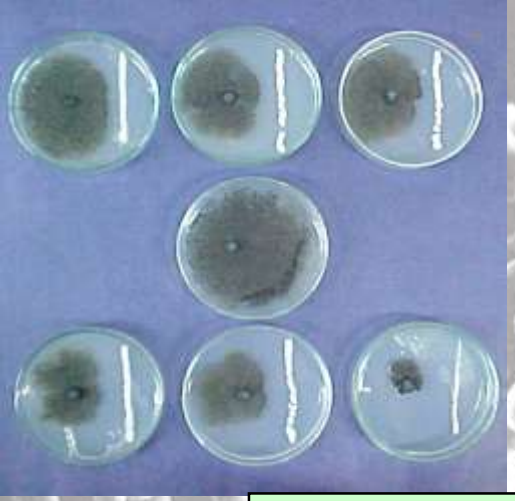
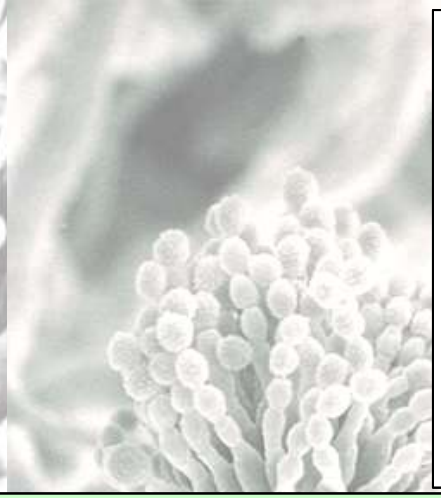
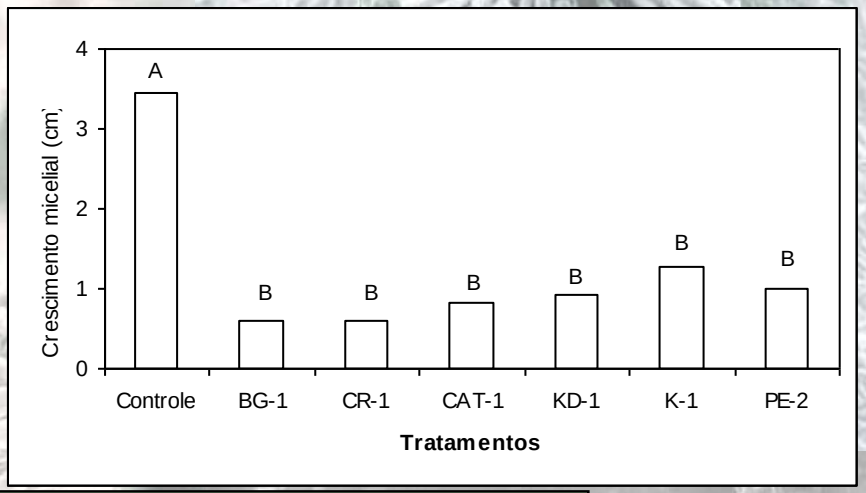
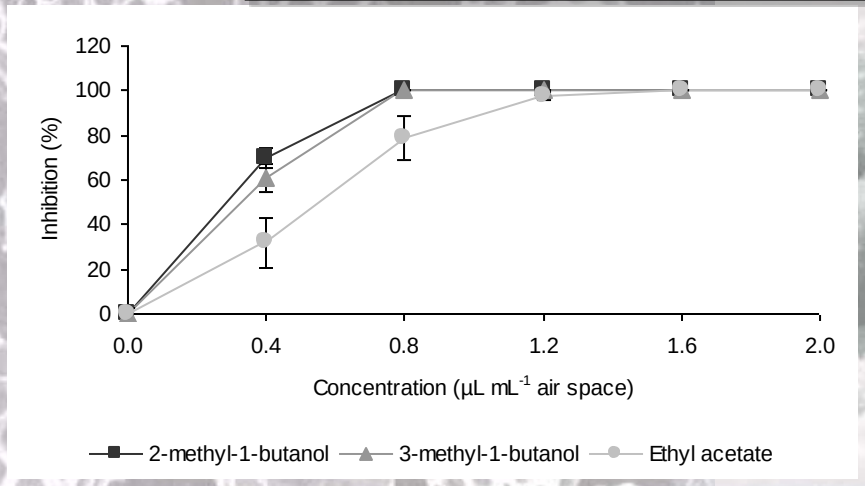




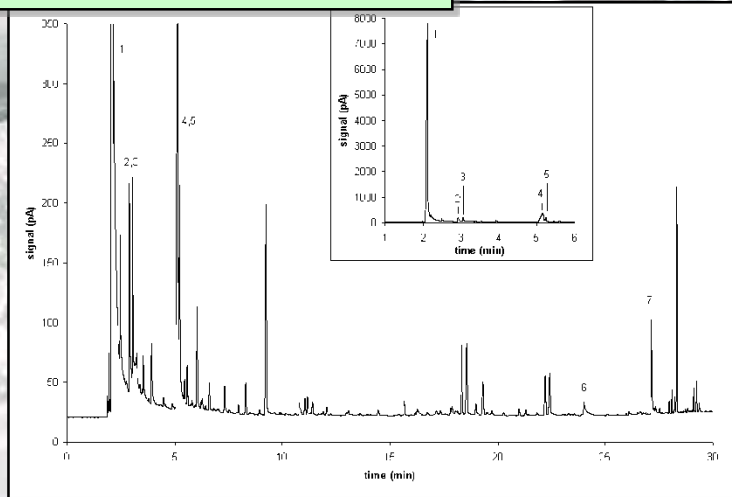


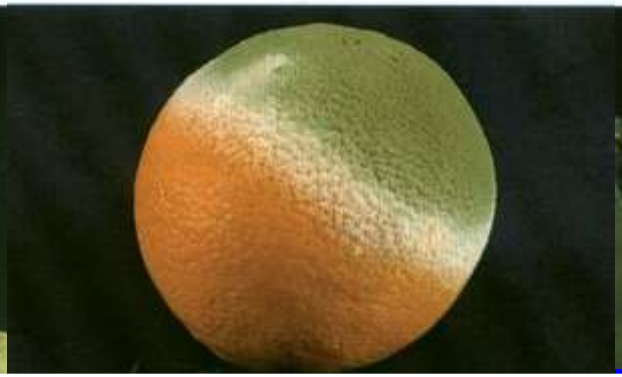
LFT - 5830

Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica



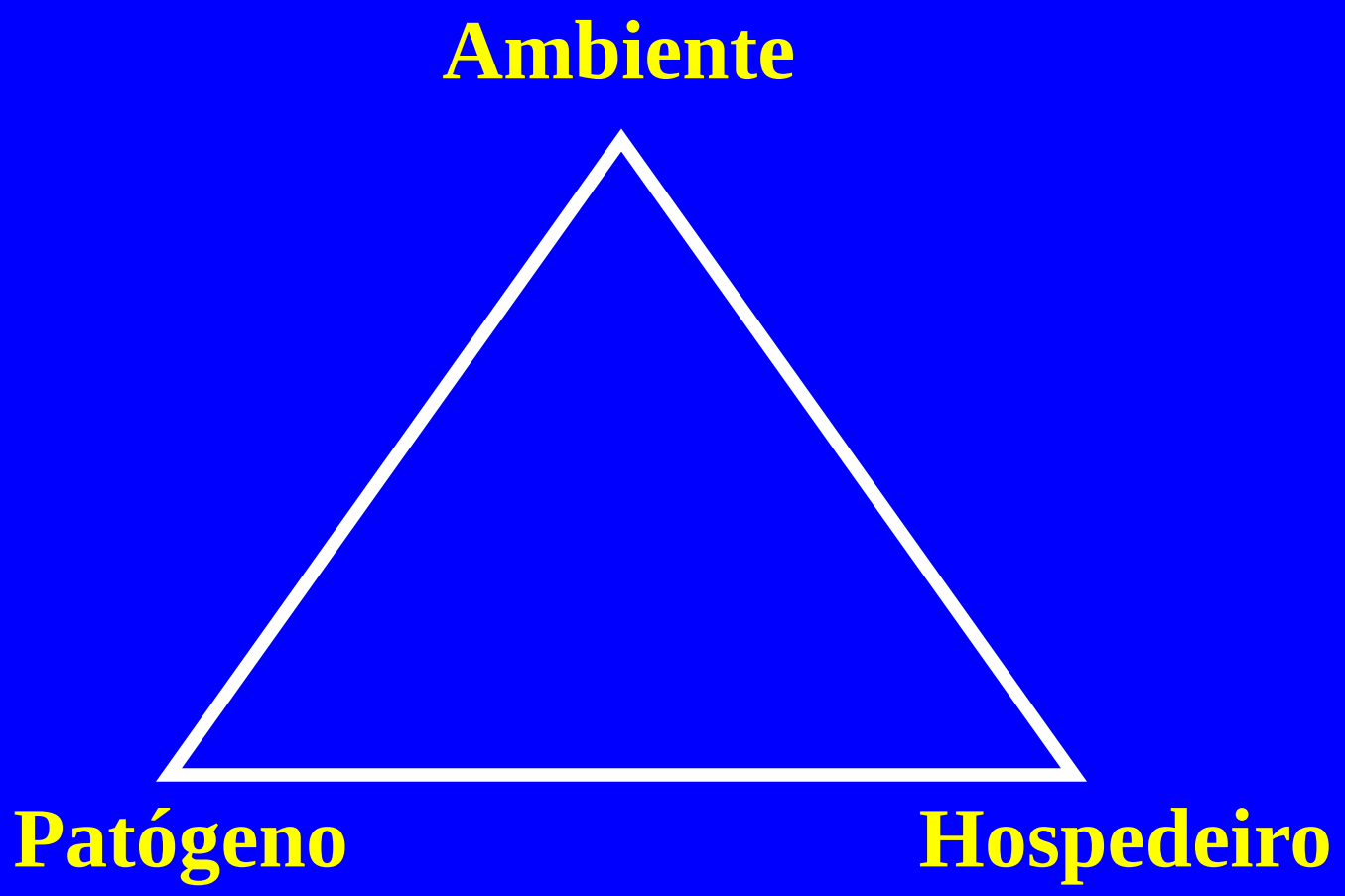
Pascholati, Sérgio F.



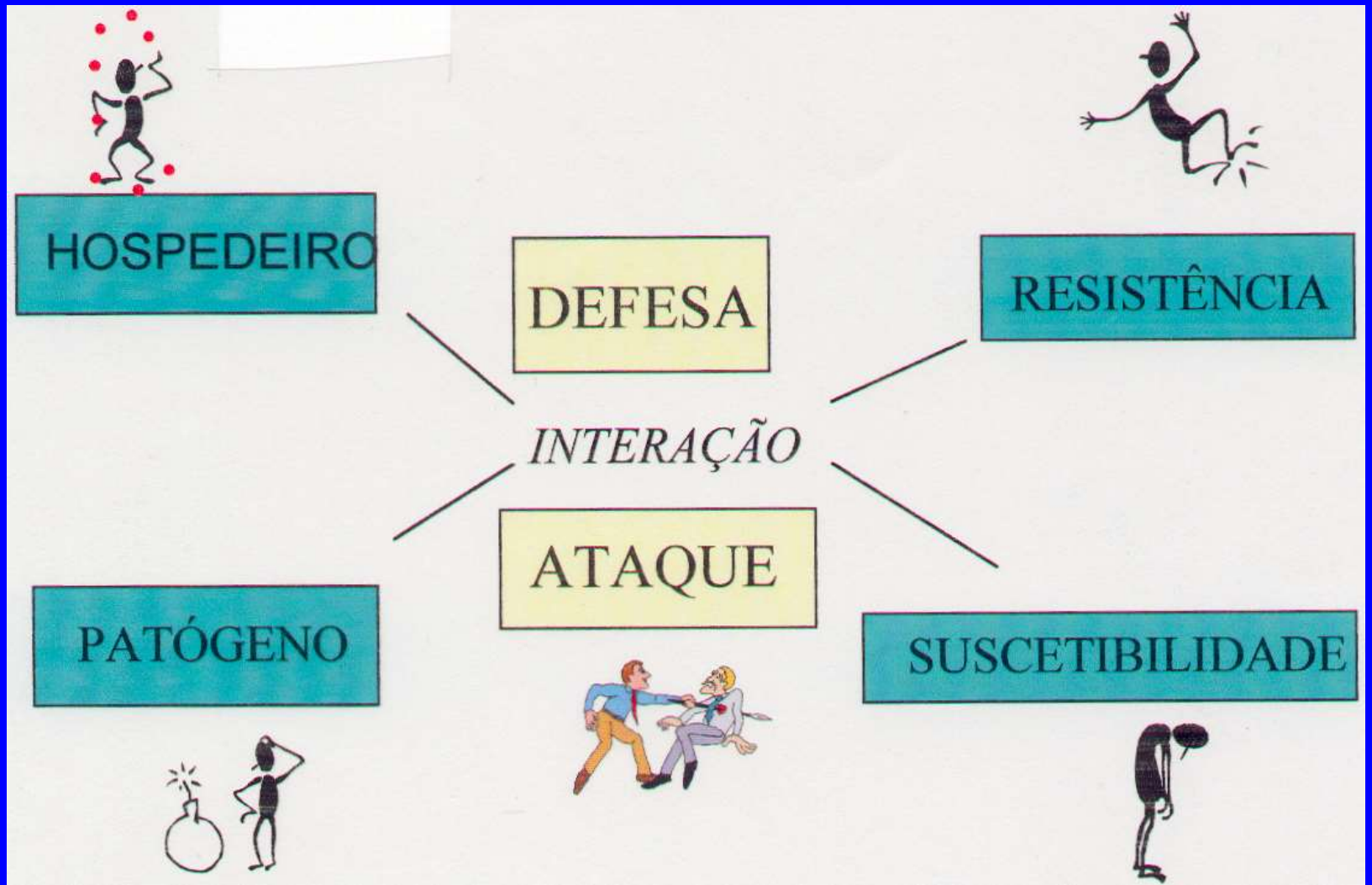


MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE RESISTÊNCIA DAS PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS

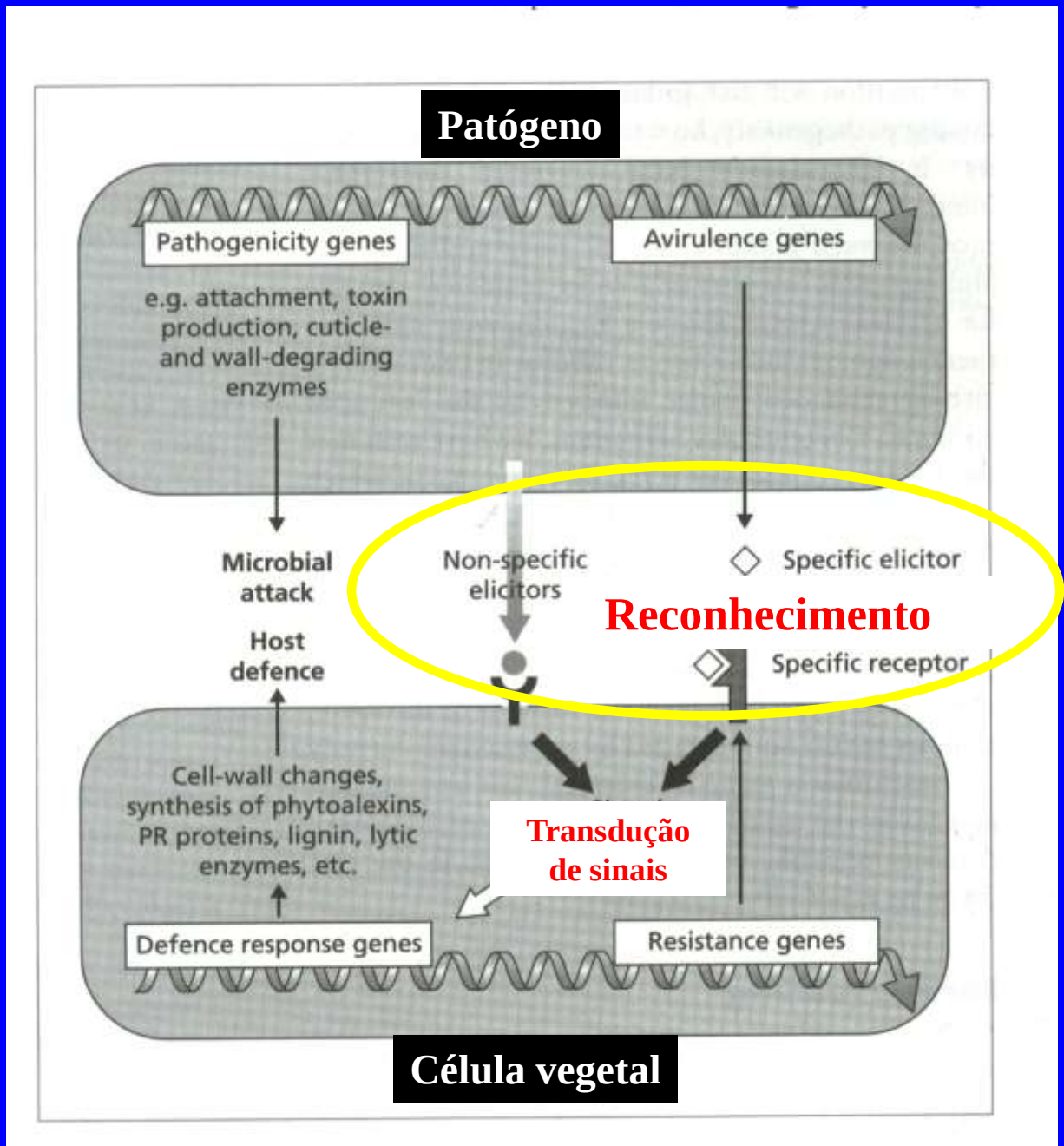
Componentes do triângulo da doença



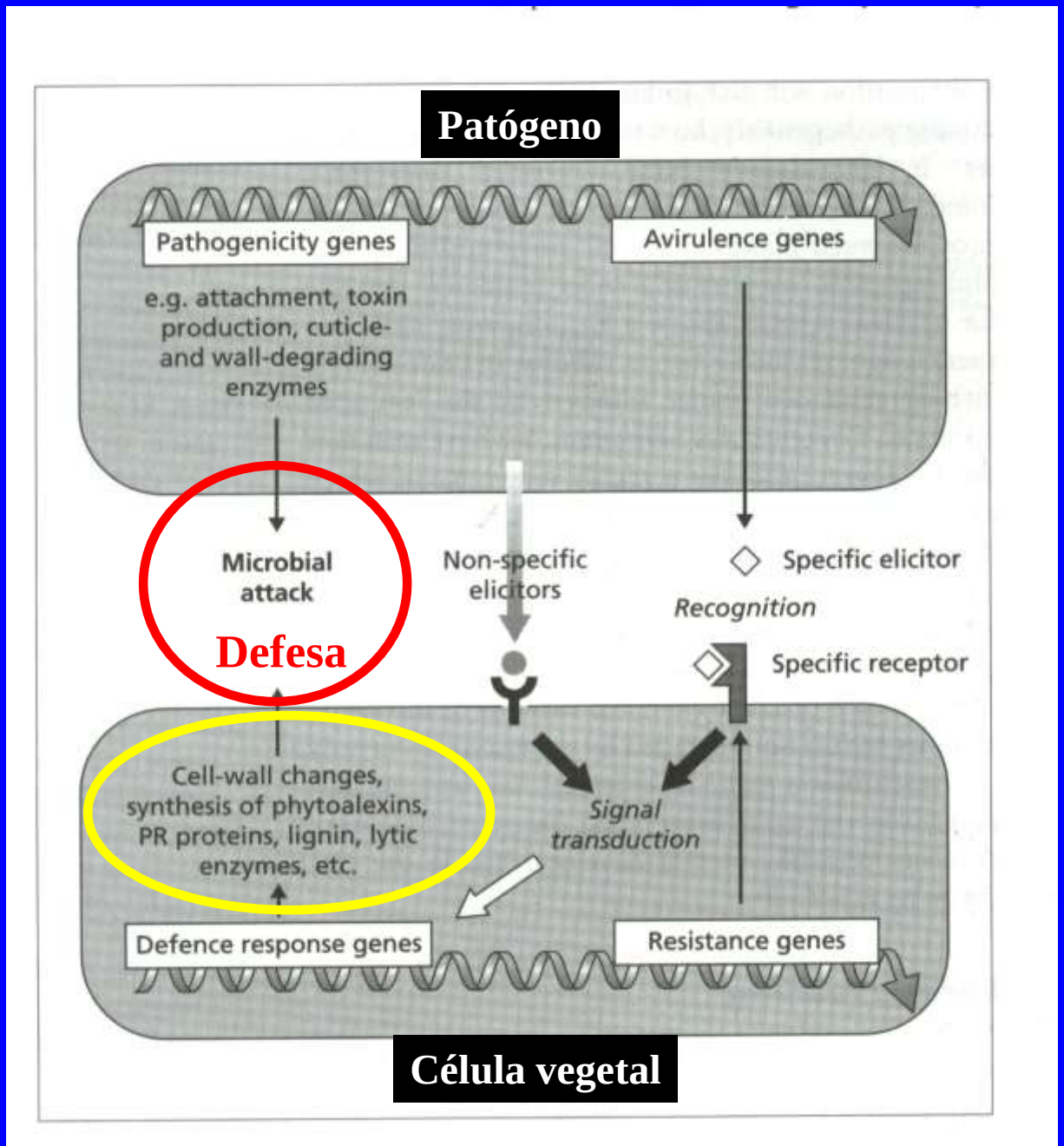
Interação planta
x
microrganismo patogênico



Patógeno x Planta



Patógeno x Planta



MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

(Fatores de resistência)

---

1) Estruturais (físicos) ⇒ Atraso na penetração

Pré-formados

- Cutícula
- Estômatos
- Pilosidade
- Vasos condutores

Pós-formados

- Halos
- Papilas
- Lignificação
- Camadas de cortiça
- Camada de abscisão
- Tiloses

2) **Bioquímicos** ⇒ Inibição do crescimento

⇒ Condições adversas para a sobrevivência

Pré-formados

- Fenóis
- Alcalóides
- Lactonas insaturadas
- Glicosídeos fenólicos
- Glicosídeos cianogênicos
- Fototoxinas
- Proteínas / peptídeos antimicrobianos

Pós-formados

- Fitoalexinas
- Espécies reativas de oxigênio
- Quitinases
- β-1,3-glucanases
- Proteínas-RP
- Peptídeos antimicrobianos

SUBSTÂNCIAS PRÉ- E PÓS-FORMADAS x RESISTÊNCIA

⇨ Presentes em concentracões adequadas nas partes invadidas

⇨ Forma acessível ao patógeno

Mudanças na [substância]

↓

Mudanças na expresão da doenca

Compostos pré-formados

Compostos pré-formados

Compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, presentes nas plantas antes do ataque do patógeno ou compostos que são produzidos após a infecção a partir de um precursor imediato.

Fitoantecipinas

Compostos pré-formados

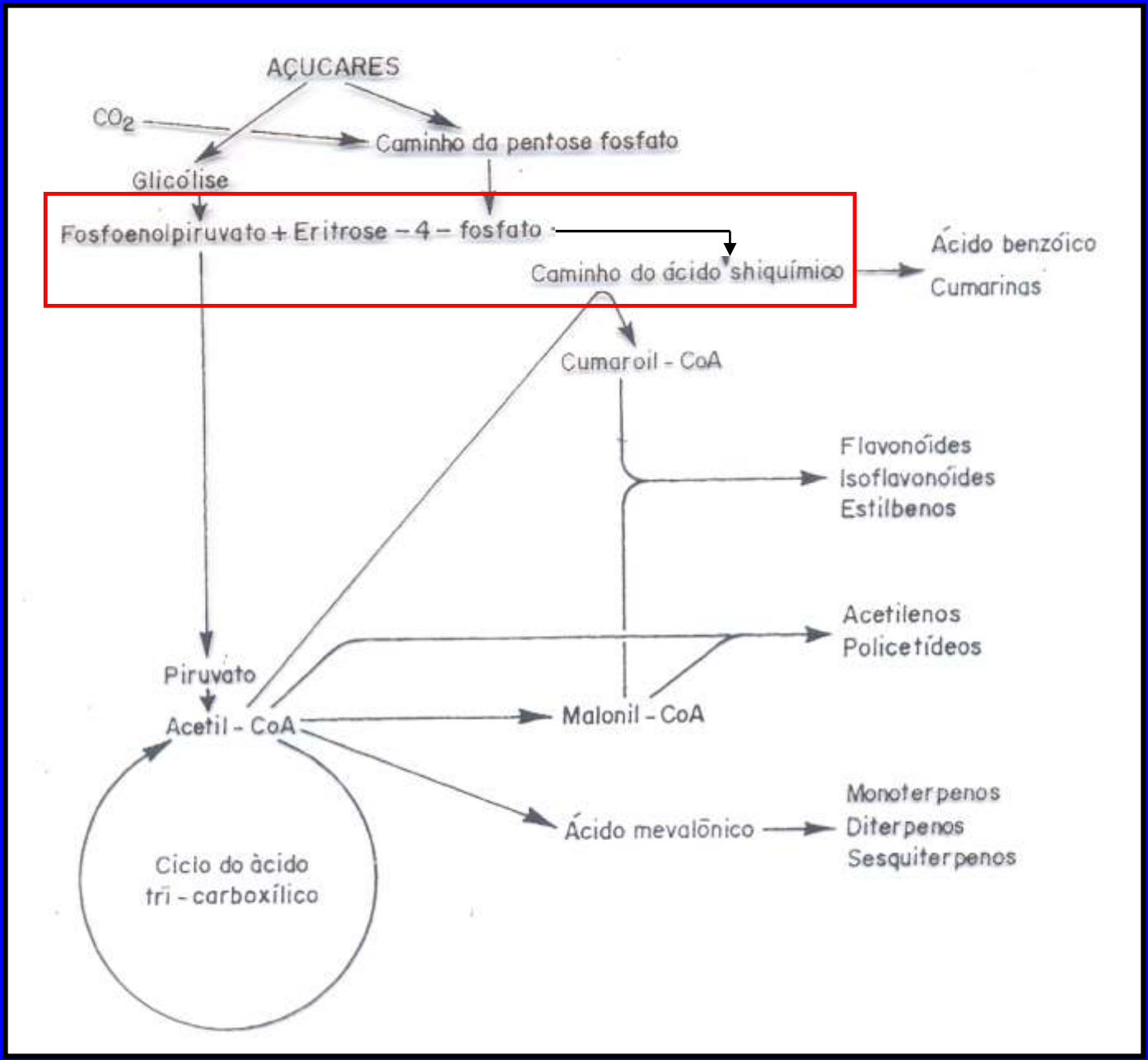
⇨ Presentes em altas concentrações (geralmente)

⇨ Convertidos em substâncias altamente tóxicas (devido infecção) (alguns casos)

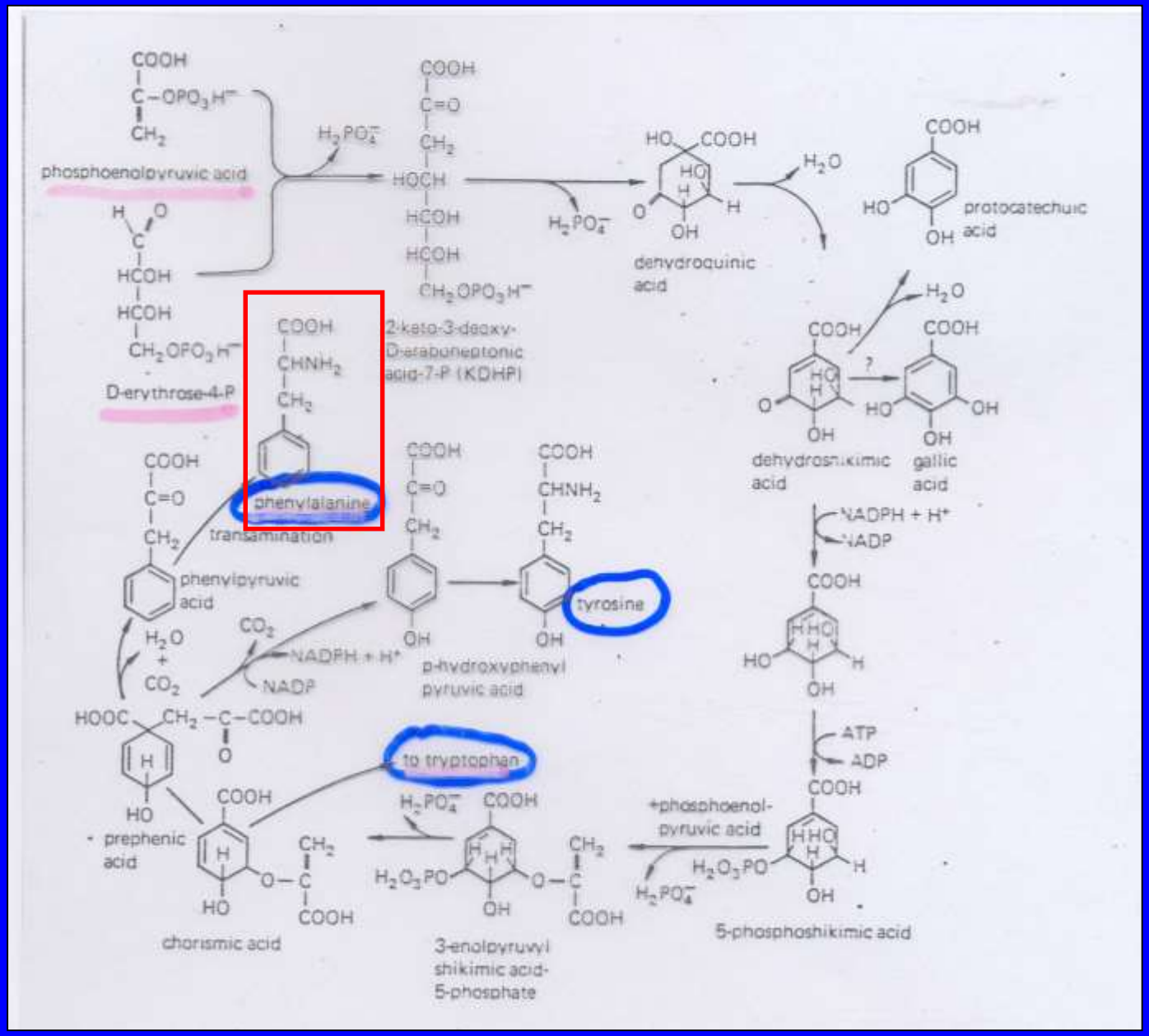
Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		
	Solanina	-	Saponina alcalóide
Batata	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

Caminhos metabólicos x síntese de compostos tóxicos



Caminho ácido shiquímico x amino ácidos



Fenilpropanóides - produtos do caminho metabólico

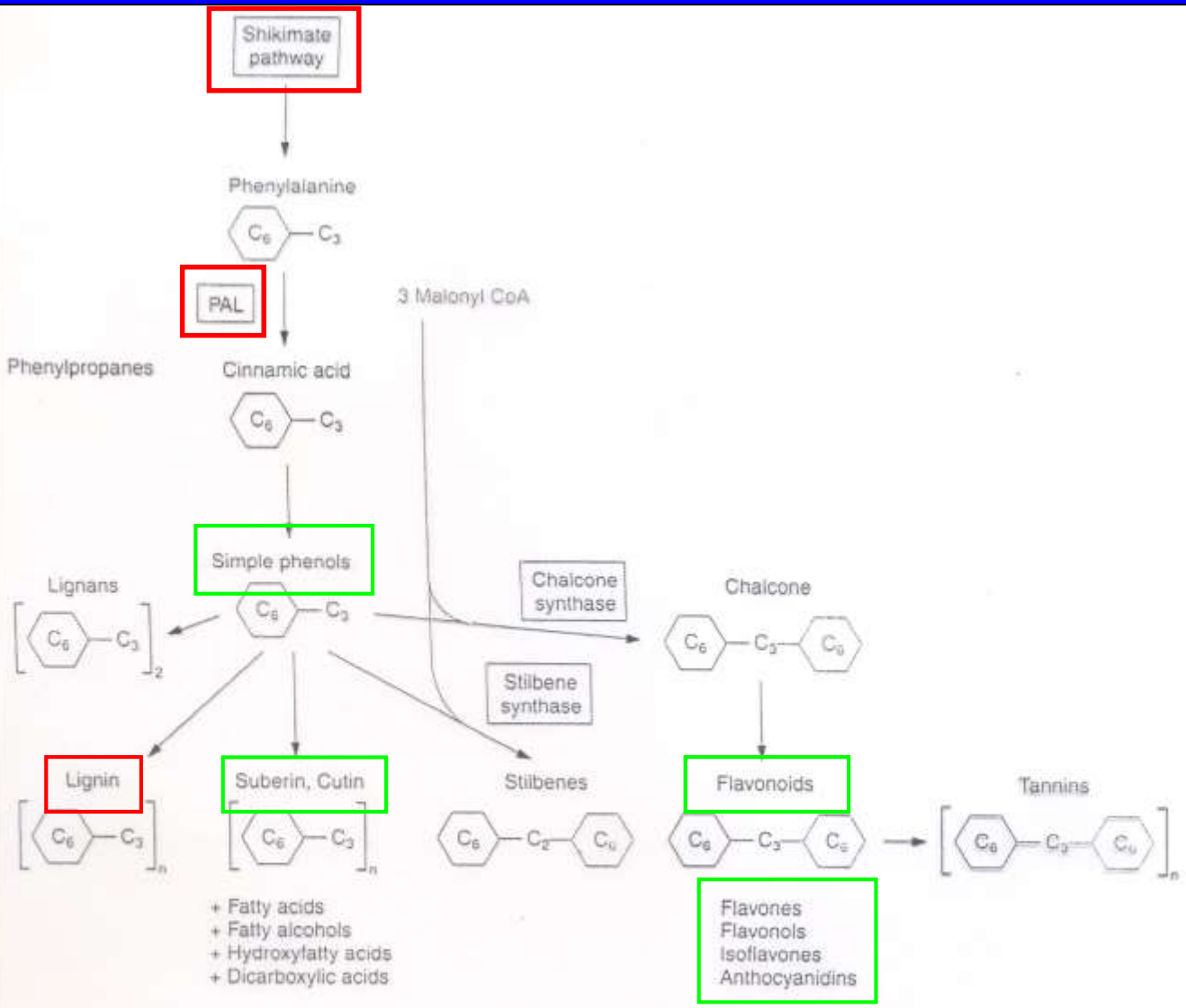
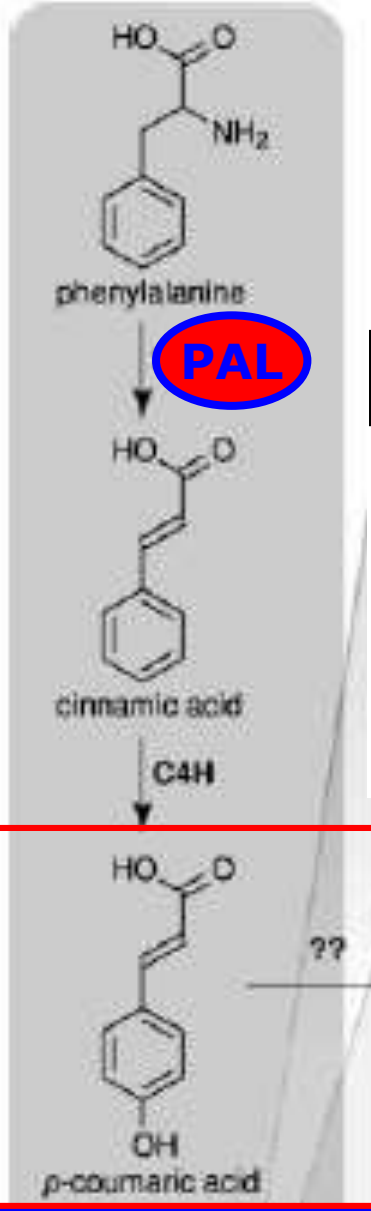
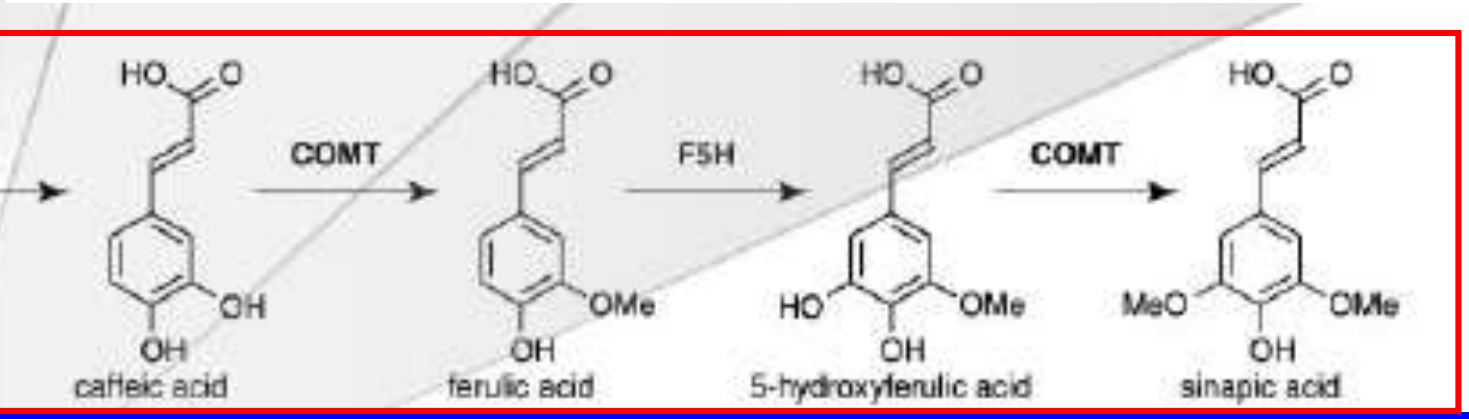


Figure 18.1 Overview of the products of phenylpropanoid metabolism. Cinnamic acid, formed from phenylalanine by phenylalanine ammonia lyase (PAL) is precursor for the various phenylpropanoids. In some plants 4-hydroxycinnamic acid is formed from tyrosine in an analogous way (not shown in the figure). An additional aromatic ring is formed either by chalcone synthase or stilbene synthase from three molecules of malonyl CoA.

Síntese de lignina

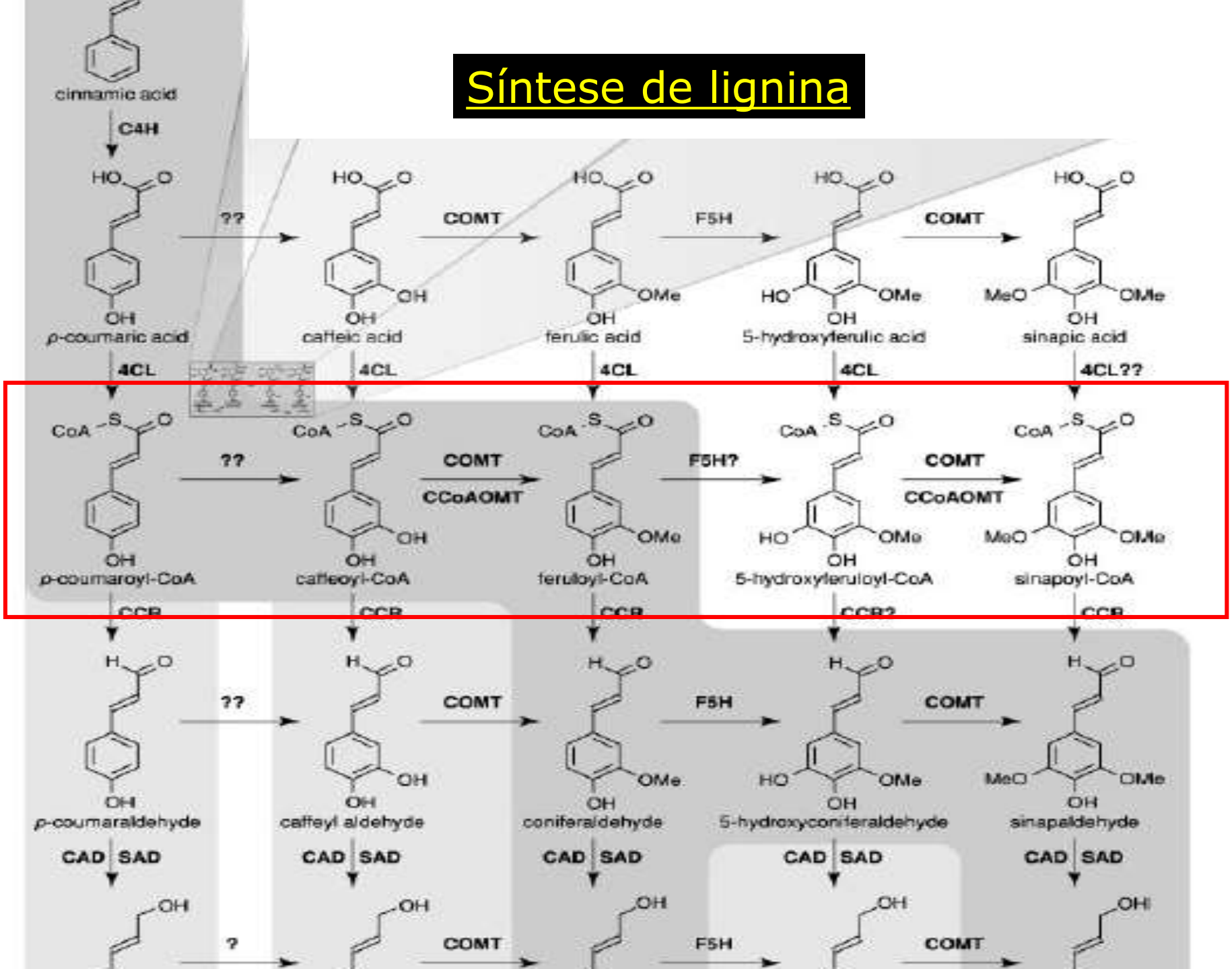
PAL – fenilalanina amônia-liase

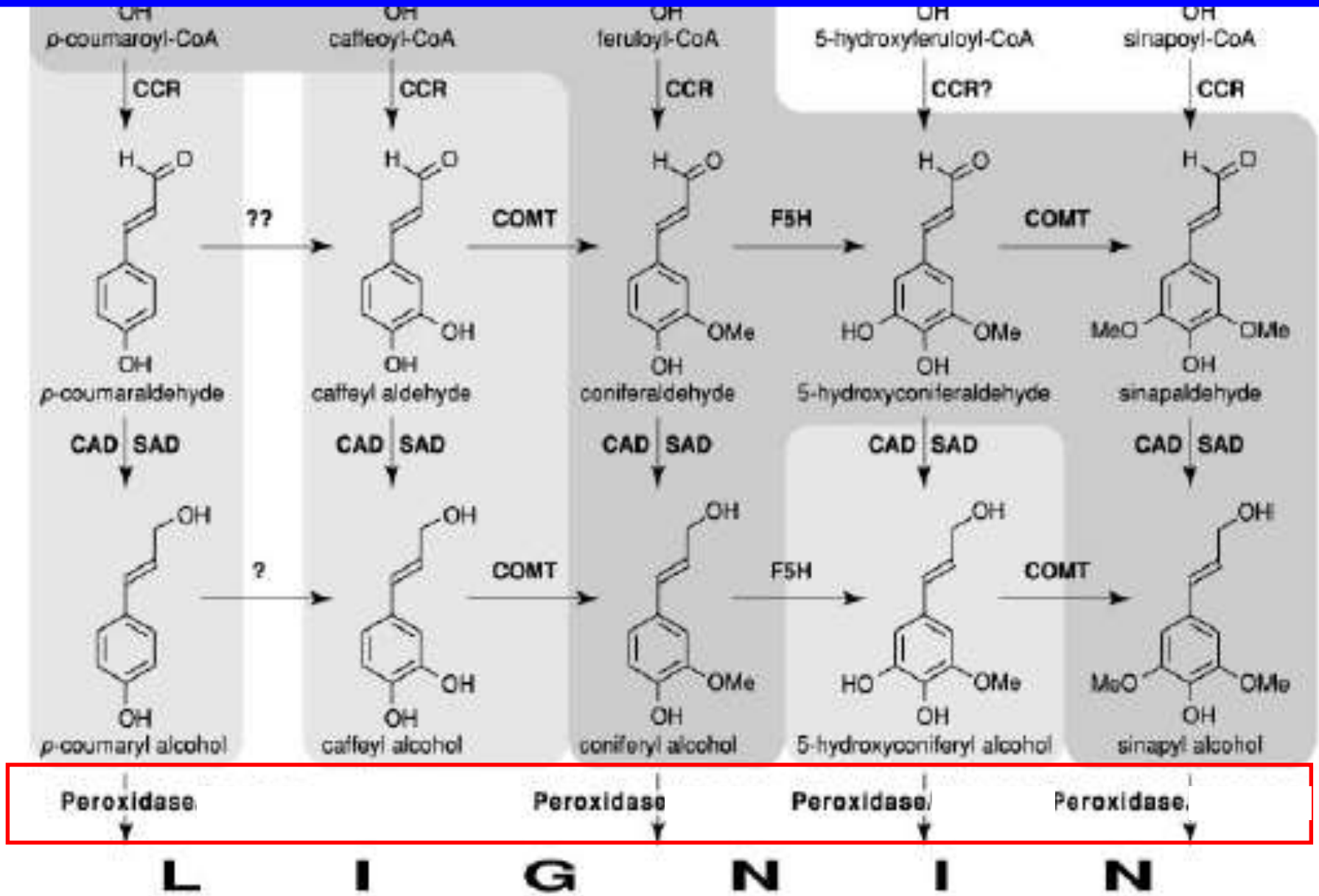




Lignina - polímero tridimensional formado por unidades fenilpropano

Síntese de lignina





<u>Polimerização</u> - oxidação de hidroxilas dos grupos fenólicos pela peroxidase

Derivados de fenilpropanóides – algumas funções nas plantas

Coumarins	Antibiotics, toxins against browsing animals
Lignans	Antibiotics, toxins against browsing animals
Lignin	Cell wall constituent
Suberin and cutin	Formation of impermeable layers
Stilbenes	Antibiotics, especially fungicides
Flavonoids	Antibiotics, signal for interaction with symbionts, flower pigments, light protection substances
Tannin	Tanning agents, fungicides, protection against herbivores

Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		
	Solanina	-	Saponina alcalóide
Batata	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA - Bioquímicos pré-formados

Ácido clorogênico*

Figura 22.8 - Oxidação do ácido clorogênico com a consequente produção de quinonas fungitóxicas.

* Também considerado metabólito intermediário na síntese de lignina

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA - Bioquímicos pré-formados

Fenóis em tecido de batata

Resistente

x

Suscetível

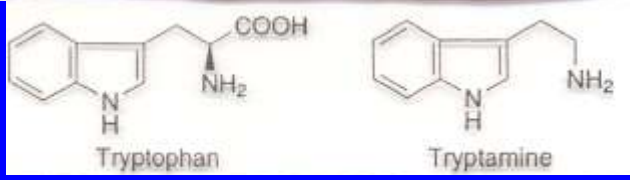
Verticillium (murcha)

Table 6–5. Total visual ferric chloride units of tissues at 5 locations[a] of 6 cultivars of potatoes tested histochemically with 10% ferric chloride (after McLean et al., 160).

	Days from planting				
Cultivar	108	122	155	180	200
Susceptible					
Early Gem	8	8	5	4	3
Russet Burbank	8	4	5	4	3
Kennebec	7	7	4	2	
Average susceptible	7.7	6.3	4.7	3.3	2.0
Resistant					
Populair	11	12	13	11	10
41956	17	15	16	12	9
Great Scott	23	23	18	11	6
Average resistant	17.0	16.7	15.7	11.3	8.3

a. Test points were root stele, stem node, stem vascular, stolon vascular, and tuber vascular sections.

* Alta concentração de ácido clorogênico nas raízes



tryptophan decarboxylase

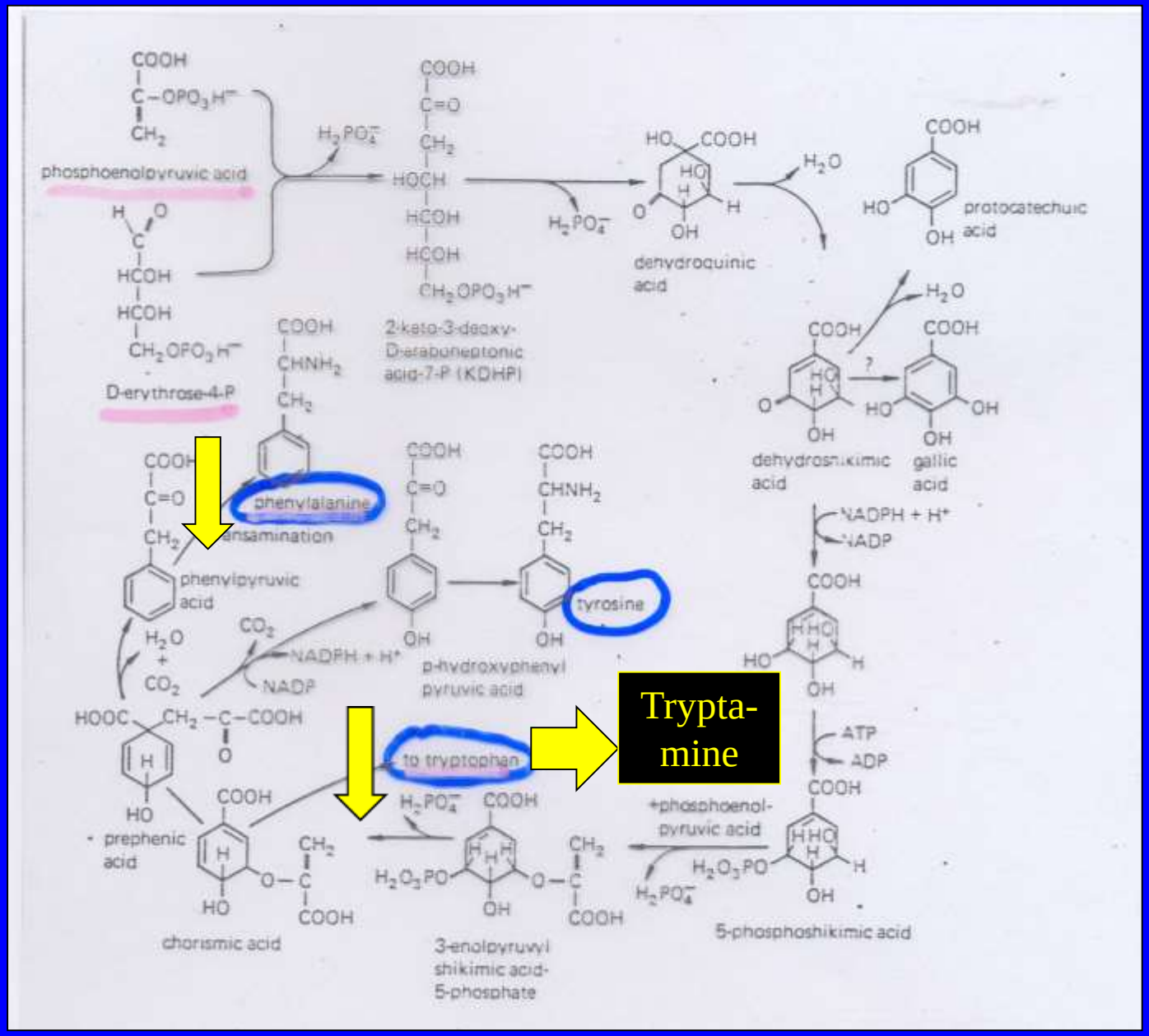
Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to Phytophthora infestans

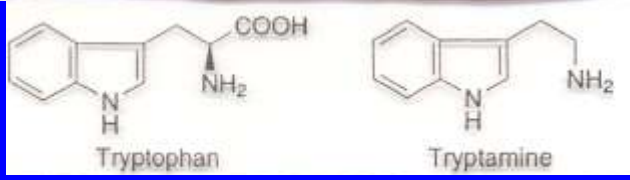
K. Yao, V. De Luca and N. Brisson
Department of Biochemistry, Universite de Montreal, Montreal, Quebec, H3C 3J7 Canada

The creation of artificial metabolic sinks in plants by genetic engineering of key branch points may have serious consequences for the metabolic pathways being modified. The introduction into potato of a gene encoding tryptophan decarboxylase (TDC) isolated from Catharanthus roseus drastically altered the balance of key substrate and product pools involved in the shikimate and phenylpropanoid pathways. Transgenic potato tubers expressing the TDC gene accumulated tryptamine, the immediate decarboxylation product of the TDC reaction. The redirection of tryptophan into tryptamine also resulted in a dramatic decrease in the levels of tryptophan, phenylalanine, and phenylalanine-derived phenolic compounds in transgenic tubers compared with nontransformed controls. In particular, wound-induced accumulation of chlorogenic acid, the major soluble phenolic ester in potato tubers, was found to be two- to threefold lower in transgenic tubers. Thus, the synthesis of polyphenolic compounds, such as lignin, was reduced due to the limited availability of phenolic monomers. Treatment of tuber discs with arachidonic acid, an elicitor of the defense response, led to a dramatic accumulation of soluble and cell wall-bound phenolics in tubers of untransformed potato plants but not in transgenic tubers. The transgenic tubers were also more susceptible to infection after inoculation with zoospores of Phytophthora infestans, which could be attributed to the modified cell wall of these plants. This study provides strong evidence that the synthesis and accumulation of phenolic compounds, including lignin, could be regulated by altering substrate availability through the introduction of a single gene outside the pathway involved in substrate supply. This study also indicates that phenolics, such as chlorogenic acid, play a critical role in defense responses of plants to fungal attack.

The Plant Cell 7: 1787-1799. 1995)

Caminho ácido shiquímico x amino ácidos





tryptophan decarboxylase

Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to Phytophthora infestans

K. Yao, V. De Luca and N. Brisson
Department of Biochemistry, Universite de Montreal, Montreal, Quebec, H3C 3J7 Canada

The creation of artificial metabolic sinks in plants by genetic engineering of key branch points may have serious consequences for the metabolic pathways being modified. The introduction into potato of a gene encoding tryptophan decarboxylase (TDC) isolated from Catharanthus roseus drastically altered the balance of key substrate and product pools involved in the shikimate and phenylpropanoid pathways. Transgenic potato tubers expressing the TDC gene accumulated tryptamine, the immediate decarboxylation product of the TDC reaction. The redirection of tryptophan into tryptamine also resulted in a dramatic decrease in the levels of tryptophan, phenylalanine, and phenylalanine-derived phenolic compounds in transgenic tubers compared with nontransformed controls. In particular, wound-induced accumulation of chlorogenic acid, the major soluble phenolic ester in potato tubers, was found to be two- to threefold lower in transgenic tubers. Thus, the synthesis of polyphenolic compounds, such as lignin, was reduced due to the limited availability of phenolic monomers. Treatment of tuber discs with arachidonic acid, an elicitor of the defense response, led to a dramatic accumulation of soluble and cell wall-bound phenolics in tubers of untransformed potato plants but not in transgenic tubers. The transgenic tubers were also more susceptible to infection after inoculation with zoospores of Phytophthora infestans, which could be attributed to the modified cell wall of these plants. This study provides strong evidence that the synthesis and accumulation of phenolic compounds, including lignin, could be regulated by altering substrate availability through the introduction of a single gene outside the pathway involved in substrate supply. This study also indicates that phenolics, such as chlorogenic acid, play a critical role in defense responses of plants to fungal attack.

The Plant Cell 7: 1787-1799. 1995)

Fenilpropanóides - produtos do caminho metabólico

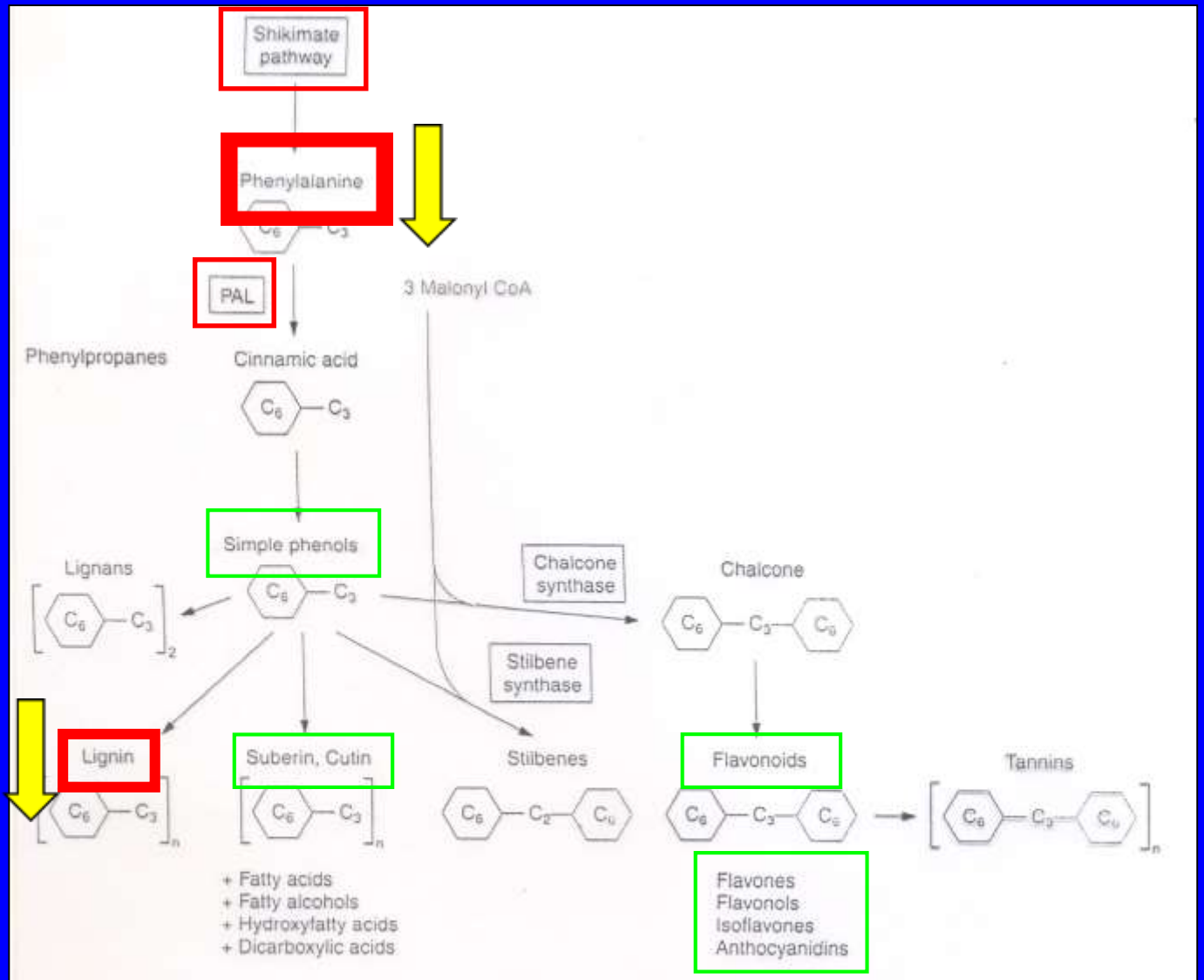


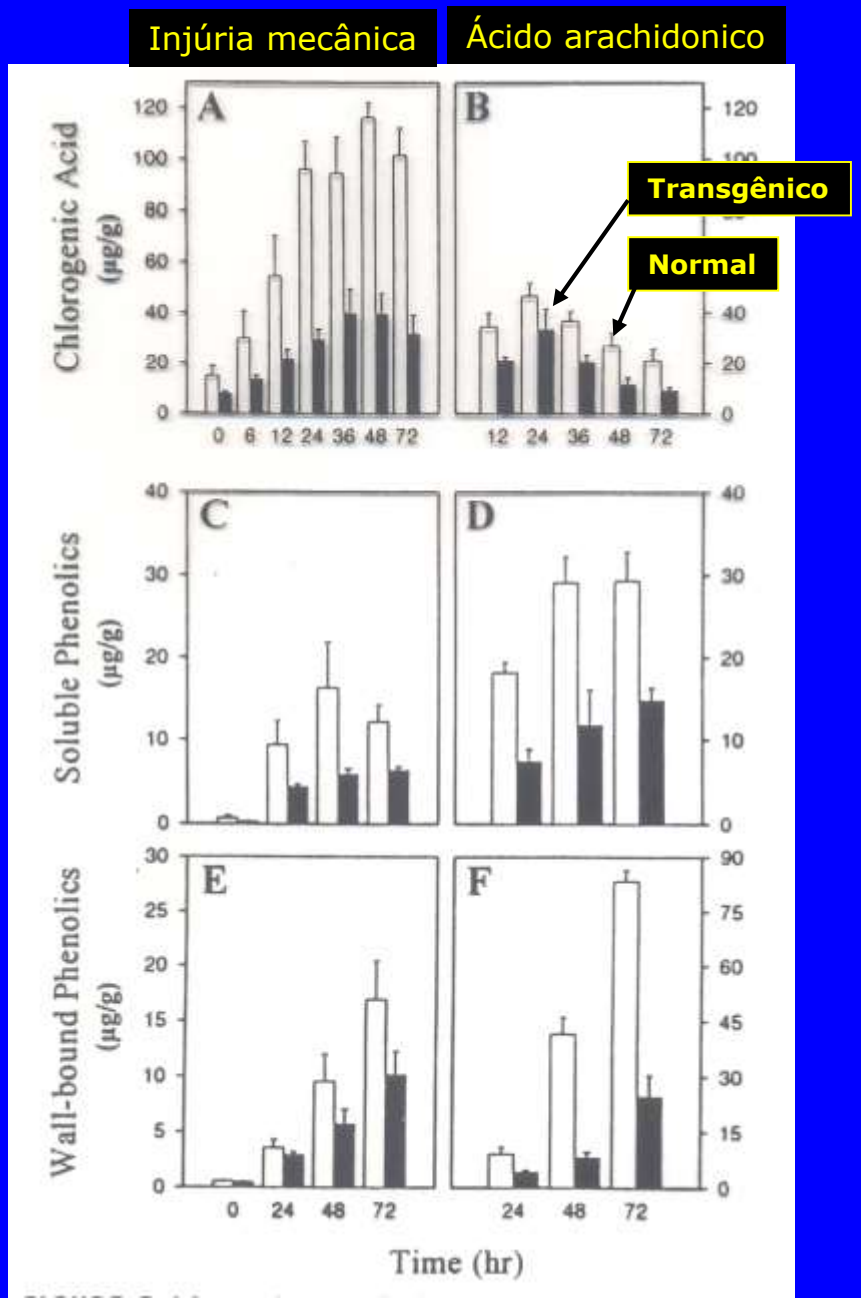
Figure 18.1 Overview of the products of phenylpropanoid metabolism. Cinnamic acid, formed from phenylalanine by phenylalanine ammonia lyase (PAL) is precursor for the various phenylpropanoids. In some plants 4-hydroxycinnamic acid is formed from tyrosine in an analogous way (not shown in the figure). An additional aromatic ring is formed either by chalcone synthase or stilbene synthase from three molecules of malonyl CoA.

Fenóis em tubérculos de batata transgênico

- Gene triptofano decarboxilase

-Tubérculos transgênicos mais suscetíveis a *Phytophthora infestans*

Ácido arachidonico – eliciador de resposta de hipersensibilidade

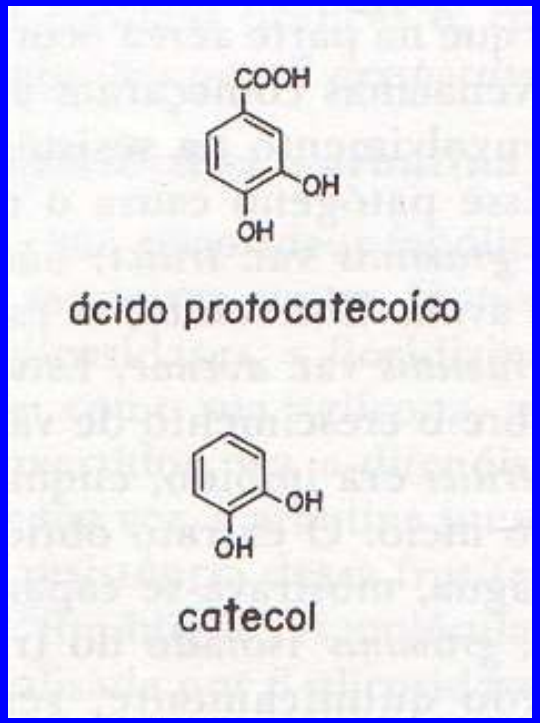


Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		
	Solanina	-	Saponina alcalóide
Batata	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

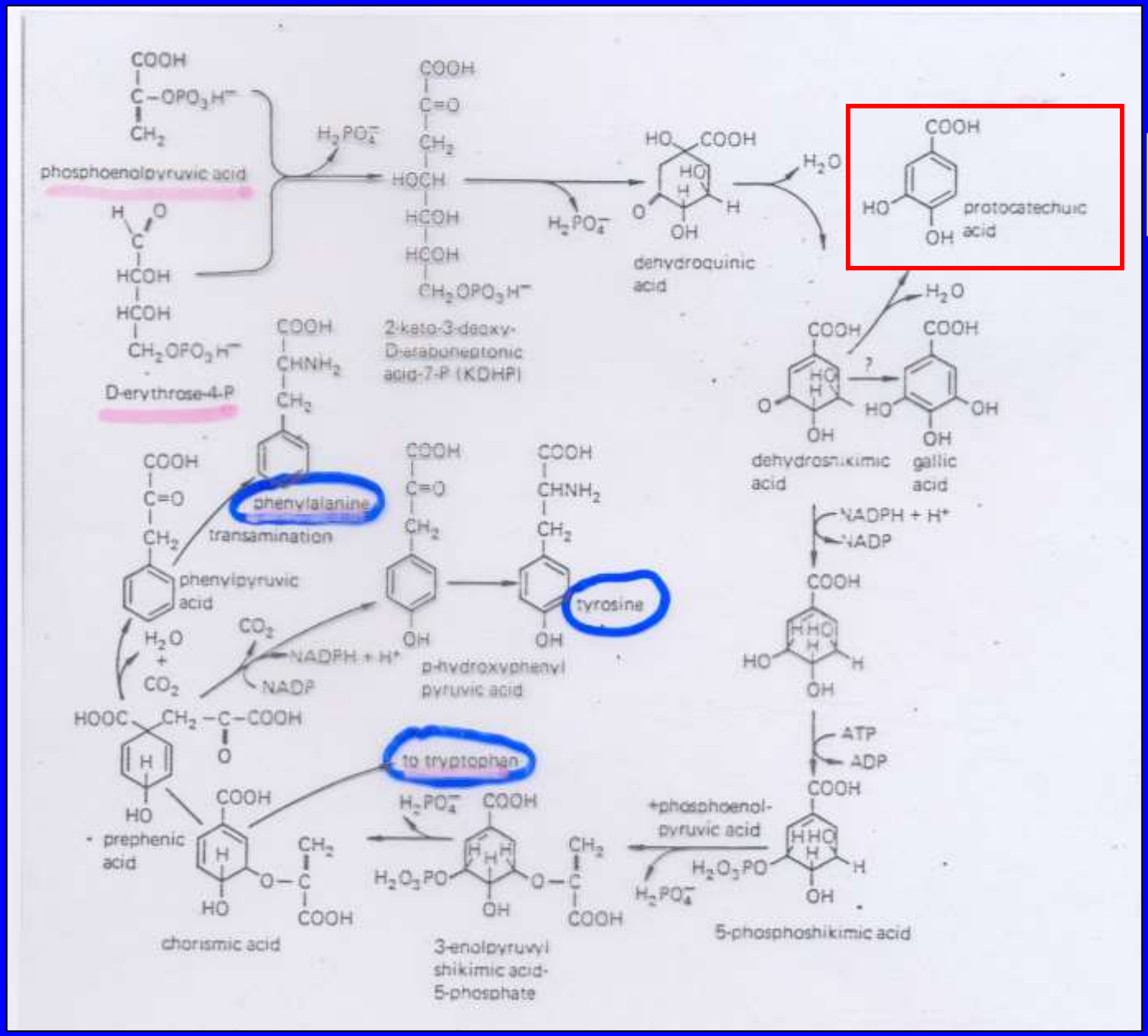
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA - Bioquímicos pré-formados

Resistência de cebola x *Colletotrichum circinans*



J.C. Walker et al. (1930-1933)

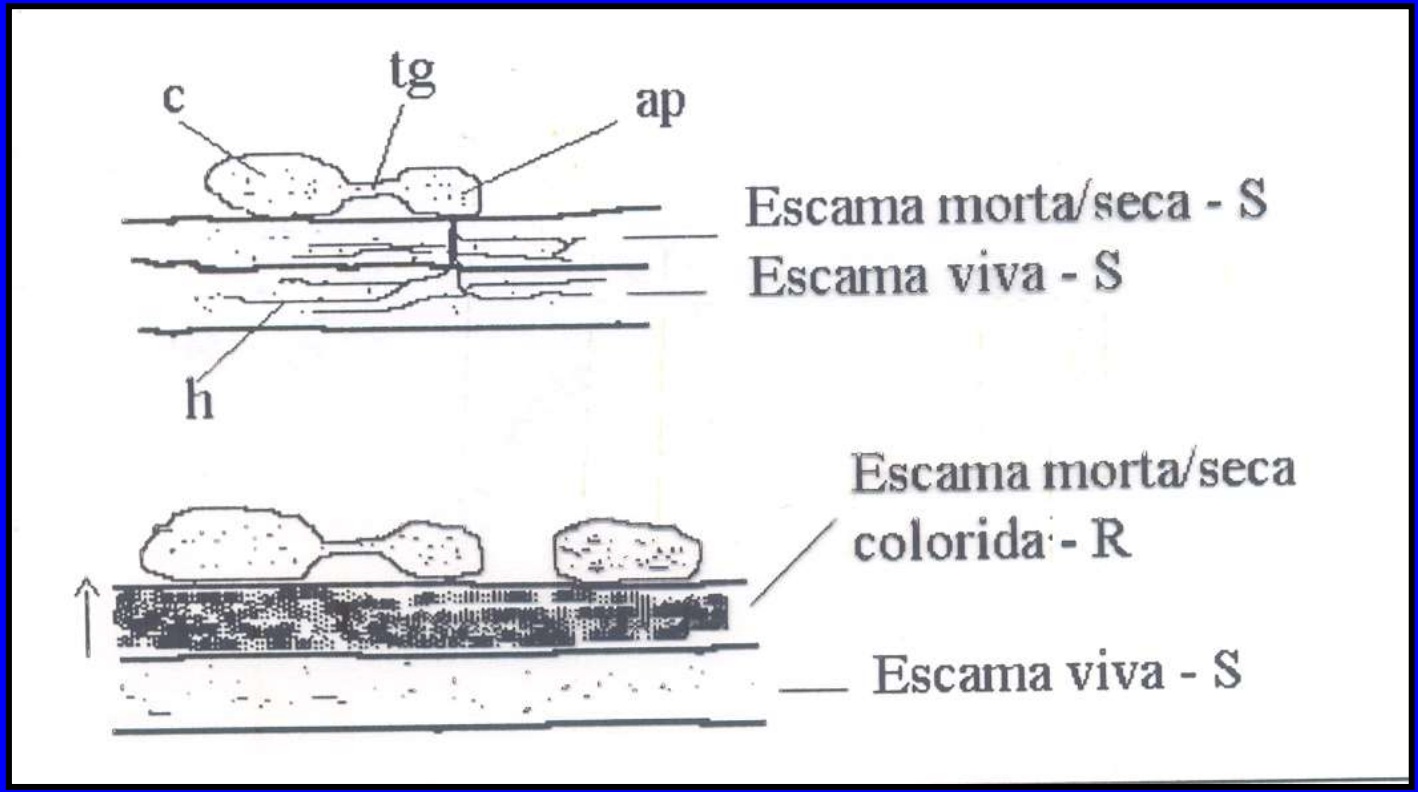
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA - Bioquímicos pré-formados



Ácido protocatecóico

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA - Bioquímicos pré-formados

Resistência de cebola x *Colletotrichum circinans*



Cor = flavonas / antocianinas

Ácido protocatecóico / catecol – incolores / solúveis água

Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		
	Solanina	-	Saponina alcalóide
Batata	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

⇒ Glicosídeos cianogênicos

- Ocorrem em mais de 800 espécies de plantas
  (Exemplos – sorgo, mandioca, linho)

- Raízes / ramos / folhas / flores / frutos

Glicosídeo
(Vacúolo)

Enzimas

Injúria
(patógenos necrotróficos)

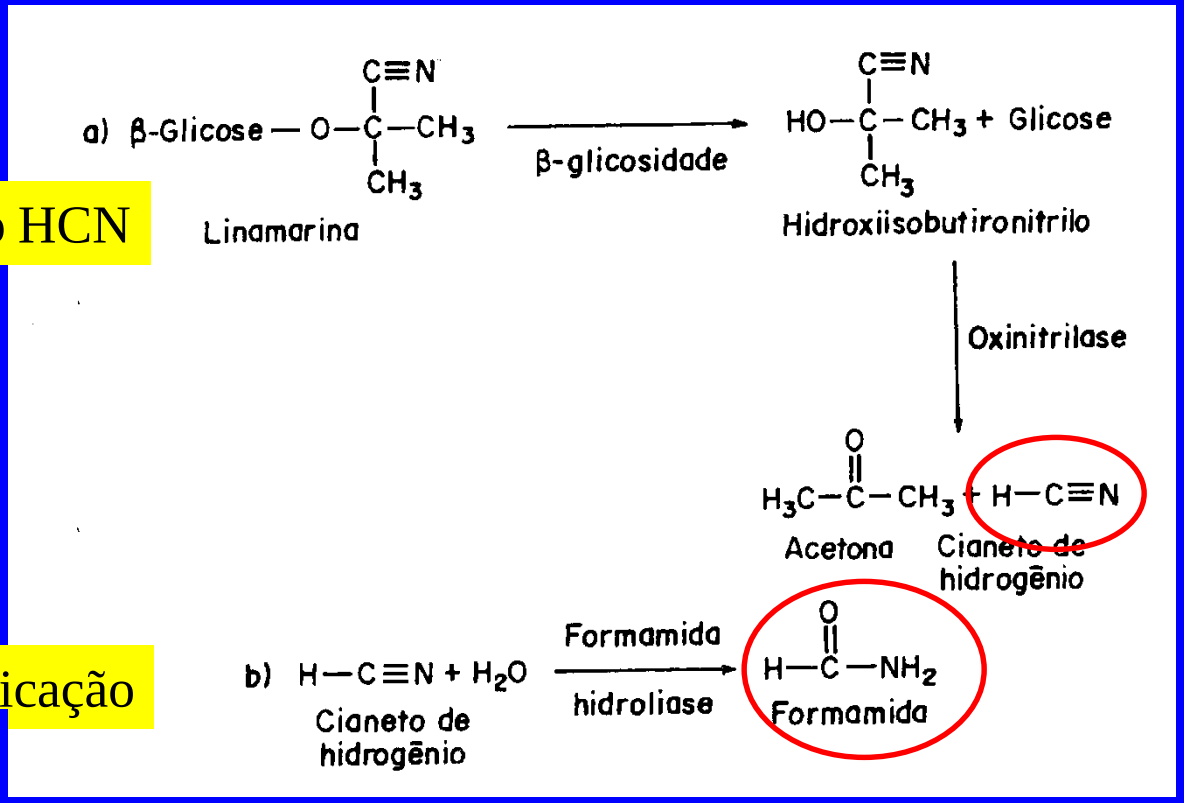
→

HCN*
(Cianeto de hidrogênio)

* Produção instantânea do gás – inibe cadeia respiratória

⇒ Glicosídeos cianogênicos

Produção HCN



⇒ Linamarina – plantas de trevo (*Lotus corniculatus*)

⇒ Glicosídeos cianogênicos

Detoxificação do HCN

- Sorgo x *Gloeocercospora sorghi* (Mancha zonada)

Folhas de sorgo — *G. sorghi*

B-Glicosidase

Durina → HCN → Formamida

FHL

(24 h; 20x↑ ; cte 24-72h)

(18 h; 200x↑ 36h)

FHL = Formamida hidroliase

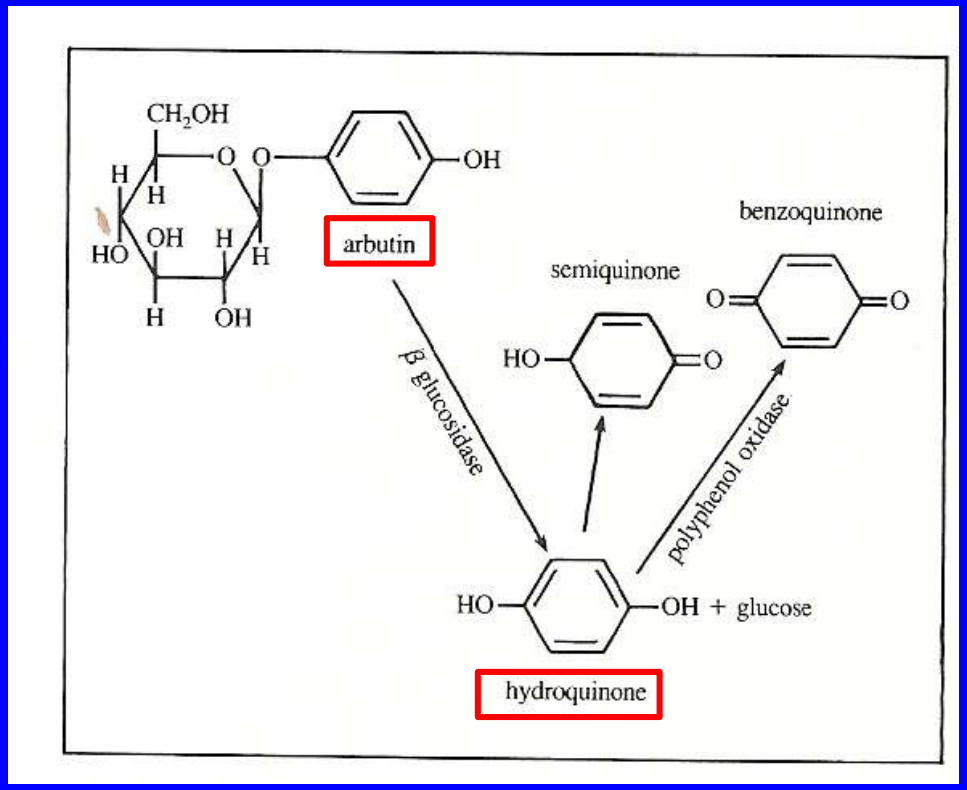
Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		Saponina alcalóide
Batata	Solanina	-	Saponina alcalóide
	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

⇒ Glicosídeos fenólicos

-Arbutina
-Folhas e ramos de pereira

Resistência pereira a *Erwinia amylovora* (“Fogo bacteriano”)



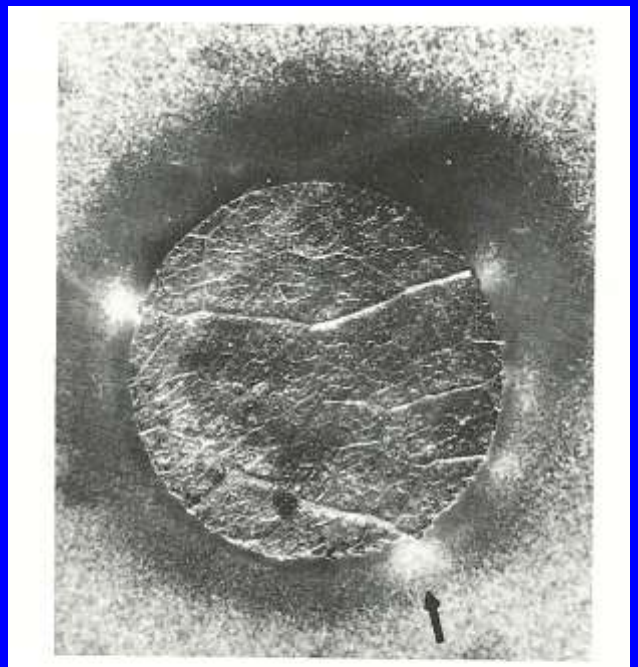


Fig. 10–22. The fate of the glycoside arbutin and its biological activity on release from a pear leaf disc on an agar plate seeded with *E. amylovora*. The zone of inhibition is attributable to one of the oxidized forms of hydroquinone. Growth of the bacterium at cut ends of major vessels (arrow) suggests the absence of β glucosidase in the presence of an oxidase inhibitor (courtesy of D. C. Hildebrand and M. N. Schroth).

Arbutina ⟶ Hidroquinona

Saponinas

- Glicosídeos contendo agliconas do tipo alcalóide ou triterpenóides (α-tomatina, avenacinas)

- O maior grupo de compostos antifúngicos pré-formados

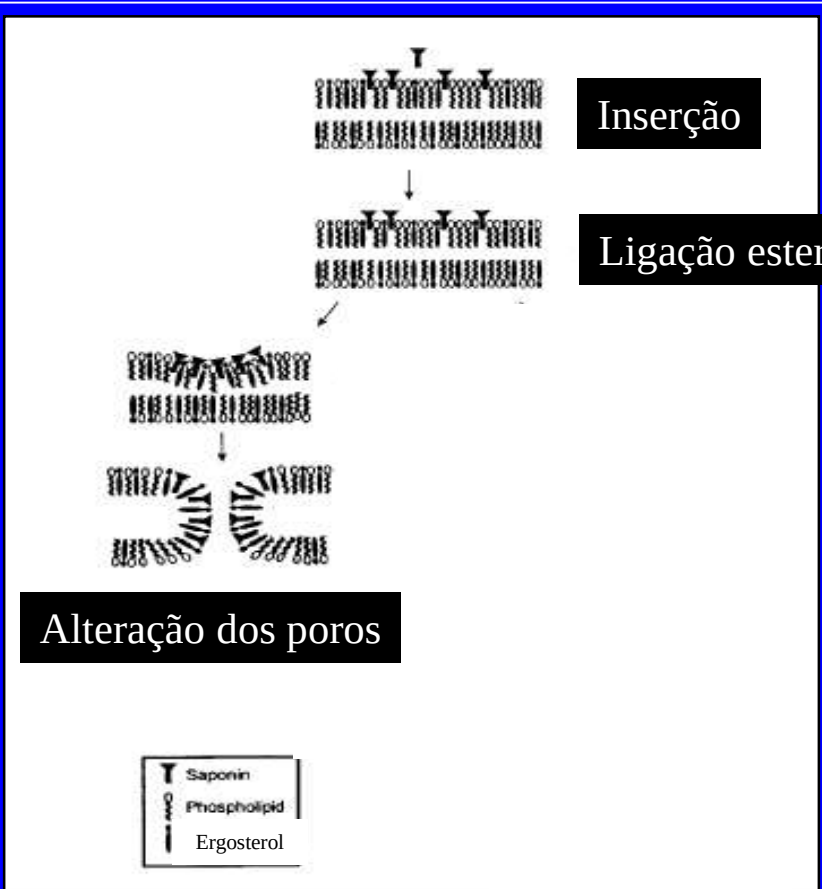
Reagem com os esteróis da membrana plasmática fúngica (complexos insolúveis)

↓

Alteração dos poros (mudança irreversível)

↓

Conteúdo celular extravasa (morte do fungo)



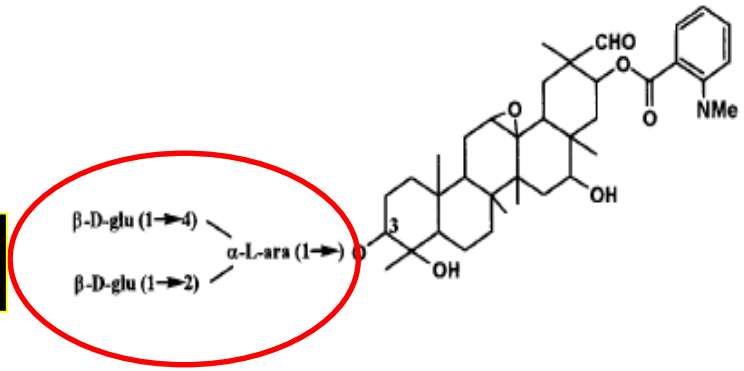
Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		
Batata	Solanina	-	Saponina alcalóide
	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

Avenacinas

Resistência aveia a *Gaeummannomyces graminis* f.sp. *tritici**

Avenacina

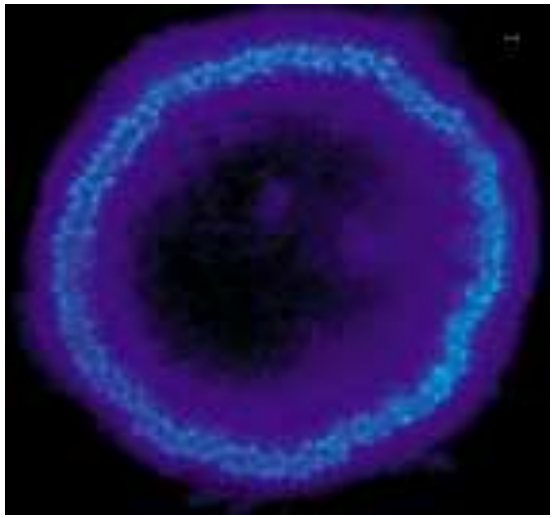


- Terpenóide glicosídico

- Ocorre nas raízes de aveia

- *In vitro* extrato do ápice da raíz (2ml água) – reduzia em 50% crescimento de *G. graminis* do trigo (*G. graminis* da aveia crescia normalmente)

* Mal-do-pé do trigo



Fluorescência da saponina Avenacina A1 sob luz UV

Composto localizado nas células epidérmicas das raízes de aveia

Avenacinas

G. graminis

Isolado aveia

↓

Tolerante

↓

Doença em aveia

Isolado trigo

↓

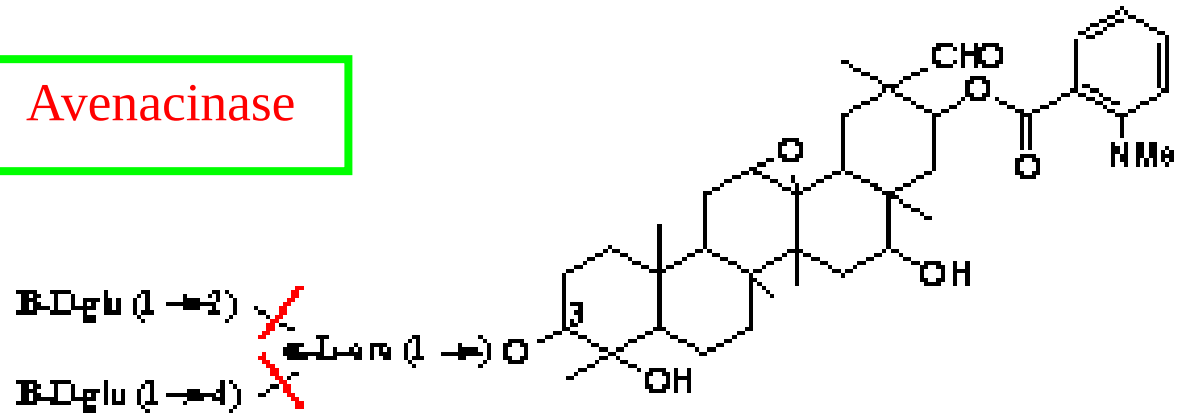
Intolerante

↓

Não causa doença em aveia

Isolados de *G. graminis* f.sp. *avenae* detoxificam avenacina

Avenacinase



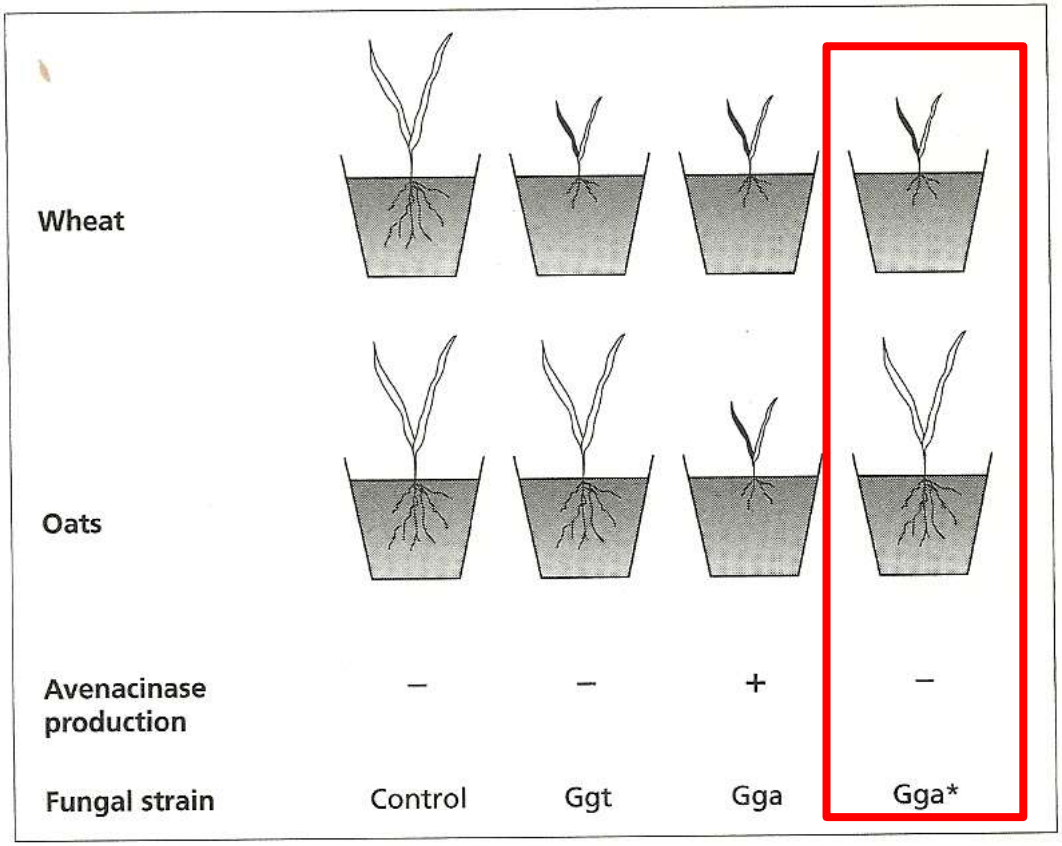
G. graminis f. sp. avenae requer avenacinase para infectar aveia

Avenacina $\xrightarrow[\text{(glicosidase)}]{\text{Avenacinase}}$ Avenamina* + glicose

(inativa)

* Menos solúvel em água

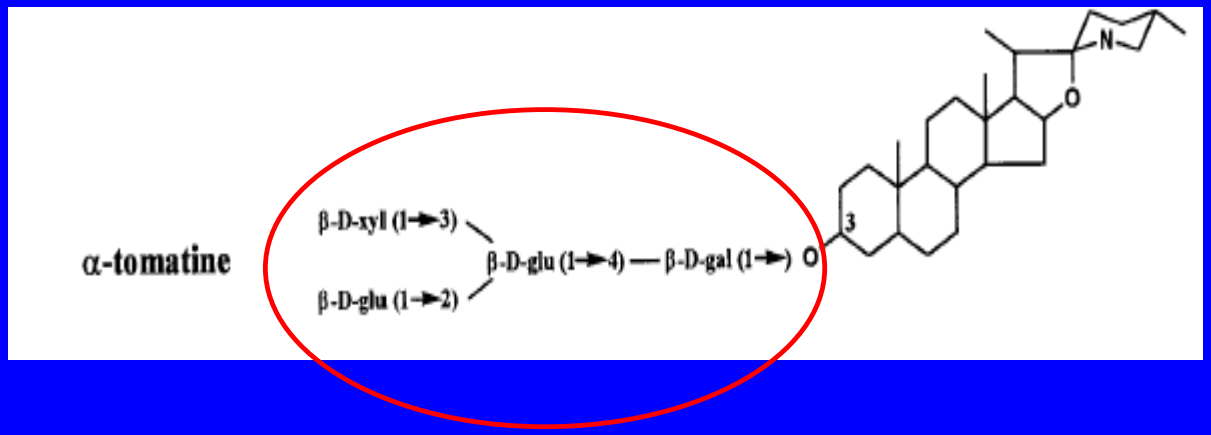
Fig. 9.3 Relationship between production of the saponin-detoxifying enzyme avenacinase and host range in the take-all fungus *Gauemannomyces graminis*. Variety *tritici* (Ggt) does not produce the enzyme and is non-pathogenic to oats, which contain avenacin. Variety *avenae* (Gga) produces the enzyme and is able to attack oats. Gga strains in which the gene for avenacinase production has been disrupted (Gga*) lose the ability to produce the enzyme and can no longer attack oats, but retain pathogenicity to wheat.



Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		Saponina alcalóide
Batata	Solanina	-	Saponina alcalóide
	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

α-Tomatina



- Alcalóide glicosídico

- Resistência tomates x *Sclerotium rolfsii*

Alcalóides – compostos aromáticos nitrogenados

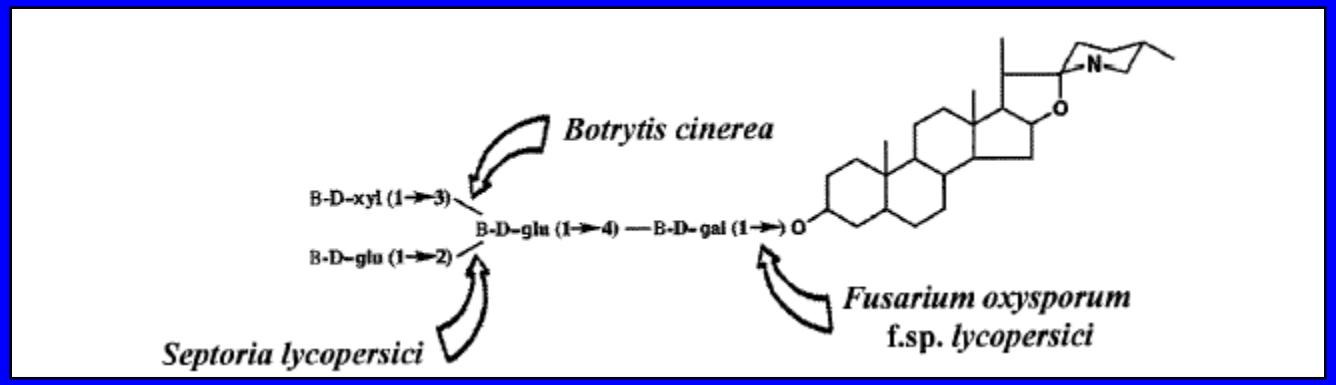
α-Tomatina

Fungos

Patógenos tomate → - Sensíveis

Não patógenos tomate → + Sensíveis

Detoxificação - enzima tomatinase

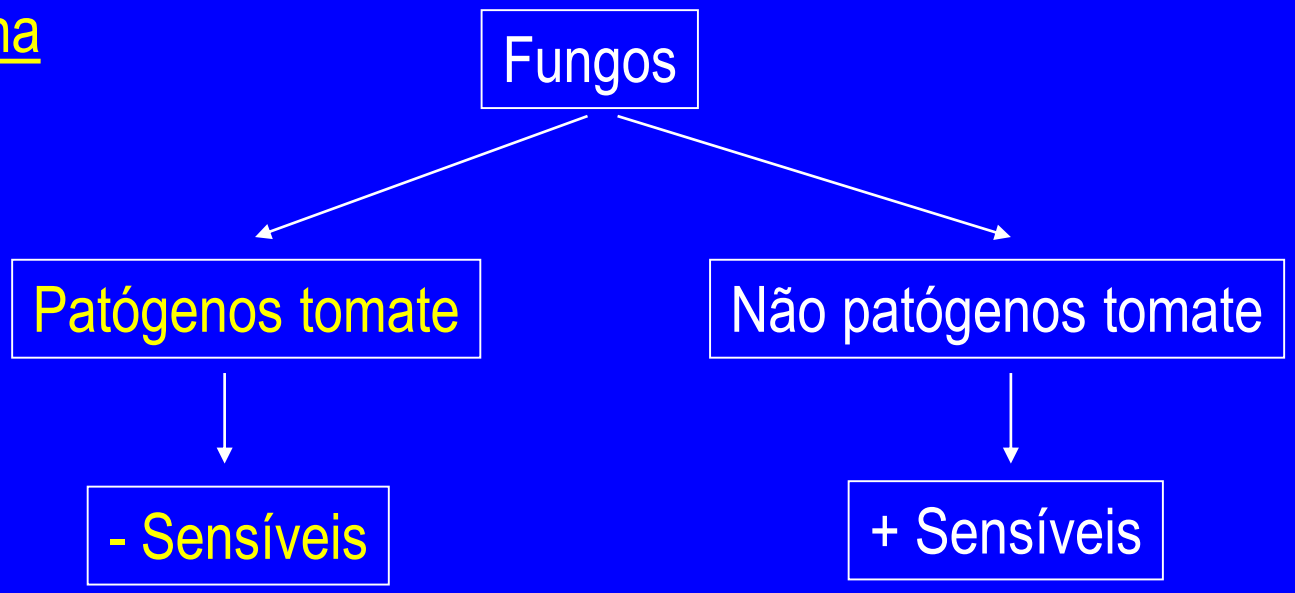


Tomatina → Tomatidina + glicose

Tomatinase* (inativa)

*Septoria / Alternaria – in vitro e in vivo

α-Tomatina



Patógenos tomate abaixam pH

$pH \leq 4{,}5 \rightarrow$ tomatina não exibe ação fúngica

$pH \geq 6{,}0 \rightarrow$ efetiva

Exemplos de compostos pré-formados

Cultura	Substância	Forma ativa	Grupo químico
Cebola	Ácido protocatecóico e catecol	-	Fenol
Aveia	Avenacinas	-	Saponina triterpenóide
Trigo	Glicosídeo de Dihidroximetoxibenzoxazinona	DIMBOA	Hidroxamato cíclico
Trevo	Linamarina	Cianeto de hidrogênio	-
Tulipa	Tuliposídeo A e B	Tulipalinas	Lactonas
Maçã	Floretina e arbutina	o- Quinona	-
Pêra	Arbutina	Hidroquinona	-
Tomate	Tomatina		Saponina alcalóide
	Solanina	-	Saponina alcalóide
Batata	Chaconina	-	
	Ácidos clorogênico e cafeico	-	Fenol

Tuliposídeos

- Exemplos de ácidos hidroxicarboxílicos insaturados

- São armazenados nos vacúolos

- Envolvidos na resistência de tulipas:

  ➡ bulbos a *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae*

  ➡ pistilos a *Botrytis cinerea*

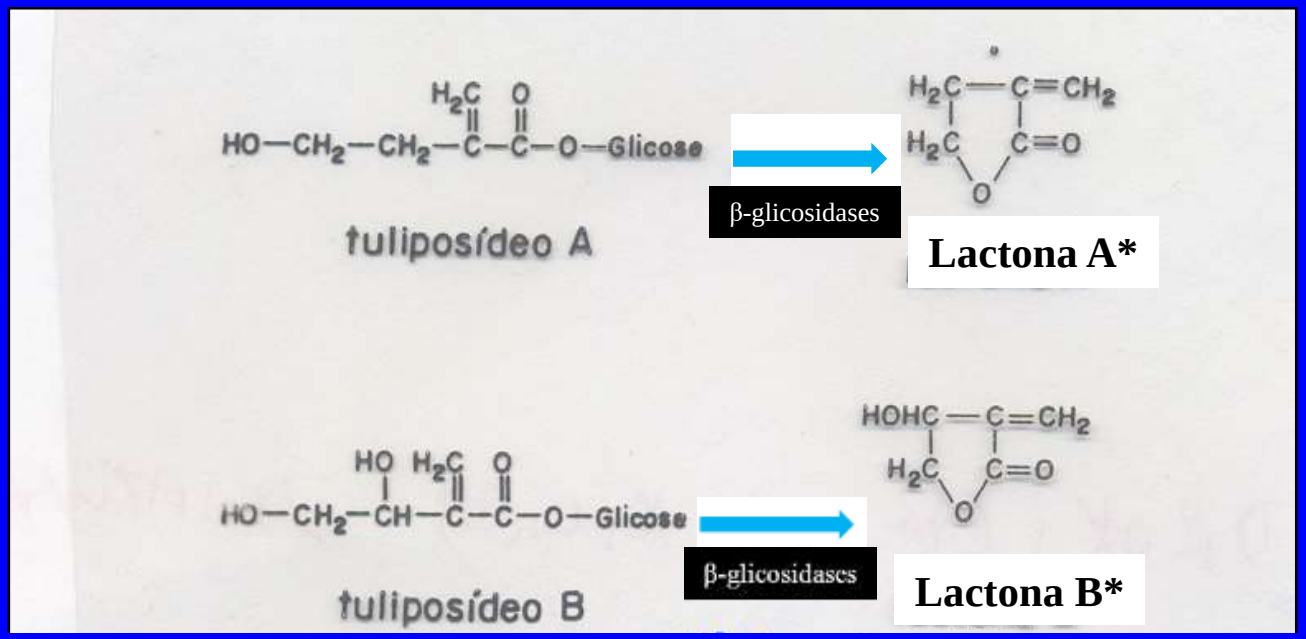
Tuliposídeos

- Mostram-se instáveis em pH > 5,0

- Rapidamente convertidos em lactonas insaturadas

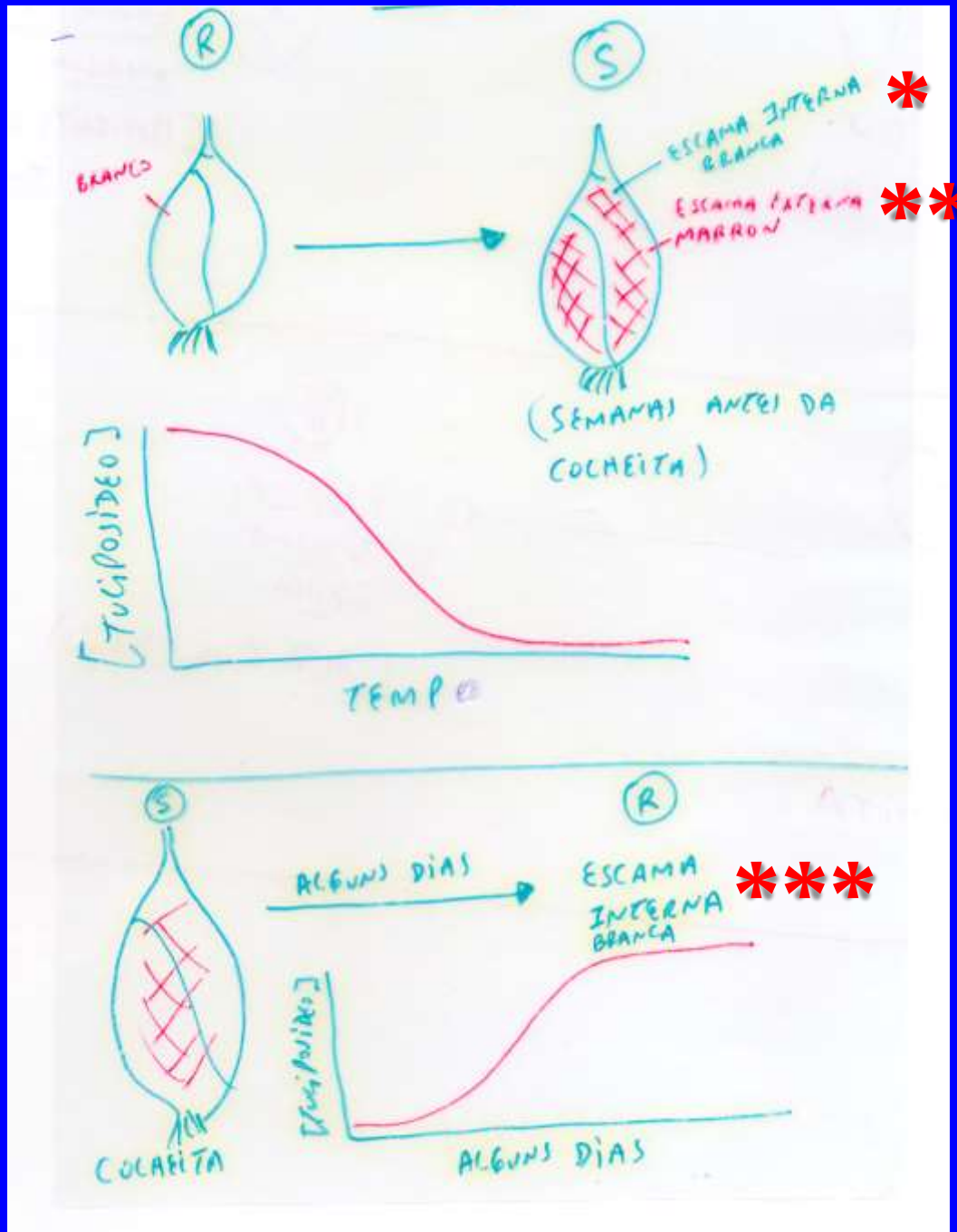
  ➡ Aumento no pH (7,5)

  ➡ Ação de β-glicosidases



* Ativas - antifúgicas / antibacterianas

Tuliposídeos X resistência de bulbos a *Fusarium* sp.



* Baixa conc. tuliposídeo
** Praticamente sem tuliposídeo
*** Alta conc. tuliposídeo

Bioquímicos ⇒ Inibição do crescimento

⇒ Condições adversas para a sobrevivência

Pré-formados

- Fenóis
- Alcalóides
- Lactonas insaturadas
- Glicosídeos fenólicos
- Glicosídeos cianogênicos
- Fototoxinas
- Proteínas / peptídeos antimicrobianos

Pós-formados

- Fitoalexinas
- Espécies reativas de oxigênio
- Quitinases
- β-1,3-glucanases
- Proteínas-RP
- Peptídeos antimicrobianos

Fototoxinas

- Produzidas pelas plantas (tecido sadio)

- Tornam-se tóxicas (biocidas inespecíficos) sob luz (320 a 400nm)

- Podem reagir / danificar – ácidos nucleicos / membrana plasmática

- Contribuem na formação de radicais tóxicos / espécies reativas de oxigênio

---

- Envolvidos na resistência de *Tagetes* sp:

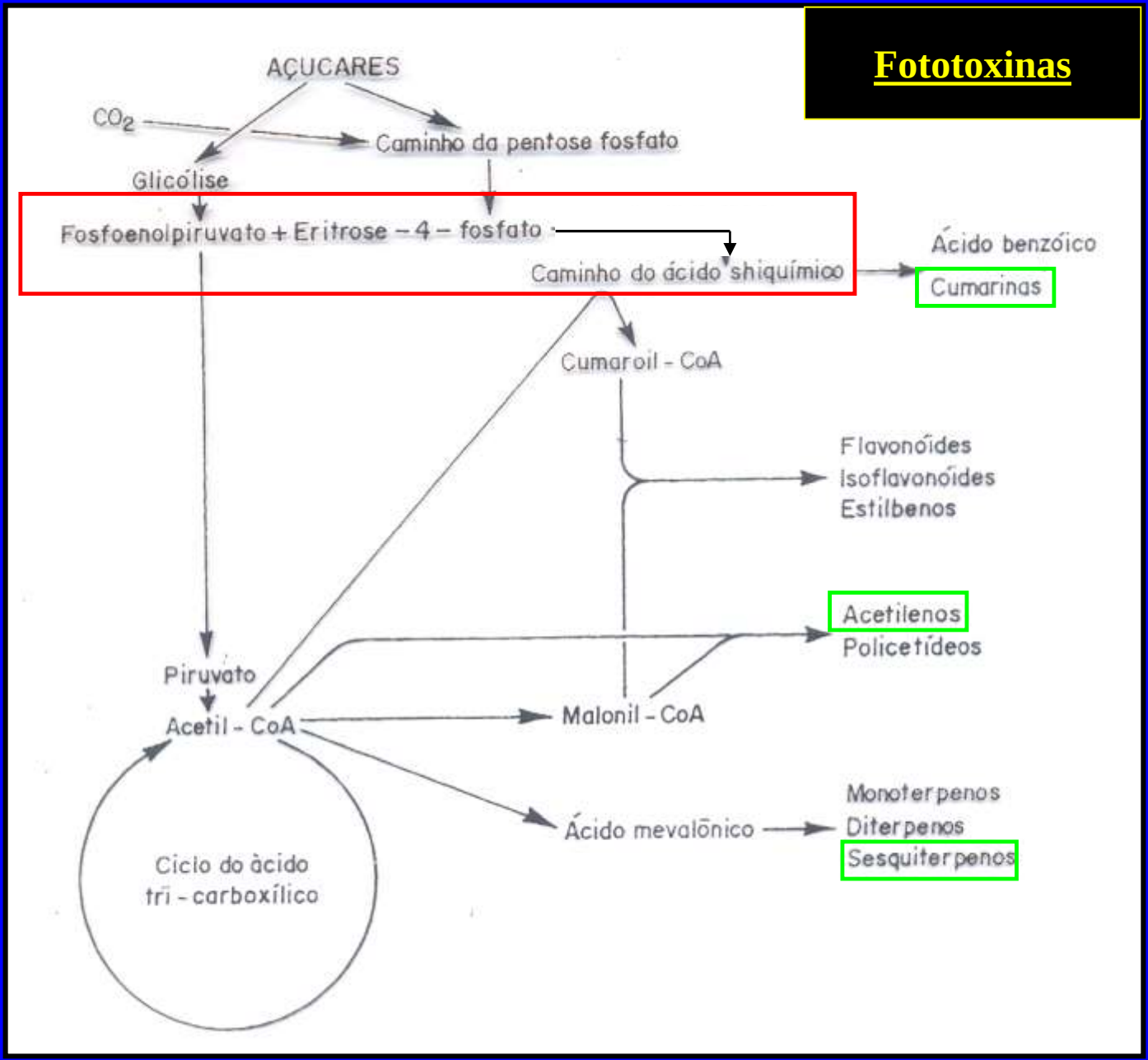
  - ➡ Produz fototoxina B-tertienil
  - ➡ Exposição a radiação UV - produz “singlet oxygen” = nematicida

Fototoxinas

Tabela 35.3 - Exemplos de fototoxinas exibindo ação bactericida ou fungicida sobre alguns fitopatógenos (Pascholati e Leite, 1994).

Classe química	Gêneros de microrganismos suscetíveis
Acetilenos	*Agrobacterium, Bipolaris, Botrytis, Cladosporium, Fusarium, Helminthosporium, Phytophthora, Pseudomonas*
Furanocumarinas	*Alternaria, Botrytis, Ceratocystis, Colletotrichum, Erwinia, Fusarium, Geotrichum, Gloeosporium, Penicillium*
Furanoquinolinas	*Fusarium, Penicillium*
Isoquinolinas	*Phymatotrichum*
Lignanas	*Pythium, Rhizoctonia, Rhizopus*
Pterocarpanos	*Botrytis, Colletotrichum, Erwinia, Fusarium, Helminthosporium, Phytophthora, Pseudomonas, Rhizoctonia, Sclerotinia, Stemphylium*
Sesquiterpenos	*Xanthomonas*
Tiofenos	*Agrobacterium, Alternaria, Cladosporium, Colletotrichum, Fusarium, Pythium, Pseudomonas, Rhizoctonia, Rhizopus*

Caminhos metabólicos x síntese de compostos tóxicos



Bioquímicos ⇒ Inibição do crescimento

⇒ Condições adversas para a sobrevivência

Pré-formados

- Fenóis
- Alcalóides
- Lactonas insaturadas
- Glicosídeos fenólicos
- Glicosídeos cianogênicos
- Fototoxinas
- Proteínas / peptídeos antimicrobianos

Pós-formados

- Fitoalexinas
- Espécies reativas de oxigênio
- Quitinases
- β-1,3-glucanases
- Proteínas-RP
- Peptídeos antimicrobianos

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas ligantes de quitina (PLQs)

- Proteínas com sequência conservada de aminoácidos ("chitin-binding domain" – 30 a 43 aa)
- Atividade antifúngica – ligam-se a quitina (altera polaridade celular / inibindo crescimento)
- Constitutivas : Vicilinas - sementes de leguminosas

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas ligantes de quitina (PLQs)

- Proteínas com sequência conservada de aminoácidos ("chitin-binding domain" – 30 a 43 aa)
- Atividade antifúngica – ligam-se a quitina (altera polaridade celular / inibindo crescimento)
- Constitutivas : Vicilinas - sementes de leguminosas

Vicilinas de feijão-corda (*Vigna unguiculata*) → Alteram crescimento / inibem germinação esporos → *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum musae*, *Ustilago maydis*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas ligantes de quitina (PLQs)

- Proteínas com sequência conservada de aminoácidos ("chitin-binding domain" – 30 a 43 aa)

- Atividade antifúngica – ligam-se a quitina (altera polaridade celular / inibindo crescimento)

- Induzíveis: algumas incluídas nas "Proteínas-RP " -
  (Proteínas relacionadas a patogênese) – família PR-4

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas ligantes de quitina (PLQs)

- Proteínas com sequência conservada de aminoácidos ("chitin-binding domain" – 30 a 43 aa)
- Atividade antifúngica – ligam-se a quitina (altera polaridade celular / inibindo crescimento)
- Induzíveis: algumas incluídas nas "Proteínas-RP " - (Proteínas relacionadas a patogênese) – família PR-4

Heveina (4,7 kDa / rica cisteína) - seringueira ➡ Acúmulo induzido por injúria em folhas e tronco

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Tioninas

- Peptídeos (5 kDa) ricos em cisteína e aminoácidos básicos
- Encontradas em folhas e sementes
- Podem ser constitutivas ou induzidas por patógenos (Família PR-13)
- Tóxicas a fungos, bactérias, células vegetais e animais (formam canais iônicos nas membranas celulares)

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Tioninas

- Peptídeos (5 kDa) ricos em cisteína e aminoácidos básicos
- Encontradas em folhas e sementes
- Podem ser constitutivas ou induzidas por patógenos (Família PR-13)
- Tóxicas a fungos, bactérias, células vegetais e animais (formam canais iônicos nas membranas celulares)

Plantas de arroz

Transformadas com gene codificador para tionina → Resistentes a *Burkholderia plantarii*

Não-transformadas → Mortas pelo patógeno

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Defensinas

- Possuem 45 a 54 aminoácidos (5 a 7 kDa, carga positiva)

- Posições conservadas de 8 resíduos cisteína, um aromático, um glutamato

- Inicialmente descritas em sementes de trigo / cevada (similares as encontradas em insetos / mamíferos)

- Agrupadas dentre as Proteínas-RP (família PR-12)

- Causam respostas rápidas em fungos: efluxo de K^+, entrada de Ca^{++}, alcalinização do meio, mudança no potencial da membrana

- Papel importante na resistência– principalmente sementes germinando / plântulas

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Defensinas

- Possuem 45 a 54 aminoácidos (5 a 7 kDa, carga positiva)
- Posições conservadas de 8 resíduos cisteína, um aromático, um glutamato
- Inicialmente descritas em sementes de trigo / cevada (similares as encontradas em insetos / mamíferos)
- Agrupadas dentre as Proteínas-RP (família PR-12)
- Causam respostas rápidas em fungos: efluxo de K^+, entrada de Ca^{++}, alcalinização do meio, mudança no potencial da membrana
- Papel importante na resistência– principalmente sementes germinando / plântulas

---

Plantas de fumo transgênicas (expressando defensina de rabanete) → Mais resistentes a *Alternaria longipes*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas de transferência de lipídeos (PTLs)
("Lipid transfer proteins" – LTPs)

- Proteínas básicas (8 resíduos cisteína) – 9 a 10 kDa
- Possuem estrutura interna típica (cavidade hidrofóbica semelhante a um túnel)
- Ação antimicrobiana: se inserem na membrana da célula / saída de íons intracelulares / morte do patógeno
- Normalmente antifúngicas, porém algumas podem apresentar ação antibacteriana
- Inibição de *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas de transferência de lipídeos (PTLs)

- Proteínas básicas (8 resíduos cisteína) – 9 a 10 kDa
- Possuem estrutura interna típica (cavidade hidrofóbica semelhante a um túnel)
- Ação antimicrobiana: se inserem na membrana da célula / saída de íons intracelulares / morte do patógeno
- Normalmente antifúngicas, porém algumas podem apresentar ação antibacteriana
- Inibição de *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*

PTLs não-específicas de beterraba (fluído de lavagem intercelular) → Antividade antifúngica *in vitro* (< 10 ug/mL) - *Cercospora beticola*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas inativadoras de ribossomos (PIRs)
("Ribosome-inactivating proteins" – RIPs)

- Inicialmente reconhecidas como proteínas inibidoras de vírus (isoladas de espécies de *Caryophyllales*)

- Atividade biológica: evitam a elongação do peptídeo (quebram ligações *N*-glicosídicas da adenina nos ribossomos) / inibem a síntese de proteínas em mamíferos, plantas, fungos, bactérias.

- Exemplos: ricina da mamona / Alfa e Beta-pisavinas em sementes de ervilha

- PIR isolada de grãos de cevada inibiu *in vitro* o crescimento de *Trichoderma reesei* / *Fusarium sporotrichioides*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Proteínas inativadoras de ribossomos (PIRs)
("Ribosome-inactivating proteins" – RIPs)

- Inicialmente reconhecidas como proteínas inibidoras de vírus (isoladas de espécies de Caryophyllales)
- Atividade biológica: evitam a elongação do peptídeo (quebram ligações *N*-glicosídicas da adenina nos ribossomos) / inibem a síntese de proteínas em mamíferos, plantas, fungos, bactérias.
- Exemplos: ricina da mamona / Alfa e Beta-pisavinas em sementes de ervilha
- PIR isolada de grãos de cevada inibiu *in vitro* o crescimento de *Trichoderma reesei* / *Fusarium sporotrichioides*

Plantas de milho

Transformadas com gene *b-32* de milho codificador para PIR*

↓

Mais resistentes a *Fusarium verticillioides*

Não-transformadas

↓

Mais suscetíveis ao *F. verticillioides*

*PIR presente nos extratos proteicos de folhas

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Lisozimas

- Enzimas: inibem o crescimento bacteriano (hidrólise do peptideoglicano)
  (as da clara do ovo / bacteriófagos as mais estudadas)

- Ocorrem em plantas (muitas vezes também apresentam atividade de quitinase)

- Podem exibir atividade antibacteriana / antifúngica

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Lisozimas

- Enzimas: inibem o crescimento bacteriano (hidrólise do peptideoglicano)
  (as da clara do ovo / bacteriófagos as mais estudadas)

- Ocorrem em plantas (muitas vezes também apresentam atividade de quitinase)

- Podem exibir atividade antibacteriana / antifúngica

Plantas transgênicas de maça / batata (expressando genes codificadores da lisozima – obtidos de fago) → Aumentos na resistência contra *Erwinia* spp

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

- Plantas possuem famílias de multi-genes (codificam os mesmos)

- Alguns constitutivos – comuns em órgãos de armazenamento / reprodução

- Outros produzidos em resposta ao ataque de patógenos – ex. folhas

Tabela 35.2 - Exemplos de proteínas e peptídeos anti-microbianos envolvidos na resistência das plantas contra patógenos.

Tipo	Atividade biológica
Quitinase; β-1,3-glucanase	Ação sobre componentes da parede celular do patógeno
Proteínas ligantes de quitina	Interferência na síntese da parede celular do patógeno
Tioninas / Defensinas	Desestabilização da membrana fúngica
Proteínas de transferência de lipídeos	Possivelmente desestabilização da membrana fúngica
Proteínas inativadoras de ribossomos	Inibição da elongação de peptídeos
Lisozima	Digestão dos polímeros da parede celular bacteriana
Inibidores de proteases	Inibição de enzimas digestivas de pragas e patógenos
Inibidores de poligalacturonase	Inibição da ação de poligalacturonases

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Inibidores de proteases (IPs) / poligalacturonases (PIPGs)

- Inibidores de proteases: 10 a 90 kDa / apresentam especificidade quanto a classe de protease inibida (serino proteases, aspártico proteases, metalo proteases, cisteíno proteases)

- Comum a presença de IPs em sementes / tubérculos: atuam como agentes regulatórios de proteases endógenas e/ou como mecanismo de proteção contra proteases de insetos e/ou patógenos

- Inibidores de tripsina (trigo sarraceno) inibiram *in vitro* proteases de *Botrytis cinerea*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Inibidores de proteases (IPs) / poligalacturonases (PIPGs)

- Inibidores de proteases: 10 a 90 kDa / apresentam especificidade quanto a classe de protease inibida (serino proteases, aspártico proteases, metalo proteases, cisteíno proteases)

- Comum a presença de IPs em sementes / tubérculos: atuam como agentes regulatórios de proteases endógenas e/ou como mecanismo de proteção contra proteases de insetos e/ou patógenos

- Inibidores de tripsina (trigo sarraceno) inibiram *in vitro* proteases de *Botrytis cinerea*

Superexpressão heteróloga de genes PI de *Nicotiana alata* em fumo transgênico → Aumento da resistência contra *B. cinerea*

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Inibidores de proteases (IPs) / poligalacturonases (PIPGs)

- Inibidores de poligalacturonases: proteínas com domínios ricos em leucina

- Contribuem na resistência das plantas:

  a) Pela inibição das poligalacturonases

  b) Prolongando a vida de oligômeros (10-13 resíduos de galacturonato) eliciadores da defesa (HR, lignificação, fitoalexinas)

Proteínas e peptídeos antimicrobianos

Inibidores de proteases (IPs) / poligalacturonases (PIPGs)

- Inibidores de poligalacturonases: proteínas com domínios ricos em leucina
- Contribuem na resistência das plantas:

  a) Pela inibição das poligalacturonases

  b) Prolongando a vida de oligômeros (10-13 resíduos de galacturonato) eliciadores da defesa (HR, lignificação, fitoalexinas)

Tomateiro / videira superexpressando o gene *pgip* de pereira → Aumento na atividade inibitória de PIPG → Diminuição na suscetibilidade a *Botrytis cinerea*