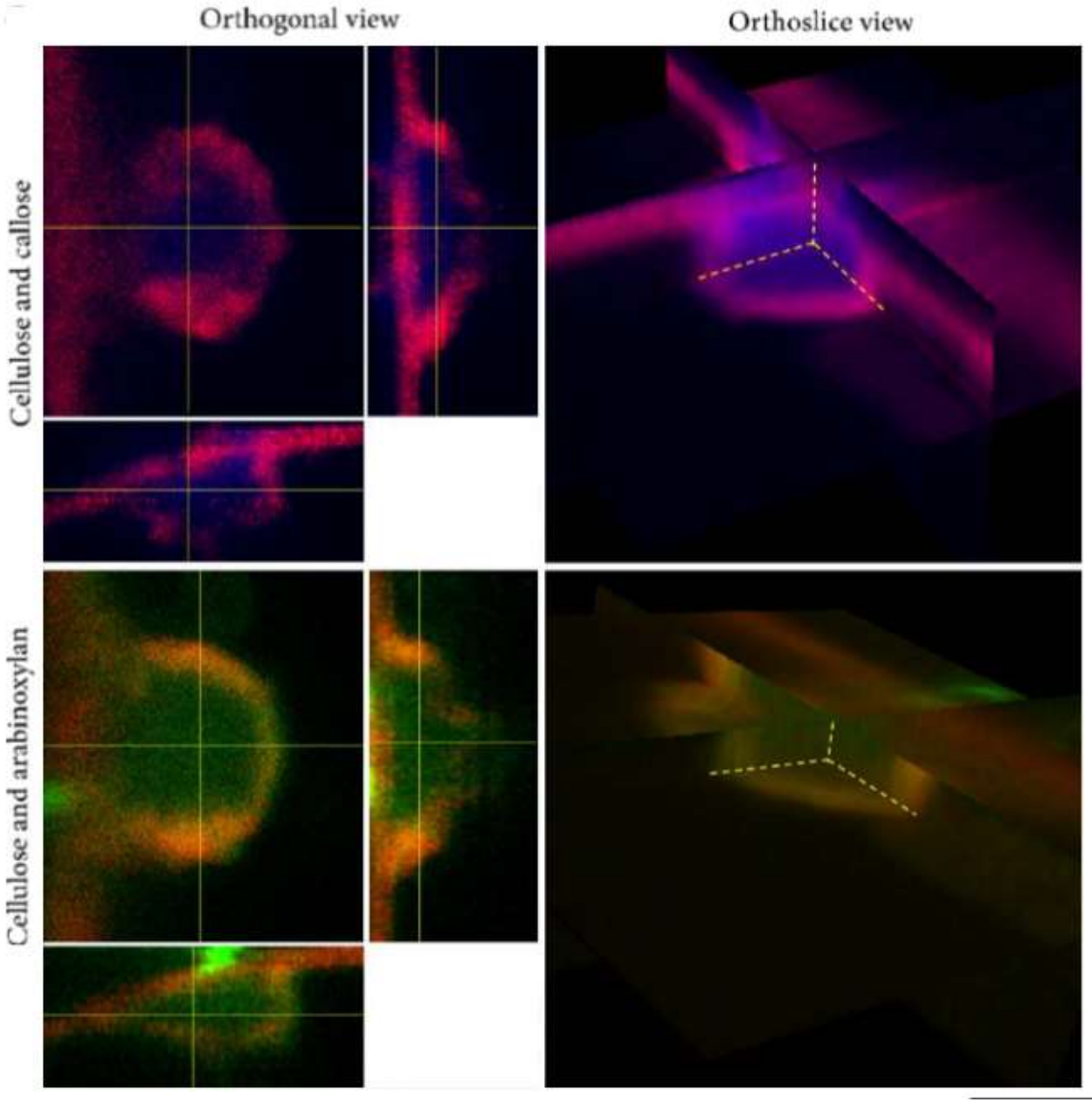



**Fig. 4** Confocal microscopy of polysaccharide deposition patterns in effective barley papillae formed against *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* at 24 h after inoculation (hai). All intensities were observed using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. Orthogonal views of virtual sections show papilla labelling from top and side angles. Papilla were labelled with the same probes as Fig. 3, but with different colours: callose (blue), cellulose (red) and arabinoxylan (green).

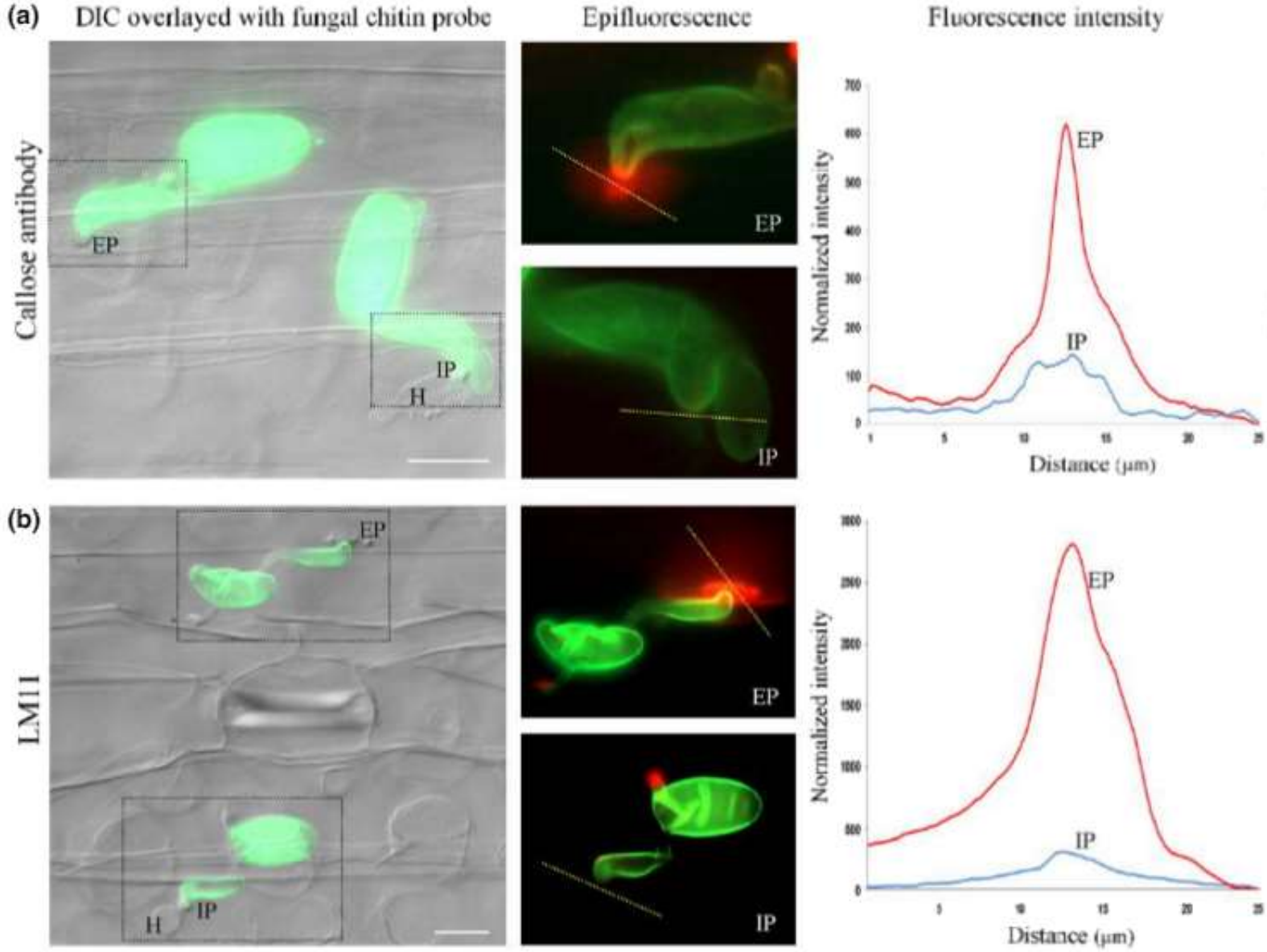



**Fig. 5** Labelling of callose-, arabinoxylan- and cellulose-specific probes and phenolic acid-associated autofluorescence in effective and ineffective barley papillae formed against *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* at 24 h after inoculation (hai). All intensities were observed using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. (a–d) Fungal appressoria labelled with WGA-AF488 (green). (a–c) Polysaccharide-specific probes (red) and (d) autofluorescence (blue). Fluorescence intensity profiles correspond to yellow dashed lines showing the distribution of observed labelling in effective and ineffective papillae. EP, effective papilla; IP, ineffective papilla; H, haustorium. Bars, 20 µm.

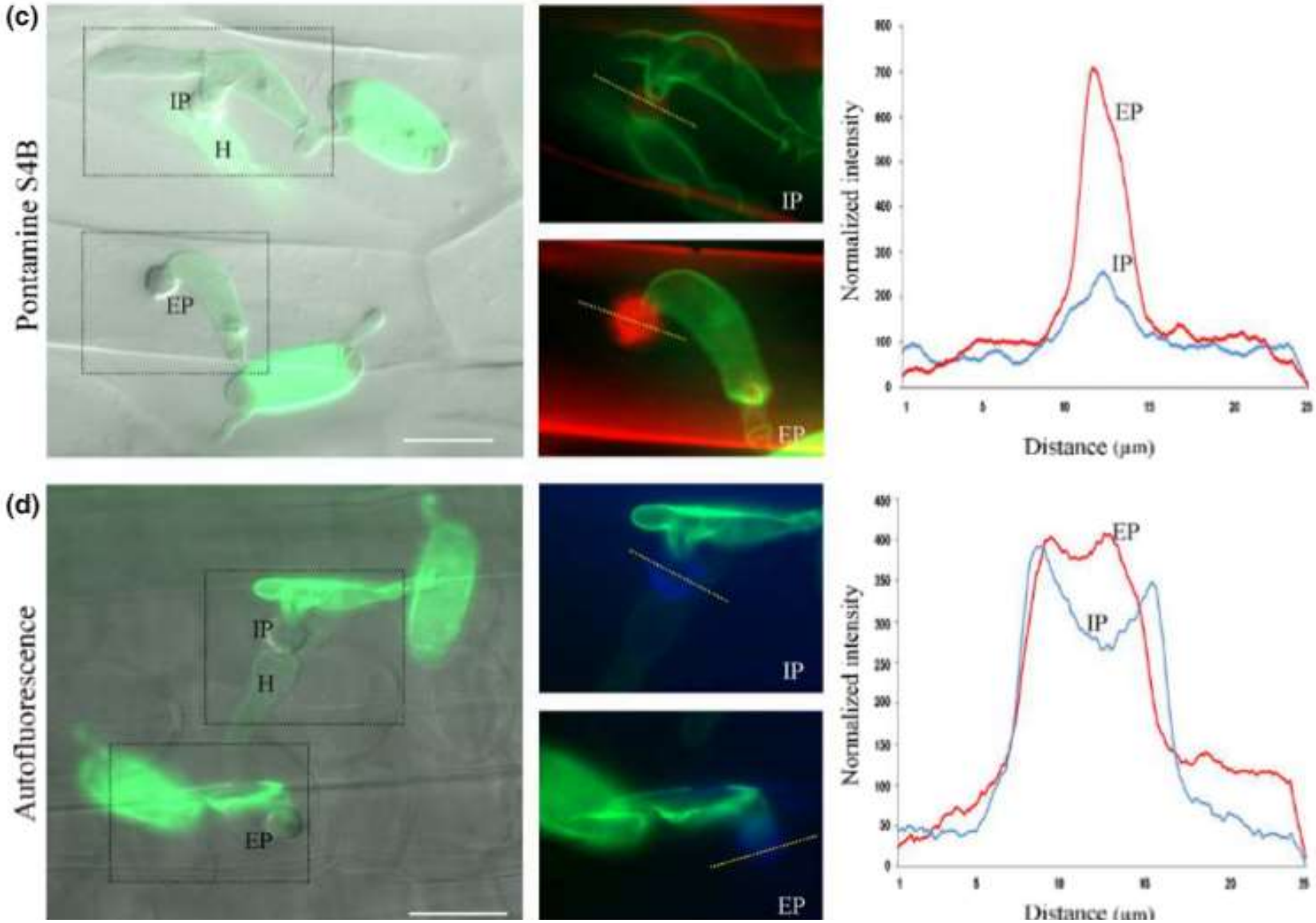



**Fig. 5** Labelling of callose-, arabinoxylan- and cellulose-specific probes and phenolic acid-associated autofluorescence in effective and ineffective barley papillae formed against *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* at 24 h after inoculation (hai). All intensities were observed using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. (a–d) Fungal appressoria labelled with WGA-AF488 (green). (a–c) Polysaccharide-specific probes (red) and (d) autofluorescence (blue). Fluorescence intensity profiles correspond to yellow dashed lines showing the distribution of observed labelling in effective and ineffective papillae. EP, effective papilla; IP, ineffective papilla; H, haustorium. Bars, 20 µm.

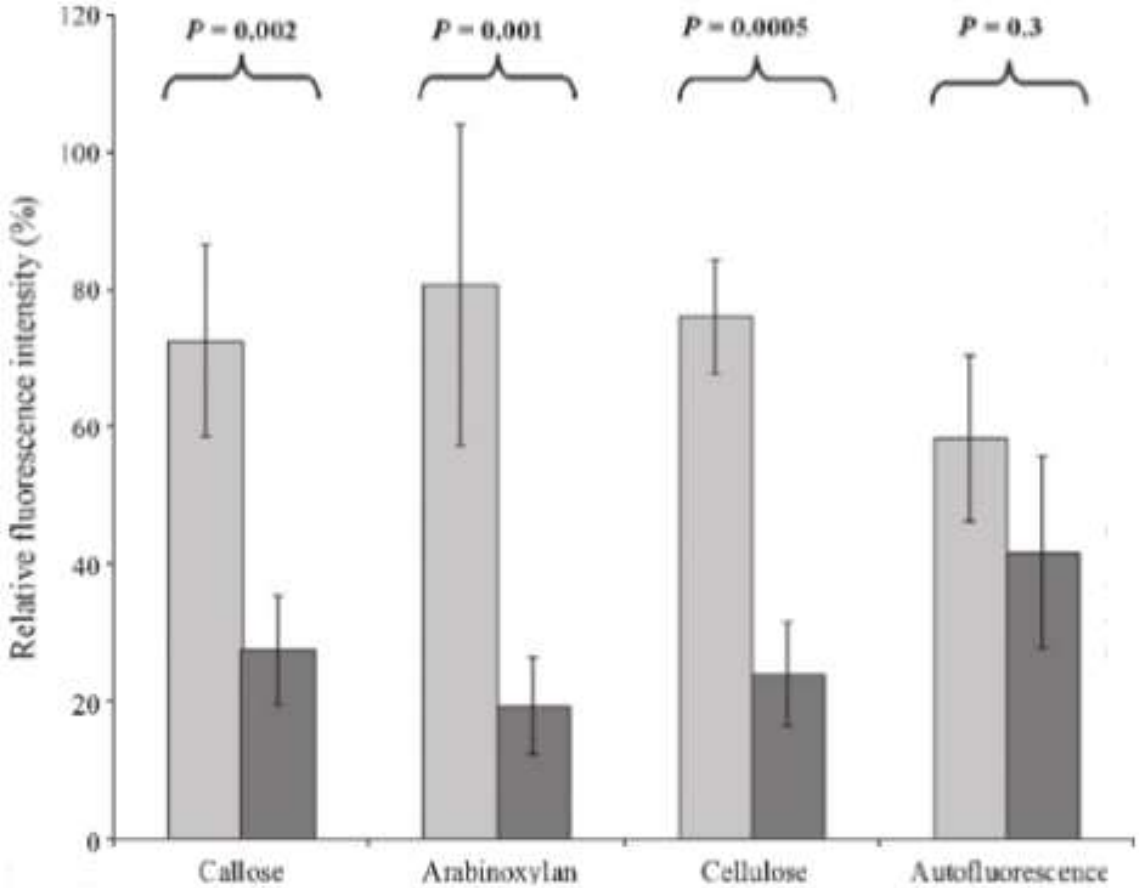



**Fig. 6** Relative fluorescence intensity in effective (light grey bars) and ineffective (dark grey bars) barley epidermal papillae at 24 h after inoculation (hai). All intensities were observed using the susceptible barley cultivar 'Golden Promise'. For each probe, the average maximum intensity was calculated using the maximum intensity found in the fluorescence intensity profile of fifty papillae and normalized against background tissue staining. In order to directly compare the different probes in one graph, the relative fluorescence intensity was calculated as a percentage of the highest maximum found for each probe. Error bars, ± SD of the mean. *P* values of Student's *t*-test are indicated above each set.

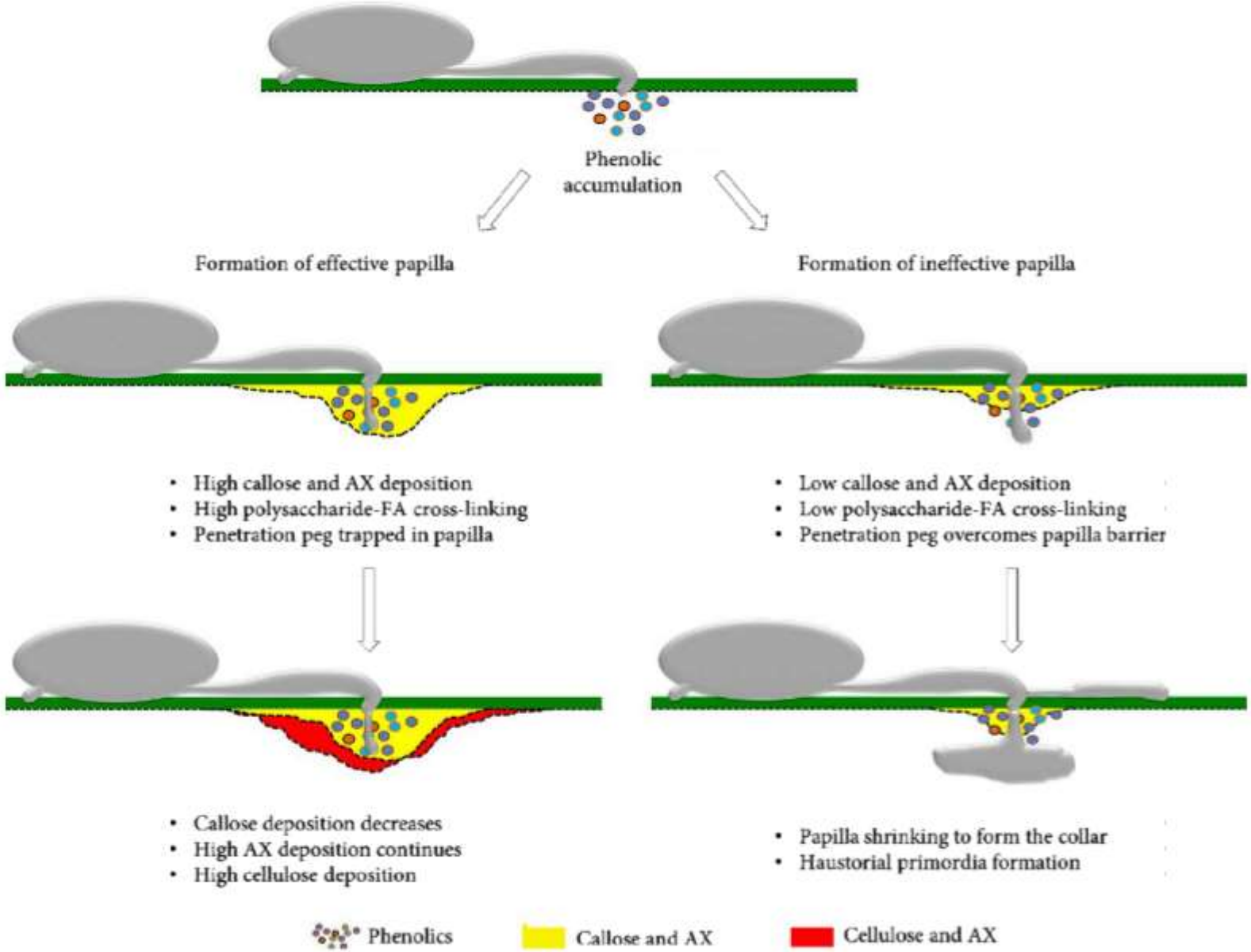
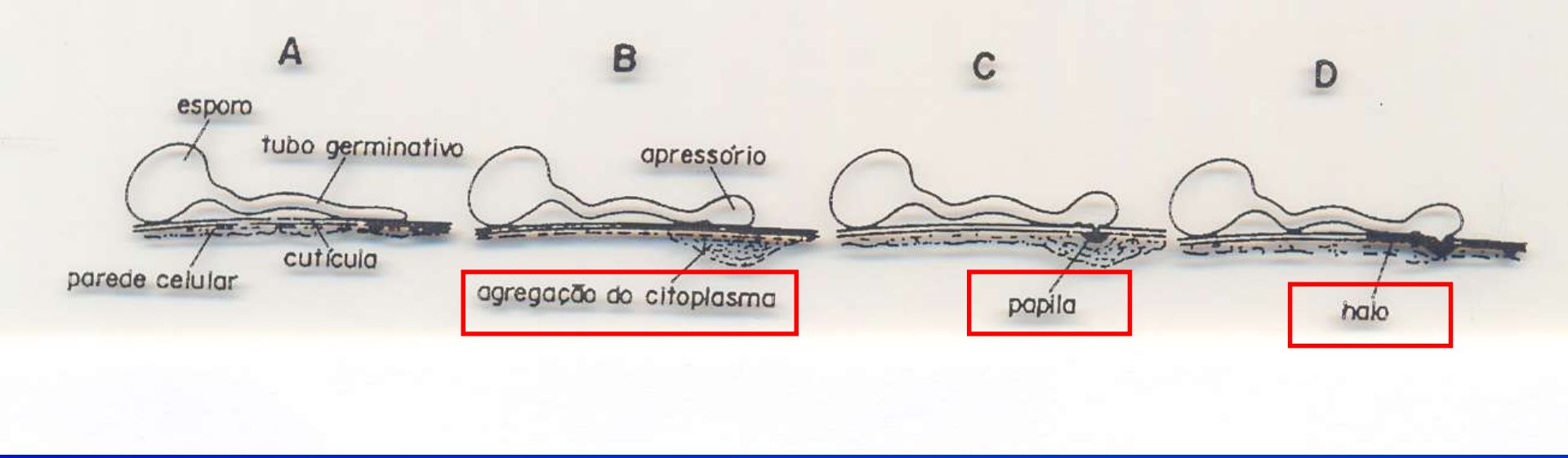



**Fig. 7** Putative model depicting deposition of polysaccharides and phenolics in effective and ineffective papillae during the barley–*Blumeria graminis* f. sp. *hordei* interaction. AX, arabinoxylan; FA, ferulic acid.

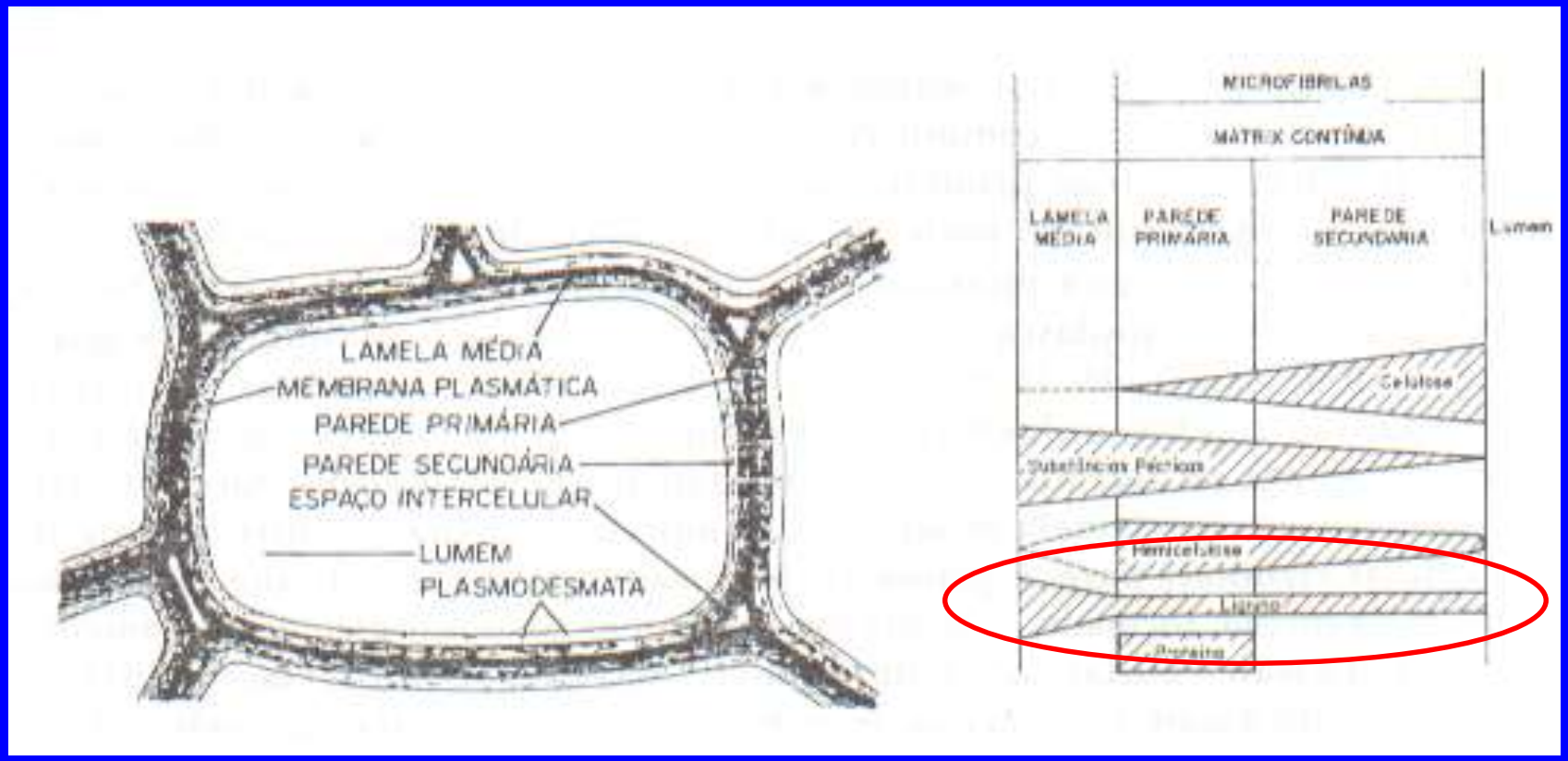
# ESTRUTURA DE DEFESA (BARREIRA) CELULAR



- Agregação citoplasmática
- Halos
- Papilas
- Lignificação

# LIGNIFICAÇÃO

- Ocorre: citoplasma em degeneração / depósitos extracelulares / paredes celulares
- Lignina: componente da parede celular
- Importante: lamela média, paredes

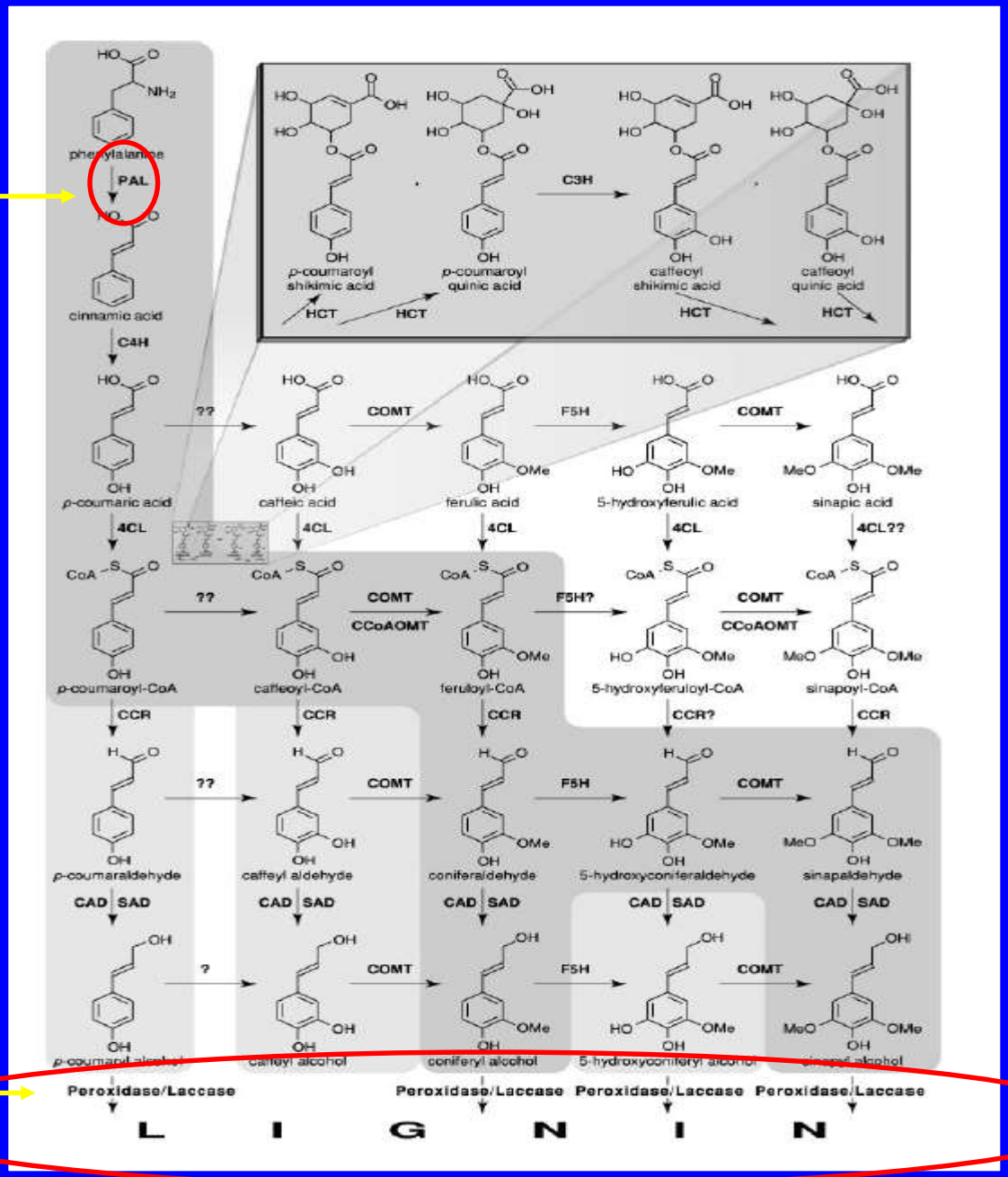


Fenilalanina amônia-liase (PAL)

Polímero tridimensional = unidades de fenil propano

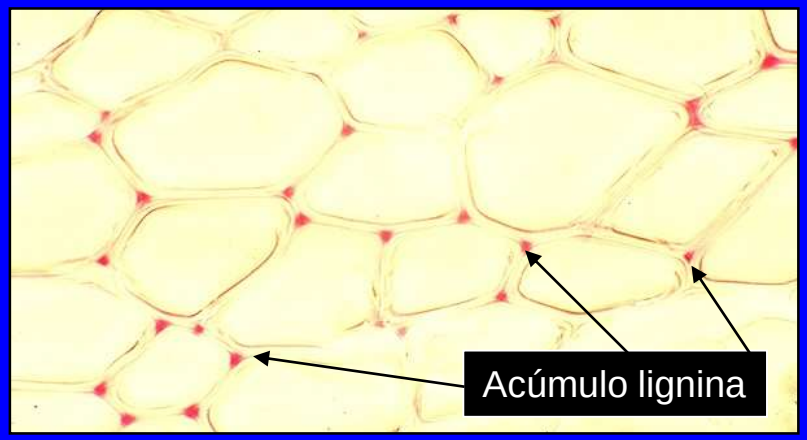
Polimerização - oxidação de hidroxilas dos grupos fenólicos pela peroxidase

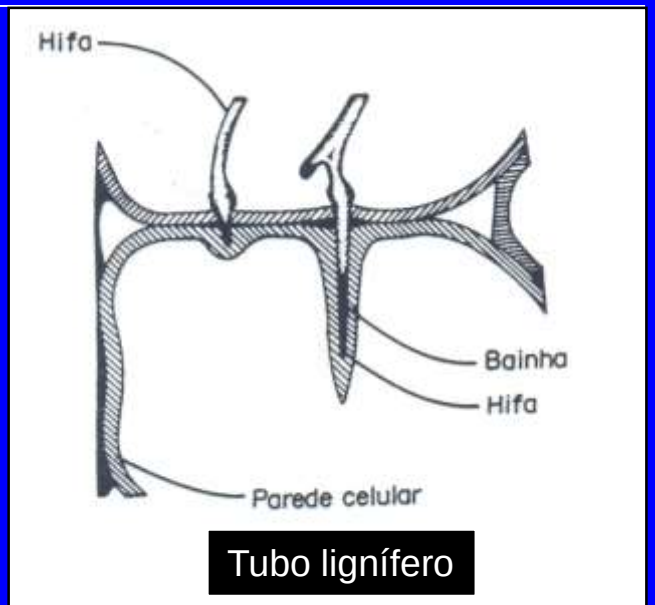
Peroxidase



# LIGNIFICAÇÃO

- Resistência mecânica
- Barreira contra movimento de nutrientes (Hospedeiro → Patógeno)
- Barreira contra movimento de toxinas / enzimas (Patógeno → Hospedeiro)
- Precursores: tóxicos, lignificação do patógeno (intercelular)

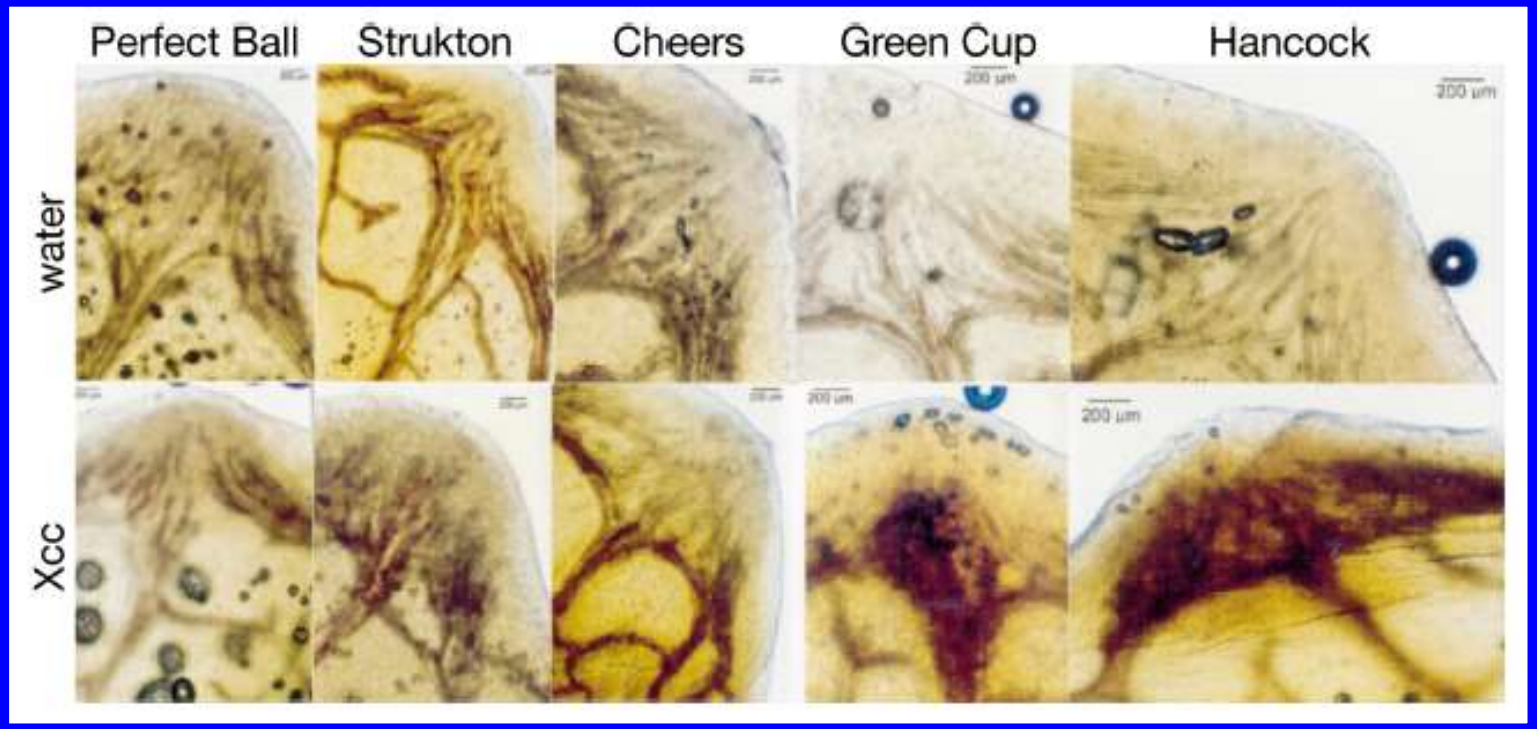



Tubo lignífero

# LIGNIFICAÇÃO

## *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (repolho)



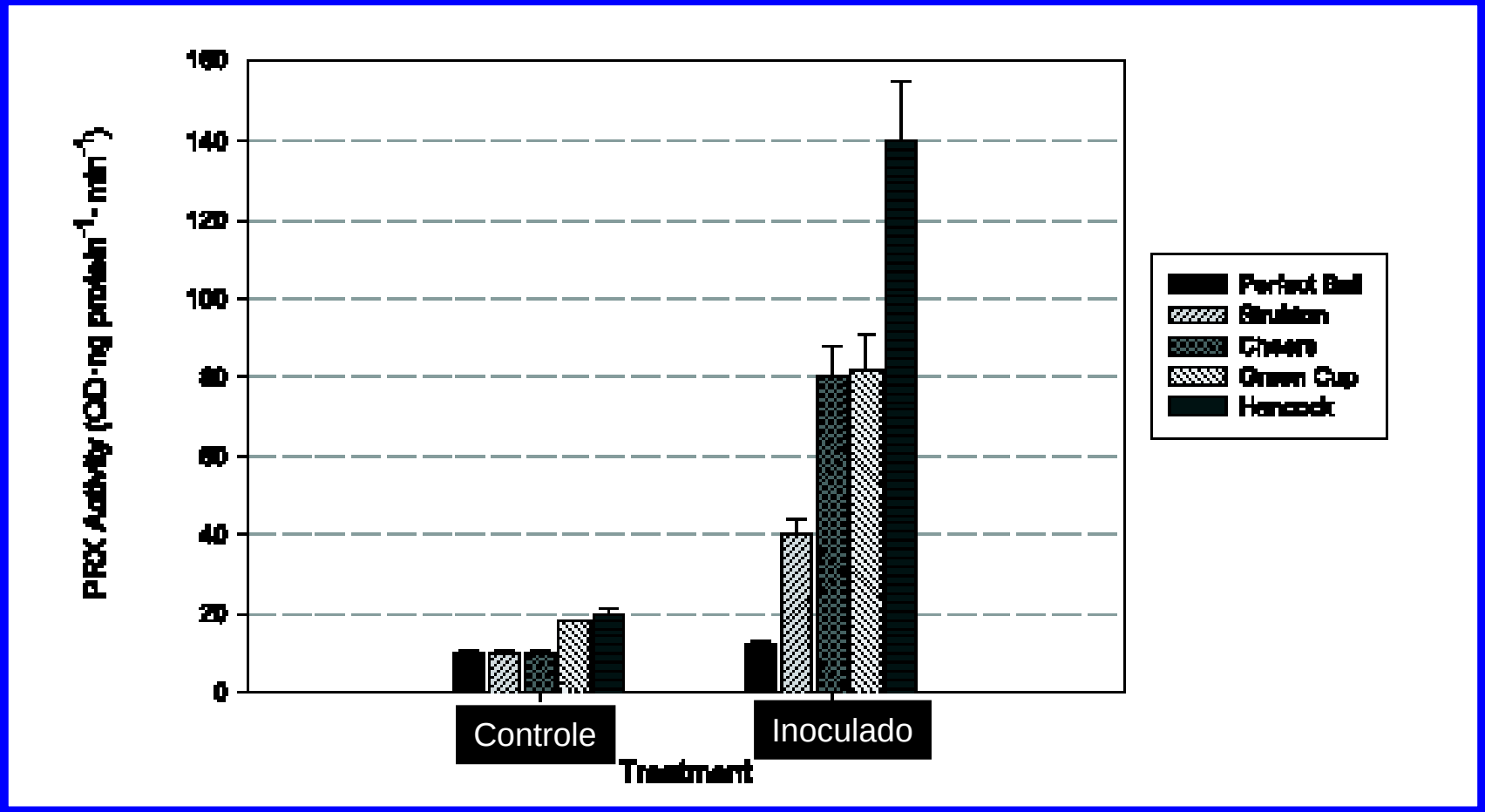

- PB e S – Suscetíveis
- C – Parcialmente resistentes
- GC e H - Resistentes

Hidatódios

(Gay, P.A. & Tuzun, S. Canadian Journal of Botany 78: 1144–1149, 2000)

# Lignificação (atividade peroxidase)

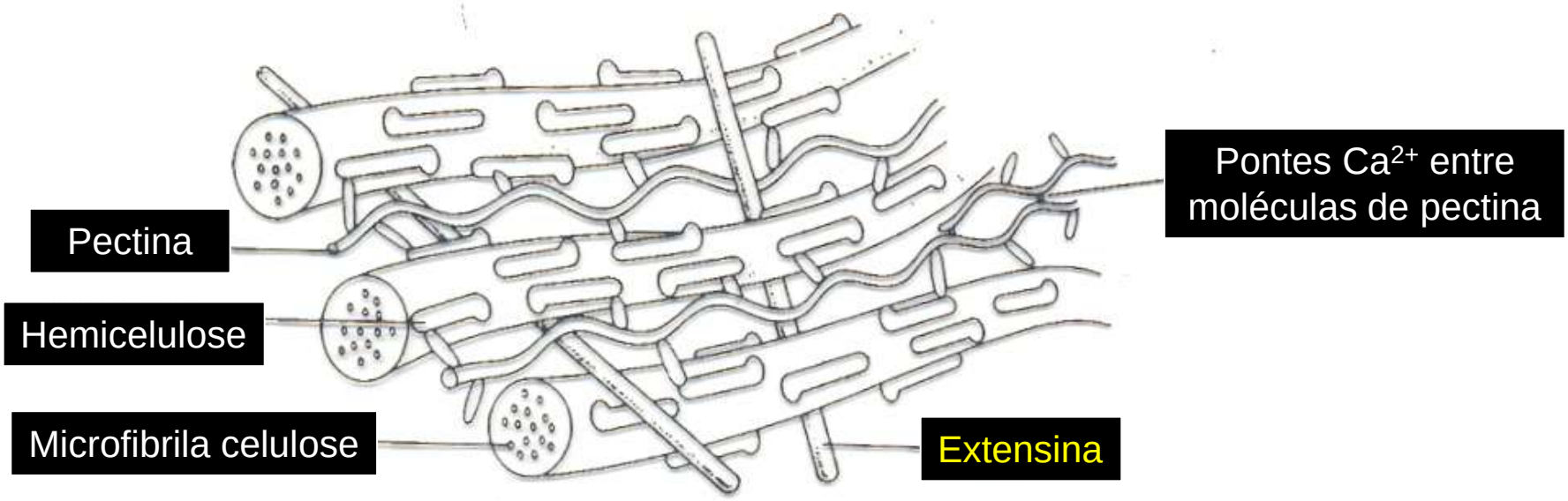
*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (repolho)




(Gay, P.A. & Tuzun, S. Canadian Journal of Botany 78: 1144–1149, 2000)

# Glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (HRGP) - extensinas

- Presentes na parede celular (geralmente parede primária)
- Podem estar presentes em papilas
- Função estrutural
- Insolúveis
- Contém galactose + arabinose



# ESTRUTURA DE DEFESA (BARREIRA) HISTOLÓGICA

- **Camadas de Cortiça**
- **Camada de Abscisão**
- **Tilose**

- **Camadas de Cortiça**
- **Camada de Abscisão**
- **Tilose**

# CAMADAS DE CORTIÇA

Podem ser formadas em resposta:

- Injúria Mecânica

- Presença de patógenos

# CAMADAS DE CORTIÇA

⇨ Manchas / lesões locais - fungos / bactérias

Mancha de micosferela

Morangueiro
X
*Mycosphaerella fragariae*

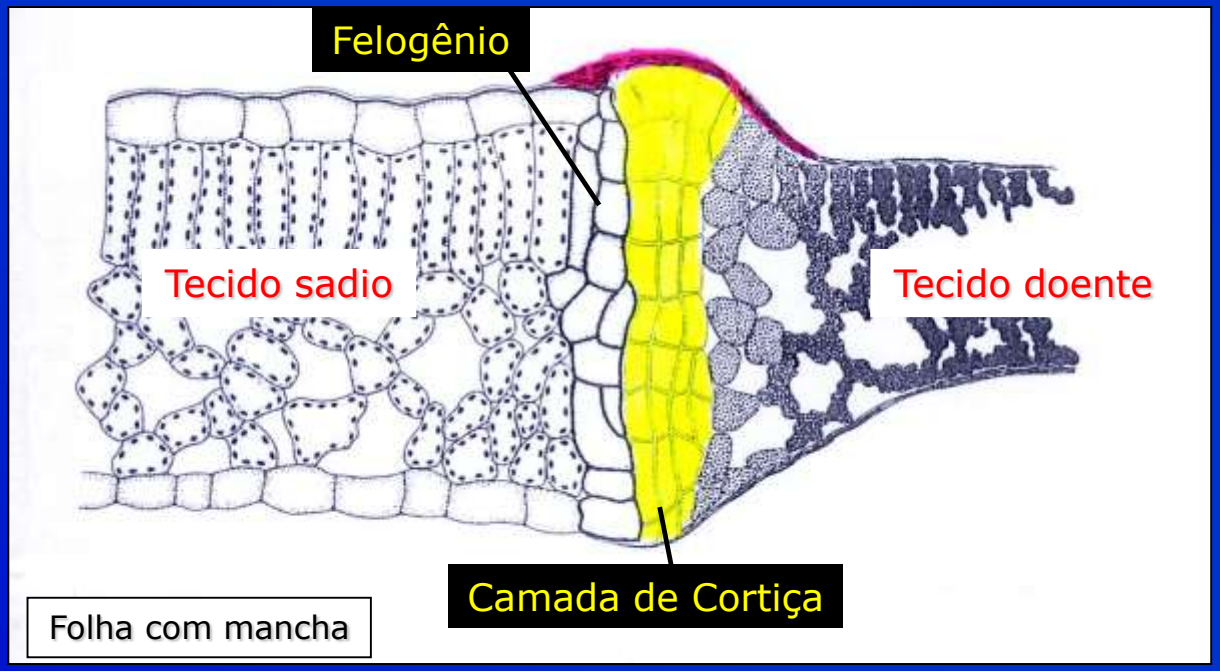
Sarna da macieira

Maçã
X
*Venturia inaequalis*

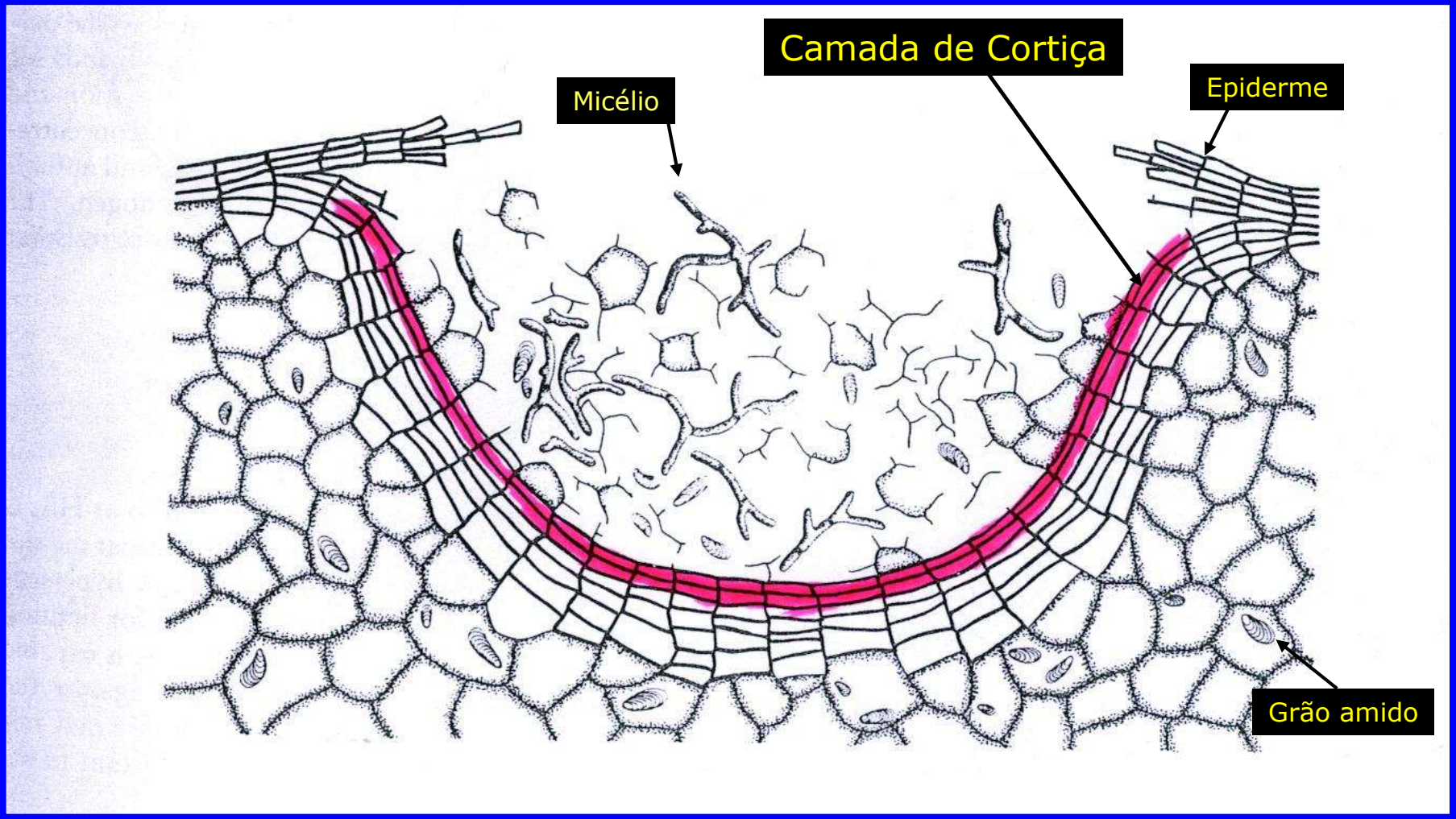
# CAMADAS DE CORTIÇA

- Camada de células suberosas
  (suberina – polímero insolúvel associado com ceras solúveis)

- Tecido morto
  - Impede invasão
  - Impede fluxo de nutrientes
  - Impede fluxo metabolitos tóxicos (patógeno ⇨ planta)



# CAMADAS DE CORTIÇA




Formação de camada de cortiça em tubérculo de batata após infecção com *Rhizoctonia* sp

- Camadas de Cortiça
- Camada de Abscisão
- Tilose

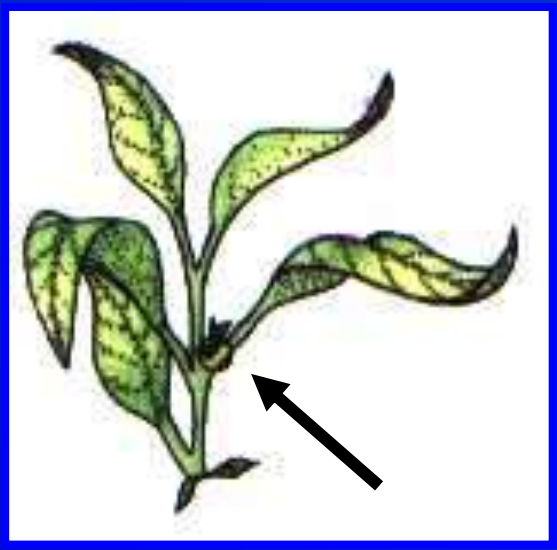
# CAMADA DE ABSCISÃO

Podem ser formadas:

- Processo natural
  - Poda
  - Fenologia
  - Colheita
- Presença de patógeno

Camadas de células separadas por dissolução da lamela média

Abscisão do órgão



Camada de abscisão

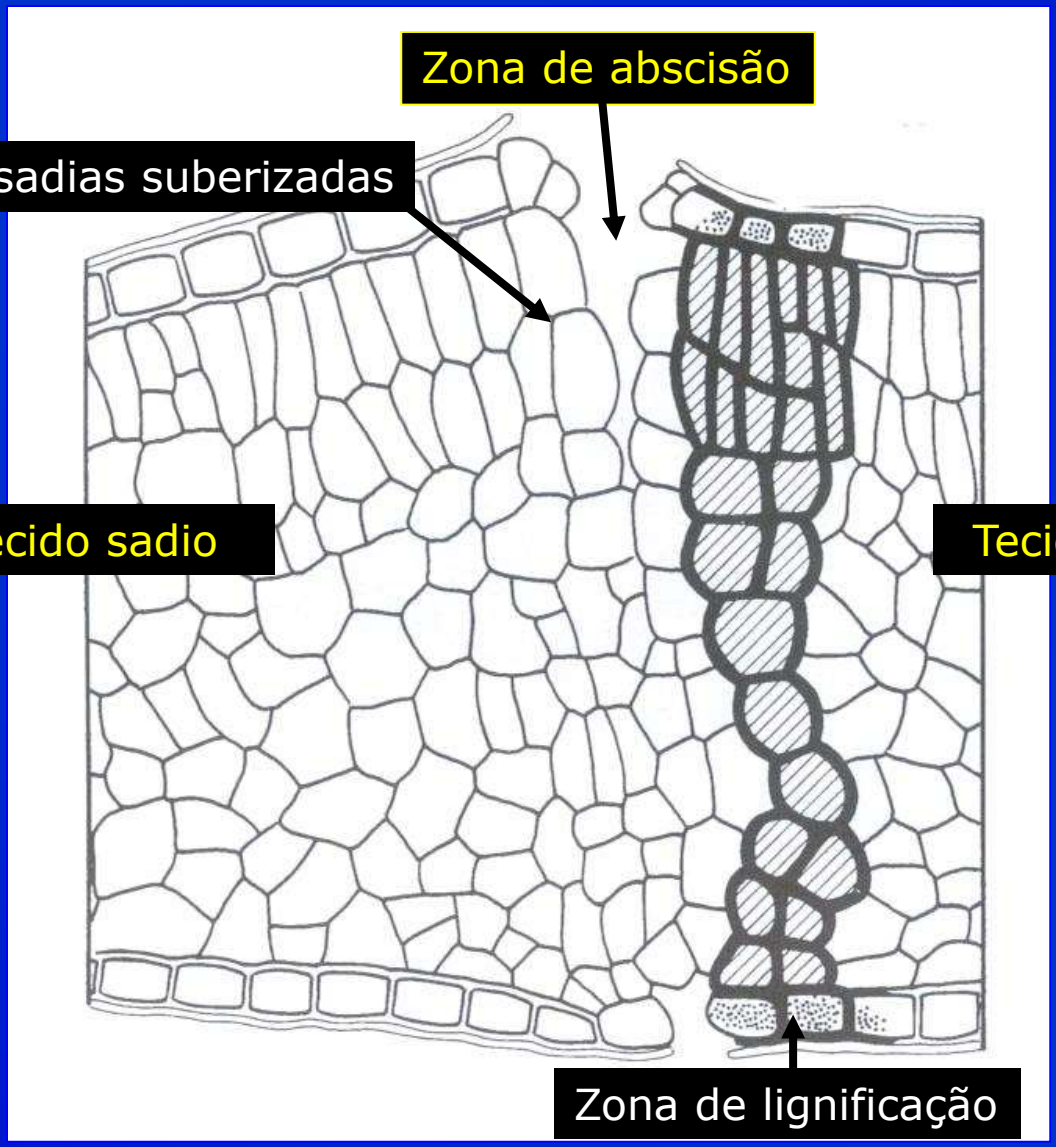
# CAMADA DE ABSCISÃO

⇨ Abscisão de folhas, frutos e/ou flores

⇨ Interação Patógeno X Hospedeiro

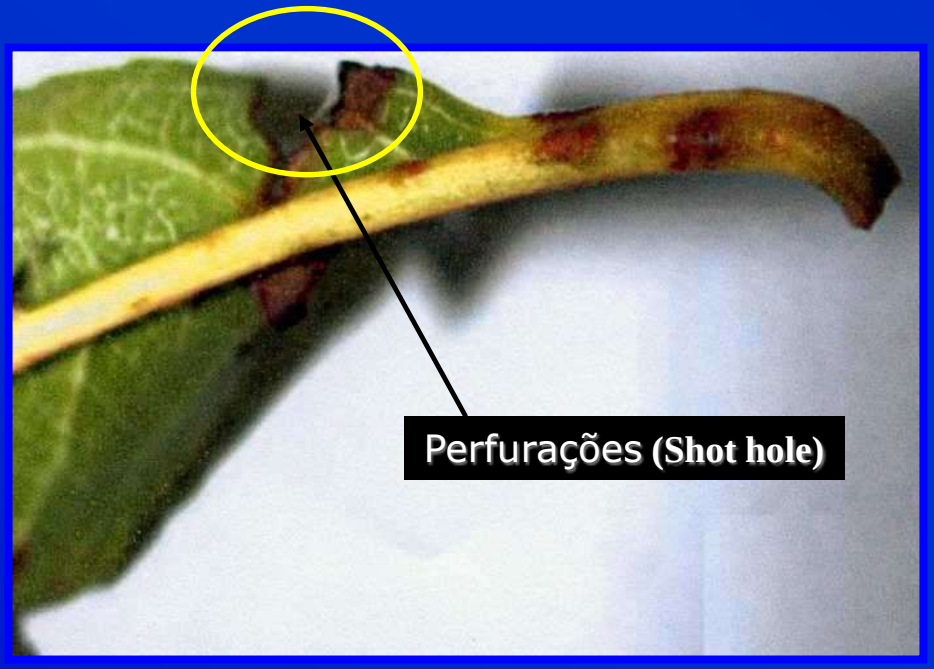
- Sítios de Infecção
- Camadas de células separadas por dissolução da lamela média
- Enzimas celulolíticas e pectinolíticas
- Proteção do hospedeiro
    - Invasão sistêmica
    - Metabólitos tóxicos

# CAMADA DE ABSCISÃO




Camadas de células separadas por dissolução da lamela média

# CAMADA DE ABSCISÃO



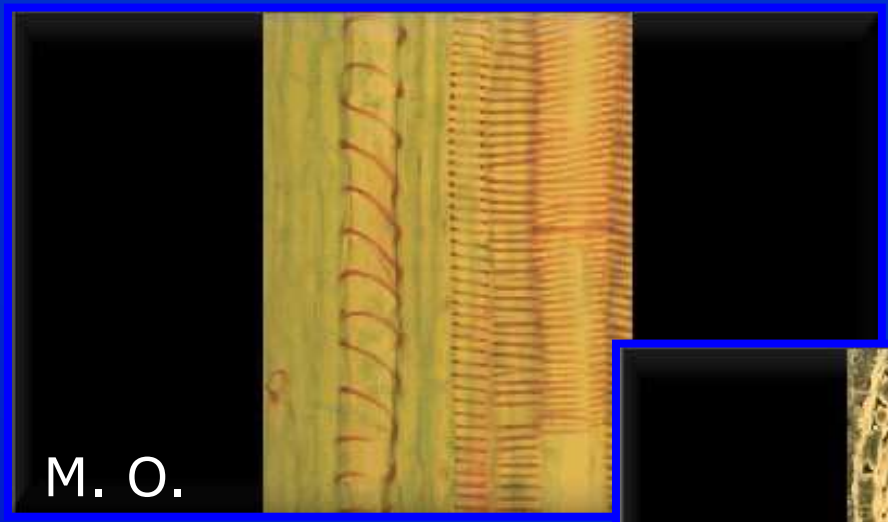

Pessegueiro
X
*Cladosporium carpophilum*

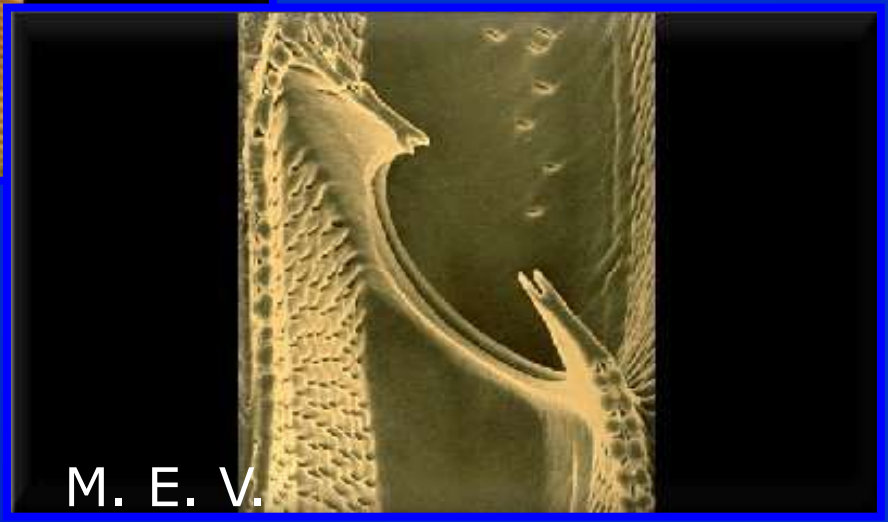
Ameixeira
X
*Xanthomonas campestris* pv. ipruni

- Camadas de Cortiça
- Camada de Abscisão
- **Tilose**

# TILOSES

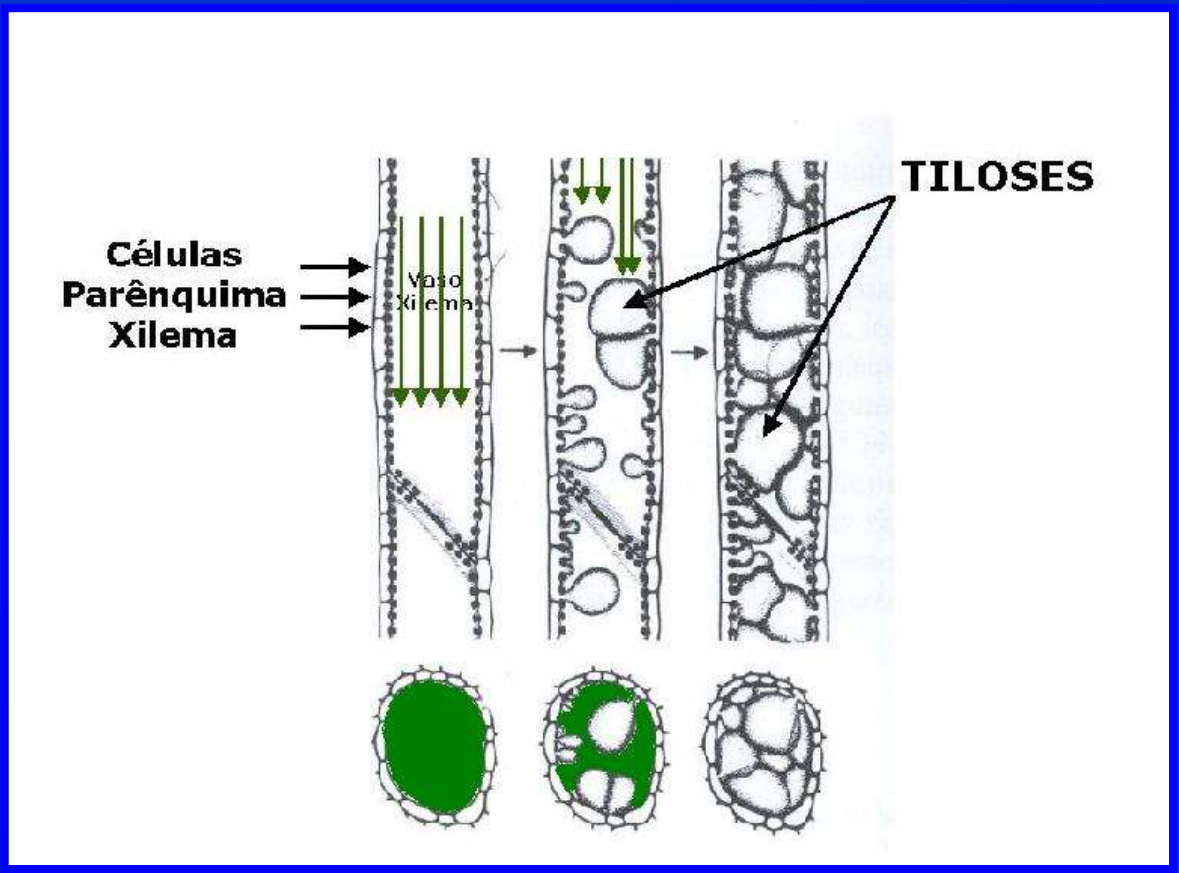
- Vasos lenhosos (xilema)
- Situações de estresse, envelhecimento e invasão por patógenos vasculares



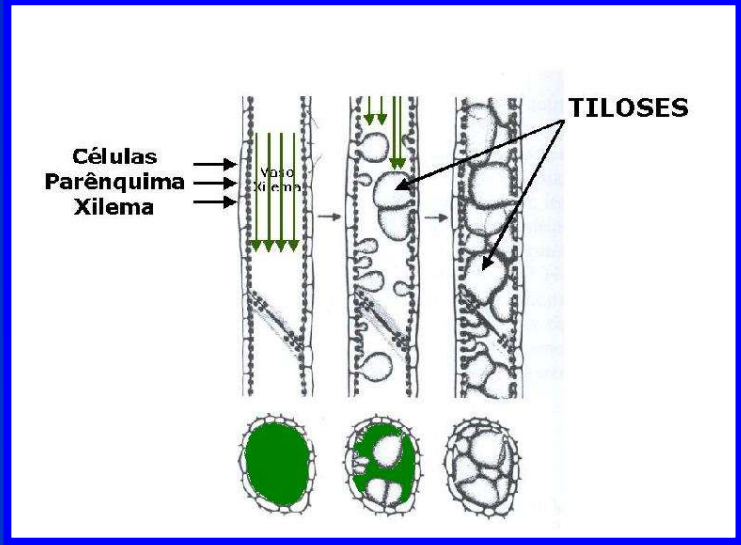



# TILOSES

- Células parenquimáticas (xilema) emitem porções do protoplasma para o interior dos elementos condutores



# TILOSES

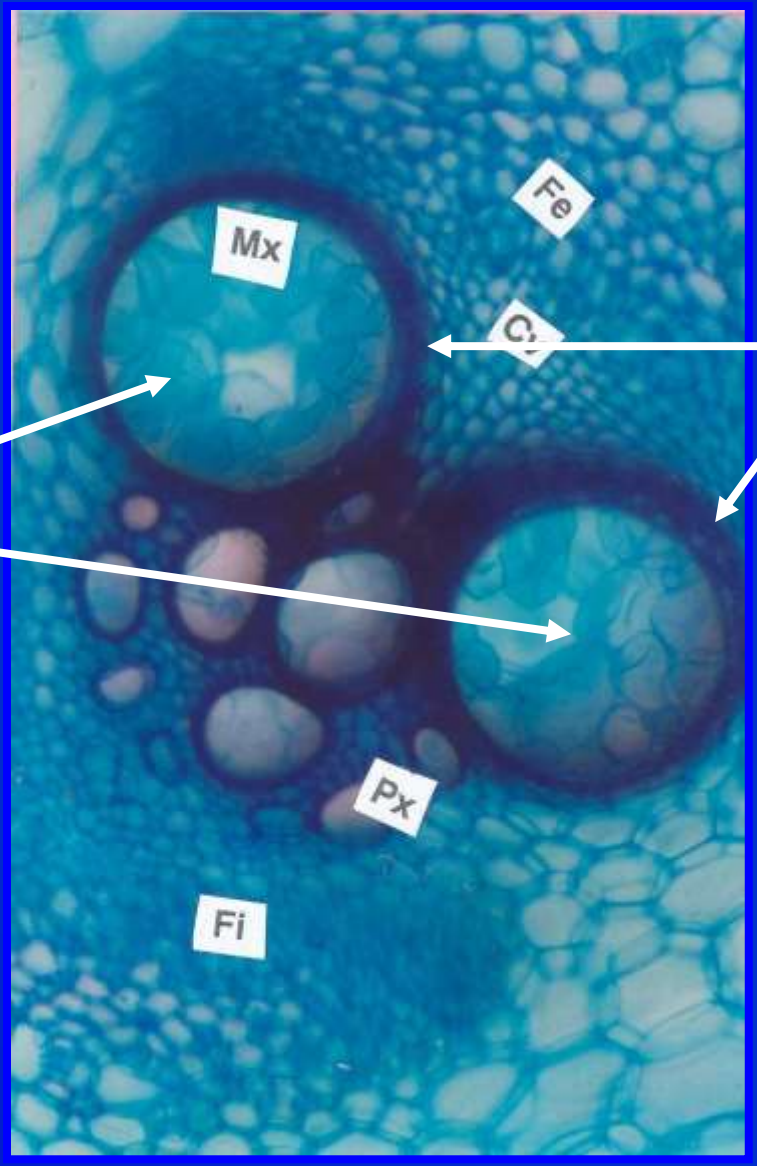



- Processo de hipertrofia

- Crescimento em tamanho e número

- Obstrução parcial ou total dos vasos
    - Invasão sistêmica
    * Acúmulo de terpenóides fungitóxicos
    - Transporte de água

# TILOSES




**Xilema**

**Tiloses**

# TILOSES

⇨ Resistência

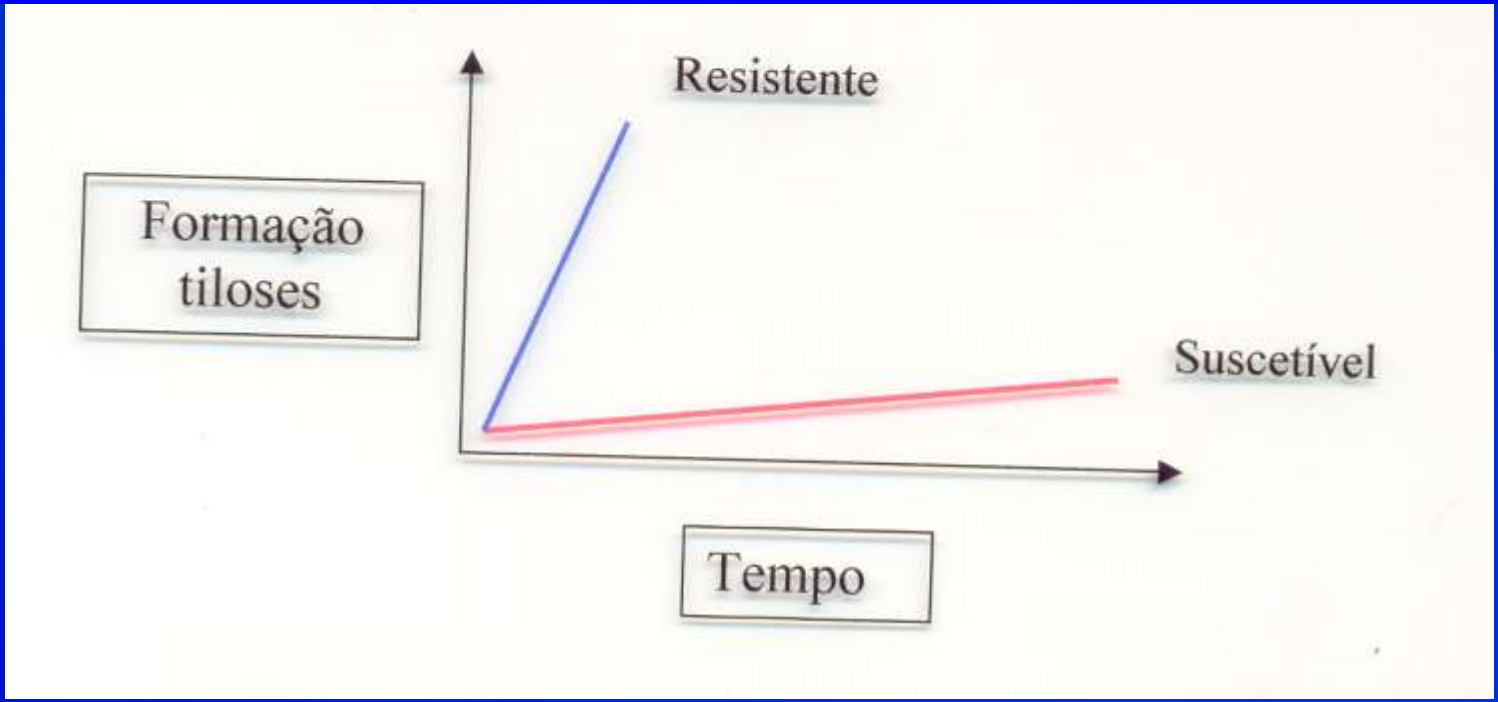
- Inicio da infecção
- Nas áreas próximas ao sítio

⇨ Interação

- Algodoeiro X *Verticillium albo-atrum*

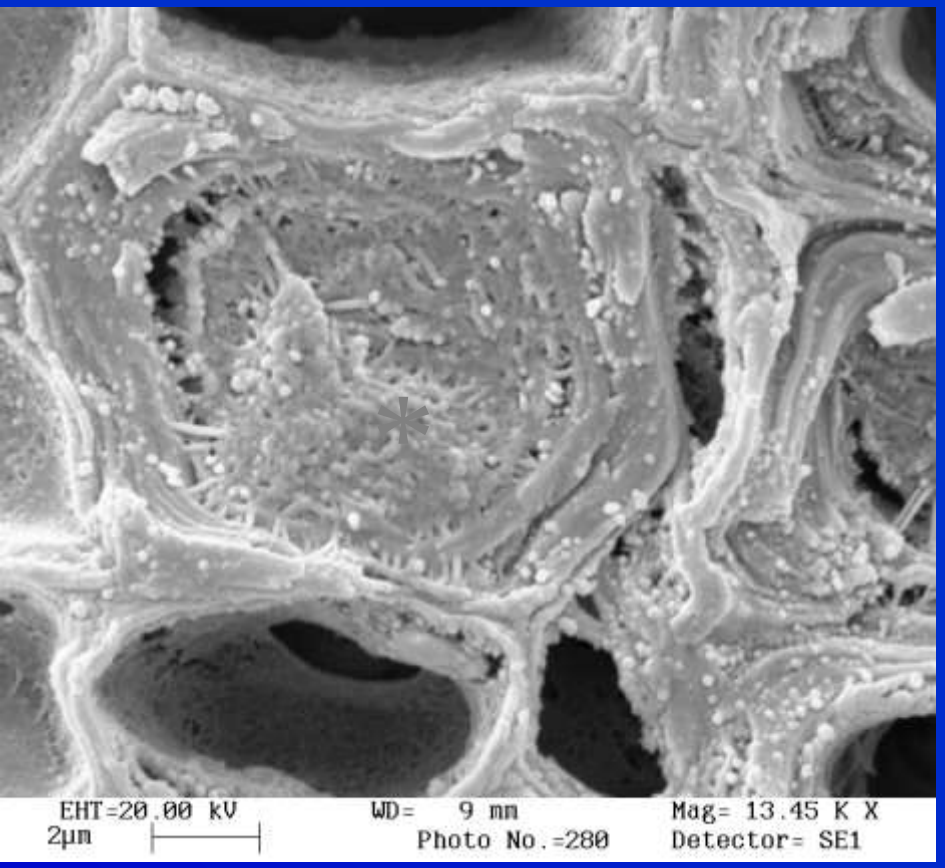
Cultivar resistente – aumento número de tiloses (sítio invasão raiz)

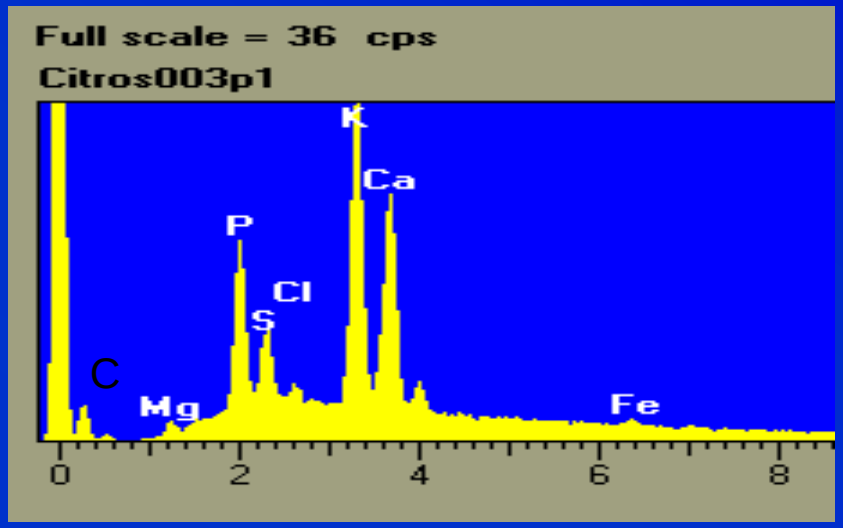
# TILOSES – resistência x suscetibilidade

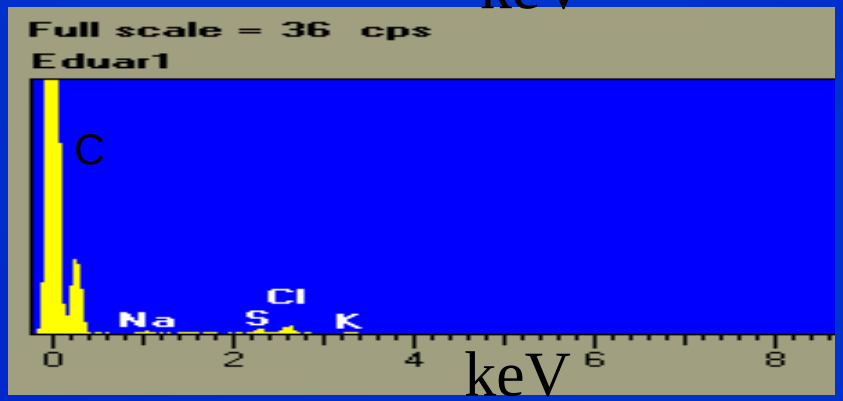


# Pecíolos de citros inoculados com a bactéria *Xylella fastidiosa* – vaso de xilema ocluído

Micro-análise de raio X




*** Vaso ocluído**