



REVISÃO

O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas

Marcio dos Santos Teixeira Pinto^{1*}, Juliana Martins Ribeiro² e Eduardo Alves Gamosa de Oliveira³

Recebido: 29 de setembro de 2010 Recebido após revisão: 20 de janeiro de 2011 Aceito: 05 de fevereiro de 2011

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1732>

RESUMO: (O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas). O estudo do processo pelo qual plantas conseguem sobreviver e se adaptarem às mudanças ambientais é algo que tem importância em diversas áreas do conhecimento científico. Organismos vegetais conseguem sobreviver ao ataque de seus predadores não somente por meio de seus componentes moleculares constitutivos, novas moléculas podem aparecer ou aumentar na composição de organismos vegetais sob predação. Proteínas de defesa são componentes moleculares relacionados com este tipo de estresse, sendo expressas a partir de um grupo específico de genes relacionados. Os processos de expressão de proteínas de defesa em resposta à herbivoria e ação de patógenos são bem conhecidos, porém, muitas etapas das vias ainda não foram totalmente elucidadas. Da mesma forma, são necessários mais estudos sobre a ação protetora de muitas proteínas relacionadas com defesa vegetal, mesmo sendo este tipo de pesquisa imensamente favorecida com o advento do uso de plantas geneticamente modificadas, expressando tais proteínas. Esta revisão é uma breve introdução ao conhecimento sobre proteínas de defesa vegetal e seus respectivos genes. Exemplos mais comuns e detalhes dos processos de indução destas proteínas foram considerados.

Palavras-chave: defesa vegetal, genes de defesa, respostas à herbivoria, proteínas de defesa, plantas transgênicas.

ABSTRACT: (The study of plant defense genes and proteins). The study of the process by which plants can survive and adapt to environmental changes has great importance in several areas of scientific knowledge. Plants can survive against the attack of predators, not only due its constitution molecular components. New molecules can appear or increase in composition from plants under predation. Defense proteins are molecular components associated with this type of stress, and are related to specific group of genes. Nowadays, many is known about the processes of expression of defense proteins in response to herbivory and the action of pathogens, but many steps of this pathway still need to be understood. Likewise, the protective action of many proteins related to plant defense needs further studies, although this type of research was hugely helped by the advent of genetically modified plants expressing these proteins. This review is a brief introduction to the knowledge of plant defense proteins and their genes. More common examples and details about the induction of these ones are regarded.

Key words: Plant defense, defense genes, response to herbivory, defense proteins, transgenic plants.

INTRODUÇÃO

Nas plantas, ocorreu o desenvolvimento de inúmeros mecanismos de respostas de defesa, específicos contra as várias formas de estresses. Isso possibilitou a existência de características que permitem a sobrevivência das atuais espécies, em função da incapacidade de locomoção desses organismos. Nesse sentido, os vegetais conseguem alterar o plano de desenvolvimento e contornar situações desfavoráveis, como os ataques de pragas ou patógenos, bem como fatores abióticos desfavoráveis (Agrios 1997).

A sobrevivência das plantas depende, portanto, da habilidade de adaptação ao estresse, que atua como pressão seletiva. A adaptação e a resistência traduzem-se por alterações no metabolismo da célula vegetal, entre elas a síntese de proteínas de defesa, expressas por genes específicos. Tais proteínas exercem vários papéis na resistência e sobrevivência da planta, podendo agir de forma direta, combatendo o agente agressor, ou de forma indireta, mantendo a estrutura e as funções celulares (Mysore & Ryu 2004, Jones & Dangl 2006).

De maneira geral, os mecanismos de resistência são

ativados perto da área infectada de modo a prevenir a difusão do patógeno ou deter a contínua predação por insetos. A velocidade com que a planta reconhece a presença do agressor determina o tempo de resposta à invasão, desencadeando uma ou mais reações de defesa (Ryan 2000).

De forma sucinta, quando a planta percebe a presença do agente agressor, ela transmite sinais que ativam seus mecanismos de defesa. A percepção se dá quando moléculas indutoras das respostas ligam-se às moléculas receptoras. Essas podem estar situadas nas membranas das células vegetais, como por exemplo, o hormônio conhecido como sistemina, descoberto em tomate (Pearce *et al.* 1992), ou no núcleo celular, no caso de ácidos jasmônico e metil-jasmonato, hormônios vegetais cuja estrutura molecular é semelhante a das prostaglandinas em animais (Mueller 1998). As moléculas indutoras de defesa podem apresentar duas origens, endógenas e exógenas. No primeiro caso, são incluídos os fragmentos da própria planta, como no caso de oligossacarídeos da parede celular liberados pela ação de enzimas originárias de infecção fúngica ou da saliva de insetos mastigadores.

1. Pesquisador Bolsista DCR FACEPE/ CNPq, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Embrapa Semiárido. Petrolina, PE, Brasil.

2. Pesquisadora Biotecnologia Vegetal, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Embrapa Semiárido. Petrolina, PE, Brasil.

3. Bolsista BFT FACEPE, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Embrapa Semiárido. Petrolina, PE, Brasil.

*Autor para contato. E-mail: marciostp@yahoo.com.br

O segundo caso é representado pelos fragmentos oriundos de patógenos ou pragas invasoras, inoculados na planta durante a invasão. Estes dois tipos de indutores podem atuar paralelamente. Uma vez ligados aos receptores presentes em células vegetais, acionam cascatas de sinalização que ativam genes relacionados com a defesa vegetal (De Wit *et al.* 2007).

Esta revisão tem como objetivo fornecer uma breve introdução ao conhecimento dos processos de defesa vegetal, associados à indução de proteínas de defesa contra pragas e patógenos, bem como ao histórico desta área e a importância da identificação e produção de plantas resistentes a pragas e doenças.

INDUÇÃO DE PROTEÍNAS DE DEFESA EM PLANTAS

O estudo da indução de genes de defesa em organismos vegetais é algo que vem sendo feito há quase quatro décadas (Green & Ryan, 1972) e, ainda hoje, existem pontos não esclarecidos a respeito deste processo. Na última década, alguns trabalhos foram realizados neste sentido, levando à reavaliação de muitos paradigmas. O ácido jasmônico (AJ), por exemplo, aceito como tendo um papel secundário relacionado no processo de sinalização de defesa vegetal, passou a ser considerado como o protagonista na indução local e sistêmica de genes de defesa de plantas (Stratmann 2003). É sabido que diversas vias de sinalização estão interligadas e interagem com a formação do ácido jasmônico. Também foi constatado que o nível de complexidade dos eventos relacionados com defesa vegetal é muito maior que os observados na década passada, contudo, as vias de sinalização em plantas parecem ser interdependentes. Mesmo com o avanço alcançado do estudo da ação do ácido jasmônico, a forma com que este hormônio é translocado pelo corpo vegetal a grandes distâncias, bem como algumas informações a respeito de sua ação, tem particularidades ainda não esclarecidas. Por exemplo: Em que nível a translocação de AJ pelo floema age nos tecidos distantes do local do ferimento? Em plantas de tomate, a concentração deste hormônio no mesófilo de folhas distantes do local ferido é muito menor que a encontrada no local da lesão. Baseando-se nesta informação, algumas questões ainda podem ser levantadas: Até que ponto a síntese de AJ em células do sistema condutor pode afetar a resposta de defesa sistêmica? Algum outro hormônio age conjuntamente com ácido jasmônico nesta resposta? Para responder parte dessas questões, vale a pena recordarmos que foi constatada a presença de muitos hormônios e moléculas sinalizadoras interferindo na síntese de AJ em tecidos lesionados (Wasternack *et al.* 2006).

GENES DE DEFESA EM PLANTAS

O processo de resistência de algumas plantas a patógenos específicos envolve uma rede intrínseca de sinais,

cujos componentes ainda são alvos de estudos. Dentre os mecanismos de defesa das plantas contra a infecção por patógenos, aqueles mediados pelos genes *R* são os melhores caracterizados (Elvira *et al.* 2008).

Os genes *R* são altamente polimórficos e possuem diversas especificidades de reconhecimento. Geralmente, ocorrem como parte de uma família de genes em “clusters” que evoluíram por duplicação e recombinação (Ronald 1998). Acredita-se que *Arabidopsis thaliana* possua aproximadamente 150 genes tipo *R* com sítios de ligação de nucleotídeos (SLN) e repetições ricas em leucina (RRL) centrais (Holt III *et al.* 2003).

Cada gene *R* confere resistência a um patógeno específico. Primeiramente acreditava-se que a forma de atuação deste mecanismo de defesa acontecia gene-a-gene (Flor 1971). A expressão de resistência seria governada pelos genes *R* no hospedeiro e pelos genes de avirulência (*Avr*) no patógeno, iniciando quando a interação entre ambos os genes era incompatível (Flor 1971, Hammond-Kosack & Jones 1996). O processo é iniciado quando uma planta, contendo em seu genoma o gene dominante de resistência *R*, reconhece um patógeno com o gene dominante de avirulência *Avr* correspondente ao seu gene *R*, havendo uma reação compatível entre eles. Não havendo compatibilidade entre os genes *R* da planta e os *Avr* no patógeno, não há reconhecimento nem resistência e a doença se instala.

Acreditava-se que o gene *R* codificaria o receptor, que por sua vez reconheceria a molécula indutora, gerada direta ou indiretamente pela ação do gene *Avr*, ativando os mecanismos de defesa. Uma vez ativados, os genes *R* seriam responsáveis por uma resposta rápida e forte no sítio de infecção, resposta esta conhecida como reação de hipersensibilidade (RH) (Flor 1971).

Algumas evidências sugerem outra hipótese para a ação dos genes de defesa vegetal, a hipótese guarda (Holt III *et al.* 2003). Segundo esta hipótese, a proteína *R* interage, ou “guarda”, uma segunda proteína denominada “guarda”, a qual é alvo da proteína *Avr*. Quando é detectada uma interferência na proteína “guarda” (uma interação propriamente dita), a resistência mediada por genes *R* é ativada (Marathe & Dinesh-Kumar, 2003).

Em *Arabidopsis thaliana*, por exemplo, a proteína RPM1 (derivada de um gene *R*) não interage diretamente com a sua proteína *Avr* correspondente (*avrRPM1*). Neste caso, ocorre a indução da proteína RIM4 (RPM interador 4), a qual interage com *avrRPM1*. Esta interação sinaliza para RPM1 que por sua vez desencadeia uma resposta de hipersensibilidade (RH) (Mackey *et al.* 2002). O gene *Cf2* de tomate que condiciona resistência ao fungo *Cladosporium fulvum* (que expressa *Avr2*) também necessita da expressão de um segundo gene (proteína RCR3) (Krüger *et al.* 2002), o que corrobora para a validade desta hipótese.

O desencadeamento das vias de defesa por genes *R* gera fluxo de íons celulares massivos, uma “rajada oxidativa”, levando ao acúmulo de superóxidos e peróxido de

hidrogênio, óxido nítrico, resposta de hipersensibilidade (RH) e a produção de metabólitos antimicrobianos (Dangl & Jones, 2001).

A reação de hipersensibilidade resulta na indução da morte celular programada (MCP) no sítio de infecção, na ativação de diferentes sinais, os quais resultam na expressão de uma variedade de genes de defesa, no aparecimento de lesões necróticas no local da infecção e, consequentemente, no impedimento do desenvolvimento da infecção pelo patógeno. Os aspectos fisiológicos da HR incluem o aumento rápido e transitório de agentes oxidantes, a perda de íons potássio (K⁺) e ganho de íons hidrogênio (H⁺) pelas células, a destruição de compartimentos e o espessamento das paredes celulares e da cutícula, além da síntese de toxinas (fitoalexinas) e proteínas relacionadas à defesa, denominadas proteínas RP (Linhorst 1991, Nimchuk *et al.* 2003).

Outra característica importante dos sistemas de defesa baseado em genes *R* é a função crucial que o gene *SGT1* realiza. Sua função molecular ainda é imprecisa, entretanto, a análise de sequência e predições da estrutura revelam que a proteína SGT1 possui características de co-chaperonas que a associam com a Hsp90 de animais (Muskett & Parker 2003, Holt III *et al.* 2003), criando um paralelo entre o sistema de defesa de plantas e o sistema imunológico de animais. Adicionalmente, proteínas *R* compartilham um repertório limitado de motivos com proteínas animais que controlam a imunidade inata (Staskwicz *et al.* 2001).

Genes *R* de diferentes espécies de plantas já foram isolados, como, por exemplo, o gene *Hs1* pro-1 de beterraba (Cai *et al.* 1997), *Cre3* de trigo (Lagudah *et al.* 1997), *Gpa2* e *Gro1* de batata (Van der Vossen *et al.* 2000, Paal *et al.* 2004), *Hero* e *Mi-1* de tomate (Milligan *et al.* 1998, Ernst *et al.* 2002). A utilização de cultivares resistentes, possuidores do gene *Mi-1*, pode ser considerada uma estratégia eficiente para o manejo de nematóides em tomateiros. Cultivares resistentes apresentam a mesma produtividade em solos infestados (Roberts & May, 1986).

ALGUMAS PROTEÍNAS DE DEFESA VEGETAL

Plantas submetidas a estresses bióticos ou abióticos sofrem alterações em seu padrão de expressão de proteínas, podendo ocorrer tanto inibição quanto indução da síntese de determinados constituintes proteicos (Ryan 2000).

Dentre as proteínas de defesa presentes em plantas, destacam-se as lectinas, inibidores de proteases serínicas e cisteínicas (Pernas *et al.* 2000, Siqueira-Júnior *et al.* 2002), polifenoloxidasas (PFO) (Constabel & Ryan, 1998), peroxidases (POX), fenilalanina-amônia-liase (FAL) e as proteínas relacionadas à patogênese (RP) (Linhorst 1991, De Wit *et al.* 2007), sendo estas melhor descritas quanto a suas propriedades de defesa vegetal (Chen 2008).

INIBIDORES DE PROTEINASES SERÍNICAS

Inibidores de proteínases serínicas são proteínas de defesa há muito tempo estudadas. Este grupo representa o mais estudado entre todos os outros inibidores de proteases conhecidos e se divide em dois grandes sub-grupos, sendo eles: inibidores do tipo Kunitz e do tipo Bowman-Birk. Ambos são compostos por pequenos peptídeos do tipo “dupla cabeça” com aproximadamente 8 kDa, comumente encontrados em sementes de leguminosas (Bode & Huber 1992). Os primeiros dados referentes às proteínases serínicas foram descobertos por Mickel & Standish (1947), os quais observaram que larvas de alguns insetos não eram capazes de se desenvolver em produtos derivados de soja. Posteriormente, essas proteínas de defesa também foram referência inicial nos estudos de indução de defesa vegetal por ferimentos (Green & Ryan 1972), inclusive a maior parte do conhecimento adquirido sobre a indução de proteínas de defesa em plantas (Ryan 2000).

Além de inativadores de enzimas proteolíticas, os inibidores de proteínases também podem ativar mecanismos de “feedback”, causando superexpressão de proteases digestivas e perda de apetite em insetos herbívoros (Ryan 1990), fato que desfavoreceu o uso destas proteínas para a produção de plantas resistentes a pragas.

PROTEÍNAS RP

Das alterações decorrentes da interação planta-patógeno, a síntese de proteínas relacionadas à patogênese (RP) é uma das mais evidentes (Linhorst 1991, Hull 2002, Kang *et al.* 2005, Soosaar *et al.* 2005). Identificadas pela primeira vez em folhas de tabaco com reação hipersensível à infecção pelo vírus do mosaico do tabaco (VMT), tais proteínas foram posteriormente descritas em outros vegetais, podendo ser induzidas por vários patógenos (Joosten & De Wit 1989, Linhorst, 1991).

As proteínas RP são classificadas em cinco grupos, caracterizadas pela solubilidade em meio ácido, baixo peso molecular e resistência às proteases (Linhorst 1991). A expressão ocorre concomitante à indução da resposta de hipersensibilidade (RH) e, uma vez expressas, tais proteínas reconhecem moléculas patogênicas efetoras ou aquelas resultantes da sua atividade patogênica (Linhorst 1991, Jones & Dangl 2006).

A maioria das proteínas dessa classe possui um domínio central composto por um sítio de ligação ao nucleotídeo (SLN), seguido de região rica em leucina (RRL) na extremidade carboxi-terminal (Chen *et al.* 2007). A expressão desta classe de proteínas sinaliza para a ativação de uma cascata de eventos que resulta na reação de hipersensibilidade (Nimchuk *et al.* 2003). Entretanto, a ativação das proteínas RP não é um evento exclusivo da reação de hipersensibilidade, podendo ocorrer também em interações compatíveis entre hospedeiro e patógeno (Van Loon 1985, Bol *et al.* 1990, Linhorst 1991, Jakobek

& Lindgren, 1993).

Além de promover a reação de hipersensibilidade, o acúmulo de proteínas RP no sítio de infecção está geralmente associado com a obtenção de resistência sistêmica adquirida (RSA- Resistência Sistêmica Adquirida) contra uma gama de patógenos (Ward *et al.* 1991; Ryals *et al.* 1996, Durrant & Dong 2004). A resistência sistêmica adquirida, conhecida como RSA, protege a planta, juntamente com a resistência local, contra novos ataques de um mesmo patógeno. Após uma primeira infecção, a RSA torna a planta resistente por várias semanas a infecções posteriores. A proteção é eficaz contra uma gama de patógenos e varia de acordo com a espécie vegetal (Linhorst 1991).

FENILALANINA-AMÔNIA-LIASE (FAL)

A enzima fenilalanina-amônia-liase (FAL) tem como substrato o aminoácido fenilalanina. Esta é uma enzima chave para todas as vias de síntese de compostos fenólicos, os quais estão envolvidos com resistência a pragas e patógenos. Esta enzima é a responsável pela primeira de uma série de reações metabólicas, que gera inúmeros produtos naturais baseados em fenilpropanos, incluindo a lignina, certos pigmentos e protetores contra luz ultravioleta. A produção de tal enzima é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida em células vizinhas ao local de infecção por vários estímulos ambientais, como infecção, ferimentos, contaminação por metais pesados, luz e reguladores de crescimento (Rahman & Punja 2005).

POLIFENOLOXIDASES E PEROXIDASES

Polifenoloxidasas (PFOs) são enzimas que catalisam a oxidação dependente de oxigênio de monofenóis (ex. tirosinases) ou orto-difenóis (ex. catecolases, lacases) a orto-diquinonas (Steffens *et al.* 1994). Vários genes de PFOs de plantas codificam proteínas maduras entre 52-65 kDa, e um peptídeo de endereçamento de 8 a 12 kDa, os quais são responsáveis pelo transporte da enzima para dentro do lúmen dos tilacóides de cloroplastos (Demeke & Morris, 2002). Embora PFOs já tenham sido encontradas em plantas há mais de um século (Bertrand 1896), o conhecimento completo sobre seu papel nestes organismos ainda não foi alcançado. Funções distintas foram atribuídas a PFOs, tais como: pigmentação e enegrecimento do tecido vegetal (Boonsiri *et al.* 2007, Valentines *et al.* 2005); ação na reação de Mehler, na regulação do consumo de oxigênio durante a foto-respiração (Thipyapong *et al.* 2004) e proteção de plantas contra pragas e patógenos (Constabel & Ryan 1998). Este amplo espectro de idéias sobre os papéis de PFOs reflete o parcial entendimento das funções destas em plantas (Mayer 2006) No entanto, será aqui focado o papel de defesa vegetal apresentado por esta enzima.

Peroxidasas são enzimas que agem de forma parecida com polifenoloxidasas, mas possuem como substrato

principal o peróxido de hidrogênio, além de outra molécula doadora de elétrons, como o fenol ou outros compostos orgânicos (Takahama & Oniki 2000). Peroxidasas podem atuar tanto diretamente na defesa de plantas a patógenos, quanto nas vias de sinalização relacionadas a diversos processos fisiológicos em plantas, inclusive resposta à defesa.

As polifenoloxidasas, bem como muitas peroxidases, têm concentrações elevadas em tecidos infectados e têm grande importância nos mecanismos de defesa das plantas (Agrios 1997). Tais enzimas promovem a degradação oxidativa de compostos fenólicos próximos ao local da lesão provocada pelo patógeno, resultando no aparecimento de substâncias escuras provenientes da polimerização oxidativa das quinonas (Macheix *et al.* 1986, Bindschedler *et al.* 2002).

Li & Steffens (2002) transformaram geneticamente plantas de tomate com o gene codificador de uma polifenoloxidase de batata. As plantas transgênicas, expressando a PFO de batata, passaram a apresentar resistência a *Pseudomonas syringae*, desenvolvendo 15 vezes menos lesões em relação às plantas controle e uma redução de 100 vezes no desenvolvimento das bactérias nas folhas das plantas infestadas. Diferentes autores mostraram vários aspectos das PFOs. Campos *et al.* (2004) constataram haver uma correlação positiva entre as atividades da peroxidase e da polifenoloxidase, os teores de compostos fenólicos e a resistência à antracnose em plantas de feijão. Atividades das polifenoloxidasas, juntamente com outros compostos fenólicos presentes na planta, foram relacionadas com a resistência ao bicho mineiro e a ferrugem nas plantas de café (Melo *et al.* 2006).

Em outro estudo, Rahman & Punja (2005), detectaram um aumento da atividade de PFO, juntamente com a atividade de fenilalanina amônia-liase FAL e peroxidase em *callus* de Gingseng, quando inoculados com composto aliciador originário de fungo (chitosan), ou com ferimento. Taxas aumentadas na atividade de polifenoloxidase, também foram associadas à proteção de plantas de banana contra a ação de patógenos incluindo o nematóide *Radopholus similis* (Wuyts *et al.* 2006), e em plantas de feijão-de-corda, quando tratadas com ferimento mecânico, simulando a ação de um inseto (Pinto *et al.* 2008).

INIBIDORES DE PROTEINASES CISTEÍNICAS – CISTATINAS

As cistatinas são inibidores competitivos e reversíveis de proteinases cisteínicas, compondo uma superfamília de proteínas evolutivamente relacionadas. Esta superfamília está dividida em três famílias em animais e uma em plantas: a primeira, das estefinas, é composta de proteínas destituídas de pontes de enxofre; a segunda, das cistatinas, agrupa proteínas que possuem pontes de sulfeto; a terceira família, dos kininogênios, é composta de glicoproteínas de alto peso molecular com três domínios repetidos, similares aos da família das cistatinas (Barrett *et al.* 1987, Margis *et al.* 1998, Reis & Margis

2001, Margis-Pinheiro *et al.* 2008).

As cistatinas de todos os grupos possuem um resíduo de glicina na porção N-terminal, um motivo constituído da sequência QxVxG, que interage diretamente com o sítio catalítico da enzima, e um resíduo de triptofano na porção carboxi-terminal. Porém, todas as fitocistatinas diferem das demais por uma sequência específica de cistatinas de plantas (LVI)-[AGT]-[RKE]-[FY]-[AS]-[VI]-x-[EDQV]-[HYFQ]-N, presente na porção amino-terminal e com estrutura em α -hélice prevista (Margis *et al.* 1998).

As fitocistatinas representam a quarta família de cistatinas que são exclusivas de plantas. Elas são proteínas que não possuem pontes de enxofre e contém uma sequência conservada na região N-terminal (Margis *et al.* 1998, Reis & Margis 2001, Margis-Pinheiro *et al.* 2008). O mecanismo pelo qual os inibidores de proteinases cisteínicas interferem no processo digestivo dos insetos se deve à diminuição da assimilação de nutrientes. Quando insetos são submetidos a uma dieta artificial que contenha inibidores específicos para a principal classe de proteinases de seus intestinos, esses têm seu crescimento e desenvolvimento retardados, bem como podem apresentar índices de mortalidade bastante significantes por inanição (Margis *et al.* 1998, Reis & Margis, 2001, Margis-Pinheiro *et al.* 2008).

Cistatinas podem compor um sistema de defesa do organismo contra a invasão por patógenos, inibindo a atividade de suas cisteíno-proteases, combatendo a invasão. Nos insetos, as cistatinas inibem proteases intestinais que, inibindo a clivagem proteolítica, a nutrição, o que resulta em morte do inseto por inanição (Franco *et al.* 1999, Melo *et al.* 2003).

A atividade biopesticida das cistatinas de plantas contra diferentes tipos de insetos já foi comprovada contra pragas do feijão (Melo *et al.* 2003, Amirhusin *et al.* 2004, Aguiar *et al.* 2006), da batata (Cloutier 2000, Brunelle *et al.* 2005), entre outras. A atividade biopesticida das cistatinas contra nematóides foi relatada por alguns autores. Michaud *et al.* (1996) avaliaram o desenvolvimento *in vitro* de larvas de *Meloidogyne hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* na presença de duas classes de cistatinas de arroz (OCI e OCII) e constataram ter havido uma inibição das proteinases do trato gastrointestinal das larvas pelas cistatinas presentes no ensaio. Silva *et al.* (2004) realizaram testes *in vitro* utilizando uma cistatina purificada de *E.coli* recombinante, e observaram uma alta inibição da atividade de proteinases do trato gastrointestinal de fêmeas de *Meloidogyne incognita* na presença da cistatina.

LECTINAS

Lectinas são proteínas capazes de se ligarem aos resíduos de carboidratos de macromoléculas, tais como glicoproteínas e polissacarídeos. Foram primeiramente encontrados em sementes de *Ricinus communis* há mais de um século (Stillmark 1888). No entanto, o papel das lectinas em plantas necessita ser elucidado, embora a

função de lectinas em animais, bactérias e vírus é melhor compreendida (Vijayan & Chandra 1999).

O papel das lectinas de leguminosas é considerado um modelo para eventos de reconhecimento proteína-glicídio. Isto ocorre devido à sua fácil purificação e também a uma ampla especificidade para resíduos de glicídios, mesmo mantendo uma grande conservação de sequência (Lis & Sharon 1990).

Algumas funções das lectinas são bastante conhecidas, como o reconhecimento célula-célula durante a interação entre plantas e bactérias em processos simbióticos de desenvolvimento, a ação como proteína de armazenamento em sementes, no processo de reconhecimento e compatibilidade do pólen durante a fertilização e na defesa de plantas contra patógenos (Chrispeels & Raikhel, 1991). O efeito tóxico das lectinas sobre o desenvolvimento patógenos, como nematóides (Spiegel & McClure, 1995 Gaofu *et al.* 2008), afídeos (Sadeghi *et al.* 2003, Melander *et al.* 2003, Nagadhara *et al.* 2004), bruquídeos (Osborn *et al.* 1988; Murdock *et al.* 1990) e fungos fitopatogênicos (Ribeiro *et al.* 2007) já foi comprovado.

PLANTAS TRANSGÊNICAS RESISTENTES ÀS PRAGAS E DOENÇAS

A transformação genética de vegetais permite a introdução de genes específicos em genomas alvo, e está sendo muito empregada no desenvolvimento de novos cultivares comerciais. Esta tecnologia tem auxiliado nos programas de melhoramento, uma vez que possibilita a transferência de genes entre plantas de espécies não relacionadas, fato que não ocorre por meio de cruzamentos sexuais ou fusão de gametas. Levando-se em consideração a importância desta tecnologia para a produção de plantas com características de interesse agrônomo, vários trabalhos já foram realizados neste sentido.

Entre as abordagens adotadas, a produção de plantas transgênicas resistentes a nematóides apresenta-se como uma linha de pesquisa bem representada. Urwin *et al.* (1997) transformaram geneticamente *Arabidopsis thaliana* com uma cistatina de arroz modificada e constataram que a expressão desta proteína nas plantas transgênicas reduziu o tamanho e a fecundidade das fêmeas de *Heterodera schachtii* e *Meloidogyne incognita*, impedindo que as mesmas atingissem a idade necessária para produção de ovos. Ainda neste sentido, Cowgill *et al.* (2002) transformaram geneticamente plantas de batata com um gene codificador de uma proteína inibidora de proteinase, e observaram que a expressão da cistatina nos tecidos da raiz promoveu uma resistência ao nematóide *Globodera rostochiensis* pelas plantas de batata transgênicas. De mesma forma, Chen *et al.* (2007) isolaram o gene *CaMi* a partir de DNA genômico de pimentão e transformaram geneticamente plantas de tomate com o mesmo. As plantas transgênicas, naturalmente susceptíveis ao nematóide *Meloidogyne incognita*, tornaram-se resistentes ao mesmo após a inserção do transgene em seu DNA genômico.

Outra área relacionada que emprega a tecnologia da transgenia é o desenvolvimento de cultivares resistentes a fungos e vírus. Marchive *et al.* (2007) isolaram o cDNA codificador de um fator de transcrição envolvido no controle da resposta de defesa em videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon), e transformaram geneticamente plantas de tabaco com o mesmo. Os resultados observados evidenciaram uma redução da susceptibilidade das plantas de tabaco a vários tipos de fungo após a inserção do transgene em seu DNA genômico. Ainda neste sentido, Zhang *et al.* (2009) promoveram a super expressão do gene *GmERF3* de soja em plantas de tabaco, e observaram que as plantas transgênicas desenvolveram tolerância aos estresses salino e hídrico, além de se tornarem resistentes à infecção por *Ralstonia solanacearum*, *Alternaria alternata* e ao vírus do mosaico do tabaco (VMT). Da mesma maneira, Kern *et al.* (2009) isolaram o gene *chit1* do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* e o transferiram para o DNA de plantas de tabaco. Após a transformação genética, observou-se que as plantas de tabaco expressando o transgene passaram a apresentar resistência ao patógeno *Rhizoctonia solani*. Kung *et al.* (2009) transformaram geneticamente plantas de papaia (*Carica papaya* cv. Thailand) com o gene codificador de uma proteína do capsídeo do vírus que provoca a distorção das suas folhas. As plantas transgênicas não apresentaram os sintomas da doença um mês após a inoculação com o referido vírus. Kern *et al.* (2010) isolaram o gene *chit1* do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, o transferiram para o DNA de plantas de tabaco e observaram que as plantas de tabaco expressando o transgene passaram a apresentar resistência ao patógeno *Rhizoctonia solani*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas estão expostas frequentemente a estresses bióticos e abióticos que desencadeiam várias respostas, desde alterações na expressão gênica e metabolismo celular até variações na taxa de crescimento e produção de biomassa. Embora nos últimos anos uma grande quantidade de trabalhos tenha desvendado o papel das vias de defesa vegetal em plantas, é cada vez mais evidente que estas se encontram interligadas com outras vias. Ainda faltam dados para o estabelecimento dos paradigmas específicos que relacionem a indução de cada gene com determinada via em particular e, em alguns casos, determinar se uma proteína em particular tem uma função protetora direta contra um elemento agressor, ou está relacionada com outros processos fisiológicos.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. 1997. How plants defend themselves against pathogens. In: AGRIOS, G.N. (Ed.) *Plant pathology*. 4th ed. California: Academic Press. p. 93-114.

AGUIAR, J.M., FRANCO, O.L., RIGDEN, D.J., BLOCH JÚNIOR, C., MONTEIRO, A.C., FLORES, V.M., JACINTO, T., XAVIER FILHO, J.,

OLIVEIRA, A.E., GROSSI-DE-SÁ, M.F., & FERNANDES, K.V. 2006. Molecular modeling and inhibitory activity of cowpea cystatin against bean burchid pests. *Proteins*, 63(3): 662-670.

AMIRHUSIN, B., SHADE, R.E., KOIWA, H., HASEGAWA, P.M., BRESSAN, R.A., MURDOCK, L.L. & ZHU-SALZMAN, K. 2004. Soy cystatin N inhibits proteolysis of wheat alpha-amylase inhibitor and potentiates toxicity against cowpea weevil. *Journal of Economic Entomology*, 97(6): 2095-2100.

BODE, W. & HUBER R. 1992. Natural protein proteinase inhibitors and their interaction with proteinases. *European Journal of Biochemistry*, 204: 433-451.

BARRETT, A.J. 1987. The cystatins: A new class of peptidase inhibitors. *Trends in Biochemical Sciences*, 12: 93-96.

BINDSCHEDLER, L.F., BLEE, K.A., BUTT, V.S., DAVIES, D.R., GARDNER, S.L., GERRISH, C. & MINIBAYEVA, F. 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1357-1376.

BOL, J.F., LINTHORST, H.J.M. & CORNELISSEN, B.J.C. 1990. Plant pathogenesis related proteins induced by virus infection. *Annual Review of Phytopathology*, 28: 113-138.

BOONSIRI, K., KETSA, S. & VAN DOORN, W.G. 2007. Seed browning of hot peppers during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 358-365.

BRUNELLE, F., GIRARD, C., CLOUTIER, C. & MICHAUD, D.A. 2005. Hybrid, broad spectrum inhibitor of Colorado potato beetle aspartate and cysteine digestive proteinases. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 60(1): 20-31.

CAI, D.G., KLEINE M., KIFLE S., HARLOFF, H., SANDAL, N.N., MARCKER, K.A., KLEIN-LANKHORST, R.M., SALENTIEN, E.M.J., LANGE, W., STIEKEMA, W.J., WYSS, U., GRUNDLER, F.M.W. & JUNG, C. 1997. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet. *Science*, 275: 832-834.

CAMPOS, A.D., FERREIRA, A.G., HAMPE, M.M.V., ANTUNES, I. F.; BRANÇÃO, N.; SILVEIRA, E.P., OSÓRIO, V.A. & AUGUSTIN, E. 2004. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(7): 637-643.

CHEN M.S. 2008. Inducible direct plant defence against insect herbivores: A review. *Insect Science*, 15: 101-114.

CHEN, R., LI, H., ZHANG, L., ZHANG, J., XIAO, J. & YE, Z. 2007. *CaMi*, a root-knot resistance gene from hot pepper (*Capsicum annuum* L.) confers nematode resistance in tomato. *Plant Cell Report*, 26: 895-905.

CLOUTIER, C., JEAN, C., FOURNIER, M., YELLE, S. & MICHAUD, D. 2000. Adult Colorado potato beetles, *Leptinotarsa decemlineata* compensate for nutritional stress on oryzacystatin I-transgenic potato plants by hypertrophic behavior and over-production of insensitive proteases. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 44(2): 69-81.

CONSTABEL, C.P. & RYAN, C.A. 1998. A survey of wound- and methyl Jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants. *Phytochemistry*, 47: 507-511.

COWGILL, S.E., WRIGHT, C. & ATKINSON, H.J. 2002. Transgenic potatoes with enhanced levels of nematode resistance do not have altered susceptibility to non target aphids. *Molecular Ecology*, 11: 821-827.

CHRISPEELS, M.J. & RAIKHEL, N.V. 1991. Lectins, lectin genes and plant defense. In: *Lectin Reviews*, 1: 183-194.

DANGL, J.L. & JONES, J.D.G. 2001. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. *Nature*, 411: 826-833.

DEMEKE, T. & MORRIS, C.F. 2002. Molecular characterization of wheat polyphenol oxidase (PPO). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 813-818.

DE WIT, P. J. 2007. How plants recognize pathogens and defend themselves. *Cell Molecular Life Science*, 64: 2726-2732.

DURRANT, W. E. & DONG, X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 185-209.

- ELVIRA, M.I., GALDEANO, M.M., GILARDI, P., GARCÍA-A-LUQUE, I. & SERRA, M.T. 2008. Proteomic analysis of pathogenesis-related proteins (PRs) induced by compatible and incompatible interactions of pepper mild mottle virus (PMMoV) in *Capsicum chinense* L3 plants. *Journal of Experimental Botany*, 59(6): 1253-1265.
- ERNST, K., KUMAR, A., KRISELEIT, D., KLOOS, D.U., PHILLIPS, M.S. & GANAL, M.W. 2002. The broad-spectrum potato cyst nematode resistance gene (*Hero*) from tomato is the only member of a large gene family of NBS-LRR genes with an unusual amino acid repeat in the LRR region. *Plant Journal*, 31: 127-136.
- FLOR, H.H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9: 275-296.
- FRANCO, O.C., MELO, F.R., SILVA, M.C.M. & GROSSI DE SÁ, M.F. 1999. Resistência de plantas a insetos: Inibidores de enzimas digestivas e a obtenção de plantas resistentes. *Biotechnology, Ciência e Desenvolvimento*, 2: 36-40.
- GAOFU, Q., MÃO, S., FAYIN, Z., ZNINI, Y. & XIUYUN, Z. 2008. *In vitro* assessment of plant lectins with anti-pinewood nematode activity. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 40-45.
- GREEN, T.R. & RYAN, C.A. 1972. Wound-induced proteinase inhibitors from tomato leaves: a possible defense mechanism against insects. *Science*, 175: 776-777.
- HAMMOND-KOSACK, K. & JONES, J.D.G. 1996. Resistance gene dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, 8: 1773-179.
- HOLT III, F.B., HUBERT, D.A. & DANGL, J.L. 2003. Resistance gene signaling in plants - complex similarities to animal innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 15: 20-25.
- HULL, R. 2002. Matthew's plant virology, 4th ed. *Academic Press*. 1001 p.
- JAKOBEK, J. L. & LINDGREN, P. B. 1993. Generalized induction of defense responses in bean is not correlated with the induction of the hypersensitive reaction. *The Plant Cell*, 5: 49-56.
- JONES, J. D. & DANGL, J. L. 2006. The plant immune system. *Nature*, 444: 323-329.
- JOOSTEN, M.H.A. J. & DE WIT, P. J.G. N. 1989. Identification of several pathogenesis related proteins in tomato leaves inoculated with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*) as 1,3- β -glucanases and chitinases. *Plant Physiology*, 89: 945-951.
- KANG, B. C., YEAM, I. & JAHN, M. M. 2005. Genetics of plant virus resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 43: 581-621.
- KRÜGER, J., THOMAS, C.M., GOLSTEIN, C., DIXON, M. S., SMOKER, M., TANG, S., MULDER, L. & JONES, J.D.G. 2002. A Tomato cysteine protease required for Cf-2-dependent disease resistance and suppression of autonecrosis. *Science*, 296: 744-747.
- KUNG, Y.J., BAU, H.J., WU, Y.L., HUANG, C.H., CHEN, T.M. & YEH, S.D. 2009. Generation of transgenic papaya with double resistance to Papaya ring spot virus and Papaya leaf-distortion mosaic virus. *Phytopathology*, 99(1): 1312-1320.
- LAGUDAH E.S., MOULLETT O. & APPLES, R. 1997. Map-based cloning of a gene sequence encoding a nucleotide binding domain and a leucine-rich region at the *Cre3* nematode resistance locus of wheat. *Genome*, 40: 659-665.
- LI, L. & STEFFENS, J.C. 2002. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. *Planta*, 215(2): 239-47.
- LINTHORST, H.J.M. 1991. Pathogenesis related proteins of plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 10: 123-150.
- LIS, H. & SHARON, N. 1990. Legume lectins - a large family of homologous proteins. *FASEB Journal*, 4(14): 3198-3208.
- MACHEIX, J. J., FLEURIET, A. & QUESSADA, M.P. 1986. Involvement of phenols and peroxidases in wound healing and grafting. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, T. (Ed.). *Molecular and physiological aspects of plant peroxidases*. Geneva: University of Geneva, p. 267-286.
- MACKEY, D., HOLT III, B. F., WIIG, A. E. & DANGL, J. 2002. RIN4 Interacts with *Pseudomonas syringae* Type III Effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in *Arabidopsis*. *Cell*, 108: 743-754.
- MARATHE, R E DINESH-KUMAR, S. P. 2003. Plant defense: one post, multiple guards? *Molecular Cell*, 11(2): 284-286.
- MARCHIVE, C., MZID, R., DELUC, L., BARRIEU, F., PIRRELLO, J., GAUTHIER, A., CORIO-COSTET, M.F., REGAD, F., CAILLETEAU, B., HAMDI, S. & LAUVERGE, A.T.V. 2007. Isolation and characterization of a *Vitis vinifera* transcription factor, VvWRKY1, and its effect on responses to fungal pathogens in transgenic tobacco plants. *Journal of Experimental Botany*, 58(8): 1999-2010.
- MARGIS, R., REIS E.M. & VILLERET V. 1998. Structural and phylogenetic relationships among plant and animal cystatins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 359(1): 24-30.
- MARGIS, M.P., ZOLET, A.C.T., LOSS, G., PASQUALI, G. & MARGIS, R. 2008. Molecular evolution and diversification of plant cysteine proteinase inhibitors: new insights after the poplar genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 349-355.
- MAYER, A.M. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67: 2318-2331.
- MELANDER, M., AHMAN, I., KAMNERT, I. & STRÖMDAHL, A.C. 2003. Pea lectin expressed transgenically in oilseed rape reduces growth rate of pollen beetle larvae. *Transgenic Research*, 12: 555-567.
- MELO, F.R.; MELLO, M.O., FRANCO, O.L., RIGDEN, D.J., MELLO, L. V., GENU, A.M., SILVA FILHO, M.C., GLEDDIE, S. & GROSSI-DE-SÁ, M.F. 2003. Use of phage display to select novel cystatins specific for *Acanthoscelides obtectus* cysteine proteinases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1651: 146-152.
- MELO, G.A., SHIMIZU, M.M. & MAZZAFERA, P. 2006. Polyphenoloxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against the coffee leaf miner and coffee leaf rust. *Phytochemistry*, 67(3): 277-285.
- MICHAUD, D., CANTIN, L., BONADÉ-BOTTINO, M., JOUANIN, L. & VRAIN, T.C. 1996. Identification of stable plant cystatin/nematode proteinase complexes using mildly-denaturing gelatin polyacrylamide gel electrophoresis. *Electrophoresis*, 17(8): 1373-1379.
- MILLIGAN, S.B., BODEAU, J., YAGHOUBI, J., KALOSHIAN, I., ZABEL, P. & WILLIAMSON, V.M. 1998. The root knot nematode resistance gene *Mi* from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *Plant Cell*, 10: 1307-1320.
- MUELLER, M.J. 1998. Radically novel prostaglandins in animal and plants: the isoprostanes. *Chemistry & Biology*, 5(12): 323-333.
- MURDOCK, L.L., HUESING, J.E., NIELSEN, S.S., PRATT, R.C. & SHADE, R.E. 1990. Biological effects of plant lectins on the cowpea weevil. *Phytochemistry*, 29: 85-89.
- MUSKETT, P. & PARKER, P. 2003. Role of SGT1 in the regulation of plant R gene signalling. *Microbes and Infection*, 5: 969-976.
- MYSORE, K.S. & RYU, C. 2004. Nonhost resistance: how much do we know? *Trends in Plant Science*, 9(2): 97-104.
- NAGADHARA, D., RAMESH, S., PASALU, I.C., RAO, Y.K., SARMA, N. P., REDDY, V.D. & RAO, K.V. 2004. Transgenic rice plants expressing the snowdrop lectin gene (*gna*) exhibit high-level resistance to the whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera*). *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 1399-1405.
- NIMCHUK, Z., EULGEM, T. HOLT, B.F. & DANGL, J.L. 2003. Recognition and response in the plant immune system. *Annual Review of Genetics*, 37: 579-609.
- OSBORN, T.C., BUROW, M. & BLISS, F.A. 1998. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. *Science*, 240: 207-210.
- PAAL, J., HENSELEWSKI, H., MUTH, J., MEKSEM, K., MENENDEZ, C. M., SALAMINI, F., BALLVORA, A. & GEBHARDT, C. 2004. Molecular cloning of the potato *Gro1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant Journal*, 38: 285-297.

- PINTO, M.S.T., SIQUEIRA, F. P., OLIVEIRA, A. E. A & FERNANDES, K. V. S. 2008. A wounding-induced PPO from cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. *Phytochemistry*, 69(12): 2297-2302.
- RAHMAN, M. & PUNJA, Z.K. 2005. Biochemistry of ginseng root tissues affected by rusty root symptoms. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43: 1103-1114.
- REIS, E.M. & MARGIS, R. 2001. Sugarcane phytocystatins: Identification, classification and expression pattern analysis. *Genetics and Molecular Biology*, 24: 291-296.
- RIBEIRO, S.F.F., AGIZZIO, A.P., MACHADO, O.L.T., NEVES-FERREIRA, A.G.C., OLIVEIRA, M.A., FERNANDES, K.V.S., CARVALHO, A.O., PERALES J. E. A. & GOMES, V.M. 2007. A new peptide of melon seeds which shows sequence homology with vicilin: Partial characterization and antifungal activity. *Scientia Horticulturae*, 111: 399-405.
- ROBERTS, P.A. & MAY, D. 1986. *Meloidogyne incognita* resistance characteristics in tomato genotypes developed for processing. *Journal of Nematology*, 18(3): 353-359.
- RONALD, P.C. 1998. Resistance gene evolution. *Current Opinion in Plant Biology*, 1: 294-298.
- RYALS, J.A., NEUENSCHWANDER, U.H., WILLITS, M.G., MOLINA, A., STEINER, H.Y. & HUNT, M.D. 1996. Systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 8: 1808-1819.
- RYAN C.A. 1990. Proteinase inhibitors in plants: Genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 28: 425-449.
- RYAN, C.A. 2000. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochimica Biophysica Acta*, 1477: 112-121.
- SADEGHI, A., SMAGGHE, G., BROEDERS, S., HERNALSTEENS, J. P., DE GREVE, H., PEUMANS, W.J. & VAN DAMME, E.J.M. 2003. Ectopically expressed leaf and bulb lectins from garlic (*Allium sativum* L.) protein transgenic tobacco plants against cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*). *Transgenic Research*, 17: 9-18.
- SILVA, F. B., BATISTA, J.A.N., MARRA, B.M., FRAGOSO, R.F., MONTEIRO, A.C.S., FIGUEIRA, E. L. Z. & GROSSI-DE-SÁ, M.F. 2004. Pro domain peptide of HGCP-Iv cysteine proteinase inhibits nematode cysteine proteinases. *Genetics and Molecular Research*, 3(3): 342-355.
- SIQUEIRA-JÚNIOR C.L., FERNANDES K.V.S., MACHADO, O.L.T., CUNHA, M., GOMES, V.M., MOURA D. & JACINTO T. 2002. A 87 kDa tomato cystatin exhibits properties of a defense protein and forms protein crystals in prosystemin overexpressing transgenic plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 247-254.
- SOOSAAR, J. L. M., BURCH-SMITH, T. M. & DINESH-KUMAR, S. P. 2005. Mechanisms of plant resistance to viruses. *Nature Reviews*, 3: 789-798.
- SPIEGEL, Y. & MCCLURE, M.A. 1995. The surface coat of plant-parasitic nematode: chemical composition, origin and biological role – a review. *Journal of Nematology*, 27: 117-124.
- STASKAWICZ, J.B., MUDGETT, M.B., DANGL, J.L. & GALAN, J. E. 2001. Common and contrasting themes of plant and animal diseases. *Science*, 292: 2285-2285.
- STEFFENS, J.C., HAREL E. & HUNT, M.D. 1994. Polyphenoloxidase. In: ELLIS, B.E., KUROKI, G.W. STAFFORD, H.A. (Ed.). *Recent Advances in Phytochemistry*, 28. p. 275-312.
- STILLMARK, H. 1888. Ueber Ricin, ein giftiges ferment aus dem samen von *Ricinus communis* L. und einigen anderen Euphorbiaceen. *Arbeiten des Pharmakologischen Institutes zu Dorpat*, 3: 59-151.
- STRATMANN, J. W. 2003. Long distance run in the wound response – jasmonic acid is pulling ahead. *Trends in Plant Science*, 8: 247-250.
- TAKAHAMA, U. & ONIKI, T., 2000. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: Physiological significance of the redox reaction. *Journal of Plant Research*, 113: 301-309.
- THIPYAPONG, P., HUNT, M.D. & STEFFENS, J.C. 1995. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenoloxidase. *Phytochemistry*, 40: 673-676.
- URWIN, P.E., LILLEY, C.J., MCPHERSON, M.J. & ATKINSON, H. J. 1997. Resistance to both cyst and root-knot nematodes conferred by transgenic *Arabidopsis* expressing a modified plant cystatin. *The Plant Journal*, 12(2): 455-461.
- VAN DER VOSSEN, V.E.A.G., ROUPPE VAN DER. V.J.N.A.M., KANYUKA, K. BENDAHMANE, A., SANDBRINK, H., BAULCOMBE, D.C., BAKLER, J., STIEKEMA, W.J. & KLEIN-LANKHORST, R.M. 2000. Homologues of a single resistance gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. *Plant Journal*, 23: 67-576.
- VALENTINES, M.C., VILAPLANA, R., TORRES, R., USALL J. & LARRIGAUDIÈRE, C. 2005. Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 36: 227-234.
- VAN LOON, L.C. 1985. Pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology*, 4: 111-116.
- VIJAYAN, M. & CHANDRA, N. 1999. Lectins. *Current Opinion in Structural Biology*, 9: 707-714.
- WAN, X., TAN, J., LU, S., LIN, C., HU, Y. & GUO, Z. 2009. Increased tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco expressing a wheat oxalate oxidase gene via induction of antioxidant enzymes is mediated by H₂O₂. *Journal of Plant Physiology*, 136 (1): 30-44.
- WARD, E.R., UKNES, S.J., WILLIAMS, S.C., DINCHER, S. S., WIEDERHOLD, D. L., ALEXANDER, D. C., AHL-GOY, P., ME'TRAUX, J.P. & RYALS, J.A. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 3: 1085-1094.
- WUYTS, N., WAELE, D.D. & SWENNEN, R. 2006. Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase in roots of banana (*Musa acuminata* AAA, cvs Grande Naine and Yangambi km5) before and after infection with *Radopholus similis*. *Nematology*, 8(2): 201-209.
- WASTERNAK, C., STENZEL, I., HAUSE, B., HAUSE, G., KUTTER, C., MAUCHER, H., NEUMERKEL, J., FEUSSNER I. & MIERSCH, O. 2006. The wound response in tomato – Role of jasmonic acid. *Journal of Plant Physiology*, 163: 297-306.
- ZHANG, G., CHEN, M., LI, L., XU, Z., CHEN, X., GUO, J. & MAO, Y. 2009. Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 60: 2-16.