

β -1,3 GLUCANASES: UMA REVISÃO SOB A ÓTICA DA DEFESA VEGETAL

Édson Bertoldo^{1*}; Sérgio Miguel Mazaro²

SAP 17979 Data envio: 16/10/2017 Data do aceite: 08/01/2018
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 1, jan./mar., p. 1-13, 2018

RESUMO - As β -1,3 glucanases de plantas são enzimas abundantes e comumente encontradas no reino vegetal, estando envolvidas em vários processos fisiológicos, especialmente na defesa vegetal. A defesa vegetal é baseada em uma série de barreiras pré e pós-formadas, ambas subdivididas em estruturais e bioquímicas. As barreiras estruturais atuam contendo o patógeno fisicamente, enquanto a ação bioquímica opera através da produção de substâncias tóxicas e antimicrobianas, como a produção de enzimas hidrolíticas (proteínas relacionadas à patogênese ou PR proteínas). O objetivo desta revisão é abordar o papel das β -1,3 glucanases em plantas, sobretudo nos mecanismos de defesa vegetal ativadas pela indução de resistência, a qual tem por objetivo estimular os vegetais a produzirem substâncias de defesa em detrimento de uma simulação de ataque por agentes danosos. Essa ativação prévia da defesa vegetal visa proporcionar certo grau de resistência e proteção à planta a futuros ataques de microrganismos, sendo conhecida como resistência sistêmica adquirida (RSA). A RSA é capaz de estimular a produção das PR proteínas entre outras substâncias defensivas. Especificamente, a família PR-2 inclui β -1,3-glucanases que catalisam a clivagem hidrolítica de ligações do tipo endo β -1,3-D-glucosídicas de β -1,3-D-glucanas da parede de patógenos. Por fim, são apresentados alguns estudos que demonstram a atuação da β -1,3 glucanase na defesa vegetal, por meio do uso de indutores de resistência, os quais visam proteger não só a planta, mas também seus produtos finais como frutas, verduras e grãos, entre outros, em pré e pós-colheita.

Palavras-chave: PR proteínas, indução de resistência, fitopatógenos, hidrólise.

β -1.3 GLUCANASES: A REVIEW WITH THE FOCUS OF PLANT DEFENSE

ABSTRACT - The β -1.3 glucanases in plants are abundant enzymes commonly found in the plants and are involved in various physiological processes, especially in plant defense. This defense is based on a series of pre and post-formed barriers, both subdivided into structural and biochemical. The structural barriers physically act containing the pathogen, while the biochemical action operates by producing antimicrobial and toxic substances such as the production of hydrolytic enzymes (pathogenesis related proteins or PR proteins). The objective of this review is to show the role of β -1.3 glucanases in plants, particularly in plant defense mechanisms activated by the induction of resistance, which aims to stimulate the plant to produce defensive substances to the detriment of an attack simulation by harmful agents. This prior activation of plant defense aims to provide some degree of resistance and protection against future attacks from microorganisms, being known as systemic acquired resistance (SAR), which is able to stimulate the production of PR proteins and other defense substances. Specifically, the PR-2 family includes β -1.3-glucanases which catalyze the hydrolysis of endo-1.3- β -D-glucosidic linkages in β -1.3-D-glucans from pathogens cell wall. Finally, are presented some studies that highlight the role of β -1.3 glucanase in plant protection, through the use of resistance inducers, which are intended to protect not only the plant but also their end products as fruits, vegetables and grains, in pre- and post-harvest conditions.

Key words: PR proteins, induction of resistance, pathogens, hydrolysis.

INTRODUÇÃO

O sucesso evolutivo dos vegetais certamente está envolvido com o surgimento, desenvolvimento e aprimoramento de mecanismos de defesa. Ao longo de sua história evolutiva, a atuação da seleção natural, das mutações herdadas e das mudanças evolutivas tornaram as plantas cada vez mais adaptadas, resistentes e capazes de coexistir e interagir com diferentes tipos de organismos, mas sem dúvida as interações prejudiciais (herbivoria, patógenos, parasitas, etc) foram as mais desafiadoras durante o processo de co-evolução (TAIZ et al., 2017).

Alguns desses mecanismos de defesa são medidas defensivas passivas preexistentes, enquanto outras são

induzidas ativamente somente após a detecção do invasor potencial, sendo que os dois tipos envolvem mecanismos de resistência física (estrutural) e bioquímica (PAXTON et al., 1994; HUTCHESON, 1998). Respostas de defesa inatas são proporcionadas fisicamente pela parede celular e pela cutícula que a reveste, representando as primeiras barreiras que, em muitos casos, devem ser comprometidas antes que a colonização da planta seja possível. Para alcançar este objetivo, agentes fitopatogênicos secretam uma série de enzimas que degradam polissacarídeos da parede celular vegetal (WALTON, 1994). Em compensação, as plantas 'reagem' liberando proteínas que inibem essa ação enzimática despolimerizadora, incluindo

¹Doutorando em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, Paraná, Brasil. E-mail: edsonb@alunos.utfpr.edu.br

²Professor Dr., Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, Paraná, Brasil. E-mail: sergio@utfpr.edu.br

proteínas inibidoras de poligalacturonase (LECKIE et al., 1999; STOTZ et al., 2000), inibidoras da xilanase (LAUHLAN et al., 1999) e proteínas inibidoras de pectina liase (BUGBEE, 1993). Respostas bioquímicas inerentes também são utilizadas pelas plantas na defesa vegetal, sendo proporcionadas por substâncias antimicrobianas, tais como os polifenóis. Por outro lado, a resistência induzida envolve a ativação do sistema de defesa pelo ataque de agentes patogênicos e nesse caso, as barreiras estruturais envolvem a formação de papilas e o fortalecimento da parede celular, enquanto as bioquímicas relacionam-se com a resposta de hipersensibilidade (geração de espécies reativas ao oxigênio - ROS), produção de fitoalexinas e produção de PR proteínas (proteínas relacionadas à patogênese), estas últimas com atividades antimicrobianas. Todos os tipos de resistência induzida acima mencionados são acompanhados por alterações no sistema metabólico e não ocorrem somente em células infectadas - Resistência Local Adquirida (RLA), mas em toda a planta - Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) (WARD et al., 1991; VAN LOON; VAN STRIEN, 1999).

As principais PR proteínas que degradam os polissacarídeos da parede celular de patógenos invasores, principalmente dos fungos, incluem as β-1,3-glucanases e as quitinases (KAUFFMANN et al., 1987; BOWLES, 1990; LINTHORST; VAN LOON, 1991; STINTZI et al., 1993; MURALI et al., 2013), podendo atuar isoladas ou em sinergismo (KOMBRINK; SOMSSICH, 1997).

Diversos estudos envolvendo essas duas PR proteínas têm ajudado a elucidar seus mecanismos de ação. Segundo Côté e Hahn (1994) e Eder e Cosio (1994) há evidências suficientes demonstrando que o papel protetor ocorre por meio de dois mecanismos diferentes: o primeiro envolve atuação direta, pois as enzimas prejudicam o crescimento e proliferação do patógeno através da hidrólise dos componentes (β-1,3/1,6-D-glucano e de quitina) das paredes celulares, tornando as células inimigas suscetíveis à lise; já o segundo é um papel defensivo indireto, onde a ação enzimática de glucanases e quitinases promove a liberação de oligômeros específicos de β-1,3/1,6-D-glucano e de quitina, denominados de oligossacarídeos eliciadores, os quais podem induzir inúmeras respostas de defesa na planta.

Nesta revisão, foi abordado o papel da β-1,3 glucanase em plantas, sobretudo nos mecanismos de defesa vegetal, reunindo em um único documento informações relevantes a respeito dessa importante PR proteína. A nomenclatura da enzima foi tratada como β-1,3 glucanase, no entanto, é muito comum se deparar com diferentes grafias referindo-se a esse tipo enzimático. Em pesquisa a um Sistema de Informação Enzimática a respeito da enzima, encontra-se que em *Pisum sativum* L. (ervilha), por exemplo, são utilizados diversos sinônimos,

tais como: (1->3)-beta-glucana endohidrolase, (1->3)-beta-glucanase, (13)-beta-glucana, 3-glucanohidrolase, (13)-beta-glucana endohidrolase, 1,3-beta-glucana glucanohidrolase, beta-1,3-endoglucanase, beta-1,3-glucanase, calase, endo-(1,3)-beta-D-glucanase, endo-(13)-beta-D-glucanase, endo-1,3-beta-D-glucanase, endo-1,3-beta-glucanase, endo-1,3-beta-glucosidase, endo-1,3-glucanase, glucana endo-1,3-beta-glucosidase, proteína-PR-2, etc (BRENDA-ENZYMES, 2017).

DESENVOLVIMENTO

Ativação da defesa vegetal

A indução de resistência em plantas a patógenos é relatada a mais de um século e em diferentes culturas (SATHIYABAMA; BALASUBRAMANIAN, 1998; HEIL; BOSTOCK, 2002; TERRY; JOYCE, 2004), sendo que o primeiro registro foi em 1901, envolvendo o patossistema *Botrytis cinerea* x *Begonia* sp. (KESSMANN et al., 1994). A técnica tornou-se um mecanismo importante em plantas cultivadas onde variedades resistentes a patógenos não estão prontamente disponíveis.

As defesas das plantas podem ser ativadas pelo tratamento com agentes bióticos (proteínas, lipídios, oligossacarídeos e antibióticos de origem biológica, entre outros) ou abióticos (como metais pesados e compostos sintéticos), de natureza inorgânica ou orgânica (KEEN; YOSHIKAWA, 1983; YAMAGUCHI et al., 2000). Essas moléculas capazes de ativar respostas de defesas nas plantas são chamadas de elicitores, eliciadores ou indutores, os quais induzem qualquer resposta de defesa quando se ligam a receptores da membrana plasmática da parede celular da célula vegetal (Figura 1) (GRAHAM, 1995; STICHER et al., 1997). Eliciadores estão naturalmente presentes na parede celular de agentes patogênicos, sendo que as PR proteínas, tal como quitinase e β-1,3-glucanase, hidrolisam esses polissacarídeos em oligossacarídeos eliciadores (KEEN; YOSHIKAWA, 1983; YAMAGUCHI et al., 2000). Os eliciadores podem induzir a Resistência Local Adquirida (RLA), a Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) ou ainda um terceiro tipo resistência, que é a Resistência Sistêmica Induzida (RSI) (TERRY; JOYCE, 2004), sendo a RSA a mais importante.

A resistência sistêmica adquirida pode ser conceituada como um mecanismo de defesa induzido ou provocado pela infecção de patógenos, que confere proteção à planta a inúmeros microrganismos (DURRANT; DONG, 2004), algo similar, a grosso modo, a imunidade dos animais, sendo explicada pela manifestação ou produção de um sinal liberado a partir do sítio de infecção para outras partes da planta, induzindo reações de defesa que a protegerão contra agressões subsequentes.

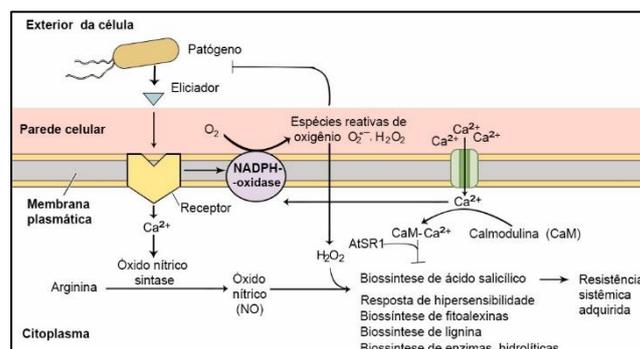


FIGURA 1 - Diversos tipos de defesa vegetal contra fitopatógenos são induzidos por eliciadores, os quais iniciam uma complexa via de sinalização, que culminam em respostas de proteção. Fonte: TAIZ et al. (2017).

Dentre os mecanismos induzidos de defesa pela RSA estão as modificações de parede celular, produção de fitoalexinas, e concomitantemente, um aumento de expressão de um grupo enorme de genes (WARD et al., 1991), incluindo aqueles que expressam para proteínas relacionadas à patogênese, as PR proteínas (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999).

Classificação das proteínas relacionadas à patogênese (PR proteínas)

As PR proteínas são classificadas em 17 famílias (PR-1 a PR-17) de acordo com a estrutura molecular e atividade enzimática, sendo enumeradas pela ordem em que foram descobertas (VAN LOON et al., 2006; VAN LOON; PIETERSE, 2006; ENOKI; SUZUKI, 2016). Elas acumulam-se nos locais de infecção e em sítios remotos destes (STICHER et al., 1997), sendo que sua síntese e acúmulo possui caráter de resposta ativa e sistêmica. As PR proteínas compartilham muitas propriedades bioquímicas que as tornam facilmente distinguíveis, como massa molecular relativamente baixa, são extraíveis de forma estável em pH baixo (VAN LOON, 1976; GIANINAZZI et al., 1977), são solúveis em meio ácido, resistem a proteases e tem pontos isoelétricos extremos (VAN LOON, 1998). Quanto à localização, a maioria delas está no apoplasto (ácidas), enquanto as demais estão confinadas nos vacúolos (básicas) (PARENT; ASSELIN, 1984; CARR et al., 1987).

Dentre as PR proteínas mais estudadas estão as quitinases (PR-3) e as β-1,3 glucanases (PR-2), ambas com atividade hidrolítica, despolimerizando sacarídeos estruturais presentes na parede de patógenos (ANDREU et al., 1998; WALTON, 1997). A atividade dessas enzimas é aumentada quando plantas são tratadas com eliciadores de respostas de defesa (SCHWEIZER et al., 2000), demonstrando que possuem papel importante na contenção de infecções.

Funções fisiológicas

A presença de β-1,3-glucanases não é uma exclusividade das células vegetais, já que elas estão

As PR proteínas são conhecidas por serem expressas de forma coordenada nos seguintes casos: i) após infecção por fungos; ii) após a indução de resistência por eliciadores (MAUCH et al., 1988; GRANT; LAMB, 2006), e iii) após algum estresse, como o rompimento do citoplasma (WAGIH; COUTTS, 1981) e acúmulo de altas concentrações de hormônios vegetais (ANTONIWI et al., 1981). Dessa forma, é sugerido que as PR proteínas são codificadas, mas não são expressas na planta na ausência de um *start* (ANTONIWI; WHITE, 1980; VAN LOON et al., 1994).

amplamente distribuídas em vários outros seres vivos, tais como bactérias, fungos e alguns animais invertebrados. Além disso, β-1,3-glucanases atraíram considerável atenção devido ao seu potencial de uso em biotecnologia, agricultura, farmácia, medicina e na defesa contra patógenos (PITSON; SEVIOUR, 1993).

As β-1-3 glucanases de plantas são enzimas abundantes e altamente reguladas, comumente encontradas em todo o reino vegetal (MOROHASHI; MATSHUSHIMA, 2000; LEUBNER-METZGNER, 2003; RUAN et al., 2004), estando envolvidas em vários processos fisiológicos, portanto, não são exclusivas da defesa vegetal (ROMERO et al., 1998; LEUBNER-METZGER, 2003; BALASUBRAMANIAN et al., 2012), embora os estudos estejam direcionados, principalmente, às suas funções anti-patogênicas (MINIC, 2008).

Vários genes codificam para β-1,3 glucanases, sendo que em *Arabidopsis thaliana* são 48, os quais expressam glucanases para diferentes finalidades (DONG et al., 1991; UKNES et al., 1992). Os aspectos genéticos da enzima também foram estudados em outras plantas, como fumo (LEUBNER-METZGNER, 2003), soja (JIN et al., 1999) e tomate (MOROHASHI; MATSHUSHIMA, 2000).

Uma importante função atribuída às β-1,3 glucanases é sua participação na degradação da calose, um tipo de β-1,3 glucana distribuída em diversos locais na planta, entre eles na parede celular, ao redor dos orifícios dos plasmodesmos (LEVY et al., 2007; ZAVALIEV et al., 2011). β-1,3 glucanases tem a capacidade de reverter a deposição de β-1,3 glucanas dos plasmodesmos mediando

a resposta da planta durante algum estresse. Em *A. thaliana* a hipótese é que a calose é produzida pela β-1,3-glucanase sintase e degradada por β-1,3 glucanases, expressas pelo gene *AtBG_ppap*. A síntese de calose forma uma espécie de cinturão ao redor dos plasmodios, chegando ao ponto de obstruí-los em situações especiais, como no ataque de patógenos. Em mutantes de *A. thaliana* que não transcrevem o gene da β-1,3 glucanase em questão, observou-se que ocorre uma diminuição no movimento célula-célula em decorrência exclusiva da síntese de calose e ausência de sua degradação, o que compromete a comunicação intercelular (LEVY et al., 2007).

As β-1,3 glucanases também são encontradas nas estruturas reprodutivas das plantas. Nos pistilos, onde a calose é abundante na parede do tubo polínico em crescimento (KAUSS, 1996), sua função está envolvida na regulação do crescimento deste e/ou na defesa contra o ataque de agentes patogênicos durante a fertilização (DELP; PALVA, 1999; ORI et al., 1990). Xing et al. (2017), por exemplo, estudaram a superexpressão do gene da β-1,3-glucanase em *Rosa rugosa* através de transgenia, já que o excesso natural de calose impede o crescimento do tubo polínico de *R. rugosa*, limitando a aplicação comercial dessa espécie.

Em anteras, as β-1,3 glucanases foram encontradas somente antes dos micrósporos serem liberados. Nessa estrutura, a enzima degrada a calose que rodeia a tétrade dos micrósporos, o que contribuiu para a libertação dos grãos de pólen (HIRD et al., 1993; TSUCHIYA et al., 1995). É sugerido que elas também estejam envolvidas no amadurecimento dos frutos e na germinação de sementes (MOROHASHI; MATSUSHIMA, 2000; BUCHENER et al., 2002; AKIYAMA et al., 2004).

Algumas β-1,3 glucanases estão envolvidas em processos de estresse através da sua função como proteínas relacionadas à patogênese (LEUBNER-METZGER; MEINS Jr, 1999; STINTZI et al., 1993), principalmente antifúngicas (MORAVČIKOVÁ et al., 2004), sendo que sua importância na defesa das plantas contra estresses abióticos também foi comprovada, como por exemplo, pela baixa temperatura (ROMERO et al., 2008), por seca (GREGOROVA et al., 2015) e também por metais pesados (PIRŠELOVÁ et al., 2011).

Especificamente, a família PR-2 inclui β-1,3-glucanases que catalisam a clivagem hidrolítica de ligações do tipo endo β-1,3-D-glucosídicas em β-1,3-D-glucanas (LEUBNER-METZGER; MEINS JR, 1999), entretanto, também podem atuar moderadamente sobre ligações do tipo β-1,3/1,6 glicosídicas encontradas em β-1,3/1,6-D-glucanas, em resposta a fatores bióticos e abióticos (KEMP et al., 1999; LEUBNER-METZGER; MEINS JR, 1999). Dessa forma, β-1,3-glucanases hidrolisam e liberam β-D-glucanas da parede celular fúngica, que por sua vez podem atuar como indutores de defesa na planta, induzindo acumulação de fitoalexinas (SHARP et al., 1984; OKINAKA et al., 1995;

KLARZYNSKI et al., 2000; EDREVA, 2004). Sob condições normais, a expressão de genes da β-1,3 glucanase relacionada à defesa vegetal é bastante baixa. Quando a planta é induzida por condições patológicas ou intencionalmente pelo uso de eliciadores, sua expressão é rápida e a enzima se acumula, reforçando sua atividade hidrolítica (YINXIU et al., 2012).

Além disso, é desigualmente distribuída pelos órgãos da planta, sendo mal detectável em folhas jovens (LI et al., 2014). Mao et al. (2014), ao estudarem a localização do gene de PR proteínas em arroz transgênico (*Oryza sativa* L. cv. Taipei 309), transformado com a inserção do gene da β-1,3-glucanase (*AGLU1*), verificaram que a enzima inicialmente se localiza nos cloroplastos e após a infecção são direcionadas ao vacúolo e à parede celular (apoplasto), sugerindo que esses compartimentos subcelulares atuam como o locais de coleta, estocagem e ação dessa proteína antifúngica. A destinação da enzima para os locais-alvo é possível pela presença de um peptídeo-sinal na região N-terminal, responsável pela sua translocação através da membrana do retículo endoplasmático para o vacúolo ou para o espaço intercelular (BOL et al., 1990).

Estudos realizados com *A. thaliana* destacaram que as β-1,3 glucanases estão agrupadas em quatro classes com base em suas sequências homólogas: classe I - são proteínas vacuolares básicas acumuladas em folhas maduras e raízes após a infecção do patógeno, após a ativação por eliciadores ou após algum nível de estresse; classes II e III - proteínas extracelulares ácidas; classe IV - semelhante à classe II, no entanto, não são induzíveis pelo ataque de agentes patogênicos (LEUBNER-METZGER, 2003; MINIC, 2008). Em fumo, as β-1,3-glucanases têm sido classificadas em três classes: classe I - proteínas básicas localizadas em vacúolos do mesófilo e epiderme; e classes II e III - ácidas e extracelulares (BEFFA; MEINS, 1996).

Delp e Palva (1999) estudaram cinco genes de β-1,3-glucanase em *A. thaliana*. Os genes BG2 e BG3 expressam proteínas ácidas de 37 e 30 kDa, respectivamente, sendo regulados positivamente após infecção patogênica. O produto de BG2 está localizado extracelularmente e ambas as proteínas estão relacionadas ao sistema de defesa das plantas (DONG et al., 1991; UKNES et al., 1992). O gene A6 codifica para uma proteína básica de 53 kDa, cujo gene se expressa nas células do tapetum nas anteras, pouco antes dos micrósporos, serem libertados (HIRD et al., 1993). Já os genes BG4 e BG5 tem 38 kDa, sendo que BG4 é expresso no estigma e no septo do ovário e, possivelmente, desempenha papel no processo reprodutivo da planta.

Na Figura 2 é demonstrada a estrutura tridimensional de algumas β-1,3-glucanases de plantas superiores, como *Hevea brasiliensis* (seringueira) em A, B e C; *Hordeum vulgare* (cevada) em D, E e F; *Musa acuminata* (bananeira) em G, H e I; e, *Solanum tuberosum* (batata inglesa) em J, K e L (BRENDA-ENZYMES, 2017).

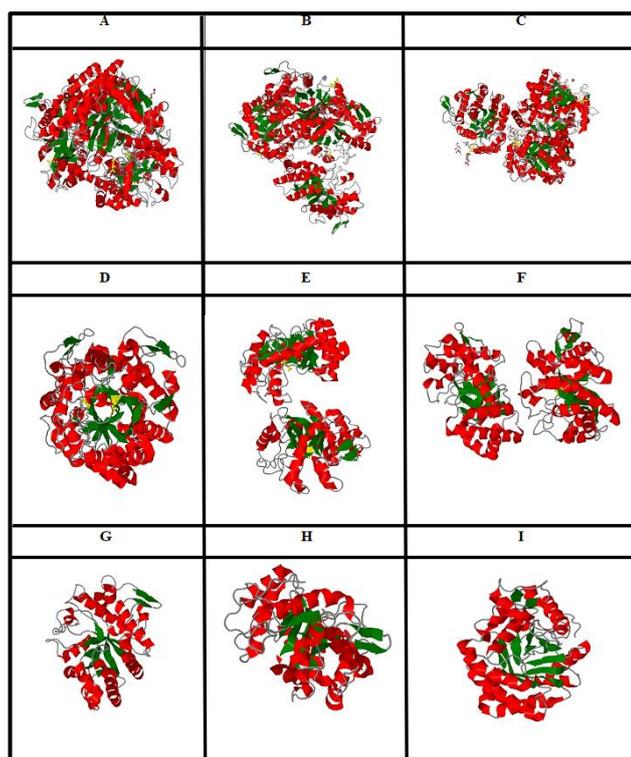


FIGURA 2 - Estruturas tridimensionais de β -1,3 glucanases. A, B e C - *Hevea brasiliensis* (vistas frontal, topo e lateral direita respectivamente); D, E e F - *Hordeum vulgare* (vistas frontal, topo e lateral direita respectivamente); G, H e I - *Musa acuminata* (vistas frontal, topo e lateral direita respectivamente). Fonte: BRENDA-ENZYMES (2017).

Modo de ação da β -1,3 glucanase como PR-2

A quitinase e a β -1,3 glucanase são enzimas hidrolíticas que, na maioria das vezes, atuam em sinergismo (MAUCH et al., 1988; JONGEDIJK et al., 1995) hidrolisando a quitina e as β -1,3 glucanas, respectivamente, da parede celular de fitopatógenos (KOMBRINK; SOMSSICH, 1997), por isso optou-se por não dissociá-las completamente nesta revisão. Elas atuam ativando a defesa de componentes de sinalização a jusante, pela formação de oligossacarídeos eliciadores (KLARZYNSKI et al., 2000; EDREVA, 2004), além de apresentarem propriedades antimicrobianas. Sua ativação é importante em plantas cultivadas onde variedades resistentes a patógenos não estão prontamente disponíveis (MAUCH et al., 1988).

Em *A. thaliana*, a expressão do gene PR-2 (β -1,3 glucanase) é dependente de ácido salicílico (AS) (UKNES et al., 1992) e a expressão do gene de PR-3 depende de ácido jasmônico (AJ) (THOMMA et al., 1998), conforme observa-se na Figura 3.

A maioria dos fungos apresenta parede celular formada por uma combinação dos polissacarídeos quitina e glucana, além de algumas proteínas (Figura 4). A quitina está localizada próxima à membrana celular e na sequência, formando uma camada espessa e adjacente às fibras de quitina, estão as β -1,3 e β -1,6 glucana (barras longas e curtas, respectivamente). Tipos especiais de proteínas, as manoproteínas, estão distribuídas na parte mais externa da parede celular (FESEL, 2016).

Como a parte mais externa das hifas contém grande quantidade de glucana, esta é mais exposta, facilitando a hidrólise por β -1,3 glucanases da planta hospedeira, o que causa um enfraquecimento da parede celular, resultando na lise dos fitopatógenos (GUZZO, 2003). A desconstrução dessa estrutura complexa requer sinergia entre enzimas visando substratos quimicamente distintos, mas associados fisicamente (BERLEMONT, 2017)

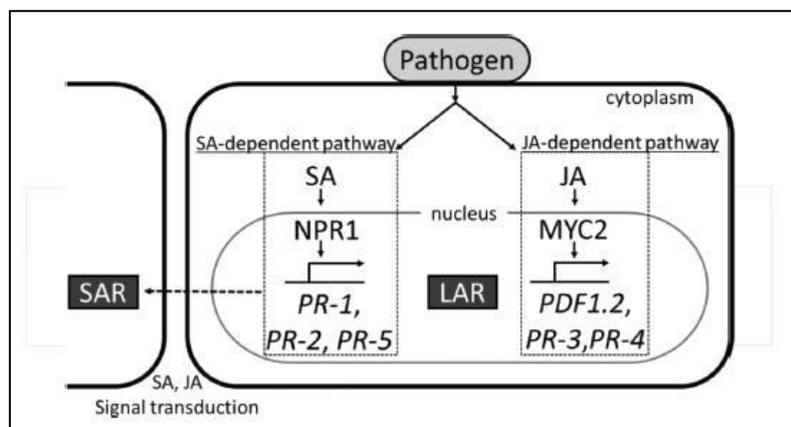


FIGURA 3 - Caminhos de sinalização induzidos por patógenos que levam a RLA e RSA em *Arabidopsis thaliana*. SA, ácido salicílico; NPR1, Não Expressor de Genes Relacionados à Patogênese 1; JA, ácido jasmônico; MYC2, fator de transcrição MYC2; PDF1.2, defensina da planta 1,2; LAR, resistência local adquirida; SAR, resistência sistêmica adquirida. Fonte: Enoki e Suzuki (2016).

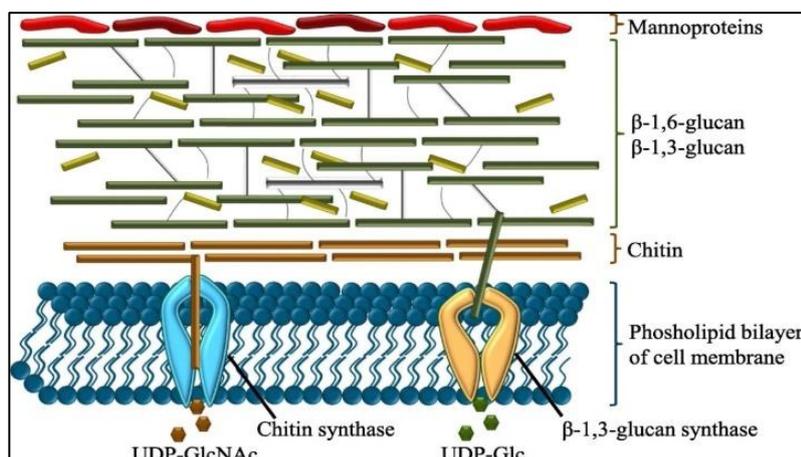


FIGURA 4 - Visão geral esquemática da composição da parede celular fúngica. Fonte: FESEL (2016).

A quitina é sintetizada através da transferência de resíduos de N-acetilglucosamina (Figura 4) a partir de uridina difosfato-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc, hexágonos à esquerda) para uma fibra em crescimento que é transportada através da membrana celular através da quitina sintase transmembrana (esquerda). A β -1,3 glucana é sintetizada por uma β -1,3-glucana sintase (direita) que usa difosfato de uridina-N-glicose como doador (UDP-Glc; hexágonos à direita) para transferir glicose para a fibra β -1,3 glucana (FESEL, 2016).

As β -1,3-glucanas estruturais da parede celular fúngica atuam como moduladoras do sistema de defesa de plantas (GRUBER et al., 1990), sendo que os receptores de membranas nas células vegetais, como a dectina-1, são capazes de interagir com as β -1,3-glucanas e desencadear uma resposta de defesa no organismo hospedeiro. A dectina-1 é uma proteína transmembrana pertencente à família da lectina tipo C. O domínio extracelular desta glicoproteína, conhecido como CDR, é responsável pelo reconhecimento do carboidrato e o domínio citoplasmático

C-terminal contém um motivo de ativação baseado em imunoreceptores da tirosina (ITAM) (FARKAS, 1979; GRUBER et al., 1990). Ao reconhecer um polímero de β -1,3-glucana de fungos, a tirosina do domínio ITAM é fosforilada e recruta a tirosina quinase, iniciando assim a ativação da cascata de sinalização para ativação de genes subsequentes (FARKAS, 1979). A presença de α -glucana na parede celular fúngica é capaz de bloquear o reconhecimento de β -glucana fúngica pela dectina-1 do hospedeiro, impedindo a indução de genes de resposta imune de seu hospedeiro e como consequência, há um aumento na virulência do patógeno (STEINDORFF et al., 2012).

Atuação de β -1,3 glucanases na defesa vegetal

Inúmeros estudos têm destacado que a indução de resistência é e continuará sendo um método alternativo e eficaz para o controle de fitopatógenos. Diante dessa informação, nos parágrafos seguintes serão apresentados

alguns trabalhos que confirmam a atuação das PR proteínas na defesa vegetal, sobretudo a β-1,3 glucanase.

Dentre os diversos indutores de resistência potencialmente utilizados, o ácido salicílico (AS) é um dos mais estudados pela sua ação confirmada em diversas plantas. Em recente estudo promovido Zhang et al. (2016), verificou-se que a aplicação exógena de AS melhorou a resistência à mancha foliar de *Glomerella* (MFG) causada por *Glomerella cingulata*, num cultivar de maçã (*Malus domestica* Borkh. cv. 'Gala') altamente suscetível a esse patógeno. Os resultados mostraram que o pré-tratamento com AS induziu forte resistência contra MFG em folhas de maçã 'Gala', com redução significativa no número de lesões e no índice de doenças. Paralelamente, o AS aumentou a atividade de diversas enzimas, entre elas a β-1,3-glucanase. Esses resultados destacam o papel dos indutores de resistência na sobre-regulação da expressão dos genes de PR proteínas como uma alternativa para o controle de doenças em plantas.

Mahesh et al. (2017) também utilizaram AS como indutor de resistência. Eles trataram sementes de berinjela (*Solanum melongena* L.) com o eliciador com objetivo de controlar a infecção (murcha-de-verticílio) causada pelo fungo *Verticillium dahliae* Kleb. O tratamento resultou na redução significativa na incidência da doença (39,25%) e demonstrou o envolvimento de alguns genes de defesa, entre eles aquele que expressa β-1,3-glucanase.

Belete e Boyraz (2017) estudaram diversos aspectos da sarna da maçã, provocada por *Venturia inaequalis*, e investigaram alguns mecanismos bioquímicos de defesa (pré e pós-infecionais) em duas cultivares (cv.), uma resistente ('Remo') e outra suscetível ('Elstar'). Eles avaliaram as concentrações de PR proteínas, dentre as quais a β-1,3-glucanase (PR-2). Antes da infecção por *V. inaequalis* as concentrações de PR-2 eram maiores na cultivar resistente. Após a infecção, a concentração da enzima da cv. suscetível tornou-se semelhante a da cultivar resistente, o que sugere uma acumulação constitutiva desta PR proteína apenas na cultivar resistente, necessitando ser induzida na cv. suscetível, o que comprova a importância da indução de resistência em plantas.

O efeito de aplicações de jasmonato de metilo (MeJA) e quitosana em pré-colheita de morangos (*Fragaria chiloensis*) foi avaliada por Saavedra et al. (2017). As aplicações foram realizadas em diferentes fases: floração, desenvolvimento dos frutos e amadurecimento. Dezoito dias após a primeira aplicação, os frutos foram colhidos e inoculados com esporos de *Botrytis cinerea*, agente etiológico do mofo cinzento. As avaliações pós-colheita foram feitas nos tempos 0, 2, 24, 48 e 72 horas após a inoculação (hai). Foi avaliada a expressão de genes que codificam para as PR proteínas relacionadas com a patogênese - β-1,3-glucanases (gene FcBG2-1, FcBG2-2 e FcBG2-3) e quitinases (FcCHI2-2 e FcCHI3-1) - e genes para inibir a poligalacturonase (FcPGIP1 e FcPGIP2). Notavelmente, frutas tratadas com MeJA e quitosana exibiram uma menor incidência da infecção *B. cinerea* do que o controle tratado. Ao nível

molecular, ambos foram eficientes eliciadores uma vez que se observou uma regulação positiva na expressão da maioria dos genes.

A utilização de luz UVC (ultravioleta curta - 280 a 100 nm) tem sido relatada na literatura como uma nova estratégia para reduzir danos no armazenamento pós-colheita de frutas, verduras e tubérculos, não apenas por destruir microrganismos diretamente, mas por induzir genes de defesa contra agentes patogênicos (STEVENS et al., 1998; LIU et al., 2011). Jin et al. (2017) avaliaram o efeito da UVC em pós-colheita de morangos contra o mofo cinzento causado por *Botrytis cinerea*. Os resultados mostraram que o tratamento, além de reduzir efetivamente o diâmetro das lesões, aumentou a expressão de genes e a atividade de diversas enzimas relacionadas à defesa vegetal, como a β-1,3-glucanase.

Kang et al. (2017) utilizaram extrato aquoso a base de substrato residual do cultivo de cogumelos *Lentinula edodes* para induzir respostas de defesa em plantas de pimentão, contra a ferrugem da pimenta, causada por *Phytophthora capsici*. O tratamento suprimiu a doença em 65% e promoveu o crescimento da planta em 30% comparado ao controle. A análise da expressão gênica por PCR em tempo real revelou que a expressão de genes relacionados à defesa vegetal, dentre eles CaBGLU (β-1,3 glucanase) foram significativamente reforçados nas plantas tratadas em comparação ao controle.

Kadoo e Badere (2017) estudaram o uso de extratos vegetais para induzir enzimas de defesa em pepino e pimentão. Observaram que, dentre os diversos extratos utilizados, aqueles de *Azadirachta indica* (nim) e de *Cleistanthus collinus* foram muito eficazes na ativação de quitinase e β-1,3 glucanase, induzindo a resistência sistêmica das plantas estudadas. A análise fitoquímica dos extratos revelou grandes quantidades de compostos fenólicos, principalmente flavonóides, sobretudo em *C. collinus*, aos quais foi atribuída a capacidade de ativar essas PR proteínas.

Madhupani e Adikaram (2017) utilizaram controle biológico para tratar a podridão peduncular de abacates (*Persea americana* Mill.). A doença é causada predominantemente por *Lasiodiplodia theobromae*, resultando em grandes perdas pós-colheita. A utilização do fungo *Aureobasidium pullulans* (antagonista) retardou a incidência da doença em dois dias, em comparação aos controles. Foram feitas análises das atividades enzimáticas nos frutos em diferentes tempos e verificou-se alta atividade de quitinase e β-1,3-glucanase, especialmente em 48 e 96 hai, concluindo que o efeito combinado da atividade de quitinase e β-1,3-glucanase, associado ao controle biológico direto durante o amadurecimento, seriam a base para retardar a incidência da doença.

Chaibub et al. (2016) também fizeram uso do controle biológico como método alternativo de controle de doenças. O objetivo foi estudar a brunose do arroz (*Magnaporthe oryzae*) com uso do fungo antagonista *Cladosporium* sp. Eles obtiveram resultados de ação direta sobre o fungo patogênico e indução de resistência através

da ativação de enzimas de defesa, entre as quais a β -1,3 glucanase, com supressão da doença em torno de 80%.

Głowacz et al. (2017) submetem frutos de abacate (*Persea americana* Mill.) var. 'Hass' a exposição de vapores de jasmonato de metila (MeJA) e salicilato de metila (MESA) como alternativa ao uso de fungicidas no controle pós-colheita de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). A incidência de antracnose foi significativamente reduzida nos frutos tratados com MeJA ou MESA. Os resultados obtidos destacam o fato de que o aumento da atividade de quitinase, β -1,3glucanase e FAL (fenilalanina amônia-liase) estão envolvidos no aumento da resistência do abacate a *C. gloeosporioides*, por meio de exposição a vapores de MeJA ou MESA. Portanto, a exposição dos frutos a vapores de MeJA ou MESA antes do armazenamento a frio é uma alternativa promissora em substituição a fungicidas comerciais.

Ramkissoo et al. (2017) avaliaram o potencial fitoelicidador de extratos de algas (*Ulva lactuca*, *Sargassum filipendula* e *Gelidium serrulatum*) na supressão de infecções patogênicas (*Alternaria solani* e *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*) em plantas de tomate. Todos os extratos testados foram capazes de limitar as infecções provocadas por *A. solani* e *X. vesicatoria* em diferentes graus, embora o extrato da alga vermelha *G. serrulatum* tenha demonstrado o melhor desempenho. Esse melhor desempenho pode ser correlacionado a maior atividade de β -1,3 glucanase e quitinase nas plantas tratadas com *G. serrulatum*.

Chandrasekaran e Chun (2016) estudaram a podridão mole em tomates (*Solanum lycopersicum*) tratados com *Bacillus subtilis* e infectados pela bactéria *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Foi constatada redução da podridão mole em 36%, sendo atribuída ao aumento da atividade das enzimas β -1,3 glucanase e FAL, ambas relacionadas à defesa vegetal.

Moravčíková et al. (2016) investigaram a enzima β -1,3 glucanase em termos qualitativos e quantitativos em diferentes genótipos de trigo (diplóides, tetraplóides e hexaplóides) a fim de verificar se havia diferenças na expressão da enzima em detrimento das diferentes ploídias, porém não encontraram diferenças significativas.

Gharbi et al. (2017) estudaram fatores fisiológicos e bioquímicos envolvidos na resistência de duas cultivares de oliveiras (*Olea europaea*), uma resistente e outra suscetível ao fungo *Verticillium dahliae*. Dentre os fatores estudados, estava o monitoramento dos níveis de expressão dos genes da quitinase e da β -1,3-glucanase, os quais indicaram que o sinergismo destas enzimas está fortemente correlacionado com a resistência a *V. dahliae*. Isso demonstra, de acordo com Funnell et al. (2004), que estas enzimas são componentes cruciais da resistência de plantas às doenças por fatores bióticos.

CONCLUSÕES

Não há dúvidas quanto à atuação das enzimas hidrolíticas na defesa vegetal, especialmente das β -1,3 glucanases, fato este destacado nesta revisão bibliográfica. A indução de resistência é um método alternativo e rápido

que promove a resistência a uma série de doenças, através da expressão de vários genes de defesa vegetal, entre os quais aqueles que expressam a enzima β -1,3 glucanase. O método pode ser utilizado em diversas culturas, principalmente naquelas onde não há organismos naturalmente resistentes. No entanto, questões permanecem, como o estudo de novos e eficientes indutores de resistência, os quais sejam capazes de ampliar a proteção dos vegetais contra o ataque de fitopatógenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIYAMA, T.; PILLAI, M.A.; SENTOKU, N. Cloning, characterization and expression of OsGLN2, a rice endo-1, 3- β -glucanase gene regulated developmentally in flowers and hormonally in germinating seeds. **Planta**, v.220, n.1, p.129-139, 2004.
- AMIAN, A.A.; PAPENBROCK, J.; JACOBSEN, H.J.; HASSAN, F. Enhancing transgenic pea (*Pisum sativum* L.) resistance against fungal diseases through stacking of two antifungal genes (chitinase and glucanase). **GM Crops**, v.2, n.2, p.104-109, 2011.
- ANAND, A.; ZHOU, T.; TRICK, H.N.; GILL, B.S.; BOCKUS, W.W.; MUTHUKRISHNAN, S. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.384, p.1101-1111, 2003.
- ANDREU, A.; TONÓN, C.; VAN DAMME, M.; HUARTE, M.; DALEO, G. Effect of glucans from different races of *Phytophthora infestans* on defense reactions in potato tubers. **European Journal of Plant Pathology**, v.104, n.8, p.777-783, 1998.
- ANTONIW, J.F.; WHITE, R.F. The effects of aspirin and polyacrylic acid on soluble leaf proteins and resistance to virus infection in five cultivars of tobacco. **Journal of Phytopathology**, v.98, n.4, p.331-341, 1980.
- ANTONIW, J.F.; KUEH, J.S.H.; WALKEY, D.G.A.; WHITE, R.F. et al. The presence of pathogenesis related proteins in *callus* of Xanthi-nc Tobacco. **Journal of Phytopathology**, v.101, n.2, p.179-184, 1981.
- BALASUBRAMANIAN, V.; VASHISHT, D.; CLETUS, J.; SAKTHIVEL, N. Plant β -1.3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. **Biotechnology Letters**, v.34, n.11, p.1983-1990, 2012.
- BEFFA, R.; MEINS, F. Pathogenesis-related functions of plant β -1.3-glucanases investigated by antisense transformation - a review. **Gene**, v.179, n.1, p.97-103, 1996.
- BELETE, T.; BOYRAZ, N. Critical Review on Apple Scab (Venturia) Biology, Epidemiology, Economic Importance, Management and Defense Mechanisms to the Causal Agent. **Journal of Plant Physiology Pathology**, v.5, n.2, p.3-11, 2017.
- BERLEMONT, R. Distribution and diversity of enzymes for polysaccharide degradation in fungi. **Scientific Reports**, v.7, n.1, p.222, 2017.

- BOL, J.F.; LINTHORST, H.J.M.; CORNELISSEN, B.J.C. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. **Annual Review of Phytopathology**, v.28, n.1, p.113-138, 1990.
- BOWLES, D.J. Defense-related proteins in higher plants. **Annual review of Biochemistry**, v.59, n.1, p.873-907, 1990.
- BRENDA-ENZYMES. **The Comprehensive Enzyme Information System**. 2017. Disponível em: <<http://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.2.1.39&onlyTable=Sequence>>. Acesso em: 20 mar. 2018.
- BUCHNER, P.; ROCHAT, C.; WUILLÈME, S.; BOUTIN, J.P. Characterization of a tissue-specific and developmentally regulated β-1, 3-glucanase gene in pea (*Pisum sativum*). **Plant Molecular Biology**, v.49, n.2, p.171-186, 2002.
- BUGBEE, W.M. A pectin lyase inhibitor protein from cell walls of sugar beet. **Phytopathology**, v.83, n.1, p.63-63, 1993.
- CARR, J.P.; DIXON, D.C.; NIKOLAU, B.J.; VOELKERDING, K.V.; KLESSING, D.F. Synthesis and localization of pathogenesis-related proteins in tobacco. **Molecular and Cellular Biology**, v.7, n.4, p.1580-1583, 1987.
- CHAIBUB, A.A.; de CARVALHO, J.C.; SILVA, C.S.; COLLEVATTI, R.G.; GONÇALVES, F.J.; CORTES, M.V.C.B.; FILIPPI, M.C.; FARIA, F.P.; LOPES, D.C.; ARAUJO, L.G. Defence responses in rice plants in prior and simultaneous applications of *Cladosporium* sp. during leaf blast suppression. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, n.21, p.21554-21564, 2016.
- CHANDRASEKARAN, M.; CHUN, S.C. Expression of PR-protein genes and induction of defense-related enzymes by *Bacillus subtilis* CBR05 in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants challenged with *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.80, n.11, p.2277-2283, 2016.
- CÔTÉ, F.; HAHN, M.G. **Oligosaccharins: structures and signal transduction**. In: Signals and Signal Transduction Pathways in Plants. Springer Netherlands, 1994. p.143-175.
- DELP, G.; PALVA, E.T. A novel flower-specific Arabidopsis gene related to both pathogen-induced and developmentally regulated plant β-1.3-glucanase genes. **Plant Molecular Biology**, v.39, n.3, p.565-575, 1999.
- DONG, X.; MINDRINOS, M.; DAVIS, K.R.; AUSUBEL, F.M. Induction of *Arabidopsis* defense genes by virulent and avirulent *Pseudomonas syringae* strains and by a cloned avirulence gene. **The Plant Cell**, v.3, n.1, p.61-72, 1991.
- EDER, J.; COSIO, E.G. Elicitors of plant defense responses. **International Review of Cytology**, v.148, n.1, p.1-36, 1994.
- EDREVA, A. A novel strategy for plant protection: Induced resistance. **Journal of Cell and Molecular Biology**, v.3, n.2, p.61-69, 2004.
- ENOKI, S.; SUZUKI, S. **Pathogenesis-Related Proteins in Grape**. In: Grape and Wine Biotechnology. Cap. 2, In Tech, 2016. p.43-58.
- FARKAS, V. Biosynthesis of cell walls of fungi. **Microbiological Reviews**, v.43, n.2, p.117-144, 1979.
- FESEL, P.H.; ZUCCARO, A. β-glucan: crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. **Fungal Genetics and Biology**, v.90, n.1, p.53-60, 2016.
- FUNNELL, D.L.; LAWRENCE, C.B.; PEDERSEN, J.F.; SCHARDL, C.L. Expression of the tobacco β-1.3-glucanase gene, PR-2d, following induction of SAR with *Peronospora tabacina*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.65, n.6, p.285-296, 2004.
- GHARBI, Y.; BARKALLAH, M.; BOUAZIZI, E.; HIBAR, K.; GDOURA, R.; TRIKI, M.A. Lignification, phenols accumulation, induction of PR proteins and antioxidant-related enzymes are key factors in the resistance of *Olea europaea* to *Verticillium* wilt of olive. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.39, n.2, p.43, 2017.
- GIANINAZZI, S.; PRATT, H.M.; SHEWRY, P.R.; MIFLIN, B.J. Partial purification and preliminary characterization of soluble leaf proteins specific to virus infected tobacco plants. **Journal of General Virology**, v.34, n.2, p.345-351, 1977.
- GLOWACZ, M.; ROETS, N.; SIVAKUMAR, D. Control of anthracnose disease via increased activity of defence related enzymes in 'Hass' avocado fruit treated with methyl jasmonate and methyl salicylate. **Food Chemistry**, v.234, p.163-167, 2017.
- GRAHAM, T.L. Cellular biochemistry of phenylpropanoid responses of soybean to infection by *Phytophthora sojae*. In: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R.P. (Ed.). **Handbook of phytoalexin metabolism and activity**. New York: Marcel Dekker, 1995. p.85-117.
- GRANT, M.; LAMB, C. Systemic immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v.9, n.4, p.414-420, 2006.
- GREGOROVÁ, Z.; KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; MAGLOVSKI, M.; KUNA, R.; HAUPTVOGEL, P.; MATUŠIKOVÁ, I. Drought-induced responses of physiology, metabolites, and PR proteins in *Triticum aestivum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.63, n.37, p.8125-8133, 2015.
- GRUBER, F.; VISSER, J.; KUBICEK, C.P.; GRAAFF, L.H. The development of a heterologous transformation system for the cellulolytic fungus *Trichoderma reesei* based on a pyrG-negative mutant strain. **Current Genetics**, v.18, n.1, p.71-76, 1990.
- GUZZO, S.D. Proteínas relacionadas à patogênese. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.11, n.1, p.283-332, 2003.
- HEIL, M.; BOSTOCK, M.R. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of Botany**, v.89, n.1, p.503-512, 2002.
- HIRD, D.L.; WORRALL, D.; HODGE, R.; SMARTT, S.; PAUL, W.; SCOTT, R. The anther specific protein encoded by the *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*

- A6 gene displays similarity to β-1.3 glucanases. **The Plant Journal**, v.4, n.6, p.1023-1033, 1993.
- HONÉE, G. Engineered resistance against fungal plant pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, n.4, p.319-326, 1999.
- HUTCHESON, S.W. Current concepts of active defense in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v.36, n.1, p.59-90, 1998.
- JIN, P.; WANG, H.; ZHANG, Y.; WANG, H.L.; ZHENG, Y. UV-C enhances resistance against gray mold decay caused by *Botrytis cinerea* in strawberry fruit. **Scientia Horticulturae**, v.225, n.1, p.106-111, 2017.
- JIN, W.; HORNER, H.T.; PALMER, R.G.; SHOEMAKER, R.C. Analysis and mapping of gene families encoding β-1.3-glucanases of soybean. **Genetics**, v.153, n.1, p.445-452, 1999.
- JONGEDIJK, E.; TIGELAAR, H.; VAN ROEKEL, J.S.; BRES-VLOEMANS, S.A.; DEKKER, I.; VAN DEN ELZEN, P.J.; CORNELISSEN, B.J.; MELCHERS, L.S. Synergistic activity of chitinases and β-1.3-glucanases enhances fungal resistance in transgenic tomato plants. **Euphytica**, v.85, n.1, p.173-180, 1995.
- JOOSTEN, M.H.A.J.; VERBAKEL, H.M.; NETTEKOVEN, M.E.; VAN LEEUWEN, J.; VAN DER VOSSSEN, R.T.M.; de WIT, P.J.G.M. The phytopathogenic fungus *Cladosporium fulvum* is not sensitive to the chitinase and β-1.3-glucanase defence proteins of its host, tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.46, n.1, p.45-59, 1995.
- KADDOO, M.R.; BADERE, R.S. Modulation of the activity of chitinases and β-1.3 glucanase in seedlings of cucumber and chilli by the aqueous extract of *Cleistanthus collinus*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.98, n.1, p.46-53, 2017.
- KAHLON, J.G.; JACOBSEN, H.J.; CAHILL, J.F. Jr.; HALL, L.M. Antifungal genes expressed in transgenic pea (*Pisum sativum* L.) do not affect root colonization of arbuscular mycorrhizae fungi. **Mycorrhiza**, v.27, n.7, p.1-12, 2017.
- KANG, D.S.; MIN, K.J.; KWAK, A-MIN; LEE, S.Y.; KANG, H.W. Defense response and suppression of *Phytophthora* blight disease of pepper by water extract from spent mushroom substrate of *Lentinula edodes*. **The Plant Pathology Journal**, v.33, n.3, p.264, 2017.
- KAUFFMANN, S.; LEGRAND, M.; GEOFFROY, P.; FRITIG, B. Biological function of pathogenesis-related proteins: four PR proteins of tobacco have 1.3-β-glucanase activity. **The EMBO Journal**, v.6, n.11, p.3209, 1987.
- KAUSS, H. Callose synthesis. In: SMALLWOOD, M.; KNOX, J.P.; BOWLES, D.J. (Eds.). **Membranes: specialized functions in plants**, 1996. BIOS Scientific, Oxford, p.77-92.
- KEEN, N.T.; YOSHIKAWA, M. β-1.3-Endoglucanase from soybean releases elicitor-active carbohydrates from fungus cell walls. **Plant Physiology**, v.71, n.3, p.460-465, 1983.
- KEMP, G.; BOTHA, A.M.; KLOPPERS, F.J.; PRETORIUS, Z.A. Disease development and β-1.3-glucanase expression following leaf rust infection in resistant and susceptible near-isogenic wheat seedlings. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.55, n.1, p.45-52, 1999.
- KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, v.32, n.1, p.439-59, 1994.
- KIM, Y.J.; HWANG, B.K. Isolation of a basic 34 kilo Dalton β-1.3-glucanase with inhibitory activity against *Phytophthora capsici* from pepper stems. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.50, n.2, p.103-115, 1997.
- KLARZYNSKI, O.; PLESSE, B.; JOUBERT, J.M.; YVIN, J.C.; KOPP, M.; KLOAREG, B.; FRITIG, B. Linear β-1.3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. **Plant Physiology**, v.124, n.3, p.1027-1038, 2000.
- KOMBRINK, E.; SOMSSICH, I.E. **Pathogenesis-related proteins and plant defense**. In: Plant relationships. Springer Berlin Heidelberg, 1997. p.107-128.
- LAUHLAN, M.C.; RUSSEL, W. et al. A novel class of protein from wheat which inhibits xylanases. **Biochemical Journal**, v.338, n.2, p.441-446, 1999.
- LECKIE, F.; MATTEI, B.; CAPODICASA, C.; HEMMINGS, A.; NUSS, L.; ARACRI, B.; De LORENZO, G.; CERVONE, F. The specificity of polygalacturonase inhibiting protein (PGIP): a single amino acid substitution in the solvent exposed β-strand/β turn region of the leucine rich repeats (LRRs) confers a new recognition capability. **The EMBO Journal**, v.18, n.9, p.2352-2363, 1999.
- LEUBNER-METZGER, G. Functions and regulation of β-1.3-glucanases during seed germination, dormancy release and after-ripening. **Seed Science Research**, v.13, n.1, p.17-34, 2003.
- LEUBNER-METZGER, G.; MEINS JR, F. **Functions and regulation of plant β-(PR-2)**. In: Pathogenesis-related proteins in plants, 1999. DATTA, S.K.; MUTHUKRISHNAN, S. (Eds). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, p.49-76.
- LEVY, A.; ERLANGER, M.; ROSENTHAL, M.; EPEL, B.L. A plasmodesmata-associated β-1.3-glucanase in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, v.49, n.4, p.669-682, 2007.
- LI, X.Y.; GAO, L.; ZHANG, Y.J.; WANG, H.Y.; LIU, D.Q. Expression and analysis of β-1,3-glucanase gene in wheat TcLr35 induced by wheat leaf rust pathogen and signal molecule. **Scientia Agricultura Sinica**, v.47, n.14, p.2774-2783, 2014.
- LINTHORST, H.J.M.; VAN LOON, L.C. Pathogenesis related proteins of plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.10, n.2, p.123-150, 1991.
- LIU, C.; CAI, L.; HAN, X.; YING, T. Temporary effect of postharvest UV-C irradiation on gene expression profile in tomato fruit. **Gene**, v.486, n.1, p.56-64, 2011.
- LUDWIG, A.; BOLLER, T. A method for the study of fungal growth inhibition by plant proteins. **FEMS Microbiology Letters**, v.69, n.1-2, p.61-66, 1990.
- MADHUPANI, Y.D.S.; ADIKARAM, N.K.B. Delayed incidence of stem-end rot and enhanced defences in

- Aureobasidium pullulans*-treated avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.124, n.3, p.227-234, 2017.
- MAHESH, H.M.; MURALI, M.; ANUP, C.P.M.; MELVIN, P.; SHARADA, M.S. Salicylic acid seed priming instigates defense mechanism by inducing PR-proteins in *Solanum melongena* L. upon infection with *Verticillium dahliae* Kleb. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.117, n.10, p.12-23, 2017.
- MAO, B.; LIU, X.; HU, D.; LI, D. Co-expression of RCH10 and AGLU1 confers rice resistance to fungal sheath blight *Rhizoctonia solani* and blast *Magnaporthe oryzae* and reveals impact on seed germination. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.30, n.4, p.1229-1238, 2014.
- MAUCH, F.; MAUCH-MANI, B.; BOLLER, T. Antifungal hydrolases in pea tissue II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and β-1.3-glucanase. **Plant Physiology**, v.88, n.3, p.936-942, 1988.
- MINIC, Z. Physiological roles of plant glycoside hydrolases. **Planta**, v.227, n.4, p.723-740, 2008.
- MORAVČÍKOVÁ, J.; MATUŠÍKOVÁ, J.; LIBANTOVÁ, J.; BAUER, M.; MLYNÁROVÁ, L. Expression of a cucumber class III chitinase and *Nicotiana plumbaginifolia* class I glucanase genes in transgenic potato plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.79, n.2, p.161-168, 2004.
- MORAVČÍKOVÁ, J.; MARGETINYOVÁ, D.; GÁLOVÁ, Z.; ŽUR, I.; GREGOROVÁ, Z.; ZIMOVÁ, M.; BOSZORÁDOVÁ, E.; MATUŠÍKOVÁ, I. Beta-1.3-Glucanase activities in wheat and relative species. **Nova Biotechnologica et Chimica**, v.15, n.2, p.122-132, 2016.
- MOROHASHI, Y.; MATSUSHIMA, H. Development of β-1.3 glucanase activity in germinated tomato seeds. **Journal of Experimental Botany**, v.51, n.349, p.1381-1387, 2000.
- MURALI, M.; SUDISHA, J.; AMRUTHESH, K.N.; ITO, S.I.; SHETTY, H.S. Rhizosphere fungus *Penicillium chrysogenum* promotes growth and induces defence related genes and downy mildew disease resistance in pearl millet. **Plant Biology**, v.15, n.1, p.111-118, 2013.
- NAYYAR, S.; SHARMA, B.K.; KAUR, A.; KALIA, A.; SANGHERA, G.S.; THIND, K.S.; YADAV, I.S.; SANDHU, J.S. Red rot resistant transgenic sugarcane developed through expression of β-1.3-glucanase gene. **PLoS One**, v.12, n.6, p.e0179723, 2017.
- NEUHAUS, J.M.; AHL-GOY, P.; HINZ, U.; FLORES, S.; MEINS Jr., F. High-level expression of a tobacco chitinase gene in *Nicotiana glauca*. Susceptibility of transgenic plants to *Cercospora nicotianae* infection. **Plant Molecular Biology**, v.16, n.1, p.141-151, 1991.
- NOOKARAJU, A.; AGRAWAL, D.C. Enhanced tolerance of transgenic grapevines expressing chitinase and β-1.3-glucanase genes to downy mildew. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.111, n.1, p.15-28, 2012.
- OKINAKA, Y.; MIMORI, K.; TAKEO, K.; KITAMURA, S.; TAKEUCHI, Y.; YAMAOKA, N.; YOSHIKAWA, M. A structural model for the mechanisms of elicitor release from fungal cell walls by plant [beta]-1.3-endoglucanase. **Plant Physiology**, v.109, n.3, p.839-845, 1995.
- ORI, N.; SESSA, G.; LOTAN, T.; HIMMELHOCH, S.; FLUHR, R. A major stelar matrix polypeptide (sp41) is a member of the pathogenesis-related proteins superclass. **The EMBO Journal**, v.9, n.11, p.3429-3436, 1990.
- PARENT, J.G.; ASSELIN, A. Detection of pathogenesis-related proteins (PR or b) and of other proteins in the intercellular fluid of hypersensitive plants infected with tobacco mosaic virus. **Canadian Journal of Botany**, v.62, n.3, p.564-569, 1984.
- PAXTON, J.D.; GROTH, J.; GRAHAM, T. Constraints on pathogens attacking plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.13, n.1, p.77-95, 1994.
- PIRŠELOVÁ, B.; KUNA, R.; LIBANTOVÁ, J.; MORAVČÍKOVÁ, J.; MATUŠÍKOVÁ, I. Biochemical and physiological comparison of heavy metal-triggered defense responses in the monocot maize and dicot soybean roots. **Molecular Biology Reports**, v.38, n.5, p.3437-3446, 2011.
- PITSON, S.M.; SEVIOUR, R.J.; MCDUGALL, B.M. Noncellulolytic fungal β-glucanases: their physiology and regulation. **Enzyme and Microbial Technology**, v.15, n.3, p.178-192, 1993.
- RAMKISSOON, A.; RAMSUBHAG, A.; JAYARAMAN, J. Phytoelicitor activity of three Caribbean seaweed species on suppression of pathogenic infections in tomato plants. **Journal of Applied Phycology**, v.29, n.6, p.3235-3244, 2017.
- ROMERO, G.O.; SIMMONS, C.; YANESHITA, M.; MINHTAM, D.; THOMAS, B.R.; RODRIGUEZ, R.L. Characterization of rice endo-β-glucanase genes (Gns2-Gns14) defines a new subgroup within the gene family. **Gene**, v.223, n.1, p.311-320, 1998.
- ROMERO, I.; CABALLERO, C.F.; GOÑI, O.; ESCRIBANO, M.I.; MERODIO, C.; BALLESTRA, M.T.S. Functionality of a class I beta-1.3-glucanase from skin of table grapes berries. **Plant Science**, v.174, n.6, p.641-648, 2008.
- ROSE, J.K.C.; HAM, K.S.; DARVILL, A.G.; ALBERSHEIM, P. Molecular cloning and characterization of glucanase inhibitor proteins coevolution of a counter defense mechanism by plant pathogens. **The Plant Cell**, v.14, n.6, p.1329-1345, 2002.
- RUAN, Y.L.; XU, S.M.; WHITE, R.; FURBANK, R.T. Genotypic and developmental evidence for the role of plasmodesmatal regulation in cotton fiber elongation mediated by callose turnover. **Plant Physiology**, v.136, n.4, p.4104-4113, 2004.
- SAAVEDRA, G.M.; SANFUENTES, E.; FIGUEROA, P.M.; FIGUEROA, C.R. Independent preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan elicit differential up regulation of defense-related genes with reduced incidence of gray mold decay during postharvest storage of *Fragaria chiloensis* fruit. **International Journal of Molecular Sciences**, v.18, n.7, p.1-17, 2017.
- SATHIYABAMA M.; BALASUBRAMANIAN, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis*

- hypogaea* leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**, Oxford, v.17, n.4, p.307-313, 1998.
- SCHWEIZER, P.; KMECL, A.; CARPITA, N.; DUDLER, R. A soluble carbohydrate elicitor from *Blumeria graminis* f. sp. *Tritici* is recognized by a broad range of cereals. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.56, n.1, p.157-167, 2000.
- SELA-BUURLAGE, M.B.; PONSTEIN, A.S.; BRES-VLOEMANS, S.A.; MELCHERS, L.S.; VAN DEN ELZEN, P.; CORNELISSEN, B. Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinases and [beta]-1.3-glucanases exhibit antifungal activity. **Plant Physiology**, v.101, n.3, p.857-863, 1993.
- SHARP, J.K.; VALENT, B.; ALBERSHEIM, P. Purification and partial characterization of a beta-glucan fragment that elicits phytoalexin accumulation in soybean. **Journal of Biological Chemistry**, v.259, n.18, p.11312-11320, 1984.
- STEINDORFF, A.S.; SILVA, R.N.; COELHO, A.S.G.; NAGATA, T.; NORONHA, E.F.; UHLOA, C.J. *Trichoderma harzianum* expressed sequence tags for identification of genes with putative roles in mycoparasitism against *Fusarium solani*. **Biological Control**, v.61, n.2, p.134-140, 2012.
- STEVENS, C.; LIU, J.; KHAN, V.A.; LU, J.Y.; WILSON, C.L.; IGWEGBE, E.C.K.; KABWE, M.K.; CHALUTZ, E.; DROBY, S. Application of hormetic UV- C for delayed ripening and reduction of *Rhizopus* soft rot in tomatoes: the effect of tomatine on storage rot development. **Journal of Phytopathology**, v.146, n.5-6, p.211-221, 1998.
- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.35, n.1, p.235-270, 1997.
- STINTZI, A.; HEITZ, T.; PRASAD, V.; WIEDEMANN-MERDINOGLU, S.; KAUFFMANN, S.; GEOFFROY, P.; LEGRAND, M.; FRITIG, B. Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. **Biochimie**, v.75, n.8, p.687-706, 1993.
- STOTZ, H.U.; GBISHOP, J.; BERGMANN, C.; KOCH, M.; ALBERSHEIM, P.; GDARVILL, A.; MLABAVITCH, J. Identification of target amino acids that affect interactions of fungal polygalacturonases and their plant inhibitors. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.56, n.3, p.117-130, 2000.
- SUNDARESH, S.; KUMAR, A.M.; ROHINI, S.; MATH, S.A.; KESHAMMA, E.; CHANDRASHEKAR, S.C.; UDAYAKUMAR, M. Enhanced protection against two major fungal pathogens of groundnut, *Cercospora arachidicola* and *Aspergillus flavus* in transgenic groundnut over-expressing a tobacco β-1-3 glucanase. **European Journal of Plant Pathology**, v.126, n.4, p.497-508, 2010.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre, Artmed. 6ª ed., 2017. 918p.
- TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, v.32, n.1, p.1-13, 2004.
- THOMMA, B.P.H.J.; EGGERMONT, K.; PENNINGCKX, I.A.M.A.; MANI, B.M.; VOGELSANG, 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. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.95, n.25, p.15107-15111, 1998.
- TSUCHIYA, T.; TORIYAMA, K.; YOSHIKAWA, M.; EJIRI, S.; HINATA, K. Tapetum-specific expression of the gene for an endo-β-1.3-glucanase causes male sterility in transgenic tobacco. **Plant and Cell Physiology**, v.36, n.3, p.487-494, 1995.
- UKNES, S.; MANI, B.M.; MOYER, M.; POTTER, S.; WILLIAMS, S.; DINCHER, S.; CHANDLER, D.; SLUSARENKO, A.; WARD, E.; RYALS, J. Acquired resistance in *Arabidopsis*. **The Plant Cell Online**, v.4, n.6, p.645-656, 1992.
- VAN LOON, L.C. Specific soluble leaf proteins in virus-infected tobacco plants are not normal constituents. **Journal of General Virology**, v.30, n.3, p.375-379, 1976.
- VAN LOON, L.C.; PIERPOINT, W.S.; BOLLER, T.; CONEJERO, V. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.12, n.3, p.245-264, 1994.
- VAN LOON, L.C. Pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology**, v.4, n.1, p.453-483, 1998.
- VAN LOON, L.C.; REP, M.; PIETERSE, C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review Phytopathology**, v.44, n.1, p.135-162, 2006.
- VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.55, n.1, p.85-97, 1999.
- WAGIH, E.E.; COUTTS, R.H.A. Similarities in the soluble protein profiles of leaf tissue following either a hypersensitive reaction to virus infection or plasmolysis. **Plant Science Letters**, v.21, n.1, p.61-69, 1981.
- WALTON, J.D. Deconstructing the cell wall. **Plant Physiology**, v.104, n.4, p.1113-1118, 1994.
- WARD, E.R.; UKNES, S.J.; WILLIAMS, S.C.; DINCHER, S.S.; WIEDERHOLD, D.L.; ALEXANDER, D.C.; AHL GOY, P.; METRAUX, J.P.; RYALS, J.A. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. **Plant Cell**, Rockville, v.3, n.10, p.1085-1094, 1991.
- XING, S.; SUN, J.; PENG, Z.; FU, Y.; ZHAO, L.; XU, Z.; YU, X. Expression vector construction and genetic transformation of *Rosa rugosa* β-1.3-Glucanase gene (RrGlu). **American Journal of Plant Sciences**, v.8, n.3, p.495-501, 2017.
- YAMAGUCHI, T.; YAMADA, A.; HONG, N.; OGAWA, T.; ISHII, T.; SHIBUYA, N. Differences in the recognition of glucan elicitor signals between rice and soybean: β-glucan fragments from the rice blast disease fungus *Pyricularia oryzae* that elicit phytoalexin biosynthesis in

β -1,3 glucanases: uma revisão...

BERTOLDO, E.; MAZARO, S. M. (2018)

suspension-cultured rice cells. **The Plant Cell**, v.12, n.5, p.817-826, 2000.

YINXIU, H.; WEIMIN, Z.; SHIRONG, G. Effects of riboflavin and TYLCV inoculation on the activities of chitinase and β -1.3-glucanase in tomato. **Journal of Nanjing Agricultural University**, v.35, n.1, p.135-139, 2012.

ZAVALIEV, R.; UEKI, S.; EPEL, B.L.; CITOVSKY, V. Biology of callose (β -1.3-glucan) turnover at plasmodesmata. **Protoplasma**, v.248, n.1, p.117-130, 2011.

ZHANG, Y.; SHI, X.; LI, B.; ZHANG, Q.; LIANG, W.; WANG, C. Salicylic acid confers enhanced resistance to *Glomerella* leaf spot in apple. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.106, n.1, p.64-72, 2016.