

LFT-5880

Módulo: Controle genético de
doenças de plantas

Melão resistente ao vírus do mosaico

Melão suscetível ao vírus do mosaico

Assuntos:

Aula 1 – Conceitos de resistência genética

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

Aula 2 – Uso da resistência genética como método de controle

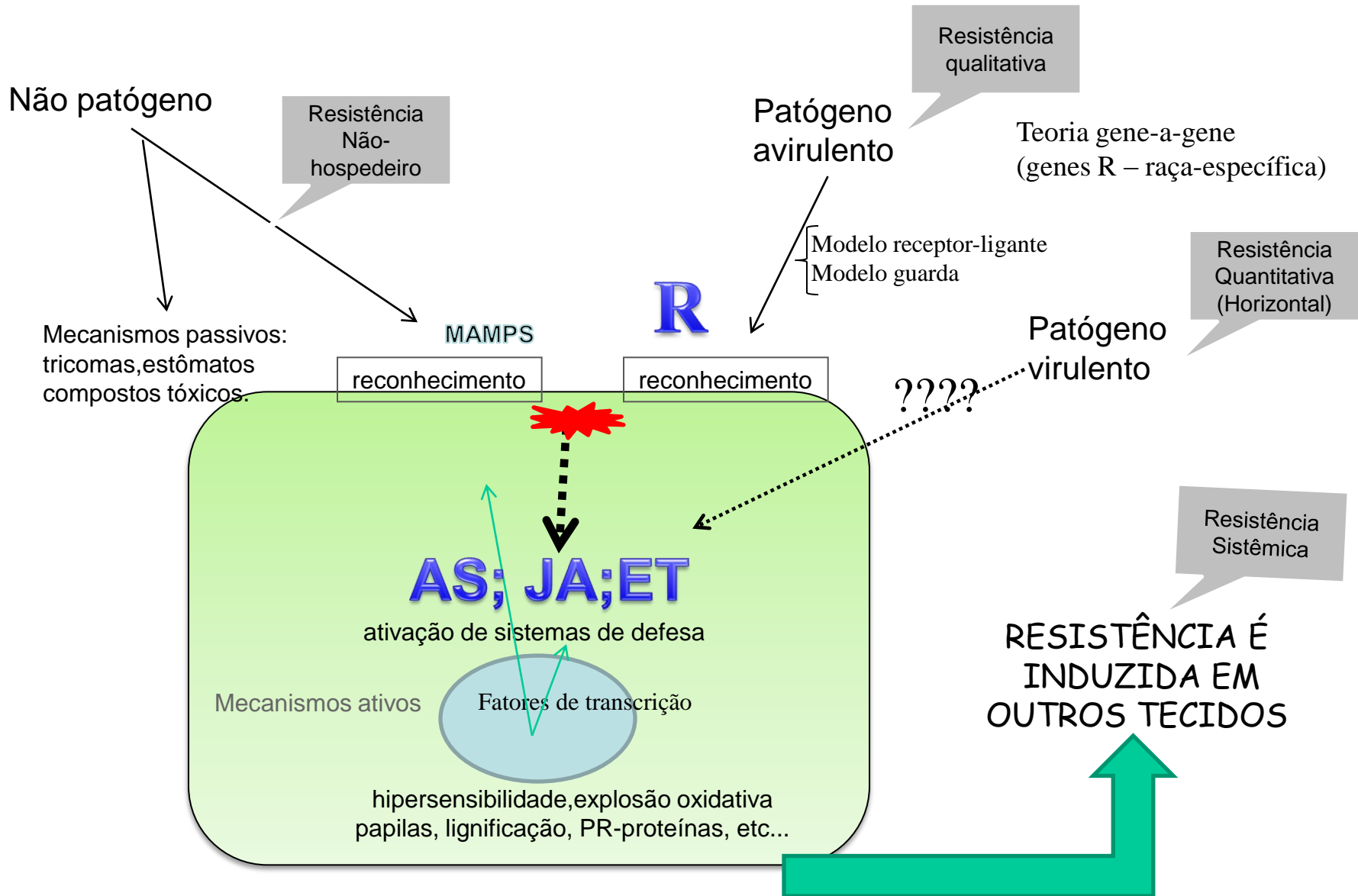
- Contrastes entre resistência raça-específica e raça-inespecífica
- O efeito “Vertifolia” – erosão da resistência raça-inespecífica
- O dogma central da evolução de genes R raça-específicos
- Seleção direcional e estabilizadora e o ciclo do “boom and boost”
- Estratégias contra ciclo “boom and boost” visando durabilidade da resistência raça-específica



Aula 2 – Melhoramento para resistência e estratégias de uso de genes R



Resistência de não-hospedeiro, raça-específica e inespecífica



Resistência raça-específica e inespecífica

Qualitativa geralmente é:

- Monogênica (gene R)
- Atua na infecção
- Qualitativa (vertical)
- Mais fácil de selecionar
- Menos durável

Quantitativa geralmente é:

- Poligênica
- Atua na colonização
- Quantitativa (horizontal)
- Mais difícil de selecionar
- Mais durável

Resistência raça-específica é qualitativa



Brassica x *Albugo*



Pimentão x *Xanthomonas vesicatoria*



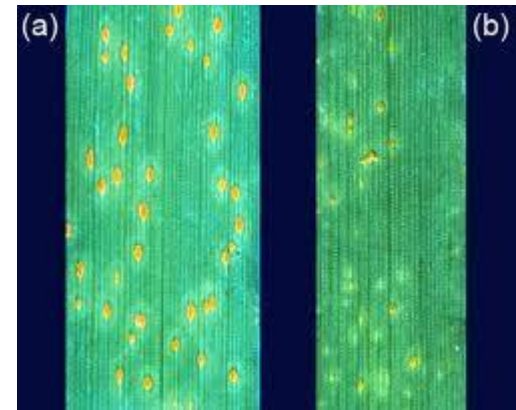
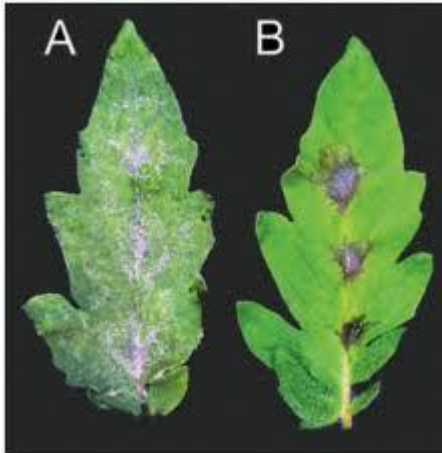
Melão x *Podosphaera xanthii*

Generalidades:

Resistência geralmente é monogênica, raça-específica, menos durável, mas mais fácil de ser selecionada.

Resistência inespecífica é quantitativa

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



Generalidades:

Resistência geralmente é poligênica, raça-inespecífica, **mais durável**, porém mais difícil de ser selecionada.

Efeito “Vertifolia” – erosão genética

Perda de resistência quantitativa em função de seleção de resistência raça-específica

Exs:

Phytophthora em batata, Europa (1958)

Bipolaris maydis raça T em milho, EUA
(1970)

Cercospora em milho, Brasil (2000)

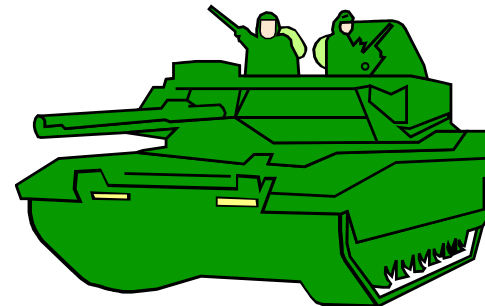
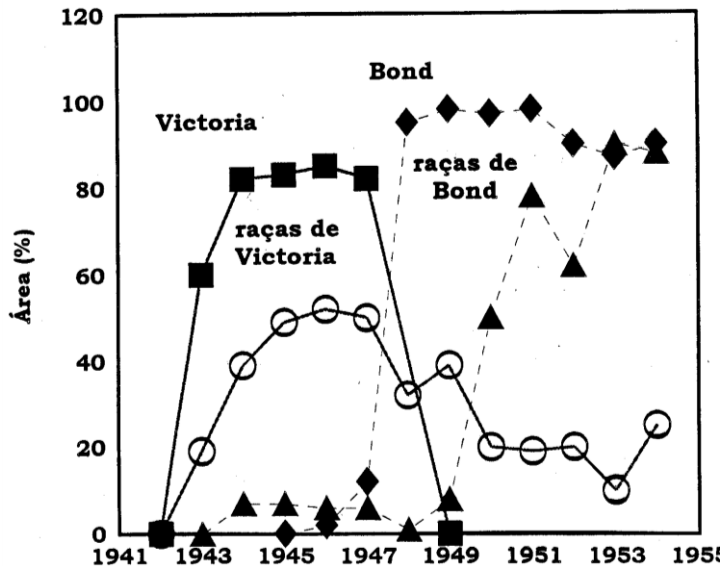
e o impacto da transgenia na erosão genética?



Quebra de genes R

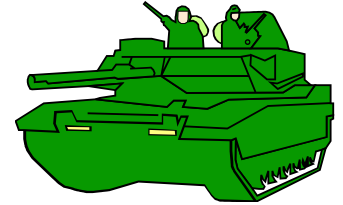
A noção de “guerra armamentista” nos ajuda a entender
O fenômeno de quebra de genes R.

Seleção dependente de frequência



Patossistema trigo x ferrugem

Dogma 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.

Latest Plant Health Research to be Presented in San Diego - Windows Internet Explorer

APS <http://www.apsnet.org/media/press/07WheatStemRust.asp>

Norton Internet Security
Norton AntiVirus

Google academic press Go 68 blocked Check AutoLink AutoFill Send academic press Settings

APS Latest Plant Health Research to be Presented in San ...

APSnet
Plant Pathology Online

- ABOUT APS
- JOURNALS & NEWS
- APS MEMBER AREA
- CAREERS & PLACEMENT
- EDUCATION CENTER
- ONLINE RESOURCES
- CENTENNIAL COUNTDOWN
- CALENDAR
- MEETINGS
- MEDIA/PUBLIC AFFAIRS
- APS PRESS
- APS FOUNDATION
- MEMBER DIRECTORY
- DIRECTORIES & ROSTERS
- APS INTERACTIVE
- JOIN APS!
- CONTACT APSnet

Media/Outreach Center
The American Phytopathological Society

Overview • Hot Topics/Recent Research • News Releases • Media Kit
Members in News • Media Mentions • Journalism Award • Media Events
Sign-Up • Public Policy Initiatives • Position Statements • Contacts

PRESS RELEASE


Contact: Amy Steigman
American Phytopathological Society
Phone: +1.651.454.7250
Web: www.apsnet.org
E-mail: asteigman@scisoc.org

Plant Pathologists Fighting Global Threat to Wheat Supply

St. Paul, Minn. (May 7, 2007) - A new, highly destructive strain of wheat stem rust is continuing to evolve and has the potential to devastate wheat production worldwide, say plant pathologists with The American Phytopathological Society (APS).

Stem rust of wheat was responsible for massive epidemics on wheat during the early 20th Century in North America. In the mid-1950s, wheat breeders developed wheat that had genetic resistance to the disease, making it all but disappear. Despite this success, a new, virulent strain of wheat stem rust, Ug99, evolved in Uganda and has already spread into Kenya, Ethiopia and Yemen, with the potential to spread into Pakistan, India, and China, and eventually North America.

“This new race could attack wheat varieties in many countries and could virtually overcome most of the wheat resistant varieties around the globe,” said David Marshall, research leader with the USDA-



The American Phytopathological Society (APS) is a non-profit, professional, scientific organization dedicated to the study and control of plant diseases.

Concluido

Internet 100%

Windows Taskbar: Iniciar, ug97 - Pesquisa Google, Windows Media Player, Caixa de entrada - Micro..., One Button Checkup, Desktop, Norton, 14:44, segunda-feira

Adobe Reader - [IR2007_002_GRI[1].pdf - Linked File]

File Edit View Document Tools Window Help

Open Save a Copy Print Email Search Select Text eBooks

Download New Reader Now

133%

Bookmarks Signatures Layers Pages



Dangerous wheat disease jumps Red Sea

Devastating fungal pathogen spreads from eastern Africa to Yemen, following path scientists predicted.

EL BATAN, Mexico and ALEPPO, Syria, —16 Jan 2007 FOR IMMEDIATE RELEASE

A new form of stem rust, a virulent wheat disease, has jumped from eastern Africa and is now infecting wheat in Yemen in the Arabian Peninsula.

Researchers with the Global Rust Initiative (GRI) and the Agricultural Research Service of the United States Department of Agriculture (USDA-ARS) have confirmed conclusively the existence of the disease in Yemen. There is also evidence that the disease has spread into Sudan but more tests are needed to confirm the finding. Until this discovery, this new strain of stem rust, known as Ug99, had only been seen in Uganda, Kenya and Ethiopia.

The last major epidemic of stem rust occurred in North America in the early 1950s, when a strain of stem rust destroyed as much as 40 percent of the continent's spring wheat

8,5 x 11 in

1 of 2

Iniciar ug97 - Pesquisa Google - ... Windows Media Player Caixa de entrada - Micro... One Button Checkup Desktop Norton 14:48 segunda-feira

Microsoft PowerPoint - [...] Global Rust Initiative - W... Adobe Reader - [IR20...

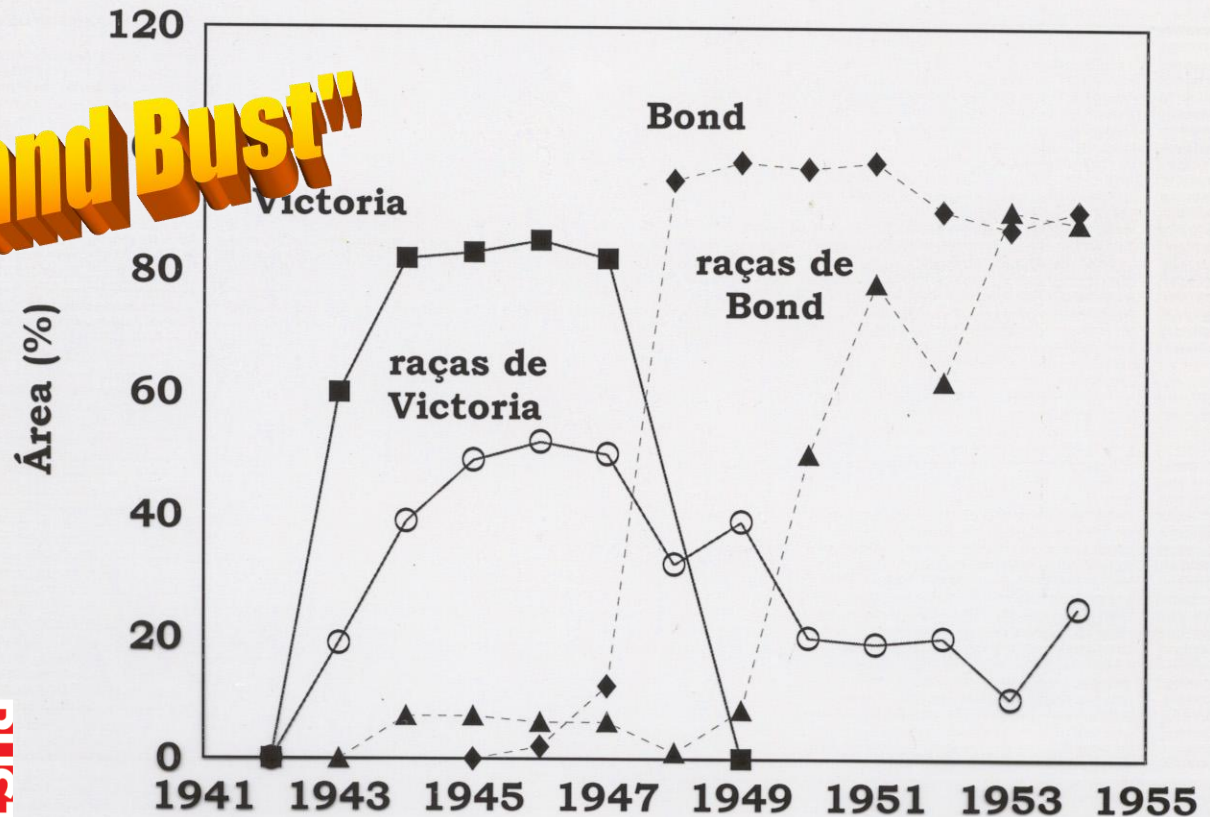
Seleção direcional e estabilizadora

Puccinia graminis f.sp. *tritici*

Ciclo "Boom and Bust"

BOOM

BUST



Seleção direcional e estabilizadora:

- *“Direcional: Seleção de um valor fenotípico maior ou menor do que a média”*
- *“Estabilizadora: Seleção contra fenótipos que desviam em qualquer direção do valor ótimo de uma característica”*

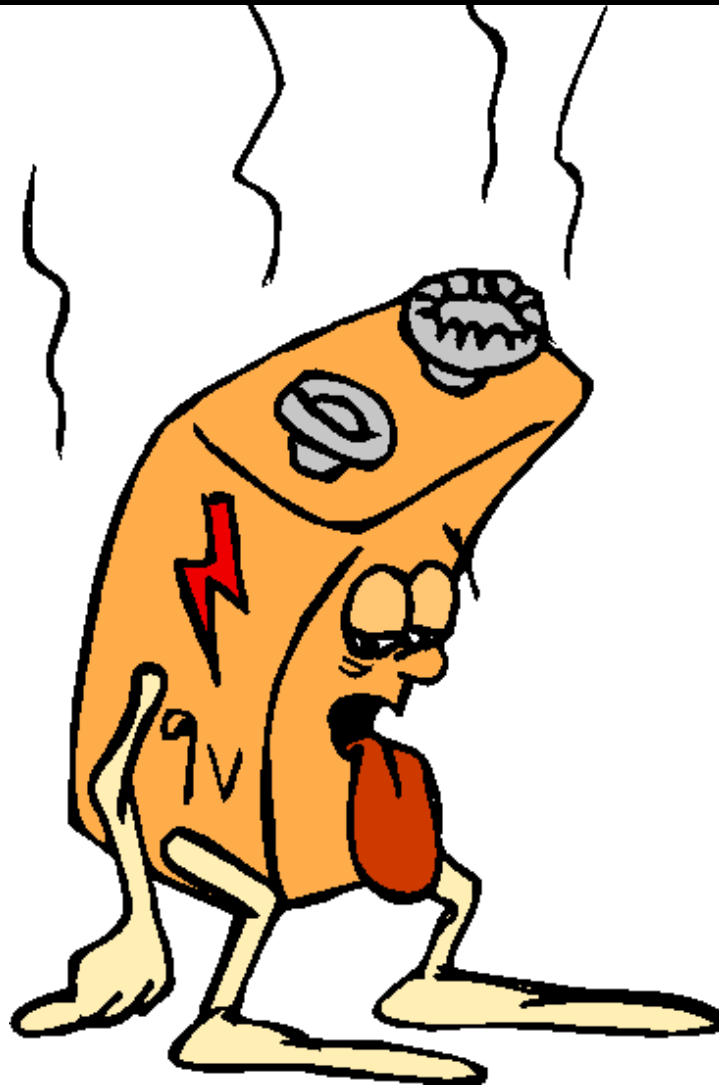
O que explica a seleção estabilizadora??

Genes desnecessários de virulência representam
um custo
adaptativo ao patógeno!!!



Van der Plank (1978)
Genetic and Molecular Basis of Plant Pathogenesis

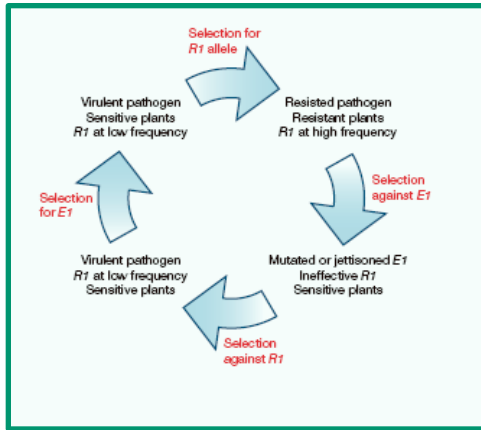
É possível aumentar a durabilidade de genes R ??



Estratégias de utilização de genes R

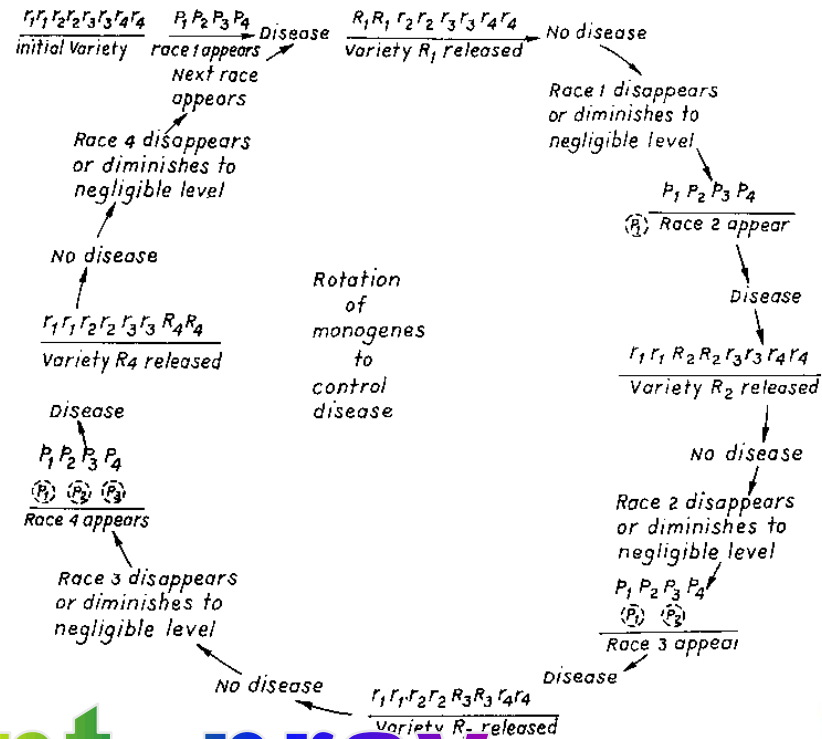
Diversidade temporal e espacial de genes R (Rotação)

Diversidade temporal de genes de resistência



Management of Vertical Resistance Gene(s)

131



Plug, plant, pray

Fig. 5.3. Proposal for rice production and rotation to keep development of new disease races of the rice blast fungus. The development of new races of disease organism (ad. IK, 1981). r = specific gene for pathogenicity of the pathogen population; p = allele able of being pathogenic; R = specific gene for resistance in a rice variety; r = allele of R susceptibility; P = broken circle designates presumed fate of P gene in the pathogen population disappearing or becoming much reduced in frequency



Em grande parte, isto é feito às cegas...



Levantamento de raças:

chave para maior eficiência da rotação
de genes R



Objetivo: Detectar raças virulentas a tempo de recomendar troca de cultivar antes de explosão epidêmica

Premissa: validade da teoria *Boom and Bust*



Detecção antecipada de raças virulentas (Bayles et al., 1997)

The UK Cereal Pathogen Virulence Survey

107

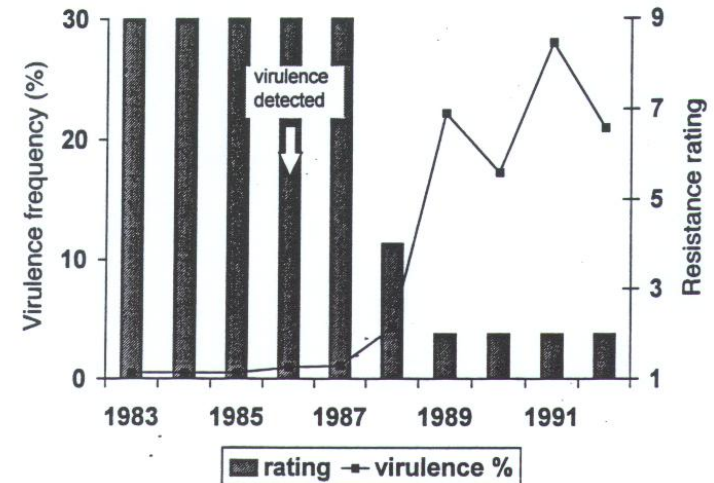


Fig. 6.1. Changes in the mildew resistance rating of the barley cultivar Pipkin following detection of virulence for Mla13.

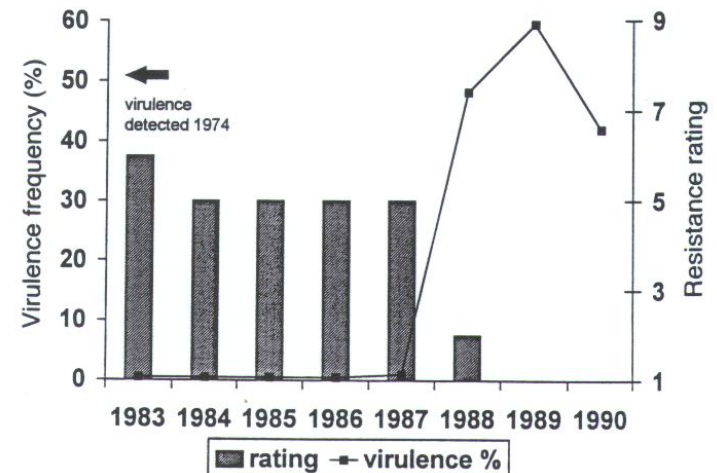


Fig. 6.2. Changes in the yellow rust resistance rating of the wheat cultivar Slejpnner following detection of virulence for Yr9.

UKCPVS

UKCPVS - Microsoft Internet Explorer

Arquivo Editar Exibir Favoritos Ferramentas Ajuda

Endereço <http://www1.sac.ac.uk/cropsci/External/CropClinic/News/UKCPVS2.asp>

Pesquisar

Escolha uma categoria para sua busca:

- Local
- Buscar

Localizar uma página Web contendo:

Apresentar por Meio de:

Buscar outros itens:

- [Arquivo](#)
- [Pastas](#)
- [Computador](#)
- [Pessoas](#)

@2004 Microsoft Corporation. Todos os direitos reservados. Usar

The Scottish Agricultural College

Education R&D
Services Divisions

SAC Crop Clinic

About SAC Crop Clinic

- Crop Update
- Minimum Tillage Campaign
- Pests, Diseases and Weeds
- Beneficial Insects
- Volunteer Potato Survey
- Crop Clinic Services
- Crop Protection Report
- Technical Notes
- Contacts
- HGCA Roadshow

United Kingdom Cereal Pathogen Virulence Survey

2004 Summary

- Wheat Diseases
- Diversification scheme for yellow rust
- Barley diseases
- Diversification scheme for mildew
- Oat diseases

The UKCPVS survey monitors changes in the cereal diseases which may have implications for break downs in variety resistance to major cereal diseases including yellow rust in wheat and powdery mildew in barley.

Most cereal diseases are specific to each crop. Most wheat diseases for example, will not attack barley or oats and vice versa. Diseases will however spread from winter cereals onto

os slides

07:36

Detectar mudanças na composição racial de populações do patógeno

Table 6.1. Pathogens surveyed by the UKCPVS.

	Testing centre
Pathogens of wheat	
<i>Erysiphe graminis</i> (powdery mildew)	NIAB, Cambridge
<i>Puccinia striiformis</i> (yellow rust)	NIAB, Cambridge
<i>Puccinia recondita</i> (brown rust)	IGER, Aberystwyth
Pathogens of barley	
<i>Erysiphe graminis</i> (powdery mildew)	NIAB, Cambridge
<i>Puccinia striiformis</i> (yellow rust)	NIAB, Cambridge
<i>Puccinia hordei</i> (brown rust)	IGER, Aberystwyth
<i>Rhynchosporium secalis</i> (leaf blotch)	IGER, Aberystwyth
<i>Pyrenophora teres</i> (net blotch)	IGER, Aberystwyth
Pathogens of oats	
<i>Erysiphe graminis</i> (powdery mildew)	IGER, Aberystwyth
<i>Puccinia coronata</i> (crown rust)	IGER, Aberystwyth

Table 6.2. Numbers of isolates of each pathogen tested by the UKCPVS between 1989 and 1994.

	1989	1990	1991	1992	1993	1994
Pathogens of wheat						
<i>Erysiphe graminis</i>	133	525	529	194	356	347
<i>Puccinia striiformis</i>	156	67	42	77	63	68
<i>Puccinia recondita</i>	12	51	19	17	53	39
Pathogens of barley						
<i>Erysiphe graminis</i>	297	482	780	462	628	539
<i>Puccinia striiformis</i>	4	1	1	2	1	1
<i>Puccinia hordei</i>	73	49	53	77	18	12
<i>Rhynchosporium secalis</i>	13	13	50	30	69	67
<i>Pyrenophora teres</i>	14	3	15	46	7	35
Pathogens of oats						
<i>Erysiphe graminis</i>	26	15	37	42	35	32
<i>Puccinia coronata</i>	2	13	9	1	26	25

Estabelecer grupos de diversidade

- **Objetivo:** limitar a disseminação do patógeno estimulando o plantio de cultivares com genes R diferentes, seja em campos vizinhos, seja em misturas

GD são definidos com base nos genes R das cultivares e na composição da população do patógeno em termos de genes *avr*.

UKCPV5 - Microsoft Internet Explorer

Arquivo Editar Exibir Favoritos Ferramentas Ajuda

Endereço <http://www1.sac.ac.uk/cropsci/External/CropClinic/News/UKCPV52.asp>

Pesquis. No

Escolha uma categoria para sua busca:

Local uma página Web contendo

Apresentar por Meio de uma Pesquisa

Buscar outros itens: [Arquivo](#), [Pastas](#), [Computador](#), [Pessoas](#)

©2004 Microsoft Corporation. Todos os direitos reservados. Uso

SAC

Tybalt (S)

Wallace (S)

(S) = Spring variety

Risk of yellow rust spreading from one variety to another

	DG1	DG3	DG4	DG7	DG9	DG10	DG12
DG1	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
DG3	Low	High	Low	Mod	Mod	Mod	Mod
DG4	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low
DG7	Low	Mod	Low	High	Mod	Low	Mod
DG9	Low	Mod	Low	Mod	High	High	Mod
DG10	Low	Mod	Low	Low	High	High	Mod
DG12	Low	Mod	Low	Mod	Mod	Mod	Mod

Key

Low	Low risk of yellow rust spreading between the varieties
Mod	Moderate risk of yellow rust spreading between the varieties
High	High risk of yellow rust spreading between the varieties

Brown rust

Most Recommended List varieties have good resistance to brown rust, but there is evidence that the disease is becoming more aggressive, so watch out for higher than expected levels on resistant varieties.

Mildew

Most varieties have good resistance to mildew, but the varieties Claire and Option are

07:41

R

RR

RRR

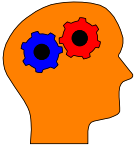
RRRR

Pirâmides gênicas

Teoria Probabilística:

*“Cultivars possessing multiple race-specific resistance genes
Owe their durability to a low probability of the pathogen’s
Mutating to virulence independently at avirulence/virulence
Loci corresponding to those resistance genes; the probability
Of mutation to virulence at multiple loci is equal to the product
Of the mutation rates for each locus”*

Mundt 81: 240-241. 1991. Phytopathology



A Teoria Probabilística de Schafer e Roelfs

1 uredinia de ferrugem produz 634.000 esporos em 26 dias

100 uredinias/perfilho a uma severidade de 10% e densidade de 3.7×10^6 perfilhos/ha.

ENTÃO:

Número de esporos/ha produzidos por 26 dias a uma severidade de 10%

$$634 \times 10^3 \times 100 \times 3.7 \times 10^6 = 2.3 \times 10^{14} \text{ esporos / ha}$$

Frequência de indivíduos mutantes : 1.8×10^{-4}

$$F \text{ Frequência de indivíduos mutantes por ha} = 2.3 \times 10^{14} \times 1.8 \times 10^{-4}$$

$$= 4.1 \times 10^{10} \text{ mutantes/ha (ALTO!!!)}$$

$$\text{Para dois genes} = 4.1 \times 10^{10} \times 1.8 \times 10^{-4} = 7.4 \times 10^6 \text{ mutantes/ha}$$

$$\text{Para três genes} = 1.3 \times 10^3 \text{ mutantes/ha}$$

...

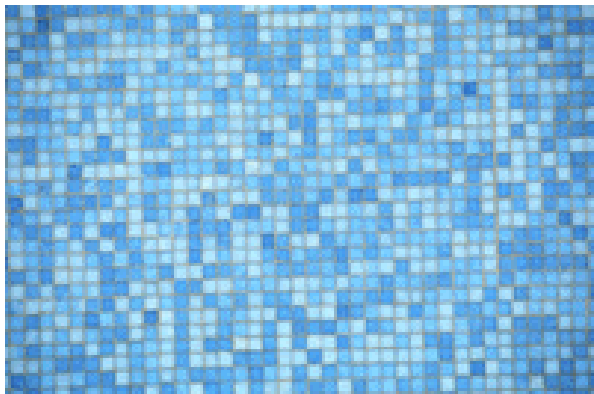
$$\text{Para seis genes} = 3.4 \times 10^{-23} \text{ mutantes/ha (pirâmide de seis genes!!)}$$

FINALMENTE, considerando que um ha produz 2.3×10^4 esporos e que a área plantada nos EUA em 1981 foi de 32.783.940 ha, então, os EUA produziram 7.54×10^{21} esporos neste ano, ou seja, não era de se esperar nenhum mutante nos EUA inteiro!!!

Críticas à Teoria Probabilística

(Mundt 80:221.1990. Phytopathology)

- 1) Premissa de mutação independente
- 2) Necessidade de não utilização prévia dos genes



Multi-linhas e misturas

a) Multi-linhas (isogênicas) x misturas (variedades)

b) Vantagens das misturas:

Fácil obtenção

Maior versatilidade na troca de componentes

Variabilidade genética = maior estabilidade

Podem ser usados vários alelos e locos

Genes de R a outras doenças podem ser usados

**Menor pressão de seleção comparado à pirâmide
(???)**

c) Limitação: variabilidade para atributos agronômicos

Efeito diluição

(Ntahimpera et al. 86:668-673. 1996. Phytopathology)

Resistência a antracnose em feijoeiro

7 tratamentos:

- 1) 100% R
- 2) 50%R + 50%S
- 3) 25%R + 75%S
- 4) 10%R + 90%S
- 5) 0% R + 100 S1

-Inoculação no centro
Da parcela

-Avaliação da incidência
e severidade na parcela

-Cálculo da eficiência
Das misturas

Eficácia de misturas no controle da antracnose em feijoeiro.

Ntahimpera et al., 1996.

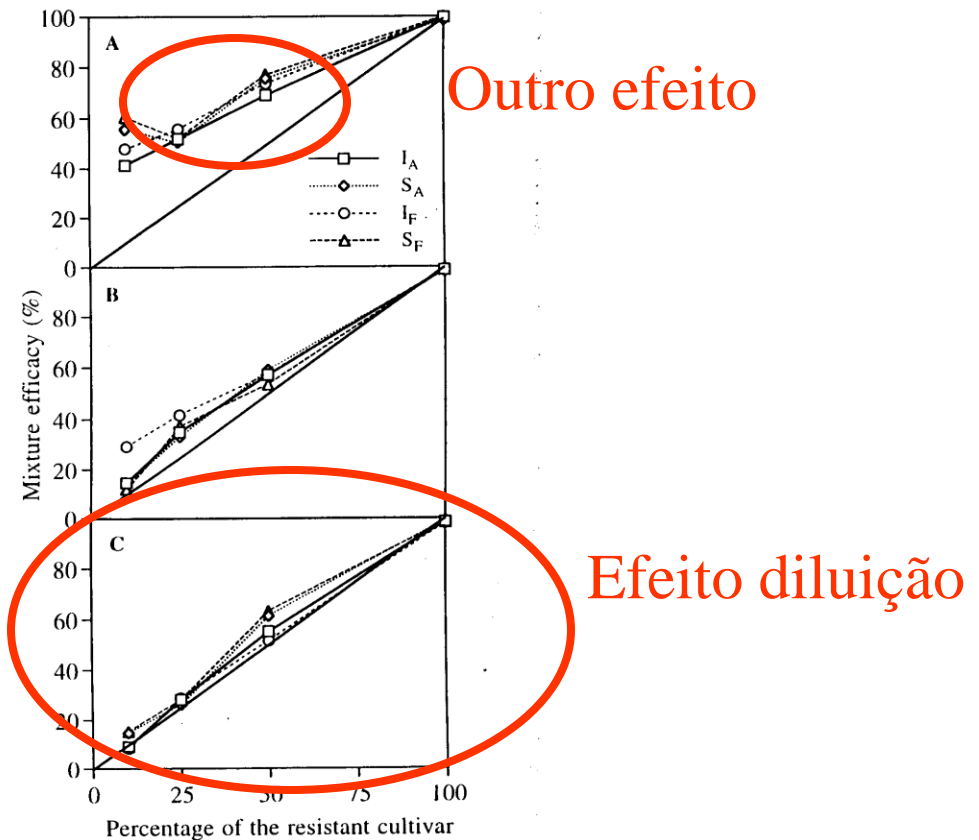
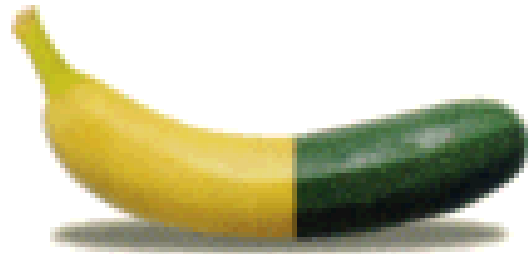


Fig. 3. Effect of the proportion of a resistant bean cultivar grown in mixtures with a susceptible cultivar on anthracnose development. Mixture efficacy is the relative amount of disease on a susceptible cultivar in a mixture when compared to a pure stand of the susceptible cultivar. Data shown are for final leaf disease incidence (I_A), disease severity (S_A) and area under the disease incidence (I_F) and severity (S_F) progress curves in A, 1992; B, 1993; and C, 1994. The solid diagonal line indicates expected values if the mixture effect is a function of the frequency of resistant plants in the mixture.

$$E_i = 1 - [I(\text{mistura}) / I(\text{do controle } 100\% \text{ S})]$$

A ação de misturas depende na dispersão de inóculo de uma planta para outra. Assim, o porte da planta e o tipo de dispersão do patógeno podem influenciar.



Resistência engenhada

Resistência - como obter?

Estratégia 1: Interferência na patogenicidade ou inibição da fisiologia do patógeno

- 1a) expressão de proteínas antimicrobianas,
- 1b) expressão de gene(s) de defesa pré ou pós-formada
- 1c) inibição de fatores de patogenicidade ou virulência

Estratégia 2: resistência derivada do hospedeiro

- 2a) alterações no reconhecimento do patógeno (ex. genes-R)
- 2b) regulação do sistema imunológico da planta

Estratégia 3: resistência derivada do patógeno (uso de sequências do patógeno, silenciamento viral) : genes avr, genes virais

1a- Proteínas antimicrobianas

1.1 Peptídeos líticos de insetos



cecropina em tabaco contra *Ralstonia solanacearum*
em videira contra *Xylella fastidiosa*
em laranja contra *X. a. citri*

atacina em pêra, (Reynoird et al., 1999), maçã (Ko et al., 2000, 2002) e batata (Arce et al., 1999) atacina E contra *Erwinia amylovora* e *E. carotovora atroseptica*; em laranja contra *X. citri subsp. citri* (Boscariol et al, 2006; Cardoso et al, 2010)

peptídeo sintético: D4E1 algodão resistente ao fungo *Thielaviopsis basicola* e resistência a bactérias em *Populus*.(Rajasekaran et al. 2007; Mentag et al. 2003)

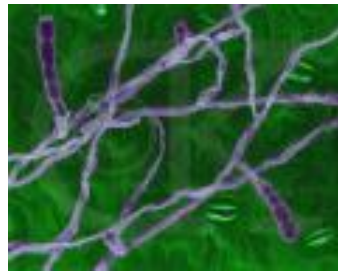
1b- Expressão de genes de defesa

1.4 enzimas de plantas

PR proteínas **quitinase** e **beta 1,3 glucanase**



Hidrolisa quitina e beta glucana, os principais polissacarídeos da parede celular de fungos



oomycetes

Ex: *Chi11* (quitinase) e *TLp* (PR-4) de arroz contra *Rhizoctonia solani*
(Kalpana et al. 2006)

1c- Inibição de genes de patogenicidade ou virulência

Disabling bacterial communication

Discovery of quorum-quenching enzyme may lead to new generation of antibiotics.

N-Acyl homoserina lactona (AHL)



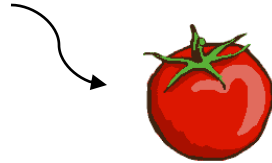
Plantas transgênicas expressando *N*-acyl homoserine lactonase (AHL-lactonase) desativa o sinal hormonal da AHL. Em consequência, o patógeno não ativa as pectinases em tempo de evitar a reação da planta.

2) Resistência derivada do hospedeiro

Genes R

N de Nicotiana . Resistência a TMV

(Whitham et al. 1996)



Tomate resistente a TMV

Pto de tomate. Resistência a *P.s. tomato*

(Rommens et al. 1995)



Tabaco resistente a *P. s. tabaci*

Bs2 de pimentão . Resistência a *Xanthomonas*

(Tai et al. 1999)



Tomate resistente a *Xanthomonas*

Xa21 de arroz . Resistência a *Xanthomonas* (múltiplos isolados)

(Tu et al. 1998;
Wang et al. 2007)



arroz



Plant Pathology (2011)

Doi: 10.1111/j.1365-3059.2011.02558.x

Transient expression of pepper *Bs2* gene in *Citrus limon* as an approach to evaluate its utility for management of citrus canker disease

L. N. Sendín^a, M. P. Filippone^a, I. G. Orce^a, L. Rigano^b, R. Enrique^c, L. Peña^d, A. A. Vojnov^b, M. R. Marano^c and A. P. Castagnaro^{a*}

Transferência intergenérica de gene R – de pimentão para limão...

O gene cognato *avrBS2* é conservado entre *X. campestris* pv. *vesicatoria*
E *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

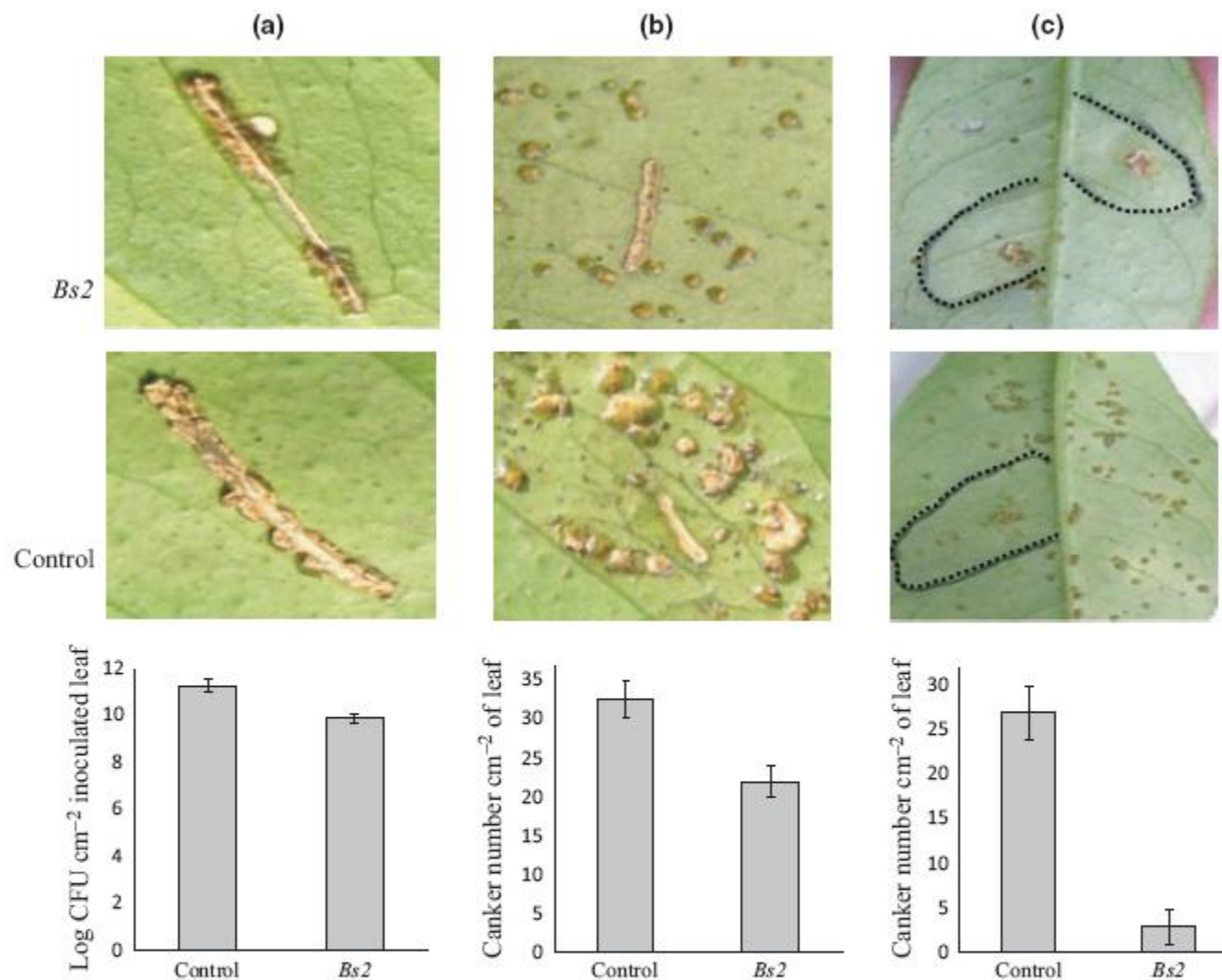
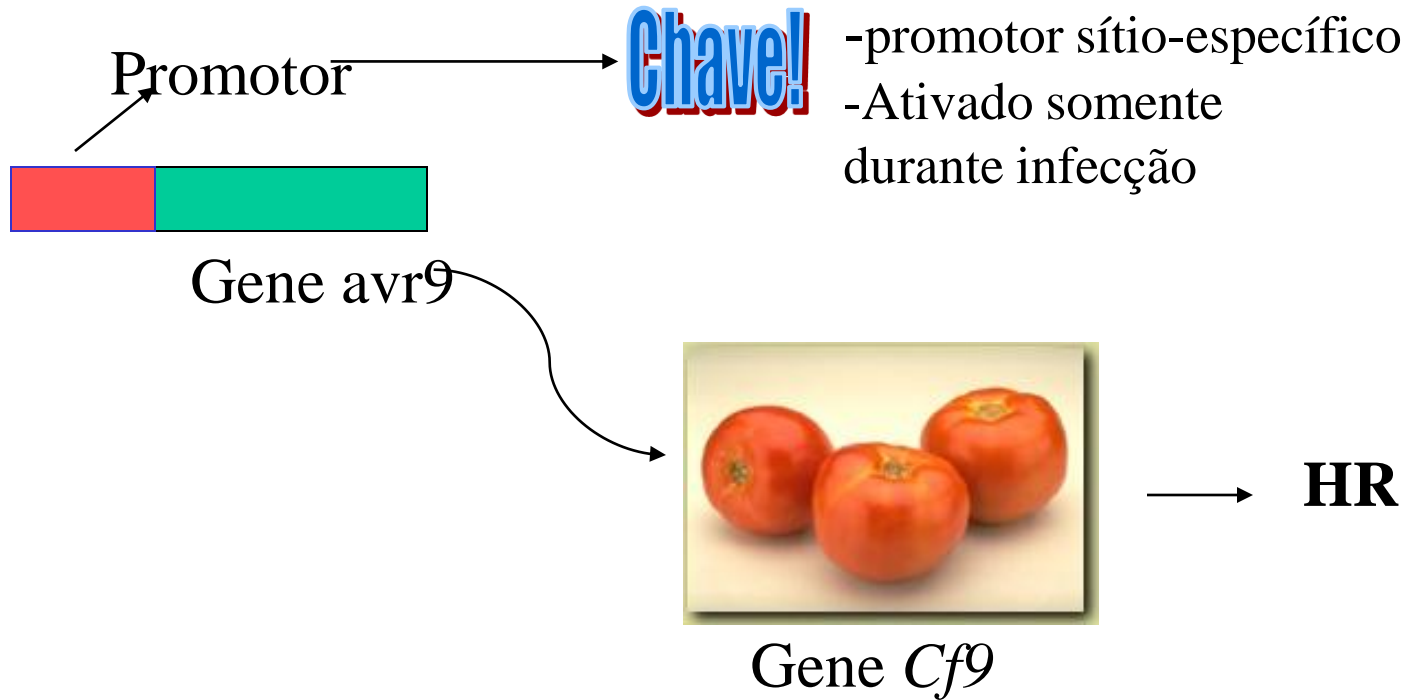


Figure 3 Expression of *Bs2* gene from pepper reduces bacterial growth and symptom production in *Citrus limon* leaves in response to *Xcc*. Citrus canker symptoms in lemon leaves infiltrated with *Agrobacterium* culture containing *Bs2* construction (pLS-*Bs2*) or negative control construction (pLS) and inoculated with *Xcc* 24 h after treatment. *Xcc* inoculation was carried out using three methods: nicking followed by spraying (a), pressure infiltration (b), or cotton swab application of a bacterial suspension (c). Symptom quantification in the nick and spray method was determined by homogenizing the tissue in 10 mM MgCl₂ followed by dilution plating, and expressed in CFU cm⁻² of inoculated leaf; in the other two inoculation methods, average number of cankers developed per cm² of inoculated leaf was determined. Values are expressed as means of 30 young leaves selected from three lemon plants. The experiment was carried out in triplicate. Photos of disease symptoms were taken 15 dai.

3 - Resistência derivada do patógeno: Genes *avr/MAMPs/PAMPs*



(Honée et al. 1995)

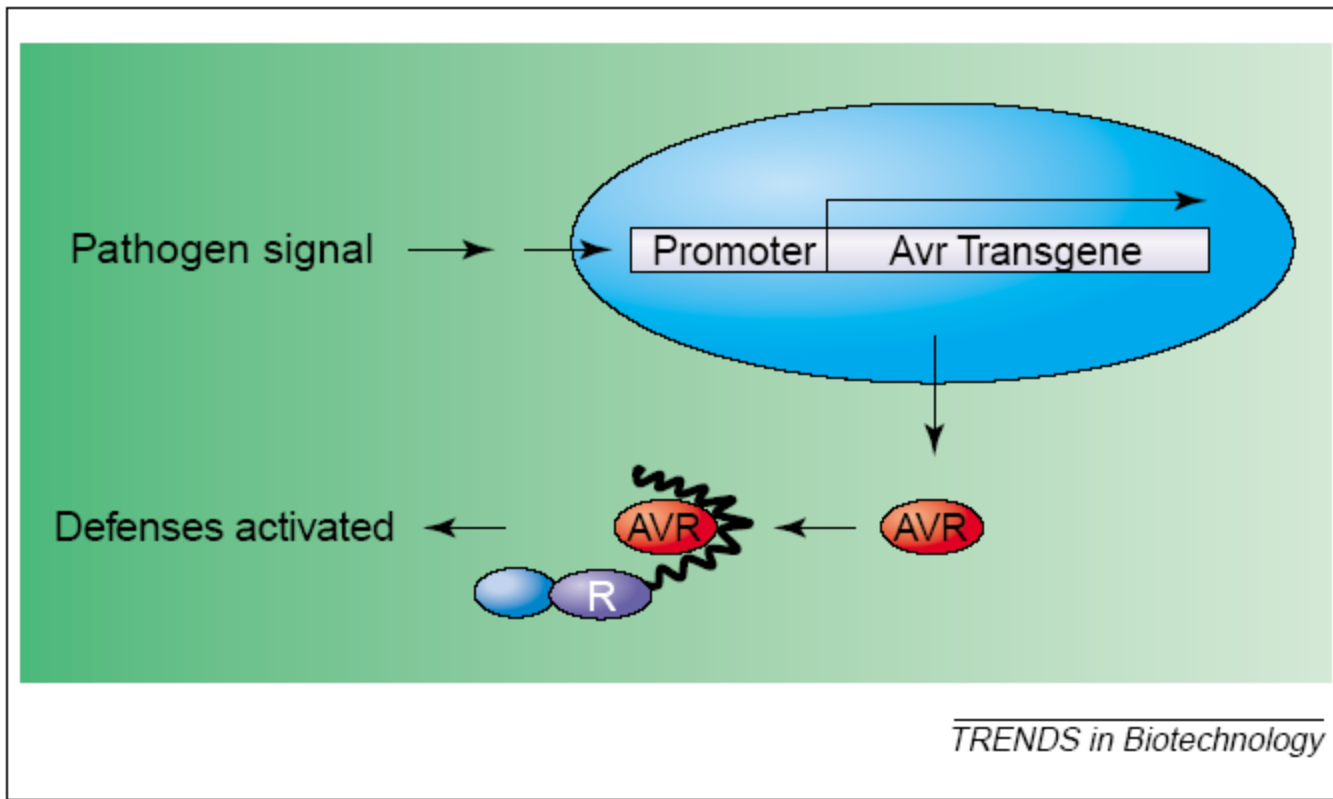
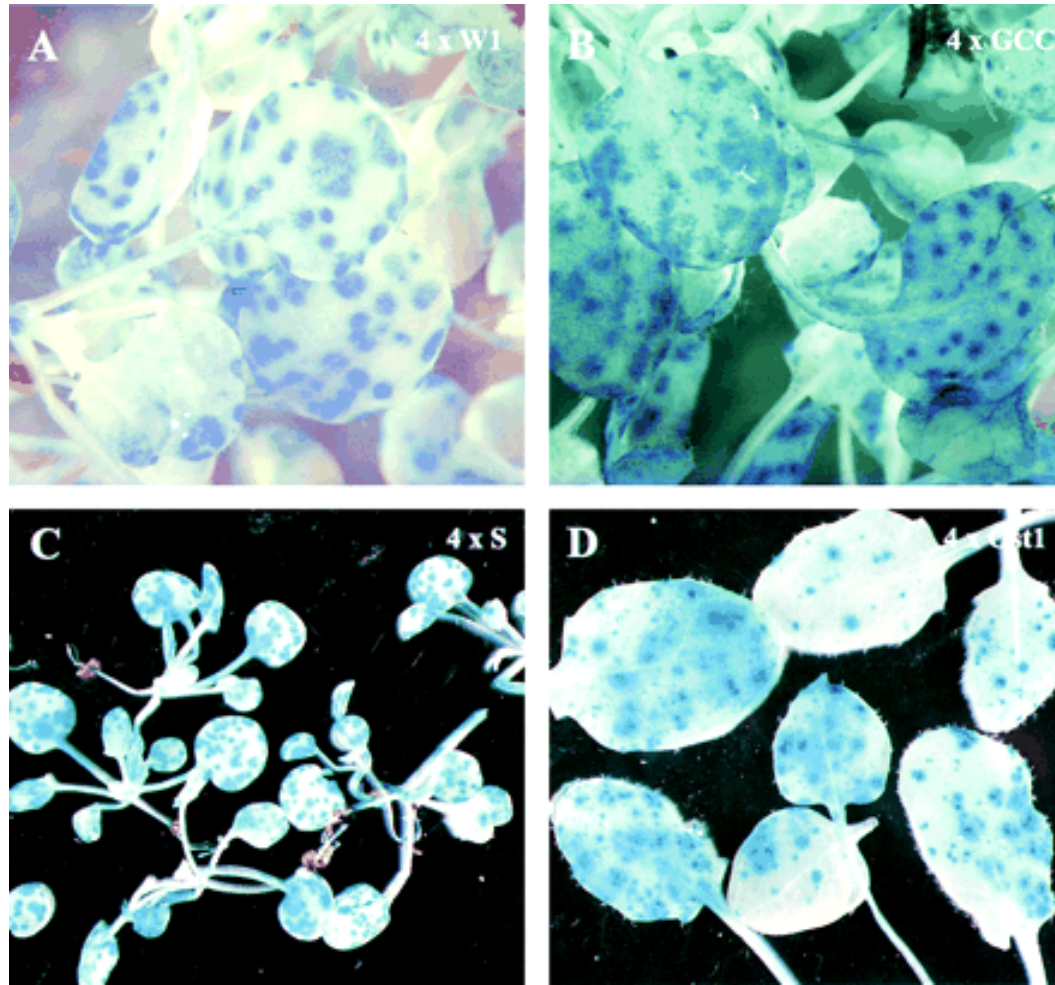


Fig. 3. Strategy for engineering broad-spectrum resistance by induction of Avr/R transgene combinations. A pathogen *Avr* gene is expressed in plant cells as a transgene, under the control of a plant promoter that is induced by a range of pathogens. A corresponding *R* gene (either endogenous or a transgene) is also expressed. Upon pathogen attack, the pathogen-responsive promoter is activated, the *Avr* gene is expressed, and the *Avr* protein interacts with the *R* protein to induce the HR and other defense responses. Note that this system can be activated by any pathogen (or spurious stimulus) that is capable of activating the promoter of the *Avr* gene.



Plantas transgênicas de *Arabidopsis* com promotor sintético, dois dias após inoculação com *Peronospora parasitica*. (Rushton et al. *Plant Cell* 14:749-762. 2002)

3-Resistência derivada do patógeno - Genes virais

Exs. 1) **Gene Cp PRSV** papaya ringspot virus = mamão resistente ao vírus



2) **OFR2b - PLRV** (potato leaf-roll virus)= batata resistente ao vírus



3) **REP** (TYLCV) tomato yellow leaf curl virus = tomate resistente ao vírus

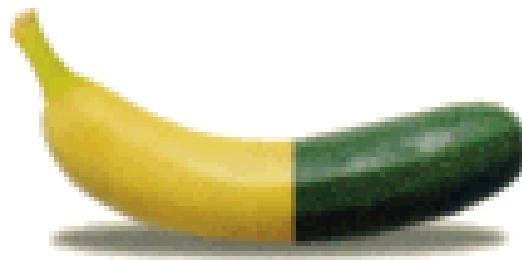


Limitação: alta Especificidade !

Mamão transgênico: apenas efetivo contra estirpes com, no mínimo, 97% de similaridade

Arroz transgênico (RYMV): efetivo contra estirpes com, no mínimo, 10% de similaridade





Resistência engenhada

- Encarada por muitos como a "solução final"
- Certamente é a saída de curto/médio prazo para casos onde não há resistência (mamão papaia/PRSV-W - citrus/HLB/cancro)
- Pode acelerar obtenção de pirâmides gênicas
- Resistência engenhada deve se comportar como resistência monogênica - sujeita ao mesmo problema de quebra
- Exceto mamão, não há nenhum produto comercial.

Film