|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Section/topic** | **#** | **Checklist item** | **Reported on page #** |
| **TITLE** | | |  |
| Título | 1 | A proteína PR-10 na resistência a estresses bióticos: progressos na elucidação das funções, regulação e modos de ação. | Título, página1 |
| **ABSTRACT** | | |  |
| Resumo estruturado | 2 | As proteínas relacionadas a patogênese da família 10 (PR-10) estão amplamente distribuídas no reino vegetal. São proteína multifuncionais, expressas de forma constitutiva em todos os tecidos da planta, exercendo papel no seu crescimento e desenvolvimento, mas também sendo induzidas em situações de estresse. Diversos estudos têm identificado ou investigado o papel preponderante da PR-10 na defesa vegetal contra estresses bióticos, no entanto, muito pouco se sabe sobre os mecanismos de ação desempenhados por essas proteínas. A fim de reunir informações para desvendar esse mecanismo, essa é a primeira revisão sistemática elaborada sobre o tema. Para tanto, realizamos buscas em três bases de dados (*PubMed, Web of Science e Scopus*). A fim de evitar viés foi elaborado previamente um protocolo com critérios de inclusão e exclusão. No total foram selecionados 216 artigos que se encaixaram com o objetivo proposto para esse estudo. A sistematização revelou a participação de PR-10 da defesa contra diversos agentes estressores como vírus, bactérias, fungos, oomicetos, nematoides e insetos. Estudos com metodologias combinadas trouxeram informações relevantes sobre o papel desempenhado pela PR-10 no estresse biótico. A regulação positiva de PR-10 foi predominante mesmo em diferentes condições de estresse biótico, tempo e variedade vegetal tanto a nível transcricional, quanto a nível proteico. Moléculas que atuam na regulação da expressão de PR-10 no estresse biótico foram compiladas e descritas, incluindo PRRs, fatores de transcrição e proteínas efetoras. Foram propostos possíveis modos de ação da PR-10 na interação com os diversos agentes estressores. As informações aqui sistematizadas colaboram com a compreensão dos papeis desempenhados por PR-10 nos diferentes estresses bióticos ao qual as plantas são submetidas frequentemente no ambiente em que vivem. | Resumo, página 1 |
| **INTRODUCTION** | | |  |
| Justificativa | 3 | As informações reunidas nesta revisão contribuem com a compreensão do mecanismo de ação, ainda não solucionado, em que está envolvida a proteína relacionada a patogênese da família 10 (PR-10). | Introdução, página 2 |
| Objetivos | 4 | - Identificar se há diferenças de resposta dessa proteína em variedades de plantas resistentes e suscetíveis à estresses bióticos;  - Identificar funções e mecanismos de ação da PR-10 que se relacionem com o seu papel de defesa contra estresses bióticos;  - Verificar se às metodologias aplicadas tem permitido elucidar a atuação de proteínas PR-10 em processos biológicos. | Introdução, página 4 |
| **METHODS** | | |  |
| Protocolo e registro | 5 | O conector OR foi utilizado para agrupar as palavras-chave sinônimas e AND para agrupar as partes principais. Assim, a string de busca utilizada em todas as bases de dados foi (PR10 OR “PR 10” OR PR-10) AND (“biotic stress” OR “biotic stresses”). Para esta pesquisa foram utilizados apenas artigos em inglês, disponíveis em canais acadêmicos. | Materiais e métodos, página 5 |
| Critério de elegibilidade | 6 | Foram selecionados apenas artigos experimentais publicados em inglês. | Materiais e métodos, página 5 |
| Fontes de informação | 7 | As buscas foram realizadas nas bases de dados previamente selecionadas: Web of Science, Scopus e PubMed Central. Os resultados foram importados para os formatos BIBTEX, compatível com a ferramenta StArt. | Materiais e métodos, página 5 |
| Buscas | 8 | Foram testadas strings de buscas nas bases de dados selecionadas. A string foi adicionada a aba de pesquisa da base de dados e todos os arquivos encontrados foram salvos no formato BibTex no computador. Posteriormente, foram exportados para o Start. | Materiais e métodos, página 5 |
| Seleção de estudo | 9 | Os estudos foram selecionados nas bases de dados a partir do título, resumo e palavras-chaves cntendo o tema central da revisão. | Materiais e métodos, página 5 |
| Processo de coleta de dados | 10 | A análise dos estudos responderam as seguintes questões:   1. Quais foram as espécies vegetais em que a PR-10 foi caracterizada? 2. Quais agentes bióticos estressores são retratados em estudos com as PR-10? 3. As metodologias em estudos com PR-10 são eficazes para elucidar os mecanismos de ação frente aos estresses bióticos? 4. Existe expressão diferencial da PR-10 em variedades suscetíveis ou resistentes aos estresses bióticos?   5-Quais são as funções da PR-10 na defesa contra estresses bióticos?  6- Quais são os mecanismos de ação desempenhados pela PR-10? | Materiais e métodos, tabela 1, páginas 4 e 5 |
| Itens dos dados | 11 | Espécies estudadas; Países de estudo; Agente estressor; Metodologia empregada; Variedade resistentes; Variedades suscetíveis; Nível de transcritos; Tempos avaliados nas análises de transcritos; Acúmulo de proteínas; Tempos avaliados nas análises de proteínas; Moléculas que regulam a expressão de PR-10; Função desempenhada; Mecanismo de ação. | Materiais e métodos, página 5 |
| Risco de viés em estudos individuais | 12 | Seguimos os critérios de inclusão e exclusão e também adotamos a estratégia PICOS e as diretrizes PRISMA. | Materiais e métodos, página 5 |
| Medidas sumárias | 13 | Não empregamos meta-análises no estudo. | N/A |
| Sintese dos resultados | 14 | Não empregamos meta-análises no estudo. | N/A |

Page 1 of 2

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Section/topic** | **#** | **Checklist item** | **Reported on page #** |
| Risco de viés entre os estudos | 15 | Seguimos os critérios pré estabelecidos no protocolo de execução. | Materiais e métodos, página 5 |
| Análises adicionais | 16 | Nenhum método adicional de análise foi usado. | N/A |
| **RESULTS** | | |  |
| Seleção de estudo | 17 | Um total de 579 artigos retornou das buscas nos bancos de dados, sendo 518, 28 e 33 dos respectivos bancos de dados, Pubmed, Web of Science e Scopus. As buscas eletrônicas em cada banco de dados corresponderam a 89,46%, 4,83% e 5,69% de estudos das respectivas bases de dados, citadas acima. Embora tenha sido utilizada a mesma *string* nos diferentes bancos de dados, o PuMed contribuiu com mais estudos para a revisão sistemática. Na primeira seleção dos artigos no software StArt, 329 artigos foram excluídos por serem inelegíveis aos critérios de inclusão da revisão, sendo que 279 foram excluídos com base nas leituras dos títulos e resumos e, 50 com base na leitura completa dos artigos. A ferramenta automática detectou 34 artigos duplicados. Sendo assim, uma amostra resultante de 216 artigos foi incluída na revisão sistemática, e estes atenderam pelo menos um critério de inclusão. | Resultados, página 6 |
| características do estudo | 18 | As questões de pesquisa nortearam a extração de dados em todos os artigos selecionados. | Resultados, página 6-25 |
| Risco de viés nos estudos | 19 | Seguimos os critérios de inclusão para todos os estudos selecionados. | Materiais e métodos, páginas 4-5 |
| Resultados de estudos individuais | 20 | Os resultados individuais de cada estudo elegível foram sistematizados e sumarizados em tabelas e figuras | Resultados, páginas 6-25 |
| Síntese de resultados | 21 | Nós não empregamos meta-análise. | N/A |
| Risco de viés entre os estudos | 22 | Não realizamos uma avaliação de risco. | N/A |
| Análises adicionais | 23 | Nenhum método adicional de análise foi usado. | N/A |
| **DISCUSSION** | | |  |
| Resumo das evidências | 24 | - Os Metadados revelam grande interesse em estudos com a PR-10 no estresse biótico: A China aparece como principal país colaborador em estudos com ênfase em PR-10 no estresse biótico.  - Os grãos como arroz, trigo e milho foram as culturas com destaque investigativo. Isso corrobora com os dados atuais de produção dessas culturas.  - Os principais agentes estressores foram *Magnaporthe oryzae* e *Xanthomonas oryzae* em arroz, o fungo necrotrófico *Rhizoctonia cerealis* em trigo,Os fungos *Aspergilus flavus* e *Fusarium graminearum* em milho o oomiceto *Plasmopara vitícola* na videira.  - As metodologias aplicadas nos estudos foram eficazes para a investigação do papel da PR-10 no estresse biótico quando foram combinadas com outras metodologias.  - A PR-10 é predominantemente regulada para cima a nível transcricional e proteico na interação da planta com diferentes agentes estressores bióticos, diferentes tempos e em variedades contrastantes.  - A PR-10 é rgulada por diversas moléculas que participam da defesa da planta no estresse biótico, incluindo fatores de transcrição, efetores e PRRs. | Discussão, páginas 26-42 |
| Limitações | 25 | Apesar da importância de compreender o papel desempenhado pela PR-10 na defesa vegetal contra agentes estressores biótico, poucos foram os estudos mais aprofundados e com foco na elucidação de mecanismos de ação da PR-10. | Discussão, página 31 |
| Conclusões | 26 | Essa, até onde sabemos, é a primeira revisão sistemática relacionada a elucidação dos mecanismos moleculares envolvendo a PR-10, que contribuiu com um compilado de informações e dados sistematizados sobre os papeis desempenhados pela PR-10 no estresse biótico em plantas. No entanto, várias questões permanecem em aberto.   1. A PR-10 é um divisor de águas na suscetibilidade e resistência da planta?   Grande parcela dos 216 artigos selecionados com base nos objetivos dessa revisão, mostraram que a PR-10 é marcadamente up regulada/acumulada nas diferentes interações planta/patógeno previstas. Apesar disso, tanto a regulação/acúmulo positivo como negativo foram vistos em variedades contrastantes. Além disso, tem seus níveis diferenciais de expressão se comportando de formas distintas, dependo do tecido avaliado ou do tempo. Mais estudos com a superexpressão e silenciamento da PR-10 em plantas suscetíveis e resistentes, além da investigação do comportamento transcricional ou proteico dessas plantas inoculadas com diferentes patógenos podem revelar se a PR-10 é um fator preponderante para definir resistência ou suscetibilidade ao patógeno.   1. Quais moléculas formam complexos com PR-10 e quais processos são desencadeados com essa interação?   Moléculas aqui sistematizadas para formar complexos com PR-10, foram de grande valia para o aprofundamento dos mecanismos utilizados por essa proteína para executar suas funções. Técnicas *in vitro* e *in silico* que visam investigar a interação proteína/proteína podem contribuir de formas significativas para a compreensão de mecanismos complementares às funções de PR-10.   1. A função de RNAse desempenhada por PR-10 está mais relacionada ao seu papel na defesa vegetal ou com o crescimento e desenvolvimento normal do tecido da planta?   Os resultados aqui sistematizados relacionaram a função de RNAse de PR-10 com a sua ação antifúngica e antimicrobiana, e com a reciclagem de fosfato em folhas senescentes para promover o crescimento de tecidos da planta. Maiores investigações sobre essa função são cruciais para contribuir com os modelos de redes biológicas propostos nesta RS.   1. O que a interação de PR-10 com efetores pode nos revelar sobre a especificidade funcional e comportamental dessa molécula, frente a cada agente estressor?   Nesta revisão foram identificadas duas moléculas efetoras de fungos e nematoides que formaram complexos com a PR-10, promovendo a supressão das respostas imunes do hospedeiro. Investigações mais aprofundadas sobre a especificidade dessas interações e novas propostas de análises de interação efetor/PR-10 podem colaborar com uma melhor compreensão sobre o modo de ação de PR-10, frente aos diferentes tipos de agentes estressores bióticos.   1. Como a função de ligação a outras moléculas está associada ao mecanismo de defesa contra agentes estressores?   Um estudo levantado na RS relatou o papel de ligação da PR-10 com moléculas que podem estar regulando SAR (Dehidroabietinal) através de um transporte que ocorre no floema. Apesar de associar esses dois fatores, o estudo não efetuou testes que comprovam essa relação. Maiores investigações a esse respeito podem ser fundamentais para a elucidação do papel da PR-10 na resistência sistêmica adquirida.  Todas essas respostas, podem contribuir com os modelos de redes biológicas e mecanismos regulatórios e funcionais envolvendo a PR-10 frente a um estresse abiótico propostos nessa RS. | Conclusão, páginas 42-44 |
| **FUNDING** | | |  |
| Financiamento | 27 | Esse trabalho foi executado sem nenhuma fonte de financiamento. | N/A |

*From:*  Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

For more information, visit: **www.prisma-statement.org**.

Page 2 of 2