

LFT-5880

Módulo: Controle genético de
doenças de plantas

Melão resistente ao vírus do mosaico

Melão suscetível ao vírus do mosaico

Bibliografia para estudo:

- Manual de Fitopatologia, vol.1, quarta edição – Capítulos 6, 15 e 35
- Plant Pathology, Agrios, quinta edição – capítulos 4 (p134 em diante) e 6

Programa:

Aula 1 – Conceitos de resistência genética

Objetivo: dar conhecimento das várias manifestações do fenômeno resistência e de como estas interagem em um sistema integrado baseado em eventos de reconhecimento.

Aula 2 – Uso da resistência genética como método de controle

Objetivos: aplicar conceitos fitopatológicos e genéticos para estabelecer estratégias de utilização de genes de resistência em programas de melhoramento. Evidenciar a relevância da Fitopatologia para o melhoramento vegetal (Videoconferência com Dra. Katia Brunelli – Sakata Seeds Sudamerica)



Aula 1: Resistência genética e patogenicidade: conceitos e terminologia



Resistência

Uma espécie vegetal resiste a uma certa espécie de patógenos porque:

Disciplina

-A espécie não pertence ao círculo de hospedeiros do patógeno

Resistência de não-hospedeiro

-Pertence ao círculo, mas é capaz de resistir ao seu ataque em maior (resistente)

-Ou menor (suscetível) grau

Resistência de hospedeiro

-Pertence ao círculo, não resiste ao ataque mas (é suscetível portanto), por algum mecanismo, o ataque não ocasiona danos

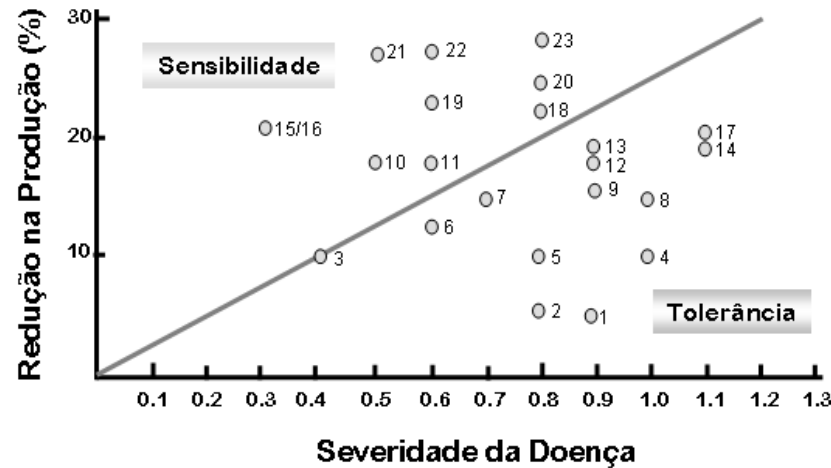
Tolerância

O que é necessário para pertencer ao círculo?

É necessário um histórico co-evolutivo

Tolerância

Como identificar?



“Capacidade de uma cultivar de sustentar certos níveis de doença (ou de patógeno) com mínimos danos (produção) quando comparada a outras cultivares da mesma cultura”.

(Schafer, 1971).

Tolerância



Tolerância é pouco utilizada pois:

“nos estágios iniciais de seleção para resistência em programas de melhoramento, linhas com genes de tolerância são descartadas devido a sua aparente suscetibilidade”.

“além disto, variedades tolerantes permitem aumento de inóculo”

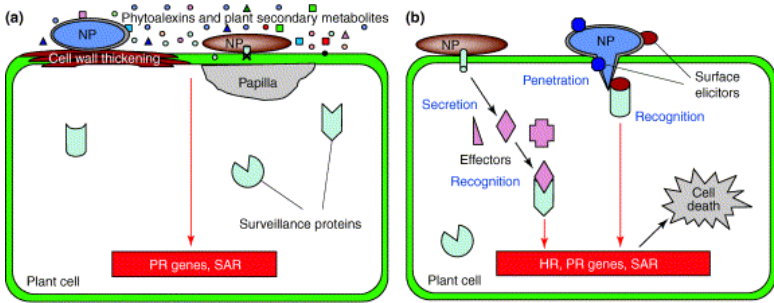
mas há um exemplo muito importante de uso de tolerância no Brasil...

Tolerância: Tristeza dos citros



Baía/Azeda

Baía/Cravo



TRENDS in Plant Science

Resistência de não-hospedeiro

Resistência de não-hospedeiro

1.000.000

=

estimativa conservadora do número de
espécies de fitoparasitas no planeta

Holub & Cooper, 2004

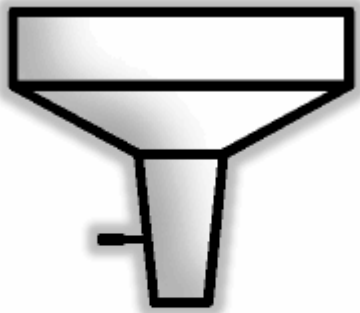
Trends in Plant Science 9(5): 211-
214



Resistência de não-hospedeiro

1.000.000

estimativa conservadora do número de espécies de fitoparasitas no planeta



→ mecanismos de Resistência de Não-Hospedeiro

10 viroses

3 bacterioses

13 micoses



- Pré-formados

- metabólitos secundários - terpenóides (saponina), fenóis, polifenóis, alcalóides, glicosídeos (glucosinolatos)
- Citoesqueleto (filamentos de actina)

- Pós-formados

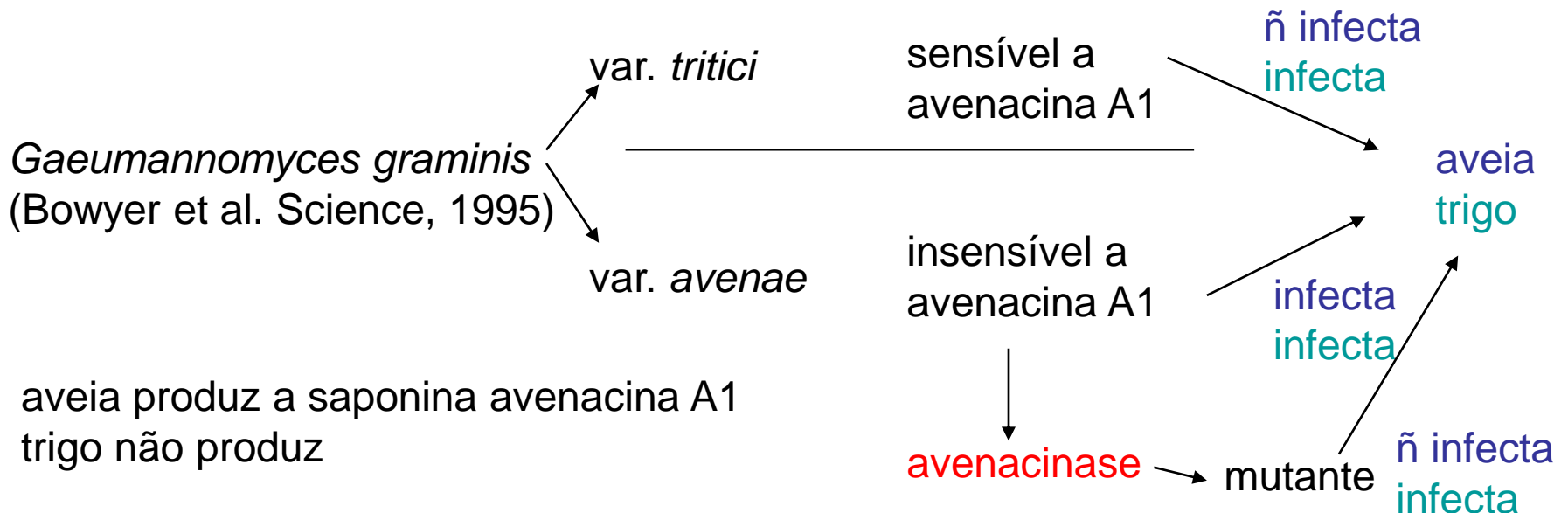
Estruturais -aposições na parede celular (papilas, lignificação, calose) e nos vasos (tiloses, caloses) e camadas de abscisão e cortiça.

Bioquímicos [sinalizações (**hormônios, A.S.**), proteínas de choque térmico (HSP), fitoalexinas, **HR, espécies reativas de oxigênio-EROs, PR-proteínas**]

Mecanismos pré-formados : metabólitos secundários

metabólitos secundários – glicosídeos, alcalóides, quinonas, óleos, flavonóides

Saponinas
Saponinas

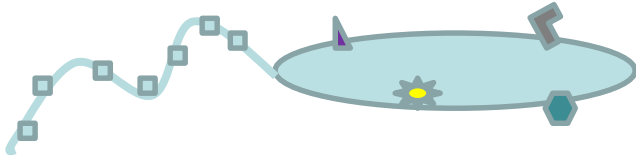


Mecanismos pós-formados:

Está implícito que estes mecanismos precisam ser ativados
Após a chegada do patógeno

microrganismo

Ativação de mecanismos pós-formados



Mas o que é reconhecido?

Evento: reconhecimento

Evento: ativação do sistema e respostas de defesa

Resistência não hospedeiro
(incompatibilidade)

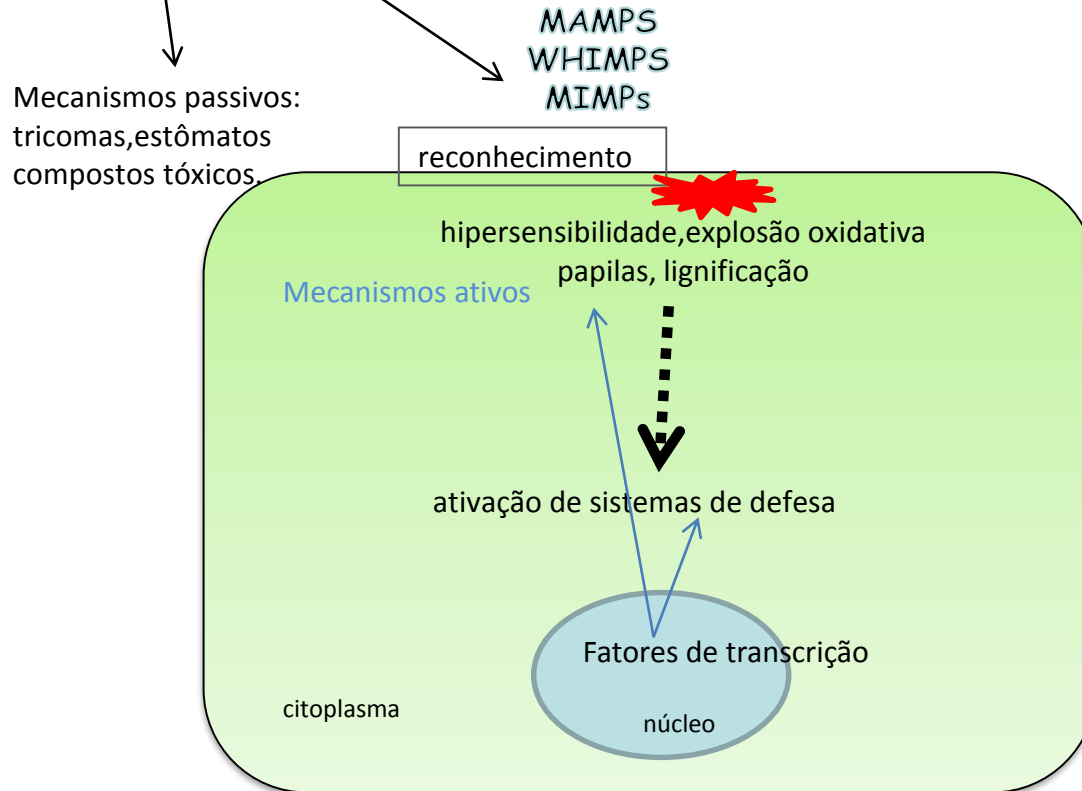
EROs; HR; Pr-proteínas; lignificação...

Célula vegetal

Não patógeno

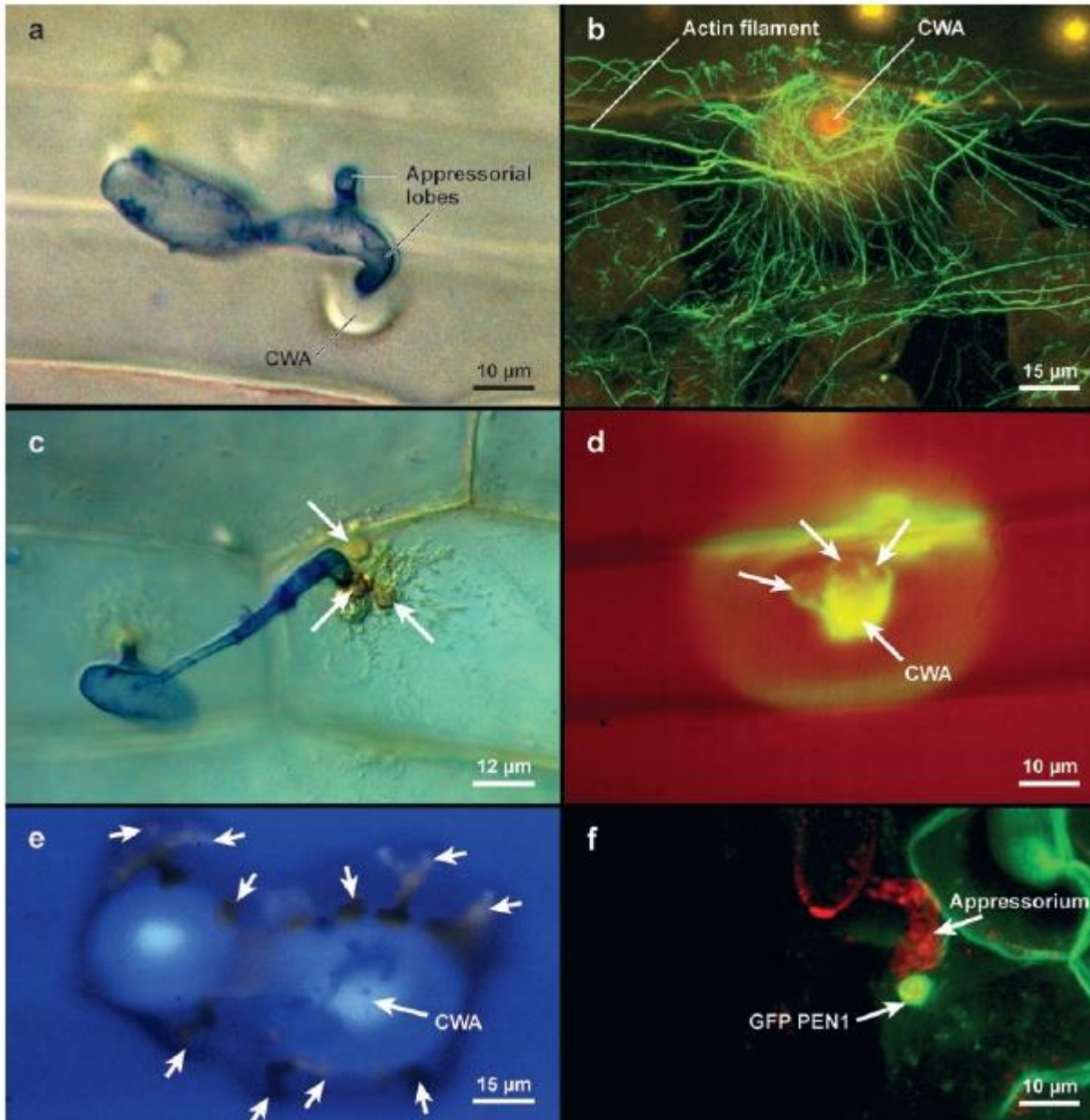
Resistência
Não-
hospedeiro

O que é reconhecido? MAMPS e PIMPS



Micorganism associated molecular patterns
Pathogen induced molecular patterns
Wound herbivore induced molecular pattern

Aposições na parede celular: exemplos



Annu. Rev. Phytopathol. 2007. 45:101–27

Cell Wall–Associated
Mechanisms of Disease
Resistance and Susceptibility

Ralph Hüekelhoven
Technical University of Munich, 85350 Freising, Germany;
email: huekelhoven@wzv.tum.de

Mecanismos de defesa **estruturais** pós- formados: aposição na parede

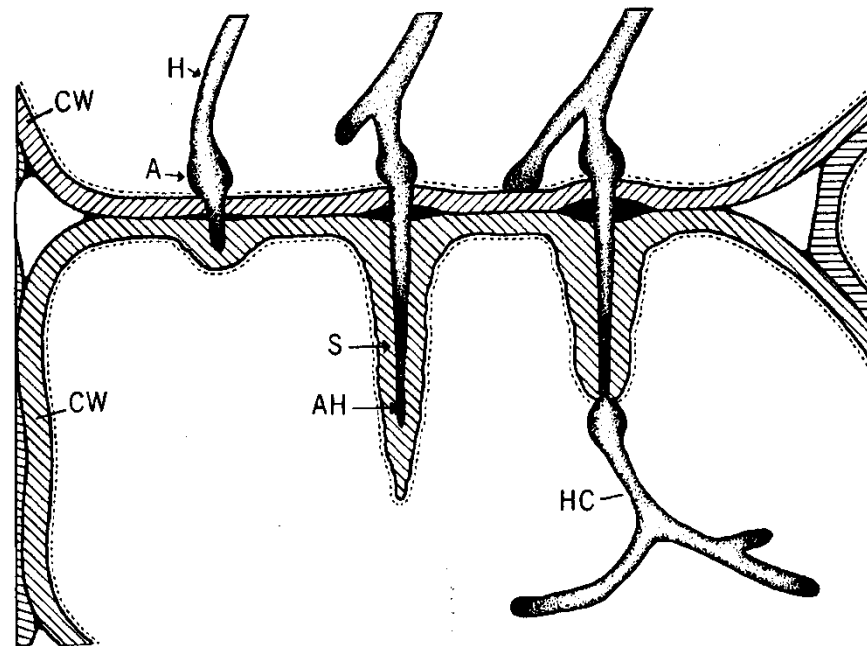


FIGURE 5-3 Formation of a sheath around a hypha (H) penetrating a cell wall (CW). A, Appressorium; AH, advancing hypha still enclosed in sheath; HC, hypha in cytoplasm; S, sheath.

Formação de bainhas - **Tipo I**

Mecanismos de defesa

Estruturais pós-formados : **aposições nos vasos**

Formação de tiloses - **Tipo I**

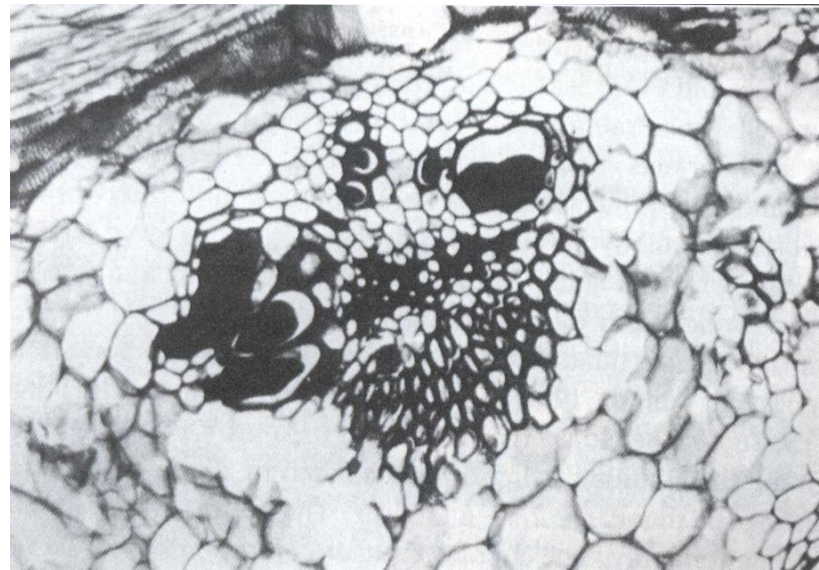
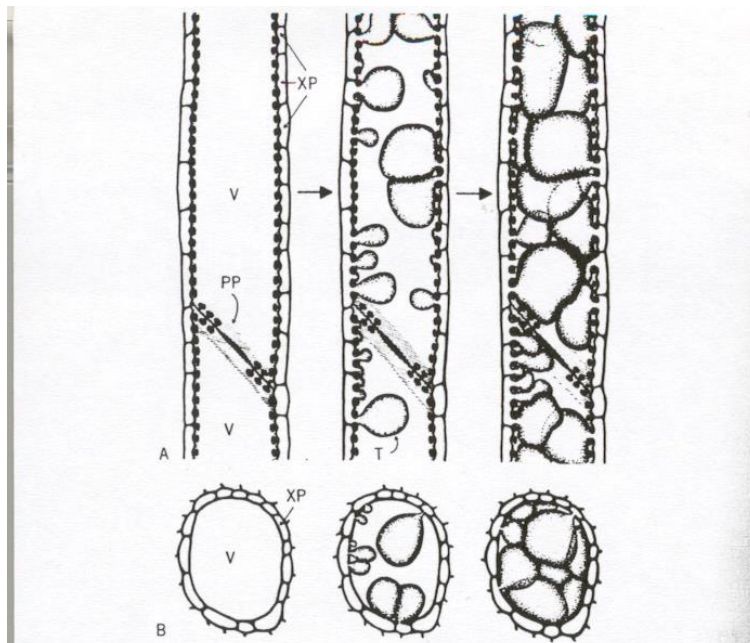


FIGURE 5-7 Development of tyloses in xylem vessels. Longitudinal (A) and cross-section (B) views of healthy vessels (left) and of vessels with tyloses. Vessels at right are completely clogged with tyloses. PP, Perforation plate; V, xylem vessel; XP, xylem parenchyma cell; T, tylosis.

Mecanismos de defesa Estruturais pós-formados

Formação de camadas de cortiça (Tipo II)

INDUCED STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL DEFENSES

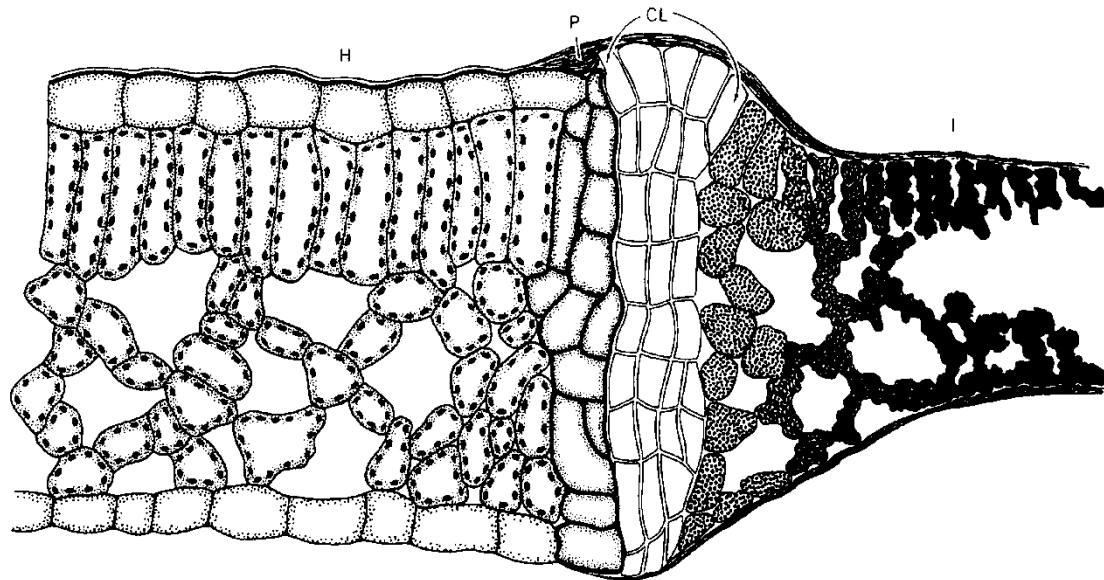


FIGURE 5-4 Formation of a cork layer (CL) between infected (I) and healthy (H) areas of leaf. P, Phellogen. [After Cunningham (1928), *Phytopathology* 18, 717-751.]

Mecanismos de defesa

Estruturais pós-formados: camadas de abscisão

Tipo II?

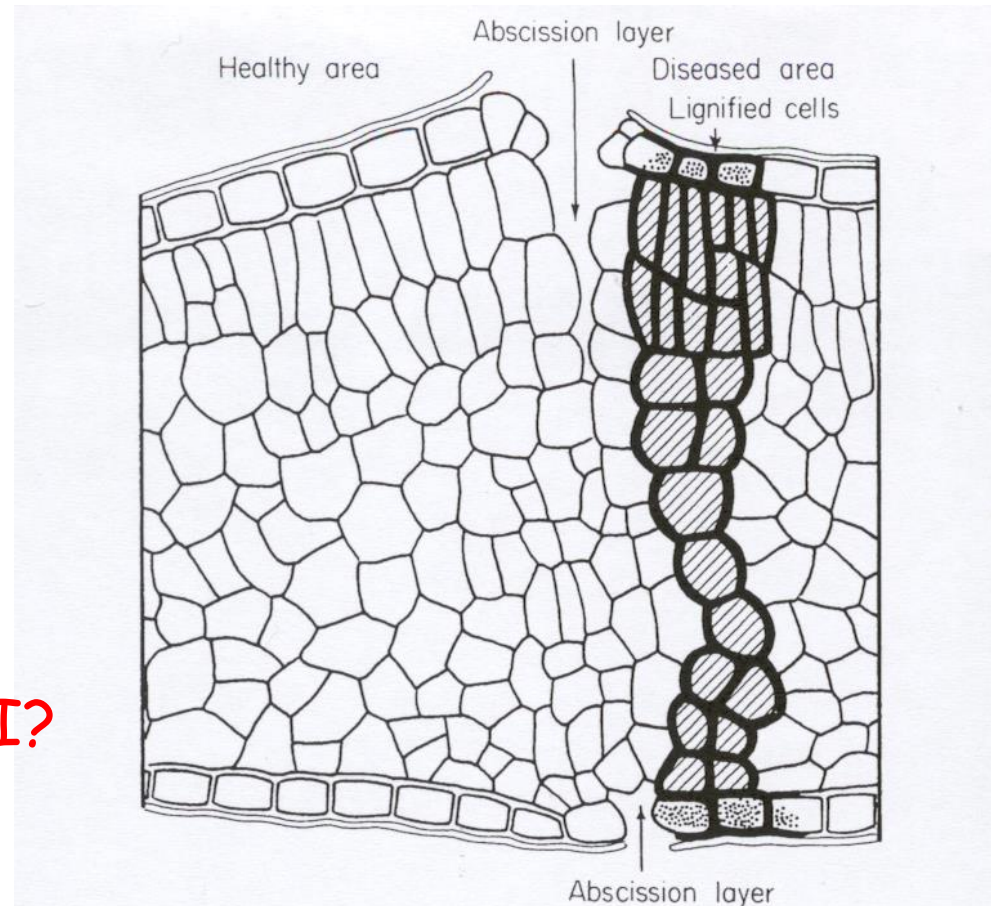


FIGURE 5-6 Formation of an abscission layer around a diseased spot of a *Prunus* leaf. [After Samuel, G. (1927), *Ann. Bot.* 41, 375–404.]

Mecanismos de defesa Bioquímicos pós-formados: reação de hipersensibilidade

Definição: A very general definition of the HR could therefore be an area of cell death that forms at the point of attempted pathogen ingress and which correlates with the exhibition of resistance.

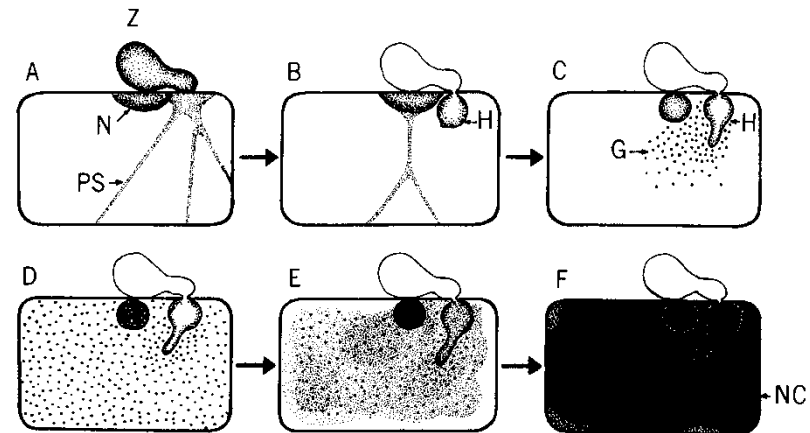


FIGURE 5-8 Stages in the development of the necrotic defense reaction in a cell of a very resistant potato variety infected by *Phytophthora infestans*. N, Nucleus; PS, protoplasmic strands; Z, zoospore; H, hypha; G, granular material; NC, necrotic cell. [After K. Tomiyama (1956), *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 21, 54–62.]

Journal of Experimental Botany, Vol. 59, No. 3, pp. 501–520, 2008
doi:10.1093/jxb/erm239 Advance Access publication 12 December, 2007

Journal of
Experimental
Botany
www.jxb.oxfordjournals.org

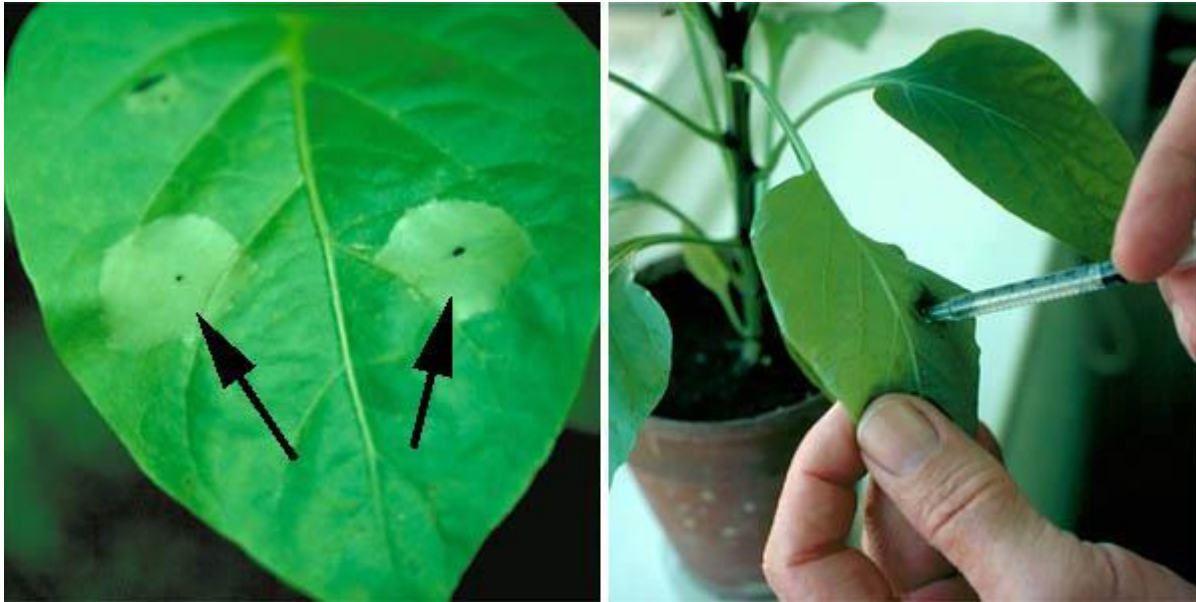
FOCUS REVIEW PAPER

**The hypersensitive response; the centenary is upon us but
how much do we know?**

Luis A. J. Mur^{1*}, Paul Kenton¹, Amanda J. Lloyd¹, Helen Ougham² and Elena Prats³

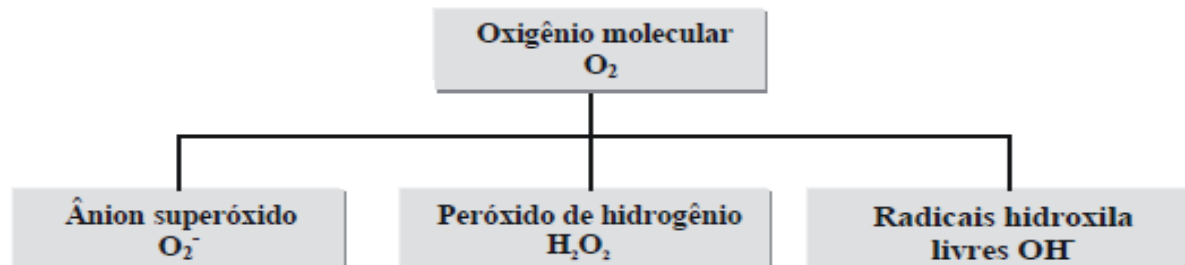
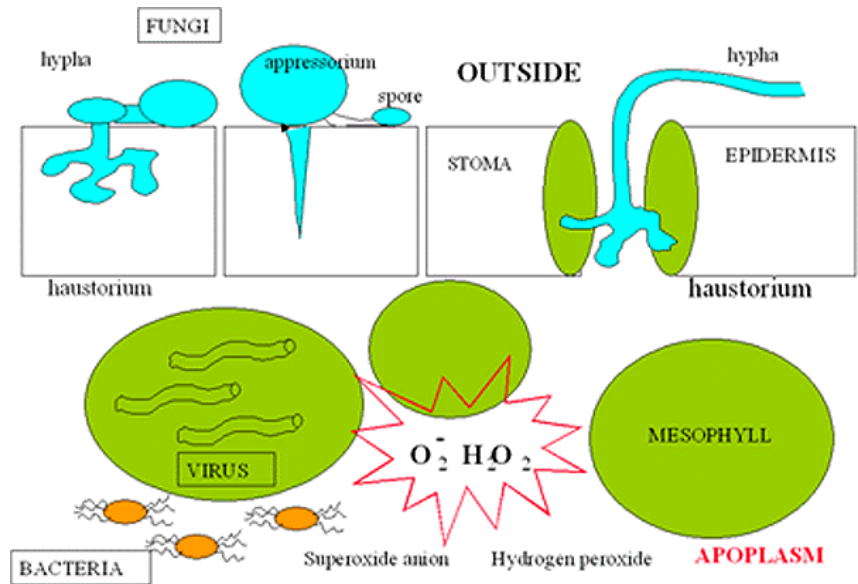
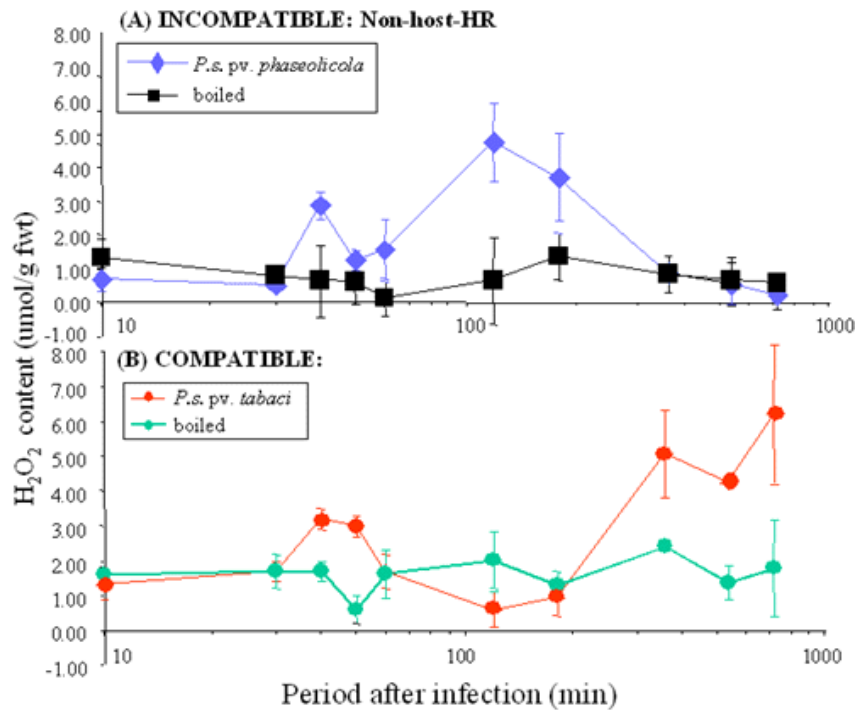
Também denominada de morte celular programada (**Programmed cell death – PCD**)
Pois é um evento regulado pela célula atacada e freqüentemente
também por células adjacentes

Indução da HR - método da infiltração



Within 18 to 36 hours, a resistant response is indicated by a rapid collapse of the infiltrated area (a hypersensitive response, HR) (Figure 14). In a susceptible plant, the infiltrated area develops a chlorotic, water-soaked appearance, but not until 3 to 5 days after infiltration.

ROS (espécies reativas de oxigênio) – Tipo II



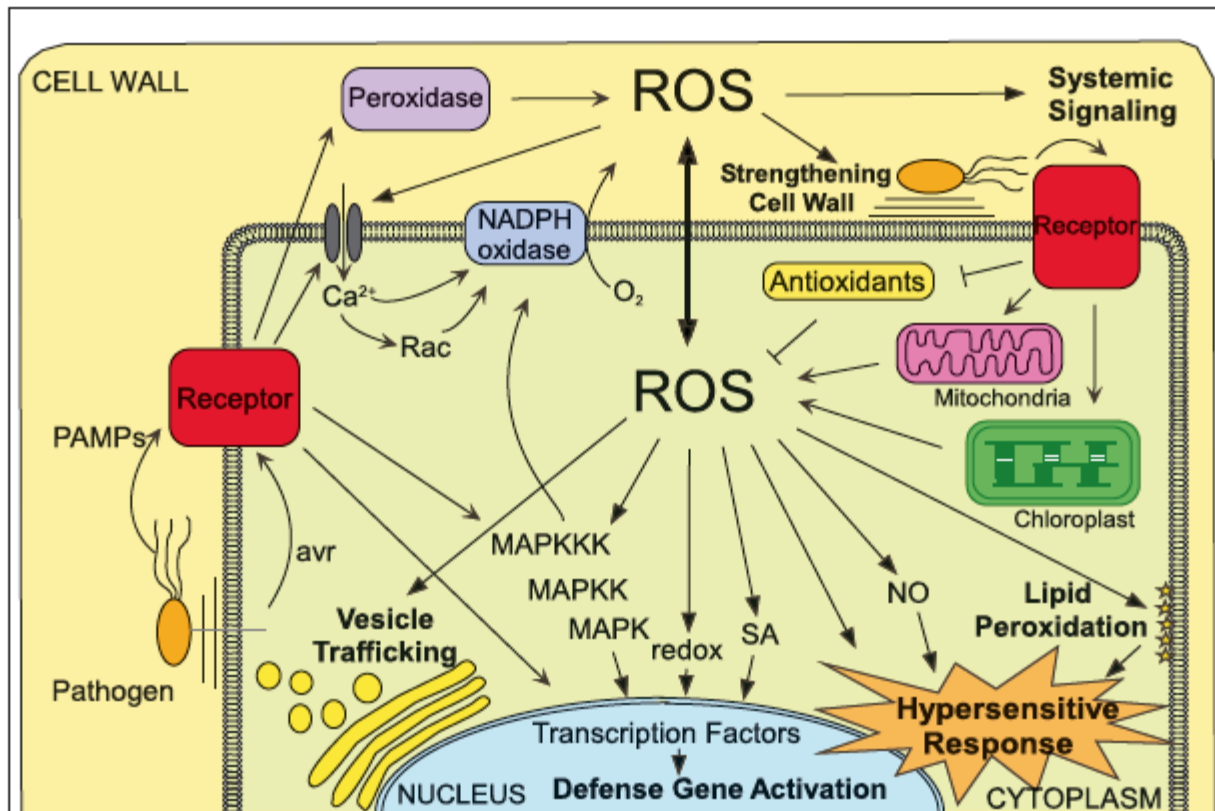


Fig. 2. Pathogen recognition leads to ROS production that has different functions associated to activation of plant defenses. Thin arrows depict signaling events that point to ROS production both in the apoplast and inside the plant cell. Double-headed arrow indicates the cross talk between ROS in these compartments. Thick arrows point to the functions of these ROS in relation to activation of plant defenses.

EROS:

- efeito direto no patógeno
- papel sinalizador

Fitoalexinas: defesa ou uma simples resposta ao estresse?

Definição: compostos antimicrobianos produzidos após a infecção ou elicitação por um agente biótico

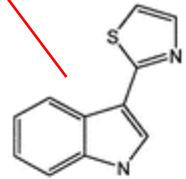
- efeito antimicrobiano – na maioria das vezes avaliado *in vitro*
- algumas também são produzida em reações compatíveis
- restrição no crescimento do patógeno deve estar associada a produção da fitoalexina
- devem acumular no sítio de infecção em variedades resistentes em níveis tóxicos
- ausência do composto deve resultar em suscetibilidade

Annu. Rev. Phytopathol. 1999. 37:285–306
Copyright © 1999 by Annual Reviews. All rights reserved

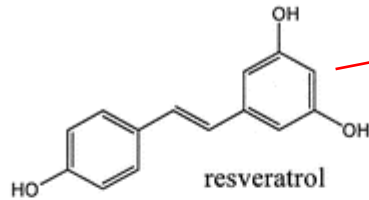
PHYTOALEXINS: What Have We Learned
After 60 Years?

Exemplos de fitoalexinas: Natureza química diversa

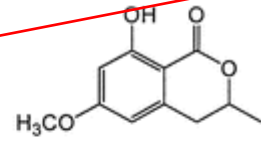
indólico



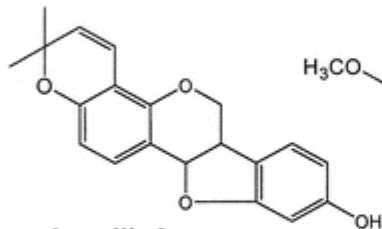
camalexin



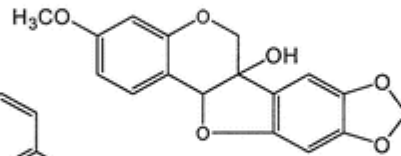
resveratrol



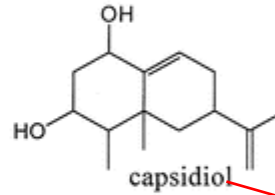
6-methoxymellein



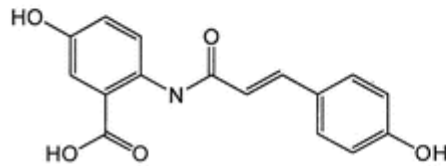
glyceollin I



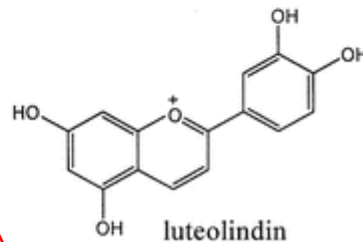
pisatin



capsidiol



avenanthramide A



luteolindin

polifenol

terpeno

isoflavonóide

Mecanismos de defesa Bioquímicos pós-formados

Fitoalexinas: compostos que se acumulam

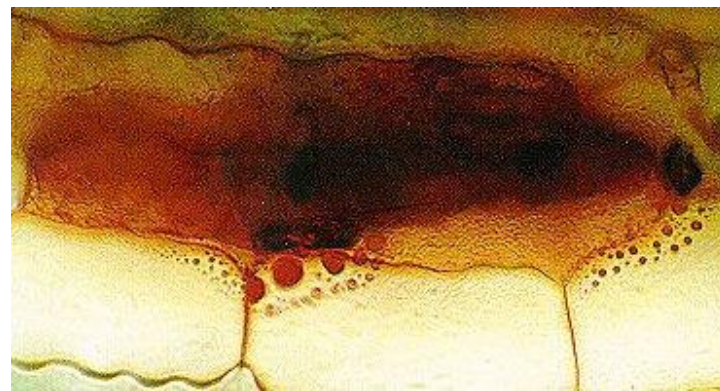


24 horas

30 horas

32 horas

36 horas



42 horas



Resistência de hospedeiro:

resistências

raça específica e raça inespecífica

Resistências

- Raça-específica: efetiva contra certos genótipos de uma espécie de patógeno. Comum em patógenos biotróficos. Vertical. Qualitativa (tudo-ou-nada).
- Raça-inespecífica: efetiva contra todos os genótipos. Horizontal. Quantitativa

Resistência raça-específica



Brassica x Albugo



Pimentão x *Xanthomonas vesicatoria*



Melão x *Podospaera xanhtii*

Generalidades:

Resistência geralmente é monogênica, qualitativa, menos durável, mas mais fácil de ser selecionada.



Resistência raça-específica a oídio (*Podosphaera xanthii*) em melão.

Resistência raça-específica: reação de hipersensibilidade



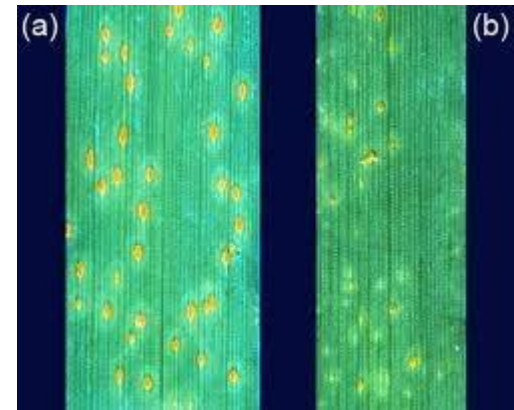
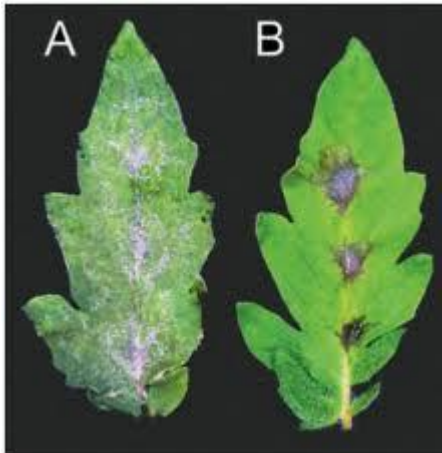
Reação de hipersensibilidade
(pimentão.- Xanthomonas)



Reação de Suscetibilidade

Resistência raça-inespecífica

atrasa a infecção, colonização e/ou reprodução do patógeno.



Generalidades:

Resistência geralmente é poligênica, quantitativa, mais durável, mas mais difícil de ser selecionada.

Resistência raça-inespecífica

atrasa a infecção, colonização e/ou reprodução do patógeno.



Antracnose de colmo (*Colletotrichum graminicola*) em milho Tese R.R. Matiello, 2004.

Resistência raça-específica e a Teoria
Gene-a-Gene de Flor: entendendo as
bases moleculares



A teoria gene-a-gene de Flor: pioneirismo
no entendimento das bases moleculares
da resistência raça-específica (mediada por genes R)

Cruzamentos entre cultivares do hospedeiro (linho)

Teoria Gene-a-gene de Flor

Flor 1945, 46, 47

Patossistema Linho x *Melampsora lini*

Análise de segregação para resistência à **raça 22**:

Bombay	Ottawa	F1	F2	
			Resist	Susct.
R	S	R	153	41

Análise de segregação para resistência à **raça 24**:

Bombay	Ottawa	F1	F2	
			Resist	Susct.
S	R	R	142	52

Atenção:

*Notar que resistência é dominante
e monogênica*



Faz sentido!!

Cruzamentos entre raças do patógeno



Teoria Gene-a-gene de Flor

Flor 1945, 46, 47

Patossistema Linho x *Melampsora lini*

Cultivar	Raça		F1	F2	
	22	24		Vir	Avir
Buda	V	V	V	133	0
JWS	A	A	A	0	133
Bombay	A	V	A	28	105
Bolley Gold	V	A	A	6	127
Morye	V	A	A	3	130
Ottawa770 B	V	A	A	32	101

Flor, H.H. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Journal of Agricultural Research* 73:335-357. 1946.

Flor, H.H. Inheritance of reaction to rust in flax. *Journal of Agricultural Research* 74:241-262. 1947.

Atenção:

*Notar que avirulência é dominante
e monogênica!!!*



Avirulência dominante em um patógeno??? Faz sentido??

“é difícil imaginar conceitualmente qual seria a vantagem seletiva para um patógeno em manter genes de avirulência que são reconhecidos pelo hospedeiro” (Staskawicz, 2001)

Staskawicz, Genetics of Plant Patogen interactions specifying plant disease resistance . Plant Physiology125:73-76. 2001.

Teoria Gene a Gene de Flor

"Para cada gene de resistência no hospedeiro há um gene complementar de patogenicidade no patógeno"

Na verdade, o gene complementar ao gene de resistência específica avirulência, daí o enunciado mais comum...

"Para cada gene de resistência no hospedeiro há um gene complementar de avirulência no patógeno"

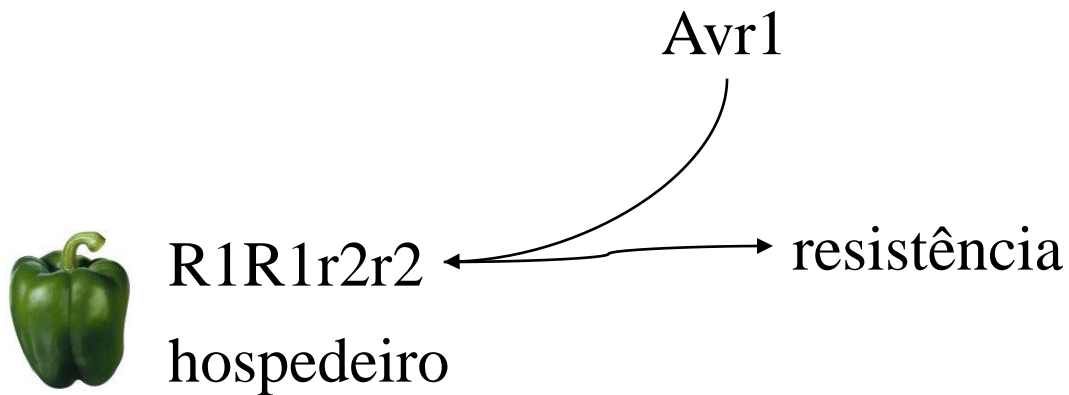
Interpretação da Teoria

O aparecimento de uma reação incompatível (resistência), depende da presença de um gene particular de resistência **R** no hospedeiro e de um gene particular de avirulência **Avr** no patógeno, como que ambos devessem “combinar” um com o outro.

*** o gene é chamado de Avr pois, se **RECONHECIDO** pelo hospedeiro torna o isolado avirulento

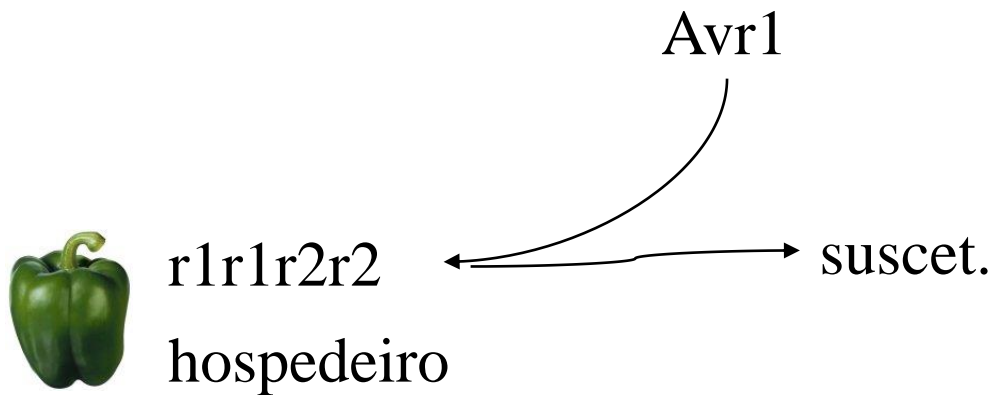
Interações entre genes R x Avr

Em sistemas onde há mais de um gene R e Avr envolvidos, a incompatibilidade é epistática sobre compatibilidade.



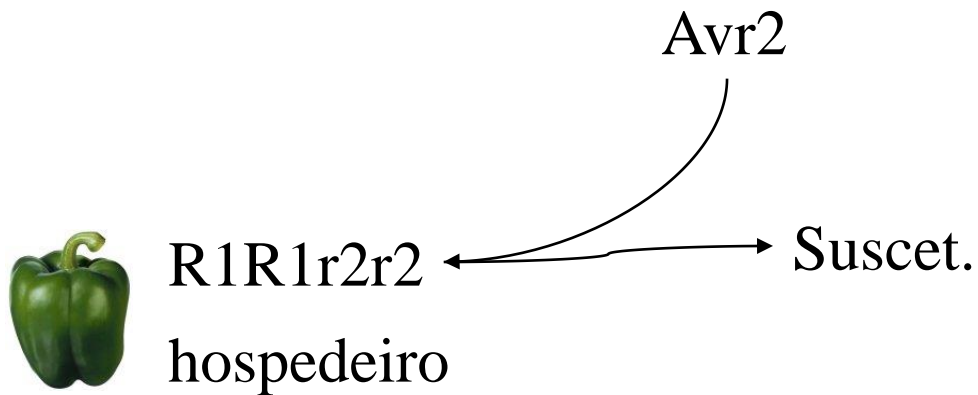
Interações entre genes R x Avr

Em sistemas onde há mais de um gene R e Avr envolvidos, a incompatibilidade é epistática sobre compatibilidade.



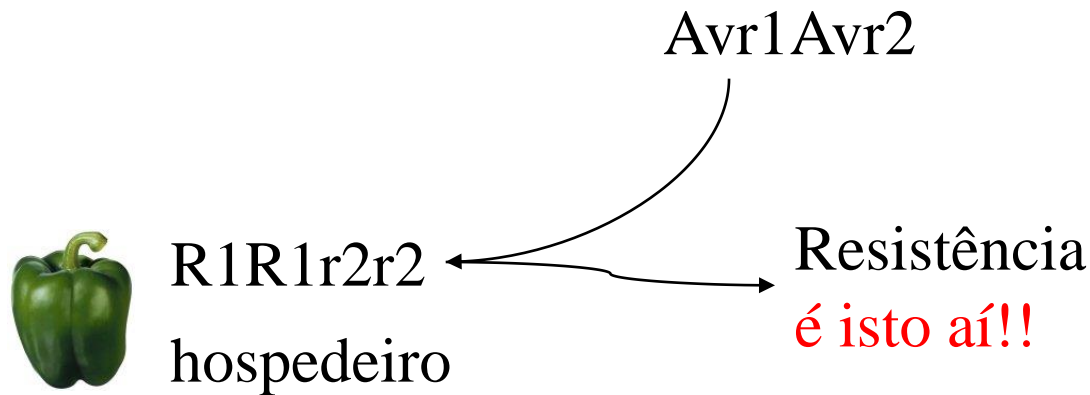
Interações entre genes R x Avr

Em sistemas onde há mais de um gene R e Avr envolvidos, a incompatibilidade é epistática sobre compatibilidade.



Interações entre genes R x Avr

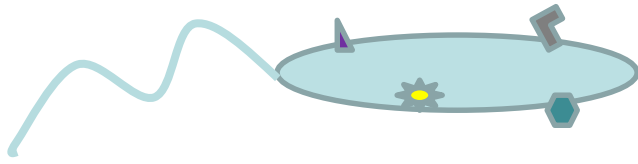
Em sistemas onde há mais de um gene R e Avr envolvidos, a incompatibilidade é epistática sobre compatibilidade.



Resistência de não-hospedeiro
e resistência de hospedeiro:

respostas estratificadas de um
mesmo sistema

Não patógeno



Como infectar a célula vegetal?

(como se tornar um patógeno? Como entrar no círculo?)

mutação

- Mudar os MAMPS (disfarçar)

- Sabotar

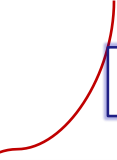
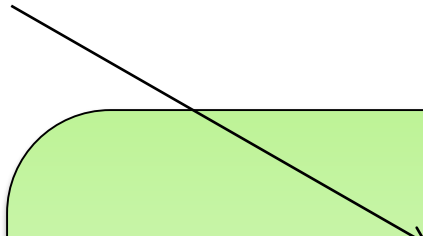
Efetores

Evento: ~~reconhecimento de MAMPS~~

Evento: ~~ativação do sistema e resposta de defesa~~

Quebra da resist. Ñ hosped
Resistência não hospedeiro
(susceptibilidade)
(incompatibilidade)

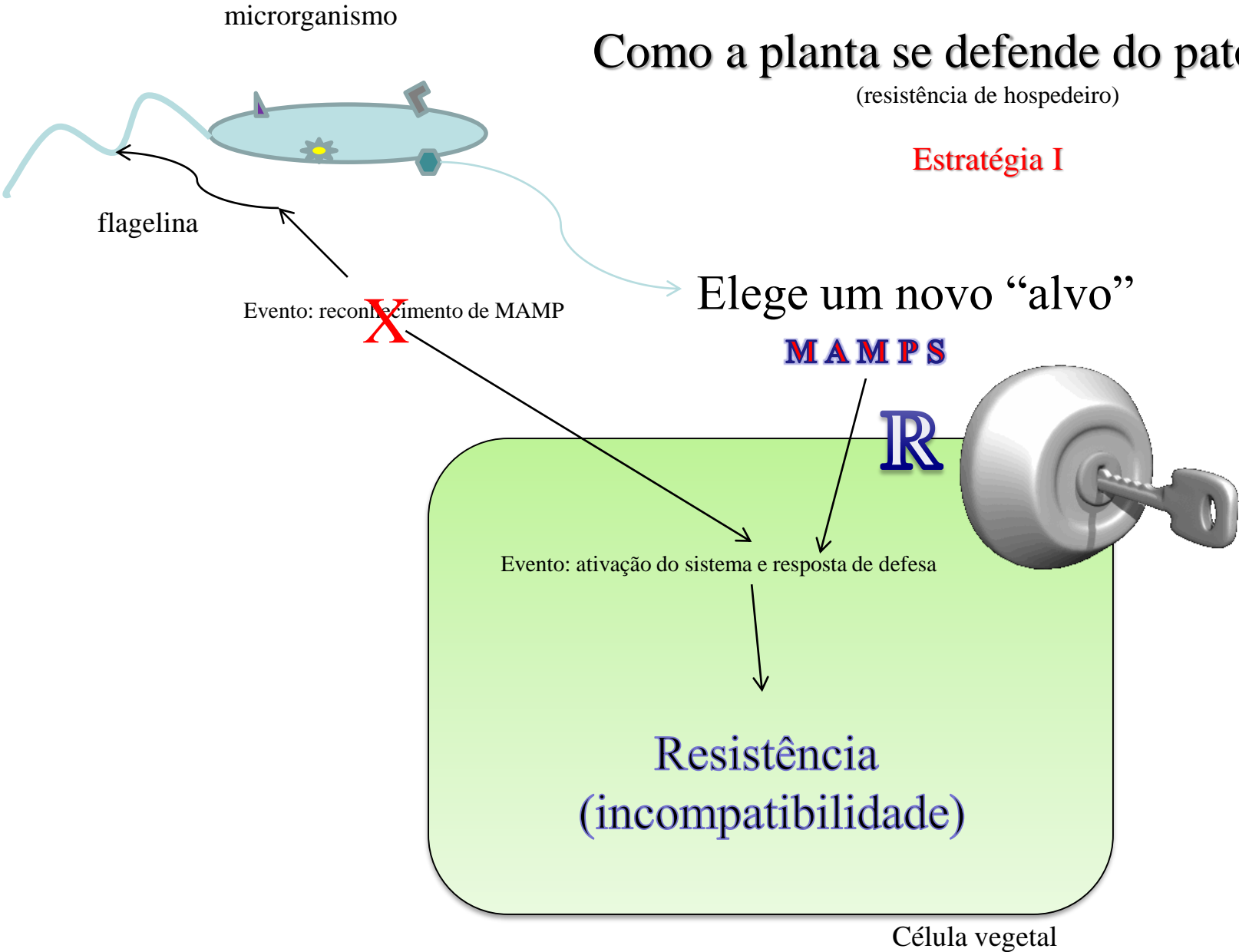
Célula vegetal



Como a planta se defende do patógeno?

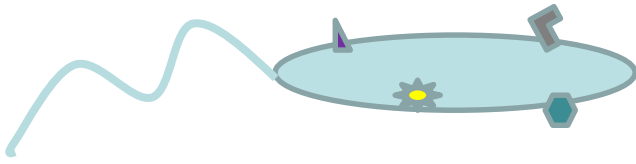
(resistência de hospedeiro)

Estratégia I



Modelo receptor-ligante

microrganismo



Como a célula se defende do patógeno?
(resistência de hospedeiro)

Estratégia II

Efetores

Evento: reconhecimento

Evento: ativação do sistema e resposta de defesa



Genes R que
"monitoram" o estado das
Moléculas-alvo dos
efetores

Suscetibilidade
(compatibilidade)
Resistência
(incompatibilidade)

Célula vegetal

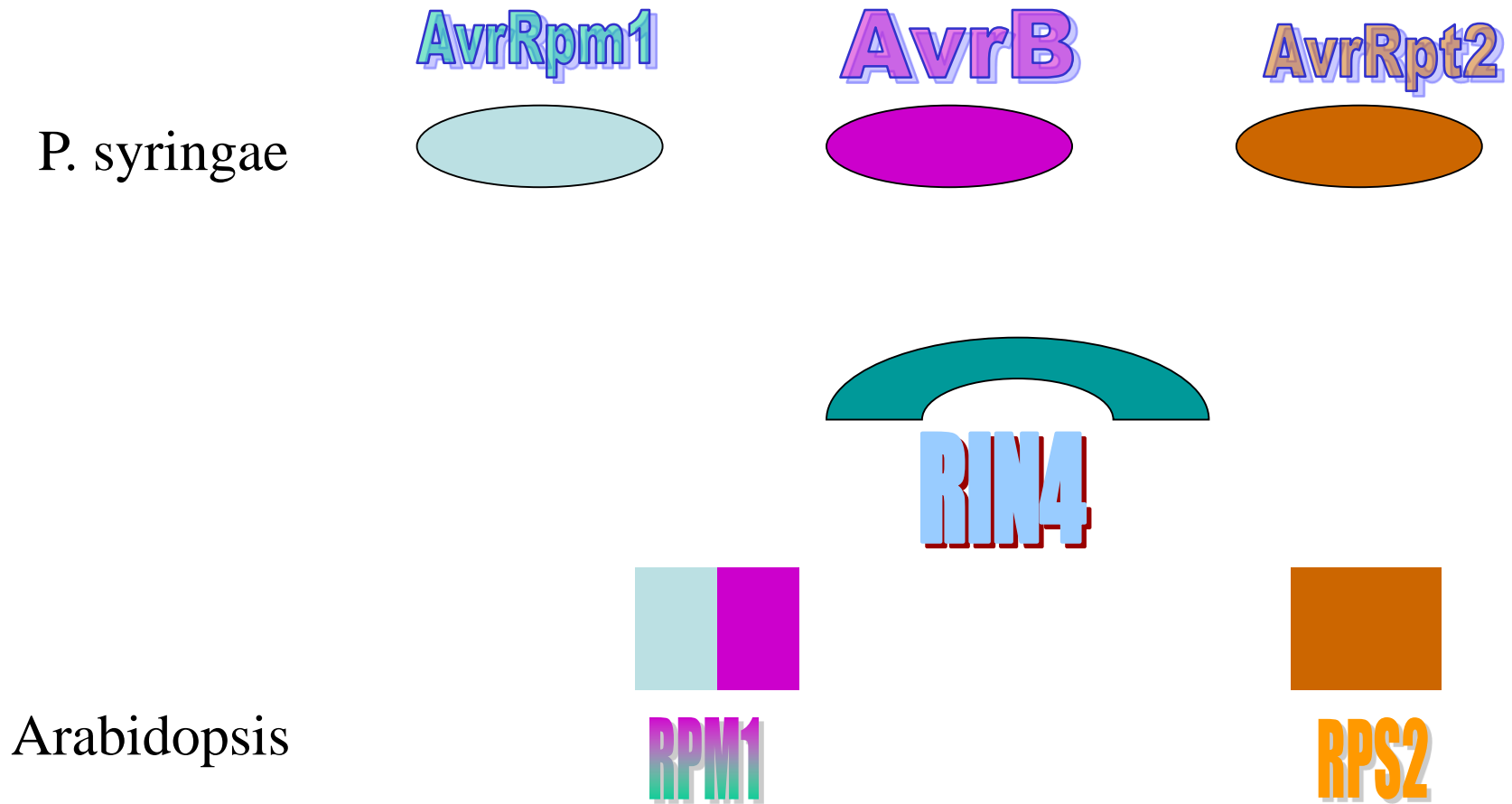
Modelo "guarda"

A lógica do modelo guarda

- Um efetor mira um alvo no hospedeiro
- A alteração do status deste alvo contribui para o sucesso do patógeno
- A alteração do status do alvo gera padrões de auto-modificações induzidas pelo patógeno (**PIMP - Pathogen induced modified-self molecular pattern**)
- Estes padrões ativam o sistema de defesa

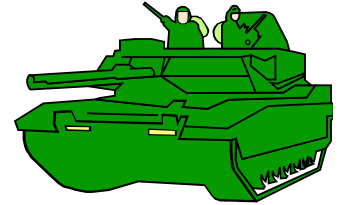
The plant immune system

O gene RIN4 é alvo de três efetores pois é essencial para a ativação do sistema de defesa ; os genes de resistência RPM1 e RPS2 guardam RIN4



Modelo: RPM1 e RPS2 guardam RIN4

Teoria implica em "corrida armamentista"



“Uma metáfora popular na literatura vê a co-evolução de Genes R e Avr como uma corrida armamentista. Nesta, um gene R é derrotado como resultado de uma mutação no gene Avr correspondente, que permite o patógeno escapar ao reconhecimento pelo hospedeiro”.

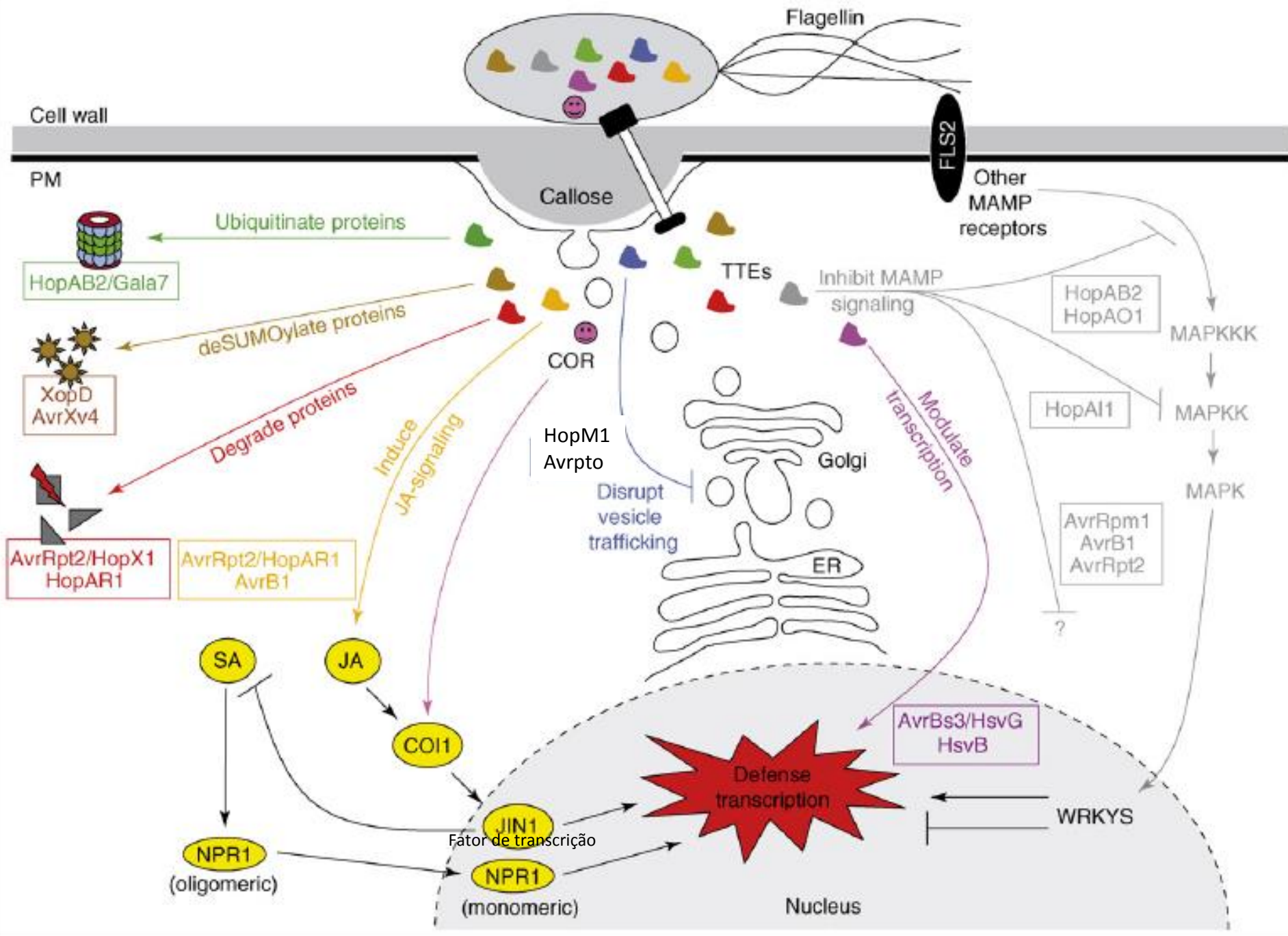
Ellis, J., Dodds, P., Pryor, T. Structure, function and evolution of plant disease resistance genes. **Current Opinion in Plant Biology** 3:278-284. 2000.

Efetores

- Moléculas produzidas por microrganismos que promovem seu crescimento interagindo com o hospedeiro.
(Bent & Mackey, 2007)

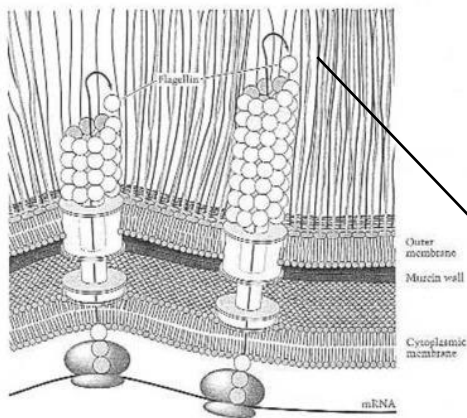
OU, num sentido mais amplo

Moléculas que contribuem para a adaptabilidade do microrganismo
(Jones & Dangl, 2006)



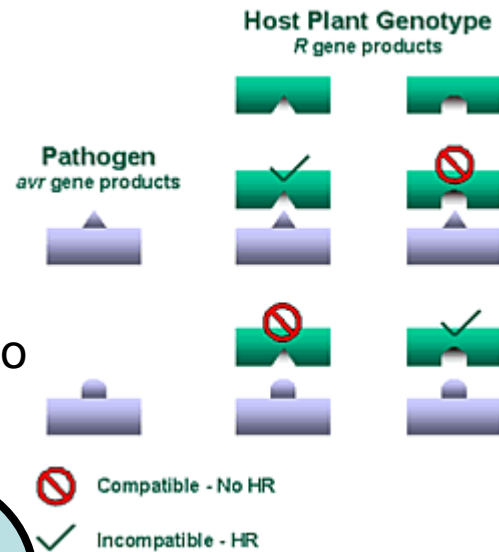
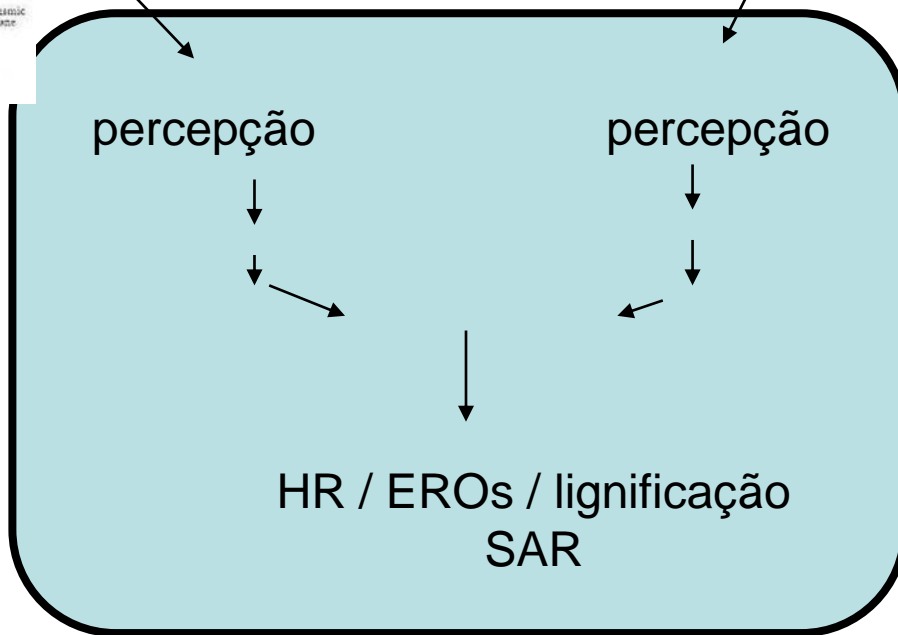
RÑH e RH são respostas de um mesmo sistema, só que em estratos diferentes...

R^{NH} e RH: vias conectadas



Não patógeno

patógeno



Não patógeno

Resistência Não-hospedeiro

Mecanismos passivos: tricomas, estômatos compostos tóxicos.

Patógeno avirulento

Resistência Raça-específica

Teoria gene-a-gene (genes R – raça-específica)

Modelo receptor-ligante
Modelo guarda

reconhecimento

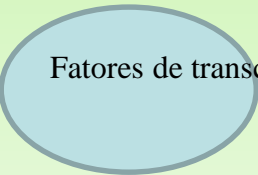
reconhecimento



AS; JA; ET

ativação de sistemas de defesa

Mecanismos ativos



Fatores de transcrição

hipersensibilidade, explosão oxidativa papilas, lignificação, PR-proteínas, etc...

Resistência Sistêmica

RESISTÊNCIA É INDUZIDA EM OUTROS TECIDOS



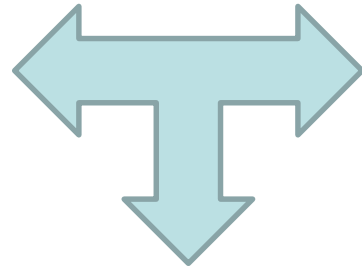
patógenos Não patógeno

ferimentos

insetos herbívoros

agentes químicos
(INA ; AS; BTH)

rizobactérias



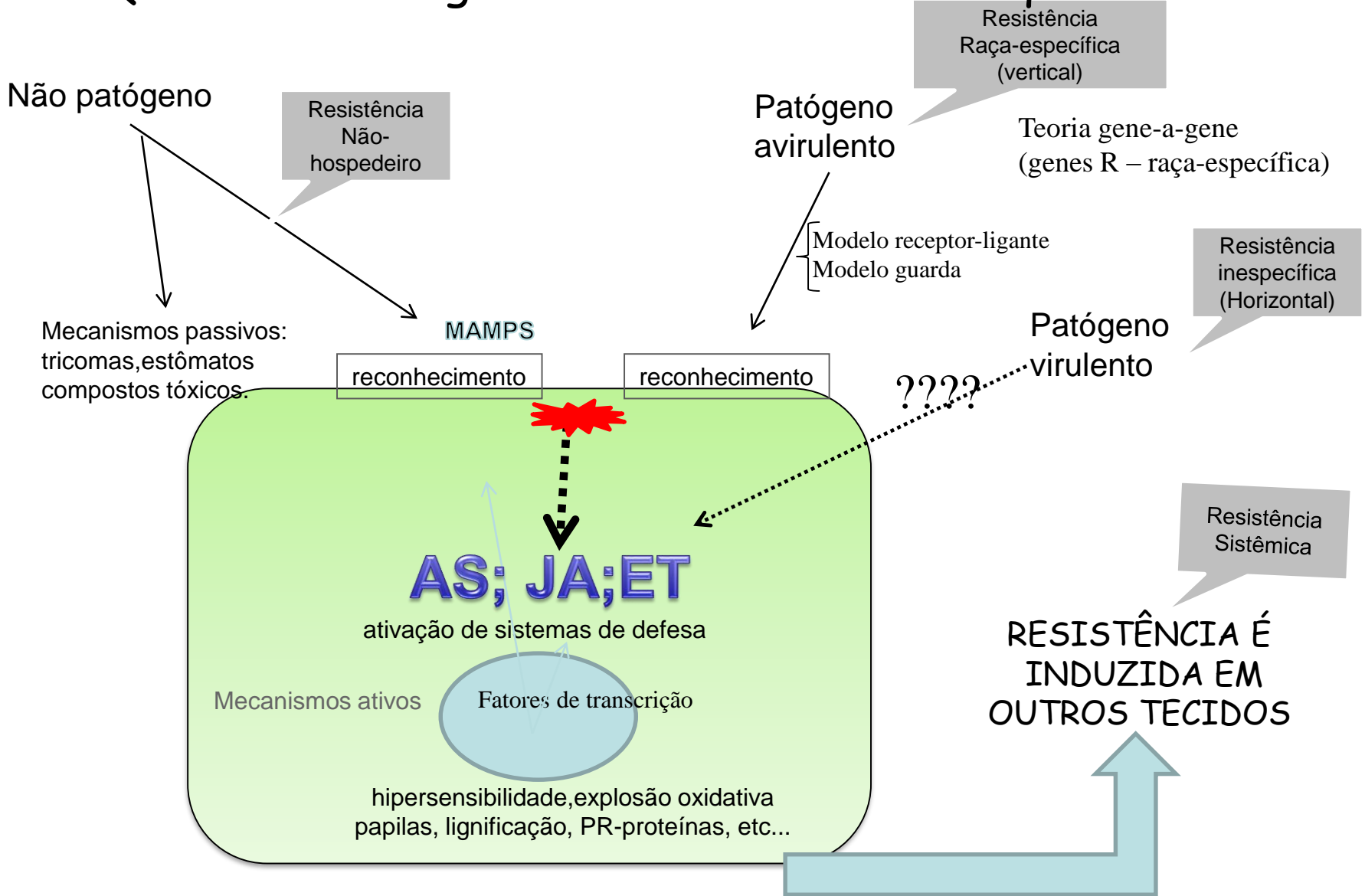
Resistência
Sistêmica

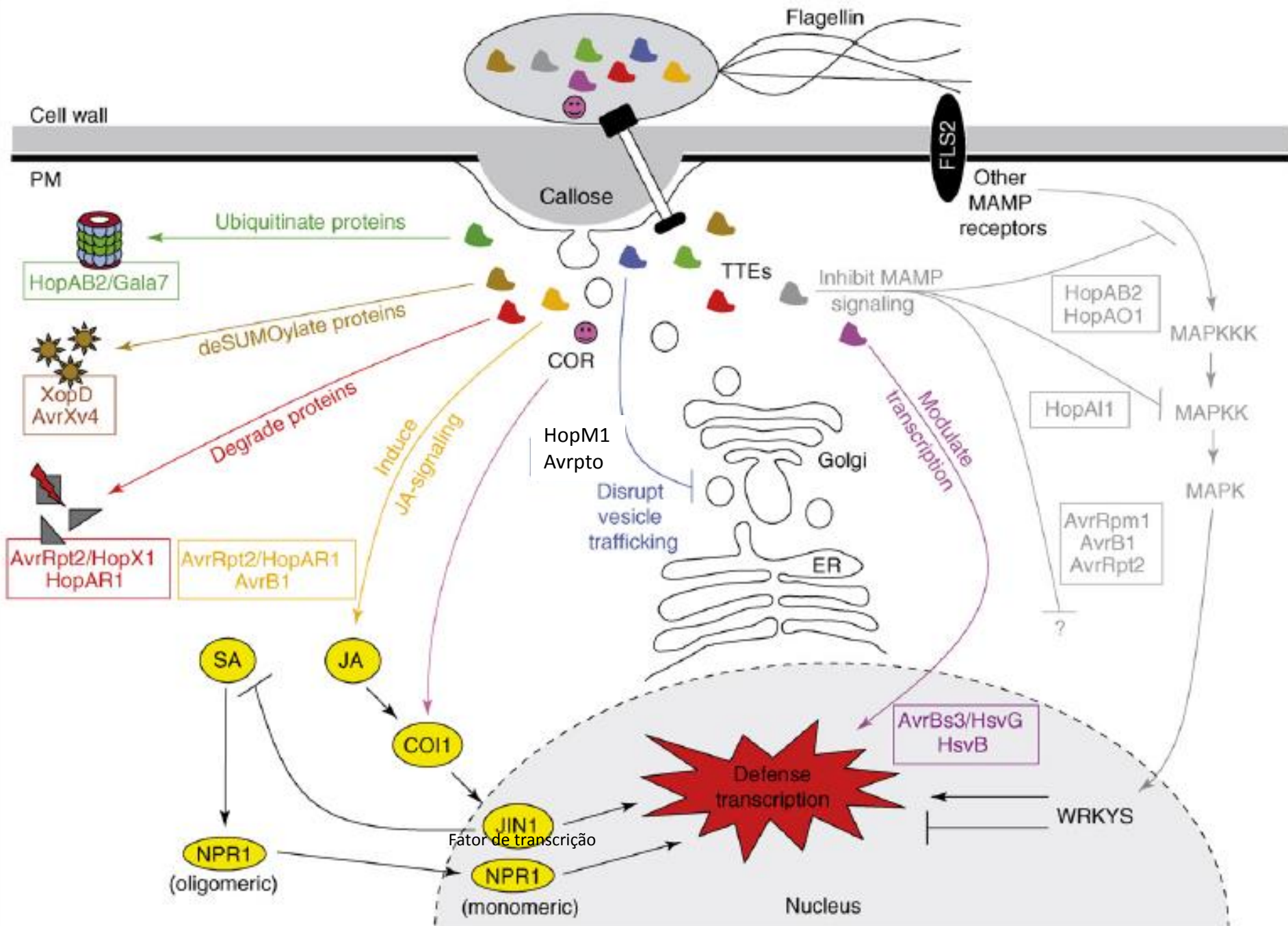
**RESISTÊNCIA É
INDUZIDA EM
OUTROS TECIDOS**



E a resistência raça-
inespecífica, horizontal,
quantitativa?

Quais as bases genéticas da resistência quantitativa?





- fim