

## Caracterização parcial dos $\beta$ -glucanos ao longo do desenvolvimento foliar em *Brachiaria decumbens* Stapf.

Ana Maria da Silva<sup>1</sup>, Marcos Pereira Marinho Aidar<sup>1</sup> e Marcos Silveira Buckeridge<sup>2,3</sup>

Recebido: 23.05.2005; aceito: 10.01.2006

**ABSTRACT** - (Partial characterisation of  $\beta$ -glucans during leaf development in *Brachiaria decumbens* Stapf.). *Brachiaria decumbens* (signalgrass) is a forage grass species introduced in Brazil from Africa. In this work, we observed quantitative and qualitative changes in  $\beta$ -glucans from leaves of *Brachiaria decumbens* during leaf development. The analysis of oligosaccharides obtained by exhaustive hydrolysis of  $\beta$ -glucan with *Bacillus subtilis* endo- $\beta$ -glucanase followed by analysis by High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection revealed that leaves longer than 10 cm, showed structural changes. This observation indicates that there is a relative increase of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) (characteristic of calose) in relation to  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) linkages (characteristic of cellulose). These structural changes are compatible with the production of a polymer that is less interactive with hemicelluloses (in this case glucuronoarabinoxylans) what leads to a more water soluble and less rigid wall. This is probably associated with the period of cell expansion and growth in highly differentiated tissues. We also emphasize that the presence of  $\beta$ -glucans in all developmental stages suggests the possibility of use of  $\beta$ -glucan as a biotechnological product from *B. decumbens*.

**Key words:** arabinoxylan,  $\beta$ -glucans, cell wall, leaf development

**RESUMO** - (Caracterização parcial de  $\beta$ -glucanos ao longo do desenvolvimento foliar em *Brachiaria decumbens* Stapf.). *Brachiaria decumbens* é uma gramínea forrageira de origem africana que é comumente encontrada em pastagens no Brasil. Neste trabalho, foram observadas modificações quantitativas e qualitativas nos  $\beta$ -glucanos desta planta ao longo do desenvolvimento foliar. A partir das análises dos oligossacarídeos de  $\beta$ -glucanos por cromatografia de troca aniônica de alto desempenho com detecção por pulso amperométrico, verificou-se alteração estrutural nos  $\beta$ -glucanos em folhas maiores de 10 cm. Tal observação indica que há um aumento relativo de ligações do tipo  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) (característica da calose) em relação às ligações do tipo  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) (característica da celulose). A alteração observada é compatível com um polímero menos interativo com as hemiceluloses (neste caso os glucuronoarabinoxilanos) e conseqüentemente com uma parede celular mais solúvel em água e menos rígida. Estas alterações estruturais parecem estar associadas ao período de alongamento celular. Neste trabalho salienta-se também que a presença de  $\beta$ -glucanos nas folhas em todos os estádios de desenvolvimento sugere a possibilidade de uso da braquiária para produção de polissacarídeos de interesse biotecnológico. **Palavras-chave:** arabinoxilanos,  $\beta$ -glucanos, expansão foliar, parede celular

### Introdução

Uma característica adquirida ao longo do processo evolutivo pelas gramíneas e outras Poales foi o aparecimento dos (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -glucanos ou  $\beta$ -glucanos na estrutura da parede celular (Carpita 1996).

Os  $\beta$ -glucanos são polímeros lineares formados por unidades de glucose unidas entre si por ligações  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) e  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) em proporções definidas. Em nenhum outro grupo taxonômico de plantas esse polissacarídeo foi isolado. Entretanto, um polissacarídeo similar foi isolado do fungo liquenizado *Cetraria islandica* (Wood *et al.* 1994).

A estrutura fina dos  $\beta$ -glucanos de gramíneas foi definida a partir da ação da enzima endoglucanase (liquenase) de *Bacillus subtilis* (Woodward *et al.* 1983), que hidrolisa apenas as ligações  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) precedidas de uma ligação  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) (Parrish *et al.* 1960), produzindo blocos constitutivos característicos (tri e tetrassacarídeos), em que cerca de 70% dos oligossacarídeos são trissacarídeos que apresentam estrutura molecular Glc(1 $\rightarrow$ 4)Glc(1 $\rightarrow$ 3)Glc e os 30% restantes constituem tetrassacarídeos com estrutura Glc(1 $\rightarrow$ 4)Glc(1 $\rightarrow$ 4)Glc(1 $\rightarrow$ 3)Glc. A razão molar entre tri e tetrassacarídeo pode variar entre 2 e 3 dependendo da espécie de gramínea, sendo que em *Cetraria islandica* 86% são apenas trissacarídeos e

1. Instituto de Botânica, Seção de Fisiologia e Bioquímica, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil

2. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Caixa Postal 11461, 05422-970 São Paulo, SP, Brasil

3. Autor para correspondência: msbuck@usp.br



a razão entre ligações dos tipos (1→4) e (1→3) não ultrapassa 1:1 (Wood *et al.* 1994). Esta proporção não foi obtida em nenhum estudo com espécies de Poales até o momento. A razão molar é considerada uma característica que se alterou muito pouco durante a evolução, como sugerido por Buckeridge *et al.* (2001). Esses autores propuseram que esta seria uma característica conservada evolutivamente devido à importância da função biológica do polissacarídeo no alongamento celular durante o crescimento (Buckeridge *et al.* 1999, 2004).

Como a maioria dos polissacarídeos de parede celular, os  $\beta$ -glucanos são sintetizados no Complexo de Golgi. Acredita-se que o modelo de biossíntese esteja associado à enzima sacarose sintase (SS) que efetua a hidrólise de sacarose produzindo frutose livre e UDP-glucose, esta última utilizada como substrato para a síntese de glucanos de parede celular (Buckeridge *et al.* 1999, 2001).

Os  $\beta$ -glucanos são abundantes em paredes celulares de células endospermicas de sementes de gramíneas e podem compor até 70% desses tecidos (Fincher & Stone 1986). Em plântulas de milho, a quantidade de  $\beta$ -glucanos aumenta durante a expansão dos cotilédones e das folhas (Carpita 1984) e decresce apenas quando o crescimento cessa (Carpita & Kanabus 1988). Acredita-se que em células meristemáticas esses polissacarídeos sejam raros, mas em paredes de células em alongamento aparecem em grandes quantidades, coincidindo com a razão máxima de alongamento (Kim *et al.* 2000).

A compreensão de aspectos da biossíntese e degradação dos  $\beta$ -glucanos durante o crescimento e desenvolvimento de plantas, bem como de suas variações conforme o estágio fisiológico, podem ser de grande valia em aplicações biotecnológicas. Neste sentido, os  $\beta$ -glucanos têm gerado interesse econômico devido às respostas fisiológicas que produzem como fibra dietética, pois aumentam a sensibilidade à insulina (Yokohama *et al.* 1997) e tolerância à glucose, provocando alterações hormonais que potencialmente podem contribuir com um efeito hipocolesterolêmico, reduzindo a síntese do colesterol (Anderson & Chen 1986). Existem também evidências de que os  $\beta$ -glucanos agem como protetores contra o desenvolvimento de câncer de cólon (Anderson & Chen 1986; McDonald *et al.* 1992). Recentemente, De Paula *et al.* (2005) demonstraram que a injeção intraperitoneal de  $\beta$ -glucanos juntamente com arabinosilano da gramínea africana *Rynchelytrum repens* provocou uma diminuição duradoura (24 h) nos

níveis de glucose sanguínea em ratos.

Outro aspecto biotecnológico associado aos  $\beta$ -glucanos está relacionado à indústria de cerveja. Durante a fabricação, a hidrólise incompleta dos  $\beta$ -glucanos prejudica o processo de filtração do produto, tornando-o escuro e afetando sua qualidade (Francisco & Sá 2001). Grandes esforços têm sido realizados para tentar diminuir este problema, através de melhoramento genético visando a obtenção de novas variedades de cevada com teores reduzidos de  $\beta$ -glucanos, como, por exemplo, as variedades IBON-1069 e MN684 que apresentaram somente 2% de  $\beta$ -glucanos (A.M. Silva, A. Francisco & M.S. Buckeridge, resultados não publicados).

Muitas espécies de gramíneas, especialmente aquelas originárias da África, como por exemplo *Brachiaria decumbens* Stapf, têm sido consideradas invasoras em ambientes naturais da América, devido a sua alta eficiência em competir com espécies nativas (Mantovani & Martins 1983). Na região do Cerrado Brasileiro estima-se que 85 milhões de ha. sejam ocupados com pastagens, dos quais cerca de 50 milhões são cultivados com gramíneas do gênero *Brachiaria* (Bonfim *et al.* 2003).

A estrutura e o metabolismo dos  $\beta$ -glucanos em tecidos vegetativos de gramíneas são pouco conhecidos, uma vez que o enfoque principal nos trabalhos tem sido sempre voltado para os  $\beta$ -glucanos de cereais, devido à sua grande importância econômica. Recentemente, Trethewey & Harris (2002) quantificaram os  $\beta$ -glucanos em diferentes tecidos de cevada (*Hordeum vulgare*), entretanto não foram abordadas possíveis diferenças na estrutura do polímero ao longo do crescimento.

O objetivo do presente trabalho foi estudar as modificações qualitativas e quantitativas nos  $\beta$ -glucanos ao longo do desenvolvimento foliar em *Brachiaria decumbens*. Com estes dados discutimos as possíveis interações intermoleculares entre os  $\beta$ -glucanos e GAXs (glucuronoarabinosilanos). Esta abordagem é de grande relevância pelo potencial efeito hipoglicemiante destes polissacarídeos, sendo inclusive uma alternativa potencial de uso para esta espécie, que em muitos casos é considerada uma invasora, em aplicações biotecnológicas. Além disso, o conhecimento mais aprofundado sobre a importância destes compostos na composição e crescimento de *B. decumbens*, pode ser futuramente utilizado como modelo de estudo a ser desenvolvido em espécies nativas brasileiras.



## Material e métodos

Touceiras de *Brachiaria decumbens* foram coletadas na Estação Experimental da Fazenda Campininha em Moji-Guaçu, e transplantadas para os canteiros experimentais de cultivo de plantas da Seção de Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica de São Paulo.

Após um mês de adaptação no canteiro foi feito um corte da parte aérea utilizando um quadrado de 10 × 10 cm com base de 5 cm. O material coletado em setembro foi separado em três classes de acordo com o tamanho das folhas: < 20 cm; entre 20 e 30 cm e > 30 cm. O material coletado em maio foi separado em duas classes: < 10 cm e entre 10 e 20 cm. Todo o material foi pesado e seco em estufa a 60 °C até peso constante por cinco dias. O material foi moído em moinho de bola (Tecnal Ltda.).

Para a remoção de açúcares solúveis, 10 mg de material seco foram submetidos a seis extrações sequenciais de 20 min cada, com 1,5 mL de etanol 80% a 80 °C. O material foi centrifugado a 13.000 g e o sobrenadante descartado. Após a remoção dos açúcares solúveis o material foi seco em estufa a 60 °C por 24 horas e em seguida foi lavado três vezes com tampão Tris-HCl 100 mM pH 7,4, e seco novamente.

Ao precipitado da remoção de açúcares solúveis foram adicionados 20 mL de clorito de sódio 490 mM em ácido acético, mantidos em banho-maria a 65 °C por uma hora. Após a extração de lignina o material foi centrifugado, o precipitado lavado 10 vezes com água destilada e centrifugado. O sobrenadante foi descartado e o precipitado seco em estufa por 24 horas a 60 °C.

Ao material deslignificado e seco foram adicionados 1,5 mL de DMSO 90% (v/v), e os tubos foram mantidos sob agitação por 24 horas. Após este período o material foi centrifugado, o sobrenadante descartado, e o precipitado lavado com água destilada (cinco vezes), centrifugado e seco em estufa por 24 horas.

A parede celular foi fracionada com NaOH 0,1 M e em seguida com NaOH 4,0 M de acordo com a metodologia de Gorshkova *et al.* (1996). Ao precipitado obtido após extração de amido foram adicionados 20 mL de solução NaOH 0,1 M com NaBH<sub>4</sub> (1 mg mL<sup>-1</sup>), e a solução foi mantida sob agitação constante por uma hora a temperatura ambiente. Terminada a extração, o material foi centrifugado a 13200 g por cinco min a 10 °C, o sobrenadante coletado e neutralizado com ácido

acético glacial foi dialisado inicialmente contra água de torneira por 24 horas e em seguida contra água destilada com seis trocas em intervalos de duas horas. O material foi liofilizado e a seguir foi realizada a extração com NaOH 4,0 M nos mesmos moldes da extração com NaOH 0,1 M.

Duzentos microlitros de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,5 e 40  $\mu$ L da enzima endoglucanase de *Bacillus subtilis* (liquenase – MEGAZYME<sup>®</sup>) foram adicionados a 1 mg de material seco e incubados em banho-maria a 40 °C por três horas.  $\beta$ -glucano de cevada (1 mg) (MEGAZYME<sup>®</sup>) foi utilizado como padrão. A enzima foi inativada a 100 °C por três minutos e o material foi centrifugado a 13.200 g por dois minutos. Os  $\beta$ -glucanos no sobrenadante foram quantificados através da dosagem de açúcares totais pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). Em seguida o material foi liofilizado, ressolubilizado em água deionizada (150  $\mu$ L) e filtrado em filtro millipore 0,45  $\mu$ . Os oligossacarídeos liberados pela hidrólise enzimática foram separados em coluna de troca iônica (Carbo-Pac PA1, Dionex) equilibrada com 0,5 M NaOH e eluída com um gradiente linear de acetato de sódio de zero a 0,1 M em 0,5 M NaOH (Carpita & Carpita 1993). Os oligossacarídeos de  $\beta$ -glucanos foram separados por Cromatografia de Troca Iônica de Alta Performance com detecção por Pulso Amperométrico (HPAEC-PAD) em sistema Dionex DX-500.

Para a análise de monossacarídeos as frações de paredes celulares foram submetidas à hidrólise ácida. Foram adicionados 100  $\mu$ L de ácido sulfúrico 72% aos tubos contendo 1 mg de material seco de cada fração de parede (v/v), e os tubos foram mantidos em banho a 30 °C por 45 min. Após diluição para uma concentração final de 3% em ácido sulfúrico, o material foi autoclavado por uma hora a 120 °C. Em seguida, o material foi neutralizado com hidróxido de sódio 50% (v/v) e submetido à deionização em coluna de troca iônica (Dowex). Os açúcares totais foram quantificados pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956) utilizando glucose (100  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>) como padrão. Os monossacarídeos foram analisados por HPAEC-PAD utilizando coluna Carbo-pack PA1 em um sistema Dionex DX-500 (Tiné *et al.* 2003).

## Resultados e Discussão

Na tabela 1, estão apresentados os resultados de teores de  $\beta$ -glucanos em paredes lignificadas e deslignificadas de folhas de *Brachiaria decumbens*. Os dados apresentados mostram que nas paredes

sem ponto



deslignificadas os teores de  $\beta$ -glucanos liberados pela ação da endoglucanase de *Bacillus subtilis* triplicaram (em média) em relação às paredes lignificadas. A presença de lignina pode ter sido um dos fatores que dificultou o acesso da enzima ao polissacarídeo na parede celular, como sugerido por Harris & Hartley (1976). Os ácidos ferúlicos ligados aos arabinoxilanos, a principal hemicelulose das gramíneas, poderiam também representar um fator que dificultaria a solubilização dos  $\beta$ -glucanos (Carpita 1984, 1996). Neste experimento, não foram observadas diferenças entre folhas de diferentes classes de tamanho.

A análise do teor de  $\beta$ -glucanos das paredes deslignificadas de folhas de diferentes classes de tamanho em diferentes épocas do ano mostrou que em folhas menores do que 10 cm, o teor de  $\beta$ -glucanos foi significativamente maior ( $p > 0,05$ ) quando comparado ao de folhas de 10-20 cm coletadas em maio (tabela 2). Em análises similares feitas em setembro, quando foram encontradas apenas folhas

os arabinoxilanos, tornando-se assim de mais fácil solubilização. Em folhas maiores que 10 cm, os  $\beta$ -glucanos poderiam se encontrar fortemente ligados aos arabinoxilanos numa suposta interação intermolecular como sugerido por Izydorczyk & MacGregor (2000).

Os resultados obtidos com a análise de perfil e razão molar dos oligossacarídeos de  $\beta$ -glucanos estão apresentados na figura 1 e na tabela 3. Entre as classes de tamanho de folhas nas coletas de maio e setembro, a razão molar dos oligossacarídeos foi alterada. Observa-se uma tendência de aumento da razão nas folhas coletadas em setembro se comparadas às coletadas em maio. Este resultado possivelmente está relacionado ao fim do período de alongamento celular e crescimento dos tecidos. Apesar do teor de  $\beta$ -glucanos em folhas maiores que 30 cm (setembro) ser similar ao de folhas da classe 20-30 cm (tabela 2), não foi possível detectar o polissacarídeo através do método enzimático nesta classe de folhas (tabela 3), sugerindo que alterações estruturais durante o método de extração tenham impedido a ação da enzima hidrolítica. Pode-se observar, de maneira geral, que durante o crescimento, parece ocorrer uma modificação estrutural dos  $\beta$ -glucanos que provocaria aumento do número de ligações do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3) e conseqüentemente alteraria a razão molar de tri:tetrassacarídeos no polímero.

Um número maior de ligações  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3) confere uma forma "zig-zag" aos  $\beta$ -glucanos, dificultando a interação com os arabinoxilanos e tornando o polissacarídeo mais solúvel (Izydorczyk & MacGregor 2000). Quanto maior o número de ligações (1 $\rightarrow$ 4) mais linear o polímero, o que diminui a solubilidade em água e favorece a interação com os arabinoxilanos (Roubroeks *et al.* 2000).

De forma geral, os resultados sugerem que a deposição e mobilização dos  $\beta$ -glucanos poderiam ocorrer no início do crescimento da planta, e através

Tabela 1. Conteúdo de  $\beta$ -glucanos de paredes celulares em folhas de *Brachiaria decumbens* ( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  massa seca) com e sem deslignificação do material antes da preparação de parede celular. Análise estatística ANOVA ( $p < 0,05$ ); significância indicada pelas letras diferentes: maiúsculas entre o tipo de parede, e as minúsculas entre as classes de tamanho. Os dados entre parênteses indicam o desvio padrão da média.

Parede	Classes de tamanho (cm)		
	< 20	20-30	> 30
Lignificada	9,2 (3,0) <sup>Aa</sup>	6,3 (0,3) <sup>Aa</sup>	7,0 (1,4) <sup>Aa</sup>
Deslignificada	20,9 (1,7) <sup>Ba</sup>	21,7 (2,4) <sup>Ba</sup>	22,8 (6,2) <sup>Ba</sup>

de classe de tamanho acima de 10 cm, não se observou variação nos teores de  $\beta$ -glucanos. Uma possível explicação para estas observações seria que os  $\beta$ -glucanos formariam uma trama mais frouxa com

Tabela 2. Valores médios (desvio padrão entre parênteses) de rendimento de  $\beta$ -glucanos. O rendimento foi obtido por hidrólise enzimática com endo- $\beta$ -glucanase de *Bacillus subtilis* seguido de dosagem de açúcares no sobrenadante. Análise estatística ANOVA ( $p < 0,05$ ); significância indicada pelas letras diferentes: maiúsculas entre as datas de coleta; minúsculas entre as classes de tamanho a cada coleta. Traços significam que não havia folhas nos respectivos estágios de desenvolvimento.

Parede	Classes de tamanho (cm)			
	< 10	10-20	20-30	> 30
Maio 2003	53,1 (0,4) <sup>a</sup>	23,9 (4,2) <sup>Ab</sup>	—	—
Setembro 2003	—	20,9 (1,6) <sup>Aa</sup>	21,7 (2,4) <sup>a</sup>	22,8 (6,2) <sup>a</sup>

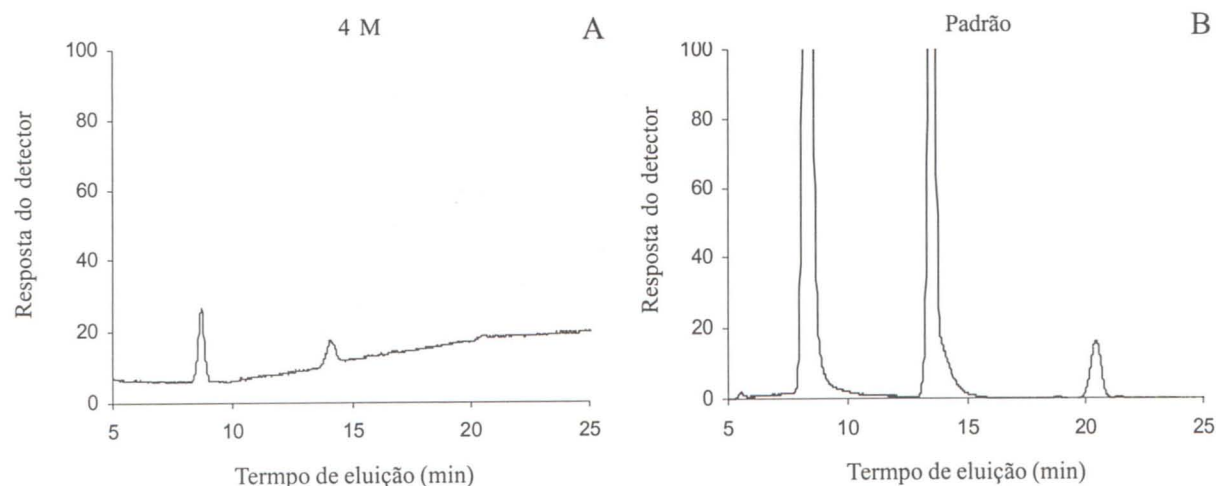


Figura 1. (A) Perfil cromatográfico dos oligossacarídeos da fração 4 M da parede celular de folhas de *B. decumbens* de tamanhos maiores que 30 cm. (B) perfil cromatográfico de oligossacarídeos (na seqüência da esquerda para direita: tri, tetra e pentassacarídeo) de  $\beta$ -glucanos de *Hordeum vulgare* Megazyme® tratados com a endo- $\beta$ -glucanase de *Bacillus subtilis* da mesma empresa.

de um efeito de diluição se distribuiria para os tecidos expandidos (Kim *et al.* 2000). Nos tecidos em crescimento, os  $\beta$ -glucanos atuam no processo de afrouxamento e desmonte da parede, que ao cessar o crescimento se tornaria mais um elemento estrutural, formando o domínio  $\beta$ -glucanos - GAXs interligados às microfibrilas de celulose.

Baseado na solubilidade, os  $\beta$ -glucanos e GAX podem ser classificados como polímeros solúveis em água e em álcali (Izydorczyk *et al.* 1998a,b). A análise de monossacarídeos neutros das frações de parede revelou um aumento de glucose na fração 4M de folhas maiores que 30 cm, sendo que parte desta glucose pode ser proveniente dos  $\beta$ -glucanos fortemente ligados aos arabinosilanos e solubilizados nesta fração (tabela 4). Outra parte ainda, seria oriunda do amido, uma vez que o DMSO não o removeu totalmente como se verificou com o teste de iodo-iodeto de potássio (dados não apresentados). Quanto aos arabinosilanos, na fração 4 M houve

diminuição na razão Ara:Xil (tabela 4), o que poderia indicar a presença de um polímero menos solúvel, como proposto por Roubroeks *et al.* (2000), e em interação com os  $\beta$ -glucanos como proposto por Izydorczyk & MacGregor (2000). Em *Rhynchelytrum repens* o mesmo fenômeno foi observado na fração 4M, e aparentemente o efeito hipoglicemiante demonstrado no estudo pode ser resultado da ação de ambos os polímeros (Paula *et al.* 2005).

Em conjunto, esses resultados sugerem que em folhas em crescimento de *Brachiaria decumbens*,  $\beta$ -glucanos e arabinosilanos apresentam maior solubilidade em água e conseqüentemente menor poder de interação intermolecular. Isto é compatível com a hipótese de que há maior flexibilidade da parede celular o que poderia ter efeito sobre a expansão foliar. Em folhas expandidas esses polímeros possivelmente desempenhariam funções mecânicas, compondo juntamente com a celulose o arcabouço da parede celular. *Brachiaria decumbens* representa um bom

Tabela 3. Razão molar entre tri e tetrassacarídeos dos  $\beta$ -glucanos de parede celular em folha de *Brachiaria decumbens* após hidrólise enzimática com endo- $\beta$ -glucanase de *Bacillus subtilis* e análise por Cromatografia de Troca Iônica de Alta Performance com detecção por Pulso Amperométrico. Análise estatística ANOVA ( $p < 0,05$ ); significância indicada pelas letras diferentes: maiúsculas entre as datas de coleta; minúsculas entre as classes de tamanho a cada coleta. Traços significam que não havia folhas no respectivo estágio de desenvolvimento. Nd = não foi detectado  $\beta$ -glucano.

Parede	Classes de tamanho (cm)			
	< 10	10-20	20-30	> 30
Maio 2003	2,03 (0,30) <sup>a</sup>	2,12 (0,04) <sup>Aa</sup>	–	–
Setembro 2003	–	2,93 (0,05) <sup>Ba</sup>	3,27 (0,36) <sup>a</sup>	nd



Tabela 4. Composição dos monossacarídeos neutros nas frações hemicelulósicas (0,1 e 4M) da parede celular de folhas de *Brachiaria decumbens* (% por área de picos do cromatograma) e razão Ara:Xil.

Classes de tamanho (cm)	Frações									
	0,1 M					4,0 M				
	ARA	GAL	GLC	XIL	ARA/XIL	ARA	GAL	GLC	XIL	ARA/XIL
< 10	33,8	5,4	11,6	49,2	0,69	33,1	6,3	10,4	50,2	0,65
20-30	34,9	6,2	11,7	47,1	0,74	31,1	5,2	12,1	51,1	0,61
> 30	34,1	6,1	12,7	47,1	0,72	28,3	5,4	18,7	47,6	0,61

modelo para futuros estudos de biossíntese e aplicações biotecnológicas de  $\beta$ -glucanos e de arabinoxilanos, por apresentar crescimento rápido, possibilitando várias coletas em diferentes fases do desenvolvimento da planta. Além disso, a partir dos dados obtidos com *Brachiaria decumbens*, os estudos de  $\beta$ -glucanos poderão ser estendidos para outras gramíneas nativas do cerrado, que até o momento não foram estudadas com enfoque em parede celular.

### Literatura citada

- Anderson, J.W. & Chen, W.L.** 1986. Cholesterol-lowering properties of oat products. *In*: F.H. Webster (ed.). Oats: Chemistry and technology. American Association of Cereal Chemists, Minnesota, pp. 309-333.
- Bomfim, E.R.P., Pinto, J.C., Salvador, N., Morais, A.R., Andrade, I.F. & Almeida, O.C.** 2003. Efeito do tratamento físico associado à adubação em pastagem degradada de braquiária, nos teores de proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. *Ciência Agrotecnológica* 27: 912-920.
- Buckeridge, M.S., Rayon, C., Urbanowicz, B., Tiné, M.A.S. & Carpita, N.C.** 2004. Mixed Linkage (1,3)(1,4)- $\beta$ -Glucans of Grasses. *Cereal Chemistry* 81: 115-127.
- Buckeridge, M.S., Vergara, C.E. & Carpita, N.C.** 1999. The mechanism of synthesis of a cereal mixed-linkage (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-glucan in maize: Evidence for multiple sites of glucosyl transfer in the synthase complex. *Plant Physiology* 120: 1105-1116.
- Buckeridge, M.S., Vergara, C.E. & Carpita, N.C.** 2001. The mechanism of synthesis of (1,4)-D-Glycans: insight into multi-site mechanisms of glycosyl transfer provided by the cereal mixed-linkage  $\beta$ (1,3)(1,4)-D-glucan synthase. *Phytochemistry* 57: 1045-1053.
- Carpita, N.C. & Gibeau, D.M.** 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal* 3: 1-30.
- Carpita, N.C. & Kanabus, J.** 1988. Chemical structure of the cell walls of dwarf maize and changes mediated by gibberelin. *Plant Physiology* 88: 671-678.
- Carpita, N.C.** 1984. Cell wall development in maize coleoptiles. *Plant Physiology* 76: 205-212.
- Carpita, N.C.** 1996. Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Plant Biology* 47: 445-476.
- Dubois, M., Gilles, A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F.** 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-355.
- Fincher, G.B. & Stone, B.** 1986. Cell walls and their components in cereal grain technology. *In*: Y. Pomeranz (ed.). Advances in cereal science and technology. American Association of Cereal Chemists, Minnesota, pp. 207-295.
- Francisco, A. & Sá, R.M.** 2001. Beta - Glucanas: Localização, Propriedades e utilização. *In*: F.M. Lajolo, F. Saura-Calixto, E.W. Penna & E.W. Menezes (eds.). Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Livraria Varela, São Paulo, pp. 91-101.
- Gorshokova, T.A., Wyatt, S.E., Salnikov, V.V., Gibeau, D.M., Ibragimov, M.R., Lozovaya, V.V. & Carpita, N.C.** 1996. Cell-wall polysaccharides of developing flax plants. *Plant Physiology* 110: 721-729.
- Harris, P. & Hartley, R.** 1976. Detection of bounds of ferulic acid in cell walls of the Gramineae by ultraviolet fluorescence microscopy. *Nature* 259: 508-510.
- Izydorczyk, M.S., Macri, L.J. & MacGregor, A.W.** 1998a. Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides - I. Water extractable  $\beta$ -glucans and arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers* 35: 249-258.
- Izydorczyk, M.S., Macri, L.J. & MacGregor, A.W.** 1998b. Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides - II. Alkali-extractable  $\beta$ -glucans and arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers* 35: 259-269.
- Izydorczyk, M.S. & MacGregor, A.W.** 2000. Evidence of intermolecular interactions of beta-glucans and arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers* 41: 417-420.
- Kim, J.B., Olek, A.T., & Carpita, N.C.** 2000. Plasma membrane and cell wall exo- $\beta$ -D-glucanases in developing maize coleoptiles. *Plant Physiology* 123: 471-485.

- Mantovani, V. & Martins, F.R.** 1988. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji Guaçu, Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica* 11:101-112.
- McDonald, A., Shinnick, F. & Ink, S.** 1992. Review of the effects of oats on human health. *In*: A.R. Barr (ed.). *The Changing Role of Oats in Human and Animal Nutrition*. 4<sup>th</sup> International Oat Conference Committee, Adelaide, Australia, pp. 1-8.
- Parrish, F.W., Perlin, A.S. & Reese, T.E.** 1960. Selective enzymolysis of poly- $\beta$ -D-glucans, and the structure of the polymers. *Canadian Journal of Chemistry* 38: 2094-2104.
- Paula, A.C.C.F.F., Sousa, R.V., Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. & Buckeridge, M.S.** 2005. Hypoglycemic activity of polysaccharide fractions containing  $\beta$ -glucans from extracts of *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb., Poaceae. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38: 885-893.
- Roubroeks, J.P., Andersson, R.A. & Aman, P.** 2000. Structural features of (1,3)(1,4)- $\beta$ -glucan and arabinoxylan fractions isolated from rye bran. *Carbohydrate Polymers* 42: 3-11.
- Tiné, M.A.S., Lima, D.U. & Buckeridge M.S.** 2003. Galactose branching modulates the action of cellulase on seed storage xyloglucans. *Carbohydrate Polymers* 52: 135-141.
- Trethewey, J.A.K. & Harris, P.J.** 2002. Location of (1 $\rightarrow$ 3)- and (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucans in vegetative cell walls of barley (*Hordeum vulgare*) using immunogold labeling. *New Phytologist* 154: 347-358.
- Wood, P.J., Weisz, J. & Blackell, B.A.** 1994. Structural studies of (1,3)(1,4)- $\beta$ -glucans by  $^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry* 71: 301-307.
- Woodward, J.R., Fincher, G.B. & Stone, B.A.** 1983. Water soluble (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II. Fine structure. *Carbohydrate Polymers* 3: 207-225.
- Yokohama, W.H., Hudson, C.A., Knuckles, B.E., Chiu, M.C.M., Sagre, R.N., Tulund, J.R. & Scheeman, B.O.** 1997. Effect of barley  $\beta$ -glucan in durum wheat pasta on human glycemic response. *Cereal Chemistry* 74: 293-294.

