

SEÑALES ENTRE HONGOS PATÓGENOS Y PLANTAS HOSPEDERAS RESISTENTES

G. Camarena-Gutiérrez

Unidad de Morfología y Función. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM
Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla 54090 México. E-mail: datura49@hotmail.com

RESUMEN

Los hongos parásitos obligados obtienen sus nutrimentos de células vivas. Durante su ciclo de vida, se forman tres tipos de estructuras intracelulares (hifa de invasión, haustorio M y haustorio D) y cada uno puede afectar de manera diferente la membrana de la célula huésped que le rodea, también cómo afectar otros componentes celulares. Cada estructura intracelular también previene que se disparen defensas no específicas de la planta por la actividad del hongo, posiblemente interfiriendo el sistema de señales más que la expresión de defensa.

PALABRAS CLAVE: apoptosis, respuesta hipersensitiva, elicitors, *Uromyces vignae*

SIGNALS BETWEEN PATHOGENIC FUNGI AND RESISTANT HOST PLANTS

SUMMARY

Rust fungi are obligatorily biotrophic plant parasites that obtain their nutrients from living host cells. During the fungal cycle, three types of intracellular structures (invasion hyphae, M-haustoria, and D-haustoria) are formed and each may, in different ways, affect the host membrane that surrounds it, as well as affecting other cellular components. Each intracellular structure also prevents non-specific plant defenses from being triggered by fungal activity, possibly by interfering with the system of signals, rather than with the expression of defenses.

KEY WORDS: Apoptosis, hypersensitive response, elicitor, *Uromyces vignae*.

INTRODUCCIÓN

Se sabe que cientos de organismos causan enfermedades a las plantas. Para colonizar exitosamente a un hospedero particular, un microorganismo debe desarrollar la habilidad para vencer las barreras defensivas elaboradas por la planta para prevenir la infección. Estas barreras mecánicas y el desarrollo coevolutivo han resultado en la utilización de estrategias de ataque por el patógeno, altamente específicas y extremadamente sofisticadas, y de manera similar se han desarrollado una serie de respuestas de defensa elaboradas por la planta huésped.

Los hongos patógenos aplican una combinación de estrategias, para matar rápidamente a las células y reducir el grado con el que se pueden inducir las defensas y poseer atributos que mitiguen los efectos de las respuestas de defensa que elabora la planta. Por lo tanto, los parásitos exitosos deben encontrar la manera de enfrentar esas respuestas.

Algunos hongos patógenos que son parásitos obligados pertenecen a la División Basidiomycota; *Orden Uredinales* y en este artículo se presenta un resumen de lo que se sabe de las señales que tienen lugar con sus plantas hospederas.

SEÑALES ANTERIORES A LA PENETRACIÓN CELULAR

Los tizones generalmente son patógenos foliares con un ciclo de vida que tiene dos estadios parasíticos; uno dicariótico y otro monocariótico. En el estado dicariótico, el tubo germinal de la ureidospora de muchos tizones responde a las características topográficas de la superficie de la hoja, de manera que crece hacia un estoma y reconoce su presencia respondiendo a la topografía alrededor de los labios del estoma. ¿Cómo se percibe la señal? Hasta ahora, hay algunas evidencias de que están involucrados los canales de calcio de la membrana del

hongo y alteraciones de su citoesqueleto. Una vez que reconoce los labios del estoma; el hongo forma un apresorio sobre la abertura, se introduce como una clavija la cual crece entre las células guarda, debajo de estas células crece una vesícula esférica y una hifa entre los espacios de las células del mesófilo, Figura 1.

Esta diferenciación morfológica se acompaña de cambios en la composición de la pared celular, la inducción de mitosis, cambios en la síntesis de proteínas, iniciación de síntesis de ribosomas, y la secreción de una variedad de enzimas hidrolasas.

Cuando no hay diferenciación celular, el tubo germinal continúa creciendo sobre la superficie de la hoja hasta que sus reservas endógenas se agotan y muere. Sobre plantas no hospederas con topografía de superficie que difiere significativamente a la de la hoja hospedera, el tubo germinal generalmente «comete errores» al localizar o reconocer los estomas reduciendo considerablemente el número de individuos que entran a la planta.

En plantas hospederas resistentes o susceptibles, la hifa de infección crece entre las células del mesófilo, frecuentemente sin ninguna respuesta obvia de la planta.

Sin embargo, el mismo hongo despertará una variedad de respuestas defensivas cuando forma una hifa de infección dentro de especies no hospederas, entre las sustancias de defensa encontramos que se deposita sílice, la enzima callosa, o compuestos fenólicos sobre y entre la pared celular.

En el estado dicariótico, el hongo forma un micelio intercelular del cual el haustorio intracelular se forma, Figura 1. Estos haustorios son considerados, generalmente, como estructuras de alimentación y se desarrollan de células madres haustoriales (HMCs) que se adhieren a la superficie de la célula vegetal. Se supone que alguna señal, todavía desconocida en esta superficie, puede ser necesaria para la inducción de HMCs

Estudios con el hongo *Uromyces vignae* y una variedad de garbanzo, sugieren que la primer HMC que se forma está programada para morir a menos que una señal de sobrevivencia, sea recibida desde la planta en el momento en que la HMC produce una penetración clavija (Heat, 1988). Estudios de formación del haustorio *in vitro*, han permitido saber que algunas mezclas de carbohidratos evitan la senescencia de la HMC y permiten la formación del haustorio; sin embargo, la señal exacta en las plantas no se ha identificado todavía.

En resumen, los datos muestran que para la fase parasítica dicariótica, típica de un tizón, se requieren señales de la planta en una secuencia para controlar el desarrollo del hongo desde el momento en que la Urediospora germina sobre la superficie de la hoja hasta cuando el hongo penetra su primer célula vegetal dentro de la hoja (Heath, 1995). Este primer estadio de crecimiento intercelular está asociado con actividades o productos del hongo que disparan respuestas de defensa en células de plantas no hospederas. Sin embargo, estas defensas parecen prevenirse en especies hospederas por mecanismos que todavía no han sido elucidados.

Durante el otro estado parasítico, el monocariótico, los tizones usualmente penetran directamente en las células de la epidermis, y la única estructura de infección prepenetración es el apresorio producido por el tubo germinal de la basidiospora, Figura 2A. Poco se sabe acerca de las señales requeridas para la formación del apresorio. Parece que el tubo germinal de la basidiospora, como el de la urediospora, requieren señales de la superficie de la hoja para disparar la formación de estructuras necesarias para el desarrollo patogénico posterior.

SEÑALES DURANTE EL CRECIMIENTO INTRACELULAR EN PLANTAS SUSCEPTIBLES

Estrictamente hablando, las estructuras intracelulares producidas por los hongos biotrofos no son

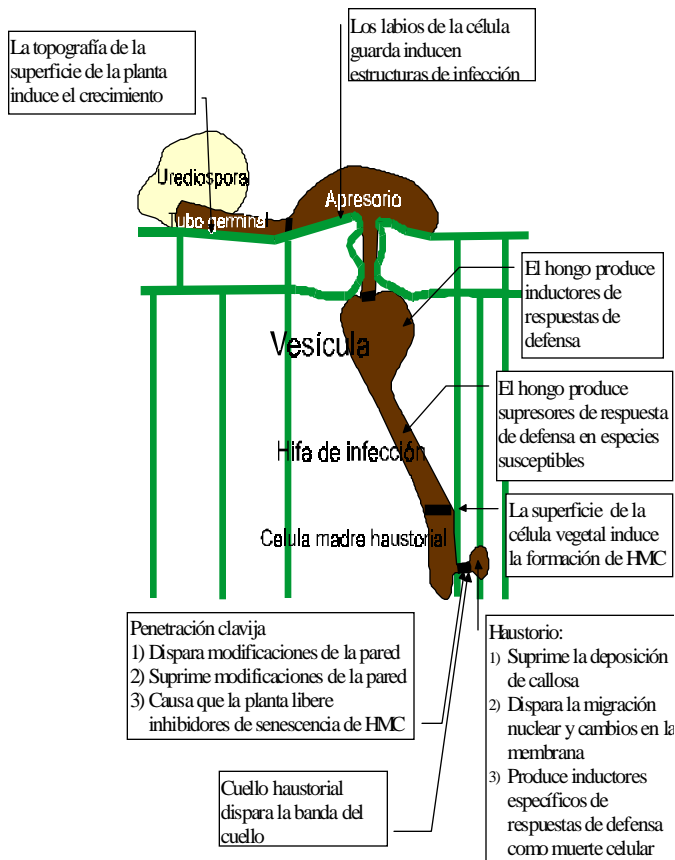


Figura 1. Representación de las señales de la planta y el hongo involucradas en el desarrollo inicial del estado dicariótico de un hongo, desde la germinación de la urediospora a la formación del primer haustorio.

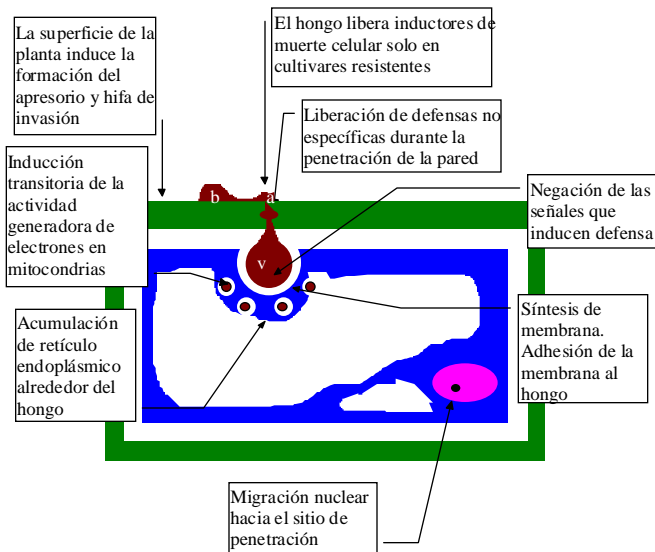


Figura 2A. Representación de los eventos que tienen lugar durante la entrada de *Uromyces vignae* en la epidermis durante el desarrollo del estado monocariótico desde una basidiospora (b). Eventos en cultivares resistentes y susceptibles que acompañan la formación secuencial del apresorio (a), de una clavija de penetración en la pared y en la vesícula (v) dentro de la célula

completamente intracelulares, ya que siempre están rodeadas por una continuación de la membrana de la célula vegetal. Inexplicablemente el haustorio producido por los dos estados parasíticos del hongo son radicalmente diferentes. Los haustorios M, que son producidos por el estado monocariótico, parecen ser solamente hifas modificadas. Dado que el estado monocariótico penetra directamente en una célula de la epidermis, debe formar tres tipos de estructuras celulares: a) la hifa de invasión, que consiste en una vesícula esférica intraepidermal de donde b) crece una hifa primaria, y c) el haustorio M (Figura 2B). En las tres estructuras, la membrana plasmática de la planta se sintetiza acomodándose al crecimiento del hongo, probablemente como una respuesta inadvertida a la presión que ejerce el hongo. La membrana que rodea al haustorio M y D se diferencia del resto de la membrana plasmática en que carece de la actividad de la enzima ATPasa (Heat, 1997).

Los haustorios D formados en el estado dicariótico se forman a partir de las células madre de los haustorios, alrededor del cuello tienen una banda rica en fósforo y hierro que forman puentes entre la membrana del hongo y de la planta creando un sello a lo largo de las uniones entre los dos organismos (Heath, 1976). Funcionalmente, la banda del cuello es análoga a la banda de Caspary en las raíces de las plantas, pero es única debido a que se requiere la cooperación entre los dos organismos para su formación. Los experimentos donde se forman haustorios, *in vitro*, no maduran y Heath (1989) sugiere que alguna señal de la

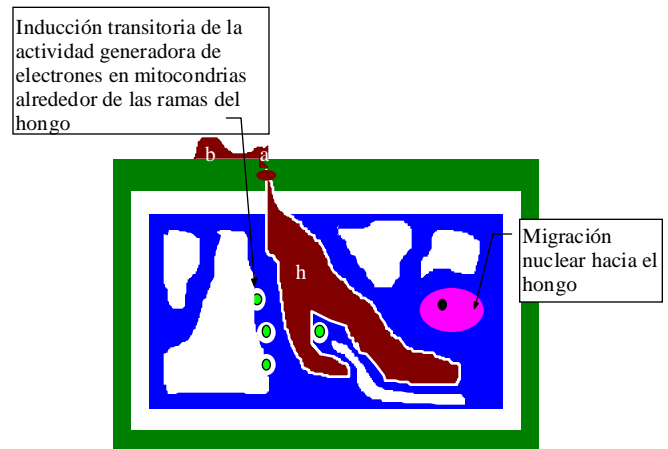


Figura 2B. Eventos subsiguientes en cultivares susceptibles antes de la invasión en células vecinas y dentro del espacio intercelular de la hoja.

planta le permite su desarrollo, pero todavía no se conoce esta señal.

El patrón de depósito de la callosa después que el hongo senesce o muere indica que esta membrana también carece de actividad de la enzima callosa sintetasa, pero no sólo la membrana plasmática de las células invadidas por hongos es afectada, sino también lo son otros componentes celulares.

Se ha observado que después de que las células vegetales se enteran de la invasión de la hifa, hay un incremento en la actividad generadora de electrones en la mitocondria y esto podría estar relacionado al aumento en la actividad de la enzima glutamato deshidrogenasa. También se ha observado una acumulación de retículo endoplásmico en la membrana adyacente al hongo. Otra respuesta universal es la asociación del núcleo vegetal con el hongo una vez que está bien establecido dentro de la célula vegetal (Heath, 1997).

El video, con microscopio de contraste de los primeros estados de infección, de basidiosporas en células vivas, ha revelado que el núcleo de la planta primero migra hacia el hongo a medida que la penetración de la clavija crece a través de la pared de la epidermis. Esta migración aparentemente es evocada por componentes de la pared celular de la planta y se supone que se libera por digestión enzimática y depende de una enzima protein-quinasa y calcio (Heat, 1977).

Si el núcleo se mantiene en el sitio de penetración durante la entrada del hongo, el crecimiento del hongo se retrasa y después se deposita callosa. Por lo tanto, parece que la migración del núcleo y la deposición de callosa son

parte de una reacción no específica de la célula vegetal para localizar el daño a la pared. Cuando la penetración de la clavija toca la membrana vegetal, el núcleo se retira y no regresa hasta que el hongo termina el crecimiento esférico y establece una punta hifal. Esta secuencia de eventos ocurre durante la formación de haustorios M y D en células del mesófilo.

De una gran variedad de observaciones se infiere que la hifa de invasión intracelular y el haustorio M o D del hongo, pueden interferir con las defensas vegetales. Una vez que el hongo ha prevenido las respuestas de defensa asociadas con el proceso de penetración y está dentro de la célula, es posible evitar una «irritación» posterior de la planta disminuyendo las actividades o características que podrían disparar una reacción vegetal.

En resumen, la hifa de invasión intracelular y el haustorio del hongo, tienen efectos profundos sobre la estructura y actividad celular de las células invadidas. Algunos de estos efectos son específicos para un tipo particular de estructura intracelular, pero muchos no. Presumiblemente, algunos de ellos se relacionan con la adquisición de nutrientes de la célula vegetal (Spencer, 1981) pero otros pueden estar involucrados en prevenir las respuestas de defensa que las actividades físicas y químicas del hongo deben despertar. Las moléculas o características del hongo que controlan esos efectos son totalmente desconocidos

SEÑALES DURANTE EL CRECIMIENTO INTRACELULAR EN PLANTAS HOSPEDERAS RESISTENTES

La respuesta más común de las plantas resistentes a la invasión por hongos patógenos, es la muerte celular rápida. En cultivares resistentes de una planta hospedera, esta respuesta hipersensitiva (RH) puede estar condicionada por genes de resistencia específica al parásito.

La respuesta hipersensitiva es un mecanismo de defensa efectivo ya que hay una regulación de una multitud de genes de defensa, que producen un ambiente altamente antimicrobiano en y alrededor de la célula muerta (Goodman, 1994; Levine, *et al.* 1994).

La ubicuidad de esta respuesta sugiere que puede ser una forma de muerte celular programada, esto se ha visto en hospederas resistentes a *Uromyces vignae*, donde hay rompimiento del DNA de la planta, en fragmentos internucleosomales (Ryerson, 1996) similar a lo visto en la apoptosis de los animales (Earnshaw, 1995).

La única característica antimicrobiana de la respuesta hipersensitiva, sugiere que puede representar un tipo especial de muerte celular programada, desarrollada

específicamente como una defensa contra el ataque microbiano (Ryerson, 1996).

Levine (1994) sugiere que la respuesta hipersensitiva inducida, en plantas hospederas y no hospederas, por hongos diferentes a los tizones; es iniciada por un estallido oxidativo que libera especies activas de oxígeno como una consecuencia del reconocimiento por la planta de una molécula del hongo. Los cambios celulares que acompañan la respuesta hipersensitiva disparada por el hongo, han sido estudiados en células de la epidermis de cultivares resistentes de garbanzo, durante la respuesta a la hifa de invasión de *Uromyces vignae*; como se observa en la Figura 2C, entre los primeros signos de la RH están: elevación en los niveles de calcio (Xu 1991) un cambio en la apariencia del núcleo vegetal, que precede a la ruptura de DNA (Heath, 1997).

Terminación del movimiento citoplásmico y la desaparición de microtúbulos.

CONCLUSIONES

Aunque la naturaleza exacta de las interacciones generalmente son desconocidas, es obvio que las interacciones entre los hongos y sus plantas hospederas son enormemente sofisticadas y complejas. Las señales involucradas en estas interacciones han sido mejor conocidas para la fase parasítica dicariótica de este hongo, aunque poco se ha caracterizado completamente.



Figura 2C. Eventos reconocibles en cultivares resistentes que muestran una respuesta hipersensitiva. Las evidencias sugieren que los eventos ocurren secuencialmente de acuerdo a las manecillas del reloj

Para la fase parasítica monocariótica, la información todavía es descriptiva, pero estas fases mantienen la promesa de ser más atractivas para los estudios futuros debido a la naturaleza indiferenciada del talo fungal (implicando que las señales y actividades quizá no están restringidas a estructuras fungales específicas como los haustorios), y debido a que la hifa de invasión puede ser estudiada directamente en células de epidermis. A la fecha, la mayoría de estudios se ha centrado en la resistencia a enfermedades.

Agradecimiento a Gabriel Camarena Arellano por la elaboración de los dibujos

LITERATURA CITADA

- EARNSHAW, W. C. 1995 Apoptosis: Lessons from in vitro systems. *Trends in Cell Biology* 5: 17-220.
- GOODMAN, R. N.; NOVACKY, A. J: 1994 The hypersensitive reaction in plants to pathogens. St. Paul: APS Press.
- HEATH, M. C 1976 Ultrastructural and functional similarity of haustorial neckband of rust fungi and the Casparian strip of vascular plants. *Canadian Journal of Botany* 54: 2484-2489.
- HEATH, M. C. 1977 Comparative study of non-host interaction with rust fungi. *Physiological Plant Pathology* 10: 73-88.
- HEATH, M. C.; PERUMALLA, C. J. 1988 Haustorial mother cell development by *Uromyces vignae* on collodion membranes. *Canadian Journal of Botany* 66: 736-741.
- HEATH, M. C 1989 In vitro formation of haustoria of the cowpea rust fungus, *Uromyces vignae*, in the absence of a living plant cell. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 35: 357-366.
- HEATH, M. C 1995 Signal exchange between higher plants and rust fungi. *Canadian Journal of Botany* 72: S616-681.
- HEATH, M. C.; SKALLAMERA, D. 1997 Cellular interactions between plants and biotrophic fungal parasites. In: Tommerup IC, Andrews JH eds. *Advances in botanical research* vol. 24. San Diego, London: Academic Press, 195.225.
- LEVINE, A.; TENHAKEN, R.; DIXON, R.; LAMB, C. 1994 H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- RYERSON, D. E.; HEATH, M. C 1996 Cleavage of nuclear DNA into oligonucleosomal fragments during death induced by fungal infection or by abiotic treatment.
- SPENCER-PHILLIPS, PTN; GAY, J.L. 1981 Domains of ATPase in plasma membranes and transport trough infected plant cells. *New Phytologist* 89: 393-400.
- XU X-L.; STMPF, M.A.; HOCH, H.C.; KUNG, C. 1991 A mechanosensitive channel in whole cells and in membrane patches of the fungus *Uromyces*. *Science* 253: 1415-1417.