

## **ESTUDO DE EXOPOLISSACARÍDEOS DE BACTÉRIAS FITOPATÔGENICAS**

OTOBONI, Alda Maria Machado Bueno  
Docente da Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal de Garça  
e-mail: aldaotoboni@faef.br

### **RESUMO**

Bactérias fitopatogênicas produzem grandes quantidades de polissacarídeos extracelulares (EPS) em cultura e em plantas hospedeiras durante a patogênese. Os genes envolvidos na síntese e regulação destes exopolissacarídeos (EPSs) já foram identificados e analisados e supõe-se que os mesmos desempenham papéis importantes nos sintomas da doença desenvolvida na planta.

Palavras-chave: bactérias, exopolissacarídeos, patogênese.

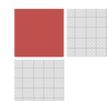
Tema: Agronomia

### **STUDS OF EXOPOLYSACCHARIDES OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIA**

### **ABSTRACT**

Phytopathogenic bacteria generate big quantities of exopolysaccharide (EPS) in culture and in hosts plants during the pathogenicity action. The genes involved in the synthesis and regulation of exopolysaccharides (EPSs) were already identify and analyzed and suppose that the same does two important papers in symptoms of disease developed in the plant.

Keywords: bacteria, exopolysaccharide, pathogenicity action



## 1. INTRODUÇÃO

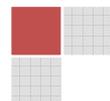
Muitas bactérias fitopatogênicas produzem grandes quantidades de polissacarídeos extracelulares (EPS) em cultura e em plantas hospedeiras durante a patogênese. Durante a fase saprofítica ou epifítica, os EPSs protegem as bactérias do dessecação, concentram minerais e nutrientes, reduzem contato com moléculas hidrofóbicas ou carregadas, e aumentam a fixação na superfície (adesão bacteriana) (BREWIN, 1991). Em adição, os EPSs podem atuar nas interações planta-bactéria auxiliando o movimento da bactéria através dos tecidos vegetais, promovendo seu crescimento nos espaços intercelulares e ajudando-as na proteção contra as defesas da planta (DENNY, 1995; SUTHERLAND, 1988).

Os EPSs podem ser homopolímeros ou heteropolímeros e possuir uma variedade de substituintes não carboidratados (COSTERTON et al., 1987).

## 2. CONTEÚDO

Os exopolissacarídeos (EPSs) são polímeros de carboidratos encontrados em uma ampla variedade de bactérias, que também possibilitam vida livre a bactéria, permitindo a aderência e colonização de superfícies sólidas onde nutrientes se acumulam (COSTERTON et al., 1987). Envolvem as membranas da célula protegendo-as do dessecação e outros estresses ambientais, e devido às cápsulas de natureza iônica, podem ajudar na fixação de minerais e nutrientes próximos a célula da bactéria. (SUTHERLAND, 1988; WHITFIELD, 1988, WEINER, et al, 1995).

Segundo WEINER et al., (1995), os fatores ambientais que podem afetar a síntese de EPS incluem oxigenação, limitação de nitrogênio e cátions (magnésio,



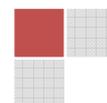
cálcio), dessecamento, baixa temperatura, crescimento em meio mínimo e fase de crescimento, limitação de nutrientes.

Os heteropolissacarídeos são polímeros ácidos, compostos de arranjos lineares de repetições de unidades de açúcares neutros e ácidos urônicos, bem como os substituintes não carboidratados, tais como acetato, piruvato e succinato (SUTHERLAND, 1988; WHITFIELD, 1988).

A biossíntese dos heteropolissacarídeos envolve 4 estágios: a) síntese do nucleotídeo – açúcar difosfatado intermediário; b) agregação de oligossacarídeos na subunidade do polímero pela transferência de monossacarídeos do nucleotídeo correspondente ao lipídeo carregador localizado na membrana celular; c) adição de novos componentes, tais como: piruvato, acetato, succinato e sulfato e d) transferência da cadeia de polissacarídeos em crescimento, do lipídeo carregador para nova subunidade. A síntese do EPS requer enzimas para produção de cada nucleotídeo do açúcar precursor, transferases que separam cada monossacarídeo na subunidade e proteínas envolvidas na síntese total de polissacarídeos. Muito pouco é conhecido sobre o atual mecanismo de polimerização, mas acredita-se que ocorre na membrana citoplasmática e depois o EPS é transportado para fora da célula (SUTHERLAND, 1988; TROY, 1979).

Os EPSs das bactérias estabelecem um modelo importante de sistemas para o estudo da agregação e secreção molecular, regulação gênica, interações célula-célula, simbiose e patogenicidade (LEIGH & COPLIN, 1992).

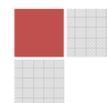
Em *Brayhizobium*, os EPSs são macromoléculas que contém açúcares e fazem parte das estruturas e componentes da superfície celular das bactérias. Na composição destes EPSs foram encontrados os seguintes açúcares: manose, glicose, galactose e ramnose, em diferentes concentrações. Em uma estirpe desta bactéria, além destes açúcares, foi encontrado também o ácido galacturônico. Suas funções no processo de invasão bacteriana incluem: modificação da superfície bacteriana, no sentido de evitar o desenvolvimento de uma resposta de defesa do hospedeiro; encapsulamento da bactéria como uma forma de proteção contra o estresse fisiológico encontrado no cordão da



infecção e reconhecimento da superfície bacteriana através da aderência ao hospedeiro (BREWIN, 1991; NICOLÁS, 1996).

Muitas bactérias fitopatogênicas produzem polissacarídeos extracelulares (EPS) que contribuem para sua patogenicidade nas plantas (DENNY, 1995). Estas bactérias aparecem atadas às paredes dos vasos do xilema por fios extracelulares produzidos por elas e que usualmente são mais abundantes em uma das extremidades da bactéria. Os fios assemelham-se a fibras de polissacarídeos, que constituem o EPS, aos quais, acreditam-se que sejam responsáveis por aderir a bactéria em uma variedade de “habitats” turbulentos, com fluxo rápido como no xilema e no cibário dos vetores. As fibras de polissacarídeos do EPS, carregadas negativamente, devem funcionar como um substrato de troca iônica, auxiliando a captação de nutrientes pelas bactérias agregadas ou conservando e concentrando metabólitos (proteínas, toxinas, etc.) liberados pelas bactérias na ação contra o tecido do hospedeiro (MATTHYSSE, 1985). HART et al. (2001), mediram a difusão de  $Mn^{+2}$  de alguns polímeros e os resultados obtidos sugerem que a presença e a natureza da carga, presente na molécula de polissacarídeo, afetam a velocidade de transporte dos cátions.

Os EPSs produzidos por bactérias fitopatogênicas, na forma de cápsulas, tais como em *Erwinia amylovora* e *E. stewartii* são grandes biomoléculas (de 50 a 150 MDa) compostas de galactose, ácido glucurônico e piruvato. Por outro lado em *Pseudomonas* e *Xanthomonas*, o exopolissacarídeo é produzido não como cápsula, mas como camadas de goma que envolvem a bactéria. Em *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* este polissacarídeo extracelular é conhecido como xantana, que é um polímero com unidades repetitivas de pentassacarídeos, que apresentam em sua estrutura moléculas de ( $\beta$ -1,4) - manose, ( $\beta$ -1,2) - ácido glucurônico, ( $\alpha$ -1,3) - manose, glicose, acetato e piruvato (CHEETHAM & MASHIMBA, 1992). Em *P. silyngae*, estes são produzidos como alginatos e levanas. O alginato é um copolímero de ácido manurônico e ácido L-glucurônico O-acetilado e unidos por ligação  $\beta$  (1-4). Levanas são homopolímeros compostos por frutoses unidas por ligação  $\beta$  (2-6). No entanto, em *P. solanacearum* este EPS é uma mistura complexa de polissacarídeos.



Segundo LEITE et al. (2001), o exopolissacarídeo não tem um papel essencial na adesão inicial da bactéria, porém exibe importante papel na arquitetura do biofilme bacteriano, que tem sido descrito como uma comunidade bacteriana onde as bactérias vivem aderidas umas às outras e a uma superfície.

CHAGAS et al. (1992), através do uso da microscopia eletrônica de transmissão, mostraram ser possível a visualização de uma matriz envolvendo a bactéria no interior da planta, hoje conhecida como goma fastidiana. (Da SILVA et al. 2001). Os mesmos autores sugerem que a presença da goma fastidiana é importante para a adesão e formação de biofilme. Na *X. fastidiosa*, o biofilme também pode estar envolvido na virulência da bactéria (SIMPSON et al. 2000).

### 3.CONCLUSÃO

A complexidade destes EPSs varia entre organismos e existe a necessidade de análises comparativas entre outras bactérias fitopatogênicas para que o envolvimento destas biomoléculas na patogenicidade seja esclarecido.

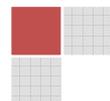
### 4.REFERÊNCIAS

BARBER, C.E. et al. A novel regulatory system required for pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is mediated by a small diffusible signal molecule. **Molecular Microbiology**.v.24, p.555-566, 1997.

BECKER, A. et al. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 1998, 50, 145-152.

BREWEN, N.J. Development of the legume root nodule. **Annual Review Cell Biology**, v.7, p.191-226, 1991.

BRLANSKY, R.H. et al. Immunofluorescent detection of xylem – limited bactéria *in situ*. **Phytopathology**., v.72, p.1444 - 1448, 1982.



CHAGAS, C.M.; ROSSETTI, V.; BERETTA, M.J.G. Electron microscopy studies of xylem-limited bacterium in sweet orange affected with CVC disease in Brazil. **Journal Phytopathology**, v.134, p.306-312, 1992.

CHEETHAM, N.W.H. and MASHIMBA, E.N.M. Proton and carbon-13 nmr studies on xanthan derivatives. **Carbohydrate Polymers**. v. 17, p.127-136, 1992.

COSTERTON, J. W., et al. Bacterial biofilms in nature and disease. **Annual Review Microbiology**. v. 41, p. 435-464, 1987.

DA SILVA, D.S. **Análise dos proteomas e do acúmulo de moléculas sinais durante o crescimento de *Xylella fastidiosa* 9a5c in vitro**. 2004, 93p. Tese (Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Microbiologia Agrícola) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

DENNY, T.P. Testing pathogenicity. In: WILLIAMS, P., KETLEY, J., SALMOND, G. **Bacterial pathogenesis: methods in microbiology**. London: Academic Press, 1995.v.27, p.129-137.

HART et al. Effect of a range of microbial polysaccharides on the difusão of manganese ions using spatially resolved NMR relaxometry. **Enzyme and Microbial Technology**. V.28, p.370-375, 2001.

LEIGH, J.A.; COPLIN, D.L. Exopolysaccharides in plant-bacterial interactions. **Annual Review of Microbiology**, v.46, p.307-346, 1992.

LEITE, B. et al. Mecanismos de adesão de bactérias e fungos às plantas hospedeiras. **Revisão Annual de Patologia de Plantas**. v. 9, p.119-157, 2001.

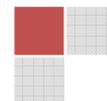
MATTHYSSE, A.G. Mechanisms of bacterial adhesion to plant surfaces. In: SAVAGE, D.C.; FLETCHER, M. (eds). **Bacterial adhesion: mechanisms and physiological significance**. New York: Plenum Press. v.1, p.255-278, 1985.

MIRCETICH, S.M. et al. Etiology of almond leaf scorch disease and transmission of the causal agent. **Phytopathology**, v.66, p.17-24, 1976.

NICOLÁS, M.F. 1996. Dissertação (Mestre). FCAV/UNESP – Jaboticabal/SP/Brasil. Comparação da composição de polissacarídeos extracelulares em estirpes de *Bradyrhizobium* por HPLC.

OSIRO, D. et al., A kinetic model for *Xylella fastidiosa* adhesion, biofilm formation, and virulence. **FEMS Microbiology Letters**, v.236, p.309-314, 2004.

SIMPSON, A.J.G. et al. The genome sequence of plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Nature**, v.406 p.151-157, 2000.



SUTHERLAND, I. W. Bacterial surface polysaccharides: structure and function. **International Review of Cytology**, v. 113, p. 187-231, 1988.

TROY, F. A. The chemistry and biosynthesis of selected bacterial capsular polymers. **Annual Review of Microbiology**, v.. 33, p. 519-560,1979.

WEINER, R.;LANGILLE, S. and QUINTERO, E. Structure, funcion and immunochemidtry of bacterial exopolysaccharides. **Journal of Industrial Microbiology**, v.15, p.339-346, 1995.

WHITFIELD, C. Bacterial extracellular polysaccharides. **Canadian Journal Microbiology** v. 34, p. 415-420,1988.

