

MECANISMOS DE AGRESSÃO E DEFESA NAS INTERAÇÕES PLANTA—PATÓGENO

Ricardo Brilhante de Medeiros
Marisa A. S. Velloso Ferreira
José Carmine Dianese



Ricardo Brilhante de Medeiros é engenheiro agrônomo formado pela Universidade de Brasília (UnB) em 1991, com Mestrado em Fitopatologia (1994) também pela UnB e PhD em Fitopatologia (2000), com especialização em Virologia Molecular, pela University of Wisconsin-Madison (EUA). Tornou-se professor do Departamento de Fitopatologia da UnB em 1994; é pesquisador associado dos Centros de Imunologia e Câncer da University of Minnesota (EUA) desde 2001. Tem publicado trabalhos científicos em áreas diversas, como taxonomia de fungos, virologia molecular, expressão gênica global em associações patógeno-hospedeira, imunologia molecular e biologia do câncer. Atualmente possui projetos aprovados pela National Institutes of Health (NIH) dos EUA e colaborações com pesquisadores no Brasil (USP), nos EUA (Univ. Wisconsin) e na Itália (Universita del Piemonte) na área de respostas imunológicas a infecções virais e ao crescimento de tumores.

Marisa Álvares da Silva Velloso Ferreira é engenheira agrônoma formada pela Universidade de Brasília (UnB) em 1985, com Mestrado em Fitopatologia (1989) e Doutorado em Biologia Molecular (1996) pela mesma universidade. Tornou-se professora do Departamento de Fitopatologia da UnB em 1998, onde atua em pesquisa e no ensino de graduação e pós-graduação. Desenvolve pesquisas na área de fitopatologia voltadas atualmente para a etiologia de doenças bacterianas e fúngicas, diagnose molecular, diversidade e mecanismos de patogenicidade de bactérias de plantas, com publicações em periódicos como *Mycological Research*, *Applied and Environmental Microbiology*, *Plant Pathology* e *Fitopatologia Brasileira*. Desde 1998

Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta-patógeno

EDITORA

UnB

FINATEC 



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Reitor

Lauro Morhy

Vice-Reitor

Timothy Martin Mulholland

EDITORA



UnB

Diretor

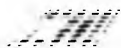
Alexandre Lima

Conselho Editorial

Presidente

Elizabeth Cancelli

Alexandre Lima, Clarimar Almeida Valle, Dione Oliveira Moura, Henryk Siewierski, Jader Soares Marinho Filho, Marília Steinberger, Ricardo Silveira Bernardes, Suzete Venturelli



FUNDAÇÃO DE EMPREENDIMENTOS CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS – FINATEC

Conselho Superior

Presidente: Prof. Reinhardt Adolfo Fuck

Conselheiros:

Prof. André Pacheco de Assis

Prof. Fernando Jorge Rodrigues Neves

Prof. Flaminio Levy Neto

Prof. George Raulino

Prof. Geraldo Resende Boaventura

Profª. Heloísa Sinátorá Miranda

Prof. Ivan Marques de Toledo Camargo

Prof. Kalil Skeff Neto

Prof. Paulo César de Moraes

Prof. Roberto Francisco Bobenrieth Miserda

Prof. Sadek Crisóstomo Absi Alfaro

Conselho Fiscal

Presidente: Prof. Guilherme Sales Soares de Azevedo Melo

Conselheiros: Prof. Carlos Alberto Gurgel Veras

Prof. Norai Romeu Rocco

Diretoria Executiva

Diretor Presidente: Prof. Antonio Manoel Dias Henriques

Diretor Secretário: Prof. José Luiz Alves da Fontoura Rodrigues

Diretor Financeiro: Prof. Nelson Martin



Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta–patógeno

Ricardo Brilhante de Medeiros
Marisa A. S. Velloso Ferreira
José Carmine Dianese

Brasília
2003

EQUIPE EDITORIAL:

Preparação de originais e revisão
Sonja Cavalcanti

Editoração eletrônica
Raimunda Dias

Capa
Anderson Moreira Lima

Fotografias e desenhos

Figuras 1-3: Marcos Antônio S. Silva, Núcleo de Ilustração Científica da UnB

Figura 8: Carlos H. Uesugi

Este livro foi aprovado pelo
Conselho Superior da
FINATEC, no âmbito do seu
Programa de Fomento: Auxílio à
Publicação de Livros
– Edital 03/2001-2002.

Copyright © 2003 by FINATEC

Impresso no Brasil

Direitos exclusivos para esta edição:

Editora Universidade de Brasília
SCS Q. 02 - Bloco C - Nº 78
Ed. OK - 2º andar
70300-500 - Brasília - DF
Tel: (0xx61) 226-6874
Fax: (0xx61) 225-5611
editora@unb.br

FINATEC - Universidade de Brasília
Campus Universitário Darcy Ribeiro
Av. L3 Norte, Edifício Finatec/Asa Norte
Brasília - DF / Cep 70910-900
Fone: 61 3480400 – Fax: 61 3073201
E-mail: finatec@finatec.org.br
<http://www.finatec.org.br>

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser armazenada ou reproduzida por qualquer meio sem a autorização por escrito da Editora.

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca Central da Universidade de Brasília

Medeiros, Ricardo Brilhante de
M488 Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta-patógeno / Ricardo Brilhante de Medeiros, Marisa A. S. Velloso Ferreira e José Carmine Dianese – Brasília : Editora Universidade de Brasília, 2003.
290 p.
ISBN 85-230-0762-8

a 1. Biologia vegetal. 2. Doenças das plantas. I. Ferreira, Marisa A. S. Velloso. II. Dianese, José Carmine. III. Título.

CDU 581
632

Sumário

PREFÁCIO	9
I – MECANISMOS DE AGRESSÃO FITOPATOGÊNICA	11
1 – Enzimas Envolvidas na Degradação da Parede Celular	17
1.1 – Cutícula e cutina	19
1.2 – Lamela Média e Pectina	21
1.3 – Celulose	25
1.4 – Hemiceluloses	27
1.5 – Lignina	27
1.6 – Suberina	28
1.7 – Componentes do Protoplasma	28
1.8 – O Papel das Enzimas Degradoras da Parede Celular na Patogenicidade e Virulência	29
2 – Fitotoxinas	35
2.1 – Fitotoxinas Não-Seletivas	37
Toxinas de <i>Pseudomonas syringae</i>	37
<i>Fusicoccina</i>	41
Toxinas de <i>Fusarium</i>	41
<i>Piricularina</i>	42
Ácidos Orgânicos	42
2.2 – Fitotoxinas Seletivas	43
<i>Helminthosporoside</i>	44
<i>Victorina</i>	44
Toxina T	45
Toxina HC	46
Toxina de <i>Periconia circinata</i>	47
Toxinas de <i>Alternaria alternata</i>	47
3 – Distúrbios Hormonais	49
3.1 – Auxinas	51
<i>Ralstonia solanacearum</i>	54
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	54

<i>Ustilago maydis</i>	55
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> e <i>A. rhizogenes</i>	55
Degradação de Auxinas	59
3.2 – Giberelinas	60
3.3 – Citocininas	62
3.4 – Etileno e Jasmonato	66
3.5 – Ácido Abscísico	68
4 – Polissacarídeos Extracelulares	71
5 – Outros Fatores Relacionados à Patogenicidade	79
5.1 – Características Intrínsecas da Patogenicidade das Bactérias em Plantas	83
5.2 – Características Intrínsecas da Patogenicidade dos vírus de Plantas	88
II – MECANISMOS DE DEFESA DA PLANTA	95
1 – Mecanismos Estruturais de Defesa	99
1.1 – Defesa Estrutural Pré-Formada	101
1.2 – Defesa Estrutural Induzida	103
Modificações da Parede Celular	104
Defesa Histológica	109
2 – Mecanismos Bioquímicos de Defesa	111
2.1 – Defesa Bioquímica Pré-Formada	113
Compostos Fenólicos	114
Saponinas	116
Glicosídeos Cianogênicos	118
Glucosinolatos	119
2.2 – Defesa Bioquímica Induzida	120
Fitoalexinas	122
Proteínas Relacionadas à Patogênese (PRPs)	134
Reação de Hipersensibilidade (RH)	138
Resistência Sistêmica Adquirida (RSA)	144
III – ASPECTOS MOLECULARES DA INTERAÇÃO PLANTA-PATÓGENO	153
1 – Reconhecimento Planta-Patógeno	155
1.1 – Elicitores e Receptores	157
1.2 – Supressores	162

1.3 – Base Genética da Teoria Gene-a-Gene	163
1.4 – Clonagem e Caracterização dos Genes de Resistência e Avirulência	166
2 – Transdução de Sinais	183
2.1 – Cálcio	186
2.2 – Quinases	187
2.3 – Queima ou Explosão Oxidativa	188
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	193
APÊNDICES	263
ÍNDICE REMISSIVO	283

Prefácio

O estudo das interações fisiológico-bioquímico-moleculares que ocorrem entre plantas e seus patógenos tem recebido atenção crescente. Hoje, já se entendem melhor os mecanismos envolvidos na produção de sintomas de certas doenças, bem como detalhes bioquímicos da atividade agressora de inúmeros fitopatógenos. Atualmente, com base nos estudos com a planta-modelo *Arabidopsis thaliana*, os mecanismos de defesa das plantas têm sido mais bem compreendidos.

O estudante de fitopatologia e áreas afins deve munir-se de espírito inquisitivo e questionar as colocações meramente estáticas, procurando as explicações sobre os *porquês* das doenças e de seus sintomas. Pode-se estudar a patologia vegetal em diferentes níveis. A fitopatologia pode ser ensinada ao agricultor, ao técnico de campo, ao agrônomo ou a um estudante de pós-graduação em detalhamento diferenciado, aproximando-se da explicação do *porquê* dos eventos à medida que se lida com grupos de estudo mais avançados.

Os estudantes de Engenharia Agrônômica, Florestal e de Ciências Biológicas, pesquisadores e extensionistas em potencial, não devem satisfazer-se com a simples observação de sintomas de doenças, sem entender *por que* uma planta murcha quando infectada por um patógeno vascular ou o que é uma *podridão mole* ou uma *queima de folhas* causada, em última análise, por metabolitos secretados por fungos ou bactérias.

Nos últimos anos, o advento e a aplicação das técnicas e dos conceitos da chamada *biologia molecular* revolucionaram as ciências biológicas, inclusive a fitopatologia. A descoberta da estrutura de dupla-hélice do DNA por Watson e Crick, ainda nos anos 1950 (WATSON e CRICK, 1953), foi o ponto de partida desse novo ramo da biologia que propiciou a expansão dos domínios metodológicos da bioquímica para o plano das biomoléculas, suas interações, estruturas e funções.

No campo específico da interação patógeno-hospedeira, grandes avanços têm sido observados, na esperança de descobrir-se novos

métodos de controle, mais eficientes e apropriados, com a conseqüente diminuição do uso de pesticidas e dos crescentes riscos e danos à saúde humana. Esses novos métodos de controle seriam baseados na interferência pontual nos mecanismos de agressão e defesa presentes nos sistemas planta-patógeno. Isto já ocorre na prática, por exemplo, com o desenvolvimento de plantas transgênicas resistentes a doenças, que, além de mais produtivas, por apresentarem-se livres do patógeno, possuem a vantagem adicional de dispensar o uso de pesticidas.

Este livro é uma edição ampliada e atualizada de um texto anterior elaborado por J.C. Dianese (*Patologia Vegetal: Agressão e Defesa em Sistemas Planta-Patógeno*, Editora Universidade de Brasília, Brasília, 1990), o qual foi o primeiro livro de fisiopatologia vegetal publicado no Brasil (PASCHOLATI, 1995). Espera-se, com este texto, colocar em discussão aspectos básicos e essenciais da fisiologia, da bioquímica e da biologia molecular do parasitismo, com o objetivo de despertar o interesse de estudantes e profissionais para a pesquisa nessa área, de importância cada vez maior para a fitopatologia. O principal objetivo é fornecer aos leitores uma visão objetiva dessa ampla área da fitopatologia, por meio de uma apresentação concisa, apoiada por apêndices capazes de dar autonomia de leitura, inclusive para os iniciantes. O objetivo não é exaurir o assunto, mas sim permitir uma exposição atualizada dos mecanismos de agressão e defesa envolvidos nas interações planta-patógeno e disponibilizar uma ampla lista de referências bibliográficas aos leitores que desejarem aprofundar-se nos temas abordados. A esperança é minorar uma deficiência presente na literatura fitopatológica no Brasil, no que se refere ao ensino da fisiopatologia vegetal.

Os Autores

Parte

**Mecanismos de
agressão
fitopatogênica**

As próprias células constituem barreiras naturais ao ataque das plantas por patógenos. Externamente, o sistema radicular, por exemplo, é protegido por tecido epidérmico rico em *celulose*, substância que, juntamente com os derivados *pécticos* e *hemiceluloses*, recobre também os *espaços intercelulares*. A epiderme dos caules verdes, folhas e frutos contém uma película externa composta por cutina e ceras, denominada *cutícula*. Celulose, cutina e substâncias cerosas são materiais de alta estabilidade química e de degradação relativamente difícil. Além disso, os troncos e os galhos de árvores são recobertos por tecido corticoso, dotado principalmente de *suberina*, capaz de resistir à ação degradativa de um grande número de diferentes microrganismos (LAMPART, 1970; WHEELER, 1975).

Esse revestimento exterior deve ser contornado, atravessado ou rompido para que os organismos fitopatogênicos consigam atingir não apenas os componentes da parede celular, mas também o sistema vascular das plantas ou o protoplasma de suas células, para enzimaticamente produzirem moléculas mais simples, como peptídeos, aminoácidos, ácidos graxos, mono-, di- e oligossacarídeos (VANDERPLANCK, 1963, 1975; AGRIOS, 1997).

A presença dos patógenos nos tecidos das plantas implica o contato deles com células vegetais vivas, contendo ou capazes de produzir substâncias tóxicas em resposta à atividade agressora. Assim sendo, para uma eficiente ação parasítica e também patogênica, pressupõe-se a infecção da hospedeira, com a retirada de nutrientes para atender às necessidades metabólicas do parasita, às custas da neutralização dos mecanismos bioquímicos de defesa, presentes no tecido vegetal ou desencadeados em resposta à infecção (WOOD, 1967; WOOD e GRANITI, 1976; MISAGHI, 1983).

Alguns organismos dispõem de força mecânica para penetrar diretamente a cutícula e a parede das células da epiderme. Assim ocorre, por exemplo, com conídios de *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Erysiphe* e com basidiósporos de fungos causadores de ferrugens, como espécies de *Phakopsora*, *Puccinia* e outras, que germinam e se fixam na superfície de suas hospedeiras por meio de *apressório*, a partir do qual cresce uma hifa fina e despontada, o *tubo de penetração*, que termina por perfurar a cutícula e adentrar a epiderme, podendo atingir o mesófilo (MENDGEN et al., 1996; DEAN, 1997).

crescimento. De forma idêntica funcionam as fitas simples de RNA dos viróides, RNA satélites e virusóides (MATTHEWS, 1981, 1991).

No caso de vírus, viróides e outras partículas similares, a entrada no tecido vegetal só é possível através de ferimentos por vetores (ácaros, insetos, fungos, nematóides), danos mecânicos, ou pelo manuseio das plantas. Esses patógenos não produzem enzimas e estruturas capazes de romper as barreiras naturais da planta inclusive a epiderme.

**Mecanismo de Agressão:
Enzimas Envolvidas
na Degradação da
Parede Celular**

Enzimas são moléculas complexas que operam em geral em concentrações extremamente baixas, responsáveis pela catálise específica de reações bioquímicas nas células vivas. As enzimas são ditas *constitutivas* quando presentes na célula independentemente do contato desta com o substrato, ou são chamadas *induzidas* nos casos em que são produzidas pela célula apenas na presença do substrato sobre o qual a enzima atua. Para cada reação química que ocorre em uma célula viva existe uma diferente enzima, sendo esta produto de um ou mais genes (enzimas formadas por mais de um polipeptídeo são o produto de mais de um gene). Uma mesma enzima pode reconhecer diferentes substratos, assim como um mesmo substrato pode ser reconhecido por diferentes enzimas (LEHNINGER et al., 1993).

Muitas das enzimas produzidas por fitopatógenos têm como substratos os componentes da parede celular, e outras, os constituintes de seu protoplasma. A parede celular é uma importante barreira física a ser ultrapassada para que um fungo ou bactéria possa penetrar e colonizar a planta hospedeira sadia. Portanto, a degradação ou a alteração do tecido vegetal poderá depender da atuação de enzimas sobre as principais camadas e componentes da parede celular, onde predominam várias substâncias complexas como: cutina (nas células epidérmicas de folhas e caules verdes), celulose, hemiceluloses, substâncias pécnicas, lignina e proteínas (Figura 1).

Em conjunto, as enzimas produzidas por patógenos e envolvidas na degradação da parede celular são denominadas *enzimas degradadoras de parede*, ou EDPs.

1.1. Cutícula e cutina

A *cutícula* é uma película protetora que reveste a epiderme de folhas, caules verdes e frutos. Constitui-se de uma camada de cera epicuticular, com alta estabilidade química e cuja degradação direta por fitopatógenos é difícil de ser comprovada. Parece restar aos patógenos a penetração

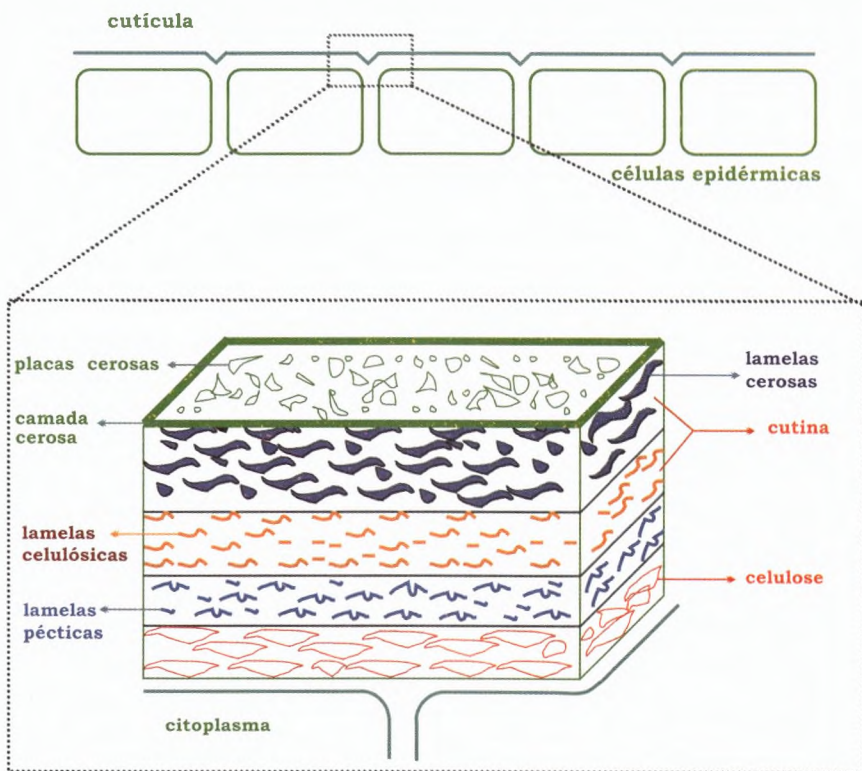


Figura 1 Estrutura da epiderme dos tecidos vegetais, mostrando a cutícula e o posicionamento relativo das camadas cerosas, celulósicas, pécticas e cutinosas (adaptado de GOODMAN et al., 1967)

direta por força mecânica, por frestas naturais da camada cerosa ou, ainda, por aberturas naturais, como estômatos e hidatódios, ou por ferimentos. A *cutina*, o principal componente estrutural da cutícula, é constituída por hidroxiácidos denominados ácidos cutínicos. Os ácidos, 9,10,18-triidroxi-octodecanóico e o 10,16-diidroxi-hexadodecanóico, são as substâncias predominantes na cutícula. A cutina aparece mesclada com frações cerosas na parte mais externa da cutícula, enquanto mais internamente interage com material péctico e celulose (KRÜGER et al., 1996) (Figura 1).

Cutinases são produzidas por diversos fungos fitopatogênicos durante o processo de infecção. Além de auxiliar no processo de penetração da cutícula, podem facilitar a adesão do esporo ou induzir a formação de apressórios. *Fusarium moniliforme*, *F. solani* f.sp. *pisi*, *Erysiphe* sp., *Rhizoctonia solani*, *Cladosporium cucumerinum*, *Botrytis cinerea*, *Venturia inaequalis*, *Alternaria brassicicola* e *Colletotrichum gloeosporioides* são exemplos de fungos portadores de ação cutinolítica, ou seja, produtores de *cutinases*. No caso de *Penicillium espinulosum* e *Uncinula necator*, a degradação da cutina ocorre por um sistema composto por *esterase* e *peroxidase* bem caracterizado (VAN DEN ENDEN e LIASKENS, 1974; PURDY e KOLATTUKUDY, 1975; BAKER e BATEMAN, 1978; KOLLER e KOLATTUKUDY, 1982; KOLATTUKUDY, 1985; PODILA et al., 1988; KÖLLER et al., 1995; COMMENIL et al., 1997; RUMBOLZ et al., 2000).

A importância do papel da cutícula na resistência de plantas a patógenos foi demonstrada em diversos patossistemas, tais como pimentão/*Phytophthora* (BILES et al., 1993), mostarda/*Rhizoctonia* (YANG et al., 1992), maçã/*Venturia inaequalis* (VALSANGIACOMO e GESSLER, 1988) e feijão/*Rhizoctonia* (STOCKWELL e HANCHEY, 1983).

1.2. Lamela Média e Pectina

Uma camada importante da parede celular é a *lamela média*, formada principalmente por substâncias pécticas, que funciona como um "cimento intercelular", mantendo firme e coeso o tecido vegetal. As substâncias pécticas também são encontradas em grande quantidade na substância matriz da parede primária, diminuindo na secundária

(Figura 2), sendo importante na interconexão entre as *microfibrilas de celulose* (Figura 3) (NORTHCOTE, 1972).

O principal esqueleto químico das matérias pécnicas é um polímero do ácido D-galacturônico, com ligações α -1,4, ou seja, o *ácido poligalacturônico*, ou *ácido pécrico* (Figura 3). Geralmente, moléculas de arabinose, galactose, ramnose e outros monossacarídeos estão também presentes nas cadeias de ácido pécrico. Com base no grau de metilação de seus grupos carboxílicos e no comprimento das cadeias, as substâncias pécnicas podem ser assim classificadas:

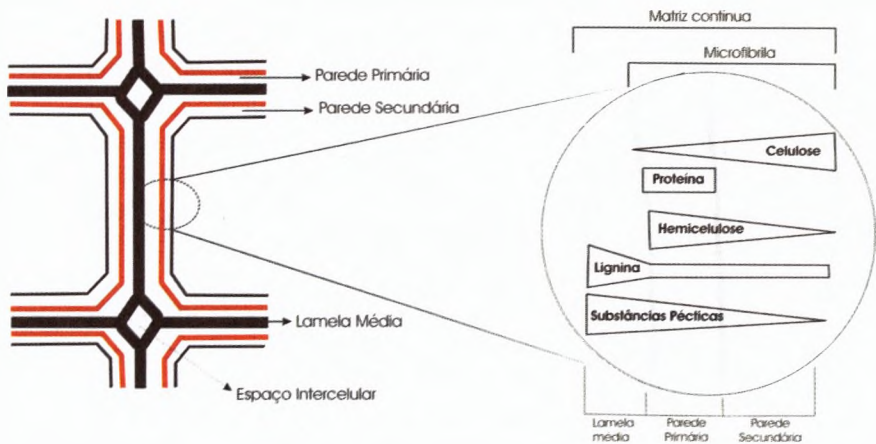


Figura 2 Desenho esquemático da parede celular vegetal, mostrando suas subdivisões (lamela média, parede primária e secundária), composição e distribuição relativa de seus componentes (substâncias pécnicas, lignina, hemicelulose, proteínas e celulose)

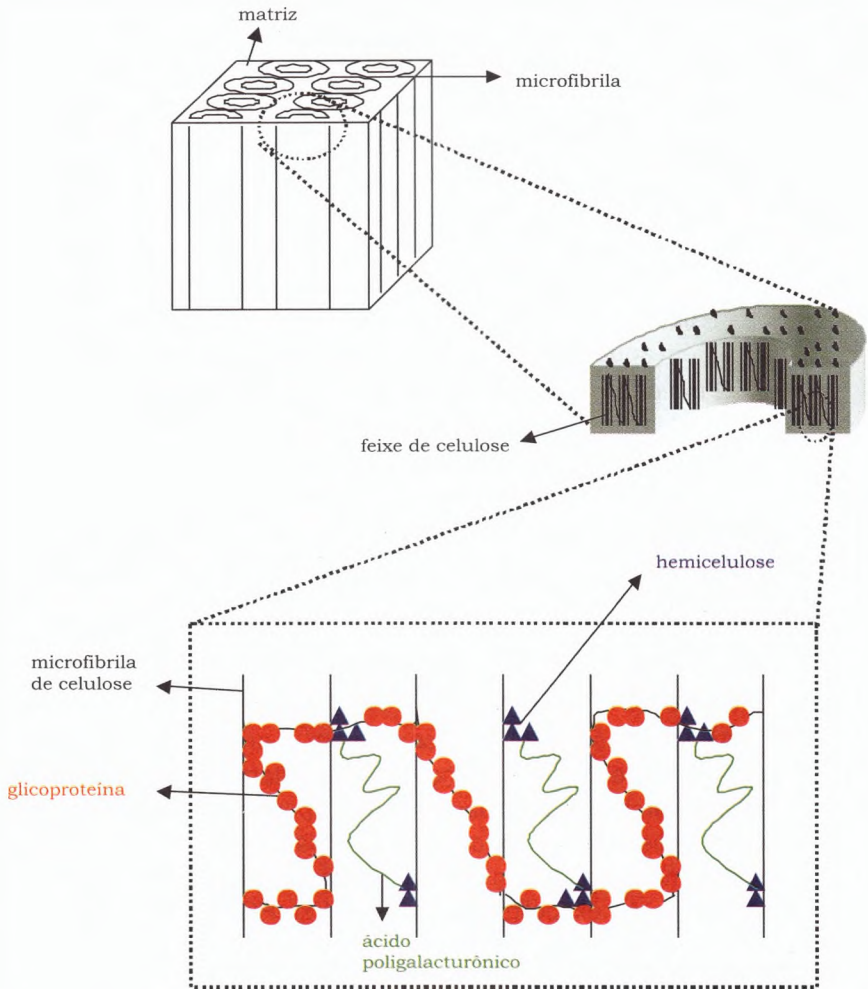


Figura 3 Composição e arranjo espacial das microfibrilas de celulose e as substâncias que as conectam: ácido poligalacturônico ou pectico, proteínas (extensinas) e hemiceluloses

- (i) Ácido pectico – polímero com cinco a dez unidades de ácido D-galacturônico, com carboxilas livres, que permite alta reatividade com Ca^{+2} e Mg^{+2} , formando pectatos responsáveis por um

aumento na rigidez da lamela média e das outras camadas da parede celular. Tanto o ácido como os seus sais são de baixa solubilidade em água.

- (ii) Ácido pectínico ou pectina – com cadeias de aproximadamente 200 unidades do ácido D-galacturônico, mostrando 50% a 80% de suas carboxilas metiladas. Esse nível de metilação permite uma solubilidade em água superior à do ácido péctico.
- (iii) Protopectina – polímero de cadeias longas, com 1.000 a 2.000 unidades galacturônicas, interligadas lateralmente por vários tipos de ligações físico-químicas, sendo praticamente insolúvel em água à temperatura ambiente.

O material péctico apresenta-se na forma de cadeias complexas resultantes de ligações entre cadeias por meio de cátions Ca^{+2} e Mg^{+2} , formando sais por meio de pontes de hidrogênio entre cadeias pécticas e entre estas e outros polímeros componentes da parede celular. Também ocorre esterificação envolvendo carboxilas e oxidrilas do próprio ácido poligalacturônico ou de outros compostos. Além disso, estão presentes ligações entre carboxilas das substâncias pécticas e carboxilas da celulose e das hemiceluloses e conexões entre carboxilas das substâncias pécticas e radicais básicos contidos em proteínas (BIRDE e CUTTING, 1973; CALLOW, 1983).

As enzimas pectolíticas constituem o principal instrumento da patogênese em várias doenças que resultam em *podridões moles*, estando também envolvidas em outros tipos de sintomas. As enzimas que hidrolisam ácidos pécticos, as *poligalacturonases* (PGs), são as mais comuns e possuem duas maneiras distintas de atuar sobre esses substratos. As *exopoligalacturonases* (Exo-PGs) quebram as cadeias a partir das extremidades, promovendo uma lenta redução da viscosidade de uma suspensão de ácido péctico *in vitro*, enquanto as *endopoligalacturonases* (Endo-PGs) rompem as cadeias ao acaso, produzindo, em curto espaço de tempo, grande número de polímeros de menor peso molecular. Assim sendo, a *viscosimetria* (HORSFALL e COWLING, 1979) mostra que as Endo-PGs promovem uma rápida queda na viscosidade do substrato, separando-as das Exo-PGs de ação muito mais lenta. Além disso, existem PGs que atacam especificamente ácidos pectínicos ou pectina. Essas enzimas são as denominadas exo e endo-metilpoligalacturonases (Exo e Endo Metil-PGs).

Outro conjunto de enzimas que degradam substâncias pécnicas, porém diferentes das PGs por não serem hidrolíticas, é o das *transeliminases* (ou liases da pectina, ou do ácido pécnico), que também atuam sobre a ligação α -1,4 da cadeia poligalacturônica, porém provocando a sua ruptura sem a participação de água e com a formação de um radical com ligação dupla.

As transeliminases (TEs), ou liases β -eliminativas, apresentam as mesmas características das poligalacturonases, em relação ao modo de ação endo e exo, e também quanto à especificidade por substratos poligalacturônicos (transeliminase do ácido poligalacturônico, TEPG) ou metilpoligalacturônicos (transeliminase do ácido pectínico ou da pectina, metil-TE).

A distinção entre transeliminases e poligalacturonases, em geral, é feita com base na detecção dos radicais com ligação dupla, resultantes da atividade transeliminativa, por meio de *espectrofotometria*, detectando-se o cromógeno resultante da reação daquele produto insaturado com ácido tiobarbitúrico.

Um outro grupo de enzimas que atuam sobre substratos pectínicos, ou seja, polímeros metilados de ácido D-galacturônico, é o das *metilesterases da pectina* (MEPs), ou pectina esterases, responsáveis pela demetilação da pectina, liberando metanol. Embora não sejam responsáveis pela quebra das cadeias poligalacturônicas, as metilesterases da pectina modificam as propriedades do material pécnico, alterando o seu nível de metilação.

Exemplos de patógenos que produzem enzimas pectolíticas são *Xanthomonas campestris* (DIANESE e SANTOS, 1985), *Sclerotium cepivorum* (METCALF e WILSON, 1999), *Erwinia* spp. (BARRAS et al., 1994; GRIMAUULT et al., 1997) e *Meloidogyne javanica* (DOYLE e LAMBERT, 2002).

1.3. Celulose

A celulose é um polímero de D-glucose, com ligações glucosídicas do tipo β -1,4, cuja interação com outros componentes da parede é ilustrada na Figura 3. A celulose é degradada por um sistema enzimático hidrolítico envolvendo três componentes distintos, sendo duas *celulases* e a *β -glucosidase*.

A primeira celulase, uma β -1,4-D-glucanase, atua rompendo ao acaso as ligações glicosídicas da cadeia de celulose. Em seguida, moléculas de celobiose são liberadas a partir das extremidades não redutoras pela ação de uma segunda enzima, a β -1,4-D-glucana celobiohidrolase. A degradação enzimática do polímero é finalizada pela liberação de moléculas de glicose a partir da hidrólise da celobiose, reação catalisada pela β -glucosidase.

Bactérias do gênero *Ralstonia* e fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Polyporus*, *Mycrothecium*, *Rhizoctonia*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* e *Chaetomium*, além de muitos basidiomicetos e nematóides como *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*, são exemplos de organismos com atividade celulolítica (KELMAN e COWLING, 1965; LASKIN e LECHEVALIER, 1984; BARKER et al., 1998; DEVRIES e VISSER, 2001). Como exemplo, o gene de uma β -1-4-endoglucanase produzida por *H. glycines* foi recentemente clonado (GAO et al., 2002).

Existem fungos, como *Cladosporium cucumerinum* e *Pythium aphanidermatum*, que produzem celulase mesmo na ausência de celulose, ou seja, constitutivamente. No entanto, para a maioria dos organismos fitopatogênicos, a atividade celulolítica tem que ser induzida, como ocorre, por exemplo, com *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Botryosphaeria* spp., *Cladosporium cucumerinum*, *Colletotrichum linicola*, *Glomerella cingulata*, *Physalospora* spp. e *Sclerotium rolfsii*.

Embora existam celulasas intracelulares, para o fitopatologista é especialmente importante o fato de que vários fitopatógenos são capazes de produzir celulase extracelular, capaz de hidrolisar o componente principal da parede celular das plantas (celulose).

A produção do complexo enzimático *in vitro* por fungos é aumentada se a celulose for a única fonte de carbono disponível. A atividade celulolítica tem sido demonstrada em tecido infectado por fungos de vários gêneros, como *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Gauemannomyces*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotium*, *Verticillium*, entre outros (LASKIN e LECHEVALIER, 1984; DORI et al., 1995; BIDOCHKA et al., 1999; BRUMBAUER et al., 2000; KANG e BUCHENAUER, 2000; DEVRIES e VISSER, 2001). Além disso, é bem conhecida a capacidade de inúmeros basidiomicetos de apodrecer madeira por ação celulolítica

(ULHOA, 1986), causando a chamada *podridão preta*. Essa designação está ligada ao fato de apenas a fração de lignina do lenho ser poupada pelo organismo.

1.4. Hemiceluloses

As *hemicelulases* degradam polímeros pouco solúveis em água, presentes nas paredes celulares das plantas, em cuja composição predominam pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (glucose e manose), conhecidos sob denominação genérica de *hemiceluloses*, importantes componentes da matriz da parede celular. Entre essas, as xilanas, xiloglucanas, arabanas, arabinogalactanas, mananas e galactomananas são muito importantes. A interface entre xiloglucanas e celulose parece ser um dos sítios de ação das auxinas.

Entre os fungos fitopatogênicos, a atividade hemicelulolítica foi detectada em *Diplodia natalensis* e *Colletotrichum trifolii*, que produzem xilanas. Entre as bactérias fitopatogênicas, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* é produtora de β -mananases, porém a maior parte da informação científica disponível refere-se a organismos não-patogênicos (WOOD, 1967; COOPER, 1983).

1.5. Lignina

A *lignina* é um polímero tridimensional, de alta estabilidade e presente em células epidérmicas (e na endoderme de algumas plantas xerófitas). Na madeira, a lignina é encontrada nas fibras e nos vasos do xilema, estando concentrada na lamela média e na parede primária, reduzindo-se na secundária à medida que se caminha para o lúmen celular (Figura 2). Trata-se de um derivado fenólico construído a partir de unidades fenilpropanóides na via do *ácido shiquímico*, formado por condensação oxidativa dos álcoois cinâmicos (Apêndice 1).

A decomposição de madeira com alto conteúdo de lignina é comum na natureza, resultando na denominada *podridão branca*, conseqüência da degradação da lignina, principalmente por fungos basidiomicetos, restando apenas a celulose na forma de um emaranhado de filamentos

claros. Esse fato, ou seja, a remoção seletiva de lignina, tem grande significado biotecnológico para aplicação em processos biológicos de produção de polpa de celulose, para melhorar a digestibilidade de restos vegetais altamente lignificados e até mesmo no uso da madeira para a produção de álcool (KIRK, 1971; BLANCHETTE, 1984; BLANCHETTE et al., 1985; OTJEN e BLANCHETTE, 1986).

Espécies de basidiomicetos dos gêneros *Cerrena*, *Ganoderma*, *Hirschioporus*, *Ischnoderma*, *Poria*, *Inonotus* e *Phellinus* são exemplos de fungos lignolíticos, que causam podridões em condição de campo e/ou na madeira após o corte (KIRK, 1971).

1.6. Suberina

Componente principal da cortiça dos troncos das árvores e da superfície dos órgãos subterrâneos, a *suberina* é também importante na resposta a ferimentos, nos processos de cicatrização e na defesa contra a infecção por vários patógenos, manifestada pela deposição dessa substância em células parenquimatosas subjacentes ao sítio infectado. Pouco se sabe sobre a ação enzimática de fungos e bactérias sobre a suberina, apesar da aparente facilidade com que é decomposta na natureza e da reconhecida capacidade de alguns fungos como *Fusarium solani* f.sp.*pisi* de degradar os componentes alifáticos e aromáticos da suberina (FERNANDO et al., 1984; KOLATTUKUDY, 1985).

1.7. Componentes do Protoplasma

Com exceção de vírus, viróides e similares, os demais patógenos retiram nutrientes do protoplasma da célula vegetal. A maioria dos fungos e das bactérias desintegram o tecido vegetal por ação de toxinas e/ou enzimas. Nesses casos, os nutrientes são obtidos primariamente pela agressão química às paredes celulares e/ou membranas plasmáticas, quando então os plasmodesmas rompidos permitem o acesso dos patógenos aos fluidos celulares liberados no espaço intercelular. Com isso, proteínas, lipídeos, fosfolipídeos, ácidos

nucléicos, polissacarídeos e outras substâncias presentes no protoplasma são degradadas enzimaticamente e utilizadas pelo patógeno.

Proteases foram estudadas em *Rhizoctonia solani* e em três espécies de *Fusarium*, enquanto *Thielaviopsis basicola*, *Sclerotium rolfsii*, *Erwinia carotovora* e *Phoma medicaginis* var. *pinodella* produzem *fosfolipases* B ou C, responsáveis pela hidrólise de fosfolipídeos das membranas plasmáticas. *Amilases* são comuns entre bactérias e fungos fitopatogênicos, permitindo a degradação e o uso do amido contido nos leucoplastos. Também *lipases* são produzidas por fitopatógenos, as quais liberam ácidos graxos que podem ser metabolizados por beta-oxidação (AGRIOS, 1997).

Fungos causadores de ferrugens, oídios e cromistas causadores de míldios interagem diferentemente com o protoplasma da hospedeira, dele obtendo nutrientes através de haustórios formados a partir de hifas intercelulares. O funcionamento dos haustórios permite a drenagem de monômeros diversos para a célula fúngica, sem no entanto promover a morte imediata da célula parasitada. Contudo, muito pouco se sabe sobre a clivagem enzimática de macromoléculas necessária à migração química para dentro dos haustórios.

1.8. O Papel das Enzimas Degradadoras da Parede Celular na Patogenicidade e Virulência

Evidências experimentais que correlacionam o envolvimento de enzimas que atuam sobre os componentes da parede celular com a patogenicidade de fungos e bactérias foram relatadas em vários patossistemas.

A síntese de cutinase parece ser um fator importante de patogenicidade para a penetração de fungos em tecidos intactos. No patossistema ervilha/*Fusarium solani* f.sp. *pisi*, demonstrou-se que uma cutinase era essencial para a penetração e a infecção da hospedeira, sendo esta secretada durante a penetração (PURDY e KOLATTUKUDY, 1975; KÖLLER et al., 1995). Dickman et al. (1989) demonstraram que a inserção de um gene da cutinase de *Nectria haematococca* em *Mycosphaerella* sp., fungo incapaz de penetrar a

cutícula intacta, tornou este último capaz de expressar cutinase e aumentou sua habilidade de causar doença na ausência de ferimentos.

Estudos da secreção de cutinase por *F. solani* f.sp. *pisi* e *Colletotrichum gloeosporioides*, utilizando imunofluorescência, mostraram que a cutinase é secretada pelos esporos em processo de germinação e é direcionada à região de contato e penetração da hospedeira. Em *F. solani* f.sp. *pisi*, que não forma apressórios, a cutinase foi detectada na extremidade do tubo germinativo, durante o processo de germinação. Já em *C. gloeosporioides*, a secreção de cutinase é observada na hifa de penetração que emerge do apressório (PODILA et al., 1995).

Para *Fusarium solani* f.sp. *pisi*, mostrou-se que a produção de celulasas, pectinases e metilesterases da pectina (MEPs) é também essencial para a penetração e a infecção do epicótilo de ervilha. Um isolado denominado T-30, avirulento em razão da inabilidade de transpor essa barreira na ausência de ferimentos, tornou-se virulento quando se adicionaram as enzimas cutinase, pectinase, celulase e metilesterase da pectina aos esporos. Todas essas enzimas mostraram-se necessárias para causar o mesmo nível de sintomas observados em epicótilos que sofreram ferimentos, evidenciando assim a ausência dessas enzimas nesse isolado (KÖLLER et al., 1981).

KÖLLER et al. (1995) e FAN e KÖLLER (1998), discutiram a expressão de cutinases durante o saprofitismo e a patogênese, usando como modelo o patossistema *Alternaria brassicicola*/repolho. Diferentes formas isoenzimáticas da proteína são expressas sob uma condição e outra, com baixa homologia entre as seqüências dos genes. As isoenzimas secretadas durante o crescimento saprofítico não foram detectadas na hospedeira, e possivelmente estas são utilizadas para a liberação de ácidos graxos da cutina e sua utilização como fonte de carbono. Durante a patogênese, por outro lado, a hidrólise da cutina teria a finalidade de propiciar a penetração da hospedeira.

Fungos mostram diferentes capacidades adaptativas na produção de enzimas hidrolíticas extracelulares, o que reflete uma habilidade de atuar como saprófitas, parasitas facultativos ou biotróficos. Um bom exemplo é o caso das diferentes espécies do gênero *Verticillium* (BIDOCHKA et al., 1999). Os parasitas facultativos *V. albo-atrum* e *V. dahliae* produzem maiores níveis de xilanasas e celulasas que o

entomopatógeno *V. lecanii*. Já as espécies saprofitas e oportunistas mostraram-se menos específicas na produção e na regulação de várias enzimas. Assim foi possível agrupar espécies com base na produção de enzimas hidrolíticas, com forte correlação com seu tipo de hospedeira (inseto ou planta).

Mutantes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersci*, *Verticillium albo-atrum* e *Sclerotinia fructigena* com baixa atividade de poligalacturonases (PG) e metilesterases da pectina (MEPs) têm sido estudados. Todos eles possuem virulência similar ou um pouco menor que os tipos selvagens em suas hospedeiras. Assim, essas enzimas são *fatores de virulência*, mas não são *determinantes* da patogenicidade (ANNIS e GOODWIN, 1997).

Já Freeman e Rodriguez (1993) observaram que um mutante endofítico e assintomático de *Colletotrichum magna*, diferentemente da estirpe patogênica, não secretou transeliminases (TE) e, tampouco, poligalacturonases (PG). Com isso, pode-se concluir que esses sistemas enzimáticos parecem essenciais à ação patogênica do fungo. Contudo, é importante considerar a possibilidade de ter ocorrido a inativação de outros genes, também envolvidos na patogenicidade, além daqueles de interesse, em virtude do método de mutação induzida utilizado.

A expressão do gene de uma transeliminase (ou *pectato liase*), de *C. gloeosporioides*, em *C. magna*, um patógeno fraco de cucurbitáceas, levou à obtenção de transformantes com maior habilidade de maceração do pericarpo de abacate em relação ao tipo selvagem, porém com atividade inferior à de *C. gloeosporioides* (YAKOBY et al., 2000). Quando inoculados em plântulas de melancia, os isolados de *C. magna* transformados apresentaram-se mais virulentos do que o tipo selvagem, causando maceração dos tecidos e tombamento de mudas. Os resultados mostraram que o produto de um único gene (*pel*) aumentou a habilidade patogênica de *C. magna*. Os autores sugerem que o produto desse gene é um dos determinantes da patogenicidade, necessário para a penetração e a colonização, talvez, de muitas espécies de *Colletotrichum*.

Já em *Cryphonectria parasitica*, não foi observada nenhuma redução de virulência quando um gene que codifica para uma poligalacturonase foi desligado (GAO et al., 1996), no entanto, mostrou-se que esse gene é expresso em níveis muito baixos durante a infecção.

Muitos genes que codificam a síntese de poligalacturonases (PG) já foram clonados em diversos fungos fitopatogênicos e saprófitas. A comparação das seqüências dos genes de diferentes espécies de fungos não mostrou homologia significativa entre as regiões codificadoras, exceto para alguns genes de *Aspergillus* (ANNIS e GOODWIN, 1997). Genes das poligalacturonases podem estar organizados em famílias gênicas, como em *Phytophthora cinnamomi*, um representante do reino *Chromista*, mais próximo taxonomicamente das algas, o qual possui cerca de 17 genes, filogeneticamente relacionados às PGs dos fungos verdadeiros (reino *Fungi*) (GÖTESSON et al., 2002).

Genes que codificam enzimas degradadoras de parede (EDPs) específicas para outros substratos como celulose, xilana e cutina também já foram clonados em *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Cochliobolus*, *Nectria*, *Alternaria* e *Macrophomina* (ANNIS e GOODWIN, 1997).

Para bactérias fitopatogênicas, existem evidências que apóiam um papel das EDPs na patogenicidade e na virulência dependendo da espécie bacteriana e sua hospedeira. Diversas bactérias são capazes de produzir enzimas pectolíticas, mas as do gênero *Erwinia* são as mais estudadas, por produzirem essas enzimas em grande quantidade e por sua ocorrência em um grande número de hospedeiras. Enzimas pectolíticas são importantes fatores de virulência em *Erwinia*, embora devam existir outros fatores (BARRAS et al., 1992 e 1994).

Erwinia chrysanthemi produz múltiplas enzimas pectolíticas. Entre as transeliminases (TEPGs) ou endopectato liases, é produzida uma série de isoenzimas (PelA, PelB, PelC, PelD, PelE, PelI, PelL e PelZ) que diferem na capacidade de maceração, ou seja, na habilidade de provocar *podridões moles*. Diferentes isoformas podem também atuar de forma sinérgica. A ocorrência de múltiplas isoformas provavelmente reflete uma adaptação fisiológica, que permitiria a patogênese em amplas e variadas condições e hospedeiras (ROBERT-BAUDOY et al., 2000).

Além da produção de enzimas que degradam a parede celular, o processo de secreção também é um importante fator de virulência. Os genes *out* são responsáveis pela secreção de enzimas pectolíticas em *E. chrysanthemi* e em *E. carotovora* subsp. *carotovora*. Mutações nesses genes diminuem a secreção das enzimas no espaço

periplasmático, tornando esses mutantes avirulentos (SALMOND, 1994).

Em *Ralstonia solanacearum*, enzimas extracelulares (poligalacturonases, uma endoglucanase e uma protease) são fatores de virulência. Os genes *eglA* e *pglA* codificam a endoglucanase e a poligalacturonase, respectivamente, que são importantes, mas não fundamentais, para a patogênese. Essas enzimas podem contribuir para a ocorrência do sintoma da murcha pela degradação de paredes celulares de vasos em estádios avançados da patogênese (DENNY et al., 1990).

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*, agente do cancro bacteriano do tomateiro, produz exopolissacarídeos e as enzimas endoglucanases, metilesterases da pectina, poligalacturonases e xilanases, todas provavelmente envolvidas na patogenicidade. O gene *celA*, presente no plasmídeo *pCM1*, codifica uma endoglucanase (Cel A, 78 kDa) necessária para o desenvolvimento dos sintomas em tomateiro. A expressão dessa proteína em isolados avirulentos recuperou a habilidade desses isolados de causar murcha, o que foi reforçado pela complementação de mutantes *CelA* com o gene do tipo selvagem (JAHR et al., 2000).

**Mecanismo de Agressão:
Fitotoxinas**

Fitotoxinas, ou simplesmente toxinas, são produtos dos patógenos, em geral de baixo peso molecular, com a capacidade de afetar o metabolismo da célula da hospedeira e/ou sua estrutura, a ponto de causar a sua morte. As fitotoxinas não têm ação enzimática ou hormonal, mas interferem com a seletividade e/ou a estrutura das membranas plasmáticas, do retículo endoplasmático e das organelas como mitocôndrias e cloroplastos. Podem ainda agir como inibidores enzimáticos ou funcionar como antimetabólitos, provocando deficiências nutricionais (DURBIN, 1981).

A fitotoxina pode ter ação seletiva, afetando apenas células das plantas suscetíveis ao ataque do patógeno que a produziu. Existem outras sem essa característica, havendo mesmo algumas com amplo espectro de ação, ou seja, portadoras de forte efeito biocida contra muitas espécies vegetais e até contra fungos e algas (WOOD et al., 1972; BALLIO, 1991; BENDER, 1998; HEISER et al., 1998).

2.1. Fitotoxinas Não-Seletivas

Toxinas não-seletivas, ou não-específicas, afetam tanto espécies hospedeiras quanto não-hospedeiras. Existem inúmeros exemplos de fitotoxinas não-seletivas, produzidas por fungos e bactérias. Em especial, as fitotoxinas não-seletivas produzidas por bactérias fitopatogênicas já foram bem caracterizadas (GROSS, 1991). A seguir, os seguintes exemplos serão abordados: as toxinas de *Pseudomonas syringae*, fusicoccina, as toxinas de *Fusarium*, piricularina, ácido oxálico e ácido fumárico.

Toxinas de *Pseudomonas syringae*

Toxinas não-seletivas são comumente fatores de virulência de bactérias fitopatogênicas, notadamente dos diversos patovares de *Pseudomonas syringae* (GROSS, 1991). Essas toxinas não são determinantes da patogenicidade, o que significa que a ausência da toxina não altera a habilidade da bactéria em infectar. As toxinas de *P. syringae* constituem uma família de compostos estruturalmente

diversificados, normalmente de natureza peptídica, que podem ser agrupados em cinco classes distintas. As toxinas que induzem clorose são as mais comuns e são designadas *tabtoxina*, *coronatina*, *tagetitoxina* e *faseolotoxina*. Em contraste, as *siringomicinas*, toxinas que induzem necrose, são restritas a *P. syringae* pv. *syringae*. Agrupamentos de genes (*clusters*) que codificam a produção de toxinas já foram identificados, e evidências apóiam a hipótese de que alguns desses genes são ativados em resposta a sinais específicos da planta, determinando uma reação de suscetibilidade (GROSS, 1991; BENDER, 1999).

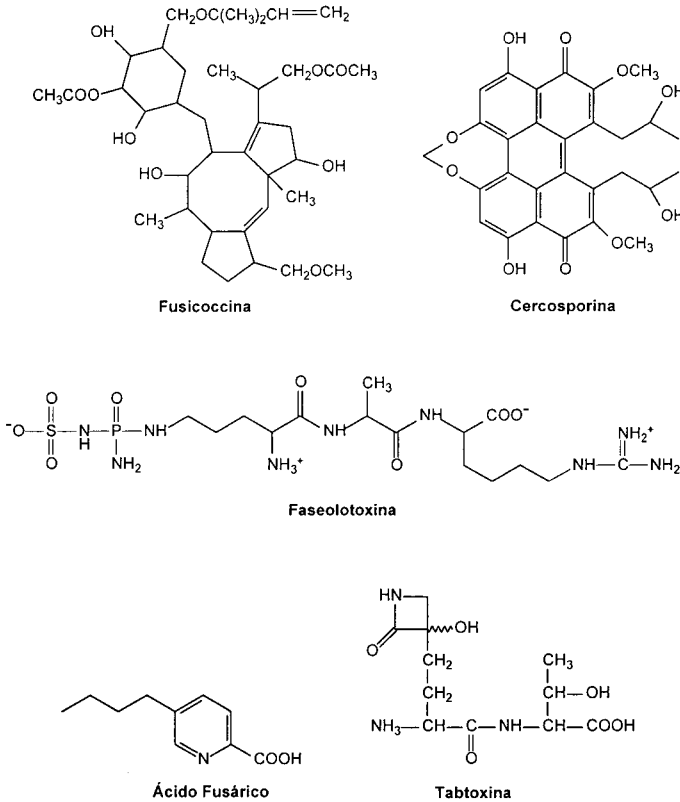


Figura 4 Estrutura química de algumas toxinas não-seletivas produzidas por fitopatógenos

A toxina do fogo selvagem ou tabtoxina (Figura 4) é produzida por pelo menos três patovares de *P. syringae*: pv. *tabaci* (agente do fogo selvagem: queima foliar altamente destrutiva), pv. *garcae* e pv. *coronafaciens*. A tabtoxina é um dipeptídeo e sua hidrólise resulta na liberação de treonina e do β -lactam de uma amina secundária denominada tabtoxinina. A habilidade de induzir clorose é ativada somente após a hidrólise da ligação peptídica para liberar a tabtoxinina, possivelmente pela exposição a peptidases de origem bacteriana ou vegetal (TURNER e TAHA, 1984; GROSS, 1991; LYDON e PATTERSON, 2001).

As tabtoxinas reproduzem em várias outras espécies, além das hospedeiras da bactéria produtora, sintomas semelhantes aos do fogo selvagem, incluindo manchas foliares amareladas que coalescem e necrosam amplas áreas do limbo. Embora dois outros mecanismos de ação dessa toxina já tenham sido aventados, acredita-se que o seu efeito é o de inibidor da sintase da glutamina, causando assim acúmulo de amônia nos tecidos em níveis tóxicos. Um gene responsável pela resistência da bactéria à tabtoxina foi clonado por Anzai et al. (1989) e nomeado *ttr*, que codifica uma enzima que inativa a tabtoxina por acetilação. Plantas transgênicas expressando *ttr* mostraram-se resistentes a *P. syringae* pv. *tabaci* ou à tabtoxina purificada (ANZAI et al., 1989). Esse estudo demonstrou a importância dessa toxina como fator de patogenicidade e também a possibilidade do uso de genes de resistência a toxinas produzidas por microrganismos, para a obtenção de plantas resistentes a fitopatógenos.

A *siringomicina* é um composto de baixo peso molecular, de natureza lipopeptídica (GROSS, 1991), que por hidrólise produz nove aminoácidos distintos. Trata-se de um antibiótico de amplo espectro produzido por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* com efeito tóxico sobre várias espécies de plantas, algas e fungos. Ramos de pessegueiro tratados com a toxina mostram necrose e escurecimento do caule semelhante ao causado pela própria bactéria. *Siringomicina* foi isolada de plantas infectadas com a bactéria e o seu envolvimento com o processo patológico desenvolvido por *P. syringae* tem sido demonstrado. Sua natureza lipopeptídica permite sua inserção entre as camadas lipídicas das membranas. Vários efeitos dessa toxina no transporte de íons através da plasmalema de células de plantas e fungos já foram relatados (PATIL, 1974; GROSS, 1991; SUZUKI et al., 1992; CAMONI et al., 1995; HUTCHISON e GROSS, 1997).

A *faseolotoxina* (Figura 4) é produzida por *P. syringae* pv. *phaseolicola* e trata-se de um tripeptídeo com um grupo fosfato, cuja porção biologicamente ativa, a *octicidina*, liga-se à *carbamiltransferase da ornitina* (CTOase) e competitivamente inibe a ligação do carbamilfosfato, bloqueando a conversão do aminoácido ornitina em citrulina, um precursor da arginina. Uma CTOase insensível à faseolotoxina foi clonada e expressa em fumo transgênico, que se mostrou resistente à bactéria (MOSQUEDA et al., 1990; DE LA FUENTE-MARTINEZ e HERRERA-ESTRELLA, 1993).

A clorose observada em plantas suscetíveis foi sugerida como sendo resultado da redução na síntese de clorofila, uma consequência indireta do reduzido nível de arginina em folhas em desenvolvimento (GROSS, 1991). Além disso, ocorre a destruição da clorofila, um evento observado também durante a senescência foliar e ligado, possivelmente, à inibição de outra enzima, a *decarboxilase da ornitina* (BACHMANN et al., 1998). A expressão em planta de fumo de um gene (*arg K*) que confere à bactéria resistência a faseolotoxina tornou algumas plantas resistentes à toxina (HATZILOUKAS e PANOPOULOS, 1992).

Como a resistência a bactérias via engenharia genética tem sido obtida utilizando-se tanto a faseolotoxina como a tabtoxina, fica comprovado em definitivo o papel dessas toxinas na patogenicidade de *P. syringae* pv. *phaseolicola* e *P. syringae* pv. *tabaci*, respectivamente (HERRERA-ESTRELLA et al., 1996).

A *coronatina* está associada a sintomas de clorose produzidos por *P. syringae* pv. *atropurpurea*, *P. syringae* pv. *glycinea*, *P. syringae* pv. *morsprunorum* e *P. syringae* pv. *maculicola*. Essa toxina e seu precursor, o ácido coronafácico, desempenham papel importante nas etapas iniciais das interações tanto *compatíveis* quanto *incompatíveis*, podendo atuar tanto no estabelecimento de populações bacterianas nos sítios de infecção quanto na prevenção do reconhecimento pela hospedeira (NARA et al., 1997; BUDDE e ULLRICH, 2000).

A *tagetitoxina* é produzida somente por *P. syringae* pv. *tagetis*, bactéria patogênica a plantas da família *Compositae*. Nesse caso, somente os tecidos foliares apicais em desenvolvimento são afetados. Estudos demonstraram que essa toxina afeta a transcrição de genes presentes no cloroplasto, afetando o acúmulo de enzimas, ribossomos e RNA (GROSS, 1991).

Fusicoccina

A *fusicoccina* (Figura 4) é uma substância terpenóide (Apêndice 2) produzida pelo fungo *Fusicoccum amygdali*, causador de mancha foliar e seca de brotos em pessegueiro e damasco. O efeito tóxico ocorre em pontos distantes do sítio de infecção fúngica, indicando translocação da toxina.

O tratamento de ramos, com a substância produzida *in vitro*, induz sintomas semelhantes aos do próprio patógeno, porém com efeitos amplos e atingindo também plantas não-hospedeiras. Além disso, a fitotoxina atua sobre as células estomáticas, provocando a abertura dos estômatos mesmo no escuro, ao mesmo tempo em que causa um aumento na transpiração transcuticular. Com isso, ocorre a perda excessiva de água, o que leva à desidratação e à necrose de folhas e ramos. O sítio de ação da *fusicoccina* também parece ser a membrana plasmática da célula vegetal (YODER, 1980; DURBIN, 1981; HEISER, 1998).

Toxinas de *Fusarium*

Fusarium oxysporum, fungo responsável pela murcha de grande número de espécies vegetais, em condições de clima tropical e subtropical, é o produtor de *licomarasmina* e *ácido fusárico* (Figura 4), ambas fitotoxinas de ação não-seletiva. A licomarasmina é produzida *in vitro*, em culturas senescentes, mas não tem sido detectada na planta murcha. Trata-se de um peptídeo de ácido aspártico, glicina e ácido pirúvico e peso molecular de 277 Da. Plantas infectadas com o fungo dificilmente mostram queima de folhas antes da murcha. O contrário ocorre quando se aplica a toxina, a qual primeiro produz lesões foliares e depois uma murcha irreversível.

Já o ácido fusárico (Figura 4), também de amplo espectro, produz murcha acompanhada de escurecimento vascular, além de manchas encharcadas nas folhas. Tanto o ácido fusárico como também a licomarasmina têm a capacidade de precipitar íons Fe^{+2} e Cu^{+2} em soluções (os chamados agentes *quelantes*), afetam membranas de células vegetais, além de funcionarem como inibidores enzimáticos.

Ao contrário da licomarasmina, o ácido fusárico foi detectado *in vivo* na planta doente (WYLLIE e MOREHOUSE, 1977; GÄUMANN, 1958). A clonagem dos genes que conferem resistência do próprio *Fusarium* a essas toxinas é uma área promissora, pois plantas transgênicas expressando tais genes podem vir a mostrar resistência específica a fusarioses.

Piricularina

É uma toxina de amplo espectro produzida por *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) agente da *brusone do arroz*, a qual pode reproduzir, nessa hospedeira, sintomas de clorose, riscas, enfezamento de plântulas, mancha foliar e lesão da base de folhas maduras.

A piricularina livre é tóxica também a *M. grisea*, porém o fungo produz uma proteína rica em cobre que forma um complexo com a toxina e assim evita a sua própria intoxicação. Para a planta, contudo, o complexo proteína-toxina é tão tóxico quanto a própria toxina livre (WOOD, 1967; CALLOW, 1983).

Ácidos Orgânicos

Os ácidos oxálico e fumárico, metabólitos produzidos por muitos fungos, quando em excesso, podem funcionar como toxinas. Assim, o ácido oxálico é tido como responsável pela morte rápida de tecidos vegetais atacados por *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Aspergillus niger*. Quanto ao ácido fumárico, presente no *Ciclo de Krebs*, este é produzido abundantemente por *Rhizopus arrhizus*, *R. circinans* e *R. stolonifer*, que causam podridão de frutos em pessegueiro e amendoeira. Nesses casos, o ácido acumula-se no mesocarpo dos frutos atacados, para ser posteriormente translocado e promover a queima de folhas e ramos.

Entre as toxinas não-seletivas, merecem menção ainda: moniliformina de *Fusarium moniliforme*; ácido alternárico, tentoxina, alternariol e ziniol de *Alternaria* spp.; rizobitoxina de *Bradyrhizobium japonicum*; cerato-ulmina de *Ceratocystis ulmi*, cercosporina (Figura

4) de *Cercospora* spp., ofiobolinas de *Cochliobolus* spp. e coletocina de *Colletotrichum fuscum* (MAXWELL e LUMSDEN, 1970; NOYES e HANCOCK, 1981; AGRIOS, 1997; DAUB e EHRENSHAFT, 2000).

2.2. Fitotoxinas Seletivas

Em contraste com as toxinas não-seletivas, outras toxinas são ativas somente contra a mesma espécie, o cultivar ou o genótipo da planta hospedeira do patógeno produtor (WALTON, 1997). Nesse grupo estão toxinas capazes de reproduzir, apenas nas plantas suscetíveis ao patógeno, todos os sintomas da doença por ele causada. A existência de compostos tóxicos produzidos por fungos que atuam especificamente nas suas hospedeiras é conhecida desde a década de 1930.

Aproximadamente vinte toxinas específicas já foram caracterizadas, sendo em sua maioria produzidas por fungos dos gêneros *Alternaria* e *Cochliobolus*. Os primeiros patossistemas estudados foram pãera japonesa/*Alternaria kikuchiana* e aveia/*Cochliobolus victoriae*. Assim como as toxinas não-seletivas, as toxinas seletivas são metabólitos secundários. Embora de natureza química variável, são compostos de baixo peso molecular, solúveis em solventes polares. A base genética da síntese, produção e sensibilidade à toxina é bem conhecida e estudada para algumas toxinas seletivas (SCHEFFER e SAMADDAR, 1970; MACKO, 1983; WALTON e PANACCIONE, 1993; WALTON, 1997).

Toxinas seletivas purificadas são capazes de induzir os mesmos sintomas causados pelo patógeno e observados após inoculações. Correlações entre a suscetibilidade da planta hospedeira à doença e a sensibilidade às toxinas produzidas pelo patógeno já foram demonstradas em alguns patossistemas. Como exemplo, *Pyrenophora teres* f.sp. *teres* e f.sp. *maculata*, que infectam cevada, produzem duas toxinas que podem ser usadas para a seleção de linhagens de cevada resistentes ao fungo (WEIERGANG et al., 2002). Da mesma forma, a raça 1 de *P. tritici-repentis* produz uma toxina genótipo-específica (*Ptr tox C*) indutora de clorose em trigo. Genótipos insensíveis à toxina também não exibiam clorose após inoculações com suspensão de conídios (EFFERTZ et al. 2002).

Helmintosporoside

Produzida por *Cochliobolus sacchari*, fungo responsável por mancha foliar em cana-de-açúcar, helmintosporoside (ou toxina HS) tem ação específica sobre células de cultivares suscetíveis ao patógeno. Acreditava-se originalmente tratar-se de 2-hidroxi-ciclopropil-alfa-galactopiranosose, mas é, na verdade, uma molécula mais complexa, com uma fração oligossacarídica ligada a um sesquiterpenóide.

A toxina é secretada pelo fungo em cultura e foi também detectada em lesões do fungo na folha da hospedeira. Além disso, os primeiros trabalhos indicaram que a toxina se ligava preferencialmente a uma proteína receptora na plasmalema das plantas suscetíveis. Alguns clones resistentes reagem, no entanto, de forma anômala, fixando quantidades de toxina semelhantes às fixadas pelos cultivares suscetíveis (AGRIOS, 1997; YODER, 1980; GOODMAN et al., 1967).

Victorina

A victorina ou toxina HV é produzida por *Cochliobolus victoriae* e tem efeito específico contra germoplasma de aveia descendente de *Avena bizantina* (aveia *Victoria*), usada extensivamente no hemisfério norte como fonte de resistência à ferrugem causada por *Puccinia coronata*. Somente cultivares suscetíveis ao fungo são afetados pela toxina. Além disso, apenas os isolados patogênicos produzem *victorina*.

Esta toxina é, quimicamente, um pentapeptídeo ligado a uma amina secundária cíclica denominada victoxinina (Figura 5). O peptídeo isoladamente, não é tóxico e contém ácido aspártico, ácido glutâmico, glicina, valina e leucina. Victoxinina, quando isolada, também é pouco tóxica e não tem efeito seletivo contra hospedeiras, como é o caso de victorina. Assim sendo, apenas a combinação do peptídeo com a amina funciona como toxina seletiva.

A victorina é produzida em meio líquido e é liberada mesmo durante a germinação dos esporos do fungo. Causa perda rápida de eletrólitos pelas células vegetais, indicando um efeito sobre a membrana plasmática e outras membranas. Além disso, aumenta a respiração e a fixação de CO₂ no escuro e reduz o crescimento, e síntese proteica

e a incorporação de fosfato em compostos orgânicos (YODER, 1980).

Toxina T

A toxina T (Figura 5) foi detectada em tecido de milho com citoplasma Texas ou citoplasma T (determinante de *macho esterilidade*), quando infectado com a raça T de *Cochliobolus heterostrophus* (anamorfo *Bipolaris maydis*), e foi a principal causa da grande epidemia de queima foliar (*Southern Corn Leaf Blight*) em 1970 nos Estados Unidos (WALTON, 1997) e no Brasil.

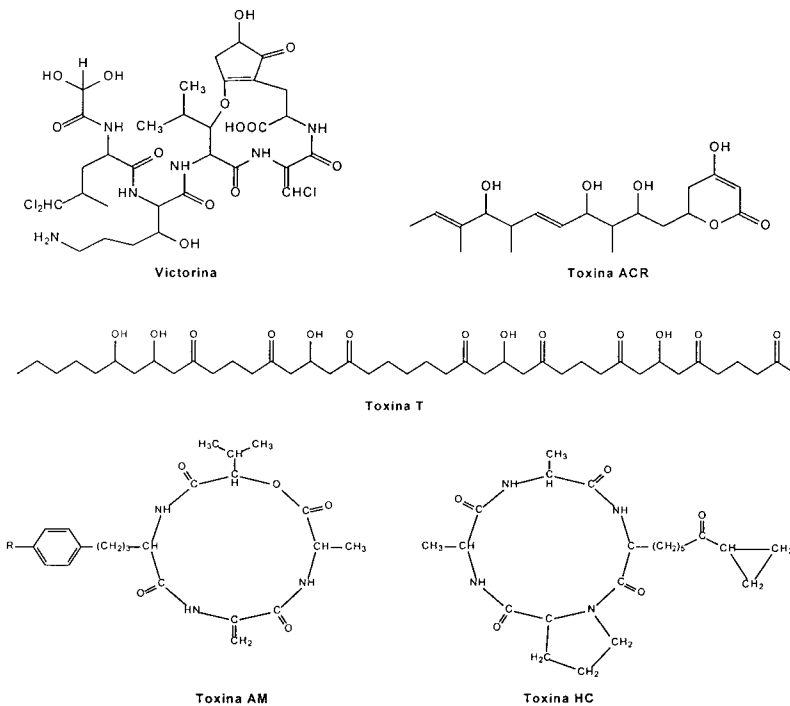


Figura 5 Estrutura química de algumas toxinas seletivas produzidas por fitopatógenos

A herança da sensibilidade à toxina é materna, assim como o citoplasma T, e são as mitocôndrias o principal alvo da ação da toxina. Mitocôndrias de plantas que não carregam o citoplasma T são insensíveis à toxina. A toxina causa rápidas e drásticas mudanças nas mitocôndrias de plantas suscetíveis, afeta também os cloroplastos e promove o vazamento seletivo de certos íons através das membranas, alterando ainda a absorção de potássio pelas membranas, inclusive nas células-guarda, com isso prejudicando a abertura dos estômatos. A purificação e determinação da estrutura da toxina T revelaram tratar-se de uma mistura de policetóis lineares com 35 a 45 carbonos na cadeia (AGRIOS, 1997; YODER, 1980).

Toxina HC

Produzida por *Cochliobolus carbonum*, a toxina HC é produzida especificamente por isolados *tox+* da raça 1 e constitui-se de um tetrapeptídeo cíclico (Figura 5). Uma região de 22 kb no genoma de *C. carbonum* contém o gene de uma das enzimas envolvidas na síntese da toxina (*HC sintetase*), e tal região está ausente em todos os isolados não produtores da toxina testados (WALTON e PANACCIONE, 1993). Ensaio *in vitro* mostraram que essa toxina inibe a enzima histona-desacetilase e, conseqüentemente, interfere na regulação da expressão gênica, suprimindo a habilidade de genótipos suscetíveis de milho produzirem uma resposta de defesa ao fungo invasor. Na planta *Lemna pausicostata*, a toxina HC bem como a apicidina, toxina de *Fusarium* spp., inibiram a histona-desacetilase. A exposição por 72 horas aumentou o extravasamento celular, bloqueou a síntese de clorofila e inibiu a divisão celular. Em concentrações equivalentes, a toxina HC teve efeitos mais severos do que a apicidina (ABBAS et al., 2001).

Em milho, um gene de resistência à raça 1 de *C. carbonum* codifica uma enzima, uma redutase, com atividade de detoxificação da toxina HC (WALTON, 1997). Tal enzima também é encontrada em outras espécies de gramíneas. A ausência dessa enzima não tem nenhum outro efeito fenotípico a não ser tornar as plantas suscetíveis ao fungo. *Hm-1* é o gene que foi clonado de variedades resistentes e que codifica

uma redutase dependente de NADPH, a qual inativa a toxina HC (JOHAL e BRIGGS, 1992; MULTANI et al., 1998).

Outros exemplos de toxinas produzidas por *Cochliobolus* são a *cochlioquinona* (*Bipolaris bicolor*) e *ofiobolinas* (*B. oryzae*), ambas consideradas seletivas por alguns autores (MIYAGAWA et al., 1994; XIAO et al., 1991; AU et al., 2000).

Toxina de *Periconia circinata*

O fungo produtor dessa toxina é um saprófita habitante do solo e a toxina é de efeito específico contra certos cultivares de sorgo. Ela causa nessas plantas prejuízos semelhantes aos de victorina em aveia. As peritoxinas são facilmente produzidas *in vitro* e trata-se de um peptídeo contendo lisina e ácido aspártico, ligado a um policetídeo clorinado. As estirpes produtoras de peritoxinas causam danos extensivos ao sistema radicular de sorgo suscetível, enquanto as não produtoras são colonizadores secundários (YODER, 1980). Nesse caso não ocorre uma relação parasítica, mas meramente uma doença resultante de uma interação da planta com um metabólito secretado pelo fungo.

Toxinas de *Alternaria alternata*

Os patótipos de *Alternaria alternata* produzem nove toxinas seletivas (OTANI et al., 1995). O fungo ataca macieira, citros, pereira japonesa, morangueiro e tomateiro, apresentando-se assim com vários patótipos ou *formae speciales*, que anteriormente eram considerados espécies distintas, a saber: *A. alternata* f.sp. *mali* (produz toxinas AM), *A. alternata* f.sp. *citri* (toxinas ACT e ACR), *A. alternata* f.sp. *kikuchiana* (toxinas AK), *A. alternata* f.sp. *alternata* (toxinas AF) e *A. alternata* f.sp. *lycopersici* (toxina AL), respectivamente.

Essas toxinas apresentam efeitos específicos contra as hospedeiras do patótipo produtor (YODER, 1980; VIDHYASEKARAN, 1997). O patótipo da maçã, por exemplo, produz um peptídeo cíclico, a toxina AM, com três derivados (Figura 5). Um deles, a toxina AM-I

(*alternariolídeo*), é citotóxico e o mais abundante. Os sítios de ação da toxina AM são o cloroplasto e a interface entre a parede celular e a membrana plasmática. Essa toxina é o determinante primário de virulência e especificidade de *A. alternata* f. sp. *mali*. Mutantes *tox-* contendo uma interrupção no gene da sintetase da toxina AM, foram incapazes de causar sintomas nos cultivares de macieira suscetíveis ao fungo (KOHMOTO et al., 1976; JOHNSON et al., 2000).

O patótipo da pêra japonesa (*Pyrus serotina*) produz a toxina AK, que é liberada de conídios durante a germinação no sítio de contato entre o patógeno e a superfície da hospedeira. Três toxinas relacionadas (AK-I, II e III) são produzidas pelo fungo e atuam na membrana plasmática da hospedeira. A toxina AK-I é altamente tóxica (OTANI et al., 1975; NISHIMURA e KOHMOTO, 1983).

Alternaria alternata f.sp. *citri* produz duas toxinas. A toxina ACR (Figura 5) afeta o limão rugoso (*Citrus limon*), enquanto a toxina ACT afeta a tangerina (*Citrus reticulata*). Entre outras toxinas seletivas, merecem menção ainda as toxinas de *Phyllosticta maydis*, *Pyrenophora teres*, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Rhynchosporium secalis* e *Stemphylium vesicarium* (YODER, 1980; SINGH et al., 1999; WEIERGANG et al., 2002; EFFERTZ et al., 2002).

**Mecanismo de Agressão:
Distúrbios Hormonais**

Hormônios vegetais (também chamados fatores de crescimento) são moléculas orgânicas que regulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas, desde a germinação da semente até a maturação dos frutos. Diferentes hormônios são produzidos por determinados tecidos vegetais e exportados para outros. Atuam em pequenas concentrações e são finamente regulados na sua expressão gênica.

O desequilíbrio hormonal é parte da fisiopatologia de várias síndromes resultantes da agressão de fungos, bactérias e nematóides. O excesso ou a deficiência de hormônios pode levar a alterações no crescimento, na diferenciação e no desenvolvimento dos tecidos vegetais (HORSFALL e COWLING, 1978). Níveis anômalos desses fatores de crescimento podem ser provocados por um aumento ou uma diminuição da síntese de hormônios ou através do aumento ou da redução da degradação hormonal nas células vegetais (SEQUEIRA, 1973; HORSFALL e COWLING, 1979).

Por outro lado, a produção de hormônios vegetais por fitopatógenos constitui uma convergência evolucionária entre estes e suas hospedeiras. Esse fato pode ter alta relevância em algumas doenças. Fitopatógenos podem produzir enzimas que degradam hormônios ou simplesmente induzir a hospedeira a um incremento na síntese ou na degradação hormonal (HORSFALL e COWLING, 1979).

Patógenos menos especializados e mais fracos têm nas enzimas e nas toxinas suas principais formas de agredir o tecido vegetal; por sua vez, os distúrbios hormonais são característicos das interações patogênicas mais "evoluídas", como as *murchas* por infecção vascular, os *tumores* ou *galhas*, as *hérnias*, as *ferrugens*, os *carvões*, os *superalongamentos*, as *vassouras-de-bruxa*, os *mildios* e os *oidios* (HORSFALL e COWLING, 1980).

Auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, jasmonato e ácido abscísico (Figura 6) são os principais hormônios de ocorrência universal entre as plantas e podem ter seus níveis alterados por ação patogênica.

3.1. Auxinas

As auxinas aumentam a plasticidade da parede celular e, conseqüentemente, permitem o alongamento celular. Além disso,

umentam a permeabilidade de membranas e a respiração celular, controlam a dominância apical, a formação de raízes adventícias, o desenvolvimento de flores e frutos e a ocorrência de geo e fototropismo.

O ácido indolacético (AIA) é a única auxina naturalmente produzida pelas plantas (Figura 6, Apêndice 4), sendo encontrada inicialmente nos meristemas localizados no ápice dos ramos e brotos e também nas sementes. Esse hormônio é transportado via células parenquimáticas do floema e tem a sua concentração regulada por uma oxidase específica, a *oxidase do AIA* (SCHNEIDER e WIGHTMAN, 1974; HUTZINGER e KOSUGE, 1967).

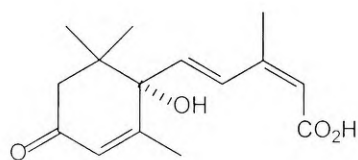
O AIA parece interagir com substâncias pecticas, xiloglucanas e uma proteína (*extensina*) na parede celular, liberando as microfibrilas de celulose e permitindo o deslizamento destas, umas sobre as outras, o que resulta em um rearranjo físico-químico que leva ao alongamento da parede. O AIA causa ainda aumento da permeabilidade das membranas celulares, da síntese de celulose, da taxa respiratória dos tecidos, da síntese de ácidos nucléicos e de proteínas e da atividade do ciclo das pentoses fosfatadas. Aparentemente, esta última alteração, por incrementar a produção de NADPH, estaria envolvida na quebra das ligações S-S da proteína da parede, o que seria importante na liberação das microfibrilas de celulose (OSTIN et al., 1998).

Finalmente, pH celular baixo produz um efeito semelhante ao do AIA sobre a plasticidade da parede, o que sugere uma possível ação auxínica via interação plasmalema-parede celular. Nesse caso, o transporte seletivo de H⁺ para o exterior da célula poderia ser uma outra forma de atuação das auxinas (COMAI e KOSUGE, 1980).

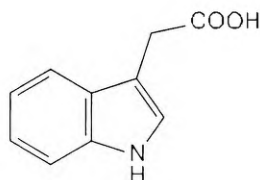
Como mencionado anteriormente, as auxinas são produzidas pelas folhas e brotações jovens e translocam-se, por um mecanismo de transporte polar, pelos brotos terminais, ramos e caule em direção às raízes. O seu nível normal é controlado, de um lado, pela síntese e, do outro, pela degradação enzimática via *oxidase do AIA* e *peroxidases* presentes no tecido vegetal. O mecanismo de degradação pela oxidase do AIA envolve oxidação e descarboxilação dessa substância (SCHNEIDER e WIGHTMAN, 1974).

Aumentos na concentração de AIA, como um resultado da infecção, têm sido relatados em diversas interações (YAMADA, 1993). *Agrobacterium* spp. sintetiza enzimas da via de síntese de AIA;

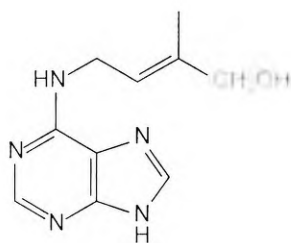
Pseudomonas savastanoi, *Ustilago maydis*, *Plasmodiophora brassicae*, *Phytophthora infestans* e *Meloidogyne* spp. induzem a formação de AIA, enquanto *Puccinia graminis tritici* e *Ralstonia solanacearum* inibem a AIA oxidase. Adicionalmente, a sua síntese por bactérias, a partir de triptofano (Apêndice 4), já foi demonstrada em espécies do gênero *Ralstonia* e em fungos como *Fusarium oxysporum*, *Ustilago maydis* e *Ceratocystis fagacearum*, enquanto *Verticillium albo-atrum* produz AIA por uma via independente de triptofano (HAARD, 1978; AGRIOS, 1997).



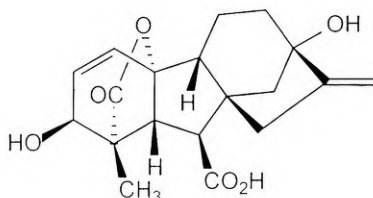
Ácido Abscísico



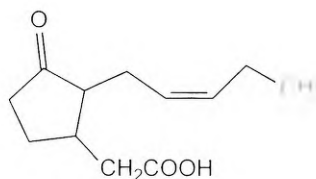
Ácido Indol-3-acético (AIA)



Zeatina

Ácido giberélico(GA₃)

Etileno



Jasmonato

Figura 6 Estrutura química dos hormônios vegetais

Ralstonia solanacearum

Nas murchas causadas por *R. solanacearum*, a bactéria parece contribuir com parte do AIA detectado na planta doente, porém, cerca de 48 horas após a infecção, plantas de fumo apresentaram níveis muito altos dos ortofenóis escopoletina e ácido clorogênico, ambos fortes inibidores da atividade da oxidase do AIA. Com o decréscimo de sua degradação, o AIA da planta doente passa a ser cem vezes superior ao da planta normal (SEQUEIRA, 1964). Esse excesso aumenta a plasticidade da parede e retarda sua diferenciação e a deposição de lignina, com isso expondo a celulose, as substâncias pécicas, as hemiceluloses e as proteínas da parede ao ataque de enzimas produzidas pelo patógeno. Simultaneamente, ocorre a flacidez dos caules e de seus ramos, agravando ainda mais o estresse provocado pela murcha.

Essa ação sobre a parede celular explica, pelo menos em parte, a formação das tiloses na planta murcha. As células do parênquima do xilema, em razão de condições hiperauxínicas, tornam-se extremamente plásticas, projetando-se em expansões globóides que invadem o lúmen dos vasos. Assim, a aplicação de AIA exógeno pode induzir tiloses em caules saudáveis. O aumento na taxa de respiração e na transpiração pode também ser atribuído à hiperauxínia da planta em processo de murcha.

Além disso, a bactéria produz um polissacarídeo extracelular que, juntamente com as próprias células bacterianas, é responsável pelo aumento da viscosidade do fluido do xilema, dificultando, com isso, o seu fluxo na direção das folhas. Os aumentos nos níveis de etileno e ácido abscísico, provocados pelo estresse originário do sistema vascular, complementam o quadro complexo da murcha bacteriana (DENNY e BAEK, 1991; HAYWARD, 1991; AGRIOS, 1997).

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi*

O *nódulo da oliveira*, doença caracterizada por tumores produzidos em galhos de oliveira (*Olea europaea*) e também em espiroleira (*Nerium oleander*), é causado por *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (*P. syringae* pv. *savastanoi*), que penetra pelas cicatrizes resultantes da

abscisão foliar e por injúrias causadas por baixa temperatura. Sabe-se que AIA acumula-se nesses nódulos, hipertróficos e hiperplásicos, que contêm também células bacterianas capazes de sintetizar o AIA *in vitro*. No final da estação de crescimento, o tumor cessa o crescimento e, por meio de rachaduras, as células bacterianas nele contidas são liberadas, dando início a novo ciclo de infecções. Durante o processo patogênico, o excesso de hormônio produzido pela bactéria é responsável pelos sintomas de galhas. Um dos plasmídios de *P. savastanoi*, denominado *pIAA1*, é determinante da patogenicidade e da síntese de AIA. Porém, este não é incorporado ao genoma da planta, como é o caso dos tumores produzidos por *Agrobacterium tumefaciens* (COMAI e KOSUGE, 1980; EVIDENTE e SURICO, 1986).

Ustilago maydis

Ustilago maydis (carvão do milho) é um fungo biotrófico e dimórfico cuja hifa dicariótica infecta intercelularmente os ovários de flores jovens. Durante o processo de infecção, o fungo sintetiza auxina e citocinina, promovendo a formação de galhas pelo aumento na concentração de ambos os hormônios. Os *ustilósporos* escuros, característicos dos carvões, são produzidos nas galhas, as quais funcionam como *dreno metabólico*, ou seja, uma região para a qual se movem fotossintetizados da planta, em função do acúmulo de citocinina. A galha será então utilizada pelo fungo como fonte contínua de nutrientes (SAVILLE e LEONG, 1992; WOOD, 1967; SOSA-MORALES et al., 1997; GUEVARA-LARA et al., 2000).

Agrobacterium tumefaciens e *A. rhizogenes*

Agrobacterium tumefaciens produz tumores ou galhas em grande número de hospedeiras, abrangendo cerca de uma centena de famílias botânicas diferentes, entre dicotiledôneas e gimnospermas, em geral não afetando monocotiledôneas, com exceção de lírio e aspargo. A penetração ocorre por ferimentos frescos seguindo-se de uma fase de adesão à célula vegetal.

Agrobacterium tumefaciens induz galhas em inúmeras plantas e *A. rhizogenes* induz raiz em cabeleira em rosáceas. São bactérias gram-negativas com habilidade de transferir DNA plasmidial para o interior de células de plantas e integrar esse DNA aos cromossomos. Ambas as bactérias possuem megaplasmídios (chamados respectivamente *Ti* e *Ri*, de 150-2000 kb), nos quais as regiões chamadas T-DNA codificam os genes que serão expressos na planta (Figura 7).

As bactérias *per se* não penetram as células infectadas, apenas seus plasmídios o fazem, mas na *galha* e na *cabeleira* existem tanto células transformadas quanto não-transformadas (VELDSTRA, 1972).

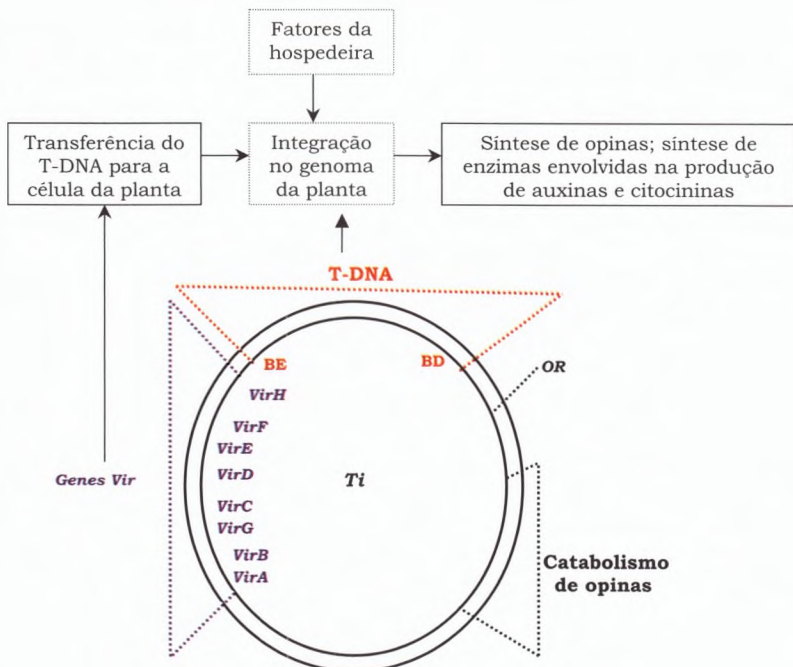


Figura 7 Estrutura gênica simplificada do plasmídeo *Ti* de *Agrobacterium tumefaciens* (OR=origem de replicação; BD=borda direita; BE=borda esquerda)

A transformação pelo plasmídeo Ti leva à formação de *tumores* (tecido vegetal com crescimento desordenado), e a transformação pelo plasmídeo Ri resulta no surgimento de tufos de raízes adventícias (chamada *cabeleira*) nas plantas suscetíveis. Ambos os sintomas são consequências de concentrações anômalas de citocininas e auxinas (NESTER e KOSUGE, 1981; MEYER et al., 2000; STAFFORD, 2000).

As evidências experimentais de que a bactéria causa diretamente a *neoplasia*, ao invés de esta ser um efeito indireto do processo patogênico, são: a) mutagênese induzida no plasmídeo Ti altera a morfologia ou mesmo elimina a formação dos tumores; b) esses mutantes resultaram em níveis diferenciados de auxina e citocinina nas galhas; c) o suprimento de hormônios nos mutantes restaurou o tipo selvagem; d) alguns dos genes isolados do T-DNA mostraram atividade enzimática e suas seqüências mostraram homologia com enzimas responsáveis pela síntese de auxina e citocinina; e) os tecidos transformados mostraram a utilização de triptofano por meio da conversão de *indol-3-acetamida* ao AIA (Apêndice 4), uma via que não é encontrada em plantas (NESTER e GORDON, 1991; SHAW et al., 1991).

É importante enfatizar que o T-DNA do plasmídeo Ti contém genes (*iaa* e *ipt*) que codificam enzimas envolvidas na síntese de AIA (auxina) e da citocinina isopentenil-adenosina-monofosfato (EKLOF et al., 2000).

Agrobacterium tumefaciens prolifera-se junto às galhas que promove, utilizando como fonte de carbono e nitrogênio substâncias aminadas denominadas *opinas* (octopina, nopalina, monopina e agropina; dependendo da estirpe da bactéria) (WEILER e SPENIER, 1981).

No caso do plasmídeo Ri, tudo indica que ocorre redução dos níveis de auxinas e aumento de citocininas, resultando em hiperplasia sem hipertrofia, presente nas raízes em cabeleira. Com a transformação por Ri, o metabolismo de auxinas e citocininas na planta é alterado pelas enzimas codificadas por genes presentes no T-DNA.

Apesar de diferenças marcantes, Ti e Ri possuem um grande número de genes homólogos. As bordas esquerda e direita do T-DNA são caracterizadas pela presença de seqüências repetidas contendo cerca de 25 pb. Para ambos os plasmídios, acredita-se que uma molécula DNA de fita simples seja a forma transferida para a célula vegetal, em um processo semelhante à conjugação bacteriana.

A capacidade de integração do DNA bacteriano ao genoma da planta parece definir a gama de hospedeiras da bactéria.

A transferência de Ti requer expressão de vários genes bacterianos, alguns oriundos do próprio plasmídeo e outros do cromossomo. Os genes plasmidiais são chamados *vir* e são cerca de 25 genes numa região de 35 kb (Figura 7). Os genes *virA* e *virG* codificam *receptores* e *fatores de transcrição*, respectivamente, e são responsáveis pelo reconhecimento dos sinais provenientes da planta suscetível. Tais sinais são exsudatos resultantes de ferimentos nas raízes como o composto fenólico *acetossiringona*. Essas observações explicariam a ocorrência de uma *quimiotaxia* capaz de orientar a bactéria na direção da planta (SCHRAMMEIJER et al., 2000; TOYODA et al., 2000).

Os genes *virA*, *virB*, *virD* e *virG* são necessários para a formação do tumor em qualquer espécie de planta suscetível, enquanto *virC*, *E*, *F* e *H* afetam o círculo de hospedeiras e/ou o tamanho dos tumores causados pela bactéria. Um receptor, a quinase VirA, fosforila e ativa VirG, que por sua vez é um *fator de transcrição* (proteína que ativa a transcrição dos outros genes *vir*). Os genes *virD* controlam a excisão do T-DNA do plasmídeo. As proteínas (D1 e D2) codificam as enzimas de restrição que cortam as extremidades do T-DNA, ajudam no seu transporte através das membranas e levam proteínas sinalizadoras ao núcleo da célula vegetal. Os genes *virD2*, *virE2* e *virC* codificam as proteínas que se ligam ao T-DNA de fita simples, promovendo o seu empacotamento e, ao mesmo tempo, protegendo a molécula de uma possível degradação. Esse complexo (T-DNA–proteínas) é transferido pela ação dos genes *virBs*, cujos produtos possuem homologia com proteínas de outras bactérias responsáveis pela conjugação e exportação de *fatores de secreção*. Além disso, proteínas codificadas pelos genes *virBs* são encontradas na membrana plasmática, provavelmente formando o canal pelo qual o T-DNA é expelido. Os genes *virF* e *virH* estão envolvidos na capacidade de indução do tumor em diferentes hospedeiras e na proteção da bactéria contra componentes tóxicos da planta, respectivamente (AGRIOS, 1997; SCHMIDT et al., 1999; SUNDBERG e REAM, 1999; DAS e XIE, 2000; HAPFELMEIER et al., 2000; KUMAR et al., 2000). Além dos genes encontrados no plasmídeo Ti, no cromossomo da bactéria existem genes envolvidos na adesão da bactéria às células da hospedeira, além de outros também ligados à virulência (MATTHYSSE et al., 2000).

A integração do T-DNA no cromossomo da planta é um processo pouco conhecido. Algumas hipóteses têm sido levantadas: a) o T-DNA agiria como um *transposon*, ou seja, um fragmento de DNA capaz de migrar de uma molécula de DNA para outra; b) seria incorporado como um *fragmento de Okazaki* (fragmentos de DNA ligados uns aos outros durante a replicação do DNA vegetal no sentido 3'-5'); ou c) seria incorporado por recombinação homóloga (teriam seqüências homólogas a seqüências de DNA da planta e substituiriam tais seqüências por ação de recombinases) (DE BUCK et al., 1999).

Descobriu-se, porém, que o T-DNA pode ser transferido para leveduras, mas que estas não são transformadas, ou seja, o T-DNA não é incorporado ao genoma da levedura, enfraquecendo, de certo modo, as hipóteses listadas acima. Além disso, a recombinação homóloga não tem sido observada em plantas superiores, enfraquecendo a terceira hipótese (CHILTON et al., 1980). Estudos recentes revelaram que a integração do T-DNA parece ocorrer por recombinação com regiões específicas do genoma da planta (DE BUCK et al., 1999), com a participação de fatores da hospedeira, como proteínas do grupo das *histonas* (MYSORE et al., 2000).

Do ponto de vista prático, o estudo de *Agrobacterium tumefaciens* permitiu o desenvolvimento da técnica de *agroinoculação*, que consiste no uso do T-DNA para a transformação de células vegetais (HERNALSTEENS et al., 1980; HERRERA-ESTRELLA et al., 1983; LIM et al., 1999; JIN et al., 2000; NADOLSKA et al., 2000), amplamente difundida, constituindo uma das técnicas mais utilizadas pela indústria biotecnológica para a obtenção de plantas transgênicas, ao lado do bombardeamento de genes (KLEIN et al., 1987; ZUKER et al., 1999; ZUPAN et al., 2000).

Recentemente, Wood et al. (2001) publicaram o seqüenciamento completo do genoma de *A. tumefaciens*, revelando, por exemplo, que parece ser recente a divergência evolutiva da bactéria em relação a simbiontes de plantas.

Degradação de Auxinas

A degradação de auxinas por enzimas produzidos por patógenos está indiretamente documentada em três exemplos. O primeiro diz

respeito ao fungo *Mycena citricolor* (*Omphalia flavida*), responsável por mancha foliar e queda de folhas do cafeeiro, doença comum na América Central. Esse basidiomiceto tem a capacidade de produzir *in vitro* a oxidase do AIA, que é provavelmente responsável pela queda do nível de AIA na folha e sua consequente abscisão. Situação idêntica ocorre com o fungo da *mancha negra* da roseira, *Diplocarpon rosae*, outro promotor de queda de folhas, cujas culturas produzem filtrados também capazes de inativar o AIA.

Crinipellis pernicioso, outro basidiomiceto, causador da *vassoura-de-bruxa* do cacaueteiro, produz em cultura duas enzimas capazes de degradar o AIA, uma polifenoloxidase e uma peroxidase (Apêndice 3). Esse patógeno, atuando no tecido meristemático de galhos e brotos do cacaueteiro, promove um desequilíbrio hormonal ao degradar o AIA. O resultado é a quebra da dominância apical, causando com isso o desenvolvimento das gemas laterais que formam tuífos vegetativos. Com a continuada ação parasítica do fungo em sua forma dicariótica, ocorre necrose generalizada dos tecidos, levando à produção de *vassouras-de-bruxa* típicas.

Por outro lado, um aumento na concentração de AIA reverteria o processo de diferenciação da parede celular da planta, levando a um aumento de sua plasticidade. Com isso, a degradação celular por patógenos seria facilitada, podendo ter papel importante nas doenças caracterizadas por *podridões moles*. Além disso, baixos níveis de auxina reduzem a lignificação dos tecidos, aumentando o estresse físico sobre o protoplasma em geral, podendo afetar os níveis de respiração e de transpiração das plantas doentes (WOOD, 1967).

Diversas infecções virais também tendem a diminuir os níveis de auxinas nas folhas (GOODMAN et al., 1967; WOOL, 1967). Mas, no caso do *wound tumor virus*, um fitorreovírus que causa galhas e tumores, há evidências da participação de um aumento no nível de auxinas (MATTHEWS, 1991).

3.2. Giberelinas

Giberelinas são diterpenos cíclicos (Figura 6; Apêndice 2) com funções hormonais importantes. São sintetizadas na extremidade de

caules e ramos jovens, em embriões, frutos e sementes, podendo ser transportadas de forma não-polar, tanto pelo xilema como pelo floema. Essas substâncias são responsáveis pelo alongamento dos entrenós, promovem a indução floral em certas espécies e a divisão celular na região subapical e também no câmbio, além de induzir partenocarpia e reverter o nanismo de cultivares anãs de ervilha e milho. Agem também sobre a camada de *aleurona* de sementes, onde induzem a produção de alfa-amilase e proteases. Essas enzimas promovem a hidrólise do amido e de proteínas de sementes, liberando metabólitos necessários à germinação e ao desenvolvimento do embrião (BETHKE et al., 1999; RADEMACHER, 2000).

Mais de sessenta giberelinas estão quimicamente caracterizadas e, dessas, pelo menos 18 são produzidas por diferentes estirpes de *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). Aproximadamente uma dezena de espécies de fungos produz substâncias com propriedades giberelínicas. Tecidos de basidiomicetos superiores, como *Agaricus bisporus*, *Phallus impudicus*, *Boletus elegans* (ectomicorrízico), *Grifolla frondosa* e *Phellinus pomaceus* (fitopatogênico), contêm altos níveis dessas substâncias que, aparentemente, são por eles absorvidas dos substratos orgânicos naturais, onde podem ter sido produzidas por microrganismos (BAREA, 1985). Exemplos desses sintetizadores de giberelinas são bactérias do solo pertencentes aos gêneros *Azotobacter* e *Pseudomonas* (YAMAGUCHI e KAMIYA, 2000).

O ácido giberélico foi originalmente caracterizado em 1954, quando se estudou o superalongamento do arroz (*bakanae disease*) causado por *Fusarium moniliforme* (teleomorfo *Gibberella fujikuroi*) (citado por SILVERSTONE e SUN, 2000).

Sabe-se que os nódulos produzidos por *Bradyrhizobium* spp. em raízes de ervilha e de *Lupinus luteus* contêm altos níveis de substâncias com propriedades giberelínicas. Outro exemplo é o de *Cirsium arvense* (*Compositae*), que, quando sistemicamente infectada por *Puccinia punctiformis*, além de ter seu crescimento inicial acelerado em virtude de um aumento no conteúdo de giberelinas, as plantas, quando adultas, eram mais altas do que as sadias (GOODMAN et al, 1967; THOMAS et al., 1994). Decréscimo de crescimento associado a uma depressão nos níveis de giberelinas foi observado em plantas de *Silene vulgaris* (*Caryophyllaceae*) com carvão causado por *Ustilago violacea* (EVANS

e WILSON, 1971) e em algumas viroses que causam o nanismo ou o enfezamento de suas hospedeiras.

Para doenças causadas por *Spiroplasma citri* e por certas viroses (*Prunus dwarf virus* em cereja, *Tobacco etch virus* em fumo), que causam enfezamentos, a pulverização das plantas infectadas com giberelinas levou à recuperação do crescimento, voltando a recrudescer o quadro sintomático, uma vez cessado o tratamento com hormônio. A infecção viral, muitas vezes, leva a um decréscimo de giberelinas, talvez relacionado à degradação de cloroplastos observada em grande número de infecções virais (MATTHEWS, 1981; MATTHEWS, 1991). Nas interações nematóides-plantas tem-se, como exemplo, que infecções por *Meloidogyne incognita* provocaram a inativação da giberelina em raízes de tomate (BRUESKE e BERGESON, 1972).

3.3. Citocininas

As citocininas (designação derivada de *citocinese*) são, quimicamente, produtos oriundos de bases purínicas e já foram isoladas não apenas de plantas, mas também de microrganismos (MOK e MOK, 2001). Entre as mais comuns estão: trans- e cis-zeatina (Figura 6), diidro-zeatina e isopentenilamino-purina (2iP).

Estão envolvidas na divisão e na diferenciação celulares e, assim como as auxinas, sua atividade nos tecidos vegetais é regulada pela síntese, pelo transporte, pela ativação e pela interação com outros hormônios. Diferentemente das auxinas, produzidas primariamente pelos tecidos meristemáticos e parameristemáticos dos brotos aéreos, o principal sítio de síntese de citocininas está nas raízes das plantas, que, em pequenos níveis, podem produzir também giberelinas, ácido abscísico e até AIA. No entanto, há indicações de produção de quantidades pequenas de citocininas por órgãos aéreos da planta, inclusive pelas folhas.

Entre os efeitos das citocininas, estão incluídos: a) inibição da senescência dos tecidos da planta pelo bloqueio da hidrólise de proteínas e DNA; b) estabelecimento de drenos metabólicos em que o fluxo de aminoácidos, açúcares e outros nutrientes é direcionado para

aqueles locais onde ocorrem concentrações mais altas de citocinina; c) bloqueio da desativação de genes; d) estímulo à divisão celular; e) estímulo eventual ao alongamento celular (MOK e MOK, 2001).

A habilidade dessas substâncias de retardar a senescência dos tecidos verdes pode excepcionalmente ser apresentada por ácido giberélico ou até por metais pesados. Normalmente, uma folha destacada se torna clorótica e amarela com rapidez, principalmente se mantida no escuro. O enraizamento do pecíolo ou a aplicação de citocininas evitam essa senescência. Esse efeito das citocininas parece estar ligado a uma menor degradação de proteínas e ácidos nucléicos (MOK et al., 2000).

As citocininas podem ainda promover, em brotos, a expansão foliar e eliminar a dominância apical, estimulando assim o desenvolvimento das gemas laterais. Merece destaque, por ter correlação com alguns processos patogênicos conhecidos, o fato de as citocininas estimularem a mobilização de nutrientes (aminoácidos, açúcares, eletrólitos, etc.) para pontos da planta onde o hormônio está em concentrações mais altas, dando origem a drenos metabólicos. Esse fenômeno foi detectado tanto em folhas destacadas como também em plantas intactas.

Os efeitos das citocininas, na presença de um teor satisfatório de auxinas, permitem o desenvolvimento e a diferenciação dos tecidos, determinando assim a formação dos diferentes órgãos da planta, conforme demonstrado em cultura de tecido a partir de calos.

Fungos como *Exobasidium*, *Nectria galligena* e *Taphrina cerasi*, e as bactérias *A. tumefaciens*, *Bradyrhizobium leguminosarum*, *B. japonicum* e *Rhodococcus fascians*, entre outros, são conhecidos produtores de substâncias com propriedades citocinínicas (MOK et al., 2000). O desbalanço de citocininas está envolvido nas doenças causadas por patógenos que promovem deformações como galhas ou tumores (*Agrobacterium tumefaciens*, *Plasmodiophora brassicae*, *Ustilago maydis*), superbrotamentos e vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciososa*), formação das *ilhas verdes* por fungos causadores de ferrugens (*Puccinia graminis tritici*, *Uromyces phaseoli*, *U. geranii* e *U. trifolii*), ferrugens-brancas (*Albugo candida*) e de oídios (*Blumeria graminis*).

As *ilhas verdes* são áreas de alta concentração de clorofila e nutrientes formadas em torno das pústulas de ferrugens ou de partes das folhas com oídio, mostrando uma reação semelhante ao que ocorre

ao se depositar uma gota de solução de citocinina em um determinado ponto do limbo foliar. Mesmo gotas da citocinina artificial *cinetina* (6-furfurilamino-purina), ou o uso de ATP, mostraram efeito idêntico. Efeito semelhante ocorre com extratos de conídios de *B. graminis* e de urediniósporos de *P. graminis tritici*, que, além de aumentarem o conteúdo de clorofila no ponto de aplicação, promovem o acúmulo de amido em folhas de cevada.

De forma análoga, *Uromyces trifolii* em trevo e *U. phaseoli* em feijoeiro acumulam glucose, marcada radioativamente, junto às urédias, quando as folhas são expostas a CO₂ radioativo. Em folhas de feijoeiro com ferrugem por *U. phaseoli*, o nível de citocininas é mais alto do que em folhas saudáveis. Além disso, sabe-se que os urediniósporos de *U. phaseoli* contêm um composto capaz de atuar como uma citocinina (MOK et al., 2000).

Na *fasciação da ervilha*, doença causada por *Rhodococcus fascians*, uma citocinina (N6-3-metil-2-butenilamino-purina), diferentemente da citocinina da ervilha, foi produzida pela bactéria no tecido doente e também *in vitro*. Várias citocininas já foram isoladas do sobrenadante de culturas da bactéria (GOETHALS et al., 2001). A aplicação de cinetina ou de outra citocinina à planta reproduziu os sintomas da doença. Além disso, a bactéria tem a capacidade de oxidar o AIA, podendo com isso contribuir para a quebra da dominância apical em brotos já com atividade hiperplásica por excesso de citocinina e, assim, acelerar a fasciação (THIMANN e SACHS 1966). O sintoma da fasciação tipicamente envolve quebra de dominância apical e a simultânea hiperplasia dos tecidos, conseguidas às custas de redução do nível de auxina e excesso de citocininas, respectivamente.

Bradyrhizobium leguminosarum e *B. japonicum* produzem uma citocinina em cultura, aparentemente responsável pelo início da divisão celular no córtex da raiz onde se formará o nódulo. Formas virulentas de *A. tumefaciens*, responsável pela formação de tumores vegetais, também produzem citocinina em cultura. A síntese é também controlada pela presença de genes contidos no plasmídeo Ti transferido à futura célula tumorigênica primária, como já descrito anteriormente.

As *hérnias das crucíferas* são constituídas de tecidos sistemicamente infectados pelo plasmódio diplóide de *Plasmodiophora*

brassicae, resultando em células gigantes que em conjunto geram galhas enormes. Essas raízes deformadas mostram níveis de citocininas e de AIA superiores aos do tecido normal. É ainda interessante o fato de as galhas crescerem em meio de cultura na ausência de auxinas e citocininas, ou seja, são autônomas em termos de dois hormônios determinantes do desenvolvimento das plantas.

Em galhas de *carvão do milho*, produzidas por *Ustilago maydis*, a atividade de citocinina do tecido é proporcional ao tamanho da galha. Por outro lado, em tecido micorrízico, onde há um acréscimo no número de células, ocorre um aumento no nível de citocininas, porém, ao contrário das galhas em que, além de hiperplasia, também ocorre hipertrofia, o nível de AIA mantém-se inalterado.

Já em plantas de algodoeiro e tomateiro infectadas com *Verticillium albo-atrum*, exsudatos de raízes mostraram-se com menor atividade citocinínica do que as de plantas sadias (HEALE e GUPTA, 1972).

Galhas de raiz de fumo infectadas por *Meloidogyne incognita* não se desenvolvem sem a adição exógena de AIA e citocinina. Essa evidência seria favorável à tese de que os nematóides não produziram hormônios suficientes, nem induziriam autonomia hormonal no tecido das galhas. A aplicação de citocininas nas raízes de plantas resistentes a *Meloidogyne* leva à quebra da resistência, além de permitir a formação de galha, aumentando a formação de células gigantes que se constituem nos sítios de alimentação das fêmeas endoparasíticas.

No entanto, posteriormente se descobriu que os nematóides, além de promoverem a formação de galhas, também sintetizam os dois hormônios (SAWHNEY e WEBSTER, 1975; HUSSEY, 1989; CHITWOOD e LUSBY, 1991; SIJMONS et al., 1994). Sabe-se que o nível de citocininas e auxinas é maior em raízes de tomate infectadas com *M. incognita* do que em raízes sadias (BRUESKE e BERGESON, 1972; GLAZER et al., 1986; GANGULY et al., 1988), embora existam dados contraditórios na literatura (MEON, 1979).

O conteúdo de citocinina nas folhas da variedade *Xanthi NN*, de fumo, resistente a TMV, aumentou com a indução da resistência sistêmica ao vírus (BALÁZS et al., 1977), o mesmo acontecendo com o *Tobacco ringspot virus* (KURIGER e AGRIOS, 1977); além disso, a aplicação da citocinina diidrozeatina inibiu a replicação do *White clover mosaic potexvirus* (CLARKE et al., 1998, 2000).

3.4. Etileno e Jasmonato

O etileno é um fitorregulador gasoso (Figura 6), envolvido na promoção de sintomas de doenças e também na indução de reações de defesa da planta contra patógenos. Entre os múltiplos efeitos do etileno sobre os tecidos vegetais, destacam-se o estímulo à formação de raízes adventícias, a indução de epinastia, ou seja, a curvatura dos pecíolos para baixo, além da promoção da abscisão de folhas, flores e frutos, a redução de crescimento e o aumento na permeabilidade de membranas. Todos esses efeitos de etileno estão vinculados aos quadros sintomatológicos de um grande número de doenças de plantas (LIEBERMAN, 1979).

Esse gás também promove a maturação dos frutos e induz a produção de substâncias de defesa nas plantas denominadas *fitoalexinas*. O etileno ativa a enzima *fenilalanina amônia-liase* (FAL), de atua na deaminação da fenilalanina com a formação de ácido trans-cinâmico (Apêndice 1), precursor de importantes fitoalexinas fenólicas e de outros compostos importantes na defesa da planta contra patógenos (ABELES, 1972; ECKER e DAVIS, 1987; XU et al., 1994; THOMMA et al., 1999; JENNINGS et al., 2000).

Finalmente, o etileno pode ativar enzimas responsáveis pela oxidação de fenóis: as *peroxidases* e as *polifenoloxidasas* ou *fenolases* (Apêndice 3).

Recentemente foi caracterizada a região do DNA dos promotores (sequência de consenso GCC) que seria a responsável pela ligação a fatores de transcrição ativados pelo etileno (OHME et al., 2000). A atividade dessas enzimas induzidas por etileno resulta na produção de quinonas e outros produtos oxidados, mais tóxicos e tidos como importantes na defesa da planta (HAMMOND-KOSACK et al., 1996), inclusive na produção da chamada reação de hipersensibilidade, que será mais adiante discutida.

Além das plantas, vários fitopatógenos produzem diretamente o etileno em cultura, destacando-se entre eles: *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum*, *Ceratocystis fimbriata*, *Alternaria solani*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas* spp. e *Erwinia* spp (LASKIN e LECHEVALIER, 1984; BOWDEN e ROUSE, 1991; WEINGART et al., 1999).

Etileno produzido por *C. fimbriata* é responsável pelo aumento de resistência em tecido sadio de batata-doce, por induzir a síntese de uma fitoalexina. Além disso, induz *isocumarina*, composto fenólico com provável papel na defesa contra patógenos, em tecido de cenoura, e *pisatina*, uma fitoalexina, em tecido de ervilha. O tratamento de plântulas de pinheiro com etileno resultou em um aumento do nível de resistência ao nematóide *Bursaphelenchus xylophilus* em cerca de 60% (GE et al., 1999).

Nas murchas fusarianas e nas causadas por *V. albo-atrum*, epinastia, abscisão foliar, clorose e desenvolvimento de raízes adventícias podem ser atribuídos ao excesso de etileno presente. Já diferentes estirpes de *V. albo-atrum*, com diferentes níveis de virulência ao algodoeiro, mostraram maior produção de etileno na planta, quando esta foi inoculada com a estirpe mais virulenta e de ação desfolhante. A aplicação de etileno exógeno, isoladamente, repetiu o efeito dessa estirpe de ação mais drástica.

Pseudomonas syringae pv. *phaseolicola* e pv. *glycinea* produzem consideráveis quantidades de etileno *in planta*. Uma única enzima, EFE (*ethylene forming enzyme*), catalisa a síntese de etileno nessas bactérias e em outros microrganismos. Estudos com mutantes Efe de *P. syringae* pv. *glycinea* mostraram que estes apresentavam reduzida habilidade de crescer no tecido de soja. Em contraste, a virulência de *P. phaseolicola* em plantas de feijão não foi afetada pela mutação no gene *efe* (WEINGART et al., 2001).

O ácido *jasmônico* (Figura 6), ou seus derivados (*jasmonatos*), sintetizado a partir do ácido *linolênico* (CREELMAN e MULLET, 1997; MCCOURT, 1999), ou ainda sua forma metilada, o *metiljasmonato*, é outro hormônio envolvido na maturação de frutos e abscisão.

Jasmonatos e seus derivados estão ainda envolvidos na ativação dos mecanismos de defesa das plantas a patógenos, induzindo: a) inibidores de proteases; b) proteínas antimicrobianas como *tioninas* e *defensinas* (FINK et al., 1990; FARMER e RYAN, 1992; THOMMA et al., 1998; EPPLE et al., 1997; PENNINCKX et al., 1998; HILPERT et al., 2001). Tanto etileno quanto jasmonato estão envolvidos na defesa de plantas contra insetos e nas respostas a estresse (MORAN e THOMPSON, 2001; MCCONN et al., 1997; NYLANDER, 2000).

Um aumento na concentração de etileno nas folhas e diminuição de sua liberação estão relacionados com a epinastia, as lesões cloróticas locais e a abscisão de folhas causadas por diversos vírus de plantas, como *Potato virus Y* (PVY), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (MARCO e LEVY, 1979) e TMV (DE LAAT e VAN LOON, 1983). Já a aplicação de jasmonato e ácido salicílico inibiu a replicação do *White clover mosaic potexvirus*, enquanto ácido abscísico, AIA ou ácido giberélico não a afetaram (CLARKE et al., 1998, 2000).

3.5. Ácido Abscísico

O ácido abscísico é um sesquiterpenóide (Figura 6) inibidor de fenômenos fisiológicos como a dominância apical, o alongamento das hastes, a germinação de sementes e a floração (WALTON, 1980). Além disso, promove a abscisão dos frutos, enquanto o etileno é o principal responsável pela abscisão foliar. Provoca ainda o fechamento dos estômatos, o que evita perda continuada de água por transpiração, com isso evitando o estresse hídrico (COWAN et al., 1997). Finalmente, o ácido abscísico é um promotor de dormência de sementes, acumulação de prolina nas folhas e até da germinação de esporos de algumas espécies de fungos (ADDICOTT e LYON, 1969).

A deficiência hídrica leva a grandes alterações no conteúdo foliar desse hormônio, passando-se de 20 ng/mg de peso fresco em planta normal, para 500 ng/mg quando a planta está murcha (PASSOS, 1985).

O nanismo, sintoma de várias doenças viróticas, pode estar ligado a excesso de ácido abscísico. Porém, a maior parte das evidências experimentais conhecidas indica redução nos níveis de giberelinas ou AIA como as principais causas de nanismo ou enfezamento (MATTHEWS, 1991).

Em plantas de fumo com murcha bacteriana e em tomate com murcha de *Verticillium*, o nível de ácido abscísico na planta foi aumentado em relação à planta sadia, sendo que, no primeiro caso, a concentração do inibidor era proporcional à multiplicação de *R. solanacearum* no xilema da hospedeira e à redução dos entrenós.

Em algodoeiro, plantas suscetíveis a *V. albo-atrum* acumularam cinco vezes mais ácido abscísico nas folhas jovens do que as

resistentes. Além disso, a estirpe mais virulenta do fungo, com efeito desfolhante, induziu níveis de ácido abscísico duas vezes mais alto do que a estirpe não-desfolhante (WIESE e DEVAY, 1970). Em batata, o acúmulo de ácido abscísico levou à expressão de fitoalexinas contra *Phytophthora infestans* e *Cladosporium cucumerinum*, mas a aplicação de ácido abscísico exógeno nos tubérculos reduziu os níveis de dois outros terpenóides envolvidos na defesa contra a infecção e produzidos em resposta à inoculação com uma raça avirulenta de *Phytophthora infestans* (HENFLING et al., 1980). Já no patossistema *P. megasperma* f.sp. *glycinea*/soja, observou-se o acúmulo de ácido abscísico após a inoculação com o fungo (CAHILL e WARD, 1989). Raízes de tomate infectadas com *Meloidogyne incognita* também apresentaram níveis maiores de ácido abscísico (GANGULY et al., 1988).

Finalmente, a concentração de ácido abscísico livre na folha aumentou até 18 vezes o nível normal, em tecidos próximos ou em lesões locais cloróticas causadas por TMV em fumo (WHENHAM e FRASER, 1981).

**Mecanismo de Agressão:
Polissacarídeos Extracelulares**

Polissacarídeos extracelulares (PEC) são produzidos por muitas bactérias fitopatogênicas, tanto na planta hospedeira, durante a patogênese, quanto em meio de cultura. Os PECs podem estar intimamente associados às células, como uma cápsula ligada à superfície da parede celular por ligações covalentes com moléculas de fosfolípidos, ou serem secretados no meio na forma de muco (GRAHAM et al., 1977; COPLIN e COOK, 1990; ROBERTS, 1996; DENNY, 1999).

PECs diferem em origem e composição química, podendo ser compostos por um único tipo de açúcar (homopolissacarídeo) ou por um complexo formando subunidades (heteropolissacarídeos). Em ambos os casos, são compostos de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas, que podem conter ou combinar-se com outras moléculas orgânicas ou inorgânicas.

Outros polissacarídeos, também produzidos por bactérias, são os lipopolissacarídeos (LPS), importantes componentes da membrana externa das bactérias gram-negativas, e β -glucanas de peso molecular mais baixo que também contribuem para a estrutura e função das células (GRAHAM et al., 1977; WHATLEY et al., 1980; BAKER et al., 1984).

Do ponto de vista bioquímico, polissacarídeos extracelulares têm propriedades hidrofílicas e cargas aniônicas, o que lhes possibilita assumir funções diversas no ciclo de vida das bactérias. Na fase saprofítica ou epifítica, os PECs podem proteger a bactéria da dessecação, concentrar minerais e nutrientes na vizinhança da célula, reduzir contato com macromoléculas hidrofóbicas e aumentar a adesão às superfícies inertes ou biológicas, importante função em bactérias que habitam o solo ou ambientes aquáticos. Quando o PEC forma a cápsula, as bactérias encapsuladas tendem a ser mais resistentes à ação de detergentes e polipeptídeos antibióticos de natureza hidrofóbica (DENNY, 1995).

A produção de PEC por bactérias fitopatogênicas auxilia não só na capacidade de sobrevivência no solo, na água de irrigação, nas folhas e nas raízes, assegurando proteção contra o meio, mas também como fator de patogenicidade e virulência (ROBERTS, 1996). Daí o interesse dos fitopatologistas no estudo do papel dessas moléculas durante o desenvolvimento de doenças.

Durante a patogênese, os PECs beneficiam a bactéria prolongando o encharcamento dos tecidos por sua natureza hidrofílica, diminuindo o contato da bactéria com componentes tóxicos e minimizando a interação com a célula vegetal. Ao reduzir o efeito da resposta da hospedeira, conseqüentemente promovem a colonização dos tecidos (COPLIN e COOK, 1990; DENNY, 1995, 1999).

Os principais problemas para a obtenção de evidências conclusivas do papel dos PECs na patogênese referem-se à dificuldade em purificá-los e em caracterizá-los em termos de composição, estrutura e tamanho, e em visualizá-los ao microscópio (DENNY, 1995). A morfologia da colônia nem sempre é um bom indicador da produção de PEC. Como a biossíntese de polissacarídeos envolve muitos genes, atuando em vias que se sobrepõem, mutações não teriam efeitos conhecidos ou esperados, especialmente se a síntese do precursor ou de polissacarídeos associados à célula (LPS) for afetada (DENNY 1995).

Muitas espécies bacterianas fitopatogênicas são produtoras de polissacarídeos extracelulares, como mostra a Tabela 1. A produção de PEC como um mecanismo de oclusão vascular e de expressão dos sintomas foi bem estudada. É conhecido que mutantes não produtores de PEC pertencentes às espécies *Pantoea stewartii*, *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris* e *Ralstonia solanacearum* têm virulência reduzida ou mesmo perdem a patogenicidade (COPLIN e COOK, 1990; LEIGH e COPLIN, 1992; BOUCHER et al., 1992; DENNY, 1995).

Para algumas bactérias, a produção de determinados polissacarídeos parece não ser essencial para a patogênese, como no caso da *succinoglicana* de *Agrobacterium tumefaciens*, por exemplo. Em outros casos, demonstrou-se que mutantes não-mucóides retiveram parcialmente a virulência. O papel dessas moléculas pode ser direto ou indireto, contudo isso não está claro para a maioria das interações planta-bactéria (DENNY, 1995).

A expressão da *amilovorana* em *Erwinia amylovora* parece ser essencial para sua multiplicação na planta e expressão de sintomas. Mutantes sem cápsula são descritos como avirulentos. A cápsula asseguraria a sobrevivência da bactéria nos estágios iniciais da patogênese ao mascarar o efeito de moléculas elicitoras e, com isso,

evitar a reação de defesa da hospedeira (STEINBERGER e BEER, 1988; DENNY, 1995; ROBERTS, 1996).

Existem sólidas evidências sobre o papel desses polissacarídeos como fator de virulência para *Ralstonia solanacearum* (DENNY et al., 1990; DENNY e BAEK, 1991; SAILE et al., 1997), agente da murcha bacteriana em muitas culturas de importância econômica, distribuídas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (HAYWARD, 1991). Estudos com algumas estirpes bem caracterizadas (GMI 1000, K60 e AW), produtoras de PEC em meio de cultura ou em plantas, têm auxiliado no entendimento do papel do PEC na patogênese (KAO et al., 1994; MCWILLIAMS et al., 1995; BOUCHER et al., 1992; SCHELL, 1996). A bactéria produz grande quantidade de um heteropolissacarídeo ácido (PEC I) de alto peso molecular (PM > 10⁶ Da), que contém três açúcares aminados (Tabela 1) e frações menores de baixo PM (<15 kDa) contendo ramnose ou glucose (DENNY, 1995; SCHELL, 1996).

A produção de PEC I é observada em todas as estirpes virulentas, sendo controlada em sua síntese pelos seguintes conjuntos de genes: a) pelo operon *eps* de 18 kb que codifica pelo menos nove genes estruturais para a biossíntese e a secreção de PEC; e b) um agrupamento de sete genes denominados *ops* (*outer membrane polysaccharides*), os quais, aparentemente, são necessários para a biossíntese tanto de PEC quanto de LPS (BOUCHER et al., 1992; DENNY, 1995).

A expressão do operon *eps* é controlada por um sistema regulatório que responde à densidade das populações bacterianas e envolve os produtos de dois genes, *phcA* e *phcB*. Vários trabalhos mostram que *R. solanacearum* produz fatores extracelulares que ativam a motilidade e a expressão de genes de virulência, um deles é um composto volátil, o 3-hidroxil-metil-éster do ácido palmítico (3-OH-PAME). A síntese desse composto é dirigida pelo produto do gene *phcB*. A adição de 3-OH-PAME a um mutante *phcB* de *R. solanacearum* restaura a expressão de PEC. A proteína PhcA é um regulador transcricional ativado pelo 3-OH-PAME e ativa a expressão do PEC e de outros fatores de virulência. A natureza volátil do composto sugere um papel na comunicação entre células a longa distância (SCHELL, 1996; CLOUGH et al., 1997a, 1997b; WHITEHEAD e SALMOND, 2000; SCHELL, 2000).

Existe uma correlação positiva entre a produção de PEC em cultura (colônias mucóides) e virulência. Extratos de culturas produtoras de PEC causaram murcha em tomate. Evidência genética de que PEC é o determinante primário de virulência foi apresentada por Denny e Baek (1991). Os mutantes PEC- multiplicavam-se normalmente próximo ao ponto de inoculação, mas produziam pouco ou nenhum PEC *in planta* e tinham virulência reduzida em tomate e beringela. Sendo *R. solanacearum* um patógeno vascular, primariamente habitante do xilema, os polissacarídeos contribuem para a oclusão dos vasos e o aumento da viscosidade do fluido xilemático. Além disso, atuam prevenindo a adesão da bactéria à parede celular vegetal, auxiliando assim sua movimentação sistêmica (COPLIN e COOK, 1990).

O papel dos PECs na invasão e na colonização de plantas de tomate por *R. solanacearum* foi investigado por Saile et al. (1997). Os autores demonstraram que mutantes deficientes na produção de PEC eram menos virulentos e multiplicavam-se menos na planta que o tipo selvagem. Os mutantes PEC- não colonizaram hastes de tomate tão rapidamente quanto o tipo selvagem, em razão da reduzida movimentação dentro dos tecidos. Assim, a produção de PEC facilitaria o movimento da bactéria na planta, protegeria a bactéria de reações de defesa da planta ou ambos (SAILE et al., 1997).

A quantificação da bactéria e do PEC I em plantas infectadas de tomate com diferentes níveis de resistência mostrou que plantas do cultivar suscetível apresentavam maiores quantidades do PEC por planta que os cultivares resistentes. A distribuição de células de *R. solanacearum* bem como do PEC I também era mais ampla no cultivar suscetível. No cultivar resistente, células bacterianas e PEC permaneciam restritos aos tecidos vasculares (MCGARVEY et al., 1999).

Tabela 1 Polissacarídeos extracelulares (PEC) produzidos por bactérias fitopatogênicas (extraído de DENNY, 1995).

Bactéria	Polissacarídeo	Composição
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Succinoglicana	Glc, Gal (7:1)
	Celulose	Glc
	Ciclo- β 1,2 glucana	Glc
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>insidiosus</i>	tipo A	Fuc, Gal, Glc (2:1:1)
	tipo B	Gal, Fuc, Rha, Man, Glc
<i>C. m.</i> subsp. <i>michiganensis</i>	tipo A	Fuc, Gal, Glc (2:1:1)
<i>C. m.</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	tipo A	Man, Fuc, Gal, Glc
	tipo B	Gal, Glc, Rha, Man, Rib, Fuc
<i>Erwinia amylovora</i>	Levana	Fru
	Amilovorana	Gal, GlcA (4:1?)
<i>Pantoea (Erwinia) stewartii</i>	Stewartana	Glc, Gal, GlcA (3:3:1?)
<i>Ralstonia solanacearum</i>	PEC I	GalNAc, GalNAcA, BacNAc [3OH But] (1:1:1)
<i>Pseudomonas syringae</i>	Levana	Fru
	Alginato	ManA, GulA
<i>Xanthomonas campestris</i>	Xantana	Glc, Man, GlcA (2:2:1)

Abreviações – Glc: glucose; Gal: galactose; Fru: frutose; Fuc: fucose; Man: manose; Rha: ramnose; ManA: ác. manurônico; GulA: ác. gularônico; GlcA: ác. glicurônico; GalNAc: N-acetilgalactosamina; GalNAcA: derivado de ác. galacturônico; BacNAc[3-OH But]: hidroxibutanoil-glucose; Rib: ribose.

**Mecanismos de Agressão:
Outros Fatores Relacionados à
Patogenicidade**

Paralelamente aos mecanismos descritos nas seções anteriores, como enzimas e toxinas, inúmeros outros genes que codificam *fatores de patogenicidade*, que diferem dos de *avirulência* por serem determinantes no processo patogênico e não na ativação do sistema de defesa da planta, têm sido identificados, clonados e caracterizados. Alguns exemplos estão listados a seguir.

Vários genes relacionados à patogenicidade têm sido identificados em *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, o agente causal do *cancro citrico* (SWARUP, 1991). A maioria desses genes, assim como nos casos anteriores, foram identificados pela técnica de marcação por *transposons* (*transposon tagging*), que se baseia no uso de um *transposon* (seqüência de DNA móvel que possui capacidade de inserir-se no DNA cromossomal) como um marcador molecular (ANDERSON e MILLS, 1985).

O Tn5 é um dos transposons mais utilizados para clonagem em sistemas heterólogos bacterianos. Tn5 insere-se aleatoriamente no DNA cromossomal bacteriano, criando uma biblioteca de clones mutantes em relação ao tipo selvagem original, que é uma cepa comercial de *E. coli* (SCHLEIF, 1993). Na análise dos fenótipos desejáveis (clones que perderam a capacidade patogênica), a seqüência Tn5 é utilizada então para a produção de uma sonda específica, que é usada em *Southern blottings* (SOUTHERN, 1975) para verificar qual gene foi rompido via inserção do transposon (se uma só banda é visualizada por *Southern blotting*, em geral um só gene foi atingido). Se confirmado o caráter monogênico do fenótipo, o gene responsável pela patogenicidade pode então ser identificado por uma série de experimentos adicionais (PCR, *Northern blots*, etc).

Uma série de mutantes Tn5 foi produzida, com *X. axonopodis* pv. *citri*, os quais perderam a capacidade patogênica sem perder a capacidade de crescer em meio de cultura e que possuíram uma só inserção cromossomal (indicando que um só gene foi afetado). Dois mutantes, depois de caracterizados, não apresentaram o pico de absorção espectral típico de *xantomonadina*, um pigmento carotenóide cuja função parece ser a proteção dos sistemas de membranas celulares da ação de radicais de oxigênio livres (TSUYUMU et al., 1996). Esses dados indicam que *xantomonadina* está envolvido na patogenicidade de *X. axonopodis* pv. *citri* em citros.

Outros mutantes requereram triptofano como fator de crescimento. Nesse caso, a perda da patogenicidade pode ser resultado da disponibilidade limitada do aminoácido na planta (conseqüência indireta) ou da função direta deste na patogenicidade, sendo necessários, então, experimentos adicionais para que seja investigada a função específica do triptofano na interação *X. axonopodis* pv. *citri/citros*.

Alguns outros mutantes apresentaram deficiência na secreção de *protease*, *pectinase* e *lipase*. Essas enzimas participariam na dispersão do patógeno na planta, via destruição das barreiras físicas estruturais intercelulares, bem como na obtenção de energia, via a utilização dos componentes primários dessas barreiras (açúcares e aminoácidos) como nutrientes. Um mutante apresentou-se defectivo na produção de glucana cíclica (16 unidades de glicose), que parece estar envolvida na adesão da bactéria à parede celular da planta (NESTER e GORDON, 1991).

Outros mutantes obtidos tiveram seus genes defectivos seqüenciados e estes não mostraram analogia com genes de função conhecida, sendo então seus produtos chamados de *fatores de patogenicidade*. Swarup et al. (1992), também trabalhando com *X. axonopodis* pv *citri*, nomearam um desses genes *pthA*, o qual se mostrou homólogo a *avrBs3* de *X.c. vesicatoria* (BONAS et al., 1989) e *avr* de *X. campestris malvacearum* (GABRIEL et al., 1986). Todos esses genes mostraram-se componentes de uma família de genes, caracterizada pela presença de um mesmo *motivo* (seqüência característica de aminoácidos), de caráter repetitivo.

Inúmeros outros genes relacionados à patogenicidade têm sido relatados também em fungos (OLIVER et al., 1990; SCHAFER, 1994; ET-TOUIL et al., 1999; KAHMANN e BASSE, 1999; GOLD, 2001). Um exemplo é *pth11p* de *Magnaporthe grisea*, que regula a diferenciação do apressório (DEZWAAN et al., 1999). Outro exemplo é *clk1*, uma quinase de *Colletotrichum lindemuthianum* cuja deleção afeta a patogenicidade a fungo (DUFRESNE et al., 1998). *CgDN3* em *C. gloeosporioides* é necessário para o bloqueio da reação de hipersensibilidade em *Stylosanthes guianensis* (STEPHENSON et al., 2000). A deleção do gene *uac1* em *Ustilago maydis*, que codifica uma adenilato-ciclase, levou à perda de patogenicidade do fungo (BARRETT et al., 1993). A perda de *CMK1*, uma MAP-quinase, afeta a patogenicidade de *Colletotrichum lagenarium* em diversos aspectos (TAKANO et al., 2000). Também uma MAP-quinase, *BMP1*, é essencial para a patogenicidade de *Botrytis cinerea* (ZHENG et al., 2000).

A *melanina* também exerce um papel fundamental na patogenicidade de fungos como *Magnaporthe* e *Colletotrichum* (YODER e TURGEON, 1996). Existem dados indicando também o papel de feromônios na patogenicidade de fungos. Uma proteína denominada *fator α* , um feromônio produzido por *Saccharomyces cerevisiae*, inibiu a patogenicidade de *Magnaporthe grisea*, agente da brusone do arroz, por bloquear a formação do apressório, provavelmente interferindo na síntese de melanina (BECKERMAN et al., 1997). *Cladosporium fulvum* secreta duas proteínas, ECP1 e ECP2, abundantes nos fluidos apoplásticos, necessárias para a colonização de folhas de tomate e a formação dos conídios (LAUGÉ et al., 1998).

Do nematóide *Meloidogyne javanica*, foi clonada uma *corismato mutase*, enzima-chave na regulação da via do *shiquimato* (Apêndice 1), por participar da produção de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina), precursores de um conjunto de fitoalexinas e substâncias fenólicas importantes na defesa das plantas contra patógenos. Como a via do *shiquimato* é aparentemente ausente em nematóides, é possível que tal enzima, ao ser injetada na planta, acelere a conversão de corismato a *prefenato* (Apêndice 1, Figura B) de maneira irregular, afetando a síntese dos compostos derivados do corismato na planta hospedeira. Essa alteração possibilitaria o estabelecimento do nematóide como parasita em plantas suscetíveis (LAMBERT et al., 1999).

5.1. Características Intrínsecas da Patogenicidade das Bactérias em Plantas

Existem dois tipos de interações entre a bactéria fitopatogênica e sua hospedeira: a) a interação *compatível*, caracterizada pelo rápido crescimento intercelular da bactéria nas primeiras 48 h, seguido do desenvolvimento gradual de sintomas na hospedeira (suscetível); b) a interação *incompatível*, caracterizada pela ausência de sintomas, demonstrada por hospedeiras resistentes ao patógeno.

Já em plantas não-hospedeiras e em variedades resistentes da hospedeira, ocorre também uma interação incompatível, porém de efeitos imediatos e drásticos associados a uma reação de hipersensibilidade (RH), caracterizada pela rápida necrose das células

na área invadida e pelo crescimento limitado da bactéria nos espaços intercelulares (WILLIS et al., 1991).

A identificação dos genes *hrp* (sigla para *hypersensitive reaction and pathogenicity*) em bactérias fitopatogênicas ocorreu inicialmente, em *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* a partir dos estudos de Lindgren et al. (1986) com mutantes que não induziam RH em fumo. Esses mutantes RH⁻ tinham menor habilidade de causar doença na sua hospedeira e menor habilidade de colonizar plantas. Desde então, genes *hrp* foram identificados em diversas bactérias fitopatogênicas, entre as quais os diversos patovares de *P. syringae*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas campestris* e *Erwinia amylovora*. Por outro lado, bactérias não patogênicas são incapazes de produzir sintomas em hospedeiras suscetíveis, nem tampouco produzem RH em não-hospedeiras. As bactérias não patogênicas aparentemente não possuem sequências de DNA similares aos genes *hrp* (LINDGREN et al., 1986).

A análise dos mutantes de *P. syringae* levou à identificação e à clonagem de um agrupamento de genes que são fisicamente e funcionalmente conservados entre os patovares *glycinea* e *tabaci* e que também estão agrupados em *clusters* em *X. campestris* e *R. solanacearum* (ARLAT et al., 1991). Em *P. syringae* pv. *phaseolicola*, o agrupamento abrange uma região cromossômica de aproximadamente 22 kb, consistindo-se de vários genes que são ativamente transcritos quando as bactérias invadem as folhas das hospedeiras (WILLIS et al., 1991). Um total de 27 genes está presente no agrupamento funcional de *P. syringae* e um número semelhante de genes deve estar presente em outras bactérias. Entre esses 27 genes, quatro (*hrp L*, *R S* e *V*) estão envolvidos em funções regulatórias, cerca de 19 proteínas Hrp provavelmente atuam na secreção de proteínas, dois genes codificam proteínas extracelulares (*hrp A* e *hrp Z*) e os genes *hrp K* e *hrp J* não tem função conhecida (YUAN et al., 2000; HE, 1998).

Os genes *hrp* são tipicamente encontrados em múltiplas unidades transcricionais dentro de longos agrupamentos, variando de 20-40 kb. Os seus produtos são necessários nos estágios iniciais do reconhecimento e do estabelecimento da relação de parasitismo, na eficiente colonização da hospedeira e no crescimento *in planta* (WILLIS et al., 1991; SALMOND, 1994).

Após caracterização e seqüenciamento de vários genes *hrps*, verificou-se que vários de seus produtos (proteínas Hrp) apresentavam

homologia com os complexos de secreção tipo III presentes em patógenos de mamíferos, tais como *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella* e estirpes de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Nesses patógenos, a translocação de proteínas bacterianas para o citoplasma da célula hospedeira é feita por um complexo de secreção (SALMOND, 1994; PRESTON et al., 1995; ALFANO e COLLMER, 1997; HUTCHESON, 1998; HE, 1998). Em bactérias gram-negativas, existem vários sistemas de secreção de proteínas, e quatro tipos (I, II, III e IV) são encontrados em bactérias fitopatogênicas. O tipo III envolve a translocação de proteínas através de um canal sem a clivagem da proteína secretada. Como bactérias fitopatogênicas são patógenos extracelulares, o sistema de secreção tipo III é usado para secreção de proteínas de virulência que causam o vazamento dos nutrientes da célula para o apoplasto (HE, 1998; SALMOND et al., 1994; CORNELIS e VAN GIJSEGEN, 2000).

De fato, as proteínas Hrp têm papel fundamental na secreção dos produtos de genes de avirulência (*avr*), as proteínas Avr, e outras envolvidas no processo de doença (Figura 8). Os genes *avr* controlam a especificidade das interações entre raças de uma bactéria e cultivares ou genótipos de uma mesma espécie de planta hospedeira (ver Parte III). Isolados que expressam um gene *avr* específico são incompatíveis em hospedeiras expressando o gene de resistência correspondente. Mais de 40 genes de avirulência já foram clonados em bactérias, sendo a maioria deles de *Pseudomonas syringae* e de espécies de *Xanthomonas* (LEACH e WHITE, 1996; GOPALAN et al., 1996; HUTCHESON, 1998).

As proteínas codificadas por genes *avr* são hidrofílicas, em geral têm de 18 a 100 kDa, mas não apresentam similaridade com proteínas conhecidas ou *motivos* que indiquem certa especificidade funcional (HUTCHESON, 1998). A maioria das proteínas Avr, contudo, não induz morte celular quando infiltrada em tecido vegetal. A expressão de proteínas Avr é dependente do complexo de translocação codificado pelos genes *hrp* e isso ficou evidenciado por estudos que mostraram que a maioria dos genes *avr* era regulada pelo mesmo mecanismo genético que os genes *hrp*. Também a expressão do sistema Avr-Hrp de *P. syringae* em *E. coli* tornou os transformantes capazes de induzir RH em plantas que expressavam o gene *R* correspondente. A expressão direta dos genes *hrp* ou somente dos genes *avr* não

capacitou o transformante a induzir RH em *Arabidopsis* ou soja (HUTCHESON, 1998). Assim, a atividade de todos os genes de avirulência de bactérias é dependente de genes *hrp* funcionais (Figura 8) (LEACH e WHITE, 1996).

Além da translocação de proteínas Avr, o sistema *hrp* também transloca proteínas chamadas *harpinas*. Estas são proteínas termoestáveis, relativamente pequenas, ricas em glicina, que são detectadas em filtrados de culturas expressando os genes *hrp*. Tais produtos já foram detectados em filtrados de *E. amylovora*, *E. chrysanthemi* e *P. syringae* pv. *syringae*, entre outras (BAUER et al., 1995). Atividade elicitora de RH das harpinas foi demonstrada em folhas de fumo, contudo estudos com estirpes de *P. syringae* indicam que a atividade elicitora das harpinas é dependente de outros genes.

A primeira harpina a ser isolada foi a *harpina*_{Ea} de *E. amylovora*, que é uma proteína de 44 Kda, associada ao envelope celular e codificada pelo gene *hrpN*. Mutantes *HrpN*⁻ não induzem RH em folha de fumo, nem são patogênicos à pêra. As harpinas de *P. syringae* e *E. amylovora* têm pouca homologia nas seqüências dos genes, mas as proteínas possuem similaridades estruturais (BAKER et al., 1993; LINDGREN, 1997).

Proteínas sem nenhuma similaridade estrutural com as harpinas também são secretadas pelo complexo de secreção tipo III. Assim é o caso das proteínas PopA de *R. solanacearum*, responsáveis pela indução de RH em genótipos de petúnia. Portanto, o sistema de secreção de proteínas Hrp parece, em conjunto, participar de importantes componentes da patogênese, como o reconhecimento, a penetração e a colonização na planta. Além disso, algumas proteínas homólogas das Hrps podem funcionar na montagem de flagelos em várias bactérias (BOUCHER, 1998; SALMOND, 1994; WEI et al., 2000).

O seqüenciamento completo do genoma de *R. solanacearum* revelou centenas de novos candidatos a genes de patogenicidade de uma só vez, por comparação com genes já descritos em outras bactérias (SALANOUBAT et al., 2002). Entre eles, destacam-se genes que aparentemente codificam proteínas relacionadas à secreção tipo III (cerca de 100), adesão celular (cerca de 200), enzimas hidrolíticas e de degradação da parede celular (5), toxinas (13), resistência ao estresse oxidativo (10) e relacionadas à produção de hormônios de plantas (7). O grande número de genes relacionados à adesão celular pode ser o fator responsável pela ampla gama de hospedeiras de *R. solanacearum*.

Em resumo, genes *hrp* regulam a secreção de fatores de patogenicidade e de produtos dos genes de avirulência, sendo o mais importante conjunto de genes determinantes da patogenicidade de bactérias (LINDGREN, 1997; HIRANO et al., 1999; DENG e HUANG, 1999; WEI et al., 2000).

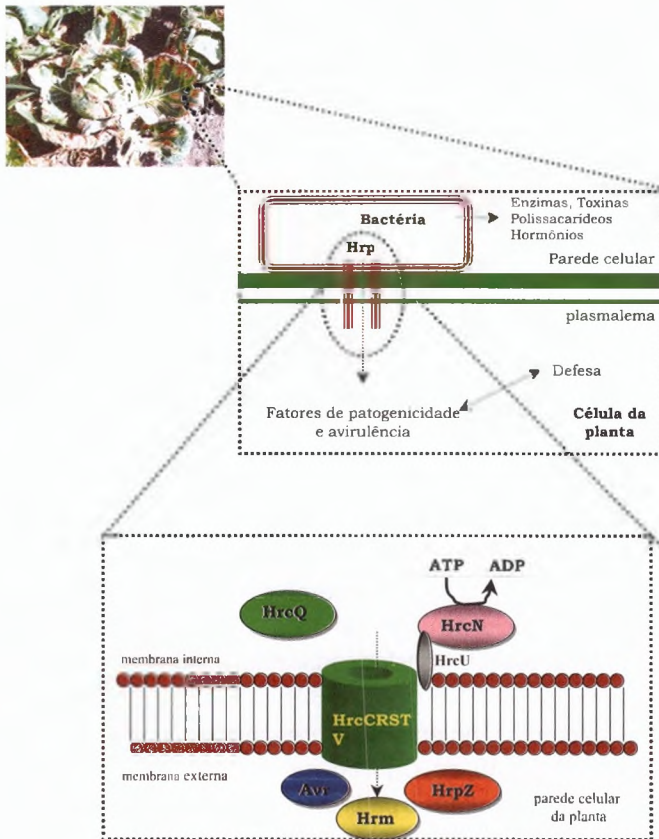


Figura 8 Aspectos moleculares da interação planta-bactéria, enfatizando o modelo de secreção tipo III das proteínas elicitoras Avr, HrmA e HrpZ de *P. syringae* nas células vegetais, com a participação das proteínas Hrc (codificadas pelos genes *hrp* e conservadas entre diversos gêneros de bactérias patogênicas) (adaptado de BAKER et al., 1997; ALFANO e COLLMER, 1997)

5.2. Características Intrínsecas da Patogenicidade dos Vírus de Plantas

Vírus de plantas, basicamente, causam doenças por suplementarem o material genético da hospedeira com o próprio ácido nucléico e com isso interferirem nos processos metabólicos normais da célula vegetal, levando à eventual falência ou ao aniquilamento parcial de células e tecidos (ESAU e CRONSHAW, 1967; MATTHEWS, 1981 e 1991).

Observam-se, nas viroses de plantas, mudanças histológicas e citológicas, ruptura do balanço energético, alteração na síntese de proteínas, ácidos nucléicos e clorofila, alteração nas taxas de respiração e fotossíntese, além da influência negativa em inúmeros outros processos celulares (FRASER, 1987; MATTHEWS, 1991; LEVY et al., 1994; FIELDS et al., 1996; SHOLTHOF et al., 1999; FLINT et al., 2000).

Pouco se sabe, no entanto, sobre os genes virais responsáveis diretos pela patogênese nas células vegetais. Nos últimos anos, não obstante, o uso das técnicas do DNA recombinante tem proporcionado maior entendimento das funções específicas desses genes, inclusive em relação às interações dos produtos dos genes virais com proteínas celulares, claramente vinculados à patogenicidade dos vírus (HAMILTON, 1980; MATTHEWS, 1991).

Sabe-se que nem todos os genes virais estão envolvidos na indução de doenças em plantas. Por exemplo, o gene CI de potyvírus, responsável pela inclusão citoplasmática tipo *catavento*, foi introduzido em fumo, mas as plantas transformadas não apresentaram os sintomas da doença (GRAYBOSCH et al., 1989).

Outros exemplos, no entanto, apresentaram correlação positiva. É o caso do gene VI do *Cauliflower mosaic virus* (CaMV). Vírus recombinantes, construídos a partir de estirpes com marcante diferença na expressão de sintomas na planta, foram usados para a caracterização molecular do gene responsável pelo aparecimento dos sintomas típicos de clorose e mosqueado. Todas as mutações que influenciaram fortemente esses sintomas foram mapeadas no gene VI, enquanto outras regiões do genoma foram responsáveis apenas por pequenas influências no padrão da doença (DAUBERT et al., 1984).

Maule et al. (1989) verificaram que a severidade dos sintomas não estava relacionada com a concentração de CaMV. Baughman et al.

(1988) confirmaram de maneira definitiva essas observações ao transformarem fumo com o gene VI usando *Agrobacterium tumefaciens*, obtendo plantas transgênicas com os sintomas da infecção viral. Tais sintomas foram bloqueados pela introdução de mutações deletivas ou do tipo *frameshift* no gene VI. Em nabo, entretanto, o uso de recombinantes de CaMV levou à conclusão de que os genes I, II e V (*transcriptase reversa*) afetaram o nanismo, e os genes VI e VII afetaram o grau de clorose foliar (STRATFORD e COVEY, 1989).

No caso do *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), um dos geminivírus de grande importância econômica mundial, a indução de sintomas está relacionada com genes em ambos os segmentos de DNA (A e B) (GARDINER et al., 1988).

Para o TMV, foi comprovado o envolvimento da capa protéica (CP) na indução de sintomas. Saito et al. (1987) foram os primeiros a mostrar que CP seria o gene de avirulência reconhecido pelas variedades de fumo carregando o gene de resistência N, que, em última instância, causa a reação de hipersensibilidade. Mais tarde Knorr e Dawson (1988) e Dawson et al. (1988 e 1989) confirmaram essas observações.

Sabe-se ainda que a entrada dos vírus nas células vegetais é um processo passivo, em que o vírus é introduzido (Figura 9) via vetor biológico (insetos, fungos, nematóides, ácaros), ou via ferimentos abertos naturalmente (por exemplo, ferimentos por onde brotam raízes secundárias e as adventícias), ou provocados pelo vento ou por práticas culturais (por exemplo, desbrota), entre outros (MATTHEWS, 1981). Assim, diferentemente dos vírus de bactérias, de animais e dos humanos, não se espera que vírus de plantas utilizem receptores para entrada nas células. O reconhecimento de receptores é um importante fator de determinação da gama de hospedeiras em vírus de animais e humanos e, portanto, um fator-chave no estabelecimento do processo patogênico (WIMMER, 1994).

Nos insetos vetores que possuem relação *circulativa* ou *circulativa-propagativa* com seus respectivos vírus (luteovírus, fitorhabdovírus, fitoreovírus, tospovírus e, talvez, geminivírus), entretanto, inúmeras evidências experimentais têm-se acumulado para a presença de receptores (VAN DEN HEUVEL et al., 1999; MEDEIROS et al., 1999, 2000a, b, c).

Para alguns vírus já foram identificados os *ligantes virais*, ou seja, as proteínas dos vírus responsáveis pelo reconhecimento do receptor

e essenciais para a transmissão pelo vetor. É o caso da capa protéica de geminivírus (OZZAM et al., 1994; LIU et al., 1997), da proteína da capa P2 do reovírus *Rice dwarf virus* (OMURA et al., 1997, 1998; TOMARU et al., 1997) e, provavelmente, da glicoproteína G1 do tospovírus *Tomato spotted wilt virus* (MEDEIROS et al., 2000c).

A clonagem dos genes de insetos vetores responsáveis pela produção dos receptores de vírus, seguida da expressão destes em plantas transgênicas, permitirá que os sítios de grande afinidade contidos naqueles receptores interajam com partículas virais, inibindo a replicação destas ao evitar o desempacotamento dos vírus envelopados, ou na desencapsidação, no caso de vírus não-envelopados (MEDEIROS et al., 2000a, b, c).

Outra alternativa é a incorporação do ligante viral, em plantas transgênicas, numa tentativa de bloqueio do reconhecimento do receptor, assim inibindo a transmissão (ULLMAN et al., 1998; MEDEIROS et al., 1999, 2000a, b, c; ULLMAN et al., 2002). Essa estratégia já foi comprovada, experimentalmente, pelo menos para potyvírus (que possui relação não-circulativa e não-propagativa com seus afídeos vetores). Para tanto, a região amino-terminal da capa protéica, necessária para a transmissão, foi expressa em plantas transgênicas, levando a um bloqueio da transmissão por afídeos vetores (SALOMON e BERNARDI, 1995).

Estratégias de controle adicionais poderão basear-se na clonagem e na expressão, em plantas, de genes envolvidos no sistema imune dos insetos vetores, que mantêm os vírus em baixo título nesses insetos e que poderiam ser utilizados em plantas transgênicas com o mesmo intuito. Por exemplo, cerca de 34 genes envolvidos no sistema imune de tripes (*Frankliniella occidentalis*) vetores de tospovírus foram identificados com o uso de *microarrays* de DNA, em hibridizações heterólogas, utilizando *microarrays* hibridizados com bibliotecas subtrativas.

Para o movimento célula-a-célula, os vírus reconhecem, interagem e utilizam as estruturas de comunicação entre células vegetais, os plasmodesmas (Figura 9), valendo-se de suas *proteínas de movimento*, moléculas ainda pouco estudadas (MAULE, 1994; CARRINGTON et al., 1996). Para diversos vírus de plantas já foram identificados os genes responsáveis por esse reconhecimento e interação – é o caso

da proteína de 30 kDa de TMV, P30 (CITOVSKY et al., 1990) e da proteína não-estrutural NSm de TSWV (STORMS et al., 1995, 1998), apenas para citar dois exemplos. Para a proteína P30 de TMV, já foi demonstrado que essa proteína interage com microtúbulos celulares, indicando o "caminho" pelo qual o vírus é transportado de uma célula a outra, ou seja, o citoesqueleto (HEINLEIN et al., 1995). Igualmente, já se sabe que P30 se liga a ssRNA *in vitro* e que P30 se acumula nos plasmodesmas (CITOVSKY et al., 1990).

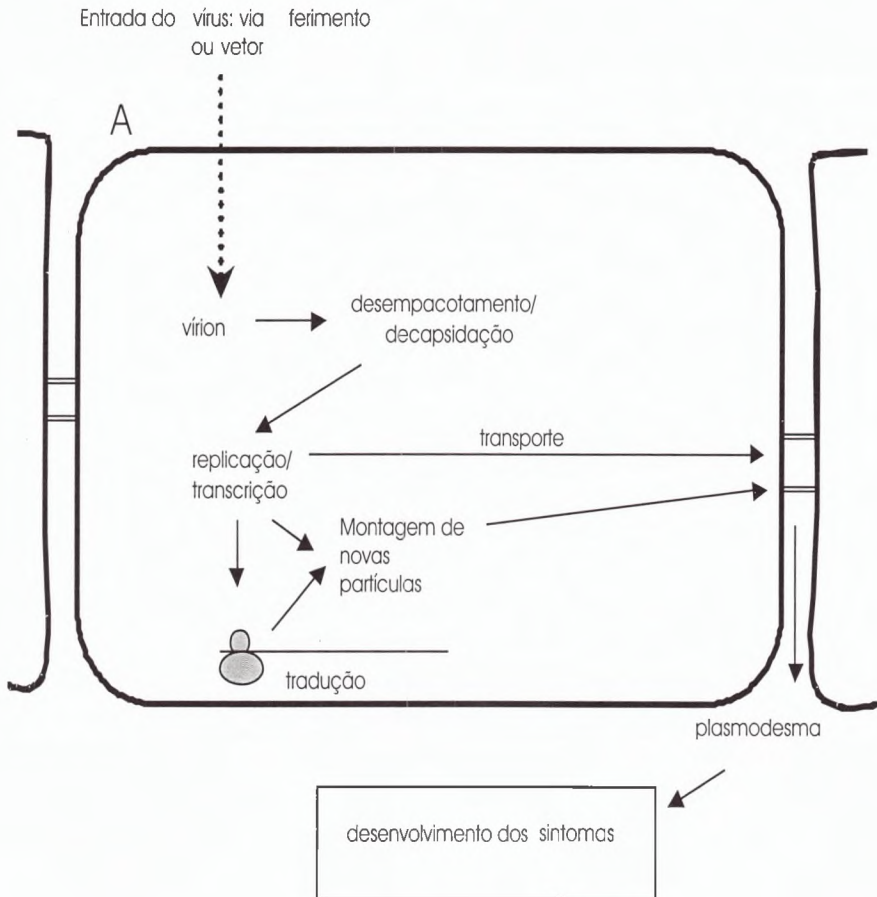


Figura 9 Entrada, ciclo celular e transporte de vírus em plantas

Basicamente, o processo envolve um aumento no diâmetro do plasmodesma, chamado de *limite de exclusão*, e é o que permite a passagem da partícula ou RNA viral de uma célula a outra (WAIGMANN et al., 1994). Tal processo, evidentemente, é de grande importância no estabelecimento da infecção sistêmica e no estabelecimento do processo patogênico *per se*. É bastante provável, até mesmo, que a capacidade que os vírus de planta adquiriram com o tempo evolutivo, de interagir com componentes do plasmodesma, ou seja, o aparecimento dos genes que codificam proteínas de movimento, tenha sido um fator-chave para o estabelecimento do processo infectivo em plantas. Uma evidência circunstancial para tal afirmação é a capacidade que inúmeros vírus de plantas possuem de infectar protoplastos oriundos de plantas não-hospedeiras (MATTHEWS, 1991).

A associação dos vírus com os plasmodesmas envolve a ligação deles a proteínas dos próprios plasmodesmas e/ou proteínas que se associam a essas estruturas. Algumas das evidências experimentais que bem corroboram a afirmação anterior (YOSHII et al., 1998) demonstraram que mutantes de *Arabidopsis* com deleções nos genes *cum-1* e *cum-2* inibiram o movimento célula-a-célula de *Cucumber mosaic virus* e *Turnip crinkle virus*, mas não inibiram a replicação desses vírus em protoplastos.

Não se sabe ainda se as proteínas de movimento desses vírus estariam interagindo com o produto dos genes *cum*, mas esta é uma forte possibilidade. É interessante notar que, mesmo sendo vírus de famílias diferentes, CMV (um bromovírus) e TCV (um tombusvírus) aparentemente se ligam aos mesmos fatores celulares para o movimento célula-a-célula.

Sabe-se há bastante tempo que genes de capa protéica de um determinado vírus, quando expressos em planta, transformam esta planta resistente ao vírus do qual a capa protéica foi extraída (POWELL-ABEL et al., 1986; BEACHY et al., 1990).

Essas plantas, em muitos casos (LOMONOSSOFF, 1995), apresentam um mecanismo de defesa de âmbito transcricional, chamado *silenciamento gênico*, que se caracteriza pela degradação seletiva dos mRNAs específicos dos vírus (AL-KAFF et al., 1998). Tal mecanismo envolveria a interação do mRNA viral com fatores celulares, desencadeando a resposta celular. Mecanismos de supressão viral

por silenciamento gênico já foram inclusive identificados (ANANDALAKSHMI et al., 1998).

O uso da capa protéica viral para obtenção de plantas transgênicas resistentes a vírus levou um forte revés quando se demonstrou que a recombinação entre componentes do genoma do vírus e genes virais da planta transgênica pode ocorrer mesmo em condições moderadas de pressão de seleção (WINTERMANTEL e SCHOELZ, 1996). Mesmo assim, são inúmeras as variedades comerciais de abóbora, mamão, fumo, tomate, batata e outras culturas transgênicas, expressando capas protéicas virais, atualmente em uso, com sucesso comercial, nos EUA, Canadá, Japão e China.

A ação patogênica dos vírus não se baseia apenas na utilização da maquinaria biossintética celular. Além de se utilizarem da maquinaria de transcrição e tradução, por meio da interação com proteínas ribossomais e fatores de transcrição e tradução, os vírus de planta interagem com inúmeros componentes da célula hospedeira para sua replicação, movimento célula-a-célula e movimento sistêmico. O conjunto dessas ações interfere no funcionamento normal da célula de maneira definitiva, afetando com isso o desenvolvimento normal de toda a planta (Figura 9).

Parte



**Mecanismos de
Defesa da Planta**

No seu ecossistema natural, as plantas são resistentes ou mesmo imunes à grande maioria dos inúmeros microrganismos existentes. Embora estes sejam portadores de atributos bioquímicos suficientes para degradar a matéria vegetal morta, são inócuos em seus efeitos sobre a planta ainda viva. As plantas são afetadas, na verdade, por um número muito pequeno de componentes da flora microbiana a elas associados. Geralmente, menos de uma centena de patógenos consegue afetar cada espécie de planta, incluindo-se neste número os fungos, as bactérias, os vírus, os viróides e os nematóides.

Assim, pode-se afirmar que, se de um lado, os microrganismos possuem mecanismos deletérios à maioria dos tecidos e dos órgãos vegetais, por outro, apenas alguns conseguiram desenvolver maneiras de anular ou contornar os mecanismos de defesa das plantas (WOOD, 1981).

Esses mecanismos de defesa podem ser de natureza estrutural, quando funcionam como barreiras físicas impedindo a penetração dos órgãos ou a colonização de tecidos pelo patógeno, ou de origem bioquímica, quando se trata da produção pela planta de substâncias capazes de inibir o crescimento do patógeno, ou de criar condições para impedir a sobrevivência dele em células ou em tecidos vegetais (KUC, 1966; GOODMAN et al., 1967; WALKER, 1967; FRIEND e THRELFALL, 1976; HEITEFUSS e WILLIAMS, 1976; DEVERALL, 1977; KEEN, 2000).

Mecanismos Estruturais de Defesa

Estruturas constitutivas de diferentes órgãos da planta têm funções de defesa, pois são portadoras de estabilidade química e propriedades físicas capazes de evitar adesão e penetração de microrganismos. Por outro lado, certas estruturas podem ser formadas em resposta à agressão patogênica. Os mecanismos estruturais de defesa podem ser *pré-formados* (presentes de modo *constitutivo*) ou *induzidos* (formados após o contato com o patógeno) pelo agente agressor.

1.1. Defesa Estrutural Pré-Formada

A barreira primária de ocorrência generalizada em folhas, flores, frutos e caules verdes é a cutícula, rica em cutina e em substâncias cerosas, que recobre a epiderme daqueles órgãos. A espessura e o tipo de cutícula, a quantidade e a continuidade da camada cerosa superficial, o número de estômatos e de tricomas por área de epiderme têm sido considerados fatores importantes na definição do nível de resistência a patógenos por certas espécies vegetais (WOOD, 1967; FRIEND e THRELFALL, 1976; DEVERALL, 1977; AGRIOS, 1997).

Alto nível de pilosidade e cerosidade determinam uma menor continuidade da camada de água depositada sobre a planta, dificultando o crescimento e a disseminação de bactérias no filoplano, bem como a germinação de esporos fúngicos. A penetração direta da epiderme por fungos patogênicos é quase sempre dificultada não apenas pela espessura da camada cerosa, mas também pela da cutícula. Entretanto, existem exemplos em que a cutícula mais espessa não está necessariamente correlacionada com uma maior resistência.

Existem muitas situações nas quais o rompimento físico da cutícula determina a suscetibilidade ao ataque de certos patógenos de baixa agressividade. É o caso de fungos causadores de doenças de pós-colheita, como *Rhizopus* e *Aspergillus* e as bactérias causadoras das podridões moles pertencentes ao gênero *Erwinia*.

A resistência de certos genótipos de milho à infecção por *Aspergillus flavus*, importante produtor de aflatoxinas, parece ser determinada por compostos pré-formados, como as ceras e as cutinas do tegumento das sementes. O genótipo resistente *GT:MAS:gk* tem grãos revestidos por uma camada cerosa mais espessa. Ensaios *in vitro* mostraram

um efeito de redução do diâmetro da colônia de *A. flavus* em 35% quando em contato com a substância cerosa dos grãos do milho resistente (RUSSIN et al., 1997).

Muitos fungos e bactérias penetram as folhas das plantas através dos estômatos. É o caso da bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, que, pelos estômatos, atinge o mesófilo de laranjeiras e limões. No entanto, no caso da tangerina, mandarina (*Citrus nobilis*), o menor tamanho das aberturas dos estômatos impossibilita a formação de um filme contínuo entre o filoplane e o mesófilo, não permitindo que as células bacterianas flageladas se desloquem até o interior da folha. Assim, não é dada à bactéria a oportunidade de colonizar inicialmente o espaço intercelular da câmara subestomática e ali liberar enzimas e toxinas capazes de iniciar um processo patogênico que levaria à produção dos sintomas foliares do cancro cítrico (FRIEND e THRELFALL, 1976; AGRIOS, 1997).

Além disso, o comportamento dos estômatos, ou seja, a duração do período de abertura destes, parece importante na resistência horizontal a fungos fitopatogênicos que penetram, exclusiva ou facultativamente, pela via estomatal. É o caso das formas uredínicas de *ferrugens* que, com raras exceções (e.g. *Puccinia psidii*, *Phakopsora pachyrhizi*), dependem de estômatos abertos para penetrar a folha, o mesmo ocorrendo com muitos fungos mitosporóides, não formadores de apressórios, como fungos cercosporóides em geral, *Ramularia* spp. e muitos outros. Assim, em *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, afetando trigo, e *Cercospora beticola* em beterraba, os estômatos das variedades mais resistentes abrem-se por pouco tempo e apenas de madrugada, eliminando a possibilidade de penetração de grande número dos esporos germinados durante o curto período noturno com água livre disponível na superfície da folha (WOOD, 1967).

Já *Streptomyces scabies*, bactéria responsável pela sarna da batata, penetra os tubérculos pelas lenticelas. Essa fase do processo patogênico é dificultada pela presença de lenticelas menores, com paredes celulares mais espessas e tecido resultante de uma agregação celular mais compacta. Esse tipo de tecido ocorre nos cultivares mais resistentes à bactéria. Situação semelhante ocorre quando se estuda a resistência de frutos de maçã à infecção por *Colletotrichum perennans*, em que a penetração do fungo é favorecida por condições ambientais que levam à produção de lenticelas maiores e mais abertas.

O ovário das flores de cevada é o sítio primário de infecção por *Ustilago nuda*. Em certos cultivares, a resistência é muito alta e deve-se exclusivamente a uma característica estrutural, ou seja, à presença de glumas que fisicamente impedem o contato da hifa do fungo com o ovário, onde está o tecido suscetível à infecção, que resultaria na produção de massa de ustilósporos negros característicos desses *carvões*, substituindo a semente normal (WOOD, 1967).

Na folha do arroz, há evidências de uma correlação positiva entre resistência a *Pyricularia grisea*, agente da *brusone*, e o nível de silício na epiderme foliar. A abundância de nitrogênio leva a menores índices de silício nas folhas e também a um nível mais baixo de fenóis com ação antifúngica nas folhas. Assim, não se sabe ainda se o estímulo à brusone por nitrogênio deve-se a baixos níveis de fenóis nos tecidos, e/ou a baixos níveis de silício na epiderme (YANG et al., 1998; SAIGUSA et al., 2000).

O conteúdo e a distribuição de fibras esclerenquimáticas, ricas em lignina, em folhas de trigo, condicionam sua resistência a *P. graminis* f. sp. *tritici*. O tecido esclerenquimatoso não é atacado pelo fungo, e sua rigidez parece restringir a colonização dos tecidos pelo fungo, reduzindo assim o tamanho dos soros, impedindo a erupção e a coalescência das pústulas. Isso conduz a uma redução no nível do inóculo secundário e a um menor número médio de folhas infectadas por planta.

No caso de vírus, não ocorre penetração direta da hospedeira, em razão dos seus genomas diminutos. Assim, a penetração dos vírus é passiva e depende de vetores ou de ferimentos provocados pelo homem, portanto a simples presença da parede celular constitui barreira eficaz contra infecções virais (Figura 9). A importância da parede celular como barreira antivírus pode ser claramente estimada quando se observa que protoplastos de plantas não-hospedeiras de diversos vírus podem ser por eles infectados (BOS, 1983; MATTHEWS, 1991).

1.2. Defesa Estrutural Induzida

A defesa estrutural induzida consiste em: (i) modificações da parede celular, que se traduzem em diversos níveis de espessamento da

parede, nos pontos de penetração; (ii) defesa histológica, pela qual tecidos são especialmente formados como uma reação ao ataque do patógeno e (iii) reação de hipersensibilidade, pela qual modificações protoplasmáticas levam à morte várias células hospedeiras em torno do ponto inicial de infecção, com isso isolando o patógeno e anulando sua ação.

A planta pode reagir à agressão por meio de várias modificações físico-químicas de sua parede celular. Assim, é freqüente a formação de papilas, lignificação e suberificação, sendo as três alterações químicas e morfológicas das paredes celulares das plantas muitas vezes induzidas pela tentativa de invasão celular por patógenos ou, simplesmente, em resposta à presença destes.

Em seguida, serão abordados as modificações da parede celular e os mecanismos de defesa histológica. A reação de hipersensibilidade, por envolver também mecanismos bioquímicos, será discutida posteriormente.

Modificações da Parede Celular

Formação de Papilas

A primeira barreira da planta contra patógenos é a complexa rede de moléculas interligadas, na qual microfibrilas de celulose interagem entre si e com uma matriz de hemicelulose, englobando ainda proteínas ricas em hidroxiprolina. A ruptura dessa barreira não necessariamente leva à morte celular, pois a limitação da invasão pelo patógeno pode ainda ocorrer e de várias maneiras. Assim, alterações da parede celular ocorrem durante a penetração, ou tentativa de penetração, por fungos fitopatogênicos. Tais alterações ocorrem rapidamente e podem ser visualizadas por microscopia ótica e eletrônica (AIST, 1976; VAN DER MOLEN et al., 1977).

Em geral, a face interna da parede celular da epiderme das folhas é um sítio de defesa à invasão patogênica no qual o citoplasma se agrega e promove a deposição de material, resultando na produção das chamadas *aposições* ou *papilas*. Estas se formam na face interna da parede celular abaixo do ponto de penetração direta de fungos e

também em resposta a algumas bactérias. Nas *papilas*, lignina, polifenóis, calose (β -1,3 glucana), suberina, silício e celulose formam barreiras visco-elásticas contra a força mecânica de penetração exercida pelo patógeno. A presença de lignina, substância complexa de alta estabilidade química, deve ter papel relevante na eficiência das *papilas*. No entanto, a calose é o principal componente de papilas em muitas interações. É um polissacarídeo formado pelas plantas em resposta aos mais variados estresses, sendo constituída principalmente por moléculas de glucose unidas por ligações β -1,3. Na célula sadia é um componente menor, mas plantas infectadas respondem rapidamente com um depósito de calose. Em células dos pêlos radiculares de fumo inoculadas com *Thielaviopsis basicola*, depósitos de calose foram detectados cerca de 75 a 80 minutos após o contato (HOOD e SHEW, 1997). A síntese de calose é intermediada pela enzima *calose sintase* (1,3-D-glucana-sintase) a partir de UDP-glucose. A enzima foi purificada de beterraba e algodão, em que a existência de um complexo enzimático com várias subunidades foi sugerida. A síntese de calose é ativada por Ca^{+2} em soja, sendo esta uma resposta rápida, o que sugere a disponibilidade da enzima responsável no local, sem envolver a sua síntese *de novo* (VIDHYASEKARAM, 1997).

A partir daí, invaginações da parede podem ser formadas envolvendo os tubos de penetração de fungos, interrompendo assim o processo infeccioso (WALTON, 1997).

A indução das *papilas* é rápida, em alguns casos, questão de poucas horas. *Papilas* são observadas tanto em raízes e em folhas de dicotiledôneas como também de monocotiledôneas, comuns em gramíneas. Já na década de 1980, demonstrou-se que papilas podem funcionar como um mecanismo de resistência. As papilas podem ter um papel físico, impedindo a penetração do patógeno. Em variedades de cevada resistentes a *Blumeria graminis*, as papilas eram maiores que em variedades suscetíveis nos sítios de penetração do fungo. Também em cevada, mostrou-se que alterações na parede celular (formação de papilas e halos) podem ser um dos mecanismos responsáveis pela resistência de certos cultivares. Tal resistência é caracterizada pela inibição da penetração de *Rhynchosporium secalis* (XI et al., 2000). A eficiência da formação da papila depende de quando

é iniciada. Uma baixa eficiência de penetração de fungos foi correlacionada com papilas que se formaram antes das hifas de penetração. A frequência de formação também é importante (ISRAEL et al., 1980).

O uso de inibidores da formação de papilas, tais como DDG (2-deoxi-D-glucose) na interação *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*/cevada, demonstrou que o atraso ou a inibição da formação de papilas induzem suscetibilidade em plantas normalmente resistentes (VIDHYASEKARAM, 1997).

Patógenos ultrapassam a barreira formada por papilas e depósitos de calose usando diferentes estratégias. Alguns promovem o retardamento da formação de papilas, outros podem simplesmente penetrar através de papilas. Cerca de três horas após a inoculação de raízes de *Viola wittrockiana* por *Thielaviopsis basicola* ocorre a formação de papilas compostas de calose e agregados citoplasmáticos. No entanto, apesar da presença dessas estruturas na face interna de paredes das células epidérmicas, a hifa do patógeno não pode ser contida. Portanto, nem sempre a presença de *papila* é sinônimo de resistência (MIMS et al., 2000). Além disso, existem patógenos com habilidade de impedir a síntese de calose ou mesmo de degradá-la utilizando-se de β -1,3-glucanases (VIDHYASEKARAM, 1997).

Lignificação e Suberificação

Células com parede lignificada são mecanicamente mais rígidas e mais resistentes à degradação por enzimas secretadas por patógenos. Sendo assim, a lignificação restringe fisicamente o patógeno (VANCE et al., 1980; RIDE, 1980). O aumento da síntese de lignina pelo metabolismo dos fenilpropanóides (Apêndice 1), levando à lignificação da parede celular, é outra resposta celular frequentemente associada ao insucesso da penetração por patógenos. Altos níveis de lignina também estão vinculados à chamada *reação de hipersensibilidade*, ou seja, a morte rápida de células da hospedeira em torno do ponto de penetração do patógeno.

Os eventos bioquímicos que levam ao aumento da lignificação não são inteiramente compreendidos. Uma possibilidade é que a ação de

peroxidases na parede celular, ao reduzir o peróxido de hidrogênio, gera radicais livres do álcool coniferil, que, espontaneamente, por ligações cruzadas, forma lignina (WALTON, 1997).

A lignificação ocorre em batata inoculada com *P. infestans* e nas interações *Raphanus japonica/Peronospora parasitica* e *Alternaria japonica*, entre outros. O processo pode ser identificado pelo aumento das peroxidases, FAL (fenilalanina amônia-liase) e outras enzimas relacionadas com a via dos fenilpropanóides.

O processo de deposição de lignina na parede celular é suprimido em interações compatíveis. Em plantas sadias, o processo de lignificação é comum também, mas o tipo de lignina de planta resistente parece ser diferente. O patógeno pode também inativar as enzimas responsáveis pela síntese da lignina (FAL, peroxidases), como demonstrado em *Puccinia graminis*/trigo. Alguns componentes da própria parede (e.g. monômeros de substâncias pécicas, ou seja, derivados de ácido galacturônico) podem ter função elicitora e induzir a síntese de lignina. Em um cultivar suscetível, o elicitor não é liberado na forma adequada, razão pela qual a lignificação não ocorre.

A suberina é um polímero insolúvel altamente resistente à degradação enzimática e é depositada nas paredes celulares de várias plantas, quando o patógeno invade o tecido. É uma barreira eficiente contra a penetração de muitos patógenos. Por exemplo, em tubérculos de batata inoculados com *Verticillium dahliae*, observou-se um aumento mais rápido de camadas de células suberizadas que nos controles não inoculados. Vários trabalhos durante a década de 1980 mostraram que a suberização é responsável pelo fortalecimento das paredes celulares limitando o ingresso dos patógenos (KOLATTUKUDY, 1981; KOLATTUKUDY et al., 1994; VIDHYASEKARAM, 1997).

A biossíntese da suberina é precedida da formação de cadeias alifáticas, ou seja, cadeias lineares de hidrocarbonetos com um certo grau de oxidação, principalmente ácidos e álcoois. Enzimas oxidativas como *desidrogenases* são necessárias para suberificação. A produção de suberina também é dependente de peroxidases da parede celular e da FAL. A infecção por fungos ativa todas essas enzimas (VIDHYASEKARAM, 1997).

Nas interações compatíveis, o patógeno induz o atraso no acúmulo de suberina. Em tomate resistente a *Verticillium albo-atrum*, a suberização ocorre cerca de 8 h a 10 h após infecção, enquanto em

cultivar suscetível não houve alteração no nível de suberina. Após 24 h a suberização era visível em plantas suscetíveis, mas em menor grau. Patógenos podem também inibir enzimas envolvidas na síntese de suberina, entre as quais a FAL. Estudos com *V. albo-atrum* em tomate mostram que o fungo pode suprimir ou diminuir os níveis de mRNA da FAL em plantas suscetíveis (HEALE e GUPTA, 1972; LEE et al., 1992).

Simard et al. (2001) mostraram que tecidos ligno-suberizados confinaram o fungo patogênico causador de cancro, *Gremmeniella abietina*, dentro de uma área necrótica em *Pinus banksiana*. Esse foi o primeiro registro desse mecanismo de defesa em coníferas.

Glicoproteínas da Parede Celular Ricas em Hidroxiprolina

Plantas contêm um grande número de glicoproteínas na parede celular que são ricas nos aminoácidos prolina, glicina e/ou hidroxiprolina. Assim como a lignina, essas proteínas estruturais fortalecem a parede celular, podendo, assim, restringir a invasão pelo patógeno. A expressão dos genes responsáveis pela síntese de glicoproteínas de parede é controlada por fatores ambientais e do desenvolvimento. Contudo, os genes de algumas dessas proteínas são também induzidos em resposta à infecção, em que elicitores introduzidos pelos patógenos têm papel importante (WALTON, 1997).

Em interações compatíveis, ocorre pouca alteração no nível de glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (GPRHP). O acúmulo de GPRHP, induzido por elicitores fúngicos, ocorre somente em variedades resistentes, como observado no patossistema pepino/*Cladosporium cucumerinum*. Além disso, *extensina*, um tipo de GPRHP, imobiliza certos patógenos numa resposta de aglutinação resultante das cargas positivas da proteína com as superfícies iônicas negativamente carregadas desses patógenos. O aumento de GPRHP foi também relatado em células de plântulas de melão durante a infecção por *Colletotrichum lagenarium*. Observações feitas em feijão e em melão mostraram que as GPRHP estão presentes em papilas produzidas pelas células vegetais em resposta à infecção por fungos. Por outro lado, patógenos podem superar a barreira de GPRHP ao retardar seu acúmulo na parede celular (BIN et al., 2000; RAGGI, 2000).

Defesa Histológica

O tecido cicatricial, rico em calose, é constituído, inicialmente, de poucas camadas de células ligno-suberificadas, formadas logo abaixo das células lesadas por patógenos, ou por agentes físicos ou químicos. Células mais internas assumem caráter meristemático e passam a produzir, sucessivamente, camadas mais externas que se tornam suberificadas, passando também a integrar o tecido cicatricial. Essa reação evita a penetração de substâncias tóxicas produzidas pelo patógeno no ponto lesionado, além de substituir as células mortas, e pode também evitar a penetração do patógeno (WOOD, 1967; FRIEND e THRELFALL, 1976).

Outra reação histológica importante nesse contexto é a impregnação das paredes das células e dos espaços intercelulares vizinhos a tecidos infectados e mortos com substâncias fenólicas geralmente de composição próxima à da lignina. Esse material inibe o avanço do patógeno. É o caso das reações de certos cultivares de citros, quando infectados por *Phyllosticta*. Situação idêntica é a de cultivares de arroz, resistentes a *Pyricularia grisea* e *Bipolaris oryzae*, quando atacados por esses patógenos, à semelhança de pepino resistente infectado por *Cladosporium cucumerinum* (AGRIOS, 1997).

É comum também a formação de camadas de células suberosas constituindo *camadas de cortiça* em torno de lesões de inúmeros patógenos, em resposta a substâncias por eles produzidas. O tecido corticoso é morto e inibe a invasão crescente pelo patógeno, bloqueando o transporte de substâncias tóxicas por ele elaboradas. Com isso, evita também o transporte preferencial de nutrientes de regiões fisiologicamente normais para pontos da planta infectados pelo patógeno (*sítios de infecção*). Assim, a área infectada torna-se limitada, na forma de manchas ou de *lesões locais*, com o patógeno isolado no centro, sem maiores possibilidades de ação contra outros tecidos (GOODMAN et al., 1967; AGRIOS, 1997).

Camadas de abscisão, formadas em tecido foliar, por exemplo, como resposta à invasão por *Cladosporium* sp. em pessegueiro, promovem a formação de pequenas perfurações através do limbo foliar. Na verdade, são os pequenos anéis de abscisão, formados em torno de cada lesão, os responsáveis pela queda de pequenos círculos de

tecido, os quais contêm também as estruturas do fungo. A camada de abscisão consta de duas camadas de células adjacentes que se separam por dissolução da lamela média, liberando-se assim o disco de tecido. Assim, algumas células sadias são perdidas, porém toda a área infectada é eliminada, limitando-se os prejuízos a pequenos orifícios no limbo foliar. Em *Cereus peruvianus*, espécie resistente à podridão do caule causada por *Glomerella cingulata*, camadas de abscisão são formadas nas células do parênquima interno ao ponto de infecção, sendo induzidas por metabólitos do fungo 2-4 dias após a inoculação. Resultados sugerem que a formação dessa camada em *C. peruvianus*, em contraste com a reação de *C. tetragonus* (suscetível), atua como uma barreira histológica contra o patógeno da antracnose (KIM e KIM, 2002).

A formação de *tiloses* produzidas nos vasos lenhosos é uma resposta histológica a estímulos físicos ou químicos recebidos pelas células do parênquima do xilema. Estas então produzem projeções protoplasmáticas revestidas por paredes delgadas, as quais atravessam os poros dos elementos vasculares levando à obstrução parcial dos vasos. Associada à formação de *tiloses* está também a secreção de polissacarídeos pécticos pelas paredes das *tiloses*, substâncias estas que constituem o principal componente das gomas ou géis que obstruem o sistema vascular, conforme demonstrado em angiospermas inoculadas com *Ophiostoma ulmi* (RIOUX et al., 1998).

Essa reação pode ter significado na defesa da planta apenas quando ocorre precocemente e limitada às áreas vizinhas ao ponto inicial de infecção. Um exemplo positivo é o caso de cultivares de algodoeiro resistentes à murcha causada por *Verticillium albo-atrum*, em que o avanço do patógeno foi contido pelo grande número de *tiloses* formadas próximo ao sítio primário de infecção na raiz da hospedeira (MACE 1978; MACE et al., 1981).

Mecanismos Bioquímicos de Defesa

Na medida em que os aspectos básicos da interação patógeno-planta são esclarecidos, torna-se evidente a importância dos mecanismos *bioquímicos* de defesa, os quais estão muitas vezes desvinculados de alterações morfológicas. Pode-se afirmar que os mecanismos estruturais explicam apenas alguns casos de resistência, mas é na bioquímica da planta que está a chave da imunidade diante de milhares de espécies de microrganismos livres na natureza e com potencial para atacar a matéria vegetal.

À semelhança da defesa estrutural, os componentes bioquímicos da defesa vegetal podem ser divididos em (a) *pré-formados* ou *preexistentes* e (b) *induzidos*, ou seja, produzidos em resposta à penetração pelo patógeno.

2.1. Defesa Bioquímica Pré-Formada

Plantas produzem uma variada gama de metabólitos secundários na ausência de patógenos, muitos com comprovada atividade antifúngica. Alguns desses compostos são constitutivos, estando presentes em plantas saudáveis em suas formas ativas. Outros possuem precursores inativos que são rapidamente ativados em resposta a estresse ou a ataque por patógenos (STOESSL, 1985). Essa ativação, em geral, envolve a participação de enzimas liberadas após a destruição parcial da membrana ou das paredes celulares (MIROCHA e URITANI, 1967; CALAM, 1979; ROSE, 1979; RAO, 1995).

Van Etten e colaboradores (1994) propuseram o termo *fitoanticipina* para separar os compostos induzidos, porém sintetizados rápida e diretamente a partir de precursores pré-formados (OSBOURN, 1996), das *fitoalexinas*, cujas vias metabólicas são ativadas após o ataque de patógenos, sendo, portanto, participantes da defesa *induzida*. É provável, contudo, que muitos dos metabólitos secundários com propriedades antimicrobianas tenham características das duas categorias, ou seja, possam apresentar níveis constitutivos, mas variáveis, em função de mudanças ambientais, tipo de tecido e presença de estímulos como herbivoria ou ataque de patógenos (HEATH, 2002a).

A distribuição dos compostos pré-formados é, quase sempre, *tecido-específica*. Em geral, acumulam-se em tecidos mais externos, onde

funcionam como *barreiras bioquímicas primárias* contra patógenos (OSBOURN, 1996). Por outro lado, em geral os fungos biotróficos induzem baixas concentrações de compostos fenólicos, enquanto fungos necrotróficos induzem altas concentrações.

É provável que esses compostos pré-formados sejam ativos contra uma grande diversidade de patógenos, talvez exercendo um importante papel na resistência das *não-hospedeiras* (HEATH, 1980; NIKS, 1987). Patógenos eficientes teriam então, nesse cenário, a capacidade de contornar os efeitos desses compostos (CALDWELL, 1968; CALLOW, 1983).

A produção e a análise de mutantes de fenótipo negativo são bastante dificultadas para que se possa comprovar o papel de metabólitos secundários na defesa de plantas. Isso se deve ao fato de que é extremamente difícil a obtenção de mutantes em que não sejam afetadas outras vias metabólicas da planta, visto que metabólitos secundários são em geral multifuncionais e, portanto, as mutações são, em geral, letais (RHODES, 1994; HEATH, 2002a).

Técnicas bioquímicas permitiram verificar *in vitro* a atividade antifúngica de determinados produtos do metabolismo secundário. Os principais grupos de metabólitos secundários com ação antifúngica são: fenóis, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, lactonas, compostos sulfurados, saponinas, esteróides e glucosinolatos.

Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são produzidos pela *via do shiquimato* (Apêndice 1) a partir de fenilalanina e hidroxifenilalanina. Entre as várias funções dos fenóis está a de participante na defesa da planta contra patógenos (WALKER e LINK, 1935; KOSUGE, 1969; LEGRAND, 1983). Em alguns casos está bem documentado o fato de que a síntese de fenóis está especificamente vinculada à expressão de resistência a determinada doença (HEATH, 2002b). Um exemplo clássico é o caso da resistência de cebola (*Allium cepa*) ao fungo *Colletotrichum circinans*, detectada em cultivares portadores de pigmento vermelho ou amarelo. Estes, ao contrário dos brancos, produzem e armazenam nas escamas secas dos bulbos uma grande quantidade dos fenóis

catecol e *ácido protocatecólico* (Figura 10), solúveis em água e inibidores eficazes da germinação de esporos e da penetração do patógeno.

Ambos os fenóis atuam na porta de entrada do patógeno, pois acumulam-se nas escamas da superfície dos bulbos, protegendo a epiderme das escamas mais internas ainda vivas. Os cultivares de bulbos brancos, destituídos daqueles fenóis, são, por outro lado, altamente suscetíveis a *C. circinans*, sendo os de cor creme e rósea portadores de resistência intermediária e níveis médios dos dois compostos. A mesma correlação entre cor dos bulbos, resistência e toxidez dos fenóis foi verificada em relação a *Botrytis allii*, causador da *podridão do pescoço* da cebola (CLARK et al., 1944). O *ácido clorogênico* (Figura 10) é outro composto fenólico associado à resistência e presente em concentração mais alta em cultivares e linhagens de cafeeiro e batata resistentes a *Ceratocystis fimbriata* e *Streptomyces scabies*, respectivamente. Em batata, observou-se que as raízes dos cultivares resistentes a *Verticillium* contêm mais ácido clorogênico do que as dos suscetíveis. Adicionalmente, a raiz da planta suscetível que era inicialmente resistente, era infectada por *Verticillium* após decréscimo no seu conteúdo de ácido clorogênico, resultante de sua maturação natural (PATIL et al., 1966; NICHOLSON e HAMMERSCHMIDT, 1992).

Existem boas correlações entre a presença de uma substância fenólica na casca do tronco da noqueira (*Juglans regia*) denominada *juglone* (Figura 10), *ácido gentísico* em folhas de cacaueteiro (*Theobroma cacao*), *ácidos cafêico e clorogênico* em folhas de batata, e resistência dessas plantas a patógenos. A resistência do trigo a *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* também se correlaciona, pelo menos em parte, com o teor de fenol das folhas (KIRALY e FARKAS, 1962; GOODMAN et al., 1967; NICHOLSON e HAMMERSCHMIDT, 1992).

Recentemente foram identificados e clonados de gramíneas alguns genes responsáveis pela biossíntese de metabólitos secundários envolvidos nos processos de defesa contra patógenos e insetos, simultaneamente. Dentre esses, temos *Bx1*, que codifica uma *sintase do α -triptofano*, e *Bx2-Bx5*, que codificam quatro diferentes *monooxigenases dependentes do citocromo 450* (FREY et al., 1997).

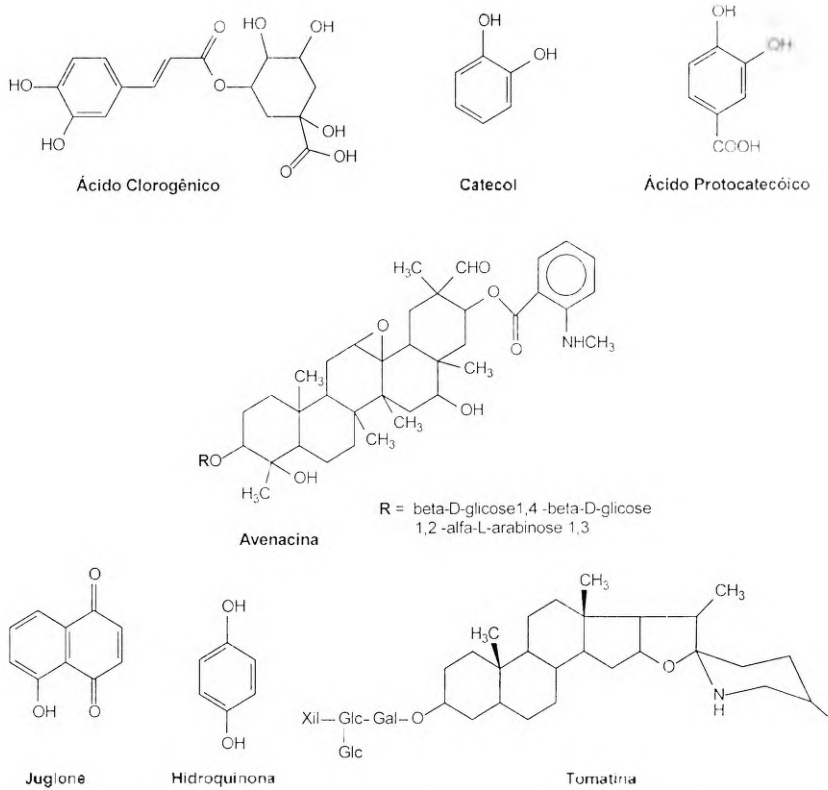


Figura 10 Estrutura química de alguns compostos pré-formados, produtos do metabolismo secundário de plantas, que participam do sistema de defesa contra patógenos

Saponinas

Saponinas estão presentes em altas concentrações mesmo em plantas saudáveis, com efeitos tóxicos reportados em peixes, moluscos e insetos. São glicosídeos produzidos por um grande número de plantas e divididos em três classes: triterpenóides, esteróides e alcalóides. Estes últimos são encontrados principalmente em solanáceas, sendo responsáveis, por exemplo, pela coloração esverdeada de tubérculos expostos à luz solar.

A aveia contém duas diferentes famílias de saponinas: i) *avenacinas*, triterpenóides presentes nas raízes e ii) esteróides *avenacosídeos* (presentes nas folhas e nos ramos). Avenacinas (Figura 10) exercem papel importante na determinação da resistência a *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, que, embora infecte trigo e cevada, não infecta aveia (BOWYER et al., 1995; OSBOURN, 1996).

Quando se comparou *G. graminis* var. *tritici* a *G. graminis* var. *avenae*, verificou-se que o último é resistente a avenacinas, enquanto o primeiro é sensível. Nesse caso, também foi possível a obtenção de plantas de aveia mutantes, deficientes na produção de avenacinas, que mostraram maior susceptibilidade a *G. graminis* *avenae*, *G. graminis* *tritici* e outros fungos do solo. Assim, a presença desse metabólito determinaria a gama de hospedeiras do fungo e a resistência geral da planta a patógenos do solo (BOWYER et al., 1995; YODER e TURGEON, 1996).

Em tomate, a principal saponina já caracterizada é chamada α -*tomatina* (Figura 10), cuja concentração é alta em folhas, flores e frutos verdes. Uma maior concentração de α -*tomatina* ocorre em variedades de tomate resistentes a *Cladosporium fulvum*, assim tudo indica que as raças incompatíveis do fungo seriam aquelas suscetíveis aos efeitos tóxicos dessa saponina.

A ação tóxica dessas substâncias é explicada com base no fato de as saponinas formarem complexos com lipídios estruturais denominados esteróis presentes nas membranas celulares dos fungos, o que leva à formação de poros, assim destruindo a permeabilidade seletiva das membranas.

Saponinas são dependentes de pH maior ou em torno de 6,0 para mostrar atividade. Assim, *Alternaria solani*, aparentemente, escapa da ação desses compostos ao promover o abaixamento do pH nos pontos de infecção. No entanto, o principal mecanismo de resistência a saponinas parece residir na baixa quantidade de *esteróis* nas membranas dos fungos que as toleram. Sabe-se que as plantas parecem proteger-se da ação tóxica das saponinas por meio da compartimentalização destas em vacúolos ou outras organelas, cujas membranas possuem composição diferente das membranas plasmáticas. Por isso mesmo, é importante enfatizar que os oomicetos, como *Pythium* e *Phytophthora*, cujas paredes têm composição

semelhante à das plantas superiores, ou seja, com a fração de quitina substituída por microfibrilas de celulose, contêm pouco ou nenhum esterol em suas membranas. Esses organismos, pertencentes ao Reino *Chromista*, conseqüentemente são resistentes a saponinas (OSBOURN, 1996).

Além disso, mutantes de *Fusarium solani*, deficientes na produção de esteróis, mostraram resistência a α -tomatina e capacidade de infectar frutos verdes. Análise da progênie oriunda do cruzamento entre o mutante e o tipo selvagem mostrou que a patogenicidade em frutos verdes, o nível de esteróis mais baixo e a insensibilidade à α -tomatina foram fatores herdados sempre conjuntamente (OSBOURN, 1996).

Um mecanismo adicional seria a produção de enzimas com habilidade para detoxificar saponinas, tornando seus portadores tolerantes ao composto. Inúmeros fungos produzem hidrolases que rompem ligações glicosídicas e removem açúcares da saponina, destruindo a habilidade desta em se ligar aos esteróis das membranas. Esse é o caso de *G. graminis* var. *avenae*, que produz a enzima *avenacinase*, capaz de remover moléculas de glicose da avenacina, tornando-a inócua. Mutantes do fungo sem habilidade de produzir *avenacinase* mostraram-se sensíveis à saponina. Da mesma forma *Septoria avenae* produz a enzima *avenacosidase*, que atua sobre os *avenacosídeos* da aveia. Já *Septoria lycopersici* produz uma enzima extracelular, a *tomatinase*, que apresenta significativa homologia com *avenacinase* (cerca de 68%). Essa enzima, além de atuar na detoxificação da tomatina, inibe a manifestação da resposta de resistência pela planta (BOWYER et al., 1995; OSBOURN, 1996; BOUARAB et al., 2002; WUBBEN et al., 1996).

Glicosídeos Cianogênicos

Mais de 2 mil espécies de plantas são capazes de liberar *ácido cianídrico* (HCN) em resposta a danos em seus tecidos. Por causa da altíssima toxicidade do HCN à maioria dos organismos, o que inibe o funcionamento da cadeia respiratória, esse composto funciona como um tóxico de amplo espectro afetando animais superiores, insetos, nematóides, fungos e bactérias (STUMPF e CONN, 1981).

Tecidos de plantas saudáveis não contêm HCN detectável, sugerindo que os glicosídeos cianogênicos são fisicamente separados de suas hidrolases provavelmente por compartimentalização, como visto anteriormente para as saponinas. Em células de sorgo, o glicosídeo *durina* encontra-se no vacúolo central, fisicamente separado de duas enzimas que atuam na conversão da molécula em benzaldeído com liberação do HCN (WINK, 1997). Na maioria das vezes, a liberação de HCN é fruto da hidrólise de *glicosídeos cianogênicos* por ação de enzimas hidrolíticas.

Os níveis de glicosídeos são mais altos em tecidos mais externos e, novamente, as plantas são capazes de combater os efeitos tóxicos do HCN que elas próprias produzem pela ação de enzimas como a *α -cianoalanina-sintase*. A combinação de HCN e cisteína leva à formação, por ação dessa enzima, de cianoalanina, que é em seguida hidrolisada para gerar asparagina. Exemplos de plantas que detoxificam o HCN são o *Phaseolus lunatus*, a mandioca (*Manihot esculenta*) e a seringueira (*Hevea brasiliensis*) (WINK, 1997).

Em relação à resistência a doenças, os dados são contraditórios, pois em alguns casos variedades com maiores teores de glicosídeos cianogênicos são mais suscetíveis. Assim, no caso do *mal-das-folhas* da seringueira, causado por *Microcyclus ulei*, alto teor cianogênico leva à inibição da síntese da fitoalexina *escopoletina*, levando a maior suscetibilidade. Por outro lado, vários outros fungos, *Stemphylium loti*, por exemplo, produzem enzimas responsáveis pela inativação do HCN, como *hidratases*, catalisando a conversão de HCN em *formamida* (YODER e TURGEON, 1996; OSBOURN, 1996).

Glucosinolatos

Os glucosinolatos são *glicosídeos* que contêm enxofre, portanto são glicosídeos sulfurados, comumente encontrados em crucíferas (*Brassica* spp.) e frequentemente citados na literatura entomológica como atraentes químicos e toxinas que afetam insetos.

São também ativados por danos aos tecidos da planta e, assim como nos casos anteriores, são tecido-específicos. A enzima

mirosinase é mantida na planta separada dos glucosinolatos por compartimentalização (WINK, 1997; TIERENS et al., 2001). Os produtos de sua ação sobre esses substratos são os *isotiocianatos*, substâncias biologicamente ativas com atividade antifúngica *in vitro*. Os isotiocianatos já foram testados contra diversos patógenos (*Leptosphaeria*, *Peronospora*, *Mycosphaerella*) e alguns não-patógenos de brássicas. Estudos mostraram também que os produtos da hidrólise dos glucosinolatos podem inibir vários fungos de solo, como *Pythium* spp. e *Rhizoctonia solani* (MAZZOLA et al., 2001).

Altos níveis desses compostos foram associados à resistência de mostarda a *Leptosphaeria maculans* e de repolho e couve-flor ao mildio causado por *Peronospora parasitica* (MÉNARD et al., 1999; OSBOURN, 1996).

2.2. Defesa Bioquímica Induzida

O contato entre o patógeno e o protoplasma da planta desencadeia reações biossintéticas na célula da hospedeira capazes de produzir compostos tóxicos ao patógeno, imitando de forma rudimentar o sistema imunológico animal. Em alguns casos é difícil determinar se a resposta da planta foi realmente antes ou depois do reconhecimento do patógeno.

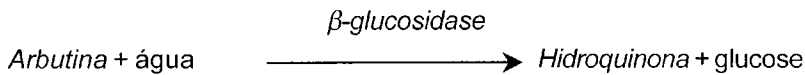
Porém, em geral, para impedir a infecção, inibindo o crescimento do patógeno, essas substâncias, induzidas pelo patógeno, devem ser produzidas com a velocidade necessária, próximas ao ponto de penetração e em concentração suficientemente alta (SEQUEIRA, 1983).

Um exemplo é o de um cultivar de trigo resistente a *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, que produz nível mais alto de fenol no período inicial de infecção, em resposta à inoculação com uma estirpe avirulenta. Por outro lado, a inoculação com uma estirpe virulenta induziu um acúmulo muito mais lento de fenóis, permitindo assim a infecção (BELL, 1981).

Muitos dos compostos fenólicos estão presentes na planta em forma de glicosídeos de baixa toxidez. Portanto, a patogênese pode depender da habilidade do patógeno em atacar a planta sem liberar o aglicone tóxico. Assim, está comprovado, por exemplo, que a hidrólise

de glicosídeo fenólico define a resistência na interação entre a pereira e duas espécies de bactérias.

Normalmente, as β -glucosidases (BG) agem liberando aglicones tóxicos, os quais inibem o crescimento dos patógenos (HILDEBRAND e SCHROTH, 1964a). Um exemplo é a ação do glicosídeo fenólico denominado *arbutina*, presente em folhas de pereira. Aqui, a ação de β -glucosidases sobre a *arbutina* conduz à liberação de *hidroquinona* (Figura 10), um aglicone fenólico de alta toxidez a bactérias, conforme a reação:



O sistema enzimático envolvido nessa reação é constitutivo da planta, mas a hidrólise de altos níveis de *arbutina* deve-se, principalmente, à ação de enzimas produzidas por fitopatógenos.

Na comparação entre as duas bactérias patogênicas à pereira, observou-se que *Erwinia amylovora*, a bactéria da “queima de fogo da pereira”, pelo fato de produzir baixos níveis de BG, mostrou alta virulência à pereira, ao contrário de *Pseudomonas syringae* (HILDEBRAND; SCHROTH, 1964b), produtora de altos níveis daquela enzima e cujos efeitos patogênicos são muito limitados. Assim, as altas doses de *hidroquinona* liberadas por *P. syringae* inibiriam a própria bactéria, que queima brotos, mas jamais causa os sintomas generalizados da “queima de fogo”, característicos do ataque de *E. amylovora*.

Já em folhas de macieira, a situação é bem diferente, pois o glicosídeo *floridizina*, sob o efeito de BG endógenas, libera *floretina*. Esse aglicone pode ser oxidado a *quinona*, potencialmente inibidora do agente da “sarna da macieira”, *Venturia inaequalis*. No entanto, o nível desses produtos é idêntico em plantas resistentes e suscetíveis à sarna, indicando que o mecanismo de resistência é outro.

Nas interações compatíveis, o patógeno até certo ponto preserva a integridade dos tecidos, evitando assim a oxidação dos fenóis e uma conseqüente reação de resistência. Está bem estabelecido na literatura que os produtos da oxidação dos fenóis, como as quinonas, são mais tóxicos aos microrganismos do que os próprios fenóis.

Com isto, explica-se a importância dada a enzimas como as *polifenoloxidasas* ou *fenolases*, *peroxidases* e algumas *catalases* (Apêndice 3). Da ação dessas enzimas sobre os fenóis, além da produção de quinonas, podem resultar derivados fenólicos complexos de alta toxicidade (STUMPF e CONN, 1981) e com um papel importante nas interações planta-patógeno, como é o caso da lignina. Em geral, os cultivares resistentes a determinado patógeno, quando infectados, mostram em seus tecidos concentrações maiores desses produtos do que os suscetíveis ou sadios.

Um exemplo da diversidade de compostos induzidos é a detecção de 19 diferentes sesquiterpenóides em *Nicotiana undulata* inoculada com TMV (UEGAKI et al., 1988). Também o ácido pipecólico é produzido em tecidos infectados com diversos vírus de plantas (WELKIE et al., 1967).

Fitoalexinas

Conceito e Histórico

A resistência, na maioria das interações planta-patógeno, não se deve a mecanismos de defesa passiva, como os compostos pré-formados, mas sim a mecanismos que são ativados após a infecção. Muitas alterações bioquímicas acontecem após o contato da planta com o patógeno e entre elas está a síntese *de novo* de compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, produzidos após a infecção ou induzidos por agentes abióticos. Tais compostos foram denominados *fitoalexinas* por Müller e Borger (1940) e já foram objeto de muitos estudos (BAILEY e MAINSFIELD, 1982; DIXON et al., 1983; STOESSL, 1986; HAMMERSCHMIDT, 1999b).

No início da década de 1940, o fitopatologista alemão K.O. Müller e seus colaboradores desenvolveram a *Teoria das Fitoalexinas*, com base nas reações de tubérculos de batata a inoculações com raças virulentas e avirulentas de *Phytophthora infestans* para diferentes cultivares da hospedeira. Com isso puderam estudar interações fungo-hospedeira *compatíveis* (em que sintomas da doença eram observados, ou seja, planta suscetível) ou *incompatíveis* (sem sintomas, planta resistente).

Müller e Borger (1940) estabeleceram, claramente, que a inoculação de tubérculos de um certo cultivar de batata com zoósporos de uma raça avirulenta (interação *incompatível*) de *P. infestans*, ou seja, incapaz de atacá-la, resultava em uma alteração química das células da hospedeira capaz de conter o avanço do patógeno. Além disso, uma inoculação posterior da mesma área do tubérculo com uma raça virulenta, portanto capaz de produzir uma interação compatível entre patógeno e hospedeira, resultava igualmente na não-ocorrência de infecção. Com isso mostraram que a raça avirulenta, previamente inoculada, induzira a síntese de uma ou mais substâncias pelas células do tubérculo, levando assim a uma inibição do ataque pelo patógeno.

Aquelas substâncias mostraram-se capazes de inibir a ação da raça virulenta inoculada, decorrido certo tempo após a inoculação feita originalmente. Para eliminar a possibilidade de a inibição dever-se a uma ação direta, física ou química, da raça incompatível sobre a outra, Müller e Borger (1940) e Müller e Behr (1949) fizeram observações adicionais. Foram feitos cortes finos no tubérculo, distantes apenas algumas camadas das células diretamente em contato com a raça avirulenta, inoculada em primeiro lugar, e observaram que ali também a inibição ocorria.

Além disso, em inoculação seqüencial de duas raças em um cultivar suscetível a ambas, não se detectou nenhum antagonismo entre as raças. Com isso concluíram, em definitivo, que a inibição do fungo devia-se à alteração no tecido da hospedeira, onde teria sido produzido um princípio químico que denominaram *fitoalexina*.

A fitoalexina ou substância de defesa originalmente estudada por Müller e Borger (1940) em tubérculos de batata foi isolada e quimicamente identificada por Tomyiama et al. (1967, 1968), sendo então designada *rishitina* (Figura 11). Os experimentos pioneiros foram repetidos e a sua validade confirmada. Além disso, o grupo japonês deu importante contribuição ao isolar e identificar o sesquiterpenóide *rishitina*, sintetizado pela via do acetato-mevalonato (Apêndice 2), o qual possui um vínculo metabólico com a produção do alcalóide *solanina*. Assim, observaram que o tubérculo intacto possuía pouca *solanina* e nada de *rishitina*, enquanto o tubérculo simplesmente cortado possuía muita *solanina* e baixo conteúdo de *rishitina*. Já o tubérculo cortado e inoculado com uma raça avirulenta de *P. infestans* mostrou

sempre um alto teor de rishitina e pouca solanina, ocorrendo o contrário nas combinações compatíveis.

Como a fitoalexina do tubérculo da batata, produzida sob o estímulo de zoósporos de *P. infestans*, era também eficiente na inibição de *Fusarium caeruleum* e de alguns fungos saprófitas. Müller e Berger (1940) afirmaram que a fitoalexina era *inespecífica*. Além disso, essa fitoalexina teria efeito limitado ao tecido em torno da célula ou das células lesadas.

Müller (1958) passou a trabalhar com suspensões de esporos de *Monilinia fructicola*, aplicadas nas cavidades deixadas pelas sementes em vagens verdes de feijão e ervilha, após a remoção das sementes. Os seguidores de Müller na Austrália (CRUICKSHANK, 1963; PERRIN, 1964) mostraram que tanto os esporos, como seus exsudatos captados em água, estimularam a produção de fitoalexina pelo tecido das vagens. Ainda observaram que cloretos de mercúrio e de cobre também induziam fitoalexinas. Com isso, ficou definitivamente estabelecido que as fitoalexinas da ervilha e do feijão eram produzidas pelas plantas hospedeiras.

Cruickshank e colaboradores identificaram quimicamente a primeira fitoalexina usando o sistema *M. fructicola*/ervilha e denominaram-na *pisatina* (Figura 11), que foi cristalizada e caracterizada como um produto fenólico do grupo dos *pterocarpanos* (CRUICKSHANK e PERRIN, 1960; CRUICKSHANK, 1963). Em seguida, foi isolada a *faseolina* (Figura 11) (PERRIN, 1964), produzida pelo feijoeiro e igualmente um pterocarpano.

Estrutura Química e Distribuição

Fitoalexinas apresentam estruturas químicas diversas, incluindo derivados fenilpropanóides, flavonóides e isoflavonóides (fenóis) como a pisatina e a faseolina; sesquiterpenos como o ipomeamarone da batata-doce (Figura 11) e os compostos poliacetilênicos de *Carthamus tinctorius*.

A maioria das fitoalexinas conhecida tem natureza orgânica; contudo, Cooper et al. (1996) identificaram a primeira fitoalexina inorgânica, o enxofre elementar como uma molécula cíclica contendo

8 átomos de enxofre (S_8) (Figura 11), no patossistema *Verticillium dahliae/Theobroma cacao*.

Mais de 350 fitoalexinas já foram detectadas e caracterizadas quimicamente, as quais estão distribuídas em cerca de 30 famílias botânicas. Destas, 130 foram detectadas apenas em plantas da família *Leguminosae* (KUC, 1995; 1997).

Fitoalexinas também foram isoladas de diferentes tecidos ou partes da planta, tais como: hastes, raízes, folhas, tubérculos e frutos, e nem sempre os mesmos compostos são produzidos por todos os órgãos de uma mesma planta. As fitoalexinas fenilpropanóides estão distribuídas entre famílias diversas como *Leguminosae*, *Solanaceae*, *Convolvulaceae*, *Umbelliferae* e *Gramineae*.

Especificidade estrutural é evidente em algumas famílias. As fitoalexinas isoflavonóides são comuns em *Leguminosae* e ausentes em *Solanaceae*, enquanto os sesquiterpenóides são comuns em *Solanaceae*, mas não em *Leguminosae* (KUC, 1997). A batata produz três fitoalexinas terpenóides distintas: *rishitina* (Figura 11), *lubimina* e *fitotuberina*. Embora a maioria das leguminosas produza fitoalexinas fenólicas, *Vicia faba* (fava) produz uma fitoalexina fenólica (*medicarpina*) e várias alifáticas poliacetilênicas (*ácido vierônico* e quatro de seus derivados), enquanto em vagens de feijão foram detectadas quatro fitoalexinas, porém todas fenólicas: *faseolina*, *faseolidina*, *quievitone*, *faseolinisoflavana*.

Fazendo um paralelo com o sistema imune dos animais, observa-se uma diferença marcante quando se compara a diversidade química entre as fitoalexinas e a defesa imunoprotéica, representada pelos anticorpos de diferentes espécies animais, que são de composição muito uniforme. Além disso, os anticorpos (imunoglobulinas) produzidos em resposta a um mesmo antígeno são muito semelhantes entre si, independentemente da espécie animal que os produz. A diversidade estrutural de algumas fitoalexinas está ilustrada na Figura 11.

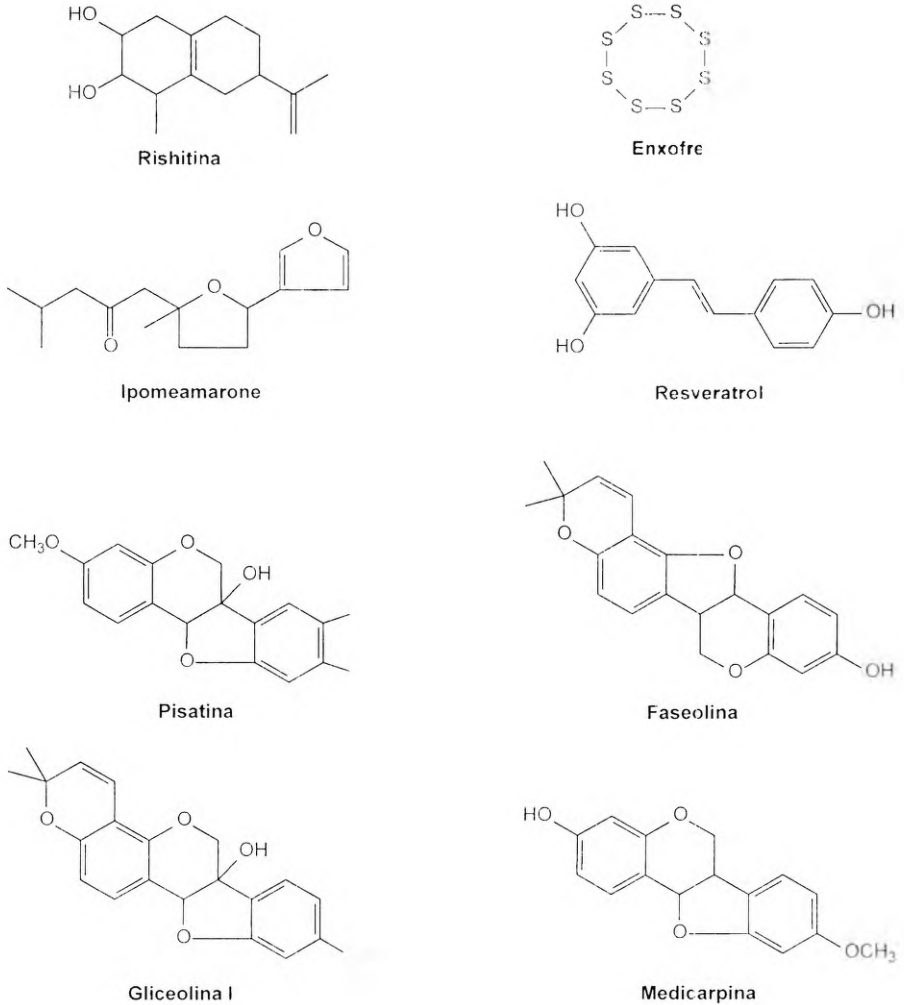


Figura 11 Diversidade estrutural das fitoalexinas produzidas por diferentes espécies de plantas: rishitina (batata); enxofre (cacau); ipomeamarone (batata-doce), resveratrol (amendoim e videira); pisatina (ervilha); faseolina (feijão); gliceolina (soja) e medicarpina (alfafa, fava, trevo e grão-de-bico)

Biossíntese e Indução de Fitoalexinas

A síntese de fitoalexinas pode ocorrer a partir das vias metabólicas secundárias do acetato-mevalonato (Apêndice 2), ou acetato-malonato (via de biossíntese dos ácidos graxos), enquanto outras fitoalexinas são derivadas de fenilalanina, um produto da *via do ácido shiquímico* (Apêndice 1). Algumas fitoalexinas são oriundas de uma única via (*rishitina*, *ipomeamarone*, *metoximeleína*, *ácido clorogênico*, *wierone*) e outras da combinação de precursores oriundos de duas vias (*pisatina*, *xantoxina*, *glicinol*) ou, ainda, algumas delas são sintetizadas a partir de precursores das três vias metabólicas primárias (*faseolina*, *quievitone*, *gliceolina*) (KUC, 1985 e 1997).

A velocidade de acumulação de fitoalexinas é determinada pela liberação dos seus precursores imediatos presentes na planta como conjugados, levando a um rápido acúmulo dessas substâncias, ou pode ocorrer mais lentamente, na eventualidade de síntese *de novo*. Além disso, pode ocorrer degradação das fitoalexinas e conseqüente detoxificação pela ação de enzimas microbianas e vegetais (KUC, 1997). No final, o nível de fitoalexina será o resultado de um balanço entre síntese e degradação.

Como as fitoalexinas são produzidas em resposta à penetração do patógeno e início da infecção, tudo indica que um produto do patógeno ou da interação planta-patógeno está envolvido nessa indução. Essas moléculas responsáveis pela indução de fitoalexinas são denominadas *elicitores*. Sob essa denominação estão incluídos metais pesados (Cu, Hg), etileno, UV, antibióticos, fungicidas, substâncias presentes ou liberadas nos sítios de contato com insetos e nematóides, além de outros fatores que promovem estresse nas plantas (HEATH, 1981; DARVILL e ALBERSHEIM, 1984). Posteriormente, percebeu-se que tais elicitores estavam ativando todo o processo de defesa da planta, não só fitoalexinas, e que estas não tinham o papel central que se imaginava.

Embora muitos elicitores não sejam específicos, alguns se mostraram tão específicos quanto o patógeno em relação à sua hospedeira. A indução da síntese de fitoalexinas por meio de elicitores raça-específicos foi demonstrada nas interações caupi/*Uromyces vigna* e em soja/*Pseudomonas syringae*.

Os elicitores podem ser exógenos ou endógenos. Os *exógenos* são compostos derivados do patógeno, tais como proteínas, glicoproteínas, vários oligossacarídeos e ácidos graxos insaturados que, possivelmente, também desempenham um papel na resistência de não-hospedeira. Enzimas pectolíticas produzidas pelos patógenos liberam moléculas da fração pectica da parede celular da hospedeira e estas funcionariam como *elicitores endógenos*, ou seja, oriundos da própria hospedeira (CLINE et al., 1978; NORTHNAGEL et al., 1983).

Entre as glucanas dos tipos β ,1-6 e β ,1-3 e quitosanas isoladas de fungos estão vários elicitores de ação inespecífica, ou seja, capazes de induzir fitoalexinas tanto em plantas suscetíveis, resistentes ou mesmo imunes aos fungos dos quais são provenientes. É o caso de elicitores não-específicos de *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*, capazes de induzir fitoalexinas em cultivares resistentes e suscetíveis de soja e também em feijoeiro e batata, ambas não-hospedeiras do fungo (CLINE et al., 1978). A fitoalexina induzida em feijoeiro é a mesma produzida em resposta à inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Por outro lado, *P. megasperma* f. sp. *glycinea* produz também elicitores específicos de *gliceolina* (Figura 11), a fitoalexina da soja. O primeiro elicitador específico estudado foi a *monilicolina-A*, um peptídeo solúvel em água e de peso molecular em torno de 8 kDa, sem efeito tóxico para plantas ou fungos, extraído de *Monilinia fructicola*, que induz, especificamente, a produção de faseolina em feijoeiro (CRUICKSHANK e PERRIN, 1968).

Elicitores de origem protéica produzidos por várias espécies de *Phytophthora* são denominados *elicitin*s, os quais, além de induzir o acúmulo de fitoalexinas, podem estar também envolvidos no não-reconhecimento de *P. infestans* como patógeno de *Nicotiana tabacum* (KAMOUN, 1998).

Plantas podem produzir quitinases, enzimas capazes de degradar a quitina da parede celular dos fungos e com isso liberar *elicitores*. Além disso, existem evidências de que a quitosana (polímero de β -1-4 glucosamina, derivado de quitina por *desacetilação*) é um elicitador eficaz de pisatina em vagens de ervilha. A pisatina inibe a germinação de esporos e o crescimento de fungos e protege o tecido da ervilha

contra o ataque de *F. solani* f. sp. *pisi*. Da mesma forma, a liberação de elicitores pode depender também da ação de glucanases produzidas pela planta. Ao digerir a parede celular de fungos, essas enzimas podem ativar indiretamente a síntese de fitoalexinas (SALLES et al., 2002).

Pode-se concluir que, pelo menos em alguns casos, a produção de estimuladores de fitoalexinas, ou elicitores, poderá determinar uma resposta resistente por parte da planta. É possível que a definição do *círculo de hospedeiras* dependa, nesses casos, do *reconhecimento* do patógeno pela hospedeira, que identificaria os elicitores presentes apenas nas formas não-patogênicas à espécie ou ao cultivar em estudo.

Existem ainda os *bloqueadores* ou *supressores* de fitoalexinas, presentes e ativos em interações compatíveis e ausentes nas incompatíveis. A especificidade poderia resultar de um balanço entre elicitores e supressores de fitoalexinas. Estudos produzidos nos anos 1980 já vislumbravam um modelo em que supressores de fitoalexinas, produzidos pelo patógeno, se ligariam aos mesmos receptores dos elicitores presentes na célula hospedeira, assegurando a compatibilidade patogênica pelo impedimento da produção de fitoalexina. Já na combinação incompatível, a impossibilidade de interação ou a ausência de um supressor permitiria a interação entre o elicitor e o seu sítio receptor na hospedeira, induzindo assim a produção das substâncias de defesa (BUSHNELL e ROWELL, 1981). Tal modelo, posteriormente, foi completamente comprovado, no âmbito molecular, com os genes *Cf* de tomate e *avr* de *Cladosporium fulvum*, entre outros (DE WIT e SPIKMAN, 1982).

Como exemplos de supressores são citados os glicopeptídeos contidos no fluido de germinação de *Mycosphaerella pinodes*, que inibem a produção de pisatina e induzem suscetibilidade a não-patógenos em folhas de ervilha (OKU et al., 1977).

Fitoalexinas como Mecanismo de Defesa

As fitoalexinas são geralmente lipofílicas, possuem pequeno peso molecular e são produzidas por células não especializadas, ao contrário dos anticorpos de mamíferos. Elas são produzidas justamente no ponto

de infecção, porém, um mensageiro sistêmico predispõe toda a planta a produzir rapidamente a fitoalexina. Apesar de, ao longo de mais de 60 anos, terem sido acumuladas evidências experimentais mostrando o papel dessas substâncias durante a interação planta-patógeno, principalmente fungos e bactérias (HAMMERSCHMIDT, 1999b), algumas dúvidas ainda persistem.

Muitos trabalhos evidenciaram que as fitoalexinas exercem um papel importante na defesa ativa contra patógenos. Segundo Hammerschmidt (1999b), esse importante papel das fitoalexinas estaria ligado a um conjunto de fatos exaustivamente demonstrados, a saber:

- a) a localização de fitoalexinas nos sítios de infecção;
- b) a rápida produção de fitoalexinas em interações incompatíveis do tipo *gene-a-gene*;
- c) a associação com genes de resistência que condicionam uma rápida restrição ao desenvolvimento do patógeno;
- d) a resposta da planta a inibidores metabólicos que bloqueiam a síntese de fitoalexinas, levando a um aumento da suscetibilidade da hospedeira;
- e) a correlação positiva entre tolerância à fitoalexina e virulência do patógeno;
- f) o aumento da resistência de tecidos pelo estímulo à produção de fitoalexinas antes da inoculação.

O acúmulo de fitoalexinas está normalmente associado à resistência a fungos e bactérias, embora a informação genética para sua síntese seja encontrada tanto em plantas resistentes como em suscetíveis (KUC, 1997). Portanto, a eficácia da resposta resistente estaria condicionada também por outros fatores que modulam a velocidade de síntese e a concentração das fitoalexinas nos tecidos.

Nas *interações gene-a-gene*, o produto do gene de resistência presente na planta, ao interagir com o produto do gene de avirulência do patógeno, resulta na expressão de genes de defesa que levam à inibição do desenvolvimento do patógeno. Em interações desse tipo, a resistência está associada à produção de fitoalexinas em inúmeros patossistemas.

Na interação soja/*Pseudomonas syringae*, por exemplo, existem evidências de que a resistência conferida por vários genes está ligada

à produção de gliceolina (DEGOUSEE et al., 1994). Forte correlação entre o acúmulo de gliceolina e resistência foi observada em quatro raças da bactéria e nove cultivares de soja. Uma correlação linear inversa foi demonstrada entre a quantidade de fitoalexina produzida e o número de células bacterianas presentes na planta infectada (BRUEGGER e KEEN, 1979).

Na interação *Sorghum bicolor/Colletotrichum sublineolum*, os eventos que levam à compatibilidade ou à incompatibilidade ocorrem após a penetração das células epidérmicas, a qual envolve tanto força mecânica como dissolução enzimática. Nas interações incompatíveis ocorre rápido acúmulo de inclusões citoplasmáticas pigmentadas contendo fitoalexinas que levam à morte da célula infectada e à degradação do citoplasma do fungo, prevenindo o desenvolvimento posterior da hifa (WHARTON et al., 2001).

Outra forma de exibir o papel das fitoalexinas é demonstrar seu acúmulo em sítios de infecção em concentrações inibidoras para o patógeno. Alguns patossistemas onde isso foi demonstrado são: *Verticillium dahliae*/algodão, *Puccinia coronata*/aveia e *Phytophthora megasperma*/soja. Fitoalexinas podem ser mantidas em corpos de inclusão e serem liberadas, posteriormente, para o citoplasma da célula infectada. Já na interação *Theobroma cacao/Verticillium dahliae* foi demonstrado que a fitoalexina inorgânica derivada de enxofre (S_8) acumula-se no parênquima vascular e nas paredes celulares dos vasos do xilema, justamente o sítio de infecção e colonização do patógeno (COOPER et al., 1996).

Uma forte evidência do papel das fitoalexinas na defesa é quando se encontra uma boa correlação entre a quantidade de fitoalexinas em contato com o patógeno e sua toxidez *in vitro*. Sabe-se que uma mesma fitoalexina apresenta níveis diferentes de toxidez a diferentes espécies de fungos. Assim, o LD-50 (concentração necessária para reduzir 50% da germinação de esporos ou do crescimento de fungos em cultura) de *pisatina* foi de 25 a 75 mg/ml para 44 fungos não-patogênicos em ervilha e em torno de 100 para os seus patógenos. Nesta última dose, *pisatina* reduziu em 95% o crescimento dos não-parasitas.

Além dessa diferença em sensibilidade, em reações incompatíveis ocorre um acúmulo de fitoalexina maior e mais rápido do que nas compatíveis. É o caso da interação *Phytophthora megasperma*/soja,

por exemplo, na qual gliceolina se acumula em altos níveis apenas nas combinações incompatíveis. Da mesma forma, em sorgo, uma diferença quantitativa (acúmulo maior e mais rápido) e qualitativa foi observada na produção das fitoalexinas 3-dioxiantocianidinas no cultivar resistente, quando comparado ao cultivar suscetível em resposta ao fungo *Colletotrichum sublineolum* (LO et al., 1999). As fitoalexinas do sorgo são pigmentadas, o que as torna visíveis no tecido, facilitando assim os estudos de localização e determinação de sítios de produção de fitoalexinas (SNYDER et al., 1991). Contudo, a maioria das fitoalexinas não apresenta coloração, o que dificulta tanto sua localização quanto sua quantificação (HAMMERSCHMIDT e KAGAN, 2001).

Poucos estudos mostram claramente que a produção de fitoalexinas pára ou inibe totalmente o crescimento de patógenos. Uma estratégia experimental já proposta seria o uso de mutantes insensíveis ou tolerantes a fitoalexinas, para se estudar o crescimento nos tecidos da planta infectada e com isso avaliar até que ponto a fitoalexina é importante na defesa, correlacionando a ação das fitoalexinas *in vivo* com sua toxidez *in vitro*.

Muitos patógenos degradam fitoalexinas. A virulência poderia então estar ligada à capacidade de detoxificar determinada fitoalexina. *Stemphylium botryosum* e *Nectria haematococca* são exemplos de fungos capazes de degradar ou detoxificar as fitoalexinas de suas respectivas hospedeiras, alfafa e ervilha (VAN ETTEN, 1989). Muitos patógenos podem ainda colonizar plantas na presença de fitoalexinas, mesmo apresentando sensibilidade a elas. Nesse caso, como apontado por Van Etten et al. (2001), fatores temporais, ou seja, *quando* as fitoalexinas são produzidas, e espaciais, *se entram* ou não em contato direto com o patógeno, podem determinar a capacidade de o patógeno colonizar e ser capaz de sobreviver nessa hospedeira.

Em *Nectria haematococca* (anamorfo *Fusarium solani* f. sp. *pisii*), a produção de *pisatina demetilase* é codificada pelo gene *pda*. A interrupção do gene *pda* ou a transformação da estirpe *pda* resultaram em apenas um pequeno decréscimo ou acréscimo na virulência, respectivamente (WELTRING et al., 1988). Isso mostra que a presença de um gene *pda* funcional não é o único componente da patogenicidade. No entanto, demonstrou-se o papel essencial do gene *pda* quando se transformou *Cochliobolus heterostrophus*, não-patogênico, em ervilha e o recombinante adquiriu a capacidade de produzir lesões nessa planta

(SCHAFER et al., 1989). A habilidade de demetilar a pisatina parece ser comum entre vários fungos, patógenos ou não de ervilha, contudo os isolados de maior virulência em ervilha rapidamente demetilam a fitoalexina, tornando-se mais tolerantes. Assim, os patógenos de ervilha possuem um sistema enzimático especializado que permite a rápida degradação da pisatina (DELSERONE et al., 1999).

A clonagem de genes específicos envolvidos na biossíntese de fitoalexinas e seu uso na produção de plantas transgênicas que não produzam, ou produzam em excesso, determinada fitoalexina tem sido investigada (HAMMERSCHMIDT e KAGAN, 2001). Alguns dos problemas encontrados nesse tipo de estratégia têm sido o fato de que muitos genes que codificam enzimas envolvidas na síntese de flavonóides e isoflavonóides como *chalcone-sintase*, FAL e as ligases de hidroxicinamil-CoA também estão vinculados à síntese de outros compostos fenólicos. A identificação e a clonagem dos genes cujos produtos atuam, especificamente, na síntese de sesquiterpenos foram relatadas em plantas das famílias *Solanaceae* e *Malvaceae*, bem como de uma das etapas finais da biossíntese da pisatina e a proteína responsável pela síntese da *6-metoximeleína*, uma fitoalexina da cenoura (*Daucus carota*), entre outras (HAMMERSCHMIDT, 1999b).

Em *Arabidopsis*, a única fitoalexina caracterizada é a *camalexina*. Estudos com plantas mutantes deficientes na produção de camalexina (mutantes *pad*) são relatados nessa espécie (GLAZEBROOK e AUSUBEL, 1994). No entanto, nenhuma correlação entre produção da fitoalexina e avirulência de isolados de *Pseudomonas syringae* foi detectada. As mutações não afetaram a habilidade da planta em inibir o crescimento dos isolados incompatíveis. Cinco mutantes *pad* foram isolados, produzindo de 0-30% da quantidade de camalexina do tipo selvagem. Os resultados não foram conclusivos, uma vez que as mutações observadas eram de natureza regulatória e não biossintética (HAMMERSCHMIDT, 1999b).

Hain et al. (1993) demonstraram o isolamento e a transferência do gene da *estilbeno-sintase* de videira (*Vitis vinifera*), responsável pela síntese da fitoalexina *resveratrol* (Figura 11) para plantas de fumo. Plantas regeneradas expressando esse gene mostraram-se mais resistentes à infecção por *Botrytis cinerea*. Da mesma forma, Stark-Lorenzen et al.

(1997) relataram um aumento da resistência a brusone após a integração do mesmo gene de *V. vinifera* em protoplastos de arroz.

Em tomate, a integração no genoma de dois genes da via de biossíntese de *estilbenos* foi relatada por Thomzik et al. (1997). Os genes foram expressos, e a fitoalexina *resveratrol* acumulou-se após infecção por *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani* e *Botrytis cinerea*, ferimentos e radiação UV. No entanto, um aumento significativo na resistência só foi detectado em plantas inoculadas com *P. infestans*.

Mutações feitas em *Colletotrichum lindemuthianum* para reduzir a sensibilidade à faseolina não tiveram nenhum efeito na expressão da virulência do patógeno, levando os autores a concluir que, pelo menos nesse caso, a síntese de fitoalexinas pode estar relacionada à expressão da resistência, mas não é a causa da resistência (EL LINGBOE, 2001).

Assim, ficaram estabelecidos, experimentalmente, pontos importantes, ou seja: a existência de uma resposta ativa de células vegetais contra uma tentativa de agressão e a aquisição de resistência pela planta após ser exposta a um processo de infecção. Além disso, sabe-se que o envolvimento das fitoalexinas na resistência às doenças depende da velocidade e da magnitude da produção destas e não de sua habilidade seletiva ou da seletividade de indução das fitoalexinas pelos agentes da doença em potencial.

O conjunto de dados existente atualmente aponta para um papel importante das fitoalexinas como mecanismo de defesa, pois na maioria dos casos estão comprovadas correlações positivas entre presença de um fenótipo resistente e produção eficiente de fitoalexinas. A manipulação de genes responsáveis pela síntese de fitoalexinas e o uso de plantas mutantes poderão permitir uma avaliação comparativa da importância dessas substâncias de defesa em relação a outras, como, por exemplo, as proteínas relacionadas à patogênese (a seguir).

Proteínas Relacionadas à Patogênese (PRPs)

Conceito

Proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) foram primeiramente identificadas em plantas de fumo que apresentavam reação de

hipersensibilidade ao *Tobacco mosaic virus* (TMV) (VAN LOON e VAN KAMMEN, 1970), tendo sido denominadas PRPs por Antoniwi et al. (1980). Tais proteínas eram caracterizadas por sua natureza ácida, resistência a proteases e localização extracelular (BOL et al., 1990).

PRPs são tipicamente sintetizadas em resposta a diferentes agentes patogênicos como vírus, viróides (CLARKE et al., 1998), fungos e bactérias, porém podem ser respostas ao estresse abiótico, ferimentos e elicitores, tais como jasmonato, ácido salicílico e etileno. O termo tem sido atualmente empregado para designar todas as proteínas cuja expressão é ativada após a infecção, um dos eventos bioquímicos mais frequentemente observados em diversos patossistemas (STINTZI et al., 1993).

Em fumo Samsun NN, infectado com TMV, pelo menos 14 PRPs foram detectadas (DUMAS et al., 1988; KAUFFMANN et al., 1989). Tais proteínas também foram detectadas após tratamento com salicilato (BOL et al., 1990), *Tobacco necrosis virus* ou outros vírus que causam necrose (PENNAZIO et al., 1987), ou mesmo viróides (GRANELL et al., 1987) e estavam associadas à reação de hipersensibilidade.

Dentre as plantas que comprovadamente produzem PRPs estão: fumo (PR1 a PR5), tomate, batata, milho, feijão, ervilha, entre outras (PIERPOINT et al., 1990; VIDHYASEHKARAN, 1997). Nos últimos anos, muitas dessas proteínas têm sido identificadas e seus genes clonados e caracterizados (WALTON, 1997), bem como tem sido demonstrada a atividade enzimática de algumas dessas.

Propriedades

PRPs são classificadas em 14 famílias independentes, segundo Van Loon e Van Strien (1999) (Tabela 2). A classificação das proteínas baseia-se na sequência de aminoácidos, peso molecular, função biológica e relação sorológica. PRPs são proteínas solúveis, produzidas pela planta hospedeira, acumulando-se *in situ* na folha, porém podem ser induzidas *ex situ*, no interior de tecidos da própria planta, como um dos eventos da resistência sistêmica adquirida (RSA). Várias isoformas podem estar presentes, sendo que as ácidas se acumulam

nos espaços intercelulares e seus homólogos básicos estão distribuídos intracelularmente. PRPs têm alta solubilidade em pH baixo e resistência a vários tipos de proteases.

Algumas PRPs têm função enzimática e a atividade antifúngica já foi demonstrada para algumas delas (SCHLUMBAUM et al., 1986; WOLOSHUK et al., 1991). Os melhores exemplos são as β -1,3-glucanases (PR-2), as quitinases (PR-3) e osmotina (PR-5). Plantas podem produzir muitos tipos diferentes de quitinases, as quais se distinguem em regulação e função. Em *Pinus* várias proteínas homólogas de quitinases foram identificadas, algumas vacuolares incluídas na Classe I e outras extracelulares pertencentes às Classes II e IV. A expressão coordenada dessas quitinases foi regulada tanto pelo ataque de patógenos necrotróficos, como *Fusarium subglutinans* f.sp. *pini*, quanto pelo ácido salicílico e pelo ácido jasmônico (DAVIS et al., 2002).

No caso da infecção de fumo, variedade Samsun NN, por TMV, tem sido mostrado que dezenas de proteínas são induzidas pela infecção, e estas podem agir tanto conjuntamente quanto separadamente. Além disso, no patossistema TMV/fumo, os resultados obtidos com plantas transgênicas expressando PRPs, constitutivamente, indicaram que PR-1, GRP e PR-S, individualmente, são responsáveis pela resistência a TMV, induzida por desafio com o próprio TMV ou com salicilato, ou mesmo pela resistência de fumo ao ataque por insetos, induzida por TMV (BOL et al., 1990).

A demonstração da existência de homologia entre a proteína GliPR, presente em gliomas humanos, e uma PRP vegetal, a PRP14a, sugere uma ligação evolutiva entre o sistema imune humano e o sistema de defesa vegetal (SZYPERSKI, 1998). Embora muitas das PRPs não tenham atividade antimicrobiana comprovada, são assim classificadas em virtude do fato de sua expressão aumentar após a infecção (WALTON, 1997). Algumas proteínas induzidas por patógenos ou sinais de estresse podem ter uma função indireta, atuando sobre mecanismos de agressão dos patógenos. Tal seria o caso das proteínas inibidoras de poligalacturonases de fungos (PGIPs), que são proteínas extracelulares, com capacidade de atuar especificamente sobre as várias poligalacturonases produzidas por fungos (DELORENZO et al., 2001).

As PRPs como Mecanismo de Defesa

A ativação transcricional dos genes das PRPs tem sido correlacionada a uma redução da patogênese ou à RSA (resistência sistêmica adquirida). A produção das PRPs é geralmente mais alta nas interações incompatíveis que nas compatíveis. Por exemplo, na interação incompatível aveia/*Puccinia graminis* fsp. *avenae*, caracterizada por uma reação de hipersensibilidade, altos níveis de transcritos dos genes *t1p*, responsáveis pela síntese de uma proteína semelhante à *taumatina* (PR-5), acumulam-se 42-48 horas após a inoculação, levando a uma gradual inibição do crescimento da hifa (LIN et al., 1996).

Estudos de imunolocalização em milho mostraram também que PRPs se acumulam em altos níveis nas plântulas, justamente nos tecidos que constituem uma primeira barreira contra a penetração de fungos. Proteínas idênticas foram detectadas em papilas e na parede celular de *Fusarium moniliforme*, indicando uma possível ação antifúngica (MURILLO et al., 1999). Semelhante resultado foi observado por Zareie et al. (2002) que isolaram dos fluidos intercelulares de folhas de cevada cinco proteínas com efeitos deletérios à parede celular dos conídios de *Rhynchosporium secalis*. Dentre as cinco proteínas, detectou-se uma quitinase, outra era uma β -1,3 glucanase e as outras três tratava-se de proteínas TL, semelhantes à taumatina.

No patossistema uva/*Botrytis cinerea*, na interação com o isolado menos agressivo, houve acúmulo de quitinases, β -1,3-glucanases e metabólitos secundários formados em células adjacentes a um pequeno grupo de células mortas (DERCKEL et al., 1999). Nenhuma síntese de metabólitos secundários foi detectada na interação com o isolado mais agressivo, nesse caso as PRPs acumularam-se tardiamente.

Já a expressão de PRPs 1 a 5 em arroz mostrou um padrão diferente, com maior acúmulo de β -1,3-glucanases nas interações compatíveis com um isolado virulento de *Magnaporthe (Pyricularia) grisea* (MANANDHAR et al., 1999). É provável, portanto, que, para o arroz, essa PRP não tenha um papel importante na defesa.

A expressão de determinadas PRPs tem sido experimentalmente alterada em várias plantas para testar o seu envolvimento na resistência a doenças. Plantas transgênicas expressando quitinases ou β -1,3-glucanases mostraram maior proteção contra fungos fitopatogênicos

(WALTON, 1997). Assim, em batata expressando o gene da quitinase do feijão, ocorreram um retardamento na aparição dos sintomas e maior sobrevivência das plantas em solo infestado com *Rhizoctonia solani* (BROGLIE et al., 1991).

Já plantas de batata e fumo transformadas com o gene da *osmotina* (uma PRP-5) expressaram essa proteína, constitutivamente, numa proporção de 2% do conteúdo total de proteína celu ar. Nesse caso, as folhas de batata mostraram atraso no desenvolvimento de sintomas quando inoculadas com *P. infestans* (LIU et al., 1994).

Tabela 2 Distribuição em famílias e características das proteínas relacionadas à patogenicidade, segundo Van Loon e Van Strien (1999)

Família	Membro/Tipo	Propriedades
PR-1	Fumo/ PR-1a	Desconhecidas
PR-2	Fumo/PR-2	β -1,3-glucanase
PR-3	Fumo/P, Q	Quitinases I, II, IV, V, VI, VII
PR-4	Fumo/R	Quitinases I e II
PR-5	Fumo/S	Taumatina
PR-6	Tomate/Inibidor I	Inibidor de proteinase
PR-7	Tomate/P69	Endoproteinase
PR-8	Pepino/quitinase	Quitinase III
PR-9	Fumo/peroxidase	Peroxidase
PR-10	Salsa/PR1	Ribonuclease
PR-11	Fumo/Quitinase classe V	Quitinase I
PR-12	Rabanete /Rs AFP3	Defensina
PR-13	Arabidopsis /THI2.1	Chitinase
PR-14	Cevada /LTP4	Transportadora de lipídeos

Reação de Hipersensibilidade (RH)

A reação de hipersensibilidade (RH) é considerada um dos mecanismos gerais de defesa das plantas contra patógenos, característica de interações incompatíveis. A RH está associada a

outras respostas, como expressão de genes de defesa, produção de compostos antimicrobianos, síntese de lignina e explosão oxidativa.

No caso das interações gene-a-gene, esses mecanismos são ativados após o reconhecimento do patógeno pela hospedeira, em consequência da interação de um elicitor com um receptor na célula vegetal.

Em numerosas interações envolvendo parasitas obrigatórios (fungos, vírus, *mollicutes* e nematóides) e facultativos (fungos e bactérias) (GOODMAN e NOVACKY, 1994; AGRIOS, 1997), a resistência é especificamente atribuída à RH, apesar de existirem muitos exemplos nos quais o mecanismo de resistência é outro.

A expressão *reação de hipersensibilidade* foi originalmente utilizada por Stakman (1915) para descrever a resposta da planta após a inoculação de um fungo e o desenvolvimento inicial do patógeno no tecido. Stakman estudou a interação de *Puccinia graminis* com diferentes cereais e concluiu que: "...formas biológicas do patógeno matam células da hospedeira rapidamente após a inoculação de cultivares que exibem um considerável grau de resistência" (citado por GOODMAN e NOVACKY, 1994).

O conceito da relação causal entre RH e resistência foi apoiado, inicialmente, por uma série de estudos publicados por Ward (1902), Stakman (1915), Arthur (1929), Gaümman (1950), Barnett (1959), Müller (1959) e Wood (1967) (citados por GOODMAN e NOVACKY, 1994). As primeiras observações sugeriam que a resistência poderia dever-se à *morte por inanição* do patógeno em função da rápida degeneração das células por ele afetadas. Outros autores sugeriram haver um antagonismo bem definido entre a planta imune e o parasita. Outros ainda enfatizaram que a infecção em hospedeiras resistentes nem sempre estava associada à RH.

Wood (1967) sugeriu que a morte celular, quando mais lenta, atinge mais células e áreas maiores do tecido, resultando em reação de suscetibilidade. Nesse caso a restrição do patógeno deveria ocorrer por outros meios. Contudo, é possível que os mesmos mecanismos poderiam comandar tanto a RH quanto a necrose lenta. As diferenças estariam na taxa e na abrangência da morte celular.

A RH envolve a morte rápida de um número limitado de células do hospedeiro circundando os sítios de infecção, o que limita o progresso

da doença. Assim, os critérios para definir essa resposta de defesa são: reação rápida, número de células mortas limitado e bloqueio do desenvolvimento da enfermidade (GREENBERG, 1997).

Holmes (1929) e Weintraub et al. (1958-1979), em estudos clássicos, mostraram que nas doenças causadas por vírus a RH sempre resulta na formação das chamadas *lesões locais*, nas quais partículas virais podem sobreviver por algum tempo em baixas concentrações, porém sem possibilidade de movimentação para fora da área lesionada (GOODMAN e NOVACKY, 1994).

Nas interações planta-bactéria, o fenômeno foi primeiramente observado por Klement et al. (1964), na interação fumo/*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Ficou provado que bactérias fitopatogênicas induzem RH tanto em interações incompatíveis com hospedeiras, quanto em não-hospedeiras. Bactérias saprofíticas apenas induziam uma fraca clorose em fumo. Quando inoculada em fumo, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* não induzia RH, mas multiplicava-se e colonizava o espaço intercelular. Já a RH era caracterizada por encharcamento seguido de perda de turgor, murcha, colapso e necrose do tecido em 24 horas. Nessas áreas, a população da bactéria diminuiu, e as sobreviventes ficaram confinadas ao sítio de inoculação. No caso de bactérias, pode-se dizer que a RH é um evento inespecífico, induzido pelo contato físico de células de uma hospedeira incompatível, ou de uma não-hospedeira, com uma determinada bactéria (GOODMAN e NOVACKY, 1994).

Aspectos Morfológicos, Bioquímicos e Moleculares da RH

Morfológicamente, RH é precedida por granulação e aumento de volume do núcleo das células em torno do ponto invadido. O processo de morte é caracterizado pela agregação e pelo escurecimento do citoplasma, perda da permeabilidade de membranas, com conseqüente vazamento de eletrólitos para o espaço intercelular, degeneração do núcleo e organelas, além do aumento acentuado da respiração, altos níveis de oxidação de polifenóis por efeito das polifenoloxidasas ou fenolases (Apêndice 3), abundantes no tecido vegetal, e acúmulo de fitoalexinas.

Algumas respostas bioquímicas associadas com a RH mostram-se semelhantes àquelas que ocorrem após injúria mecânica, senescência ou estresse (PASCHOLATI e LEITE, 1995). Na RH, após a penetração de células da hospedeira pelo agente patogênico, rapidamente ocorre a morte simultânea das estruturas associadas. Segundo Goodman e Novacky (1994), RH é um reflexo da disfunção da membrana plasmática da célula da hospedeira que se manifesta em morte celular. A necrose é consequência da morte celular.

A reação é considerada uma resposta de defesa induzida, culminando na parada do crescimento e do desenvolvimento do patógeno na planta. Por ser uma resposta celular extrema, pode levar a um alto grau de resistência à doença.

Dangi et al. (1996) descreveram alguns aspectos bioquímicos e moleculares associados à resposta de hipersensibilidade:

- i. RH é programada geneticamente e é consequência de processos de transcrição e tradução iniciados após a interação planta-patógeno.
- ii. RH não ocorre em todas as interações incompatíveis controladas por genes de resistência dominantes *R* presentes em interações gene-a-gene, ou seja, nem todas as plantas resistentes expressam RH.
- iii. RH local pode estar associada à resistência sistêmica adquirida (RSA) em tecidos distantes do ponto de indução da resistência.
- iv. Sítios de RH são pontos para indução transcricional de genes de defesa em células vizinhas, levando à produção de fitoalexinas e PRPs.
- v. A biossíntese de metabólitos antimicrobianos e o fortalecimento da parede celular são eventos presentes na RH que contribuem para a contenção do patógeno.
- vi. Finalmente, a morte celular durante a RH leva à resistência por *desnutrição* do patógeno ou pela liberação de compostos microbicidas presentes nestas células em fase terminal.

Existem evidências de que, pelo menos em alguns casos, a morte celular não é necessária para conter o avanço do patógeno. Portanto, ainda há controvérsias sobre o papel da morte celular e a seqüência de eventos durante RH.

RH é desencadeada, inicialmente, pelo reconhecimento dos elicitores, seguido por uma cascata de reações bioquímicas (transdução de sinais, parte III) que envolve: a) explosão de reações oxidativas (parte III); b) aumento do movimento de íons através da membrana (especialmente K^+ e H^+); c) ruptura das membranas e perda de compartimentalização celular; d) fortalecimento da parede celular (lignina); e) produção de fitoalexinas e PRPs e f) sinalização intercelular.

Evidências genéticas e bioquímicas mostram que a geração de radicais de oxigênio constitui um evento-chave na morte celular programada que acompanha a RH (DANGL, 1996). Além disso, as vias que levam à RH são processos extremamente conservados, inespecíficos e por isso eficientes contra patógenos sem uma história de coevolução com a hospedeira.

Por exemplo, a expressão em PVX de dois elicitores fúngicos, o peptídeo Avr9 de *Cladosporium fulvum* e a proteína INF1 de *Phytophthora infestans*, induziu RH em tomate e em fumo, expressando o gene de resistência Cf-9 e em todas as cultivares de fumo, respectivamente. Os resultados mostraram, pela primeira vez, um elicitor fúngico conferindo avirulência ao vírus PVX em fumo (KAMOUN et al., 1999).

Semelhanças entre RH e Apoptose das Células Animais

O processo de *morte celular programada* em células animais é chamado *apoptose*, sendo um processo natural do desenvolvimento que consiste na condensação do núcleo, no enrugamento da célula, na fagocitose e na digestão por células vizinhas.

Alta atividade de proteinases, degeneração dos ácidos nucléicos e explosão oxidativa são outros dos aspectos típicos da apoptose. Genes relacionados à sua ativação têm sido identificados, tais como *ced 3* (protease) e *ced 4* em *Caenorhabditis elegans*. Em plantas, ocorrem eventos semelhantes à apoptose durante a diferenciação e durante as interações incompatíveis entre plantas e patógenos, ou seja, durante a RH (INGRAHAM, 1978; DANGL et al., 1996).

Algumas semelhanças entre RH vegetal e apoptose animal estão listadas abaixo:

- i. Ambas são controladas geneticamente. Já foi demonstrado que a RH pode ser induzida em plantas na ausência de um patógeno, assim é um *suicídio programado* geneticamente. Evidências foram obtidas com plantas mutantes (*paranoid plants*) com fenótipos alterados para RH. Alguns *loci* já identificados são: *les1* (milho); *mlo* (cevada); *acd* (*accelerated cell death*) e *Isd* (*lesion simulating disease response*) em *Arabidopsis*. Linhagens de *Arabidopsis* mutantes nesses *loci* expressam RH sob condições bióticas ou abióticas que não induzem RH em linhagens selvagens. São, portanto, reguladores negativos de RH (BASCHGES et al., 1997; WHITHAM et al., 1999; DANGL et al., 1996).
- ii. Existem similaridades entre proteínas elicitoras produzidas ou liberadas por patógenos de plantas e patógenos animais. Por exemplo, a proteína AvRXv de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* tem homologia com a proteína YopJ de *Yersinia* spp. e com o determinante de virulência AvrA de *Salmonella enterica*, sendo os dois últimos patógenos humanos (WEINRAUCH e ZICHLINSKY, 1999).
- iii. Presença de proteases do tipo *caspases* em plantas, mostrando que a morte celular em plantas e animais tem componentes comuns. Inibidores dessa protease foram capazes de impedir RH em fumo inoculado com *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (GILCHRIST, 1998; WEINRAUCH e ZICHLINSKY, 1999).

Finalmente, deve-se considerar também o fato de que *morte celular* é uma característica dos sintomas observados em muitas interações compatíveis e que também apresentam muitas similaridades em relação à apoptose animal. Em aveia, por exemplo, vários patógenos (bactérias, fungos e vírus) induziram eventos de morte celular no sítio de infecção e adjacências. O que diferenciava, contudo, as interações incompatíveis das compatíveis parecia ser a localização e o tempo da morte celular durante o curso da infecção (YAO et al., 2002).

Resistência Sistêmica Adquirida (RSA)

Histórico e Conceitos

O longo processo coevolutivo entre patógenos e suas hospedeiras trouxe como uma das consequências mais visíveis a complexa interação bioquímica e molecular entre ambos, envolvendo inúmeras vias metabólicas que compõem os mecanismos bioquímicos de ataque do patógeno e as armas de defesa da planta, como já tratado nas seções anteriores.

O primeiro passo nessa guerra bioquímica e molecular é o reconhecimento tanto da planta pelo patógeno, quanto vice-versa. Tempo é o fator principal no reconhecimento do patógeno pela planta. Se esse reconhecimento se dá tardiamente, a interação resultará em suscetibilidade, mesmo que os mecanismos de defesa tenham sido ativados.

Conseqüentemente, um dos pontos-chave para que a interação resulte em resistência é o reconhecimento do patógeno em tempo hábil. Se a planta é condicionada, o processo infeccioso pode ser reduzido, suprimido ou mesmo bloqueado, fenômeno este definido como *resistência induzida* (HAMMERSCHMIDT e KUC, 1995). Esse é um processo no qual a capacidade de defesa da planta é intensificada após um estímulo proveniente de um *agente desafiante* (VAN LOON et al., 1998).

Resistência induzida é um fenômeno sistêmico ou local e é efetivo contra uma ampla gama de patógenos, incluindo bactérias, fungos ou vírus, independentemente do agente ativador. Pode ser acionada pela exposição da planta a patógenos virulentos ou avirulentos, que causem lesões necróticas, ou a microrganismos não-patogênicos (VAN LOON et al., 1998; HAMMERSCHMIDT, 1999a), ou ainda pela aplicação exógena de ácido salicílico (AS) e seus análogos, como o ácido 2,6-dicloro-isonicotínico (STICHER et al., 1997; KESSMANN et al., 1994).

Com base em dados obtidos na análise da interação molecular entre patógenos e a planta-modelo *Arabidopsis thaliana* (BUELL, 1998; UKNES et al., 1992), a resistência induzida foi dividida em dois tipos: *resistência sistêmica adquirida* (RSA) e *resistência sistêmica induzida*

(RSI), que podem ser diferenciadas por algumas características que serão listadas a seguir (STROBEL et al., 1996; BOSTOCK, 1999).

RSA é ativada por rizobactérias promotoras do crescimento (sigla em inglês: PGPRs), como diversas espécies do gênero *Pseudomonas* que não causam danos visíveis ao sistema radicular. Tipicamente, RSA é induzida por patógenos foliares causadores de necrose. RSA também está associada a várias vias metabólicas dependentes do ácido salicílico (AS) e à subsequente indução das proteínas relacionadas à patogênese (PRPs), enquanto RSI independe de AS, não envolve a produção de PRPs e, aparentemente, está ligada às vias do jasmonato e do etileno (PIETERSE et al., 1998). Hoje se sabe, contudo, que rizobactérias podem induzir resistência em plantas por meio de diferentes mecanismos que podem envolver, em alguns casos, a produção de AS (VAN LOON et al., 1998).

De Meyer et al. (1999) demonstraram que algumas rizobactérias, em particular a estirpe 7NSK2 de *Pseudomonas aeruginosa*, podem produzir pequenas quantidades de AS, ativando parcialmente a via de transdução de sinais que leva à RSA em plantas de feijão. Audenaert et al. (2002) mostraram adicionalmente que essa estirpe 7NSK2 utiliza ação combinada do sideróforo *pioquelina* (que tem AS como precursor) e da *piocianina* para a indução de resistência a *Botrytis cinerea* em tomate.

A resposta de RSA parece ser inespecífica, e sua eficiência tem sido demonstrada em grande número de espécies vegetais, enquanto RSI é menos estudada, específica e restrita a pequeno número de espécies. Algumas estirpes de bactérias promotoras de crescimento possuem a capacidade de estimular RSI, outras não (VAN WEES et al., 1997).

Outras características de RSA que a diferenciam de outros possíveis mecanismos de resistência são: ausência de resposta à dosagem, como ocorre com compostos tóxicos; ser dependente do genótipo da planta; e ausência de efeito tóxico ou antimicrobiano do agente indutor sobre o desafiante (STEINER e SCHONBECK, 1995).

Uma das primeiras observações do fenômeno da resistência adquirida data de 1901, quando Ray e Beauvarie utilizaram isolados atenuados de *Botrytis cinerea* para inocular o solo ou plantas de

begônia. Os autores observaram que a planta adquiriu resistência aos isolados virulentos do fungo.

Em 1933, Chester revisou o problema da imunidade fisiológica adquirida em plantas e concluiu que o mecanismo “talvez desempenhe um papel importante na preservação de plantas na natureza” (citado por KESSMANN et al., 1994). Observações posteriores indicaram a ocorrência de um mecanismo de defesa no qual a inoculação de folhas primárias ou hipocótilo de plântulas de feijão com raça não-virulenta de *Colletotrichum lindemuthianum* levou à proteção sistêmica de toda a planta. Isso ocorreu em cultivares resistentes a algumas raças do patógeno e suscetíveis a outras, bem como naqueles suscetíveis a todas as raças do fungo (RAJE et al., 1969; DEVERALL, 1977).

Ross (1961, citado por MORAES, 1998), usando o patossistema TMV/fumo, demonstrou que, após indução de lesões locais, as lesões posteriores induzidas pelo mesmo vírus não eram tão severas. As necroses induzidas pelo TMV nas folhas inferiores lembravam a planta da resistência adquirida. O efeito foi detectado três dias após a inoculação e durou várias semanas. Ross adotou o termo *Systemic Acquired Resistance* (RSA) para descrever esse tipo de mecanismo de resistência.

Fenômeno semelhante foi verificado em cucurbitáceas pré-infectadas com *Colletotrichum lagenarium* (KUC et al., 1975). Essa proteção contra o próprio *C. lagenarium* permaneceu por cinco semanas, assim como se obteve a mesma proteção usando-se *Cladosporium cucumerinum* ou *Pseudomonas lachrymans* em inoculações prévias em pepino. Também foi positiva a imunização de pepino contra *C. cucumerinum*, por meio de pré-inoculação com o agente da antracnose do feijoeiro, *Colletotrichum lindemuthianum*. Observou-se também proteção local e sistêmica contra *Phytophthora megasperma* var. *nicotianae*, *Pseudomonas tabaci* e *Peronospora tabacina*, quando se inoculou com TMV um cultivar de fumo portador de resistência por hipersensibilidade àquele vírus.

RSA tem sido bem caracterizada biologicamente em plantas como melão, melancia, feijão, *Arabidopsis thaliana*, trevo, soja, batata, tomate, milho e alfafa. Entre as monocotiledôneas, o sistema foi descrito em arroz, trigo e cevada, por exemplo (KESSMANN et al., 1994).

Mecanismos da Resistência Sistêmica Adquirida

Três etapas são necessárias para ativação de RSA: a iniciação ou reconhecimento, a transdução de sinais (discutidas nas seções III.1 e III.2) e a tradução ou expressão dos genes de defesa.

Durante o reconhecimento do patógeno pela planta ocorre uma série de eventos caracterizados por necrose, tanto em interações incompatíveis (RH) quanto em compatíveis (DANGL, 1998). RSA refere-se, portanto, à translocação de um sinal que ativa vias metabólicas importantes na defesa das plantas contra patógenos. A ativação dessa via pode ser por um fator abiótico, como metais pesados, por exemplo, ou em virtude de agentes bióticos, viáveis ou não.

A proteção induzida é dependente do intervalo entre o tratamento inicial (*indutor*) e a subsequente inoculação do patógeno (*agente desafiante*). Essa dependência indica que mudanças específicas no metabolismo da planta, envolvendo a síntese ou o acúmulo de compostos, são importantes no fenômeno da resistência induzida (RYALS et al., 1996).

Pode-se distinguir dois componentes da defesa da planta: o efeito local e o sistêmico. A ação local é caracterizada pelo acúmulo de fitoalexinas, calose, glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, lignina e outros compostos, que irão funcionar como uma barreira física à invasão do patógeno. Essas reações são estritamente localizadas e funcionam como um sinal que se irradia por toda a planta, ou seja, sensibiliza células distantes do ponto de infecção e coloca assim os tecidos em estado de *alerta químico*, capaz de permitir rápido desencadeamento de defesa contra o agressor.

Uma das respostas associadas à RSA é a expressão das PRPs, que são ativadas por elicitores, estresse ou ferimentos. Dentre os compostos sinalizadores para a produção de PRPs, estão: ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (JA) e etileno (KESSMANN et al., 1994; STICHER et al., 1997).

Plantas utilizam moléculas sinalizadoras que, mesmo em baixas concentrações, podem ativar mecanismos de resistência em células não diretamente invadidas. O AS é um produto do metabolismo dos fenilpropanóides (Apêndice 1). Inicia-se com a conversão da fenilalanina em ácido transcinâmico pela enzima fenilalanina amônia-liase, sofrendo

descarboxilação e resultando em ácido benzóico, que é hidrolisado para formar o ácido salicílico. AS pode conjugar-se com glicose ou sofrer metilação, originando a forma volátil, metil salicilato, que poderia funcionar como um sinal gasoso e induzir RSA (LEE e RASKIN, 1998). Em 1979, White demonstrou que aplicações exógenas de AS e derivados do ácido benzóico podiam induzir resistência ao TMV e o acúmulo de PRPs; mais tarde, mostrou-se a presença de AS no floema de pepino infectado com o TMV ou *Colletotrichum lagenarium*. O nível de AS endógeno estava fortemente associado à indução de PRPs. Gaffney et al. (1993) mostraram que plantas transgênicas que expressavam o gene *nahG*, responsável pela conversão do ácido salicílico em *catecol*, pela ação da *salicilato hidroxilase*, não acumulavam AS e não expressavam RSA.

Essas observações levaram à hipótese de que o AS seria o sinal endógeno responsável pelo desencadeamento de RSA. Contudo, os experimentos de Rasmussen et al. (1991) e Vernooji et al. (1994) mostraram que o AS não é o sinal primário, que age a longa distância, responsável pela expressão de RSA, embora sua presença seja necessária para que o sinal seja traduzido.

Por outro lado, Shulaev et al. (1995) mostraram que, em fumo infectado com o TMV, a maior parte do AS detectado na folha sadia foi sintetizada na folha inoculada, indicando um possível transporte de AS pelo floema a partir dos pontos inoculados.

Recentemente, a caracterização de um mutante de *Arabidopsis* denominado *dir1-1* (*defective in induced resistance 1-1*) levou à conclusão de que o gene envolvido codifica uma proteína (DIR1) com homologia à transportadora de lipídeos (LTP) localizada no apoplasto de *A. thaliana*. Plantas mutantes não exibiam o padrão de expressão de PRPs e não desenvolviam RSA em resposta a *Pseudomonas syringae* ou *Peronospora parasitica*. Foi sugerido que DIR1 poderia ter um papel na translocação de um sinal móvel no sistema vascular e/ou atuar como chaperone do sinal dentro da planta. A identificação dos ligantes de DIR1 e estudos sobre o seu movimento nas plantas poderão elucidar seu papel no processo de sinalização associado à RSA (MALDONADO et al., 2002). Portanto, a identificação e a caracterização do sinal móvel essencial para RSA, bem como das moléculas que “cooperam” para sua produção e translocação, não

estão completamente elucidadas e têm sido, na atualidade, objeto de muitos estudos.

Após a transmissão do sinal, genes envolvidos na RSA são ativados, tanto local quanto sistemicamente. Alguns dos produtos dos genes RSA têm atividade antimicrobiana, tais como quitinases, β -1,3 glucanases e osmotinas. Em plantas transgênicas, a expressão de algumas dessas proteínas conferiu maior resistência (como já discutido em seções anteriores).

Cao et al. (1998) clonaram o gene da proteína NPR1, um regulador da expressão de RSA em *Arabidopsis*. A *superexpressão* (expressão de um gene em sistema heterólogo com o uso de um promotor forte, como o CaMV 35S) de NPR1 em *Arabidopsis* conferiu maior resistência a *Pseudomonas syringae* e a *Peronospora parasitica*, sem afetar o crescimento ou o desenvolvimento das plantas. Essa seria uma forma de explorar o fenômeno de RSA para produzir plantas com resistência de amplo espectro, sem a necessidade de aplicações exógenas de agentes químicos indutores de RSA.

Além do AS, outros compostos químicos foram estudados pela sua habilidade de induzir RSA: *ácido isonicotínico* (2,6-dicloroisonicotínico (INA), o que talvez explique o uso popular de folha de fumo diluída em água) e o *benzotiadiazole* (BTH, *acibenzolar-S-metil*). O modo de ação desses compostos dá-se por meio da indução dos genes RSA, da mesma maneira que o AS induz naturalmente. Essas moléculas possuem a mesma estrutura de anel aromático, indicando que este talvez seja importante no desencadeamento das reações de cascata que levam à resistência.

Quando aplicado em folhas, o BTH é capaz de proteger diversas espécies de dicotiledôneas, incluindo fumo e *Arabidopsis*, além de monocotiledôneas, como plântulas de arroz contra *Magnaporthe grisea* (GORLACH et al., 1996). Aplicações exógenas do mesmo ativador sintético induziram a resistência a *Puccinia helianthi* em girassol caracterizada por uma redução na frequência de infecções, conseqüência da redução na germinação e na formação de apressórios. Quando aplicado diretamente, o produto não teve nenhum efeito direto sobre germinação e crescimento do tubo germinativo. Os dados sugeriram um efeito na secreção de compostos fungitóxicos, como

cumarinas e outros fenólicos na superfície foliar, que impediu a germinação e a formação de apressórios (PRATS et al., 2002).

Yang e Klessig (1996) isolaram um gene homólogo a oncogenes animais, denominado *myb1*, cuja expressão foi detectada apenas após inoculação com TMV em variedade de fumo resistente ao vírus, onde havia acúmulo de PRPs e ácido salicílico (AS), mas não em variedades suscetíveis inoculadas, sem indício de acúmulo de PRPs ou AS. Análogos químicos de AS, como o ácido 2,6-dicloroisonicotínico, que induzem PRPs, também induziram a expressão de *myb1*. O dado mais importante foi a comprovação de que o produto do gene, a proteína *Myb1*, liga-se especificamente à região promotora de PR-1a. É interessante constatar que oncogenes animais têm um importante papel nas respostas imunológicas, por codificarem fatores de transcrição que ativam processos de proliferação e diferenciação celulares, inclusive a formação de linfócitos. Assim, vemos que um homólogo em plantas possui função semelhante na ativação de genes de defesa.

Ao expressar RSA, as plantas tornam-se mais resistentes por serem capazes de inibir o crescimento de patógenos no tecido induzido. Nas interações com fungos, por exemplo, mostrou-se que, após a indução da RSA, houve uma redução no número de infecções por apressórios emitidos por *Colletotrichum lindemuthianum* em folhas de feijão, associada à rápida formação de papilas. Em plantas infectadas por bactérias, detecta-se uma redução drástica no crescimento bacteriano no tecido, possivelmente em razão da produção de compostos inibidores após a indução da resistência. Essa defesa induzida pode impedir que a bactéria atinja populações de tamanho crítico necessário para causar necrose ou pode inibir a produção de fatores necessários para que a bactéria inicie a morte celular (HAMMERSCHMIDT, 1999a).

O fenômeno da *proteção cruzada* (resistência adquirida por uma planta pré-inoculada com uma estirpe fraca de um determinado vírus contra outras estirpes fortes do mesmo vírus), como no caso do *Citrus tristeza virus* (COSTA e MILLER, 1980) e inúmeros outros (PALUKAITIS e ZAITLIN, 1984), também pode ser considerado uma variante de RSA, embora, provavelmente, via um mecanismo diferenciado, como, por exemplo, via o bloqueio da tradução viral pela complementarização

dos mRNAs do vírus indutor com os do vírus desafiante (ZAITLIN, 1976; PALUKAITIS e ZAITLIN, 1984).

A emissão de diversos compostos voláteis tem sido demonstrada como uma resposta geral de plantas contra patógenos. Shulaev et al. (1997) reportaram que o metil salicilato seria o principal desses compostos e que funcionaria como um sinal químico, novamente, só que desta vez de uma planta à outra. O composto serviria para a ativação do sistema de defesa das plantas vizinhas, em um mecanismo de *defesa comunitária* similar ao usado por insetos com os feromônios. Dados similares foram obtidos no estudo do ataque de plantas por insetos – no entanto, nesse caso, os compostos detectados foram linalol e bergamoteno, que até mesmo mostraram ter a capacidade de atrair insetos predadores (KESSLER e BALDWIN, 2001).

Parte



**Aspectos Moleculares
da Interação
Planta–Patógeno**

Reconhecimento Planta–Patógeno

1.1. Elicitores e Receptores

O reconhecimento patógeno-hospedeiro tem importância central no estabelecimento de reações compatíveis ou incompatíveis, como já mencionado nas seções anteriores. Patógenos precisam ser capazes de reconhecer a presença de suas hospedeiras no meio ambiente (fungos de solo detectam exsudatos de raízes, por exemplo), assim como precisam reconhecer especificamente as estruturas da superfície da planta (como muitas bactérias), para que consigam penetrar na hospedeira (o que não é válido para os vírus, que são introduzidos nas células), além de necessitarem contornar os seus mecanismos de defesa da planta com sucesso (RENELT et al., 1993).

As plantas, por sua vez, também precisam reconhecer a presença de patógenos no ambiente, para dessa maneira ativarem seus diversos e variados mecanismos de defesa (PRICE, 1992), como já visto nas seções anteriores.

As moléculas envolvidas nesse processo extremamente específico de reconhecimento têm sido alvo de crescente interesse científico e muito tem sido esclarecido em relação às moléculas produzidas pelos patógenos que induzem respostas específicas na planta, ou seja, os *elicitores*, e quanto às moléculas que os reconhecem, os *receptores* (KEEN, 1975; AYERS et al., 1979; CRUTE et al., 1997; GABRIEL, 1999).

Elicitores induzem uma variada gama de respostas do sistema de defesa da planta, incluindo: síntese e acúmulo de fitoalexinas, indução da morte celular programada (reação de hipersensibilidade), produção de enzimas de ataque aos patógenos, síntese de proteínas que inibem enzimas degradativas produzidas pelos patógenos, produção de radicais de oxigênio livres (H_2O_2 , queima oxidativa) e a própria modificação da parede celular por deposição de calose, lignina e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina. O conjunto e a inter-relação entre esses componentes de defesa celular vegetal está sumarizado na Figura 12.

Há várias décadas já se sabe que compostos presentes nas raízes de várias plantas, como lectinas de soja (BOHLOOL e SCHMIDT, 1974), têm capacidade de atrair rizóbios e patógenos como *Phytophthora* (BHUVANESWARI et al., 1977). No entanto, só posteriormente foram

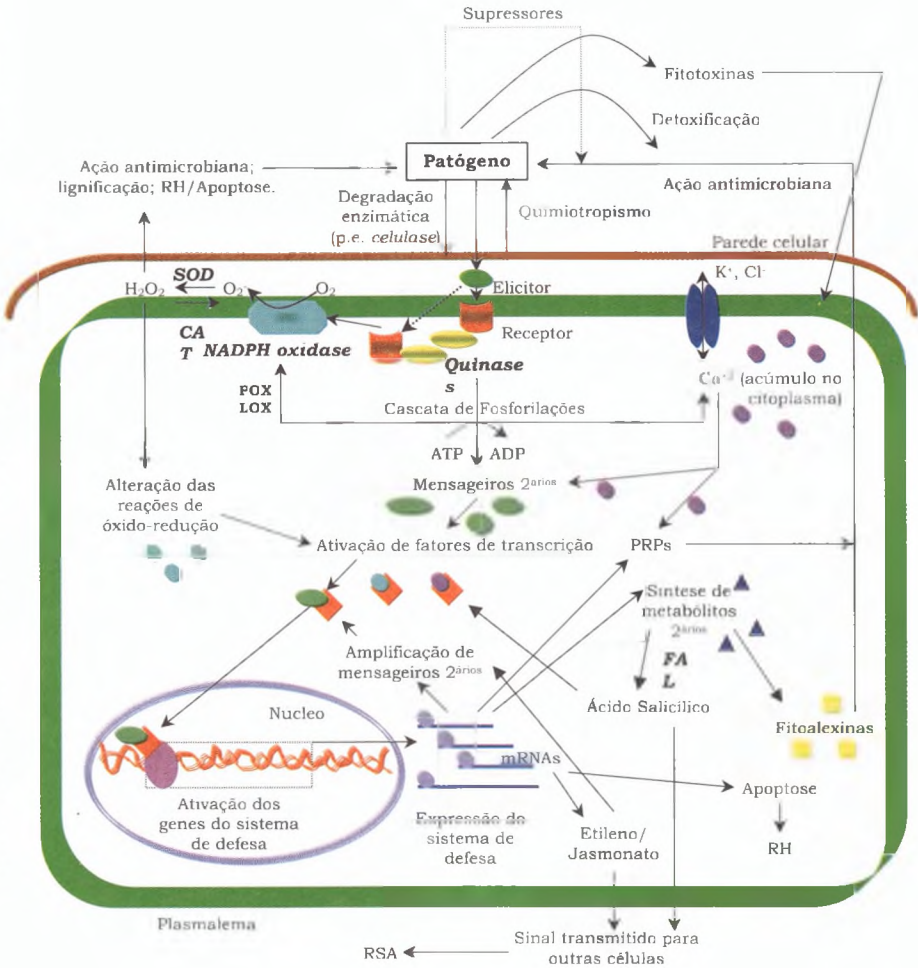


Figura 12 Resumo geral das interações planta-patógeno, enfatizando os processos de reconhecimento, transdução de sinais e expressão dos genes de defesa da planta
 RSA = resistência sistêmica adquirida; RH = reação de hipersensibilidade; SOD = superóxido dismutase; CAT = catalase; LOX = lipoxigenase; POX = peroxidase; PRPs = proteínas relacionadas à patogênese; FAL = fenilalanina amônia-liase

bioquimicamente identificados e caracterizados os *elicitores*, ou seja, os componentes dos patógenos que *avisam* as plantas de sua chegada.

Alguns dos primeiros elicitores identificados foram oligossacarídeos oriundos da parede celular de fungos (hepta- β -glucosídeo, oligoquitina, oligoquitosana). Esses compostos são, pelo menos para alguns fungos, produzidos em cultura micelial, o que indica que não devem constituir-se em produtos da ação de enzimas produzidas pelas plantas, mas sim produtos diretos da degradação natural da parede celular dos fungos (COSIO et al., 1992).

Posteriormente, descobriu-se também que lipopolissacarídeos (LPS) oriundos da superfície celular das bactérias gram-negativas desempenham uma função elicitora em relação ao sistema de defesa de plantas e protegem a bactéria contra compostos antimicrobianos liberados pela planta ou por outras bactérias (DOW et al., 2000).

O tratamento de sementes de tomate com ácido araquidônico aumentou a resistência das plantas a *Meloidogyne incognita* e foi relacionado com a síntese de terpenóides, indicando o ácido araquidônico como o provável elicitor (ZINOVEVA et al., 1996).

A purificação e a produção sintética desses compostos elicitores tornaram possível o estudo dos seus receptores nas plantas. Receptores podem ser definidos como moléculas que reconhecem especificamente os elicitores e desencadeiam a resposta de defesa por transdução de sinais. Estudos mostraram que os receptores de hepta- β -glucosídeo produzido por *Phytophthora sojae* são proteínas, pois são inativados por proteinases, estão localizados na membrana (estudos de citoquímica com elicitores marcados radioativamente), são saturáveis (indicando interação específica) e estão ligados de forma não-covalente aos elicitores. Posteriormente, mostrou-se que um complexo protéico de 240 kDa, presente nas membranas celulares de soja, possui capacidade de ligar-se ao hepta- β -glucosídeo. O uso de detergentes que romperam esse complexo protéico em subunidades resultou na perda da capacidade de ligação ao glucosídeo. Esse complexo foi purificado por cromatografia de afinidade e descobriu-se a presença de três diferentes proteínas (HAHN, 1996).

Os dados mais importantes, no entanto, são os que mostram que a afinidade da ligação elicitor-receptor está diretamente relacionada ao acúmulo de fitoalexina e outras respostas de defesa (DEVLIN e

GUSTINE, 1992; BOSTOCK et al., 1981). Também mostrou-se que plantas relacionadas botanicamente possuem receptores similares, ou, pelo menos, receptores com afinidade para os mesmos *ligantes* (que nesse caso são os próprios elicitores).

Em relação aos receptores de oligoquitinas, mostrou-se que a resposta é *transiente* (as células não apresentam resposta ao sinal após determinado tempo). Essa observação levou à formulação da hipótese de que haveria, em alguns patógenos, mecanismos para remoção enzimática ou bloqueio específico dos receptores. Usando protoplastos e ligantes marcados radioativamente em ensaios competitivos, localizou-se um sítio de ligação na membrana plasmática de tomate, arroz e fumo, também de natureza protéica e de ligação reversível. Um polipeptídeo de 70 kDa com sítios de ligação para oligoquitinas foi detectado em arroz (HAHN, 1996).

Entre as proteínas com capacidade elicitora, as mais conhecidas são as codificadas pelos chamados genes de avirulência (*avr*), denominadas AVR (HERBERS et al., 1992). As duas características básicas dos elicitores protéicos são: i) a ausência de função enzimática e ii) a ruptura de sua estrutura protéica bloqueia sua capacidade elicitora (HUTCHESON, 1998). Outros exemplos de proteínas elicitoras incluem ainda: as *elicitinas* e uma glicoproteína de *Phytophthora* spp. que induz necrose sistêmica em fumo; *harpinas* de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, que induz reação de hipersensibilidade em diversas plantas; *flagelina* de diversas bactérias, que ativa o sistema de defesa em *Arabidopsis*; além dos já mencionados peptídeos AVR, que também induzem hipersensibilidade em tomate (HAHN, 1996).

Uma glicoproteína com capacidade elicitora foi purificada da parede celular de *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* e dos fluidos apoplásticos de folhas de trigo infectadas pelo fungo (HAHN, 1996). A capacidade elicitora foi afetada por tratamento com periodato, que promove deglicosilação, indicando que a porção de carboidratos da molécula é a responsável pela elicitação. A ligação dessa glicoproteína a duas proteínas da membrana plasmática do trigo foi demonstrada por SDS-PAGE, usando glicoproteínas marcadas radioativamente.

Elicitinas são pequenas proteínas que induzem também resistência sistêmica adquirida em fumo; uma delas, *criptogeína*, produzida por

Phytophthora cryptogea, também reconhece um receptor protéico (YU, 1995).

As proteínas AVR produzidas por *Cladosporium fulvum* têm sido extensivamente caracterizadas desde o início dos anos 1990. São produzidas somente na planta e foram inicialmente detectadas nos fluidos apoplásticos (região intercelular) de tomate (DE WIT e SPIKMAN, 1982). A interação tomate/*C. fulvum* tem os atributos da hipótese gene-a-gene, ou seja, a incompatibilidade (resistência) acontece quando genes de avirulência dominantes são reconhecidos por seus correspondentes genes de resistência, também dominantes. Proteínas AVR são elicitores raça-específicos, ao contrário dos outros elicitores citados até aqui, e sabe-se que uma simples mutação em um nucleotídeo pode alterar essa especificidade (JOOSTEN et al., 1994).

Os receptores das proteínas AVR em tomate são denominados Cfs. Diversas evidências moleculares (por exemplo, transferência de genes e deleções específicas) mostram que AVR4 e AVR9 são os determinantes moleculares da avirulência, que reconhecem Cf4 e Cf9, respectivamente, nas variedades de tomate carregando esses genes.

Experimentos usando infiltração de AVR em tecidos intactos mostraram que as respostas celulares envolviam maior permeabilidade a eletrólitos, maior atividade de lipoxigenase, β -glucanase e quitinase e produção de radicais de oxigênio livres (Figura 12).

Outros genes de resistência que atuam, funcionalmente, como receptores celulares têm sido identificados e caracterizados, e vários deles possuem significativa homologia de sequência e estrutura. Uma pergunta óbvia e ainda sem resposta definitiva nessa área é: como utilizar os elicitores e o conhecimento adquirido no seu estudo para o estabelecimento de novas, estáveis e mais confiáveis medidas de controle? (LYON e NEWTON, 1997).

A primeira possibilidade é a aplicação tópica desses elicitores, a partir de preparados sintéticos, nas plantas, como forma de ativar rapidamente o sistema de defesa. Essa medida tem sido aplicada na prática em vários países da Europa e América do Norte, mas existem controvérsias quanto a questões de biossegurança e qualidade alimentar. Alguns dos pontos a serem mais bem estudados incluem: aplicabilidade no campo, fitotoxidez, danos a populações de insetos e

animais, ruptura de relações ecológicas entre plantas e outros microrganismos como bactérias simbiotes fixadoras de nitrogênio, alteração da composição química das plantas e efeitos na polinização. Obviamente, todos esses efeitos devem ser comparados à alternativa atual: o uso em larga escala de pesticidas químicos.

Além de elicitores sintéticos que apresentam eficácia como ativadores de RSA e ação comprovada contra míldios em uma única aplicação, outras possíveis aplicações práticas têm sido reportadas. Waspi et al. (1998) reportaram que *syringolin*, um peptídeo de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (uma bactéria não-patogênica ao arroz) induziu resistência a *Pyricularia grisea* em arroz, ou seja, *syringolin* é o elicitador da bactéria que desencadeia uma resposta de defesa eficiente contra *P. grisea*.

O uso agregado de formulações de elicitores e agentes de controle biológico aparentemente ainda não foi testado, mas parece promissor. Em relação ao uso de elicitores em plantas transgênicas, via expressão constitutiva, tem sido demonstrado por vários grupos de pesquisa que tal expressão é, em geral, letal em plantas carregando o gene correspondente de resistência, visto que a interação leva à hipersensibilidade (GOPALAN et al., 1996).

1.2. Supressores

O seguinte axioma permanece há muito inalterado: resistência é a regra e suscetibilidade é a exceção. O que deve acontecer então para que uma planta seja suscetível a um dado patógeno parece ser limitado a duas hipóteses: 1) patógenos virulentos não produzem elicitores, pelo menos nos estágios iniciais da infecção ou 2) alguns patógenos podem possuir a capacidade de suprimir os mecanismos de resistência desencadeados pela presença de seus elicitores.

Supressores são metabólitos não-tóxicos, encontrados em vários patógenos, que bloqueiam ou retardam os mecanismos de defesa da planta de maneira específica e são produzidos no sítio de infecção. Podem, portanto, ser considerados componentes do arsenal de ataque dos patógenos, ou mesmo *genes auxiliares de patogenicidade*.

Exemplos de supressores incluem fatores protéicos e não-protéicos (glucanas) de *Ascochyta*, *Mycosphaerella*, *Phytophthora* e *Uromyces*. *Mycosphaerella pinodes* (patógeno de ervilha) secreta um glicopeptídeo capaz de suprimir a geração de superóxido, o acúmulo de fitoalexinas (pisatina) e o fortalecimento da parede celular. O tratamento de tecidos de ervilha com esse glicopeptídeo levou a planta à suscetibilidade às raças avirulentas de *Stemphyllium sarcinaeforme* e *Alternaria alternata* (SHIRAISHI et al., 1999).

A supressão pode dar-se no âmbito do (a) reconhecimento do elicitor, impedindo o reconhecimento deste pelo receptor, (b) da transdução de sinal, ligando-se às quinases, (c) transcrição dos genes de defesa, impedindo a transcrição por diferentes e variados mecanismos, e (d) pós-transcricionalmente, alterando a especificidade das proteínas de defesa, ligando-se a elas (LAU et al., 1993; LAU e ELLINGBOE, 1993; SHIRAISHI et al., 1999).

1.3. Base Genética da Teoria Gene-a-Gene

Os primeiros dados sobre a genética clássica da interação patógeno-hospedeira vieram dos trabalhos clássicos desenvolvidos por H.H. Flor (1946 e 1947), que mostraram ser essa interação extremamente específica, o que causou ceticismo na época (STASKAWICZ, 2001), mas que trouxeram, vê-se hoje, uma nova perspectiva para o estudo da interação planta-patógeno.

Flor mostrou que linhagens de linho poderiam ser diferenciadas geneticamente por meio da inoculação com uma série de raças diferentes de *Melampsora lini*, e vice-versa em relação ao fungo, ou seja, raças do fungo poderiam ser diferenciadas geneticamente por meio do uso das linhagens de linho.

Cruzamentos entre linhagens de linho, que mostraram resistência a uma ou mais raças do patógeno, com linhagens que mostraram suscetibilidade, resultaram na segregação para resistência na geração F2 (a segunda obtida após o cruzamento). O número de genes segregando variou de acordo com o isolado do patógeno. Por outro lado, cruzamentos entre raças do patógeno resultou em uma segregação para virulência/avirulência nas linhagens de linho, mostrando resistência a uma ou mais raças do patógeno.

Esses experimentos de Flor levaram ao estabelecimento da *Teoria Gene-a-Gene*, a qual postula que, *para cada gene de resistência da hospedeira, há um gene correspondente no patógeno que confere virulência ou avirulência*, ou seja, a expressão do gene de resistência na hospedeira é não só dependente do gene na hospedeira, mas também dos genes do patógeno e vice-versa (FLOR, 1955; VANDERPLANCK, 1978 e 1982; ELLINGBOE, 1982, 1996, 2001). No entanto, nem toda interação patógeno-hospedeira encaixa-se nesse modelo.

Quando um cruzamento entre duas linhagens (resistente x suscetível) mostra segregação de três plantas resistentes para cada uma suscetível (3:1) na geração F2, conclui-se que o fenótipo observado (resistência) é resultado de um único gene. Se na geração F1 todas as plantas foram resistentes, conclui-se que esse gene é dominante, seguindo as leis da genética *mendeliana*.

De modo similar, se o cruzamento de dois patógenos (raça V, virulento x raça A, avirulento) resulta na proporção de três avirulentos para cada virulento (3:1 novamente), fica demonstrado que a avirulência da raça A é conferida por um único gene.

Dos experimentos descritos acima, além de outros conduzidos por Flor, pode-se extrair o padrão de interação genética entre plantas e patógenos conforme mostra a Tabela 3. Nesta tabela (+) significa interação *compatível* (patógeno virulento e hospedeira suscetível) e (-) significa interação *incompatível* (patógeno avirulento, hospedeira resistente):

Tabela 3 Genética da interação patógeno-hospedeiro

Patógeno	Hospedeira	
	R1	r1
P1	-	+
p1	+	+

Obs.: P1 é a designação do gene *dominante* que confere avirulência e R1 o gene dominante que confere resistência; p1 confere virulência e r1 suscetibilidade; (+) interação compatível, (-) interação incompatível.

Os dados obtidos por Flor, resumidos na Tabela 3, também implicam que: (a) a virulência (e suscetibilidade da hospedeira) é resultado da ausência ou da inefetividade do gene de avirulência, e não o contrário, visto que a interação p1p1 x R1R1 resulta em interação compatível (+); (b) a planta só será resistente se possuir o gene de resistência e se o patógeno possuir o gene de avirulência (para que o sistema de defesa da planta seja acionado com sucesso); (c) o fator que confere avirulência é resultado de um gene dominante e não será efetivo (resultando em virulência) quando um indivíduo possuir um par de alelos recessivos, assim, P1P1 e P1p1 resultam em avirulência e p1p1 resulta em virulência.

Observou-se posteriormente que essa interação pode ser influenciada por outros tipos de genes, dentre esses estão os chamados *supressores* (LAWRENCE et al., 1981). Um cruzamento entre dois isolados virulentos deveria sempre levar à formação de uma progênie de virulentos (p1p1 x p1p1), visto que virulência é um caráter recessivo; no entanto, alguns cruzamentos resultam em progênies avirulentas na proporção 3:1 (ELLINGBOE, 1992).

A *teoria do gene supressor* estabelece que o gene de avirulência (quando não efetivo, resultaria em virulência), pode não ser expresso, via a supressão causada por um gene S (supressor), resultando, portanto, em virulência. Assim sendo, um genótipo contendo P1S1 seria virulento, em razão da ação do supressor sobre o gene de avirulência, e o genótipo p1S1 também seria virulento, pela ausência ou inefetividade do gene de avirulência.

A hipótese da supressão pode ser resumida na Tabela 4:

Tabela 4 Efeito da interação entre o gene supressor e o gene de avirulência do patógeno sobre hospedeira resistente (R1R1)

		Raças parentais do patógeno		
		P1S1 (V)	X	p1s1 (V)
		Progênie		
P1S1	P1s1		p1S1	p1s1
V	Av		V	V

Obs: V = virulento, Av = avirulento.

No entanto, como é notório, podem existir inúmeros genes de resistência e inúmeros genes de avirulência correspondentes numa dada interação, tornando os fenômenos de compatibilidade e incompatibilidade menos presumíveis.

Isso é demonstrado experimentalmente quando cruzamentos entre progênies avirulentas e virulentas resultam em proporções diferentes de 3:1. Dois genes (R1R2 e P1P2), por exemplo, resultam na proporção de 15 interações compatíveis (suscetibilidade) para cada interação incompatível, se ambos os genes de resistência forem necessários para conferir o caráter (DAY, 1974; BRIGGS e JOHAL, 1994; ELLINGBOE, 1996).

Assim, tomando-se o conjunto gênico da planta responsável pelo sistema de defesa como um conjunto relativamente grande de genes, com centenas de genes, torna-se compreensível que os modelos de Flor, da *teoria gene-a-gene*, e de VanderPlanck, das resistências *monogênicas* e *poligênicas*, não se adequam a todo e qualquer patossistema. Na verdade, sob o ponto de vista estrito da interação molecular, toda resistência é *poligênica*, apesar de que, do ponto de vista prático do melhoramento genético, determinadas variedades possam possuir genes de resistência de tal importância para o sistema de defesa, que sua falta condicionará o fenótipo suscetível.

1.4. Clonagem e Caracterização dos Genes de Resistência e Avirulência

A clonagem de genes de resistência (chamados *R*), obtida a partir do início dos anos 1990, comprovou o que muitos esperavam: que as proteínas codificadas por esses genes possuem várias características em comum, sugerindo que plantas desenvolveram mecanismos de resistência comuns, por meio de mecanismos semelhantes de transdução de sinal, para a expressão da resistência a uma variada gama de patógenos não relacionados (SHEPHERD e MAYO, 1972; STASKAWICZ et al., 1995; HAMMOND-KOSACK et al., 1996; HAMMOND-KOSACK e JONES, 2000; HEINRICH et al., 1998).

Fortaleceu-se mais do que nunca a idéia de que as plantas desenvolveram um sistema de defesa em que cada célula é capaz de bloquear o estabelecimento e/ou desenvolvimento do processo infectivo,

por uma combinação de defesas constitutivas e induzidas (ALBERSCHEIM e ANDERSON, 1975; DIXON e LAMB, 1990).

O modelo *receptor-elicitor* (GABRIEL e ROLFE, 1990) para explicar a interação entre os genes de resistência (receptor) e os de avirulência (elicitor) foi confirmado no âmbito molecular, inicialmente, para o patossistema *Cladosporium fulvum*/tomate, depois para diversos outros patossistemas.

A clonagem dos genes de avirulência (*avr*) deu-se, principalmente, a partir da seleção de mutantes de patógenos com capacidade de infecção alterada e induzindo-se reação de hipersensibilidade a partir de extratos purificados do elicitor ou pela produção de mutantes com a virulência bloqueada (via tratamento com ultravioleta, por exemplo). Os primeiros genes de avirulência clonados foram *avrD* de *P. syringae* pv. *glycinea* (STASKAWICZ et al., 1984) e *avr4* e *avr9* de *C. fulvum* (VAN KAN et al., 1991; VAN DEN ACKERVEN et al., 1992, 1993).

A capa protéica do TMV já havia sido caracterizada anteriormente como o provável elicitor da reação de hipersensibilidade em fumo contendo o gene *N'* (SAITO et al., 1987; CULVER e DAWSON, 1989), no entanto, mais tarde ficou claro que o gene da replicase (126 kDa) também induz a reação de hipersensibilidade desencadeada, especificamente, pelo reconhecimento de *N* (PADGETT e BEACHY, 1993). Chegou-se a essa conclusão somente após a caracterização molecular da estirpe *Ob* de ToMV (*Tomato mosaic virus*), que é virulento em variedades de fumo carregando o gene *N*. Uma única mutação na replicase foi capaz de tornar aquela estirpe avirulenta em fumo com o gene *N*, mas não em fumo sem esse gene (PADGETT e BEACHY, 1993). Sabe-se que alterações na capa protéica interferem no fenótipo resistente, mas esse efeito é apenas basal, quando comparado aos efeitos da replicase. Também a proteína do movimento do TMV (30 kDa) age como elicitor em linhagens de tomate carregando os genes de resistência *Tm-2* e *Tm-2²*. Para o *Cucumber mosaic virus* mostrou-se que o gene de avirulência é a capa protéica (TAKAHASHI et al., 2001). Outras proteínas virais com propriedades elicitoras foram caracterizadas em PVX, CaMV e TBSV (CULVER, 1996).

Genes de avirulência adicionais já identificados incluem: *avrTs* em *Puccinia graminis* (ZAMBINO et al., 2000), *avrBs3* em *X. campestris* pv. *vesicatoria* (BONAS et al., 1989), cinco diferentes genes *avr* em *X.*

campestris pv. *malvacearum* (GABRIEL et al., 1986), *avrRpm1* (RITTER e DANGL, 1995) e *avrPphF* em *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (TSIAMIS et al., 2000), entre inúmeros outros (Tabela 6). Muitos desses genes foram encontrados também em agrupamentos gênicos (DE FEYTER e GABRIEL, 1991), indicando talvez uma aptidão para rápidas mudanças evolutivas.

É curioso observar que em *Xylella fastidiosa*, causadora da clorose variegada dos citros, o primeiro patógeno de plantas cujo genoma completo foi seqüenciado, não foram encontrados homólogos aos genes de avirulência já caracterizados (SIMPSON et al., 2000; LAMBAIS et al., 2000). Nas inúmeras bactérias patogênicas ao homem já seqüenciadas, a começar por *Escherichia coli* K12 (BLATTNER et al., 1997), e entre as bactérias fitopatogênicas já seqüenciadas, como *Erwinia*, vários genes de avirulência potenciais já foram identificados.

As funções das proteínas codificadas pelos genes *avr* em bactérias não são totalmente conhecidas (GABRIEL, 1999). Foi demonstrada a função enzimática para apenas um gene de avirulência, o gene *avrD* de *P. syringae*, que está envolvido na produção do siringolídeo, um elicitor reconhecido pela proteína Rpg4 de soja (KEEN et al., 1990). Curiosamente, mostrou-se que genes de avirulência, paradoxalmente, aumentam a virulência em hospedeiras suscetíveis. Vários genes *avr* de bactérias contribuem com a virulência naqueles genótipos suscetíveis que não têm o gene *R* correspondente. Por exemplo, o gene *avrBs3* de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* está envolvido na indução de hipertrofia em tecido do mesófilo de pimentão e tomate (MAROIS et al., 2002), mas o mecanismo pelo qual os genes *avr* promovem parasitismo e doença ainda é pouco conhecido. Os produtos dos genes *avr* em bactérias são liberados na célula hospedeira através do sistema de secreção Hrp (GOPALAN et al., 1996) (Figura 8). O produto do gene *avrRpt2* de *P. syringae*, por exemplo, é liberado dentro da célula hospedeira de *A. thaliana*, de onde promove virulência (CHEN et al., 2000).

Em nematóides foi clonado recentemente um gene responsável pela síntese de uma proteína denominada MAP-1, secretada no anfédeo e presente apenas em fenótipos avirulentos (SEMBLAT et al., 2001).

O primeiro gene de resistência clonado foi o *Hm1*, oriundo de milho, que confere resistência a *Cochliobolus carbonum* raça 1. A clonagem

e a caracterização do gene mostraram, para surpresa geral, que esse gene não se encaixava no modelo receptor-elicitor, pois *Hm1* codifica uma enzima capaz de detoxificar a toxina HC do fungo, que por sua vez é o principal fator de patogenicidade do fungo (JOHAL e BRIGGS, 1992; YODER e TURGEON, 1996).

Em seguida, vários genes que se encaixaram perfeitamente no modelo receptor-elicitor foram clonados. Combinando-se técnicas de RFLP, YACS, biblioteca de cDNA e testes de complementação genética, clonou-se o gene *Pto*. *Pto* codifica uma quinase e confere resistência em tomate a *P. syringae* pv. *tomato* carregando o gene *AvrPto*, o gene de avirulência complementar (MARTIN et al., 1993). *Pto* faz parte de uma família de sete genes homólogos, um deles, *FEN*, confere sensibilidade a um inseticida, *fenthion* (MARTIN et al., 1994). Por meio do sistema híbrido-duplo de levedura, que permite um vasto e rápido *screening* de interações proteína-proteína, demonstrou-se a interação molecular entre a proteína *Pto* e a proteína *AvrPto*. Dos 164 aminoácidos que compõem esta última, somente 95 são suficientes para ligação com a proteína *Pto* (TANG et al., 1996; CHANG et al., 2001).

O gene *RPS2* de *Arabidopsis thaliana*, que confere resistência a *P. syringae* pv. *tomato* e *P. s.* pv. *maculicola*, foi também clonado. As duas bactérias expressam o gene *AvrRpt2*. *RPS2* foi isolado pela seleção de mutantes que não exibiam RH e pelo uso de mapa genético (BENT et al., 1994; MINDRINOS et al., 1994). Foram clonados também o gene *L⁶* de linho que confere resistência contra *Melampsora lini* (o gene que H.H. Flor havia estudado), *Nem* fumo contra TMV (WHITHAM et al., 1994; DINESH-KUMAR e BAKER, 2000) e *Cf-9* em tomate contra *C. fulvum* (JONES et al., 1994).

Em todos os casos mencionados acima, utilizou-se a técnica de *transposon tagging* (nessa técnica usa-se o *transposon* para inativar aleatoriamente um gene, que é identificado por uma sonda de DNA que reconhece especificamente o *transposon*). No caso de *Cf-9*, uma linhagem suscetível foi transformada com *Avr9* e cruzada com outra linhagem contendo *Cf-9* e o *transposon Ds*, observando-se que a maior parte da progênie não sobreviveu em razão da interação *Avr9/Cf-9*. Apenas os mutantes carregando a inserção *Ds* no locus do gene *Cf-9* sobreviveram e estes foram, em seguida, caracterizados.

RPS2 e *RPS4*, *N*, *Cf-9*, *L⁶* e vários outros genes *R* codificam proteínas com seqüências repetidas ricas em leucina (LRR), que são *motivos* comumente encontrados em proteínas de plantas e animais envolvidas em interações proteína-proteína, fato este bastante relevante para o modelo receptor-elicitor (FINDLAY, 1996; RIGDEN et al., 2000). Mutações induzidas em LRR suprimem, pelo menos parcialmente, a resistência (WARREN et al., 1998). Eis aqui mais uma similaridade entre respostas imunes de plantas e animais, indicando sua origem evolutiva comum. Além disso, esses genes apresentaram alta homologia entre si, fato também extremamente relevante quando pensamos na evolução dos mecanismos de defesa das plantas (Figura 13). Com exceção de *Cf-9*, todos contêm um domínio de ligação a nucleotídeos, além de domínios com conformação espacial conservada nos terminais amino e carboxila (Figura 13) (BENT, 1996).

RPS2 e *RPS4*, por exemplo, não possuem seqüências *líderes* ou regiões hidrofóbicas (características de interação com membranas), sendo provavelmente receptores citoplasmáticos, pois possuem homologia com outros receptores celulares; *L⁶* possui um sinal de ancoramento na superfície interna da membrana e *Cf-9* é ancorado externamente (GASSMANN et al., 1999).

A descoberta dessas seqüências conservadas (Figura 13), em diversos produtos dos genes de resistência, trouxe como primeiro resultado prático e imediato a clonagem em série de genes de resistência em diversas plantas, via utilização de sondas heterólogas. Isso tem facilitado enormemente o desenvolvimento de outras estratégias de clonagem de genes de resistência em escala genômica por meio de *microarrays* de DNA, bibliotecas subtrativas e outras (GAMAS et al., 1996; TIMMERMAN et al., 2000; ITO e SHIBUYA, 2000).

Outros exemplos de genes *R* clonados até o presente são: *Cf4* em tomate contra a raça de *C. fulvum* carregando *Avr4* (THOMAS et al., 1997); *BS2* em pimentão contra *X. campestris* pv. *vesicatoria*; *Xa21* e *Xa1* em arroz contra *X. oryzae* (YOSHIMURA et al., 1998); *NDR1*, *RPM1* (GRANT et al., 2000) e *RPP5* em *Arabidopsis* contra *P. syringae* e *Peronospora parasitica*; *Rcr3* em tomate, que é necessário em linhagens com *Cf-2*; *Pib* em arroz contra *Magnaporthe grisea* (WANG et al., 1999); *Sw5* em tomate contra *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (BROMMONSCHENKEL et al., 2000); *Hs1^{PRO-1}* em beterraba contra o

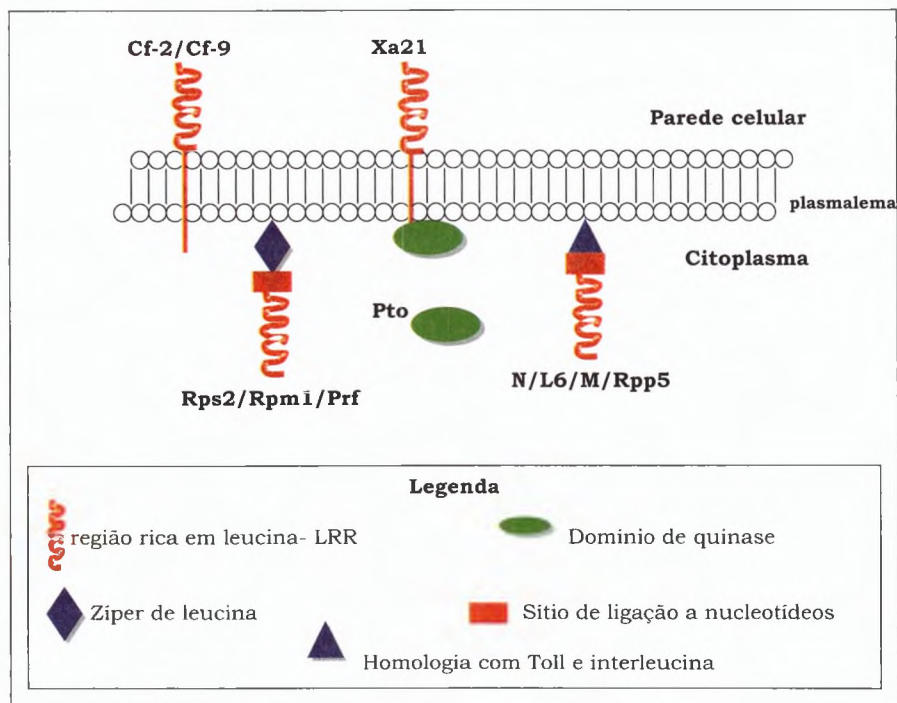


Figura 13 Aspectos estruturais dos produtos dos principais genes de resistência de plantas já clonados e caracterizados, mostrando os domínios proteicos comuns

nematóide do cisto, *Heterodera schachtii* (CAI et al., 1997); *Mi* em tomate contra afídeos e nematóides do gênero *Meloidogyne* (GROENENDIJK et al., 1998); *Rx* e *Rx2*, que conferem resistência a PVX e foram clonados via expressão transiente de candidatos a genes *R* em folhas de fumo expressando a capa protéica de PVX como elicitador (BENDAHMANE et al., 1999; BENDAHMANE et al., 2000); e *Cf-ECP2*, que foi clonado de tomate, também usando PVX como vetor de expressão (LAUGÉ et al., 1998).

A Tabela 6 lista esses exemplos e outros, mostrando não só os genes de resistência com características de receptores, como também outros tipos de genes de resistência já clonados.

Outras características importantes dos genes de resistência a patógenos em plantas são: (a) estão em geral em agrupamentos (*clusters*), ao contrário, por exemplo, dos genes de resistência a patógenos de insetos (RICHTER et al., 1995; GRAHAM et al., 2000; GRUBE et al., 2000); e (b) alguns possuem domínios com homologia significativa com o gene *Toll* de *Drosophila* e interleucinas humanas (IL-1R), receptores relacionados aos sistemas imunes de insetos e mamíferos (DANGL, 1992, 1995; DUSHAY e ELDON, 1998), indicando uma origem comum aos sistemas de defesa entre reinos distintos, algo impensável poucos anos atrás.

Em mamíferos e em *Drosophila*, a ligação dos receptores IL-1R e Toll, respectivamente, aos seus ligantes resultam na translocação dos fatores de transcrição *Rel* (NF-k-B e Dorsal) do citoplasma para o núcleo. No citoplasma, esses fatores podem interagir com proteínas inibidoras, *ikB* e *Cactus*. A importação desses fatores *Rel* pelo núcleo requer ainda uma cascata de fosforilação envolvendo quinases (IRAK em mamíferos e *Pelle* em *Drosophila*). Em plantas, observa-se que os genes de resistência *N*, *L6*, *M* e *RPP5* apresentam domínios com homologia aos domínios citoplasmáticos de Toll e IL-1R (Figura 14). Além disso, a NPR1, uma proteína regulatória da RSA, apresenta regiões similares tanto a *ikB* quanto a *Cactus*. O ácido salicílico, por sua vez, parece ter papel também na transcrição ativada por *NFkB* em mamíferos, ao mesmo tempo que é, em plantas, um sinalizador da RSA. Tais similaridades indicam que plantas, insetos e mamíferos utilizam proteínas com domínios comuns na defesa e na resposta imune (BAKER et al., 1997; STASKAWICZ et al., 2001).

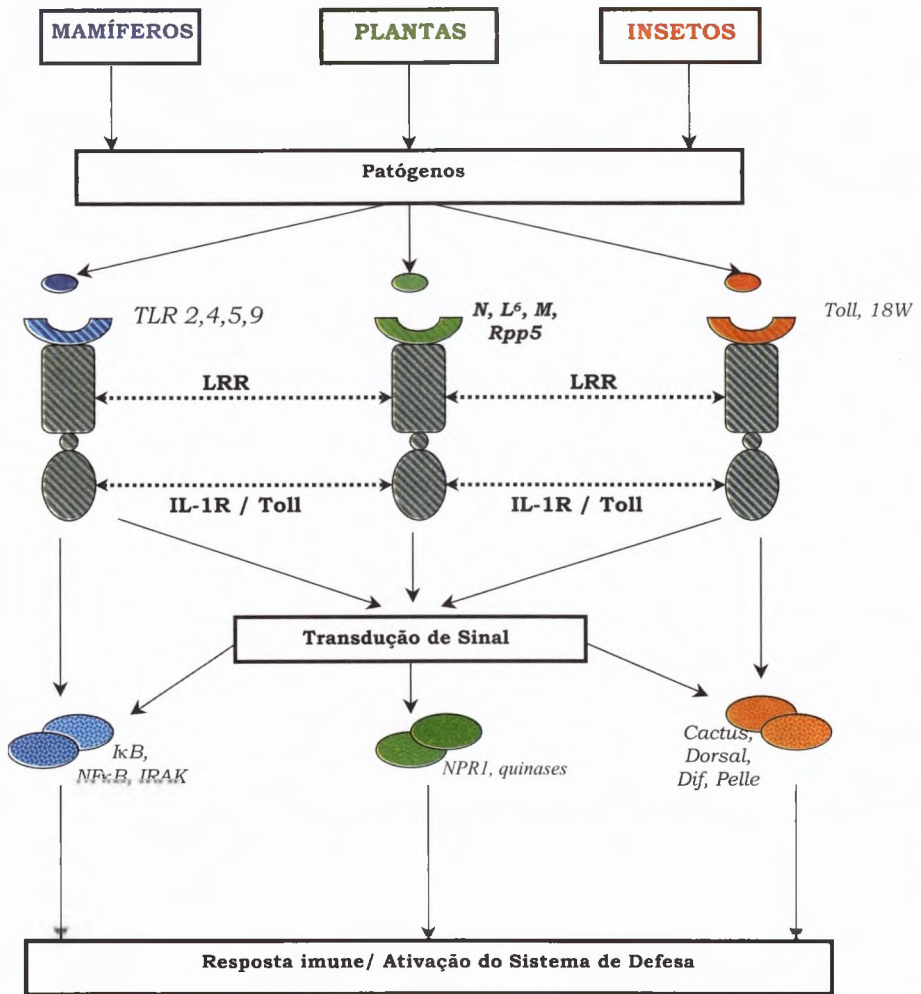


Figura 14 Similaridades entre os sistemas de defesa de mamíferos, plantas e insetos, enfatizando os domínios comuns de reconhecimento em alguns dos genes já identificados (LRR = regiões ricas em leucina; IL-1R=receptor de interleucina 1). *IkB*, *NFκB*, *Cactus*, *Dorsal* e *Dif* são fatores de transcrição. *IRAK* e *Pelle* são quinases. *NPR1* é uma proteína regulatória da RSA (resistência sistêmica adquirida) similar a *IkB* e *Cactus*

A resistência é um fenômeno biológico complexo: alguns dos componentes do sistema podem possuir maior relevância que outros, por estarem em posições-chave na cascata de reações moleculares que levam à resistência, enquanto outros podem apresentar um efeito aditivo ao caráter. É interessante observar ainda que nem sempre o produto desses genes é essencial para a expressão da resistência. No caso de *N*, que confere resistência a TMV em fumo, observou-se que até mesmo os transcritos (mRNAs) conferem o fenótipo resistente.

Diversos outros genes do sistema de defesa, que têm-se mostrado necessários para a funcionalidade dos genes *R* e/ou para a ativação ou a regulação de outros genes de defesa, foram também identificados e clonados (COOK, 1998). Entre eles podemos destacar *EDS1* em *Arabidopsis*, que possui homologia com lipases (FALK et al., 1999); *NDR1*, uma proteína aparentemente associada a membranas que parece funcionar na integração entre as reações de reconhecimento a vários patógenos (CENTURY et al., 1997); *Rc3*, requerido para a funcionalidade de *Cf-2* (DIXON et al., 2000); e *Pad4*, que foi clonado de *Arabidopsis* e está envolvido em uma via regulatória da produção de ácido salicílico, além de ser necessário para a produção da fitoalexina *camalexina* e PR-1, ambas envolvidas na resistência contra *P. syringae* pv. *maculicola* (JIRAGE et al., 1999).

Embora a *teoria gene-a-gene* sugira a ocorrência de interação entre proteínas R da planta e proteínas Avr do patógeno, evidências de que tais proteínas interagem diretamente não foram encontradas para o sistema *Cf-9/Avr9* (LUDERER et al., 2001). Apenas para duas proteínas R (*Pto* de tomate e *Pi-ta* de arroz), a interação física com os ligantes do patógeno foi demonstrada (TANG et al., 1996; JIA et al., 2000). O mecanismo real de percepção de elicitores em plantas parece ser mais complexo que inicialmente imaginado e, possivelmente, depende da ação conjunta de outra(s) proteína(s) intermediária(s).

Em *Arabidopsis* foi demonstrado que o papel de RPM1, que confere resistência a *Pseudomonas syringae*, é, na verdade, de atuar como um *guardião molecular* contra as proteínas AvRpm1 e AvrB da bactéria. Essas proteínas Avr fosforilam uma outra proteína da planta, RIN4 (*RPM1-interacting protein 4*), que atua nas plantas suscetíveis suprimindo os mecanismos basais de defesa da planta, ou seja, como um regulador negativo das respostas de defesa. Em plantas

resistentes, contudo, RIN4 interage com RPM1 e positivamente regula a expressão da resistência mediada por RPM1, levando à RH e à restrição do desenvolvimento do patógeno. A resposta da planta ao ataque de um patógeno parece ser, portanto, consequência do balanço das interações entre proteínas do patógeno e da planta (MACKEY et al., 2002; DE WIT, 2002).

Estudos recentes com cevada e *Arabidopsis* identificaram duas proteínas, RAR 1 e SGT 1, fundamentais para a resistência mediada pelos genes de resistência. Tais proteínas estariam envolvidas na ubiquitinação de proteínas reguladoras e na consequente ativação das respostas de defesa. Além disso, RAR1 e SGT1 podem atuar como chaperones das proteínas R, assegurando seu correto dobramento e atividade (PEART e SHIRASU, 2002).

Portanto, o mecanismo pelo qual o reconhecimento das proteínas Avr direta ou indiretamente pelas proteínas R ativaria a cadeia de transdução de sinais que leva às respostas de defesa ainda não foi totalmente elucidado e deverá ser ainda alvo de muitos estudos.

O avanço de técnicas moleculares como mutagenese por PCR (KAMMANN et al., 1989) tem permitido o rápido estabelecimento das regiões dos genes com importância funcional e a possibilidade de subclonagem e utilização de pequenos peptídeos, oriundos de genes R, na obtenção de plantas transgênicas resistentes. A obtenção de plantas transgênicas resistentes via expressão de genes R é rotina em inúmeros laboratórios no mundo, no entanto, tem sido comum a rápida quebra da resistência por meio do aparecimento de isolados dos patógenos que não expressam o desejável gene de avirulência. A resposta para isso tem sido a busca incessante de mais e mais genes de resistência, para uma possível piramidização desses genes.

A indução artificial da RH foi proposta como uma estratégia para obtenção de resistência de amplo espectro em plantas. De Wit sugeriu, em 1992, que RH poderia ser induzida por um sistema de dois componentes. A indução da morte celular e respostas endógenas ocorreriam ao se colocar um gene Avr sob o controle de um promotor induzido por um patógeno em uma planta com um gene R correspondente. Hennin et al. (2001) mostraram que o gene Cf-9 de tomate e Avr9 de *C. fulvum* podiam ser funcionalmente expressos em outra planta, no caso, em *Brassica napus* (colza) e que os dois

componentes conferiram às plantas maior resistência a *Leptosphaeria maculans*.

Um dos resultados práticos mais esperados para os próximos anos é a obtenção de resistência de amplo espectro via a utilização de plantas transgênicas expressando vários genes *R* ao mesmo tempo, ou, simplesmente, expressando genes que se encontram à *jusante* na cadeia de reações enzimáticas que desencadeia o sistema de defesa, ou que sejam simplesmente parte de uma via biossintética comum na resistência a vários patógenos e que resultem num amplo espectro de resistência (FITCHEN e BEACHY, 1993; DAVIS e HAMMERSCHMIDT, 1993; OLDROYD e STASKAWICZ, 1998; EVANS e GREENLAND, 1998; TANG et al., 1999; WILSON e SOMMERVILLE, 2000; YOUNG, 2000; XIAO et al., 2001; HULBERT et al., 2001).

A clonagem de genes de resistência e de avirulência talvez seja, hoje, a área da fitopatologia de maior relevância no mundo, provavelmente a que recebe maiores volumes de recursos financeiros para pesquisa e, com certeza, uma das que apresentam maior dinamismo em relação ao volume de trabalhos publicados em periódicos internacionais em fitopatologia. Essa área tornou-se ainda mais dinâmica com o advento da chamada *era genômica* (era do seqüenciamento completo de genomas) e, mais importante ainda, do início da chamada *era pós-genômica* (descoberta da função, em larga escala, dos genes seqüenciados).

O seqüenciamento completo dos genomas de organismos-modelo como *Arabidopsis thaliana* (The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000), *Caenorhabditis elegans* (The *C. Elegans* Sequencing Consortium, 1998), fitopatógenos como *Ralstonia solanacearum* (SALANOUBAT et al., 2002) e de plantas como o arroz (YU et al., 2002; GOFF et al., 2002) já está impulsionando enormemente todos os ramos das ciências biológicas, inclusive a fitopatologia, com a descoberta de novos genes de resistência, patogenicidade e avirulência, o que provavelmente resultará em grandes saltos tecnológicos no melhoramento genético de plantas (BIRD et al., 1999).

A Tabela 6 apresenta os endereços eletrônicos de diversos *Projetos Genoma* de plantas e microrganismos associados a plantas, em andamento ou já finalizados no mundo.

Tabela 5 Genes de resistência (receptores e outros) já identificados e clonados, planta de origem, patógeno-alvo, respectivos genes de avirulência (*Avr*) no patógeno e estrutura molecular prevista, quando se tratar de receptor, ou função prevista

Gene <i>R</i>	Planta	Patógeno	Gene <i>Avr</i> elicitor	Estrutura ¹	Ref.
<i>Cf-9</i>	tomate	<i>Cladosporium fulvum</i>	<i>Avr9</i>	LRR-DTM	Jones et al., 1994
<i>Cf-2</i>	tomate	<i>C. fulvum</i>	<i>Avr2</i>	LRR-DTM	Dixon et al., 1996
<i>Cf-4 e 4A</i>	tomate	<i>C. fulvum</i>	<i>Avr4</i>	LRR-DTM	Thomas et al., 1997; Takken et al., 1998
<i>Cf-5</i>	tomate	<i>C. fulvum</i>	<i>Avr5</i>	LRR-DTM	Dixon et al., 1998
<i>Cf-ECP2</i>	tomate	<i>C. fulvum</i>	<i>ECP2</i>		Laugé et al., 1998
<i>Prf</i>	tomate	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>avrPto</i>	LZ-NBS-LRR	Salmeron et al., 1996; Rathjen et al., 1999
<i>I₂</i>	tomate	<i>Fusarium oxysporum</i>		NBS-LRR	Ori et al., 1997
<i>Pto e Pti</i>	tomate	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>avrPto</i>	Quinase	Martin et al., 1993; Zhou et al., 1995
<i>Mi</i>	tomate	<i>Meloidogyne</i> spp.		NBS-LRR	Rossi et al., 1998
<i>Sw5</i>	tomate	TSWV		NBS-LRR	Brommonschenkel et al., 2000
<i>Rc3</i>	tomate	Vários	ausente		Dixon et al., 2000
<i>Rps2</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>AvrRpt2</i>	LZ-NBS-LRR	Bent et al., 1994
<i>Rps5</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>AvrPphB</i>	LRR-NBS	Warren et al., 1998
<i>Rpp1, 5 e Rpp8</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Peronospora parasitica</i>	<i>AvrPp5</i>	LZ-NBS-LRR	Parker et al., 1993; Botella et al., 1998; McDowell et al., 1998
<i>Rpm1</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	<i>AvrRpm1, avrB</i>	LZ-NBS-LRR	Grant et al., 1995
<i>Ndr1</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>P. syringae</i> e <i>Peronospora parasitica</i>			Century et al., 1997

<i>Rps4</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>Avr Rps 4</i>	TIR-LRR-NBS	Gassmann et al., 1998, 1999
<i>SGS</i>	<i>Arabidopsis</i>	Vários virus	ausente		Mourrain et al., 2000
<i>NHO1</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Psudomonas</i> spp.			Lu et al., 2001
<i>NPR-1</i>	<i>Arabidopsis</i>	Vários	ausente	Indutor de PRPs	Kinkema et al., 2000
<i>RTM2</i>	<i>Arabidopsis</i>	TEV		Proteína <i>heat shock</i> "	Whitham et al., 2000
<i>RPW8</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Erysiphe</i> <i>cichoracearum</i>			Xiao et al., 2001
<i>Rpp 13-Nd</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Peronospora</i> <i>parasitica</i>			Bitner et al., 2001
<i>EDS-1</i>	<i>Arabidopsis</i>	Vários		Lipase	Falk et al., 1999
<i>Xa21 e</i> <i>Xa21D</i>	arroz	<i>Xanthomonas</i> <i>oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>		Quinase-LRR	Song et al., 1995; Wang et al., 1998
<i>Xa1</i>	arroz	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>		LRR-NBS	Yoshimura et al., 1998
<i>Pib</i>	arroz	<i>Magnaporthe</i> <i>grisea</i>		LRR-NBS	Wang et al., 1999
<i>Pi-ta</i>	arroz	<i>Magnaporthe</i> <i>grisea</i>		LRR-NBS	Bryan et al., 2000
<i>Hm1 e Hm2</i>	milho	<i>Cochliobolus</i> <i>carbonum</i>	ausente	Toxina- redutase	Johal e Briggs, 1992; Multani et al., 1998
<i>Rp1-D</i>	milho	<i>Puccinia sorghi</i>		LRR-NBS	Collins et al., 1999
<i>Cre</i>	trigo	<i>Heterodera avenae</i>		LRR-NBS	Ogbonnaya et al., 2001
<i>Rx e Rx2</i>	batata	PVX	capa protéica	LZ-LRR-NBS	Ber dahmane, 1999, 2000
<i>L⁶</i>	linho	<i>Melampsora lini</i>	<i>AL⁶</i>	TIR-NBS-LRR	Lawrence et al., 1995
<i>M</i>	linho	<i>M. lini</i>	<i>AM</i>	TIR-NBS-LRR	Anderson et al., 1997
<i>P</i>	linho	<i>M. lini</i>		TIR-NBS-LRR	Dodds et al., 2001
<i>Dm3e</i> <i>Dm13</i>	alface	<i>Bremia lactucaae</i>		LRR-NBS	Meyers et al., 1998; Michelmores e Meyers, 1998
<i>ERMK</i>	coentro	<i>Phytophthora</i> <i>sojiae</i>	glicoproteína	Quinase MAP	Ligterink et al., 1997
<i>Hs1^{pro-1}</i>	beterraba	<i>Heterodera</i> <i>schachtii</i>		LRR-DTM	Cai et al., 1997
<i>mlo</i>	cevada	<i>Blumeria</i> <i>graminis hordei</i>	ausente	DTM	Baschges et al., 1997

<i>mJa</i>	cevada	<i>Blumeria graminis hordei</i>	ausente	LRR-NBS	Zhou et al., 2001
<i>N</i>	fumo	TMV	polimerase	TIR-NBS-LRR	Whitham et al., 1994
<i>NtMEK2</i>	fumo	Vários		Quinase MAP	Yang et al., 2001
<i>Dnd-1</i>	fumo	Vários		Canal de ions	Clough et al., 2000
<i>Bs2</i>	pimentão	<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	<i>AvrBs2</i>		Tai et al., 1999 e 2000

(1) LRR: sequências ricas em leucina; DTM: domínio transmembrânico; LZ: zipper de leucina; NBS: sítio de ligação a nucleotídeos; TIR: domínio com homologia a Toll e interleucina.

Tabela 6 Endereços eletrônicos de projetos de seqüenciamento completo de genomas de plantas e microrganismos associados a plantas, *status* do projeto e principal país envolvido (adaptado de KAMOUN e HOGENHOUT, 2001; VAN SLUYS et al. 2002)

Organismo	URL	Status	País	Referência
Bactérias				
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	www.agrobacterium.org	finalizado	França	Vinod et al., 2001
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	sequence.toulouse.inra.fr/IS.meliloti.html	finalizado	França	Galibert et al., 2001
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	www.genome.clemson.edu/twood/projects/brady.html	finalizado	EUA	Kaneko et al., 2002
<i>Mesorhizobium loti</i>	www.kazusa.or.jp/rhizobase	finalizado	Japão	Kaneko et al., 2000
<i>Ralstonia solanacearum</i>	sequence.toulouse.inra.fr/R.solanacearum	finalizado	França	Sblanoubat et al., 2002
<i>Xanthomonas axonopodis citri</i>	cancer.lbi.ic.unicamp.br/axanthomonas/	finalizado	Brasil	da Silva et al., 2002
<i>Xanthomonas campestris</i>	cancer.lbi.ic.unicamp.br/axanthomonas/	finalizado	Brasil	da Silva et al., 2002
<i>Xylella fastidiosa</i> (citrus)	aeg.lbi.ic.unicamp.br/xf/	finalizado	Brasil	Simpson et al., 2000
<i>Xylella fastidiosa</i> (uva)	aeg.lbi.ic.unicamp.br/xf-grape/	finalizado	Brasil	Van Sluys et al., 2003
<i>Xanthomonas aurantiifolia</i>	www.lbm.fcav.unesp.br	Em andamento	Brasil	
<i>Pseudomonas syringae tomato</i>	www.tigr.org/tbd/mdb	Em andamento	EUA	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	www.wsu.edu/~mavrodj/Links.htm	Em andamento	EUA	
<i>Bacillus subtilis</i>	genolist.pasteur.fr/subtilist	finalizado	França	Kunst et al., 1997
<i>Leifsonia xyli</i>	aeg.lbi.ic.unicamp.br	Em andamento	Brasil	
<i>Erwinia carotovora</i>	www.scri.sari.ac.uk/TIPP/	Em andamento	Escócia	
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	www.ahabs.wisc.edu/~pernalab/erwinia/data	Em andamento	EUA	

Mollicutes

Spiroplasma spp. www.cardc.ohio-state.edu/spiroplasma Em andamento EUA

Fungos

Magnaporthe grisea www.cals.ncsu.edu/fungal_genomics Em andamento EUA

Phytophthora spp. www.ncqr.org/research/pgi Em andamento EUA

Plantas

Oryza sativa www.tmri.org/btn.genomics.org.cn/rice finalizado finalizado EUA China Goff et al., 2002
Yu et al., 2002

Arabidopsis www.arabidopsis.org finalizado Vários The *Arabidopsis thaliana* Genome Initiative, 2000

Medicago truncatula www.noble.org/medicago Em andamento EUA Bell et al., 2001

Triticum aestivum wheat.pw.usda.gov/genome Em andamento Vários

Transdução de Sinais

Acredita-se, hoje, que os mecanismos de resistência de um cultivar resistente ou de uma planta não-hospedeira sejam semelhantes ou mesmo idênticos e incluam uma variedade de respostas induzidas comuns. Tem sido postulado que tais respostas induzidas, que acarretam o fenômeno de resistência, envolvem pelo menos três fases: (a) reconhecimento; (b) transdução de sinal e (c) iniciação das respostas de defesa (EBELL e SCHELL, 1992; DELANEY et al., 1995; MILLS et al., 1996; LEITE et al., 1997; BAKER et al., 1997; MCDOWELL e DANGL, 2000).

O reconhecimento do elicitador induz uma série de reações subseqüentes, conhecidas como *transdução de sinal* (TS); ou seja, a transmissão e a indução (daí a criação do termo *transdução*) de um sinal químico, *avisando* que o patógeno está presente, sinal esse que vai até o núcleo da célula, com a conseqüente ativação da transcrição dos inúmeros genes envolvidos na resistência (BENHAMOU, 1996). Portanto, é evidente que os componentes dos sistemas de reconhecimento e transdução de sinal também são os que são codificados pelos chamados *genes de resistência*, e não apenas os receptores, pois são peças-chave do sistema de defesa como um todo (MCCARTY e CHORY, 2000).

Pode-se, portanto, visualizar de outro ângulo o antigo conceito *vanderplanckiano* de *resistência monogênica* da seguinte forma: alguns genes envolvidos na resposta da planta ao patógeno são de tal forma essenciais (o responsável pela síntese do receptor, por exemplo), que sua inativação, ou mutações que venham a sofrer, podem bloquear o processo e tornar suscetível uma variedade resistente. Outros podem ter participação secundária, ou possuir similares que os substituam em caso de ausência. Como exemplo, têm-se os responsáveis pela transdução de sinal, que, quando inativados, não causam o bloqueio do processo (NORMAN et al., 2000).

De qualquer forma, uma planta pode ser resistente por possuir um sistema de reconhecimento eficiente a ponto de *avisar* seu sistema de defesa em tempo hábil, possuir um sistema de transdução de sinal rápido o suficiente para interromper o processo patogênico no sítio inicial de infecção, ou uma combinação dos dois sistemas (YANG et al., 1997).

O mecanismo de transdução de sinal envolve uma cascata de fosforilações mediadas por *quinases*, com a participação de proteínas

G (que se ligam a GTP), cAMP, inositol- P_3 , fosfolipases, reações de óxido-redução de radicais de oxigênio e Ca^{+2} . Uma grande variedade de elicitores desencadeia esse mesmo processo (Figura 12) (DIETRICH et al., 1990; MILLS et al., 1996).

Um grande número de genes relacionados com a cadeia de transdução de sinal tem sido identificado em plantas (LAMB, 1994). Com o advento de técnicas de estudo da expressão gênica em escala genômica, como, por exemplo, o uso de *chips* de DNA (*microarrays*) (SCHENK et al., 2000) e o *screening* de bibliotecas de cDNA de tecidos infectados (VAN DEN EYCKEN et al., 1992), têm sido possível a detecção e a identificação simultânea de um número cada vez maior desses genes, e suas complexas interações começam a ser desvendadas.

Os componentes da cascata de reações da TS são chamados *mensageiros secundários* e têm sido extensivamente caracterizados em células animais por várias décadas. Em plantas, muitas similaridades têm sido encontradas com a TS em animais, e alguns dados relevantes sobre os mensageiros secundários mais bem estudados serão apresentados a seguir.

2.1. Cálcio

Inúmeras evidências experimentais, obtidas por meio da utilização de protoplastos em meio nutritivo e do uso de inibidores, têm sido observadas em relação à participação do Ca^{+2} na ativação de genes de defesa, via ligação a fatores de transcrição ou via fosforilação dependente de Ca^{+2} , assim como acontece nos sistemas animais (MARME, 1989). Alguns exemplos dos genes e dos sistemas ativados por Ca^{+2} são: radicais de oxigênio, fosforilação, fitoalexinas, fenilalanina amônia liase (FAL), fatores de transcrição e proteínas relacionadas à patogênese (PRPs). Além disso, células induzidas por elicitores mostram influxo de Ca^{+2} e H^+ e efluxo de Cl^- e K^+ (ATKINSON e BAKER, 1989; ATKINSON et al., 1990; EBEL e SCHELL, 1992; SCHWACKE e HAGER, 1992).

Calmodulinas, proteínas com grande afinidade por cálcio, foram detectadas na ativação de resistência sistêmica adquirida (RSA) a vários patógenos de diferentes grupos sem a participação de ácido

salicílico (HEO et al., 1999) e foram associadas ao acúmulo de radicais de oxigênio livres (HARDING et al., 1997).

A função de alguns genes de resistência parece também estar ligada ao acúmulo de Ca^{+2} . Constatou-se que a expressão do gene *RPM1* de *Arabidopsis* era essencial para o acúmulo de Ca^{+2} no citoplasma nas interações incompatíveis, com conseqüente acúmulo de radicais livres de oxigênio e reação de hipersensibilidade (GRANT et al., 2000).

2.2. Quinases

Quinases, enzimas de relativa complexidade cuja principal função é a fosforilação enzimática, ou seja, a transferência de grupo fosfato de uma proteína para outra, são elementos-chave na transdução de sinal (TS), por sua especificidade e poder de amplificação de sinal via fosforilação (FELIX et al., 1991; DONG, 1995; JONES, 1997; DAVIS, 2000).

Avanços nas técnicas de purificação enzimática, microsseqüenciamento, espectrofotometria e eletroforese de proteínas (JACOBY, 1971; MARSHAK et al., 1996; SCOPES, 1994) têm permitido o isolamento e a identificação de inúmeras quinases envolvidas na TS.

Em um único experimento, usando SDS-PAGE, Dietrich et al. (1990) detectaram (usando fósforo radioativo, P^{32}) 16 diferentes proteínas fosforiladas após tratamento com um determinado elicitor, sendo que 12 delas não foram fosforiladas após irradiação com UV ou choque térmico, duas foram encontradas no núcleo, 13 no citoplasma e uma na membrana. A ausência de Ca^{+2} reduziu drasticamente a expressão de todas essas proteínas.

As chamadas MAP-quinases são ativadas em folhas de fumo por inúmeros sinais, entre eles, óxido nítrico, GMP cíclico, ADP-ribose cíclico (NATHAN, 1995; DELLEDONNE et al., 1998; DURNER et al., 1998), ácido salicílico (que tem sido relatado como um elicitor de inúmeras quinases em *Arabidopsis*), etileno e jasmonato (WHITHAM et al., 1999; KUMAR e KLESSIG, 2000; OHTAKE et al., 2000). A quinase MAP-4 apresenta uma função reguladora negativa em RSA (PETERSEN et al., 2000).

Entre os genes de resistência já identificados e clonados está *Pto* (de tomate), que codifica uma quinase do tipo serina-treonina (ou seja, que adiciona o grupo fosfato aos aminoácidos serina e/ou treonina), que é necessária para que haja incompatibilidade via interação com o elicitor (*AvrPto*, de *P. syringae* pv. *tomato*) (MARTIN et al., 1993). A resistência desencadeada por *Pto* depende de uma segunda quinase, *Pti1*, fosforilada por *Pto*, numa cascata de fosforilação que leva à reação de hipersensibilidade (ZHOU et al., 1995).

Vários produtos dos genes de resistência já clonados apresentam uma região rica em repetições de leucina (LRRs), que é um domínio já caracterizado em outros sistemas como um domínio de ligação proteína-proteína, o que reforça a teoria da ligação dessas proteínas, que reconhecem o elicitor, às quinases (JONES, 1997; GOMEZ-GOMEZ e BOLLER, 2000).

Um outro gene de resistência já clonado, *Xa-21*, (Figura 13) em variedades de arroz resistentes a *Xanthomonas oryzae*, apesar de aparentemente não constituir na íntegra uma quinase, possui um domínio intracelular com homologia significativa a quinases (SONG et al., 1995). Duas quinases ciclina-dependentes são induzidas em galhas e sincícios produzidos por *Meloidogyne incognita* e *Heterodera schachtii* (ALMEIDA-ENGLER et al., 1999).

2.3. Queima ou Explosão Oxidativa

Um dos primeiros fenômenos positivamente identificados como imediatamente posteriores ao reconhecimento do patógeno pela planta foi o acúmulo de radicais de oxigênio nas células infectadas, chamado *queima* ou *explosão oxidativa* (*oxidative burst*) (CHAI e DOKE, 1987a; LAMB e DIXON, 1997; BAKER e ORLANDI, 1999).

Os radicais livres de oxigênio (O_2^- , HO_2^- , H_2O_2 , OH) estão envolvidos na resposta celular de plantas (e também de animais, como já descoberto há muitos anos) a diferentes tipos de estresse, incluindo, no caso de plantas, o estresse hídrico, a salinidade, a toxidez, a poluição do ar (ELSTNER et al., 1988) e o ataque de patógenos (DOKE, 1985; DOKE e CHAI, 1985; DOKE e OHASHI, 1988; BAKER e ORLANDI, 1999).

Esses radicais de oxigênio (RO), ao contrário do oxigênio molecular (O_2), tornam-se altamente reativos quando seus elétrons livres absorvem energia a partir da luz ou do choque com outros elétrons livres com os quais eventualmente venham a ter contato. São também produzidos em processos metabólicos normais da planta, como na fotossíntese, na qual há uma *sobra* de elétrons nas vias de transporte oxidativo, que ocorre nas membranas da mitocôndria e do cloroplasto.

O acúmulo de RO aumenta a possibilidade de uma série de reações de oxidação no interior da célula, o que é impedido pelos sistemas antioxidantes normais existentes nas células vegetais. Durante os períodos de estresse, no entanto, esse acúmulo pode extrapolar a capacidade de absorção dos mecanismos antioxidantes da célula, assim como pode estar acontecendo no envelhecimento natural das células, e levar à ativação transcricional de genes (SEN e PACKER, 1996; ZHU et al., 1996).

A queima ou explosão oxidativa (ou *acúmulo de RO*), que acontece em resposta ao reconhecimento do patógeno pela hospedeira, é um dos fenômenos mais estudados, atualmente, em relação à interação planta-patógeno.

O superóxido (O_2^-), por exemplo, é produzido pela ação de diferentes enzimas: *NADPH oxidase/sintase*, *peroxidase* (POX) e *lipoxigenase* (LOX). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é produzido a partir de O_2^- pela ação da *superóxido dismutase* (SOD) e catabolizado pela *catalase* (CAT). Tanto O_2^- quanto H_2O_2 podem agir como redutores de Fe^{+3} para Fe^{+2} . Em células infectadas por *Cercospora*, tem sido demonstrada a ativação da morte celular programada por meio da geração de O_2^- produzida pela toxina *cercosporina* (Figura 4) (DAUB e HANGARTER, 1983). Também já foi devidamente comprovado o acúmulo de RO após o reconhecimento da proteína Avr por Cf no patossistema *Cladosporium fulvum*/tomate (MAY et al., 1996).

O teor de RO não pode ser medido por espectrofotometria, ou por cromatografia líquida de alta *performance* (HPLC), que são técnicas empregadas para moléculas orgânicas; nesse caso utilizam-se sondas específicas, como tetrazolium, cloreto de titânio, epinefrina, luminol, citocromo C, que são oxidadas ou reduzidas especificamente pelos radicais de oxigênio. O resultado dessa reação pode então ser medido por espectrofotometria, fluorescência ou quimioluminescência.

O acúmulo de RO ocorre em minutos (0,5 a 2 min) após a adição de bactérias em protoplastos em suspensão. A sincronia é possível, mas não é a ideal, visto que os protoplastos têm suas paredes apenas parcialmente removidas, dificultando a infecção de todas as células ao mesmo tempo e dificultando assim os experimentos temporais, uma limitação metodológica nesse caso. Assume-se então que, nesse intervalo de tempo, o reconhecimento via elicitor é efetivado e os mecanismos de transdução de sinal são ativados (BAKER et al., 1991).

A queima oxidativa (QO) pode ser detectada em três diferentes estágios da interação planta-patógeno: (a) no reconhecimento (fase que pode levar 1-4 horas após inoculação, hpi), (b) durante o processo de defesa *per se* (até 10 hpi) e (c) durante o processo de degradação (até 24 hpi), como já demonstrado nas interações com *Phytophthora* e *Pseudomonas* (BAKER et al., 1991; SANCHEZ et al., 1993).

No caso da interação *Phytophthora*/batata, a QO no estágio (a) foi induzida por raças compatíveis ou incompatíveis do fungo; já a indução nos estágios (b) e (c) ocorreu apenas com as raças incompatíveis (CHAI e DOKE, 1987b).

Em termos gerais, a indução inicial ocorre mais rápido na interação planta-bactéria, mas com menor durabilidade e o mesmo tipo de especificidade (apenas interações incompatíveis induzem QO nas fases (a) e (b)). Por exemplo, poucos minutos após inoculação com *Pseudomonas* já é possível a detecção inicial de QO na fase (a), enquanto com *Phytophthora* apenas 1 hpi; a fase (b) durou 10 horas para o fungo e apenas 3 para a bactéria.

A QO também tem sido detectada em não-hospedeiras com a mesma dinâmica temporal, indicando ser também induzida por elicitores pré-formados.

A transferência dos genes *hrp/hrm* de *P. syringae* pv. *glycinea* para *P. fluorescens* (não-patogênica) também transferiu a capacidade de a bactéria induzir QO, mas não hipersensibilidade (GLAZENER et al., 1996). Tratamento de protoplastos de fumo com o inibidor de quinase, k-252^a, ou com o bloqueador de canal de cálcio, LaCl₃, inibiu completamente a produção de RO em plantas infectadas com *P. s.* pv. *glycinea* (BAKER e ORLANDI, 1999).

Como prováveis conseqüências do acúmulo de RO, temos: (i) mudanças na composição da parede celular, levando ao fortalecimento

desta, via peroxidação da camada lipídica, um dos efeitos primeiramente detectados (KATO e MISAWA, 1976); (b) ação direta de RO como agentes redutores/oxidantes de ácidos nucleicos e proteínas, atuando, portanto, como agentes antimicrobianos (PENG e KUC, 1992) – embora no caso de *P. s. glycinea*/soja tenha sido mostrado que a concentração de RO nas células era aparentemente inócua (BAKER e ORLANDI, 1999); e (c) ativação de outros mecanismos de defesa, incluindo resistência sistêmica adquirida (RSA), síntese de fitoalexinas, lignificação e morte celular (CHAI e DOKE, 1987b).

A participação dos ROs em RSA foi inicialmente proposta por Chai e Doke (1987a), que mediram a produção de O_2^- nas folhas jovens de batata infectadas com *P. infestans* nas folhas mais velhas. Uma inoculação subsequente nas folhas jovens elevou a produção de RO e inibiu completamente a infecção. Os autores levantaram a hipótese de que um sinal foi transportado sistemicamente até as folhas mais jovens e elevou os níveis de RO.

Chen et al. (1993) mostraram que um aumento de H_2O_2 durante RSA foi resultante da inibição específica da catalase pelo ácido salicílico (AS). Os mesmos autores observaram que o tratamento de folhas de fumo com H_2O_2 aumentou a expressão de proteínas relacionadas à patogenicidade (PRPs) e, com isso, elevou os níveis de resistência. Rueffer et al. (1995), no entanto, demonstraram que o AS não se liga diretamente à catalase e sim à LOX e à POX. Outros autores também não encontraram indução direta de H_2O_2 por AS, mas sim um efeito indireto (RASKIN, 1992).

Os mesmos resultados conflitantes foram encontrados em relação à produção de RO e síntese de fitoalexinas; ou seja, ambos os fenômenos estão freqüentemente associados, porém não há uma relação direta (DEGOUSEE et al., 1994; RUSTERUCCI et al., 1996).

Em relação à lignificação da parede celular, entretanto, existem inúmeras evidências experimentais mostrando a participação direta dos ROs por meio da oxidação de radicais fenólicos (via peroxidase e H_2O_2) que, por polimerização, formam a lignina (BAO et al., 1993; OLSON e VARNER, 1993).

O nível das lipoxigenases (LOX) aumenta, consideravelmente, após a infecção por diversos patógenos; no entanto, não está claro se essa

é uma resposta direta de defesa ou se é uma consequência da liberação de ácidos graxos da membrana plasmática (AVDIUSHKO et al., 1993; CROFT et al., 1990). Sabe-se, porém, que LOX induz a formação de ácido jasmônico e metil-jasmonato, indutores de inibidores de proteases, da produção de ROs e participantes ativos da resistência celular (FARMER e RYAN, 1992).

Elevado nível de atividade de peroxidases (POX) também tem sido observado após infecção por vírus, além de fungos e bactérias, o que pode ser um efeito indireto da infecção viral em relação às modificações causadas na parede celular após o ataque por esse tipo de patógeno (YUNG e NORTHCOTE, 1975; MATTHEWS, 1981; YE et al., 1990; REUVENI et al., 1992).

A morte celular associada com interações compatíveis pode ocorrer em dias ou semanas e está, em geral, correlacionada com o amarelecimento dos tecidos adjacentes. A morte celular por reação de hipersensibilidade (RH), entretanto, ocorre geralmente cerca de 24 h após a infecção, é confinada à área de infecção e pode ser uma forma de morte celular programada ou apoptose. Alguns estudos têm mostrado relação de causa direta entre produção de RO e RH, enquanto outros demonstraram que a QO pode acompanhar o e ativar respostas necessárias à RH, mas QO parece não ser suficiente para causar RH (GLAZENER et al., 1996; DANGL et al., 1996).

A introdução de um sistema de produção de superóxido extracelular em um mutante *Isd1* de *Arabidopsis* (incapaz de controlar a morte celular durante a RH) mostrou ser a geração do superóxido no apoplasto suficiente para sinalizar o início da formação de lesões e morte celular nesses mutantes (JABS et al., 1996). É interessante notar que o superóxido não possui a capacidade de atravessar membranas biológicas, assim como não é particularmente tóxico, mas, mesmo assim, é um elemento-chave do circuito que controla a morte celular programada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, H.K.; GRONWALD, J.W.; PLAISANCE, K.H.; PAUL, R.N.; LEE, Y.W. Histone deacetylase activity and phytotoxic effects following exposure of duckweed (*Lemna pausicostata* L.) to apicidin and HC toxin. *Phytopathology* v. 91, p. 1.141-1.148, 2001.

ABELES, F.B. Biosynthesis and mechanism of action of ethylene. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 23, p. 259-292, 1972.

ADDICOTT, F.T.; LYON, J.L. Physiology of abscisic acid and related substances. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 20, p. 139-164, 1969.

AGRIOS, G. N. *Plant pathology*. 4. ed. New York: Academic Press, 1997. 635 p.

AIST, J.R. Papillae and related wound plugs of plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* v.14, p. 145-156, 1976.

ALBERSHEIM, P.; ANDERSON, P. Carbohydrates, proteins, cell surfaces, and the biochemistry of pathogenesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 26, p. 31-52, 1975.

ALFANO, J.R.; COLLMER, A. The type III (*Hrp*) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, *avr* proteins, and death. *J. Bacteriol.* v. 179, n. 18, p. 5.655-5.662, 1997.

AL-KAFF, N.S.; COVEY, S.N.; KREIKE, M.M.; PAGE, A.M.; PINDER, R.; DALE, P.J. Transcriptional and posttranscriptional plant gene silencing in response to a pathogen. *Science* v. 279, p. 2.113-2.115, 1998.

ALMEIDA-ENGLER, J.; VLEESSCHAUWER, V.; BURSSSENS, S.; CELENZA, J.L.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; ENGLER, G.; GHEYSEN, G. Molecular markers and cell cycle inhibitors show the importance of cell cycle progression in nematode-induced galls and syncytia. *Plant Cell* v. 11, p. 793-807, 1999.

ANANDALAKSHMI, R.; PRUSS, G.J.; XIN, G.; MARATHE, R.; MALLORY, A.C.; SMITH, T.H.; VANCE, V.B. A viral suppressor of gene silencing in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 13.079-13.084, 1998.

ANDERSON, D.M.; MILLS, D. The use of transposon mutagenesis in the isolation of nutritional and virulence mutants in two pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Phytopathology* v. 75, p. 104-108, 1985.

ANDERSON, P.A.; LAWRENCE, G.L.; MORRISH, B.C.; AYLIFFE, M.A.; FINNEGAN, E.J.; ELLIS, J.G. Inactivation of the flax rust resistance gene *M* associated with loss of a repeated unit within the leucine-rich repeat coding region. *Plant Cell* v. 9, p. 641-651, 1997.

ANNIS, S.L.; GOODWIN, P.H. Recent advances in the molecular genetics of plant cell wall-degrading enzymes produced by plant pathogenic fungi. *Eur. J. Plant Pathol.* v. 103, p. 1-14, 1997.

ANTONIW, J.F.; RITTER, C.E.; PIERPOINT, W.S.; VAN LOON, L.C. Comparisons of three pathogenic-related proteins from plants and two cultivars of tobacco infected with TMV. *J. Gen. Virol.* v. 47, p. 79-87, 1980.

ANZAI, H.; YONETAMA, K.; YAMAGUCHI, I. Transgenic tobacco resistant to bacterial disease by the detoxification of a pathogenic toxin. *Mol. Gen. Genet.* v. 219, p. 492-494, 1989.

ARIAS, J.A.; DUNKLE, L.D.; BRACKER, C.E. Ultrastructural and developmental alterations induced by *Periconia circinata* toxin in the root tip of sorghum. *Can. J. Bot.* v. 61, p. 1.491-1.505, 1983.

ARLAT, M.; GOUGH, C.L.; BARBER, C.E.; BOUCHER, C.; DANIELS, M.J. *Xanthomonas campestris* contains a cluster of *hrp* genes related to the larger *hrp* cluster of *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 4, p. 593-601, 1991.

ATKINSON, M. M.; BAKER, C.J. Role of the plasmalemma H⁺-ATPase in *Pseudomonas syringae*-induced K⁺/H⁺ exchange in suspension-cultured tobacco cells. *Plant Physiol.* v. 91, p. 298-303, 1989.

ATKINSON, M. M.; KEPPLER, L.D.; ORLANDI, E.W.; BAKER, C.J.; MISCHKE, C.F. Involvement of plasma membrane in calcium influx in bacterial induction of the K⁺/H⁺ and the hypersensitive response in tobacco. *Plant Physiol.* v. 92, p. 215-221, 1990.

AU, T. K.; CHICK, W.S.H.; LEUNG, P.C. The biology of ophiobolins. *Life Sci.* v. 67, p. 733-742, 2000.

AUDENAERT, K.; PATTERY, T.; CORNELIS, P.; HÖFTE, M. Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas*

aeruginosa 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 15, n. 11, p. 1.147-1.156, 2002.

AVDIUSHKO, S.A.; YE, X.S.; HILDEBRAND, D.F.; KUC, J. Induction of lipoxygenase activity in immunized cucumber plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 42, v. 2, p. 83-95, 1993.

AYERS, A.E.; VALENT, B.; EBEL, J.; ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interaction. XI. Composition and structure of wall released elicitor fractions. *Plant Physiol.* v. 57, p. 766-774, 1979.

BACHMANN, A.S.; MATILE, PH.; SLUSARENKO, A.J. Inhibition of ornithine decarboxylase activity by phaseolotoxin: implications for symptom production in halo blight of French bean. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 53, p. 287-299, 1998.

BAILEY, J.A.; MANSFIELD, J.W. *Phytoalexins*. Glasgow: Blackie, 1982. 334 p.

BAKER, B.; ZAMBRYSKI, P.; STASKAWICZ, B.J.; DINESH-KUMAR, S.P. Signaling in plant-microbe interactions. *Science* v. 276, p. 726-733, 1997.

BAKER, C.J.; BATEMAN, D.F. Cutin degradation by plant pathogenic fungi. *Phytopathology* v. 68, p. 1.577-1.584, 1978.

BAKER, C.J.; ORLANDI, E.W. Active oxygen and pathogenesis in plants. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*. St. Paul-MN: APS Press, 1999. p. 81-119.

BAKER, C.J.; NELSON, M.J.; SEQUEIRA, L.; KEEGSTRA, K.G. Chemical characterization of the lipopolysaccharide of *Pseudomonas solanacearum*. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 47, p. 1.096-1.100, 1984.

BAKER, C.J.; O'NEILL, N.R.; KEPPLER, L.D.; ORLANDI, E.W. Early responses during plant-bacteria interactions in tobacco cell suspensions. *Phytopathology* v. 81, p. 1.504-1.507, 1991.

BAKER, C.J.; ORLANDI, E.W.; MOCK, N.M. Harpin, an elicitor of the hypersensitive response in tobacco caused by *Erwinia amylovora*, elicits active oxygen production in suspension cells. *Plant Physiol.* v. 102, p. 1.341-1.343, 1993.

BALÁZS, E.; SZIRÁKI, I.; KIRÁLY, Z. The role of cytokinins in the systemic acquired resistance of tobacco hypersensitive to tobacco mosaic virus. *Physiol. Plant Pathol.* v. 11, p. 29-37, 1997.

BALLIO, A. Non-host-selective fungal phytotoxins: biochemical aspects of their mode of action. *Experientia* v. 47, p. 783-790, 1991.

BAO, W.; O'MALLEY, D.; WHETTEN, R.; SEDEROFF, R. A laccase associated with lignification in Loblolly pine xylem. *Science* v. 260, p. 672-674, 1993.

BAREA, S. Importance of hormones and root exsudates in mycorrhizal phenomena. In: GIANINAZZI-PEARSON; GIANINAZZI (Eds.). *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Paris: INRA, 1985.

BARKER, K.R.; PEDERSON, G.A.; WINDHAM, G.L. *Plant and Nematode Interactions*. Madison, WI, EUA: American Society of Agronomy, 1998. 771 p.

BARRAS, F.; BORTOLI-GERMAN, I.; BAUZAN, M.; ROUVIER, J.; GEY, C. Stereochemistry of the hydrolysis reaction catalyzed by endoglucanase Z from *Erwinia chrysanthemi*. *FEBS Lett.* v. 300, p. 145-148, 1992.

BARRAS, F.; VAN GIJSEMAN, F.; CHATERJEE, A.K. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot erwinias. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 32, p. 201-234, 1994.

BARRETT, K. J.; GOLD, S.E.; KRONSTAD, J.W. Identification and complementation of a mutation to constitutive filamentous growth in *Ustilago maydis*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 6, p. 274-283, 1993.

BASCHGES, R.; HOLLRICHER, K.; PANSTRUGA, R.; SIMONS, G.; WOLTER, M.; FRIJTERS, A.; VAN DAELEN, R.; VAN DER LEE, T. The barley *mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* v. 88, p. 695-705, 1997.

BAUER, D.W.; WEI, Z.M.; BEER, S.V. et al. *Erwinia chrysanthemi* Harpin_{Ech}: an elicitor of the hypersensitive response that contributes to soft rot pathogenesis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 8, p. 484-491, 1995.

BAUGHMAN, G.A.; JACOBS, J.D.; HOWELL, S.H. Cauliflower mosaic virus gene VI produces a symptomatic phenotype in transgenic tobacco plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 85, p. 733-737, 1988.

BEACHY, R.N.; LOESCH-FRIES, S.; TUMER, N.E. Coat protein mediated resistance against plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 28, p. 451-474, 1990.

BECKERMAN, J.L.; NAIDER, F.; EBBOLE, D.J. Inhibition of pathogenicity of the rice blast fungus by *Saccharomyces cerevisiae* α -factor. *Science* v. 276, p. 1.116-1.119, 1997.

BELL, A.A. Biochemical mechanisms of disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 32, p. 21-81, 1981.

BELL, C. et al. The *Medicago* genome initiative: a model legume database. *Nucleic Acids Res.* v. 29, p. 114-117, 2001.

BENDAHMANE, A.; KANYUKA, K.; BAULCOMBE, D.C. The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell* v. 11, p. 781-792, 1999.

BENDAHMANE, A.; QUERCI, M.; KANYUKA, K.; BAULCOMBE, D.C. *Agrobacterium* transient expression system as a tool for the isolation of disease resistance genes: application to the *Rx2* locus in potato. *Plant J.* v. 21, p. 73-81, 2000.

BENDER, C.L. Bacterial phytotoxins. *Meth. Microbiol.* v. 27, p. 169-192, 1998.

———. Chlorosis-inducing phytotoxins produced by *Pseudomonas syringae*. *Eur. J. Plant Pathol.* v. 105, p. 1-12, 1999.

BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defense pathways. *Trends Plant Sci.* v. 1, p. 233-240, 1996.

BENT, A. F. Plant disease resistance genes: function meets structure. *Plant Cell* v. 8, p. 1.757-1.771, 1996.

BENT, A.F.; KUNKEL, B.N.; DAHLBECK, D.; BROWN, K.L.; SCHIMIDT, R.; GIRAUDAT, J.; LEUNG, J.; STASKAWICZ, B.J. *RPS2* of *Arabidopsis thaliana* represents a new class of plant resistance gene. *Science* v. 265, p. 1.856-1.859, 1994.

BETHKE, P.C.; LONSDALE, J.E.; FATH, A. Hormonally regulated programmed cell death in barley aleurone cells. *Plant Cell* v.11, p. 1.033-1.045, 1999.

BHUVANESWARI, T.V.; PUEPPKE, S.G.; BAUER, W.D. Role of lectins in plant-microorganisms interactions. I. Binding of soybean lectins to *Rhizobia*. *Plant Physiol.* v. 60, p. 486-491, 1977.

BIDOCHKA, M.; BURKE, S.; NG, L. Extracellular hydrolytic enzymes in the fungal genus *Verticillium*: adaptations for pathogenesis. *Can. J. Microbiol.* v. 45, p. 856-864, 1999.

BILES, C.L.; WALL, M.M.; WAUGH, M. Relationship of *Phytophthora* fruit rot to fruit maturation and cuticle thickness of New Mexican-type peppers. *Phytopathology* v. 83, p. 607-611, 1993.

BIN, J.H.; JIANG, S.; HUANG, S.Q.; PAN, R.C. The relationship between methyl jasmonate induced anthracnose resistance of tobacco seedlings and phenylalanine ammonia-lyase activity and cell wall substances. *Acta Phytophysiol. Sin.* v. 26, p. 1-6, 2000.

BIRD, D.M.; OPPERMAN, C.H.; JONES, S.J.M. The *Caenorhabditis elegans* genome: a guide in the post genomics age. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 37, p. 247-65, 1999.

BIRDE, R.J.W.; CUTTING, C.V. *Fungal Pathogenicity and the Plant's Response*. New York: Academic Press, 1973. 499p.

BITTNER, E.P.D.; BEYNON, J.L. The *Arabidopsis* downy mildew resistance gene, RPP13-Nd, functions independently of NDR1 and EDS and does not require the accumulation of salicylic acid. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 14, p. 416-421, 2001.

BLANCHETTE, R.A. Screening wood decayed by white rot fungi for preferential lignin degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 48, p. 647-653, 1984.

BLANCHETTE, R.A.; OTJEN, L.; EFFLAND, M.J.; ESLYN, W.E. Changes in structural and chemical components of wood delignified by fungi. *Wood Sci. Tech.* v. 19, p. 35-46, 1985.

BLATTNER, F. et al. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K12. *Science* v. 277, p. 1.453-1.462, 1997.

BOHLOOL, B.B.; SCHMIDT, R. Lectins: possible basis for specificity in the *Rhizobium*-legume root nodule symbiosis. *Science* v. 185, p. 269-271, 1974.

BOL, J.F.; LINTHORST, H.J.M.; CORNELISSEN, B.J.C. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 28, p. 113-138, 1990.

BOL, J.F.; VAN ROSSUM, C.M.A.; CORNELISSEN, B.J.C.; LINTHORST, H.J.M. Induction of host genes by the hypersensitive response of tobacco to virus infection. In: PIRONE, T.P.; SHAW, J.G. (Eds). *Viral Genes and Plant Pathogenesis*. New York: Springer-Verlag, 1990. p. 1-12.

BONAS, U.; STALL, R.E.; STASKAWICZ, B.J. Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Mol. Gen. Genet.* v. 218, p. 127-136, 1989.

BOS, L. *Introduction to Plant Virology*. Londres: Longman Group Limited, 1983. 160 p.

BOSTOCK, R.M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 55, p. 99-109, 1999.

BOSTOCK, R.M.; KUC, J.A.; LAINE, R.A. Eicosapentaenoic and arachidonic acids from *Phytophthora infestans* elicit fungitoxic sesquiterpenes in potato. *Science* v. 212, p. 67-69, 1981.

BOTELLA, M.A.; PARKER, J.E.; FROST, L.N.; BITTNER-EDDY, P.D.; BEYNON, J.L.; DANIELS, M.J.; HOLUB, E.B.; JONES, J.D. Three genes of the *Arabidopsis RPP1* complex resistance locus recognize distinct *Peronospora parasitica* avirulence determinants. *Plant Cell* v. 10, p. 1.847-1.860, 1998.

BOUARAB, K.; MELTON, R.; PEART, J.; BAULCOMBE, D.; OSBOURN, A. A saponin-detoxifying enzyme mediates suppression of plant defences. *Nature* v. 418, p. 889-892, 2002.

BOUCHER, C.A. Pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* depends on *hrp* genes which govern the secretion of proteins mediating host/bacteria interactions. *Bulletin OEPP* v. 28, p. 81-82, 1998.

BOUCHER, C.A.; GOUGH, C.L.; ARLAT, M. Molecular genetics of pathogenicity determinants of *Pseudomonas solanacearum* with special emphasis on *hrp* genes. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 30, p. 443-461, 1992.

BOWDEN, R.L.; ROUSE, D.I. Effects of *Verticillium dahliae* on gas exchange of potato. *Phytopathology* v. 81, p. 293-301, 1991.

BOWYER, P.; CLARKE, B.R.; LUNNESS, P.; DANIELS, M.J.; OSBOURN, A.E. Host range of a plant pathogenic fungus

determined by a saponin detoxifying enzyme. *Science* v. 267, p. 371-374, 1995.

BRIGGS, S.P.; JOHAL, G. S. Genetic patterns of plant host-parasite interactions. *Trends Genetics* v. 10, p. 12-16, 1994.

BROGLIE, K.; CHET, I.; HOLLIDAY, M.; CRESSMAN, R.; BIDDLE, P.; KNOWLTON, S.; MAUVAIS, C.J.; BROGLIE, R. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science* v. 254, p. 1.194-1.197, 1991.

BROMMONSCHENKEL, S.H.; FRARY, A.; TANKSLEY, S.D. The broad-spectrum tospovirus resistance gene *Sw-5* of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene *Mi*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 1.130-1.138, 2000.

BRUEGGER, B.B.; KEEN, N. Specific elicitor of glyceollin accumulation in the *Pseudomonas glycinea*-soybean host-parasite system. *Physiol. Plant Pathol.* v. 15, p. 43-51, 1979.

BRUESKE, C.H.; BERGESON, G.B. Investigation of growth hormones in xylem exudate and root tissue of tomato infected with root-knot nematode. *J. Exp. Bot.* v. 23, p. 14-22, 1972.

BRUMBAUER, A.; JOHANSSON, C.; RECZEY, K. Study on heterogeneity of beta-glucosidase from *Aspergillus species* by using counter-current distribution. *J. Chromatography* v. 743, p. 247-254, 2000.

BRYAN, G.T.; WU, K.-S.; FARRALL, L. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *Plant Cell* v. 12, p. 2.033-2.045, 2000.

BUDDE, I.; ULLRICH, M.S. Interactions of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* with host and nonhost plants in relation to temperature and phytotoxin synthesis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 951-961, 2000.

BUELL, C.R. *Arabidopsis*: a weed leading the field of plant-pathogen interactions. *Plant Physiol. Biochem.* v. 36, p. 177-186, 1998.

BUSHNELL, W.R.; ROWELL, J.B. Suppressors of defense reactions: a model for roles in specificity. *Phytopathology* v. 71, p. 1.012-1.014, 1981.

CAHILL, D.M.; WARD, E.W.B. Rapid localized changes in abscisic acid concentrations in soybean in interactions with *Phytophthora*

megasperma f.sp. *glycinea* after treatment with elicitors. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 35, p. 483-493, 1989.

CAI, D.; KLEINE, M.; KFLE, S.; HARLOFF, H.-J.; SANDALS, N.N.; MARCKER, K.A.; KLEIN-LANKHORST, R.M.; SALENTJIN, E.M.J.; LANGE, W.; STIEKEMA, W.J.; WYSS, U.; GRUNDLER, F.M.W.; JUNG, C. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet. *Science* v. 275, p. 832-834, 1997.

CALAM, C.T. Secondary metabolism as an expression of microbial growth and development. *Folia Microbiol.* v. 24, p. 276-285, 1979.

CALDWELL, RM. *Breeding for general and/or specific plant disease resistance*. Proc. 3rd Internatl. Wheat Gen. Symp. Aus. Acad. Sci. Camberra, 1968. p. 263-272.

CALLOW, J.A. *Biochemical Plant Pathology*. Chichester: John Wiley and Sons, 1983. 346 p.

CAMONI, L.; GIORGIO, D.; MARRA, M.; ADUCCI, P.; BALLIO, A.; DI GIORGIO, D. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* phytotoxins reversibly inhibit the plasma membrane H⁺ATPase and disrupt unilamellar liposomes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* v. 214, p. 118-124, 1995.

CAO, H.; LI, X.; DONG, X. Generation of broad-spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 6.531-6.536, 1998.

CARRINGTON, J.C.; KASSCHAU, K.D.; MAHAJAN, S.K.; SCHAAD, M.C. Cell-to-cell and long distance transport of viruses in plants. *Plant Cell* v. 8, p. 1.669-1.681, 1996.

CENTURY, K.S.; SHAPIRO, A.D.; REPETTI, P.P.; DAHLBECK, D.; HOLUB, E.; STASKAWICZ, B.J. *NDR1*, a pathogen-induced component required for *Arabidopsis* disease resistance. *Science* v. 278, p. 1.963-1.965, 1997.

CHAI, H.B.; DOKE, N. Systemic activation of O₂⁻ generating reaction, superoxide dismutase, and peroxidase in potato plants in relation to induction of systemic resistance to *Phytophthora infestans*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.* v. 53, p. 585-590, 1987a.

_____. Superoxide anion generation: a response of potato leaves to infection with *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* v. 77, p. 645-649, 1987b.

CHANG, J.H.; TOBIAS, C.M.; STASKAWICZ, B.J.; MICHELMORE, R.W. Functional studies of the bacterial avirulence protein AvrPto by mutational analysis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 14, n. 4, p. 451-459, 2001.

CHAPMAN, M.R.; KAO, C.C. *EpsR* modulates production of extracellular polysaccharides in the bacterial wilt pathogen *Ralstonia* (*Pseudomonas*) *solanacearum*. *J. Bacteriol.* v. 180, p. 27-34, 1998.

CHEN, Z.; KLOEK, A.P.; BOCH, J.; KATAGIRI, F.; KUNKEL, B.N. The *Pseudomonas syringae* *avrRpt2* gene product promotes pathogen virulence from inside plant cells. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 1.312-1.321, 2000.

CHEN, Z.; SILVA, H.; KLESSIG, D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* v. 262, p. 1.883-1.886, 1993.

CHILTON, M.D.; SAIKI, R.K.; YADAV, M.; GORDON, M.P.; QUETIER, F. T-DNA from *Agrobacterium* Ti-plasmid in the nuclear DNA fraction of crown gall tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 77, p. 4.060-4.064, 1980.

CHITWOOD, D.J.; LUSBY, W.R. Metabolism of plant sterols by nematodes. *Lipids* v. 26, p. 619-627, 1991.

CITOVSKY, V.; KNORR, D.; SCHUSTER, G.; ZAMBRYNSKI, P. The P30 movement protein of tobacco mosaic virus is a single-strand nucleic acid binding protein. *Cell* v. 60, p. 637-647, 1990.

CLARK, A.E.; JONES, H.A.; LITTLE, T.M. Inheritance of bulb color in the onions. *Genetics* v. 29, p. 569-575, 1944.

CLARKE, S.F.; BURRITT, D.J.; JAMESON, P.E.; GUY, P.L. Influence of plant hormones on virus replication and pathogenesis-related proteins in *Phaseolus vulgaris* L. infected with white clover mosaic potexvirus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 53, p. 195-207, 1998.

CLARKE, S.F.; BURRITT, D.J.; JAMESON, P.E.; GUY, P.L. Effects of plant hormones on white clover mosaic potexvirus double-stranded RNA. *Plant Pathol.* v. 49, p. 428-434, 2000.

CLINE, K.; WADE, M.; ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interactions. XV. Fungal glucans which elicit phytoalexin accumulation in soybean

also elicit accumulation of phytoalexins in other plants. *Plant Physiol.* v. 62, p. 918-921, 1978.

CLOUGH, S. J.; FLAVIER, A.B.; SCHELL, M.A.; DENNY, T.P. Differential expression of virulence genes and motility in *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* during exponential growth. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 63, p. 844-850, 1997a.

CLOUGH, S. J.; LEE, K-E.; SCHELL, M.A.; DENNY, T.P. A two-component system in *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* modulates production of PhcA-regulated virulence factors in response to 3-hydroxypalmitic acid methyl ester. *J. Bacteriol.* v. 179, p. 3.639-3.648, 1997b.

CLOUGH, S.J.; FENGLER, K.A.; YU, I.-C. The *Arabidopsis* dnd1 "defense, no death" gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 97, p. 9.323-9.328, 2000.

COLLINS, N.C.; DRAKE, J.; AYLIFFE, M.; SUN, Q.; ELLIS, J.; HULBERT, S.H.; PRYOR, A. Molecular characterization of the maize *Rp1-D* rust resistance haplotype and its mutants. *Plant Cell* v. 11, p. 1.365-1.376, 1999.

COMAI, L.; KOSUGE, T. Involvement of plasmid deoxyribonucleic acid in indolacetic acid synthesis. *J. Bacteriol.* v. 143, p. 950-957, 1980.

COMMÉNIL, P.; BRUNET, L.; AUDRAN, J.-C. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *J. Exp. Bot.* v. 48, p. 1.599-1.607, 1997.

COOK, R.J. The molecular mechanisms responsible for resistance in plant-pathogen interactions of the gene-for-gene type function more broadly than previously imagined. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 9.711-9.712, 1998.

COOPER, R.M. The mechanisms and significance of enzymatic degradation of host cell walls by parasites. In: CALLOW, J.A. (Ed.). *Biochemical Plant Pathology*. London: John Wiley & Sons, 1983. p. 101-135.

COOPER, R.M.; RESENDE, M.L.V.; FLOOD, J.; ROWAN, M.G.; BEALE, M.H.; POTTER U. Detection and cellular localization of elemental sulphur in disease-resistant genotypes of *Theobroma cacao*. *Nature* v. 379, p. 159-162, 1996.

COPLIN, D.L.; COOK, D. Molecular genetics of extracellular polysaccharide biosynthesis in vascular phytopathogenic bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 3, p. 271-279, 1990.

CORNELIS, G.R.; VAN GIJSEGEM, F. Assembly and function of type III secretory systems. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 54, p. 735-774, 2000.

COSIO, E.G.; FREY, T.; EBEL, J. Identification of a high-affinity binding protein for hepta-glucoside phytoalexin elicitor in soybean. *Eur. J. Biochem.* v. 204, p. 1.115-1.123, 1992.

COSTA, A.S.; MÜLLER, G.W. Tristeza control by cross protection: a US-Brazil cooperative success. *Plant Dis.* v. 64, p. 538-541, 1980.

COTTER, P.A.; MILLER, J.F. Triggering bacterial virulence. *Science* v. 273, p. 1.183-1.184, 1996.

COWAN, A.K.; RICHARDSON, G.R.; MAUREL, J.C.G. Stress-induced abscisic acid transients and stimulus-reponse-coupling. *Physiol. Plantarum* v. 100, p. 491-499, 1997.

CREELMAN, R.A.; MULLET, J.E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 48, p. 355-381, 1997.

CROFT, K.P.C.; VOISEY, C.R.; SLUSARENKO, A.J. Mechanism of hypersensitive cell collapse: correlation of increased lipoxygenase activity with membrane damage in leaves of *Phaseolus vulgaris* (L.) inoculated with an avirulent race of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 36, p. 49-62, 1990.

CRUICKSHANK, I.A.M. Phytoalexins. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 1, p. 351-374, 1963.

CRUICKSHANK, I.A.M.; PERRIN, D.R. Isolation of a phytoalexin from *Pisum sativum* L. *Nature* v. 187, p. 799-800, 1960.

CRUICKSHANK, I.A.M.; PERRIN, D.R. The isolation and partial characterization of monilicolin A, a polypeptide with phaseollin-inducing activity from *Monilinia fructicola*. *Life Sci.* v. 7, p. 449-458, 1968.

CRUTE, I.R.; HOLUB, E.B.; BURDON, J.J. *The Gene-for-Gene Relationship in Plant-Parasite Interactions*. London: CAB International, 1997. 427 p.

CULVER, J.N.; DAWSON, W.O. Tobacco mosaic virus coat protein: an elicitor of the hypersensitive reaction but not required for the development of mosaic symptoms in *Nicotiana sylvestris*. *Virology* v. 173, p. 755-758, 1989.

CULVER, J.N. Viral avirulence genes. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*, vol. 2. New York: Chapman Hall, 1996. p. 196-219.

DA SILVA, A. C. R.; FERRO, J. A.; REINACH, F. C. Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nature* v. 417, p. 459-463, 2002.

DANGL, J.L. The major histocompatibility complex a la carte: are there analogies to plant disease resistance genes on the menu? *Plant J.* v. 2, p. 3-11, 1992.

_____. Pièce de resistance: novel class of plant disease resistance genes. *Cell* v. 80, p. 363-366, 1995.

_____. Innate immunity: plants just say no to pathogens. *Nature* v. 394, p. 525-527, 1998.

_____. Long view from a high plateau. *Nature* v. 401, p. 543-544, 1999.

DANGL, J.L.; DIETRICH, R.A.; RICHBERG, M.H. Death don't have no mercy: cell death programs in plant-microbe interactions. *Plant Cell* v. 8, p. 1.793-1.807, 1996.

DARVILL, A.G.; ALBERSHEIM, P. Phytoalexins and their elicitors: a defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 35, p. 243-275, 1984.

DAS, A.; XIE, Y.H. The *Agrobacterium* T-DNA transport pore proteins *VirB8*, *VirB9*, and *VirB10* interact with one another. *J. Bacteriol.* v. 182, p. 758-763, 2000.

DAUB, M.E.; EHRENSHAFT, M. The photoactivated *Cercospora* toxin cercosporin: contributions to plant disease and fundamental biology. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 38, p. 461-490, 2000.

DAUB, M.E.; HANGARTER, R.P. Light-induced production of singlet oxygen and superoxide by the fungal toxin, cercosporin. *Plant Physiol.* v. 73, p. 855-857, 1983.

DAUBERT, S.D.; SCHOELZ, J.; DEBAO, L.; SHEPHERD, R.J. Expression of disease symptoms in cauliflower mosaic virus genomic hybrids. *J. Mol. Appl. Genet.* v. 2, p. 537-547, 1984.

DAVIS, J.M.; WU, H.; COOKE, J.E.K.; REED, J.M.; LUCE, K.S.; MICHLER, C.H. Pathogen challenge, salicylic acid and jasmonic acid regulate expression of chitinase gene homologs in pine. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 15, p. 380-387, 2002.

DAVIS, K.R.; HAMMERSCHMIDT, R. *Arabidopsis thaliana* as a Model for Plant-Pathogen Interactions. St. Paul, MN: APS Press, 1993. 134p.

DAVIS, R.J. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* v. 103, p. 239-252, 2000.

DAWSON, W.O.; BUBRICK, P.; GANTHAM, G.L. Modification of the tobacco mosaic virus coat protein gene affecting replication, movement and symptomatology. *Phytopathology* v. 78, p. 783-789, 1988.

DAWSON, W.O.; LEWANDOWSKI, D.J.; HILF, M.E.; BUBRICK, P.; RAFFO, A.J.; SHAW, J.J.; GANTHAM, G.L.; DESJARDINS, P.R. A tobacco mosaic virus-hybrid expresses and losses an added gene. *Virology* v. 172, p. 285-292, 1989.

DAY, P.R. *Genetics of Host-Parasite Interaction*. San Francisco: W.H. Freeman Co., 1974. 238 p.

DE BUCK, S.; JACOBS, A.; VAN MONTAGU, M.; DEPICKER, A. The DNA sequences of T-DNA junctions suggest that complex T-DNA loci are formed by a recombination process resembling T-DNA integration. *Plant J.* v. 20, p. 295-304, 1999.

DE FEYTER, R.; GABRIEL, D.W. At least six avirulence genes are clustered on a 90-kilobase plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 4, p. 423-432, 1991.

DE LA FUENTE-MARTINEZ, J.M.; HERRERA-ESTRELLA, L. Strategies to design transgenic plants resistant to toxins produced by pathogens. *AgBiotech News and Information* v. 5, p. 295-299, 1993.

DE LAAT, A.M.M.; VAN LOON, L.C. The relationship between stimulated ethylene production and symptom expression in virus-infected tobacco leaves. *Physiol. Plant Pathol.* v. 22, p. 261-273, 1983.

DE MEYER, G.; CAPIEU, K.; AUDENAERT, K; BUCHALA, A; MÉTERAUX, JP; HOFTE, M. Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. *Mol. Plant Microbe Interact.* v. 12, p. 450-458, 1999.

DE VRIES, R.P.; VISSER, J. *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* v. 65, p. 497-522, 2001.

DE WIT, P.J.G.M. Molecular characterization of gene-for-gene systems in plant-fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 30, p. 391-418, 1992.

———. On guard. *Nature.* v. 416, p. 801-803, 2002.

DE WIT, P.J.G.M.; SPIKMAN, G. Evidence for the occurrence of race- and cultivar-specific elicitors of necrosis in intercellular fluids of compatible interactions between *Cladosporium fulvum* and tomato. *Physiol. Plant Pathol.* v. 21, p. 1-11, 1982.

DEAN, R.A. Signal pathways and appressorium morphogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 35, p. 211-234, 1997.

DEGOUSEE, N.; TRIANTAPHYLIDES, C.; MONTILLET, J.L. Involvement of oxidative processes in the signalling mechanisms leading to the activation of glyceollin synthesis in soybean. *Plant Physiol.* v. 104, p. 945-952, 1994.

DELANEY, T.P.; FRIEDRICH, L.; RYALS, J.A. *Arabidopsis* signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 92, p. 6.602-6.606, 1995.

DELLEDONNE, M.; XIA, Y.; DIXON, R.A.; LAMB, C. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature* v. 394, p. 585-588, 1998.

DELORENZO, G.; D'OVIDIO, R.; CERVONE, F. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 39, p. 313-335, 2001.

DELSERONE, L.M.; MCCLUSKEY, K.; MATTHEWS, D.E.; VANETTEN, H.D. Pisatin demethylation by fungal pathogens and nonpathogens of pea: association with pisatin tolerance and virulence. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 55, p. 317-326, 1999.

DENG, W.-L.; HUANG, H.-C. Cellular locations of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* HrcC and HrcJ proteins, required for harpin secretion via the type III pathway. *J. Bacteriol.* v. 181, p. 2.298-2.301, 1999.

DENNY, T.P.; BAEK, S.-R. Genetic evidence that extracellular polysaccharide is a virulence factor of *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 4, p. 198-206, 1991.

DENNY, T.P. Involvement of bacterial polysaccharides in plant pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 33, p. 173-197, 1995.

DENNY, T.P.; CARNEY, B.F.; SCHELL, M.A. Inactivation of multiple virulence genes reduces the ability of *Pseudomonas solanacearum* to cause wilt symptoms. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 3, p. 293-300, 1990.

DENNY, T.P.; GANOVA, R.L.M.; HUANG, J.; SCHELL, M.A. Cloning and characterization of *tek*, the gene encoding the major extracellular protein of *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 9, p. 272-281, 1996.

DENNY, T.P. Autoregulator-dependent control of extracellular polysaccharide production in phytopathogenic bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* v. 105, p. 417-430, 1999.

DERCKEL, J.P.; BAILL'EUL, F.; MANTEAU, S.; AUDRAN, J.C.; HAYE, B.; LAMBERT, B.; LEGENDRE, L. Differential induction of grapevine defenses by two strains of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* v. 89, p. 197-203, 1999.

DEVERALL, B.J. *Defense Mechanisms in Plants*. London: Cambridge Univ. Press, 1977. 110p.

DEVLIN, W.S.; GUSTINE, D.L. Involvement of the oxidative burst in phytoalexin accumulation and the hypersensitive reaction. *Plant Physiol.* v. 100, p. 1.189-1.195, 1992.

DEZWAAN, T.M.; CARROLL, A.M.; VALENT, B.; SWEIGARD, J.A. *Magnaporthe grisea* Pth11p is a novel plasma membrane protein that mediates appressorium differentiation in response to inductive substrate cues. *Plant Cell* v. 11, p. 2.013-2.030, 1999.

DIANESE, J.C.; SANTOS, L.T.P. Atividade pectolítica das patovares de *Xanthomonas campestris* que afetam a mandioca. *Rev. Microbiol.* v. 16, p. 195-202, 1985.

DICKMAN, M.B.; PODILA, G.K.; KOLATTUKUDY, P.E. Insertion of cutinase gene into a wound pathogen enables it to infect intact host. *Nature* v. 342, p. 446-448, 1989.

DIETRICH, A.; MAYER, J.E.; HAHLBROCK, K. Fungal elicitors triggers rapid and specific protein phosphorylation in parsley cell suspension culture. *J. Biol. Chem.* v. 265, p. 6.360-6.368, 1990.

DIMOND, A.E. Biophysics and biochemistry of the vascular wilt syndrome. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 8, p. 301-322, 1970.

DINESH-KUMAR, S.P.; BAKER, B. Alternatively spliced N resistance gene transcripts: their possible role in tobacco mosaic virus resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 97, p. 1.908-1.913, 2000.

DIXON, M.S.; GOLSTEIN, C.; THOMAS, C.M.; VAN-DER-BIEZEN, E.A.; JONES, J.D.G. Genetic complexity of pathogen perception by plants: the example of *Rcr3*, a tomato gene required specifically by *Cf-2*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 97, p. 8.807-8.814, 2000.

DIXON, M.S.; HATZIXANTHIS, K.; JONES, D.A.; HARRISON, K.; JONES, J.D. The tomato *Cf-5* disease resistance gene and six homologues show pronounced allelic variation in leucine-rich repeat copy number. *Plant Cell* v. 10, p. 1.915-1.925, 1998.

DIXON, M.S.; KEDDIE, J.S.; JONES, D.A.; HARRISON, K.; JONES, J.D.G. The tomato *Cf-2* disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. *Cell* v. 84, p. 451-459, 1996.

DIXON, R.A.; LAMB, C.J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 41, p. 339-367, 1990.

DIXON, R.A.; DEY, P.M.; LAMB, C.J. Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol.* v. 55, p. 1-136, 1983.

DODDS, P.N.; LAWRENCE, G.J.; ELLIS, J.G. Six amino acid changes confined to the leucine-rich repeat β -strand/ β -turn motif determine the difference between the *P* and *P2* rust resistance specificities in flax. *Plant Cell* v. 13, p. 163-178, 2001.

DOKE, N.; CHAI, H.B. Activation of superoxide generation and enhancement of resistance against compatible races of *Phytophthora infestans* in potato plants treated with digitonin. *Physiol. Plant Pathol.* v. 27, p. 323-334, 1985.

DOKE, N.; OHASHI, Y. Involvement of an O_2^- generating system in the induction of necrotic lesions on tobacco leaves infected with tobacco mosaic virus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 32, p. 163-175, 1988.

DOKE, N. NADPH-dependent O_2^- generation in membrane fractions isolated from wounded potato tubers inoculated with *Phytophthora infestans*. *Physiol. Plant Pathol.* v. 27, p. 311-322, 1985.

DONG, X. Finding the missing pieces in the puzzle of plant resistance genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 92, p. 7.137-7.139, 1995.

DORI, S.; SOLEL, Z.; BARASH, I. Cell wall-degrading enzymes produced by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in vitro and in vivo. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 46, p. 189-198, 1995.

DOW, M.; NEWMAN, M.A.; VON ROEPENACK, E. The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 38, p. 241-261, 2000.

DOYLE, E.A.; LAMBERT, K.N. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific pectate lyase from the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 15, p. 549-556, 2002.

DUFRESNE, M.; BAILEY, J.A.; DRON, M.; LANGIN, T. *Clk1*, a serine/threonine protein kinase-encoding gene, is involved in pathogenicity of *Colletotrichum lindemuthianum* on common bean. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 11, p. 99-108, 1998.

DUMAS, E.; LHERMINIER, J.; GIANINAZZI, S.; WHITE, R.F.; ANTONIWI, J.F. Immunocytochemical location of pathogenesis related b1 protein induced in tobacco mosaic virus-infected or polyacrylic acid-treated tobacco plants. *J. Gen. Virol.* v. 69, p. 2.687+2.694, 1988.

DURBIN, R.D. *Toxins in Plant Disease*. New York: Academic Press, 1981. 515 p.

DURNER, J.; WENDEHENNE, D.; KLESSIG, D.F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 10.328-10.333, 1998.

DUSHAY, M.S.; ELDON, E.D. Insights from model systems: *Drosophila* immune responses as models for human immunity. *Am. J. Hum. Genet.* v. 62, p. 10-14, 1998.

EBEL, D.; SCHELL, R. Elicitor recognition and signal transduction. In: BOLLER, T.; MEINS, F. (Eds.). *Genes Involved in Plant Defense*. New York: Springer-Verlag, p. 184-205, 1992.

ECKER, J.R.; DAVIS, R.W. Plant defense genes are regulated by ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 84, p. 5.202-5.206, 1987.

EFFERTZ, R.J.; MEINHARDT, S.W.; ANDERSON, J.A.; JORDHAL, J.G.; FRANCL, L.J. Identification of a chlorosis-inducing toxin from *Pyrenophora tritici-repentis* and the chromosomal location of an insensitivity locus in wheat. *Phytopathology* v. 92, p. 527-533, 2002.

EKLOF, S.; ASTOT, C.; SITBON, F.; MORITZ, T.; OLSSON, O.; SANDBERG, G. Transgenic tobacco plants co-expressing *Agrobacterium iaa* and *ipt* genes have wild-type hormone levels but display both auxin- and cytokinin-overproducing phenotypes. *Plant J.* v. 23, p. 279-284, 2000.

ELLINGBOE, A.H. Genetical aspects of active defense. In: WOOD, R.K.S. (Ed.). *Active Defense Mechanisms in Plants*. London: Plenum Press, 1982.

_____. Segregation of avirulence/virulence on three rice cultivars in 16 crosses of *Magnaporthe grisea*. *Phytopathology* v. 82, p. 597-601, 1992.

_____. Genic interactions in hosts and pathogens. In: MILLS, D.; KUNOH, H.; KEEN, N.T.; MAYAMA, S. (Eds.). *Molecular Aspects of Pathogenicity and Resistance*. St. Paul: APS Press, 1996. p. 33-46.

_____. Plant-pathogen interactions: genetic and comparative analyses. *Eur. J. Plant Pathol.* v. 107, p. 79-84, 2001.

ELSTNER, E.F.; WAGNER, G.A.; SCHUTZ, W. Activated oxygen in green plants in relation to stress situations. *Plant Biochem. Physiol.* v. 7, p. 159-187, 1988.

EPPEL, P.; APEL, K.; BOHLMANN, H. Overexpression of an endogenous thionin enhances resistance of *Arabidopsis* against *Fusarium oxysporum*. *Plant Cell* v. 9, p. 509-520, 1997.

ESAU, K.; CRONSHAW, J. Relation of tobacco mosaic virus to the host cells. *J. Cell Biol.* v. 33, p. 665-678, 1967.

ET-TOUIL, A.; BRASIER, C.M.; BERNIER, L. Localization of a pathogenicity gene in *Ophiostoma novo-ulmi* and evidence that it may be introgressed from *O. ulmi*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 12, p. 6-15, 1999.

EVANS, I.J.; GREENLAND, A.J. Transgenic approaches to disease protection: applications of antifungal proteins. *Pesticide Sci.* v. 54, p. 353-359, 1998.

EVANS, S.M.; WILSON, I.M. The anther smut of sea campion, a study of the role of growth regulators in the dwarfing symptom. *Ann. Bot. London* v. 35, p. 543-553, 1971.

EVIDENTE, A.; SURICO, G. Isolation of indole-3-aldehyde from *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. *Journal of Natural Products (Lloydia)* v. 49, p. 938-939, 1986.

FALK, A.; FEYS, B.J.; FROST, L.N.; JONES, J.D.G.; DANIELS, M.J.; PARKER, J.E. *EDS1*, an essential component of R gene-mediated disease resistance in *Arabidopsis* has homology to eukaryotic lipases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 96, p. 3.292-3.297, 1999.

FAN, C.Y.; KOLLER, W. Diversity of cutinases from plant pathogenic fungi: differential and sequential expression of cutinolytic esterases by *Alternaria brassicicola*. *FEMS Microbiol. Lett.* v. 158, p. 33-38, 1998.

FARMER, E.E.; RYAN, C.A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell* v. 4, p. 129-134, 1992.

FELIX, G.; GROSSKOPF, D.G.; REGENASS, M.; BOLLER, T. Rapid changes of protein phosphorylation are involved in transduction of the elicitor signal in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 88, p. 8.831-8.834, 1991.

FERNANDO, G.; ZIMMERMAN, W.; KOLATTUKUDY, P.E. Suberin-grown *Fusarium solani* f.sp. *pisi* generates a cutinase-like esterase which depolymerizes the aliphatic components of suberin. *Physiol. Plant Pathol.* v. 24, p. 143-155, 1984.

FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. (Eds.). *Fundamental Virology*. 3. ed. New York: Lippincott-Raven Pub., 1996. 1.340 p.

FINDLAY, J.B.C. *Membrane Protein Models*. Oxford: Bios Sci. Publ., 1996.

FINK, W.; LIEFLAND, M.; MENDGEN, K. Comparison of various stress responses in oat in compatible and nonhost resistant interactions with rust fungi. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 37, p. 309-321, 1990.

FITCHEN, J.H.; BEACHY, R.N. Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 47, p. 739-763, 1993.

FLINT, S.J.; ENQUIST, L.W.; KRUG, R.M.; RACANIELLO, V.R.; SKALKKA, A.M. *Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control*. Washington-DC: ASM Press, 2000. 804 p.

FLOR, H.H. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*. *J. Agric. Res.* v. 73, p. 335-337, 1946.

_____. Inheritance of reaction to rust in flax. *J. Agric. Res.* v. 74, p. 241-262, 1947.

_____. Host-parasite interactions in flax rust- its genetics and other implications. *Phytopathology* v. 45, p. 680-685, 1955.

FRASER, R.S.S. Genetics of plant resistance to viruses. In: *Plant Resistance to Viruses*. Ciba Foundation Symposium 133. John Wiley and Sons, p. 6-22, 1987.

FREEMAN, S.; RODRIGUEZ, R.J. Genetic conversion of a fungal pathogen to a nonpathogenic endophytic mutualist. *Science* v. 260, p. 75-78, 1993.

FREY, M.; CHOMET, P.; GLAWISCHNIG, E.; STETTNER, C.; GRUEN, S.; WINKLMAIR, A.; EISENREICH, W.; BACHER, A.; MEELEY, R.B.; BRIGGS, S.P.; SIMCOX, K.; GIERL, A. Analysis of a chemical plant defense mechanism in grasses. *Science* v. 277, p. 696-699, 1997.

FRIEND, J.; THRELFALL, D.R. *Biochemical Aspects of Plant Parasite Relationships*. London: Academic Press, 1976. 354p.

GABRIEL, D.W.; ROLFE, B.G. Working models of specific recognition in plant-microbe interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 28, p. 365-391, 1990.

GABRIEL, D.W. The *Xanthomonas avr/ptg* gene family. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*. Vol. 4. St. Paul-MN: APS Press, 1999. p. 39-56.

_____. Why do pathogens carry avirulence genes? *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 55, p. 205-214, 1999.

GABRIEL, D.W.; BURGESS, A.; LAZD, G.R. Gene-for-gene interactions of five cloned avirulence genes from *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* with specific resistance genes in cotton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 83, p. 6.415-6.419, 1986.

GAFFNEY, T.; FRIEDRICH, L.; VERNOOIJ, B.; NEGROTTTO, D.; NYE, G.; UKNES, S.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Requirement

of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science* v. 261, p. 754-756, 1993.

GAFFNEY, T.D.; COSTA E SILVA, O.; YAMADA, T.; KOSUGE, T. Indoleacetic acid operon of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*: transcription analysis and promoter identification. *J. Bacteriol.* v. 172, p. 5.593-5.601, 1990.

GALIBERT, F. et al. The composite genome of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. *Science* v. 293, p. 668-672, 2001.

GAMAS, P.; NIEBEL, F.C.; LESCURE, N.; CULLIMORE, J.V. Use of a subtractive hybridization approach to identify new *Medicago truncatula* genes induced during root nodule development. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 9, p. 233-242, 1996.

GANGULY, A.K.; RAJAN, S.; DASGUPTA, D.R. Development of auxin, cytokinin and abscisic acid-like substances in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infected tomato root. *Indian J. Nematol.* v. 18, p. 158-159, 1988.

GAO, B.; ALLEN, R.; MAIER, T.; DAVIS, E.L.; BAUM, T.J.; HUSSEY, R.S. Identification of a new beta-1,4-endoglucanase gene expressed in the esophageal subventral gland cells of *Heterodera glycines*. *J. Nematol.* v. 34, p. 12-15, 2002.

GAO, S.; NUSS, D.L. Distinct roles for two G protein alpha subunits in fungal virulence, morphology, and reproduction revealed by targeted gene disruption. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 93, p. 14.122-14.127, 1996.

GAO, S.; CHOI, G.H.; SHAIN, L.; NUSS, D.L. Cloning and targeted disruption of *enpg-1*, encoding the major *in vitro* endopolygalacturonase of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 62, p. 1.984-1.990, 1996.

GARDAN, L.; DAVID, C.; MOREL, M.; GLICKMANN, E.; ABU-GHORRAH, M.; PETIT, A.; DESSAUX, Y. Evidence for a correlation between auxin production and host plant species among strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 58, p. 1.780-1.783, 1992.

GARDINER, W.E.; SUNTER, G.; BRAND, L.; ELMER, J.S.; ROGERS, S.G.; BISARO, D.M. Genetic analysis of tomato golden mosaic virus:

the coat protein is not required for systemic spread or symptom development. *EMBO J.* v. 7, p. 899-904, 1988.

GASSMANN, W.; HINSCH, M.E.; STASKAWICZ, B.J. Identification and characterization of the *Rps4* disease resistance gene. In: IXth International Conference on Arabidopsis Research. University of Wisconsin-Madison, 1998. p. 512.

GASSMANN, W.; HINSCH, M.E.; STASKAWICZ, B.J. The *Arabidopsis* RPS4 bacterial-resistance gene is a member of the TIR-NBS-LRR family of disease-resistance genes. *Plant J.* v. 20, p. 265-277, 1999.

GAÜMANN, E. The mechanism of fusaric acid injury. *Phytopathology* v. 48, p. 670-686, 1958.

GE, M.-H.; XU, F.-Y.; ZHANG, P.; XU, W.-L.; XU, K.-Q.; GE, M.H.; XU, F.Y. Studies on *Pinus massoniana* and *Pinus thunbergii* resistance to the pine wood nematode (PWN) induced by hormones, calcium, salicylic acid and ammonium. *J. Jiangsu Forest. Sci. Technol.* v. 26, p. 7-12, 1999.

GILCHRIST, D G. Programmed cell death in plant disease: the purpose and promise of cellular suicide. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 36, p. 393-414, 1998.

GLAZEBROOK, J.; AUSUBEL, F.M. Isolation of a phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 91, p. 8.955-8.959, 1994.

GLAZENER, J.; ORLANDI, E.; BAKER, C. The active oxygen response of cell suspensions to incompatible bacteria is not sufficient to cause hypersensitive cell death. *Plant Physiol.* v. 110, p. 759-763, 1996.

GLAZER, I.; PESTEIN, E.; ORION, D.; APELBAUM, A. Interactions between auxin and ethylene in root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) infected tomato roots. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 28, p. 171-179, 1986.

GOETHALS, K.; VEREECKE, D.; JAZIRI, M.; VAN MONTAGU, M.; HOLSTERS, M. Leafy gall formation by *Rhodococcus fascians*. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 39, p. 27-52, 2001.

GOFF, S.A. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* v. 296, p. 92-100, 2002.

GOLD, S.E.; GARCIA-PEDRAJAS, M.; MARTINEZ-ESPINOZA, A.D. New (and used) approaches to the study of fungal pathogenicity. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 39, p. 337-365, 2001.

GOMEZ-GOMEZ, L.; BOLLER, T. An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol. Cell* v. 5, p. 1.003-1.011, 2000.

GOODMAN, R.N.; NOVACKY, A.J. *The Hypersensitive Reaction in Plants to Pathogens: a resistance phenomenon*. St. Paul-MN: APS Press, 1994. 244p.

GOODMAN, R.N.; KIRÁLY, Z.; ZAITLIN, M. *The Biochemistry and Physiology of Infectious Plant Disease*. Princenton, N.J.: Van Nostrand-Reinhold, Inc., 1967. 354p.

GOPALAN, S.; BAUER, D.W.; ALFANO, J.R.; LONIELLO, A.O.; HE, S.Y.; COLLMER, A. Expression of the *Pseudomonas syringae* avirulence protein *avr8* in plant cells alleviates its dependence on the hypersensitive response and pathogenicity (*Hrp*) secretion system in eliciting genotype-specific hypersensitive cell death. *Plant Cell* v. 8, p. 1.095-1.105, 1996.

GORLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KAGEL, K.H.; OOSTENDROP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiazole: a novel class of inducers of systemic acquired resistance in wheat. *Plant Cell* v. 8, p. 629-643, 1996.

GÖTESSON, A.; MARSHALL, J. S.; JONES, D.A.; HARDHAM, A.R. Characterization and evolutionary analysis of a large polygalacturonase gene family in the oomycete plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 15, p. 907-921, 2002.

GRAHAM, M.A.; MAREK, L.F.; LOHNES, D. CREGAN, P.; SHOEMAKER, R.C. Expression and genome organization of resistance gene analogs in soybean. *Genome* v. 43, p. 86-93, 2000.

GRAHAM, T.L.; SEQUEIRA, L.; HUANG, T.R. Bacterial lipopolysaccharides as inducers of disease resistance in tobacco. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 34, p. 424-432, 1977.

GRANELL, A.; BELLES, J.M.; CONEJERO, V. Induction of pathogenesis-related proteins in tomato by citrus exocortis viroid, silver ion, and ethephon. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 31, p. 83-90, 1987.

GRANT, M.; BROWN, I.; ADAMS, S.; KNIGHT, M.; AINSLIE, A.; MANSFIELD, J. The *RPM1* plant disease resistance gene facilitates a rapid and sustained increase in cytosolic calcium that is necessary for the oxidative burst and hypersensitive cell death. *Plant J.* v. 23, p. 441-450, 2000.

GRANT, M.R.; GODIARD, L.; STAUBE, E.; ASHFIELD, T.; LEWALD, J.; SATTLER, A.; INNES, R.W.; DANGL, J.L. Structure of the *Arabidopsis RPM1* gene enabling dual specificity disease resistance. *Science* v. 269, p. 843-846, 1995.

GRAYBOSCH, R.; HELLMANN, G.M.; SHAW, J.G.; RHOADS, R.E.; HUNT, A.G. Expression of a potyvirus non-structural protein in transgenic tobacco. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* v. 160, p. 425-432, 1989.

GREENBERG, J.T. Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 48, p. 525-45, 1997.

GRIMAUULT, V.; VIAN, B.; PERINO, C. et al. Degradation patterns of pectic substrates related to the localization of bacterial pectate-lyases in the model *Erwinia chrysanthemi/Saintpaulia ionantha*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 51, p. 45-63, 1997.

GROENENDIJK, J.; DIERGAARDE, P.; REIJANS, M.; FIERENS-ONSTENK, J.; DEBOTH, M.; PELEMAN, J.; LIHARSKA, T.; HONTELEZ, J.; ZABEAU, M. The tomato *Mi-1* gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids. *Nat. Biotechnol.* v. 16, p. 1.365, 1998.

GROSS, D.C. Molecular and genetic analysis of toxin production by pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 29, p. 247-278, 1991.

GRUBE, R.C.; RADWANSKI, E.R.; JAHN, M. Comparative genetics of disease resistance within the solanaceae. *Genetics* v. 155, p. 873-887, 2000.

GUEVARA-LARA, F.; VALVERDE, M.E.; PAREDES-LOPEZ, O. Is pathogenicity of *Ustilago maydis* (huítlacoche) strains on maize related to in vitro production of indole-3-acetic-acid? *World J. Microbiol. Biotechnol.* v. 16, p. 481-490, 2000.

HAARD, N.F. Isolation and partial characterization of auxin protectors from *Synchytrium endobioticum* incited tumors in potato. *Physiol. Plant Pathol.* v. 13, p. 223-232, 1978.

HAHN, M.G. Microbial elicitors and their receptors in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 34, p. 387-412, 1996.

HAIN, R.; REIF, H.J.; KRAUSE, E.; LANGEBAEDEL, R.; KINDL, H.; VORNAM, B.; WIESE, W.; SCHMEIZER, E.; SCHREIER, P.H.; STOCKER, R.H.; STENZEL, K. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* v. 361, p. 153-156, 1993.

HAMILTON, R.I. Defense triggered by previous invaders: viruses. In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. (Eds.). *Plant Disease: an Advanced Treatise*, v. 5. New York: Academic Press, 1980. p. 279-303.

HAMMERSCHMIDT, R.; KAGAN, I.A. In this issue "Phytoalexins into the 21st century". *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 59, p. 59-61, 2001.

HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. 1995. *Induced Resistance to Disease in Plants*. Dordrecht, Kluwer, 1995. 182 p.

HAMMERSCHMIDT, R. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 55, p. 77-84, 1999a.

_____. Phytoalexins: what have we learned after 60 years? *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 37, p. 285-306, 1999b.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell* v. 8, p. 1.773-1.791, 1996.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1.102-1.156.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, D.A.; JONES, J.D.G. Esnaring microbes: the components of plant disease resistance. *New Phytol.* v. 133, p. 11-24, 1996.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; SILVERMAN, P.; RASKIN, I.; JONES, J.D.G. Race-specific elicitors of *Cladosporium fulvum* induce changes

in cell morphology and the synthesis of ethylene and salicylic acid in tomato plants carrying the corresponding *Cf* disease resistance gene. *Plant Physiol.* v. 110, p. 1.381-1.384, 1996.

HAPFELMEIER, S.; DOMKE, N.; ZAMBRYSKI, P.C.; BARON, C. *VirB6* is required for stabilization of *VirB5* and *VirB3* and formation of *VirB7* homodimers in *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bacteriol.* v. 182, p. 4.505-4.511, 2000.

HARDING, S.A.; OH, S.-H.; ROBERTS, D.M. Transgenic tobacco expressing a foreign calmodulin gene shows an enhanced production of active oxygen species. *EMBO J.* v. 16, p. 1.137-1.144, 1997.

HATZILOUKAS, E.; PANOPOULOS, N.J. Origin, structure and regulation of *arg K*, encoding the phaseolotoxin-resistant ornithine carbamoyltransferase in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, and functional expression of *arg K* in transgenic tobacco. *J. Bacteriol.* v. 174, p. 5.895-5.909, 1992.

HAYWARD, A.C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 29, p. 65-87, 1991.

HE, S.Y. Type III protein secretion systems in plant and animal pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 36, p. 363-392, 1998.

HEALE, J.B.; GUPTA, D.P. Mechanism of vascular wilting induced by *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* v. 58, p. 19-28, 1972.

HEATH, M.C. Reactions of non-susceptible to fungal pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 18, p. 211-236, 1980.

_____. A generalized concept of host-parasite specificity. *Phytopathology* v. 71, p. 1.121-1.123, 1981.

_____. In this issue: secondary metabolites and plant defence. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 60, p. 273-274, 2002a.

_____. In this issue: more secondary metabolites—phenolics. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 61, p. 1-2, 2002b.

HEINLEIN, M.; EPEL, B.L.; PADGETT, H.S.; BEACHY, R.N. Interaction of tobamovirus movement proteins with the plant cytoskeleton. *Science* v. 270, p. 1.983-1.985, 1995.

HEINRICH, T.; BARTLEM, D.; JONES, M.G.K. Molecular aspects of plant-nematode interactions and their exploitation for resistance strategies. *Australasian Plant Pathol.* v. 27, p. 59-72, 1998.

HEISER, I.; OSSWALD, W.; ELSTNER, E.F. The formation of reactive oxygen species by fungal and bacterial phytotoxins. *Plant Physiol. Biochem. (Paris)* v. 36, p. 703-713, 1998.

HEITFUSS, R.; WILLIAMS, P. Physiological plant pathology. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*. New series, vol. 4. Berlin: Springer-Verlag, 1976. 890 p.

HENFLING, J.W.D.M.; BOSTOCK, R.; KUC, J. Effect of abscisic acid on rishitin and lubimin accumulation and resistance to *Phytophthora infestans* and *Cladosporium cucumerinum* in potato tuber slices. *Phytopathology* v. 70, p. 1.074-1.078, 1980.

HENNIN, C.; HOFTE, M.; DIEDERICHSEN, E. Functional expression of Cf9 and Avr9 genes in *Brassica napus* induces enhanced resistance to *Leptosphaeria maculans*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 14, p. 1.075-1.085, 2001.

HEO, W.D.; SANG, H.L.; MIN, C.K.; JONG, C.K.; WOO, S.C.; HYUN, J.C.; KYOUNG, J.L.; CHAN, Y.P.; HYEONG, C.P.; JI, Y.C.; MOO, J.C. Involvement of specific calmodulin isoforms in salicylic acid-independent activation of plant disease resistance responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 96, p. 766-771, 1999.

HERBERS, K.; CONRADS-STRAUCH, J.; BONAS, U. Race-specificity of plant resistance to bacterial spot disease determined by repetitive motifs in a bacterial avirulence protein. *Nature* v. 356, p. 172-174, 1992.

HERNALSTEENS, J.P.; VAN VLIET, F.; DE BENCKELEER, M.; DEPICKER, A.; ENGLER, G.; LEMMERS, M.; HOLSTERS, M.; VAN MONTAGU, M.; SCHELL, J. The *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid as a host vector system for introducing foreign DNA in plant cells. *Nature* v. 287, p. 654-656, 1980.

HERRERA-ESTRELLA, L.; DEPICKER, A.; VAN MONTAGU, M.; SCHELL, J. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. *Nature* v. 303, p. 209-213, 1983.

HERRERA-ESTRELLA, L.; ROSALES, L.S.; RIVERA-BUSTAMANTE, R. Transgenic Plants for Disease Control. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*. Vol. 1. New York: Chapman Hall, 1996. p. 33-80.

HILDEBRAND, D.C.; SCHROTH, M.N. Arbutin-hydroquinone complex in pear as a factor in fireblight development. *Phytopathology* v. 54, p. 640-645, 1964a.

———. Antibiotic activity of pear leaves against *Erwinia amylovora* and its relation to beta-glucosidase. *Phytopathology* v. 54, p. 59-63, 1964b.

HILPERT, B.; BOHLMANN, H.; OP DEN CAMP, R. et al. Isolation and characterization of signal transduction mutants of *Arabidopsis thaliana* that constitutively activate the octadecanoid pathway and form necrotic microlesions. *Plant J.* v. 26, p. 435-446, 2001.

HIRANO, S.S.; CHARKOWSKI, A.O.; COLLMER, A.; WILLIS, D.K.; UPPER, C.D. Role of the *hrp* type III protein secretion system in growth of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a on host plants in the field. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 96, p. 9.851-9.856, 1999.

HOLDEN, M.J.; SZE, H. *Helminthosporium maydis* T toxin increased membrane permeability to Ca²⁺ in susceptible corn mitochondria. *Plant Physiol.* v. 75, p. 235-237, 1984.

———. Dissipation of the membrane potential in susceptible corn mitochondria by the toxin of *Helminthosporium maydis*, race T, and toxin analogs. *Plant Physiol.* v. 84, p. 670-676, 1987.

HOOD, M.E.; SHEW, H.D. Initial cellular interactions between *Thielaviopsis basicola* and tobacco hair roots. *Phytopathology* v. 87, p. 228-235, 1997.

HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. *Plant Disease: an Advanced Treatise*. New York: Academic Press, 1978. 487p. Vol. 3: *How plants suffer from disease*.

———. *Plant Disease: an Advanced Treatise*. New York: Academic Press, 1979. 466p. Vol. 4: *How pathogens induce disease*.

———. *Plant Disease: an Advanced Treatise*. New York: Academic Press, 1980. 534 p. Vol. 5. *How plants defend themselves*.

HULBERT, S.H.; WEBB, C.A.; SMITH, S.M. Resistance gene complexes: evolution and utilization. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 39, p. 285-312, 2001.

HUSSEY, R.S. Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 27, p. 123-141, 1989.

HUTCHESON, S.W. Current concepts of active defense in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 36, p. 59-90, 1998.

HUTCHISON, M.L.; GROSS, D.C. Lipopeptide phytotoxins produced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*: comparison of the biosurfactant and ion channel-forming activities of syringopeptin and syringomycin. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 10, p. 347-354, 1997.

HUTZINGER, O.; KOSUGE, T. Microbial synthesis and degradation of indole-3-acetic acid. II. The source of oxygen in the conversion of L-tryptophan to indole-3-acetic acid. *Biochem. Biophys. Acta* v. 136 p. 389-391, 1967.

INGRAHAM, D.S. Cell death and resistance to biotrophs. *Ann. Appl. Biol.* v. 89, p. 291-295, 1978.

ISRAEL, H.W., WILSON, R.G., AIST, J.R.; KUNOH, H. Cell wall appositions and plant disease resistance. Acoustic microscopy of papillae that block fungal ingress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 77, p. 2.046-2.049, 1980.

ITO, Y.; SHIBUYA, N. Receptors for the microbial elicitors of plant defense responses. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*. Vol. 5. St. Paul-MN: APS Press, 2000. p. 269-296.

JABS, T.; DIETRICH, R.A.; DANGL, J L. Initiation of runaway cell death in an *Arabidopsis* mutant by extracellular superoxide. *Science* v. 273, p. 1.853-1.856, 1996.

JACOBY, W. *Enzyme Purification and Related Techniques. Methods in Enzymology*. Vol. 22. New York: Academic Press, 1971.

JAHR, H.; DREIER, J.; MELETZUS, D.; BAHRO, R.; EICHENLAUB, R. The endo β -1,4 glucanase CelA of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* is a pathogenicity determinant required for induction of bacterial wilt of tomato. *Mol Plant -Microbe Interact.* v. 13, p. 703-714, 2000.

JENNINGS, JC; APEL-BIRKHOLO, PC; BAILEY, BA; ANDERSON, JD. Induction of ethylene biosynthesis and necrosis in weed leaves by a *Fusarium oxysporum* protein. *Weed Sci.* v. 48, p. 7-14, 2000.

JIA, Y.; MCADAMS, S. A.; BRYAN, G.T.; HERSHEY, H. P.; VALENT, B. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J.* v. 19, p. 4.004-4.014, 2000.

JIN, R.G.; LIU, Y.B.; TABASHNIK, B.E.; BORTHAKUR, D. Development of transgenic cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) for insect resistance by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* v. 36, p. 231-237, 2000.

JIRAGE, D.; TOOTLE, T.L.; REUBER, T.L.; FROST, L.N.; FEYS, B.J.; PARKER, J.E.; AUSUBEL, F.M.; GLAZEBROOK, J. *Arabidopsis thaliana* *PAD4* encodes a lipase-like gene that is important for salicylic acid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 96, p. 13.583-13.588, 1999.

JOHAL, G.S.; BRIGGS, S.P. Reductase activity encoded by the *Hm1* disease resistance gene in maize. *Science* v. 258, p. 985-987, 1992.

JOHNSON, R.D.; JOHNSON, L.; ITOH, Y.; KODAMA, M.; OTANI, H.; KOHMOTO, K. Cloning and characterization of a cyclic peptide synthetase gene from *Alternaria alternata* apple pathotype whose product is involved in AM-toxin synthesis and pathogenicity. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 742-753, 2000.

JONES, D.A.; THOMAS, C.M.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; BALINT-KURTI, P.J.; JONES, J.D.G. Isolation of the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* v. 266, p. 789-793, 1994.

JONES, J. A kinase with keen eyes. *Nature* v. 385, p. 397-398, 1997.

JOOSTEN, M.H.A.J.; COZIJNSEN, T.J.; DE WIT, P.J.G.M. Host resistance to a fungal tomato pathogen lost by a single base-pair change in avirulence gene. *Nature* v. 367, p. 384-386, 1994.

KAHMANN, R.; BASSE, C. REMI (restriction enzyme mediated integration) and its impact on the isolation of pathogenicity genes in fungi attacking plants. *Eur. J. Plant Pathol.* v. 105, p. 221-229, 1999.

KAMMANN, M.; LAUFS, J.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. Rapid insertional mutagenesis of DNA by polymerase chain reaction (PCR). *Nucleic Acids Res.* v. 17, p. 5.404-5.408, 1989.

KAMOUN, S.; HOGENHOUT, S.A. Agricultural Microbes Genome 2: first glimpses into the genomes of plant-associated microbes. *Plant Cell* v. 13, p. 451-458, 2001.

KAMOUN, S.; HONEÉ, G.; WEIDE, R.; LAUGÉ, R.; KOOMANGERSMANN, M.; GROOT, K.; GOVERS, F.; DE WIT, P.J.G.M. The fungal avirulence gene *Avr 9* and the oomycete gene *inf1* confer

avirulence to potato virus X on tobacco. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 12, p. 459-462, 1999.

KAMOUN, S.; VAN DER LEE, T.; VAN DER BERG, V.G.; DE GROOT, K.E.; GOVERS, F. Loss of production of the elicitor protein *INF1* in the clonal lineage US-1 of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* v. 88, v. 12, p. 1.315-1.323, 1998.

KANEKO, T. et al. Complete genome structure of the nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Mesorhizobium loti*. *DNA Res.* v. 7, p. 331-338, 2000.

KANEKO, T. et al. Complete genomic sequence of nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. *DNA Res.* v. 9, n. 6, p. 189-197, 2002.

KANG, Z.; BUCHENAUER, H. Ultrastructural and cytochemical studies on cellulose, xylan, and pectin degradation in wheat spikes infected by *Fusarium culmorum*. *J. Phytopathol.* v. 148, p. 263-275, 2000.

KAO, C.C.; GOSTI, F.; HUANG, Y.; SEQUEIRA, L. Characterization of a negative regulator of exopolysaccharide production by the plant-pathogenic bacterium *Pseudomonas solanacearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 7, p. 121-130, 1994.

KATO, S.; MISAWA, T. Lipid peroxidation during the appearance of hypersensitive reaction in cowpea leaves infected with cucumber mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.* v. 42, p. 472-480, 1976.

KAUFFMANN, S.; LEGRAND, M.; FRITIG, B. Isolation and characterization of six pathogenesis-related (PR) proteins of Samsun NN tobacco. *Plant Mol. Biol.* v. 14, p. 381-390, 1989.

KEEN, N.T. Specific elicitors of plant phytoalexin production: determinants of race specificity in pathogens? *Science* v. 187, p. 74-75, 1975.

———. A century of plant pathology: a retrospective view on understanding host-parasite interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 38, p. 31-48, 2000.

KEEN, N.T.; TAMAKI, S.; KOBAYASHI, D.; GERHOLD, D.; STAYTON, M.; SHEN, H.; GOLD, S.; LORANG, J.; THORDAL-CHRISTENSON, H.; DAHLBECK, D.; STASKAWICZ, B. Bacteria expressing avirulence gene D produce a specific elicitor of the soybean hypersensitive reaction. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 3, p. 112-121, 1990.

KELMAN, A.; COWLING, E.B. Cellulase of *Pseudomonas solanacearum* in relation to pathogenesis. *Phytopathology* v. 55, p. 148-155, 1965.

KESSLER, A.; BALDWIN, I.T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* v. 291, p. 2.141-2.144, 2001.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 32, p. 439-459, 1994.

KIM, Y.H.; KIM, K. H. Abscission layer formation as a resistance response of Peruvian apple cactus against *Glomerella cingulata*. *Phytopathology* v. 92, p. 964-969, 2002.

KINKEMA, M.; FAN, W.H.; DONG, X.N. Nuclear localization of NPR1 is required for activation of PR gene expression. *Plant Cell* v. 12, p. 2.339-2.350, 2000.

KIRALY, Z.; FARKAS, G.L. Relation between phenol metabolism and stem rust resistance in wheat. *Phytopathology* v. 52, p. 657-664, 1962.

KIRK, T.K. Effect of microorganisms on lignin. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 9, p. 185-210, 1971.

KLEIN, R.M.; WOLF, E.D.; WU, R.; SANFORD, J.C. High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* v. 327, p. 70-73, 1987.

KNORR, D.A.; DAWSON, W.O. A point mutation in the tobacco mosaic virus capsid protein gene induces hypersensitivity in *Nicotiana glauca*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 85, p. 170-174, 1988.

KOHMOTO, K.; KHAN, I.D.; RENBUTSU, Y.; TANIGUCHI, T.; NISHIMURA, S. Multiple host-specific toxins of *Alternaria mali* and their effect on the permeability of host cells. *Physiol. Plant Pathol.* v. 8, p. 141-153, 1976.

KOLATTUKUDY, P.E. Structure, biosynthesis and biodegradation of cutin and suberin. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 32, p. 539-567, 1981.
———. Enzymatic penetration of the plant cuticle by fungal pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 23, p. 223-250, 1985.

KOLATTUKUDY, P.E.; KAMPER, J.; KAMPER, U.; GONZÁLEZ-CANDELÁS, L.; GUO, W. Fungus-induced degradation and reinforcement of defensive barriers of plants. In: PELTRINI, O.; OUELETTE, G.G. *Host wall alterations by parasitic fungi*. St Paul MN: APS Press, 1994. p 67-79.

KOLLER, W.; ALLAN, C.R.; KOLATTUKUDY, P.E. Role of cutinase and cell wall degrading enzymes in infection of *Pisum sativum* by *Fusarium solani* f.sp. *pisi*. *Physiol. Plant Pathol.* v. 20, p. 47-60, 1981.

KOLLER, W.; KOLATTUKUDY, P.E. Mechanism of action of cutinase: chemical modification of the catalytic triad characteristic for serine hydrolases. *Biochemistry* v. 21, p. 3.083-3.090, 1982.

KOLLER, W.; YAO, C.; TRIAL, F.; PARKER, D.M. Role of cutinase in the invasion of plants. *Can. J. Bot.* v. 73, p. 1.109-1.118, 1995. (Suplemento).

KOSUGE, T. The role of phenolics in host response to infection. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 7, p. 195-222, 1969.

KRUGER, H.; VAN RENSBURG, L.; PEACOCK, J. Cuticular membrane fine structure of *Nicotiana tabacum* leaves. *Ann. Bot.* v. 77, p. 11-16, 1996.

KUC, J. Resistance of plants to infectious agents. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 20, p. 337-370, 1966.

—————. Induced systemic resistance to plant disease and interferons, are they compatible? *Fitopatol. Bras.* v. 10, p. 15-40, 1985.

—————. Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 33, p. 275-297, 1995.

—————. Molecular aspects of plant responses to pathogens. *Acta Physiol. Plant.* v. 19, p. 551-559, 1997.

KUC, J.; SHOCKLEY, G.; KEARNEY, K. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol. Plant Pathol.* v. 7, p. 195-199, 1975.

KUMAR, D.; KLESSIG, DF. Differential induction of tobacco MAP kinases by the defense signals nitric oxide, salicylic acid, ethylene, and jasmonic acid. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 347-351, 2000

KUMAR, R.B.; XIE, Y.H.; DAS, A. Subcellular localization of the *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA transport pore proteins: *VirB8* is

essential for the assembly of the transport pore. *Mol. Microbiol.* v. 36, p. 608-617, 2000.

KUNST, F. et al. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature* v. 390, p. 249-256, 1997.

KURIGER, W.E.; AGRIOS, G.N. Cytokinin levels and kinetin-virus interactions in tobacco ringspot virus-infected cowpea plants. *Phytopathology* v. 67, p. 604-609, 1977.

LAMB, C.; DIXON, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 48, p. 251-275, 1997.

LAMB, C.J. Plant disease resistance genes in signal perception and transduction. *Cell* v. 76, p. 419-422, 1994.

LAMBAIS, M.R.; GOLDMAN, M.H.S.; CAMARGO, L.E.A.; GOLDMAN, G.H. A genomic approach to the understanding of *Xylella fastidiosa* pathogenicity. *Curr. Opin. Microbiol.* v. 3, p. 459-462, 2000.

LAMBERT, K.N.; ALLEN, K.D.; SUSSEX, I.M. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 12, p. 328-336, 1999.

LAMPORT, D.T.A. Cell wall metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 21, p. 235-270, 1970.

LASKIN, A.I.; LECHEVALIER, H.A. *Handbook of Microbiology*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1984. 908 p.

LAU, G.W.; ELLINGBOE, A.H. Genetic analysis of mutations to increased virulence in *Magnaporthe grisea*. *Phytopathology* v. 83, p. 1.093-1.096, 1993.

LAU, G.W.; CHAO, C.T.; ELLINGBOE, A.H. Interaction of genes controlling avirulence/virulence of *Magnaporthe grisea* on rice cultivar Katy. *Phytopathology* v. 83, p. 375-382, 1993.

LAUGÉ, R.; JOOSTEN, M.H.A.J.; HAANSTRA, J.P.W.; GOODWIN, P.H.; LINDHOUT, P.; DE WIT, P.J.G.M. Successful search for a resistance gene in tomato targeted against a virulence factor of a fungal pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 9.014-9.018, 1998.

LAWRENCE, G.J.; FINNEGAN, E.J.; AYLIFFE, M.A.; ELLIS, J.G. The *L6* gene for flax rust resistance is related to the *Arabidopsis* bacterial resistance gene *RPS2* and the tobacco mosaic virus resistance gene *N*. *Plant Cell* v. 7, p. 1.195-1.206, 1995.

LAWRENCE, G.J.; MAYO, G.M.E.; SHEPHERD, K.W. Interactions between genes controlling pathogenicity in the flax rust fungus. *Phytopathology* v. 71, p. 12-19, 1981.

LEACH, L.E.; WHITE, F.F. Bacterial avirulence genes. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 34, p. 153-179, 1996.

LEE, H.I.; RASKIN, I. Glucosylation of salicylic acid in *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc. *Phytopathology* v. 88, p. 692-697, 1998.

LEE, S.W.; NAZAR, R.N.; POWELL, D.A.; ROBB, J. Reduced PAL gene suppression in *Verticillium*-infected resistant tomatoes. *Plant Mol Biol.* v. 18, p. 345-352, 1992.

LEGRAND, M. Phenylpropanoid metabolism and its regulation in disease. In: CALLOW, J.A. (Ed.), *Biochemical Plant Pathology*. New York: John Wiley and Sons Ltd., 1983. p. 367-384.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Principles of Biochemistry*. 2. ed. New York: Worth Publ., 1993. 1.013 p.

LEHRER, R.I. Antifungal effects of peroxidase systems. *J. Bacteriol.* v. 99, p. 361-365, 1969.

LEIGH, J.A.; COPLIN, D.L. Exopolysaccharides in plant-bacterial interaction. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 46, p. 307-346, 1992.

LEITE, B.; RONCATO, L.D.B.; PASCHOLATI, S.F.; LAMBAIS, M.R. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. *Rev. An. Patol. Plantas* v. 5, p. 235-281, 1997.

LEVY, J.A.; FRAENKEL-CONRAT, H.; OWENS, R.A. *Virology*. 3. ed. New Jersey, EUA: Prentice Hall, 447 p., 1994.

LIEBERMAN, M. Biosynthesis and action of ethylene. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 30, p. 533-591, 1979.

LIENER, I.E. Phytohemagglutinins (Phytolectins). *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 27, p. 291-319, 1976.

LIGTERINK, W.; KROJ, T.; ZUR NIEDEN, U. Receptor-mediated activation of a MAP kinase in pathogen defense of plants. *Science* v. 276, p. 2.054-2.057, 1997.

LIM, J.H.; KANG, Y.N.; KIM, Y.A.; KIM, D.H.; HWANG, I. Construction of small binary vectors for *Agrobacterium*-mediated transformation in plants. *J. Plant Biol.* v. 42, p. 317-320, 1999.

LIN, K.C.; BUSHNELL, W.R.; SZABO, L.J.; SMITH, A.G. Isolation and expression of host response gene family encoding thaumatin-like proteins in incompatible oat-stem rust fungus interactions. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 9, p. 511-522, 1996.

LINDGREN, P.B. The role of *hrp* genes during plant-bacterial interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 35, p. 129-152, 1997.

LINDGREN, P.B.; PEET, R.C.; PANOPOULOS, N.J. Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* controls pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants. *J. Bacteriol.* v. 168, p. 512-522, 1986.

LIU, D.; RAGHOTHAMA, K.G.; HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A. Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 91, p. 1.888-1.892, 1994.

LIU, S.; BEDFORD, I.D.; BRIDDON, R.W.; MARKHAM, P.G. Efficient whitefly transmission of African cassava mosaic geminivirus requires sequences from both genomic components *J. Gen. Virol.* v. 78, p. 1.791-1.794, 1997.

LO, S.C.; DE VERDIER, K.; NICHOLSON, R.L. Accumulation of 3-deoxyanthocyanidin phytoalexins and resistance to *Colletotrichum sublineolum* in sorghum. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 55, p. 263-273, 1999.

LOMONOSSOFF, G.P. Pathogen-derived resistance to plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 33, p. 323-343, 1995.

LU, M.; TANG, X.; ZHOU, J.-M. *Arabidopsis* NHO1 is required for general resistance against *Pseudomonas* bacteria. *Plant Cell* v. 13, p. 437-347, 2001.

LUDERER, R.; RIVAS, S.; NURNBERGER, T.; MATTEI, B.; VAN DE HOOVEN, H.W.; VAN DER HOORN, R.A.L.; ROMEIS, T.; WEHRFRITZ, J.M.; BLUME, B.; NENNSTIEL, D.; ZUIDEMA, D.; VERVOORT, J.; DE LORENZO, G.; JONES, J.D.G.; DE WIT, P.J.G.M.;

JOOSTEN, M.H.A.G. No evidence for binding between resistance gene product Cf-9 of tomato and avirulence gene product Avr9 of *Cladosporium fulvum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 14, p. 867-876, 2001.

LYDON, J.; PATTERSON, C.D. Detection of tabtoxin-producing strains of *Pseudomonas syringae* by PCR. *Lett. Appl. Microbiol.* v. 32, p. 166-170, 2001.

LYON, G.D.; NEWTON, A.C. Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies? *Plant Pathol.* v. 46, p. 636-641, 1997.

MACDONALD, E.M.; POWELL, G.K.; REGIER, D.A. Secretion of zeatin, ribosylzeatin, and ribosyl-1"-methylzeatin by *Pseudomonas savastanoi*. *Plant Physiol.* v. 82, p. 742-747, 1986.

MACE, M.E. Contribution of tyloses and terpenoid aldehyde phytoalexins to *Verticillium* wilt in cotton. *Physiol. Plant Pathol.* v. 12, p. 1-11, 1978.

MACE, M.E.; BELL, A.A.; BECKMAN, C.H. *Fungal Wilt Diseases of Plants*. New York: Academic Press, 1981. 640 p.

MACKEY, D.; HOLT III, B.F.; WIIG, A.; DANGL, J.L. RIN4 interacts with *Pseudomonas syringae* Type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in *Arabidopsis*. *Cell* v. 108, p. 743-754, 2002.

MALDONADO, A.M.; DOERNER, P.; DIXON, R.A.; LAMB, C.J.; CAMERON, R.K. A putative lipid transfer protein involved in systemic resistance signalling in *Arabidopsis*. *Nature* v. 419, p. 399-403, 2002.

MANANDHAR, H.K.; MATHUR, S.B.; SMEDEGAARD, P.V.; THORDAL, C.H. Accumulation of transcripts for pathogenesis-related proteins and peroxidase in rice plants triggered by *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* and u.v. light. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 55, p. 289-295, 1999.

MARCO, S.; LEVY, D. Involvement of ethylene in the development of cucumber mosaic virus-induced chlorotic lesions in cucumber cotyledons. *Physiol. Plant Pathol.* v. 14, p. 235-244, 1979.

MARME, D. The role of calcium and calmodulin in signal transduction. In: BOSS, W.F.; MORRE, D.J. (Eds.), *Second Messengers in Plant Growth and Development*. New York: A.L. Liss, Inc., 1989, p. 57-80.

MAROIS, E.; VAN DEN ACKERVEKEN, G.; BONAS, U. The *Xanthomonas* type III effector protein AvrBs3 modulates plant gene expression and induces cell hypertrophy in the susceptible host. *Mol Plant-Microbe Interact.* v. 15, p. 637-646, 2002.

MARSHAK, D.; KADONAGA, J.; BURGESS, R. *Strategies for Protein Purification and Characterization: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Lab. Press., 1996.

MARTIN, G.B.; BROMMONSCHENKEL, S.; CHUNWONGSE, J.; FRARY, A.; GANAL, M.W.; SPIVEY, R.; WU, T.; EARE, E.D.; TANKSLEY, S.D. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring resistance in tomato. *Science* v. 262, p. 1432-1436, 1993.

MARTIN, G.B.; FRARY, A.; WU, T.; BROMMONSCHENKEL, S.; CHUNWONGSE, J.; EARLE, E.D.; TANKSLEY, S.D. A member of the tomato Pto gene family confers sensitivity to fenthion resulting in rapid cell death. *Plant Cell* v. 6, p. 1.543-1.552, 1994.

MATTHEWS, R.E.F. *Plant Virology*. 2. ed. New York: Academic Press, 1981. 477 p.

———. *Plant Virology*. 3. ed. New York: Academic Press, 1991. 835 p.

MATTHYSSE, A.G.; YARNALL, H.; BOLES, S.B.; MCMAHAN, S. A region of the *Agrobacterium tumefaciens* chromosome containing genes required for virulence and attachment to host cells. *Biochem. Biophys. Acta* v. 1490, p. 208-212, 2000.

MAULE, A.J. Plant-virus movement: de novo process or redeveloped machinery? *Trends Microbiol.* v. 2, p. 305-306, 1994.

MAULE, A.J.; HARKER, C.L.; WILSON, I.G. The pattern of accumulation of cauliflower mosaic virus-specific products in infected turnips. *Virology* v. 169, p. 436-446, 1989.

MAXWELL, D.P.; LUMSDEN, R.D. Oxalic acid production by *Sclerotinia sclerotiorum* in infected bean and in culture. *Phytopathology* v. 60, p. 1.395-1.398, 1970.

MAY, M.J.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Involvement of reactive oxygen species, glutathione metabolism, and lipid peroxidation in the Cf-dependent defense response in tomato

cotyledons induced by race-specific elicitors of *Cladosporium fulvum*. *Plant Physiol.* v. 110, p. 1.367-1.379, 1996.

MAZZOLA, M.; GRANATSTEIN, D.M.; ELFVING, D.C.; MULLLINIX, K. Suppression of specific apple root pathogens by *Brassica napus* seed meal amendment regardless of glucosinolate content. *Phytopathology* v. 91, p. 673-679, 2001.

MCCARTY, D.R.; CHORY, J. Conservation and innovation in plant signaling pathways. *Cell* v. 103, p. 201-209, 2000.

MCCONN, M.; CREELMAN, R.A.; BELL, E. Jasmonate is essential for insect defense in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 94, p. 5.473-5.477, 1997.

MCCOURT, P. Genetic analysis of hormone signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 50, p. 219-243, 1999.

MCDOWELL, J.M.; DANGL, J.L. Signal transduction in the plant immune response. *Trends Biochem. Sci.* v. 25, p. 79-82, 2000.

MCDOWELL, J.M.; DHANDAYDHAM, M.; LONG, T.A.; AARTS, M.G.; GOFF, S.; HOLUB, E.B.; DANGL, J.L. Intragenic recombination and diversifying selection contribute to the evolution of downy mildew resistance at the *Rpp8* locus of *Arabidopsis*. *Plant Cell* v. 10, p. 1.861-1.874, 1998.

MCGARVEY, J.A.; DENNY, T.P.; SCHELL, M.A. Spatial-temporal and quantitative analysis of growth and EPS I production by *Ralstonia solanacearum* in resistant and susceptible tomato cultivars. *Phytopathology* v. 89, p. 1.233-1.239, 1999.

MCWILLIAMS, R.; CHAPMAN, M.; KOWALCZUK, K.M.; HERSBERGER, D.; SUN, J.; KAO, C.C. Complementation analyses of *Pseudomonas solanacearum* extracellular polysaccharide mutants and identification of genes responsive to *EpsR*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 8, p. 837-844, 1995.

MEDEIROS, R.B.; RASOCHOVA, L.; GERMAN, T.L. Searching for the tomato spotted wilt virus receptor in its insect vector. Annals of the XI International Conference of Virology, Sidney, Australia, 1999, p. 347.

MEDEIROS, R.B.; GERMAN, T.L. Identification of a plant virus receptor in the insect vector cells. Annals of the XXI International Congress of Entomology, Foz do Iguaçu, Brazil, 2000a.

MEDEIROS, R.B.; RASOCHOVA, L.; GERMAN, T.L. Simplified, rapid method for identification and cloning of putative viral receptors or virus-binding proteins via the far-Western screening of a cDNA expression library with purified virus particles. *J. Virol. Methods*. v. 86, p. 155-166, 2000b.

MEDEIROS, R.B.; ULLMAN, D.E.; SHERWOOD, J.L.; GERMAN, T.L. Immunoprecipitation of a 50 kDa protein: a candidate receptor component for tomato spotted wilt tospovirus (*Bunyaviridae*) in its thrips vector, *Frankliniella occidentalis*. *Virus Res.* v. 67, p. 109-118, 2000c.

MÉNARD, R.; LARUE, J.P.; SILUÉ, D.; THOUVENOT, D. Glucosinolates in cauliflower as biochemical markers for resistance against downy mildew. *Phytochemistry* v. 52, p. 29-35, 1999.

MENDGEN, K.; HAHN, M.; DEISING, H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 34, p. 367-386, 1996.

MEON, S. The influence of infection by *Meloidogyne javanica* on growth hormones in tomato plants. *Nematologica* v. 25, p. 143-145, 1979.

METCALF, D.A.; WILSON, C.R. Histology of *Sclerotium cepivorum* infection of onion roots and the spatial relationships of pectinases in the infection process. *Plant Pathol.* v. 48, p. 445, 1999.

MEYER, A.D.; TEMPÉ, J.; CONSTANTINO, P. Hairy root: a molecular overview. Functional analysis of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*, v. 5. St. Paul-MN: APS Press, 2000. p. 93-140.

MEYERS, B.C.; CHIN, D.B.; SHEN, K.A.; SIVARAMAKRISHNAN, S.; LAVELLE, D.O.; ZHANG, Z.; MICHELMORE, R.W. The major resistance gene-cluster in lettuce is highly duplicated and spans several megabases. *Plant Cell* v. 10, p. 1.817-1.832, 1998.

MICHELMORE, R.W.; MEYERS, B.C. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and a birth-and-death process. *Genome Res.* v. 8, p. 1.113-1.130, 1998.

MILLS, D.; KUNOH, H.; KEEN, N.T.; MAYAMA, S. *Molecular Aspects of Pathogenicity and Resistance: Requirement for Signal transduction*. St. Paul-MN: APS Press, 1996. 294 p.

MIMS, C.W.; COPES, C.E.; RICHARDSON, E.A. Ultrastructure of the penetration and infection of pansy roots by *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology* v. 90, p. 843-850, 2000.

MINDRINOS, M.; KATAGIRI, F.; YU, G.-L.; AUSUBEL, F.M. The *A. thaliana* disease resistance gene *RPS2* encodes a protein containing a nucleotide-binding site and leucine-rich repeats. *Cell* v. 78, p. 1.089-1.099, 1994.

MIROCHA, C.J.; URITANI. *The dynamic role of molecular constituents in plant-parasite interactions*. St. Paul, MN.: Bruce Publishing, 1967. 372 p.

MISAGHI, I.J. *Physiology and Biochemistry of Plant-Pathogen Interactions*. New York: Plenum Press, 1983. 201 p.

MIYAGAWA, H.; ISHIHARA, A.; KUWAHARA, Y. A stress compound in oats induced by victorin, a host-specific toxin from *Helminthosporium victoriae*. *Phytochemistry* v. 41, p. 1.473-1.475, 1996.

MIYAGAWA, H.; NAGAI, S.; TSURUSHIMA, T. Phytotoxins produced by the plant pathogenic fungus *Bipolaris bicolor* El-1. *Biosc. Biotech. Bioch.* v. 58, p. 1.143-1.145, 1994.

MOK, D.W.S.; MOK, M.C. Cytokinin metabolism and action. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 52, p. 89-118, 2001.

MOK, M.C.; MARTIN, R.C.; MOK, D W.S. Cytokinins: Biosynthesis, metabolism and perception. *In Vitro Cell. Dev. Pl.* v. 36, p. 102-107, 2000.

MORAES, M.G. Mecanismos de resistência sistêmica adquirida em plantas. *Rev. An. Patol. Plantas* v. 6, p. 261-283, 1998.

MORAN, P.J.; THOMPSON, G.A. Molecular responses to aphid feeding in *Arabidopsis* in relation to plant defense pathways. *Plant Physiol.* v. 125, p. 1.074-1.085, 2001.

MOSQUEDA, G.; BROECK, G.V.D.; SAUCEDO, O.; BAILEY, A.M.; ALVAREZ-MORALES, A.; HERRERA-ESTRELA, L. Isolation and characterization of the gene from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* encoding the phaseolotoxin-insensitive ornithine carbonyltransferase. *Mol. Gen. Genet.* v. 222, p. 461-466, 1990.

MOURRAIN, P.; BECLIN, C.; ELMAYAN, T. *Arabidopsis* SGS2 and SGS3 genes are required for posttranscriptional gene silencing and natural virus resistance. *Cell* v. 101, p. 533-542, 2000.

MÜLLER, K.O.; BEHR, L. Mechanism of *Phytophthora* resistance in potatoes. *Nature* v. 163, p. 498-499, 1949.

MÜLLER, K.O.; BORGER, H. Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel; zugleich ein Beitrag zum Problem der "erworbenen Resistenz" im Pflanzenreich. *Arb. Biol. Reichsanst. Landw. Forstw.* Berlin-Dahlem v. 23, p. 189-231, 1940.

MÜLLER, K.O. Studies on phytoalexins. I. The formation and immunological significance of phytoalexin produced by *Phaseolus vulgaris* in response to infections with *Sclerotinia fructicola* and *Phytophthora infestans*. *Aust. J. Biol. Sci.* v. 11, p. 275-300, 1958.

MULTANI, D.S.; MEELEY, R.B.; PETERSON, A.H.; GRAY, J.; BRIGGS, S.P.; JOHAL, G.S. Plant-pathogen microevolution: molecular basis for the origin of a fungal disease in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 1.686-1.691, 1998.

MURILLO, I.; CAVALLARIN, L.; SAN SEGUNDO, B. Cytology of infection of maize seedlings by *Fusarium moniliforme* and immunolocalization of the pathogenesis related PRms protein. *Phytopathology*. v. 89, p. 737-747, 1999.

MYSORE, K.S.; NAM, J.; GELVIN, S.B. An *Arabidopsis* histone H2A mutant is deficient in *Agrobacterium* T-DNA integration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 97, p. 948-953, 2000.

NADOLSKA, O.A.; ORCZYK, W.; PRZETAKIEWICZ, A. *Agrobacterium*-mediated transformation of cereals: from technique development to its application. *Acta Physiol. Plant.* v. 22, p. 77-88, 2000.

NARA, S.; TOSHIMA, H.; ICHIHARA, A. Asymmetric total synthesis of (+)-coronafacic acid and (+)-coronatine, phytotoxins isolated from *Pseudomonas syringae* pathovars. *Tetrahedron Lett.* v. 53, p. 9.509, 1997.

NATHAN, C. Natural resistance and nitric oxide. *Cell* v. 82, p. 873-876, 1995.

NESTER, E.W.; GORDON, M.P. Molecular strategies in the interaction between *Agrobacterium* and its hosts. In: PATIL, S.S. (Ed.). *Molecular Strategies of Pathogens and Hosts Plants*. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 3-13.

NESTER, E.W.; KOSUGE, T. Plasmids specifying plant hyperplasias. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 35, p. 531-565, 1981.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 30, p. 369-389, 1992.

NIKS, RE. Nonhost plant species as donors for resistance to pathogens with narrow host range. 1. Determination of nonhost status. *Euphytica* v. 36, p. 841-852, 1987.

NISHIMURA, S.; KOHMOTO, K. Host specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 21, p. 87-116, 1983.

NORMAN, S.C.; VIDAL, S.; PALVA, E.T. Interacting signal pathways control defense gene expression in *Arabidopsis* in response to cell wall-degrading enzymes from *Erwinia carotovora*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 430-438, 2000.

NORTHCOTE, D.H. Chemistry of the plant cell wall. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 23, p. 113-132, 1972.

NOTHNAGEL, E.A.; MCNEIL, M.; ALBERSHEIM, P.; DELL, A. Host-pathogen interactions XXII. A galacturonic acid oligosaccharide from plant cell walls elicits phytoalexins. *Plant Physiol.* v. 71, p. 916-926, 1983.

NOYES, R.D.; HANCOCK, J.G. Role of oxalic acid in *Sclerotinia* wilt of sunflower. *Physiol. Plant Pathol.* v. 18, p. 123-132, 1981.

NYLANDER, M. Molecular responses to abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Acta Univ. Agri. Sueciae Agraria* v. 228, 51p, 2000.

OGBONNAYA, F.C. *et al.* Molecular-genetic characterization of a new nematode resistance gene in wheat. *Theor. Appl. Genet.* v. 102, p. 623-629, 2001.

OHME, T.; SUZUKI, K.; SHINSHI, H. Regulation of ethylene-induced transcription of defense genes. *Plant Cell Physiol.* v. 41, p. 1.187-1.192, 2000.

OHTAKE, Y.; TAKAHASHI, T.; KOMEDA, Y. Salicylic acid induces the expression of a number of receptor-like kinase genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* v. 41, p. 1.038-1.044, 2000.

OKU, H.; SHIRAISHI, T.; OUCHI, S. Suppression of induction of phytoalexin, pisatin. *Naturwissenschaften* v. 64, p. 643, 1977.

OLDROYD, G.E.D.; STASKAWICZ, B.J. Genetically engineered broad-spectrum disease resistance in tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 10.300-10.305, 1998.

OLIVER, R.P.; FARMAN, M.L.; TALLOT, N.J.; MELTALE, M.T. Molecular biology of fungal plant pathogenicity. In: PEBERDY, J.F.; CATEN, C.E.; OGDEN, J.E.; BENNETT, J.W. (Eds.). *Applied Molecular Genetics of Fungi*. Cambridge Univ. Press, 1990. p. 171-182.

OLSON, P.D.; VARNER, J.E. Hydrogen peroxide and lignification. *Plant J.* v. 4, p. 887-892, 1993.

OMURA, T.; MARUYAMA, W.; ICHIMI, K.; FUKUI, Y.; YAN, J.; ZHU, Y.; KAMUITEN, H. Involvement of virus infection to insect vector cells of the P2 outer capsid proteins of rice gall dwarf and rice dwarf phytoeoviruses. *Phytopathology* v. 87, p. S72, 1997.

OMURA, T.; YAN, J.; ZHONG, B.; WADA, M.; ZHU, Y.; TOMARU, M.; MARUYAMA, W.; KIKUCHI, A.; WATANABE, Y.; IMURA, I.; HIBINO, H. The P2 protein of rice dwarf phytoeovirus is required for adsorption of the virus to cells of the insect vector. *J. Virol.* v. 72, p. 9.370-9.373, 1998.

ORI, N.; ESHED, Y.; PARAN, I.; PRESTING, G.; AVIV, D.; TANKSLEY, S.; ZAMIR, D.; FLUHR, R. The *I2C* family from the wilt disease resistance locus *I2* belongs to the nucleotide-binding, leucine-rich repeat superfamily of plant-resistance genes. *Plant Cell* v. 9, p. 521-532, 1997.

OSBOURN, A.E. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *Plant Cell* v. 8, p. 1.821-1.831, 1996.

OSTIN, A.; KOWALYCZK, M.; BHALERAO, R.P. Metabolism of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* v. 118, p. 285-296, 1998.

OTANI, H.; KOHMOTO, K.; KODAMA, M. *Alternaria* toxins and their effects on host plants. *Can. J. Bot.* 73 (suppl.) v. 1, p. 453-458, 1995.

OTANI, H.; NISHIMURA, S.; KOHMOTO, K.; YANO, K.; SENO, T. Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in Nijisseiki cultivar among Japanese pears (V). Role of host specific toxin in early step of infection. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* v. 41, p. 467-476, 1975.

OTJEN, L.; BLANCHETTE, R.A. Selective delignification of birch wood (*Betula papyrifera*) by *Hirschioporus pargamenus* in the field and laboratory. *Holzforschung* v. 40, p. 183-189, 1986.

OZZAM, O.; FRAZER, J.; DE LAROSA, D.; BEAVER, J.S.; AHLQUIST, P.; MAXWELL, D.P. Whitefly transmission and efficient ssDNA accumulation of bean golden mosaic geminivirus require functional coat protein. *Virology* v. 204, p. 289-296, 1994.

PADGETT, H.S.; BEACHY, R.N. Analysis of a tobacco mosaic virus strain capable of overcoming N gene-mediated resistance. *Plant Cell* v. 5, p. 577-586, 1993.

PALUKAITIS, P.; ZAITLIN, M. A model to explain the cross-protection phenomenon shown by plant viruses and viroids. In: KOSUGE, T.; NESTER, E.W. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions: Molecular and Genetic Perspectives*, v. 1. New York: Macmillan Publ., 1984. p. 420-430.

PARKER, J.E.; SZABO, V.; STASKAWICZ, B.J.; LISTER, C.; DEAN, C.; DANIELS, M.J.; JONES, J.D.G. Phenotypic characterization and molecular mapping of the *Arabidopsis thaliana* locus *RPP5*, determining disease resistance to *Peronospora parasitica*. *Plant J.* v. 4, p. 821-831, 1993.

PASCHOLATI, S.F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). *Manual de Fitopatologia*, vol 1. Princípios e Conceitos. São Paulo: Ceres. p 343-364, 1995.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). *Manual de Fitopatologia*, vol 1. Princípios e Conceitos. São Paulo: Ceres, p. 417-453, 1995.

PASSOS, L.P. Current concepts on the relationship between abscisic acid and leaf water stress. *Pesq. Agropec. Bras.* v. 20, p. 1.171-1.182, 1985.

PATIL, S.S. Toxins produced by phytopathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 12, p. 259-279, 1974.

PATIL, S.S., ZUCKER, M.; DIMOND, A.E. Biosynthesis of chlorogenic acid in potato roots resistant and susceptible to *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* v. 56, p. 971-974, 1966.

PATIL, S.S.; KOLATTUKUDY, P.E.; DIMOND, A.E. Inhibition of ornitin carbomyltransferase from bean plants by the toxin of *Pseudomonas phaseolicola*. *Plant Physiol.* v. 46, p. 752-753, 1970.

PEART, J.R.; SHIRASU, K. "To degrade or not to degrade?"- the emerging question in plant disease resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 61, p. 73-76, 2002.

PENG, M.; KUC, J. Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity *in vitro* and on tobacco leaf disks. *Phytopathology* v. 82, p. 696-699, 1992.

PENNAZIO, S.; COLARICCIO, D.; ROGGERO, P.; LENZI, R. Effect of salicylate stress on the hypersensitive reaction of asparagus bean to tobacco necrosis virus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 30, p. 347-357, 1987.

PENNINCKX, I.A.M.A.; THOMMA, B.P.H.J.; BUCHALA, A. Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell* v.10, p. 2.103-2.113, 1998.

PERRIN, D.R. The structure of phaseolin. *Tetrahedron Lett.* v. 1, p. 29-35, 1964.

PETERSEN, M.; BRODERSEN, P.; NAESTED, H. *Arabidopsis* MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell* v. 103, p. 1.111-1.120, 2000.

PIERPOINT, W.S.; JACKSON, P.J.; EVANS, R.M. The presence of a thaumatin-like protein, a chitinase and a glucanase among the pathogenesis-related proteins of potato (*Solanum tuberosum*). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 36, p. 325-338, 1990.

PIETERSE, C.M.J.; VAN WESS, S.C.M.; VAN PELT, J.A.; KNOESTER, M.; LAAN, R.; GERRITS, H.; WEISBEEK, P.J.; VAN LOON, L.C. A novel signaling pathway controls induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* v. 10, p. 1.571-1.580, 1998.

PODILA, G.K.; DICKMAN, M.B.; KOLATTUKUDY, P.E. Transcriptional activation of a cutinase gene in isolated fungal nuclei by plant cutin monomers. *Science* v. 242, p. 922-925, 1988.

PODILA, G.K.; ROSEN, E.; SAN FRANCISCO, M.J.D.; KOLATTUKUDY, P.E. Targeted secretion of cutinase in *Fusarium solani* f.sp. *pisi* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* v. 85, p. 238-242, 1995.

POWELL-ABEL, P.; NELSON, R.S.; DE, B.; HÖFFMANN, N.; ROGERS, S.G.; FRAYLEY, R.T.; BEACHY, R.N. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* v. 232, p. 738-743, 1986.

PRATS, E.; RUBIALES, D.; JORRÍN, J. Acibenzolar-S-methyl-induced resistance to sunflower rust (*Puccinia helianthi*) is associated with an enhancement of coumarins on foliar surface. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 60, p. 155-162, 2002.

PRESTON, G.; HUANG, H.-C.; HE, S.Y.; COLLMER, A. The *hrpZ* proteins of *Pseudomonas syringae* pvs *syringae*, *glycinea* and *tomato* are encoded by an operon containing *Yersinia* *ysc* homologs and elicit the hypersensitive response in tomato but not in soybean. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 5, p. 717-732, 1995.

PRICE, P.W. Evolutionary perspectives on host plants and their parasites. *Adv. Plant Pathology* v. 8, p. 1-30, 1992.

PUEPPKE, S.G.; BAUER, W.D.; KEEGSTRA, K.; FERGUSON, A.I. Role of lectins in plant-microorganism interactions. *Plant Physiol.* v. 61, p. 779-784, 1978.

PURDY, R.E.; KOLATTUKUDY, P.E. Hydrolysis of plant cuticle by plant pathogens. Purification, amino acid composition and molecular weight of two isozymes of cutinase and a nonspecific esterase from *Fusarium solani* f.sp. *pisi*. *Biochemistry* v. 14, p. 2.824-2.831, 1975.

RADEMACHER, W. Growth retardants: effects on gibberelin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 51, p. 501-531, 2000.

RAGGI, V. Hydroxyproline-rich glycoprotein accumulation in tobacco leaves protected against *Erysiphe cichoracearum* by potato virus Y infection. *Plant Pathol.* v. 49, p. 179-186, 2000.

RAJE, J.E.; KUC, J.; CHUANG, C.; WILLIAMS, E. Induced resistance in *Phaseolus vulgaris* to bean anthracnose. *Phytopathology* v. 59, p. 1.641-1.645, 1969.

RAO, A.G. Antimicrobial peptides. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 8, p. 6-13, 1995.

RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* v. 43, p. 439-463, 1992.

RASMUSSEN, J.B.; HAMMERSCHMIDT, R.; ZOOK, M.N. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiol.* v. 97, p. 1.342-1.347, 1991.

RATHJEN, J.P.; CHANG, J.H.; STASKAWICZ, B.J.; MICHELMORE, R.W. Constitutively active *Pto* induces a *Prf*-dependent hypersensitive response in the absence of *avrPto*. *EMBO J.* v. 18, p. 3.232-3.240, 1999.

RENELT, A.; COLLING, C.; HAHLBROOK, K.; NURNBERGER, T.; PARKER, J.E.; SACKS, W.R.; SCHEEL, D. Studies on elicitor recognition and signal transduction in plant defense. *J. Exp. Bot.* v. 44, p. 257-268, 1993.

REUVENI, R.; SHIMONI, M.; KARCHI, Z.; KUC, J. Peroxidase activity as a biochemical marker for resistance of muskmelon (*Cucumis melo*) to *Pseudoperonospora cubensis*. *Phytopathology* v. 82, p. 749-753, 1992.

RHODES, M.J.C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Mol. Biol.* v. 24, p. 1-20, 1994.

RICHTER, T.E.; PRYOR, T.J.; BENNETZEN, J.L.; HULBERT, S.H. New rust resistance specificities associated with recombination in the *Rp1* complex in maize. *Genetics* v. 141, p. 373-381, 1995.

RIDE, J.P. The effect of induced lignification on the resistance of wheat cell walls to fungal degradation. *Physiol. Plant Pathol.* v. 16, p. 187-196, 1980.

RIGDEN, D.J.; MELLO, L.V.; BERTIOLI, D.J. Structural modeling of a plant disease resistance gene product domain. *Proteins* v. 41, p. 133-143, 2000.

RIOUX, D.; NICOLE, M.; SIMARD, M.; OUELLETTE, G.B. Immunocytochemical evidence that secretion of pectin occurs during

gel (gum) and tylosis formation in trees. *Phytopathology* v. 88, p. 494-505, 1998.

RITTER, C.; DANGL, J.L. The *avrRpm1* gene of *Pseudomonas syringae* pv *maculicola* is required for virulence on *Arabidopsis*. *Mol. Plant-Microbe Interaction*. v. 8, p. 444-453, 1995.

ROBERT-BAUDOY, J.; NASSER, W.; CONDEMINE, G.; REVERCHON, S.; SHEVCHIK, V.E.; PATTAT, N.H.C. Pectic enzymes of *Erwinia chrysanthemi*, regulation and role in pathogenesis. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant Microbe Interactions*, v. 5. St Paul-MN: APS Press, 2000. p.221-268.

ROBERTS, I.S. The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 50, p. 285-315, 1996.

ROBERTS, M.R.; BOWLES, D.J. Fusicoccin, 14-3-3 proteins, and defense responses in tomato plants. *Plant Physiol.* v. 119, p. 1.243-1.250, 1999.

ROSE, A.H. Secondary products of metabolism. In: ROSE, A.H. (Ed.). *Economic Microbiology*, v. 3. 1979, p. 2-32.

ROSSI, M.; GOGGIN, F.L.; MILLIGAN, S.B.; KALOSHIAN, I.; ULLMAN, D.E.; WILLIAMSON, V.M. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 9.750-9.754, 1998.

RUEFFER, M.; STEIPE, B.; ZENK, M.H. Evidence against specific binding of salicylic acid to plant catalase. *FEBS Lett.* v. 377, p. 175-180, 1995.

RUMBOLZ, J.; KASSEMAYER, H.-H.; STEINMETZ, V. Differentiation of infection structures of the powdery mildew fungus *Uncinula necator* and adhesion to the host cuticle. *Can. J. Bot.* v. 78, p. 409-421, 2000.

RUSSIN, J.S.; GUO, B.Z.; TUBAJIKA, K.M.; BROWN, R.L.; CLEVELAND, T.E.; WIDSTROM, N.W. Comparison of kernel wax from corn genotypes resistant or susceptible to *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* v. 87, p. 529-533, 1997.

RUSTERUCCI, C.; STALLAERT, V.; MILAT, M.L. et al. Relationship between active oxygen species, lipid peroxidation, necrosis and

phytoalexin production induced by elicitors in *Nicotiana*. *Plant Physiol.* v. 111, p. 885-891, 1996.

RYALS, J.A.; NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H.-Y.; HUNT, M.D. Systemic Acquired Resistance. *Plant Cell* v. 8, p. 1.809-1.819, 1996.

SAIGUSA, M.; YAMAMOTO, A.; SHIBUYA, K. Agricultural use of porous hydrated calcium silicate: effect of porous hydrated calcium silicate on resistance of rice plant (*Oryza sativa* L.) to rice blast (*Pyricularia oryzae*). *Plant Prod. Sci.* v. 3, p. 51-54, 2000.

SAILE, E.; MCGARVEY, J.A.; SCHELL, M.A.; DENNY, T.P. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology* v. 87, p. 1.264-1.271, 1997.

SAITO, T.; MESHU, T.; TAKAMATSU, N.; OKADA, Y. Coat protein gene sequence of tobacco mosaic virus encodes a host response determinant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 84, p. 6.074-6.077, 1987.

SALANOUBAT, M.; GENIN, S.; ARTIGUENAVE, F. et al. Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature* v. 415, p. 497-502, 2002.

SALLES, I.I.; BLOUNT, J.W.; DIXON, R.A.; SCHUBERT, K. Phytoalexin induction and β -1,3-glucanase activities in *Colletotrichum trifolii* infected leaves of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 61, p. 89-101, 2002.

SALMERON, J.M.; OLDROYD, G.E.D.; ROMMENS, C.M.T.; SCOFIELD, S.R.; KIM, H.-S.; LAVELLE, D.T.; DAHLBECK, D.; STASKAWICZ, B.J. Tomato *Prf* is a member of the leucine-rich-repeat class of plant disease resistance genes and lies embedded within the *Pto* kinase gene cluster. *Cell* v. 86, p. 123-133, 1996.

SALMOND, G.P.C. Secretion of extracellular virulence factors by plant pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 32, p. 181-200, 1994.

SALOMON, R.; BERNARDI, F. Inhibition of viral aphid transmission by the N-terminus of the maize dwarf mosaic virus coat protein. *Virology* v. 213, p. 676-679, 1995.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Labs., 1989.

SANCHEZ, L.M.; DOKE, N.; KAWAKITA, K. Elicitor-induced chemiluminescence in cell suspension cultures of tomato, sweet-pepper and tobacco plants and its inhibition by suppressors from *Phytophthora* spp. *Plant Sci.* v. 88, p. 141-148, 1993.

SAVILLE, L.; LEONG, S. The Molecular Biology of Pathogenesis in *Ustilago maydis*. In: SETLOW, J.K. (Ed.). *Genetic engineering*. New York: Plenum Press, 1992.

SAWHNEY, R.; WEBSTER, J.M. The role of plant growth hormones in determining the resistance of tomato plants to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Nematologica* v. 21, p. 95-103, 1975.

SCHAFFER, W. Molecular mechanisms of fungal pathogenicity to plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 32, p. 461-477, 1994.

SCHAFFER, W.; STRANEY, D.; CIUFFETTI, L.; VAN ETEN, H.D.; YODER, O.C. One enzyme makes a fungal pathogen, but not a saprophyte, virulent on a new host plant. *Science* v. 246, p. 247-249, 1989.

SCHALLER, A.; ROY, P.; AMRHEIN, N. Salicylic acid-independent induction of pathogenesis-related gene expression by fusicoccin. *Planta* v. 210, p. 599-606, 2000.

SCHEFFER, R.P.; SAMADDAR, K.R. Host-specific toxins as determinants of pathogenicity. *Rec. Adv. Phytochem.* v. 3, p. 123-142, 1970.

SHELL, M.A. To be or not to be: how *Pseudomonas solanacearum* decides whether or not to express virulence genes. *Eur. J. Plant Pathol.* v. 102, p. 459-469, 1996.

———. Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 38, p. 263-292, 2000.

SCHENK, P.M.; KAZAN, K.; WILSON, I.; ANDERSON, J.P.; RICHMOND, T.; SOMERVILLE, S.C.; MANNERS, J.M. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 97, p. 11.655-11.660, 2000.

SCHLEIF, R. *Genetics and Molecular Biology*. 2 ed. Baltimore, MA.: The John Hopkins Univ. Press. 1993. 698 p.

SCHLUMBAUM, A.; MAUCH, F.; VOGELI, U.; BOLLER, T. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. *Nature* v. 324, p. 365-367, 1986.

SCHMIDT, E.H.; DOMKE, N.; ANGERER, C.; WANNER, G.; ZAMBRYSKI, P.C.; BARON, C. *Vir* proteins stabilize *VirB5* and mediate its association with the T pilus of *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bacteriol.* v. 181, p. 7.485-7.492, 1999.

SCHNEIDER, E.A.; WIGHTMAN, F. Metabolism of auxins in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 25, p. 487-513, 1974.

SCHRAMMEIJER, B.; BEIJERSBERGEN, A.; IDLER, K.B.; MELCHERS, L.S.; THOMPSON, D.V.; HOOYKAAS, P.J.J. Sequence analysis of the *vir*-region from *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *J. Exp. Bot.* v. 51, p. 1.167-1.169, 2000.

SCHWACKE, R.; HAGER, A. Fungal elicitors induce a transient release of active oxygen species from cultured spruce cells that is dependent of Ca²⁺ and protein-kinase activity. *Planta* v. 187, p. 136-141, 1992.

SCOPES, R.K. *Protein Purification: Principles and Practice*. 3. ed. New York: Springer-Verlag, 1994. 375 p.

SEMBLAT, J.P.; ROSSO, M.N.; HUSSEY, R.S.; ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 14, p. 72-79, 2001.

SEN, C.K.; PACKER, L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J.* v. 10, p. 709-720, 1996.

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

SEQUEIRA, L. Inhibition of indolacetic acid oxidase in tobacco plants infected with *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* v. 54, p. 1.078-1.083, 1964.

_____. Hormone metabolism in diseased plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 24, p. 353-380, 1973.

_____. Lectins and their role in host-pathogen specificity. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 16, p. 453-481, 1978.

_____. Mechanisms of induced resistance in plants, fungi, viruses, bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 37, p. 51-79, 1983.

SHAW, S. *et al.* The early events in *Agrobacterium* infection. In: SMITH, C.J. (Ed.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plant-Microbe Interactions*. Oxford Sci. Publ., 1991, p. 197-209.

SHEPHERD, K.W.; MAYO, G.M.E. Genes conferring specific plant disease resistance. *Science* v. 175, p. 375-380, 1972.

SHIRAIISHI, T.; YAMADA, T.; ICHINOSE, Y.; KIBA, A.; TOYODA, K.; KATO, T.; MURAKAMI, Y.; SEKI, H. Suppressor as a factor determining plant-pathogen specificity. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*, vol. 4. St. Paul-MN: APS Press, 1999. p. 121-162.

SHOLTHOF, K.B.G.; SHAW, J.G.; M. ZAITLIN, *Tobacco Mosaic Virus: One Hundred Years of Contributions to Virology*. St. Paul-MN, EUA: APS Press, 1999. 256 p.

SHULAEV, V.; LÉON, J.; RASKIN, I. Is salicylic acid a translocated signal of systemic acquired resistance in tobacco? *Plant Cell* v. 7, p. 1.691-1.701, 1995.

SHULAEV, V.; SILVERMAN, P.; RASKIN, I. Airborne signaling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature* v. 385, p. 718-721, 1997.

SIJMONS, P.C.; ATKINSON, A.J.; WYSS, U. Parasitic strategies of root nematodes and associated host cell responses. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 32, p. 235-259, 1994.

SILVERSTONE, A.L.; SUN, T.-P. Gibberellins and the green revolution. *Trends Plant Sci.* v. 5, v. 1, p. 1-2, 2000.

SIMARD, M.; RIOUX, D.; LAFLAMME, G. Formation of ligno-suberized tissues in jack-pine resistant to the European race of *Gremmeniella abietina*. *Phytopathology* v. 91, p. 1.128-1.140, 2001.

SIMPSON, A.J.G.; REINACH, F.C.; ARRUDA, P. *et al.* The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nature* v. 406, p. 151-157, 2000.

SINGH, P.; BUGIANI, R.; CAVANNI, P.; NAKAJIMA, H.; KODAMA, M.; OTANI, H.; KOHMOTO, K. Purification and biological

characterization of host-specific SV-toxins from *Stemphylium vesicarium*, causing brown spot of European pear. *Phytopathology* v. 89, p. 947-953, 1999.

SMANT, G.; STOKKERMANS, J.P.W.G.; YAN, Y. Endogenous cellulases in animals: isolation of β -1,4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 4.906-4.911, 1998.

SNYDER, B.A.; LEITE, B.; HIPSKIND, J.; BUTLER, L.G.; NICHOLSON, R.L. Accumulation of sorghum phytoalexins induced by *Colletotrichum graminicola* at the infection site. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 39, p. 463-470, 1991.

SOLIDAY, C.L.; DICKMAN, M.B.; KOLATTUKUDY, P.E. Structure of the cutinase gene and detection of promoter activity in the 5'-flanking region by fungal transformation. *J. Bacteriol.* v. 171, p. 1.942-1.951, 1989.

SONG, W.-Y.; WANG, G.-L.; CHEN, L.-L.; KIM, H.-S.; PI, L.-Y.; HOLSTEN, T.; GARDNER, J.; WANG, B.; ZHAI, W.-X.; ZHU, L.-H.; FAUQUET, C.; RONALD, P. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. *Science* v. 270, p. 1.804-1.806, 1995.

SOSA-MORALES, M.E.; GUEVARA-LARA, F.; MARTINEZ-JUAREZ, V.M. Production of indole-3-acetic acid by mutant strains of *Ustilago maydis*. *Appl. Microbiol. Biotech.* v. 48, p. 726-729, 1997.

SOUTHERN, E.M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* v. 98, p. 503-517, 1975.

STAFFORD, H.A. Crown gall disease and *Agrobacterium tumefaciens*: a study of the history, present knowledge, missing information, and impact on molecular genetics. *Bot. Rev.* v. 66, p. 99-118, 2000.

STARK-LORENZEN, P.; NELKE, B.; HANBLER, G.; MUHLBACH, H.P.; THOMZIK, J.E. Transfer of a grapevine stilbene synthase gene to rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell* v. 16, p. 668-673, 1997.

STASKAWICZ, B.J. Genetics of plant-pathogen interactions specifying plant disease resistance. *Plant Physiol.* v. 125, p. 73-76, 2001.

STASKAWICZ, B.J.; AUSUBEL, F.M.; BAKER, B.J.; ELLIS, J.G.; JONES, J.D. Molecular genetics of plant disease resistance. *Science* v. 268, p. 661-667, 1995.

STASKAWICZ, B.J.; DAHLBECH, D.; KEEN, N.T. Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* L.Merr. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 81, p. 6.024-6.028, 1984.

STASKAWICZ, B.J.; MUDGETT, M.B.; DANGL, J.L.; GALAN, J.E. Common and contrasting themes of plant and animal diseases. *Science* v. 5.525, p. 2.285-2.289, 2001.

STEINBERGER, E.M.; BEER, S.V. Creation and complementation of pathogenicity mutants of *Erwinia amylovora*. *Mol Plant-Microbe Interact.* v. 1, p. 135-144, 1988.

STEINER, V.; SCHONBECK, F. Induced disease resistance in monocots. In: HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. *Induced resistance to disease in plants*. Dordrecht: Kluwer, 1995, p. 86-110.

STEPHENSON, S.A.; HATFIELD, J.; RUSU, A.G.; MACLEAN, D.J.; MANNERS, J.M. CgDN3: An essential pathogenicity gene of *Colletotrichum gloeosporioides* necessary to avert a hypersensitive-like response in the host *Stylosanthes guianensis*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 929-941, 2000.

STICHER, L.; MAUCH, M.B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 35, p. 235-270, 1997.

STINTZI, A.; HEITZ, T. PRASAD, V. et al. Plant pathogenesis-related proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie* v. 75, p. 687-706, 1993.

STOCKWELL, V.; HANCHEY, P. The role of the cuticle in resistance of beans to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* v. 73, p. 1.640-1.642, 1983.

STOESSL, A. Secondary plant metabolites in plant disease resistance. Part I. Preformed resistance factors. *Fitopatol. Bras.* v. 10, p. 391-416, 1985.

———. Secondary metabolites in plant disease resistance. Part II. Phytoalexins. *Fitopatol. Bras.* v. 11, p. 25-53, 1986

STORMS, M.M.H.; KORMELINK, R.; PETERS, D.; VAN LENT, J.W.M.; GOLDBACH, R.W. The non-structural NSm protein of tomato spotted wilt virus induces tubular structures in plant and insect cells. *Virology* v. 214, p. 485-493, 1995.

STORMS, M.M.H.; VAN DER SCHOOT, C.; PRINS, M.; KORMELINK, R.; VAN LENT, J.W.M.; GOLDBACH, R.W. A comparison of two microinjection techniques for assessing altered plasmodesmal gating in tissues expressing viral movement proteins. *Plant J.* v. 13, p. 131-140, 1998.

STRATFORD, R.; COVEY, S.N. Segregation of cauliflower mosaic virus symptom genetic determinants. *Virology* v. 172, p. 451-459, 1989.

STROBEL, G.A. Phytotoxins produced by plant parasites. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 25, p. 541-566, 1974.

_____. Bacterial phytotoxins. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 31, p. 205-224, 1977.

STROBEL, N.E.; JI, C.; GOPALAN, S.; KUC, J.A.; HE, S.Y. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv *syringae* 61 HrpZ (Pss) protein. *Plant J.* v. 9, p. 431-439, 1996.

STUMPF, P.R.; CONN, E.E. *The Biochemistry of Plants*, vol. 7: *Secondary plant products*. New York: Academic Press, 1981. 789 p.

SUNDBERG, C.D.; REAM, W. The *Agrobacterium tumefaciens* chaperone-like protein, *VirE1*, interacts with *VirE2* at domains required for single-stranded DNA binding and cooperative interaction. *J. Bacteriol.* v. 181, p. 6.850-6.855, 1999.

SUZUKI, Y.S.; WANG, Y.; TAKEMOTO, J.Y. Syringomicin-stimulated phosphorylation of the plasma membrane H⁺-ATPase from red beet storage tissue. *Plant Physiol.* v. 99, p. 1.314-1.320, 1992.

SWARUP, S. A pathogenicity locus from *Xanthomonas citri* enables strains from several pathovars of *X. campestris* to elicit canker-like lesions on citrus. *Phytopathology* v. 7, p. 802-809, 1991.

SWARUP, S. et al. An *Xanthomonas citri* pathogenicity gene, *pthA*, pleiotropically encodes gratuitous avirulence on nonhosts. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 5, p. 204-213, 1992.

SZYPERSKI, T.; FERNÁNDEZ, C.; MUMENTHALER, C.; WUTHRICH, K. Structure comparison of human glioma pathogenesis-related protein

GliPR and the plant pathogenesis related protein P14a indicates a functional link between the human immune system and a plant defense system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 2.262-2.266, 1998.

TAI, T.H.; DAHLBECK, D.; CLARK, E.T.; GAJIWALA, P.; PASION, R.; WHALEN, M.C.; STALL, R.E.; STASKAWICZ, B.J. Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 96, p. 14.153-14.158, 2000.

TAI, T.H.; DAHLBECK, D.; STALL, R.E.; PELEMAN, J.; STASKAWICZ, B.J. High-resolution genetic and physical mapping of the region containing the *Bs2* resistance gene of pepper. *Theor. Appl. Genet.* v. 99, p. 1.201-1.206, 1999.

TAKAHASHI, H.; SUZUKI, M.; NATSUAKI, K. Mapping the virus and host genes involved in the resistance response in cucumber mosaic virus-infected *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* v. 42, p. 340-347, 2001.

TAKANO, Y.; KIKUCHI, T.; KUBO, Y.; HAMER, J.E.; MISE, K.; FURUSAWA, I. The *Colletotrichum lagenarium* MAP kinase gene CMK1 regulates diverse aspects of fungal pathogenesis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 374-383, 2000.

TAKKEN, F.L.W.; SCHIPPER, D.; NIJKAMP, H.J.J.; HILLE, J. Identification and *Ds*-tagged isolation of a new gene at the *Cf-4* locus of tomato involved in disease resistance to *Cladosporium fulvum* race 5. *Plant J.* v. 14, p. 410-411, 1998.

TANAKA, A.; WATANABE, S.; YAMASHITA, K. Synthesis of HS-toxin A aglycone. *Biosci. Biotech. Bioch.* v. 56, p. 104-107, 1992.

TANG, X. Y.; FREDERICK, R. D.; ZHOU, J. M.; HALTERMAN, D. A.; JIA, Y. L.; MARTIN, G.B. Initiation of plant disease resistance by physical interaction of AvrPto and Pto kinase. *Science* v. 274, p. 2.060-2.063, 1996.

TANG, X.; XIE, M.; KIM, Y.J.; ZHOU, J.; KLESSIG, D.F.; MARTIN, G.B. Overexpression of *Pto* activates defense responses and confers broad resistance. *Plant Cell* v. 11, p. 15-29, 1999.

THE *ARABIDOPSIS* GENOME INITIATIVE. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* v. 408, p. 796-815, 2000.

THE *C. ELEGANS* SEQUENCING CONSORTIUM. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science* v. 282, p. 2.012-2.017, 1998.

THIMANN, K.V.; SACHS, T. The role of cytokinins in the fasciation disease caused by *Corynebacterium fascians*. *Am. J. Bot.* v. 53, p. 731-739, 1966.

THOMAS, C.M.; JONES, D.A.; PARNISKE, M.; HARRISON, K.; BALINT-KURTI, P.J.; HATZIXANTHIS, K.; JONES, J.D.G. Characterization of the tomato *Cf-4* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* identifies sequences that determine recognitional specificity in *Cf-4* and *Cf-9*. *Plant Cell* v. 9, p. 2.209-2.224, 1997.

THOMAS, R.F.; TWOROSKI, T.J.; FRENCH, R.C.; LEATHER, G.R. *Puccinia punctiformis* affects growth and reproduction of Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Technol.* v. 8, p. 488-493, 1994.

THOMMA, B.P.H.J.; EGGERMONT, K.; PENNINGKX, I.A.M.A.; MAUCH, M.B.; VOGELANG, R.; CAMMUE, B.P.A.; BROEKAERT, W.F. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 15.107-15.111, 1998.

THOMMA, B.P.H.J.; EGGERMONT, K.; TIERENS, M.J.; BROEKAERT, W.F. Requirement of functional ethylene-insensitive 2 gene for efficient resistance of *Arabidopsis* to infection by *Botrytis cinerea*. *Plant Physiol.* v. 121, p. 1.093-1.101, 1999.

THOMZIK, J.E.; STENZEL, K.; STOCKER, R.; SCHREIER, P.H.; HAIN, R.; STAHL, D.J. Synthesis of a grapevine phytoalexin in transgenic tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) conditions resistance against *Phytophthora infestans*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 51, p. 265-278, 1997.

TIERENS, K.F.M.-J.; THOMMA, B.P.H.J.; BROUWER, M. Study of the role of antimicrobial glucosinolate-derived isothiocyanates in resistance of *Arabidopsis* to microbial pathogens. *Plant Physiol.* v. 125, p. 1.688-1.699, 2001.

TIMMERMAN, V.G.M.; FREW, T.J.; WEEDEN, N.F. Characterization and linkage mapping of R-gene analogous DNA sequences in pea *Pisum sativum* L. *Theor. Applied Genet.* v. 101, p. 241-247, 2000.

TOMARU, M.; MARUYAMA, W.; KIKUCHI, A.; YAN, J.; ZHU, Y.; SUZUKI, N.; ISOGAI, M.; OGUMA, Y.; KIMURA, I.; OMURA, T. The loss of outer capsid protein P2 results in nontransmissibility by the insect vector of rice dwarf phyto-reovirus. *J. Virol.* v. 71, p. 8.019-8.023, 1997.

TOMIYAMA, K.; ISHIZAKA, N.; SATO, N.; MASAMUNE, T.; KATSUI, N. Rishitin, a phytoalexin-like substance: its role in the defense reaction of potato tubers to infection. *Biochemical Regulation in Diseased Plant or Injury*. Tokio: *The Phytopathol. Soc. of Japan*, 1967. p. 287-92.

TOMIYAMA, K.; SAKUMA, T.; ISHIZAKA, N.; SATO, N.; KATSUI, N. et al. A new antifungal substance isolated from resistant potato tuber tissue infected by pathogens. *Phytopathology* v. 58, p. 115-116, 1968.

TOYODA, Y.A.; SHIMODA, N.; MACHIDA, Y. Genetic analysis of the signal-sensing region of the histidine protein kinase *VirA* of *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol. Gen.* v. 263, p. 939-947, 2000.

TSIAMIS, G.; MANSFIELD, J.W.; HOCKENHULL, R.; JACKSON, R.W.; SESMA, A.; ATHANASSOPOULOS, E.; BENNETT, M.A.; STEVENS, C.; VIVIAN, A.; TAYLOR, J.D.; MURILLO, J. Cultivar-specific avirulence and virulence functions assigned to *avrPphF* in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, the cause of bean halo-blight disease. *EMBO J.* v. 19, p. 3.204-3.214, 2000.

TSUYUMU, S.; TAKIKAWA, Y.; FURUTANI, N.; TANAKA, K.; KANAMORI, H.; KONDOH, Y.; NAGAI, H. Factors involved in the pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. In: MILLS, D.; KUNOH, H.; KEEN, N.T.; MAYAMA, S. (Eds.). *Molecular Aspects of Pathogenicity and Resistance*. St. Paul, MN: APS Press, 1996, p. 105-114.

TUCKER, S.L.; TALBOT, N.J. Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 39, p. 385-417, 2001.

TURNER, J.G.; TAHA, R.R. Contribution of tabtoxin to the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Physiol. Plant Pathol.* v. 25, p. 55-69, 1984.

UEGAKI, R.; KUBO, S.; FUJIMORI, T. Stress compounds in the leaves of *Nicotiana undulata* induced by TMV inoculation. *Phytochemistry* v. 27, p. 365-368, 1988.

UKNES, S.; MAUCHMANI, B.; MOYER, M. et al. Acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* v. 4, p. 645-656, 1992.

ULHOA, C.J. *Estudos do complexo celulolítico de Pycnoporus sanguineus*. Tese de Mestrado, Univ. de Brasília, Brasília, 1986. 74 p.

ULLMAN, D.E.; CASEY, C.A.; WHITFIELD, A.E.; CAMPBELL, L.R.; ROBB, K.L.; MEDEIROS, R.B.; GERMAN, T.L.; SHERWOOD, J.L. *Thrips and Tospoviruses: present and future strategies for management*. The Brighton Conference - Pests and Disease, 1998. p. 391-400.

ULLMAN, D.E.; MEDEIROS, R.B.; CAMPBELL, L.R.; WHITFIELD, A.; SHERWOOD, J.L.; GERMAN, T.L. Thrips as Vectors of Tospoviruses. *Adv. Bot. Res.* v. 36, p. 113-140, 2002.

VALSANGIACOMO, C.; GESSLER, C. Role of the cuticular membrane in ontogenic and Vf-resistance of apple leaves against *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* v. 78, p. 1.066-1.069, 1988.

VAN DEN ACKERVEKEN, G.F.J.M.; VAN KAN, J.A.L.; DE WIT, P.J.G.M. Molecular analysis of the avirulence gene *avr9* of *Cladosporium fulvum* fully supports the gene-for-gene hypothesis. *Plant J.* v. 2, p. 359-366, 1992.

VAN DEN ACKERVEKEN, G.F.J.M.; VOSSSEN, P.; DE WIT, P.J.G.M. The AVR9 race-specific elicitor of *Cladosporium fulvum* is processed by endogenous plant proteases. *Plant Physiol.* v. 103, p. 91-96, 1993.

VAN DEN ENDEN, G.; LINSKENS, H.F. Cutinolytic enzymes in relation to pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 12, p. 247-258, 1974.

VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M.; HOGENHOUT, S.A.; VAN DER WILK, F. Recognition and receptors in virus transmission by arthropods. *Trends Microbiol.* v. 7, p. 71-76, 1999.

VAN DER EYCKEN, W.; ALMEIDA-ENGLER, J.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. A molecular study of root-knot nematode-induced feeding sites. *Plant J.* v. 9, p. 45-54, 1996.

VAN DER EYCKEN, W.; NIEBEL, A.; INZE, D.; VAN MONTAGUE, M.; GHEYSEN, G. Molecular study of root knot induction by the nematode *Meloidogyne incognita*. *Med. Van den Fac. Landbouw.* v. 57, p. 895-901, 1992.

VAN DER MOLEN, G.E.; BECKMAN, C.H.; RODEHÖRST, E. Vascular gelation: a general response phenomenon following infection. *Physiol. Plant Pathol.* v. 11, p. 95-100, 1977.

VAN ETTEN, H.D.; TEMPORINI, E.; WASMANN, C. Phytoalexin (and phytoanticipin) tolerance as a virulence trait: why is it not required by all pathogens? *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 59, p. 83-93, 2001.

VAN ETTEN, H.D.; MANSFIELD, J.W.; BAILEY, J.A.; FARMER, E.E. Letter to the Editor. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus "phytoanticipins". *Plant Cell* v. 6, p. 1.191-1.192, 1994.

VAN ETTEN, H.D.; MATTHEWS, D.E.; MATTHEWS, P.S. Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 27, p. 143-164, 1989.

VAN KAN, J.A.L.; VAN DEN ACKERVEKEN, G.F.J.M.; DE WIT, P.J.G.M. Cloning and characterization of cDNA of avirulence gene *avr9* of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*, causal agent of tomato leaf mold. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 4, p. 52-59, 1991.

VAN LOON, L.C.; VAN KAMMEN, A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. Samsun and Samsun NN. Changes in protein constitution after infection with TMV. *Virology* v. 40, p. 199-211, 1970.

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

VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 36, p. 453-483, 1998.

VAN SLUYS, M. A.; MONTEIRO-VITORELLO, C. B.; CAMARGO, L. E. A. Comparative genomic analysis of plant-associated bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 40, p. 169-189, 2002.

VAN SLUYS, M.A.; DE OLIVEIRA, M.C.; MONTEIRO-VITORELLO, C.B.; MIYAKI, C.Y. et al. Comparative analyses of the complete genome sequences of Pierce's disease and citrus variegated chlorosis strains of *Xylella fastidiosa*. *J. Bacteriol.* v. 185, p. 1.018-1.026, 2003.

VAN WEES, S.C.M.; PIETERSE, C.M.J.; TRIJSSENAAR, A.; VAN WESTENDE, Y.A.M.; HARTOG, F.; VAN LOON, L.C. Differential

induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 10, p. 716-724, 1997.

VANCE, C.P., KIRK, T.K.; SHERWOOD, R.T. Lignification as a mechanism of disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 18, p. 259-288, 1980.

VANDERPLANCK, J.E. *Plant Disease: epidemics and control*. New York: Academic Press, 1963. 349 p.

_____. *Principles of Plant Infection*. New York: Academic Press, 1975. 216 p.

_____. *Host-Pathogens Interaction in Plant Disease*. New York: Academic Press, 1982. 207 p.

VELDSTRA, H. Plant tumors and crown gall, an analysis of autonomous growth. In: GEESTERANUS, H.P.M. (Ed.). *Proc. Third Intern. Confer. Plant Pathogenic Bacteria*, Wageningen 14-21 April, 1971. Centre for Agric. Publ. and Docum., Wageningen, 1972, p. 213-221.

VERNOOIJ, B.; FRIEDRICH, L.; MORSE, A.; REIST, R.; KOLDITZ-JAWHAR, R.; WARD, E.; UKNES, S.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell* v. 6, p. 959-965, 1994.

VIDHYASEKARAN, P. *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1997. 553 p.

WAIGMANN, E.; LUCAS, W.J.; CITOVSKY, V.; ZAMBRYSKI, P. Direct functional assay for tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein and identification of a domain involved in increasing plasmodesmal permeability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 91, p. 1.433-1.437, 1994.

WALKER, J.C.; LINK, K.P. Toxicity of phenolic compounds to certain onion bulb parasites. *Bot. Gaz.* v. 99, p. 468-484, 1935.

WALKER, J.C. *Plant Pathology*. 3. ed. New York: McGraw Hill, 1967. 819 p.

WALTON, D.C. Biochemistry and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 31, p. 453-489, 1980.

WALTON, J.D.; PANACCIONE, D.G. Host-selective toxins and disease specificity: perspectives and progress. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 31, p. 275-303, 1993.

WALTON, J.D. Biochemical Plant Pathology. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (Eds). *Plant Biochemistry*. London, UK.: Academic Press Ltd., 1997. p. 485-502.

WANG, G.L.; RUAN, D.L.; SONG, W.Y.; SIDERIS, S.; CHEN, L.L.; PI, L.Y. *et al.* *Xa21D* encodes a receptor-like molecule with a leucine-rich repeat domain that determines race-specific recognition and is subject to adaptative evolution. *Plant Cell* v. 10, p. 765-779, 1998.

WANG, Z.X.; YANO, M.; YAMANOUCHI, U.; IWAMOTO, M.; MONNA, L.; HAYASAKA, H.; KATAYOSE, Y.; SASAKI, T. The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *Plant J.* v. 19, p. 55-64, 1999.

WARREN, R.F.; HENK, A.; MOWERY, P.; HOLUB, E.; INNES, R.W. A mutation within the leucine-rich repeat domain of the *Arabidopsis* disease resistance gene *Rps5* partially suppresses multiple bacterial and downy mildew resistance genes. *Plant Cell* v. 10, p. 1.439-1.452, 1998.

WASPI, U.; BLANC, D.; WINKLER, T.; RUEDI, P.; DUDLER, R. *Syringolin*, a novel peptide elicitor from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* that induces resistance to *Pyricularia oryzae* in rice. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 11, p. 727-733, 1998.

WATANABE, K.; NAGAHAMA, K.; SATO, M. A conjugative plasmid carrying the *efe* gene for the ethylene-forming enzyme isolated from *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*. *Phytopathology* v. 88, p. 1.205-1.209, 1998.

WATSON, J.D.; CRICK, F.H.C. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* v. 171, p. 737-738, 1953.

WEI, W.; PLOVANICH-JONES, A.; DENG, W.-L.; JIN, Q.-L.; COLLMER, A.; HUANG, H.-C.; HE, S.Y. The gene coding for the *hrp* pillus structural protein is required for type III secretion of Hrp and Avr proteins in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 97, p. 2.247-2.252, 2000.

WEIERGANG, I.; JORGENSEN, H.J.L.; MOLLER, I.M.; FRIIS, P.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Correlation between sensitivity of barley to *Pyrenophora teres* toxins and susceptibility to the fungus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* v. 60, p. 121-129, 2002.

WEILER, E.W.; SPANIER, K. Phytohormones in the formation of crown gall tumors. *Planta* v. 153, p. 326-337, 1981.

WEINGART, H.; ULLRICH, H.; GEIDER, K.; VÖLKSCH, B. The role of ethylene production in virulence of *Pseudomonas syringae* pvs. *glycinea* and *phaseolicola*. *Phytopathology* v. 91, p. 511-518, 2001.

WEINGART, H.; VOLKSCH, B.; ULLRICH, M.S. Comparison of ethylene production by *Pseudomonas syringae* and *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology* v. 89, p. 360-365, 1999.

WEINRAUCH, Y.; ZYCHLINSKY, A. The induction of apoptosis by bacterial pathogens. *Annu. Rev. Microbiol.* v. 53, p. 155-187, 1999.

WELKIE, G.W.; YOUNG, S.F.; MILLER, G.W. Metabolic changes induced by cucumber mosaic virus in resistance and susceptible strains of cowpea. *Phytopathology* v. 57, p. 472-475, 1967.

WELTRING, K.M.; TURGEON, B.G.; YODER, O.C.; VANETTEN, H.D. Isolation of a phytoalexin-detoxification gene from the plant pathogenic fungus *Nectria haematococca* by detecting its expression in *Aspergillus nidulans*. *Gene* v. 68, p. 335-344, 1988.

WHARTON, P.S.; JULIAN, A.M.; O'CONNELL, R.J. Ultrastructure of the infection of *Sorghum bicolor* by *Colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* v. 91, p. 149-158, 2001.

WHATLEY, M.H.; HUNTER, N.; CANTRELL, M.A.; KEEGSTRA, K.; SEQUEIRA, L. Lipopolysaccharide composition of the wilt pathogen, *Pseudomonas solanacearum*, correlation with the hypersensitive response in tobacco. *Plant Physiol.* v. 65, p. 557-559, 1980.

WHEELER, H. *Plant Pathogenesis*. New York: Springer-Verlag, 1975, 106 p.

WHENHAM, R.J.; FRASER, R.S.S. Effect of systemic and local lesion forming strains of tobacco mosaic virus on abscisic acid concentration in tobacco leaves: consequences for the control of leaf growth. *Physiol. Plant Pathol.* v. 18, p. 267-278, 1981.

WHITE, R.F. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology* v. 99, p. 410-412, 1979.

WHITEHEAD, N.A.; SALMOND, G.P.C. Quorum sensing and the role of diffusible signalling molecules in plant-microbe interactions. In:

STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*, v. 5. St.Paul-MN: APS Press, 2000. p. 43-92.

WHITHAM, S.; DINESH-KUMAR, S.P.; CHOI, D.; HEHL, R.; CORR, C.; BAKER, B. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *N*: similarity to *Toll* and the interleukin-1 receptor. *Cell* v. 78, p. 1.101-1.115, 1994.

WHITHAM, S.A.; ANDERBERG, R.J.; CHISHOLM, S.T. *Arabidopsis* RTM2 gene is necessary for specific restriction of tobacco etch virus and encodes an unusual small heat shock-like protein. *Plant Cell* v. 12, p. 569-582, 2000.

WHITHAM, S.A.; YAMAMOTO, M.L.; CARRINGTON, J.C. Selectable viruses and altered susceptibility mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 96, p. 772-777, 1999.

WIESE, M.W.; DEVAY, J.E. Growth regulator changes in cotton associated with defoliation caused by *Verticillium albo-atrum*. *Plant Physiol.* v. 45, p. 304-309, 1970.

WILLIS, D.K.; RICH, J.J.; HRABAK, E.M. *Hrp* genes of phytopathogenic bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 4, p. 132-138, 1991.

WILSON, I.W.; SOMERVILLE, S.C. Isolation and characterization of disease resistance genes in *Arabidopsis*. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*, v. 5. St. Paul-MN: APS Press, 2000. p. 141-180.

WIMMER, E. *Cellular Receptors for Animal Viruses*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994. 526 p.

WINK, M. Special Nitrogen Metabolism. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (Eds.). *Plant Biochemistry*. London: Academic Press Ltd., UK, 1997. p. 439-486.

WINTERMANTEL, W.M.; SCHOELZ, J.E. Isolation of recombinant viruses between cauliflower mosaic virus and a viral gene in transgenic plants under conditions of moderate selection pressure. *Virology* v. 223, p. 156-164, 1996.

WOLOSHUK, C. P.; MEULENHOF, J.S.; SELA-BUURLAGE, M. et al. Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward *Phytophthora infestans*. *Plant Cell* v. 3, p. 619-628, 1991.

WOOD, D.W.; SETUBAL, J.C.; KAUL, R.; MONKS, D.E. et al. The genome of the natural genetic engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* v. 294, p. 2.317-2.323, 2001.

WOOD, R.K.S.; GRANITI, A. *Specificity in Plant Diseases*. New York: Plenum Press, 1976. 354 p.

———. *Physiological Plant Pathology*. Oxford: Blackwell Scientif. Publ., 1967. 570 p.

———. *Active Defense Mechanisms in Plants*. New York: Plenum Press, 1981. 381p.

WOOD, R.K.S., BALLIO, A.; GRANITI, A. *Phytotoxins in Plant Diseases*. New York: Academic Press, 1972. 530 p.

WUBBEN, J.P.; PRICE, K.R.; DANIELS, M.J.; OSBOURN, A.E. Detoxification of oat leaf saponins by *Septoria avenae*. *Phytopathology* v. 86, p. 986-992, 1996.

WYLLIE, T.D.; MOREHOUSE, L. *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses: an Encyclopedic Handbook*, v. 1. New York: Marcel Dekker Inc., 1977.

XI, K.; BURNETT, P.A.; TEWARI, J.P.; CHEN, M.H.; TURKINGTON, T.K.; HELM, J.H. Histopathological study of barley cultivars resistant and susceptible to *Rhynchosporium secalis*. *Phytopathology* v. 90, p. 94-102, 2000.

XIAO, J.Z.; TSUDA, M.; DOKE, N. Phytotoxins produced by germinating spores of *Bipolaris oryzae*. *Phytopathology* v. 81, p. 58-64, 1991.

XIAO, S.; ELLWOOD, S.; CALIS, O. Broad-spectrum mildew resistance in *Arabidopsis thaliana* mediated by RPW8. *Science* v. 291, p. 118-120, 2001.

XU, Y.; CHANG, P.F.L.; LIU, D.; NARASIMHAN, M.L.; RAGHOTHANMA, K.G.; GASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A. Plant defense genes are synergistically induced by ethylene and methyl jasmonate. *Plant Cell* v. 6, p. 1.077-1.085, 1994.

YAKOBY, N.; FREEMAN, S.; DINOOR, A.; KEEN, N.T.; PRUSKY, D. Expression of pectate lyase from *Colletotrichum gloeosporioides* in *C. magna* promotes pathogenicity. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 887-891, 2000.

YAMADA, T. The role of auxins in plant disease development. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 31, p. 253-273, 1993.

YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. Gibberelin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiol.* v. 41, p. 251-257, 2000.

YAN, Y.; SMANT, G.; STOKKERMANS, J. Genomic organization of four β -1,4-endoglucanase genes in plant-parasitic cyst nematodes and its evolutionary implications. *Gene* v. 220, p. 61-70, 1998.

YANG, J.; VERMA, P.R.; LEES, G.L. The role of the cuticle and epidermal cell wall in resistance of rapeseed and mustard to *Rhizoctonia solani*. *Plant and Soil* v. 142, p. 315-321, 1992.

YANG, K.-Y.; LIU, Y.; ZHANG, S. Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway is involved in disease resistance in tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 98, p. 741-746, 2001.

YANG, Y.; KLESSIG, D.F. Isolation and characterization of a tobacco mosaic virus-inducible *myb* oncogene homolog from tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 93, p. 14.972-14.977, 1996.

YANG, Y.; SHAH, J.; KLESSIG, D.F. Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes Development* v. 11, p. 1.621-1.639, 1997.

YANG, Y.; WILSON, L.T.; MAKELA, M.E.; MARCHETTI, M.A.; KRAUSZ, J.P. Effect of leaf age and nodal position on receptivity of rice leaves to infection by *Pyricularia grisea*. *J. Phytopathol.* v. 146, p. 157-164, 1998.

YAO, N.; IMAI, S.; TADA, Y.; NAKAYASHIKI, H.; TOSA, Y.; PARK, P.; MAYAMA, S. Apoptotic cell death is a common response to pathogen attack in oats. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 15, p. 1.000-1.007, 2002.

YE, X.S.; PAN, S.Q.; KUC, J. Activity, isozyme pattern, and cellular localization of peroxidase as related to systemic resistance of tobacco to blue mold (*Peronospora tabacina*) and to tobacco mosaic virus. *Phytopathology* v. 80, p. 1.295-1.299, 1990.

YODER, O.C.; TURGEON, B.G. Molecular-genetic evaluation of fungal molecules for roles in pathogenesis to plants. *J. Genet.* v. 75, p. 425-440, 1996.

YODER, O.C. Toxins in pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* v. 18, p. 103-129, 1980.

YOSHII, M.; YOSHIOKA, N.; ISHIKAWA, M.; NAITO, S. Isolation of an *Arabidopsis thaliana* mutant in which the multiplication of both cucumber mosaic virus and turnip crinkle virus is affected. *J. Virol.* v. 72, p. 8.731-8.737, 1998.

YOSHIMURA, S.; YAMANOUCHI, U.; KATAYOSE, Y.; TOKI, S.; WANG, Z.X.; KONO, I.; KURATA, N.; YANO, M.; IWATA, N.; SASAKI, T. Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 95, p. 1.663-1.668, 1998.

YOUNG, N.D. The genetic architecture of resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.* v. 3, p. 285-290, 2000.

YU, L.M. Elicitins from *Phytophthora* and basic resistance in tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v. 92, p. 4.088-4.094, 1995.

YU, J.; HU, S.; WANG, J.; WONG, G.K.; LI, S. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science* v. 296, p. 79-92, 2002.

YUAN, J.; WEI, W.; GOPALAN, S.; HU, W.; JIN, Q.; PLOVANICH-JONES, A.; MUNCIE, L.; HE, S.Y. *Hrp* genes of *Pseudomonas syringae*. In: STACEY, G.; KEEN, N.T. (Eds.). *Plant-Microbe Interactions*, v. 5. St. Paul-MN: APS Press, 2000. p. 1-20.

YUNG, K.H.; NORTHCOTE, D.H. Some enzymes present in the walls of mesophyll cells of tobacco leaves. *Biochem. J.* v. 151, p. 141-144, 1975.

ZAITLIN, M. Viral cross protection: more understanding is needed. *Phytopathology* v. 66, p. 382-383, 1976.

ZAMBINO, P.J.; KUBELIK, A.R.; SZABO, L.J. Gene action and linkage of avirulence genes to DNA markers in the rust fungus *Puccinia graminis*. *Phytopathology* v. 90, p. 819-826, 2000.

ZAREIE, R.; MELANSON, D.L.; MURPHY, P.J. Isolation of fungal cell wall degrading proteins from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 15, p. 1.031-1.039, 2002.

ZHENG, L.; CAMPBELL, M.; MURPHY, J.; LAM, S.; XU, J.-R. The *BMP1* gene is essential for pathogenicity in the gray mold fungus *Botrytis cinerea*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* v. 13, p. 724-732, 2000.

ZHOU, F.; KURTH, J.; WEI, F.; ELLIOTT, C.; VALÉ, G.; YAHIAOUI, N.; KELLER, B.; SOMMERVILLE, S.; WISE, R.; SEHULZE-LEFERT, P. Cell-autonomous expression of barley *Mla1* confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a *Rar1*-independent signaling pathway. *Plant Cell* v.13, p. 337-350, 2001.

ZHOU, J.; LOH, Y.T.; BRESSAN, R.A.; MARTIN, G.B. The tomato gene *Pti1* encodes a serine/threonine kinase that is phosphorylated by *Pto* and is involved in the hypersensitive response. *Cell* v. 83, p. 925-935, 1995.

ZHU, Q.; DROGE-LASER, W.; DIXON, D.A.; LAMB, C. Transcriptional activation of plant defense genes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* v. 6, p. 624-630, 1996.

ZINOVEVA, S.V.; OZERETSKOVSKAYA, O.L.; VASYUKOVA, N.I.; ILINSKAYA, L.I.; UDALOVA, Z.B. Inducement of resistance in tomato to the gall nematode *Meloidogyne incognita* using the biogenic elicitor arachidonic acid. *Sodobno Kmetijstvo* v. 29, p. 450-457, 1996.

ZUKER, A.; AHRONI, A.; TZFIRA, T.; BEN-MEIR, H.; VAINSTEIN, A. Wounding by bombardment yields highly efficient *Agrobacterium*-mediated transformation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Mol. Breed.* v. 5, p. 367-375, 1999.

ZUPAN, J.; MUTH, T.R.; DRAPER, O.; ZAMBRYSKI, P. The transfer of DNA from *Agrobacterium tumefaciens* into plants: a feast of fundamental insights. *Plant J.* v. 23, p. 11-28, 2000.

Apêndices

Apêndice 1

A Via do Shiquimato e do Corismato

A via do shiquimato e do corismato é responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos *fenilalanina*, *tirosina* e *triptofano* (Figuras A-D). Os dois primeiros são especialmente importantes como precursores químicos de importantes substâncias envolvidas na defesa das plantas contra patógenos, ou seja, os compostos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos, ácidos cinâmicos, ácido salicílico, ácido clorogênico, antocianinas, glicosídeos fenólicos, ligninas, quinonas, pigmentos melanóides, etc.). Os anéis benzênicos desses compostos são oriundos principalmente daqueles dois aminoácidos (Figura C). Já o triptofano é o ponto de partida de várias vias metabólicas conhecidas em plantas, bactérias e fungos, as quais levam à produção de hormônios vegetais como o ácido indolacético, o ácido indolbutírico, a indolacetonitrila e outros compostos do mesmo grupo (Figura D).

Fosfoenolpiruvato (um intermediário da glicólise) e *eritrose 4-fosfato* (proveniente da *via das pentoses fosfatadas*), ambos derivados da glucose, constituem as matérias-primas básicas do processo químico que resulta na produção dos três aminoácidos aromáticos mencionados. Esquemáticamente, pode-se simplificar a via do shiquimato e do corismato da seguinte forma:

(1) eritrose 4-fosfato + fosfoenolpiruvato →→ 5-deidroshiquimato → (2)

(2) 5-deidroshiquimato → shiquimato → (3)

(3) shiquimato → → → corismato → → → preferato → → → (4)

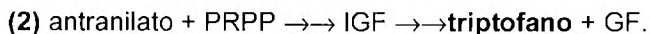
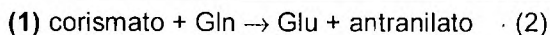
(4a) preferato → fenilpiruvato → **fenilalanina**

(4b) preferato → hidroxifenilpiruvato → **tirosina**

A interface entre a síntese de fenilalanina e o metabolismo secundário dos fenilpropanóides é controlada pela enzima fenilalanina amônia liase (FAL). Essa enzima catalisa a deaminação não oxidativa da fenilalanina para formar a primeira estrutura de fenilpropano, o ácido cinâmico, com eliminação de amônia. O ácido cinâmico é o primeiro de uma importante série de compostos fenólicos, como as cumarinas. Em algumas gramíneas e fungos, a mesma enzima pode atuar sobre a tirosina levando diretamente ao ácido ρ -cumárico, um dos precursores da lignina (Figura C).

Além dessa, outra via que também leva à produção de compostos fenólicos é a *via do acetato-mevalonato*, a qual consta no Apêndice 2 e é a principal responsável pela produção de outro grupo importante de metabólitos vegetais secundários, os chamados terpenóides ou isoprenóides.

As Figuras A e B ilustram como são produzidos dois dos aminoácidos com anéis benzênicos, fenilalanina e tirosina. Já o triptofano (Trp), com seu radical indol, origina-se, numa primeira fase, da transformação de corismato em antranilato, após receber um grupo amino de glutamina (Gln) produzindo também glutamato (Glu). Antranilato condensa-se com fosforribosil-pirofosfato (PRPP), formando seqüencialmente dois intermediários que se transformam em indol-3-glicerol-fosfato (IGF) que recebe outro grupo amino de serina, transformando-se em triptofano e liberando gliceraldeído 3-fosfato (GF), (Figura D). O esquema abaixo resume as principais etapas da síntese do triptofano.



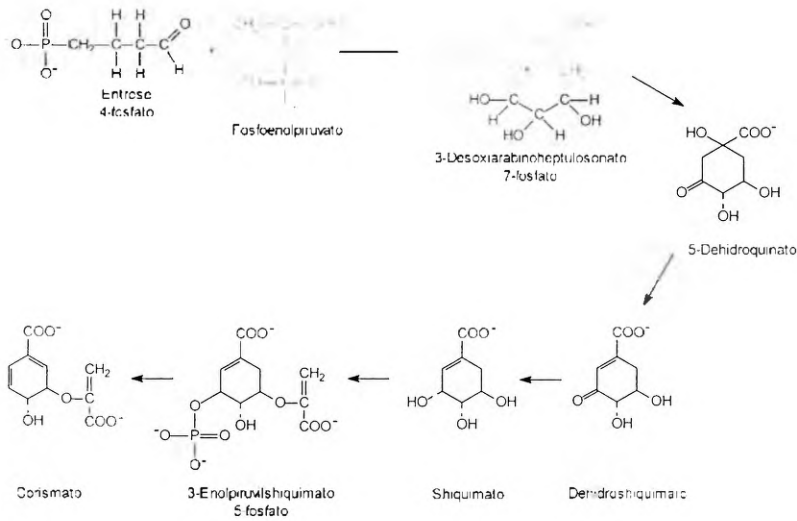


Figura A Síntese do corismato

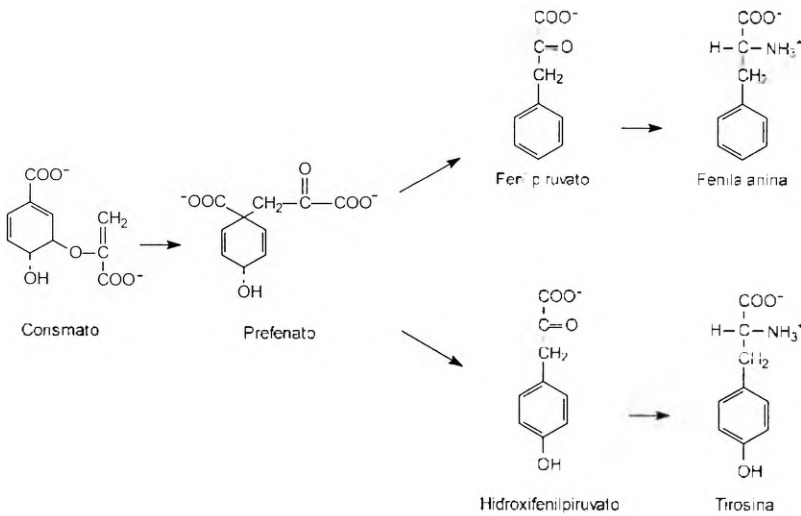


Figura B Síntese dos aminoácidos fenilalanina e tirosina a partir do corismato

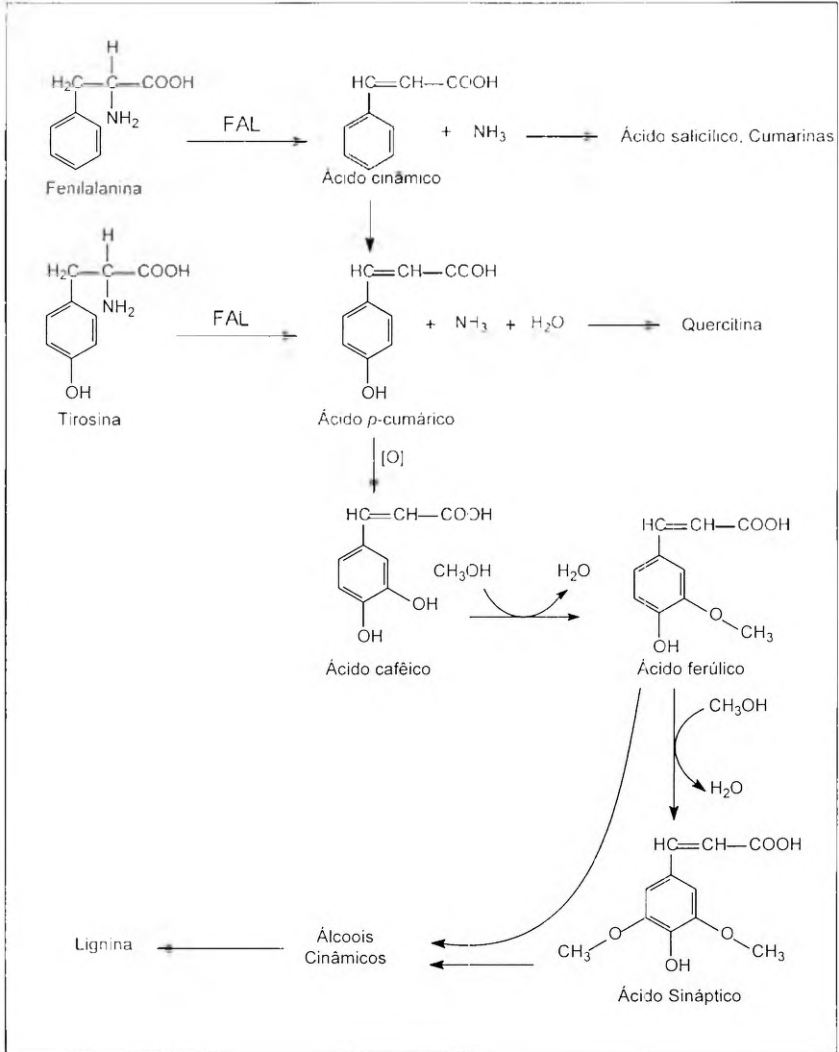


Figura C Síntese dos ácidos cinâmicos e de outros produtos fenólicos

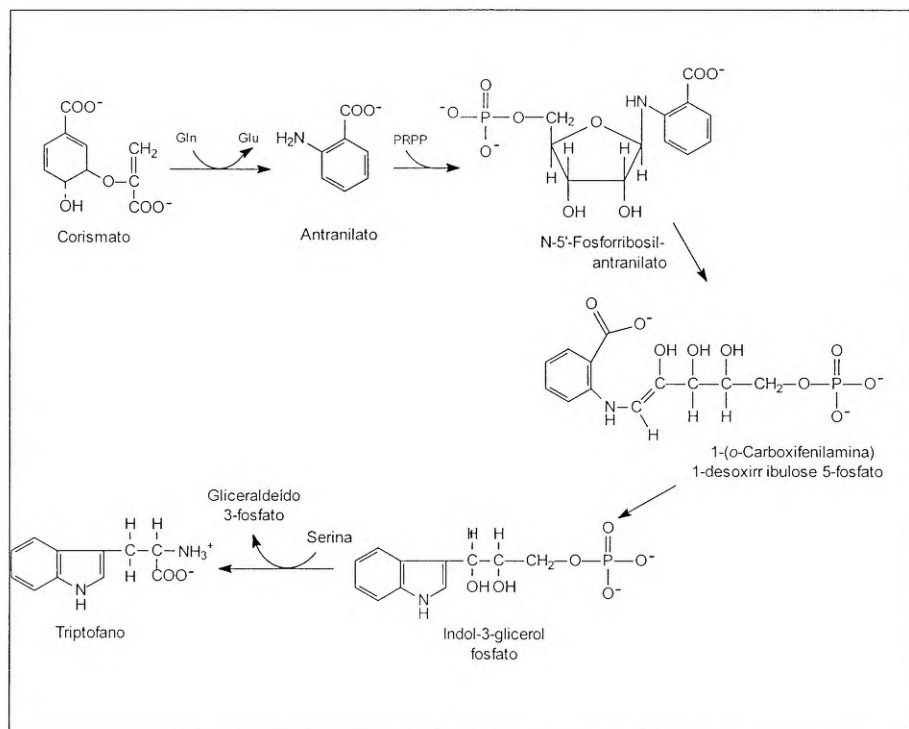


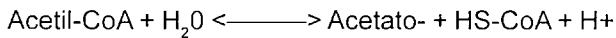
Figura D Síntese de triptofano a partir de corismato

Apêndice 2

A Via do Acetato-Mevalonato

Essa via metabólica leva à síntese de compostos importantes para a planta, como as giberelinas, muitas fitoalexinas, o ácido abscísico e várias fitotoxinas produzidas por patógenos.

O acetil-coenzima A ou acetil-SCoA ($\text{H}_3\text{C-CO-SCoA}$) é produzido principalmente pela via glicolítica a partir de piruvato, ou por meio da beta-oxidação dos ácidos graxos. A hidrólise de acetil-SCoA ocorre segundo a equação:



A síntese dos compostos denominados terpenóides ou isoprenóides, que englobam os chamados esteróides ou terpenóides tetracíclicos, inicia-se com a formação de *isopentenilpirofosfato* (IPP) a partir de acetil-SCoA, sendo essa a primeira etapa da *via do acetato-mevalonato*. Resumidamente, essa via pode ser sintetizada nas seguintes etapas:

- (1) $2 \text{ Acetil-SCoA} \rightarrow \text{Acetoacetil-SCoA} + \text{HSCoA}$
- (2) $\text{Acetoacetil-SCoA} + \text{Acetil-SCoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{3-hidroxi-3-metil-glutaril-SCoA} \rightarrow \text{Mevalonato}$
- (3) $\text{Mevalonato} + 3 \text{ ATP} \rightarrow \text{IPP} + 3 \text{ ADP} + \text{Pi} + \text{CO}_2$

IPP é uma substância quimicamente muito ativa graças à presença do radical pirofosfato em sua composição. Isso dá ao IPP a capacidade de condensar-se formando moléculas com 10 (monoterpenos), 15

(sesquiterpenos), 20 (diterpenos), 30 (triterpenos) e 40 (tetraterpenos) átomos de carbono. Exemplos de monoterpenos são os óleos essenciais como: pineno, cânfora, geraniol e mentol sesquiterpenos: sirenina, o hormônio sexual de fungos do gênero *Allomyces*, rishitina, uma fitoalexina produzida pela batata e o ácido abscísico; diterpenos são as giberelinas; triterpenos cíclicos são os esteróides, entre os quais figuram os fitoesteróis e as saponinas triterpenóides, todos derivados do esqualeno (C_{30}). Já os tetraterpenos (C_{40}) incluem o grupo dos carotenóides como: licopeno, alfa e beta-caroteno (pro-vitamina A) e as xantofilas (luteína, zeaxantina, neoxantina e violaxantina). A seguir é ilustrada a via do acetato-mevalonato, a estrutura química do IPP e de seu isômero dimetilalil-pirofosfato (DMAPP), elementos básicos dos terpenóides, que, por suas propriedades químicas, são englobados no amplo e diverso grupo dos lipídios, ao lado de: acilglicerídeos, ceras, fosfolipídeos, esfingolipídeos e glicolipídeos (Figuras E e F).

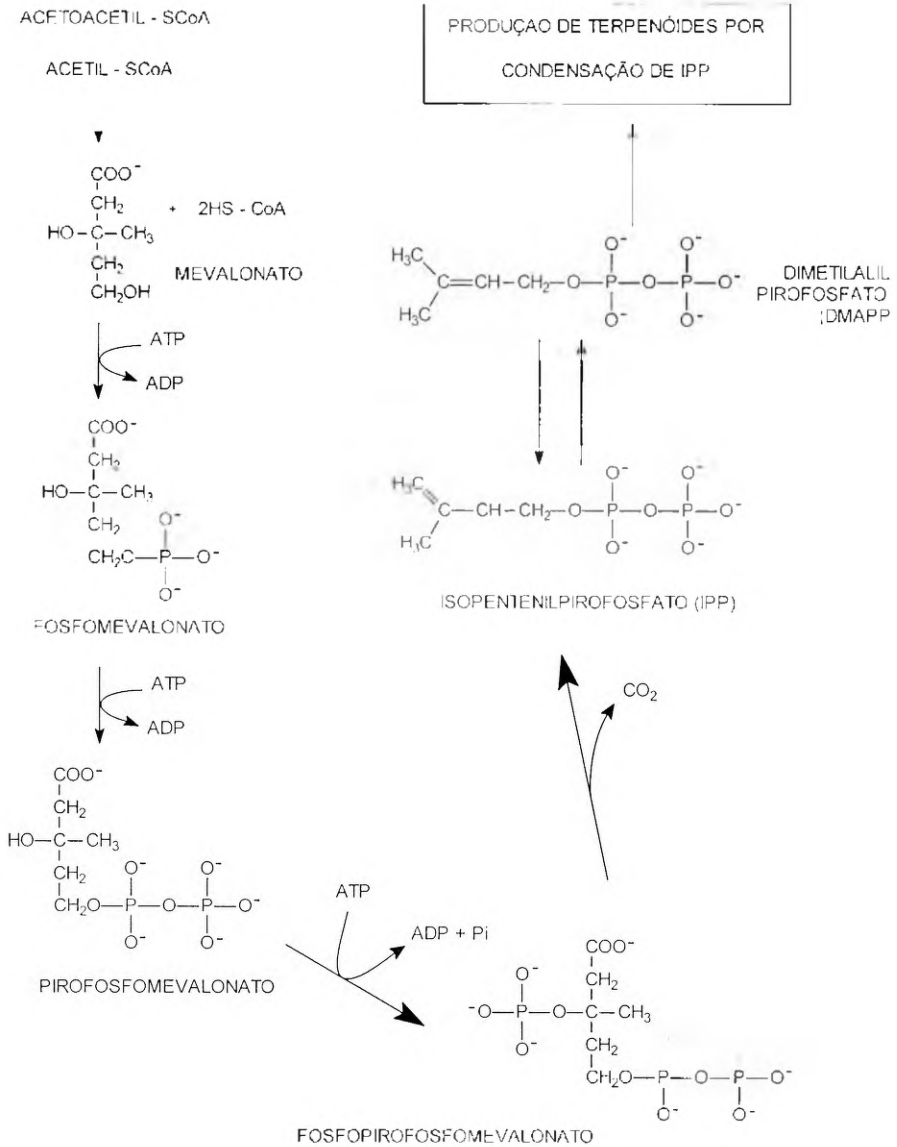


Figura E Biossíntese do isopentenilpirofosfato (IPP)

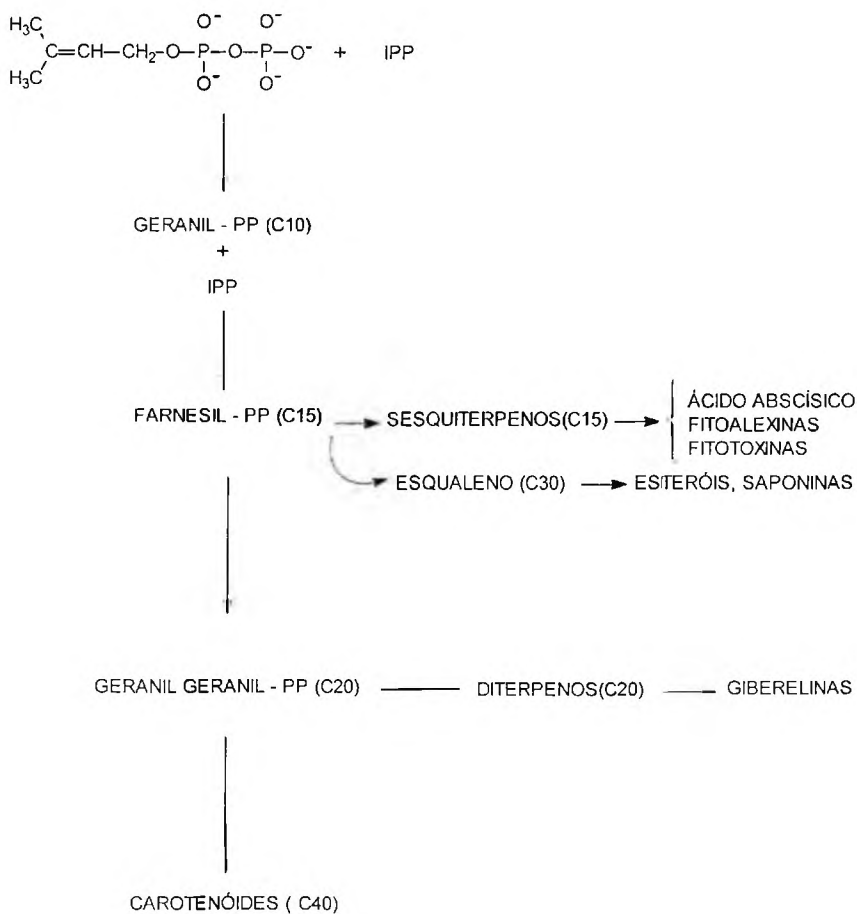


Figura F Biossíntese dos terpenóides a partir de isopentenilpirofosfato (IPP)

Apêndice 3

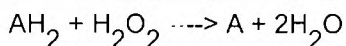
Enzimas oxidantes de fenóis

1. Fenolases ou Polifenoloxidasas

Polifenoloxidasas são enzimas portadoras de altos níveis de cobre e oxidam um grande número de mono- ou polifenóis. Existem pelo menos três tipos de enzimas: *tirosinases*, *lacases* e *polifenoloxidasas*, todas atuando na presença de O_2 e sem a participação de H_2O_2 . As *tirosinases* transformam os monofenóis em ortodifenóis (atividade creolase) e depois podem oxidar os ortodifenóis a ortoquinonas (atividade catecolase). Este último composto poderá ser polimerizado e resultar na produção de melanina, responsável pela reação de escurecimento do tecido vegetal, inclusive do xilema de plantas que murcham por ação de fungos ou bactérias. As *lacases* são fenoloxidasas que agem sobre os orto- e os paradifenóis produzindo orto- e paraquinonas, respectivamente, enquanto as *metapolifenoloxidasas* atuam somente sobre metadifenóis (Figura G).

2. Peroxidasas

São comuns em plantas superiores, sendo constituídas por moléculas protéicas associadas a uma Fe-porfirina (Protoporfirina IV). Catalisam reações de oxidação usando H_2O_2 como acceptor de elétrons e atuam em vários processos, como a lignificação da parede celular, a biossíntese do etileno e respostas de estresses. Oxidam fenóis, aminas, flavonas, aminoácidos e o citocromo C. A oxidação dos substratos ocorre segundo a seguinte reação:



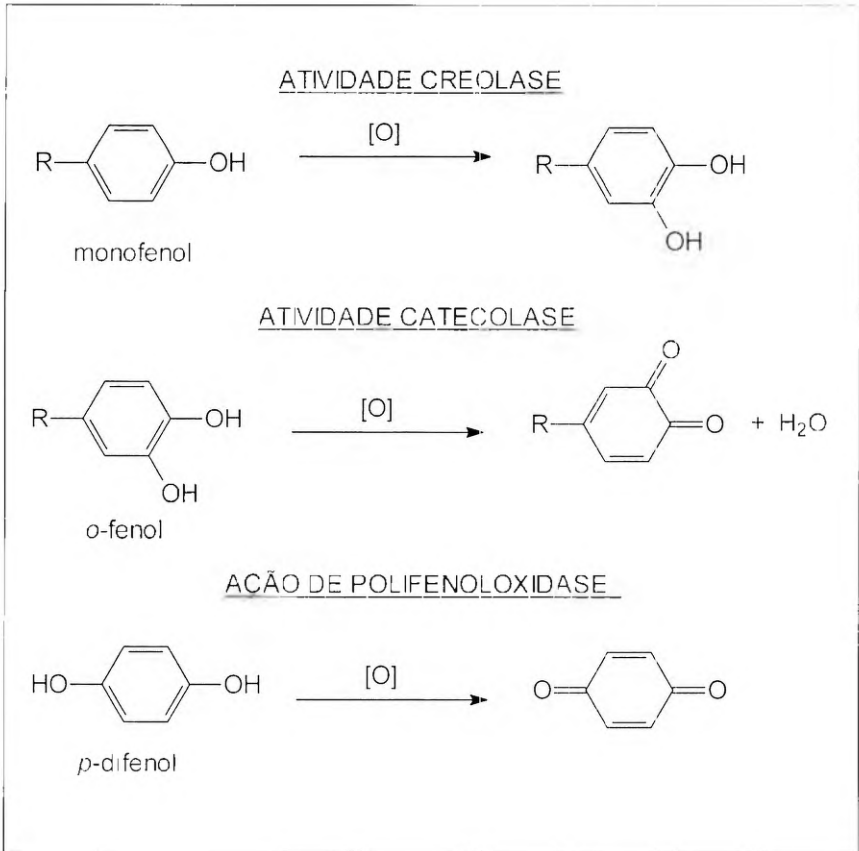
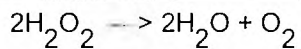


Figura G Oxidação dos fenóis por ação das polifenoloxidasas

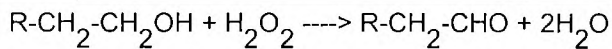
onde A é o substrato oxidado, que pode ser um composto fenólico, ou mesmo conter um radical indol, como é o caso das auxinas como o ácido indolacético (AIA) e outras.

3. Catalases

São responsáveis pela seguinte reação:



No entanto, em baixas concentrações, funcionam como peroxidases. Chegam também a promover reações que as peroxidases não catalisam, como:



Apêndice 4

Biossíntese do AIA

1. Biossíntese do ácido indol-3-acético (AIA)

A biossíntese do AIA a partir de triptofano ocorre por diferentes vias metabólicas, tendo sido bem estudada em três espécies de bactérias fitopatogênicas: *Agrobacterium tumefaciens*, *Ralstonia solanacearum* e *P. savastanoi* pv. *savastanoi*. Nas duas primeiras, o AIA é produzido via ácido indolpirúvico, enquanto na última indolacetamida é o intermediário. Em plantas, o intermediário mais comum é a triptamina, embora também ocorra via ácido indolpirúvico. Em *Bradyrhizobium*, o AIA é produzido via indolpiruvato, enquanto o fungo *Taphrina deformans*, além dessa via, pode também sintetizá-lo a partir de triptofol. O esquema apresentado na página seguinte mostra as diferentes vias de síntese do AIA, bem como as reações químicas envolvidas. As enzimas envolvidas são (Figura H):

- a- Amino transferase do triptofano
- b- Descarboxilase do ácido indolpirúvico
- c- Oxidase do indolacetaldeído
- d- Descarboxilase do triptofano
- e- Oxidase da triptamina
- f- Oxidase descarboxilativa do triptofano
- g- Hidrolase de indolacetamida
- h- Nitrilase
- i- Oxidase do triptofol

LITERATURA RELATIVA AOS APÊNDICES

CALLOW, J.A. *Biochemical Plant Pathology*. Chichester: John Wiley and Sons, 1983. 346 p.

DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (eds.). *Plant Biochemistry*. New York: Academic Press, 1997, 554 p.

GOODMAN, R.N.; KIRÁLY, Z.; ZAITLIN, M. *The Biochemistry and Physiology of Infectious Plant Disease*. Princenton, N.J.: Van Nostrand-Reinhold, Inc., 1967. 354 p.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1995, 839 p.

MISAGHI, I.J. *Physiology and Biochemistry of Plant-Pathogen Interactions*. New York: Plenum Press, 1983. 201 p.

REUVENI, R. Biochemical markers for disease resistance. In: SINGH, R.P.; SINGH, U.S. (Eds.). *Molecular methods in plant pathology*. London: CRS Press, 1995, p. 99-130.

SEQUEIRA, L. Hormone metabolism in diseased plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* v. 24, p. 353-380, 1973.

STRYER, L. *Biochemistry*. New York: W. H. Freeman and Company, 1997, 1.064 p.

WEILER, E.W.; SPANIER, K. Phytohormones in the formation of crown gall tumors. *Planta* v. 153, p. 326-337, 1981.

Índice Remissivo

- Acibenzolar-S-metil, 149
Ácido 2,6-dicloroisonicotínico, 149
Ácido abscísico, 51, 54, 62, 68, 69, 271, 272
Ácido alternárico, 42
Ácido cianídrico, 118
Ácido clorogênico, 54, 115, 127, 265
Ácido fumárico, 37, 42
Ácido fusárico, 41, 42
Ácido giberélico, 61, 63, 68
Ácido oxálico, 37, 42
Ácido poligalacturônico, 22, 23, 24, 25
Ácido salicílico, 68, 135, 136, 144, 147, 150, 172, 174, 186, 187, 191, 265
Ácido shiquímico, 27, 127
Ácido tiobarbitúrico, 25
Ácidos cutínicos, 21
Ácidos orgânicos, 14, 42
Agaricus bisporus, 61
Agrobacterium rhizogenes, 55
Agrobacterium tumefaciens, 55, 56, 57, 59, 63, 74, 89, 180, 279
Agropina, 57
Álcoois cinâmicos, 27
Alternaria alternata, 47, 48, 163
Alternaria brassicicola, 21, 30
Alternaria solani, 66, 117, 134
Amilases, 29
Amilovorana, 74, 77
Antibióticos, 73, 127
Apoptose, 142, 143, 192
Arabidopsis, 9, 86, 92, 133, 138, 143, 144, 146, 148, 160, 169, 170, 174, 175, 176, 187, 192
Arabinogalactanas, 27
Arabinose, 22, 27
Aspergillus, 26, 32, 101
 Aspergillus niger, 42
Auxinas, 27, 51, 52, 57, 59, 60, 62, 63, 65, 276
Aveia *Victoria*, 44
Avena bizantina, 44
Avirulência, 81, 85, 86, 89, 130, 133, 142, 160, 161, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 175, 176
Azotobacter, 61
Bakanae, 61
Benzotriazolozole, 149
Biossíntese da suberina, 107
Biossíntese de fitoalexinas, 127, 133
Biossíntese de polissacarídeos, 74
Blumeria graminis, 63, 105, 106
Boletus elegans, 61
Botryosphaeria, 26
Botrytis cinerea, 21, 26, 42, 83, 133, 134, 137, 145
Bradyrhizobium japonicum, 42

- Brusone, 42, 83, 103, 134
 Cálcio, 186, 190
 Camada de abscisão, 110
 Camadas de cortiça, 109
 Cana-de-açúcar, 44
 Células estomáticas, 41
 Células vegetais, 13, 41, 44, 51, 59, 88, 89, 90, 108, 134, 189
 Celulases, 25, 26, 30, 31
 Células-guarda, 46
 Celulose, 13, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 52, 104, 105, 118
 Cera epicuticular, 20
Ceratocystis fagacearum, 53
Ceratocystis fimbriata, 66, 115
Ceratocystis ulmi, 42
 Cercosporina, 42, 189
Cerrena, 28
Chaetomium, 26
 Cicatrização, 28
Ciclo das pentoses fosfatadas, 52
Cirsium arvense, 61
 Citocininas, 51, 57, 62, 63, 65
 Citoplasma Texas, 45
Cladosporium cucumerinum, 21, 26, 69, 108, 109, 146
Cladosporium fulvum, 83, 117, 129, 142, 161, 167, 189
Cochliobolus carbonum, 46, 168
Cochliobolus heterostrophus, 45, 132
Cochliobolus sacchari, 44
Cochliobolus victoriae, 43, 44
 Coletocina, 43
Colletotrichum circinans, 114
Colletotrichum fuscum, 43
Colletotrichum gloeosporioides, 21, 30
Colletotrichum linicola, 26
Colletotrichum trifolii, 27
 Compostos pré-formados, 101, 113, 114, 116
Crinipellis pernicioso, 60, 63
 Cutícula, 13, 20, 21, 30, 101
 Cutina, 13, 19, 21, 30, 32, 101
 Cutinases, 14, 21, 30
 Defesa bioquímica, 112, 120
 Defesa estrutural, 101, 103, 113
 Degradação de auxinas, 59
 Desequilíbrio hormonal, 51, 60
Diplocarpon rosae, 60
Diplodia natalensis, 27
 Diterpenos cíclicos, 60
 Divisão celular, 46, 61, 63, 64
 Durina, 119
 Elicitinas, 128, 160
 Elicitores, 108, 127, 128, 129, 135, 142, 147, 157, 159, 160, 161, 162, 174, 186, 190
 Endo-metilpoligalacturonases, 24
 Endopoligalacturonases, 24
 Enfezamento, 42, 62, 68
 Enzimas pectolíticas, 24, 25, 32, 128
 Epiderme, 13, 14, 15, 20, 101, 103, 104, 115
Erwinia carotovora, 29
Erwinia chrysanthemi, 32
 Escopoletina, 54, 119
 Esterase, 21

- Estômatos, 21, 41, 46, 68, 101, 102
- Etileno, 51, 54, 66, 67, 68, 127, 135, 145, 147, 187, 275
- Exopoligalacturonases, 24
- Explosão oxidativa, 139, 142, 188, 189
- Extensinas, 23, 108
- Faseolina, 124, 125, 126, 127, 128, 134
- Fenilalanina, 66, 83, 114, 127, 147, 265, 266, 267
- Fenilalanina amônia-liase, 66, 107, 147, 186, 266, 268
- Fenóis, 66, 103, 114, 115, 120, 121, 122, 124, 275, 277
- Fitoalexinas, 66, 69, 83, 113, 122, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 141, 142, 147, 157, 163, 186, 191, 271
- Fitoanticipina, 113
- Fitotoxinas não-seletivas, 37
- Fitotoxinas seletivas, 43
- Fitotoxinas, 14, 37, 41, 271
- Flavonóides, 124, 133
- Fogo selvagem, 39
- Fosfolipases, 29, 186
- Fungos lignolíticos, 28
- Fusarium*, 26, 29, 32, 37, 41, 42, 46, 124
- Fusarium moniliforme*, 21, 42, 61, 137
- Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersci*, 31
- Fusarium solani* f.sp. *pisi*, 29, 30
- Fusicoccina, 37, 41
- Fusicoccum amygdali*, 41
- Galactose, 22, 77
- Galhas, 14, 51, 55, 56, 57, 60, 63, 65, 188
- Ganoderma*, 28
- Genes *avr*, 85, 86, 167, 168
- Genes de resistência, 39, 130, 141, 161, 166, 167, 170, 172, 175, 176, 177, 185, 187, 188
- Genes *hrp*, 84, 85, 86, 87, 190
- Genômica, 170, 176, 180, 181, 186
- Gibberella fujikuroi*, 61
- Giberelinas, 51, 60, 61, 62, 68, 271, 272
- Gliceolina, 126, 127, 128, 131, 132
- Glicoproteínas, 108, 128, 160
- Glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, 108, 147, 157
- Glicosídeos cianogênicos, 114, 118, 119
- Glomerella cingulata*, 26, 110
- Glucanases, 106, 129, 136, 137, 149
- Glucosidases, 121
- Glucosinolatos, 114, 119, 120
- Grifolla frondosa*, 61
- Helmintosporoside, 44
- Hemicelulases, 27
- Hemiceluloses, 13, 19, 23, 24, 27, 54
- Hérnias, 51, 64
- Hiperauxinia, 54

- Hormônios, 14, 51, 53, 55, 57, 62, 65, 86, 265
- Infecção vascular, 51
- Inonotus*, 28
- Jasmonato, 51, 66, 67, 135, 145, 187
- Lamela média, 21, 22, 24, 27, 110
- Licomarasmina, 41, 42
- Lignina, 19, 22, 27, 28, 54, 103, 105, 106, 107, 108, 109, 122, 139, 142, 147, 157, 191, 266
- Lupinus luteus*, 61
- Macho esterilidade, 45
- Mananas, 27
- Manose, 27, 77
- Meloidogyne*, 25, 26, 53, 62, 65, 69, 83, 159, 172, 177, 188
- Metabólitos secundários, 43, 113, 114, 115, 137
- Metilesterases, 25, 30
- Metilesterases da pectina, 25, 30, 31, 33
- Moniliformina, 42
- Monopina, 57
- Murcha, 9, 33, 41, 54, 68, 76, 110, 140
- Murcha bacteriana, 54, 68, 75
- Murchas, 14, 51, 54, 67
- Mycena citricolor*, 60
- Mycosphaerella*, 30, 120, 163
- Mycosphaerella pinodes*, 129, 163
- Nanismo, 61, 62, 68, 89
- Nectria haematococca*, 29, 132
- Nematóides, 14, 15, 26, 51, 62, 65, 83, 89, 97, 118, 127, 139, 168, 172
- Nódulo da oliveira, 54
- Nopalina, 57
- Octopina, 57
- Ofiobolinas, 43, 47
- Opinas, 57
- Ortofenóis, 54
- Osmotina, 136, 138
- Oxidase do AIA, 52, 54, 60
- Papilas, 104, 105, 106, 108, 137, 150
- Parede celular, 13, 19, 21, 22, 24, 26, 27, 29, 32, 48, 51, 52, 54, 60, 73, 76, 82, 86, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 128, 129, 137, 141, 142, 157, 159, 160, 163, 190, 191, 192, 275
- Parede primária, 21, 22, 27
- Parede secundária, 22
- Pectatos, 23
- Pectina, 21, 24, 30
- Penetração direta, 20, 101, 103, 104
- Peptidases, 39
- Peroxidases, 52, 66, 107, 122, 192, 275, 277
- Phakopsora pachyrhizi*, 102
- Phallus impudicus*, 61
- Phellinus pomaceus*, 61
- Phoma medicaginis* var. *pinodella*, 29
- Phyllosticta maydis*, 48
- Physalospora*, 26
- Phytophthora cinnamomi*, 32
- Phytophthora infestans*, 53, 69, 122, 134, 142

- Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*, 128
- Phytophthora megasperma* var. *nicotianae*, 146
- Piricularina, 37, 42
- Pisatina, 67, 124, 126, 127, 128, 129, 131, 132, 133, 163
- Plasmídio Ti, 56, 57, 58, 64
- Podridão branca, 27
- Podridão preta, 27
- Podridões moles, 14, 24, 32, 60, 101
- Polifenoxidase, 60, 275
- Poligalacturonases, 24, 25, 31, 32, 33, 136
- Polissacarídeo extracelular, 54, 71
- Poria*, 28
- Proteases, 29, 61, 67, 135, 136, 143, 192
- Proteína receptora, 44
- Proteínas relacionadas à patogênese, 134, 145, 158, 186
- Protopectina, 24
- Pseudomonas savastanoi*, 53, 54
- Pseudomonas syringae*, 37, 39, 66, 67, 84, 85, 121, 127, 130, 133, 143, 148, 149, 160, 162, 168, 174
- Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*, 39
- Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, 39
- Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, 14, 140
- Pseudomonas syringae* pv. *tagetis*, 40
- Puccinia coronata*, 44, 131
- Puccinia graminis avenae*, 137
- Puccinia graminis tritici*, 53, 63
- Puccinia helianthi*, 149
- Puccinia psidii*, 102
- Puccinia punctiformis*, 61
- Puccinia sorghi*, 178
- Pyrenophora teres*, 43, 48
- Pyricularia grisea*, 42, 103, 109, 162
- Pythium aphanidermatum*, 26
- Pythium* spp, 120
- Queimas, 14
- Quinases, 163, 172, 173, 185, 187, 188
- Quitinases, 128, 136, 137, 138, 149
- Ralstonia solanacearum*, 33, 53, 66, 74, 75, 84, 86, 176, 279
- Ramnose, 22, 75, 77
- Reação de hipersensibilidade, 66, 82, 84, 89, 104, 106, 135, 137, 138, 139, 157, 158, 160, 167, 187, 192
- Receptores, 58, 59, 90, 129, 157, 159, 160, 161, 170, 172, 177, 185
- Reconhecimento, 40, 58, 84, 86, 89, 90, 120, 129, 139, 142, 144, 147, 157, 158, 163, 167, 173, 174, 175, 185, 188, 189, 190
- Resistência sistêmica adquirida, 135, 137, 141, 144, 147, 158, 160, 173, 186, 191

- Resistência sistêmica induzida, 144
- Rhizoctonia*, 21, 26
- Rhizoctonia solani*, 21, 29, 120, 138
- Rhizopus*, 26, 101
- Rhizopus arrhizus*, 42
- Rhizopus circinans*, 42
- Rhizopus stolonifer*, 42
- Rhynchosporium secalis*, 48, 105, 137
- Rishitina, 123, 125, 126, 127, 272
- Rizobitoxina, 42
- Saponinas, 114, 116, 117, 118, 119, 272
- Sclerotinia fructigena*, 31
- Sclerotinia sclerotiorum*, 42
- Sclerotium cepivorum*, 25
- Sclerotium rolfsii*, 26, 29, 42
- Sesquiterpenóide, 44, 68, 123
- Silene vulgaris*, 61
- Siringomicina, 39
- Sistema de secreção tipo III, 85
- Stachybotrys*, 26
- Suberina, 13, 28, 105, 107, 108
- Substâncias pécticas, 19, 21, 22, 24, 25, 52, 54, 107
- Superalongamento, 61
- Supressores, 129, 162, 163, 165
- Tabtoxinina, 39
- Taumatina, 137, 138
- Tentoxina, 42
- Teoria Gene-a-Gene, 163, 164, 166, 174
- Thielaviopsis*, 29, 105, 106
- Tiloses, 54, 110
- Toxina de *Periconia circinata*, 47
- Toxina HC, 46, 47, 169
- Toxina HS, 44
- Toxina HV, 44
- Toxina T, 45, 46
- Toxinas, 14, 28, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 47, 48, 51, 81, 86, 102, 119
- Toxinas de *Alternaria*, 47
- Toxinas de *Fusarium*, 37, 41
- Transdução de sinais, 142, 145, 147, 158, 159, 175
- Transeliminases, 25, 31, 32
- Trichoderma*, 26
- Triptofano, 53, 57, 82, 83, 115, 265, 266, 269, 279
- Tumores, 14, 51, 54, 55, 57, 58, 60, 63, 64
- Uromyces phaseoli*, 63
- Uromyces trifolii*, 64
- Uromyces vigna*, 127
- Ustilago maydis*, 53, 55, 63, 65, 82
- Ustilago violacea*, 61
- Vassoura-de-bruxa, 60, 63
- Venturia inaequalis*, 21, 121
- Verticillium albo-atrum*, 31, 65, 66, 107, 110
- Verticillium dahliae*, 107, 125, 131
- Victorina, 44, 47
- Victoxinina, 44
- Viróides, 15, 28, 97, 135
- Viroses, 62, 88
- Virus, 14, 15, 28, 65, 68, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 97, 103, 122,

- 135, 139, 140, 142, 143, 144,
146, 150, 157, 178, 192
- Xantana, 77
- Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*,
81, 102
- Xanthomonas campestris*, 25,
74, 77, 84
- Xanthomonas campestris* pv.
vesicatoria, 143, 168
- Xanthomonas oryzae*, 188
- Xantomonadina, 81
- Xilanas, 27
- Xilanases, 27, 31, 33
- Xiloglucanas, 27, 52
- Xilose, 27
- Xylella fastidiosa*, 168, 180
- Ziniol, 42

coordena a disciplina Fisiopatologia Vegetal do curso de Pós-Graduação em Fitopatologia da UnB.

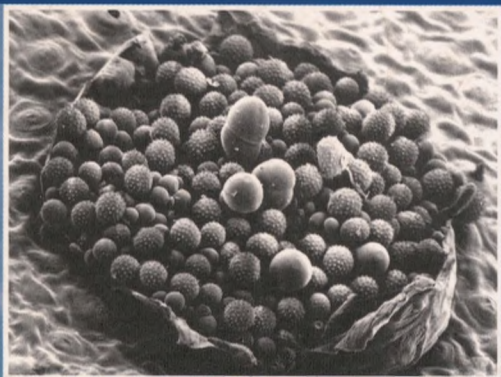
José Carmine Dianese, professor titular e ex-Diretor do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília em 1985, aposentado em 1992, retornou ao quadro em 1993.

É engenheiro agrônomo pela Universidade Federal de Viçosa (1962), MS e PhD pela Universidade da Califórnia-Davis (1970), quando trabalhou com fisiologia de *Ceratocystis fimbriata*. Ex-diretor do Instituto de Ciências Biológicas e, por quatro vezes, chefe do Departamento de Fitopatologia da UnB, Implantou a disciplina Fisiopatologia Vegetal na Pós-Graduação em Fitopatologia.

Já orientou 27 alunos entre mestres e doutores com pesquisas em áreas diversificadas como: doenças do abacaxizeiro, abacateiro e soja; doenças diversas do eucalipto, inclusive a murcha bacteriana, epidemiologia de ferrugem, membranas bacterianas, bacteriose da mandioca, epidemiologia da podridão negra das crucíferas e, finalmente, taxonomia de fungos, com publicações em periódicos como *Phytopathology*, *Plant Dis. Reporter*, *Plant Disease*, *Plant Pathology*, *Microbiologia (SP)*, *Fitopatologia Brasileira*, *Mycological Research*, *Mycologia*, *Sydowia*, *Eur. Journal Forest Pathol.*, *Intern. J. Pest Management*. Nos últimos dez anos, dedica-se à taxonomia e à micodiversidade associada a plantas da vegetação nativa, especialmente do cerrado, com descrição de cerca de 50 novas espécies, inclusive dois gêneros novos de fungos causadores de ferrugem e um de ascomiceto. Presidente da Associação Latino-Americana de Micologia e Diretor Administrativo da Sociedade Brasileira de Fitopatologia.

Esta obra é resultado do Programa de Fomento – Edital 03/2001-2002 da Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos – FINATEC, que teve por objetivo o apoio à publicação de livros desenvolvidos por professores da Universidade de Brasília - UnB.

A FINATEC, instituída em 13 de março de 1992, é uma fundação privada, sem fins lucrativos, de apoio à Universidade de Brasília, que tem por finalidade institucional promover e apoiar o desenvolvimento científico e tecnológico, a transferência de tecnologia, a pós-graduação e a pesquisa.



Soro com urediniósporo e teliósporo de *Puccinia psidii* Winter rompendo a epiderme da folha de *Syzygium jambos* (L.) Alst. (Jambeiro rosa)
J.C. Dianese & D.J. Tessmann.

Foto da capa: Urediniósporo de *Puccinia psidii* germinado, com apressório fixado à cutícula de Tessmann.

Biblioteca Central - UnB



B0067361