

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA DE CANA-DE-AÇÚCAR
SUBMETIDA A ESTRESSE BIÓTICO COM**
Xanthomonas albilineans

Karina Maia Dabbas

Biomédica

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA DE CANA-DE-AÇÚCAR
SUBMETIDA A ESTRESSE BIÓTICO COM**
Xanthomonas albilineans

Karina Maia Dabbas

Orientadora: Profa. Dra. Maria Inês T. Ferro

Co-orientador: Dr. Marcelo Luiz de Laia

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Microbiologia Agropecuária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro 2009

D111p Dabbas, Karina Maia
Perfil de expressão gênica de cana-de-açúcar submetida a estresse biótico com *Xanthomonas albilineans* / Karina Maia Dabbas – Jaboticabal, 2009
xiv, 192 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

Orientadora: Maria Inês Tiraboschi Ferro

Banca examinadora: Mário Marcelo Luiz de Laia, Haroldo Alves Pereira Junior, Luciana Rossini Pinto, Eliana Gertrudes De Macedo Lemos, Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva

Bibliografia

1. Cana-de-açúcar. 2. EST. 3. *Xanthomonas albilineans*. 4. macroarranjos I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8:633.61

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

KARINA MAIA DABBAS – filha de Fouad Dabbas e Walkíria Maia Dabbas, nascida em 21 de maio de 1976, no município de Itumbiara - GO. Biomédica, graduada pela Faculdade Barão de Mauá, em julho de 1999. Atuou como bolsista no projeto Genoma da cana-de-açúcar no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBM), pertencente à FCAVJ/UNESP, no período de agosto/1999 à março/2000. Mestre em Microbiologia Agropecuária (concentração em Microbiologia) pela Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal (FCAV/UNESP), em Fevereiro de 2004, com a dissertação intitulada “Identificação de genes diferencialmente expressos em cana-de-açúcar inoculada com *Xanthomonas albilineans*, o agente causal da escaldadura da folha”. Concluiu doutorado em fevereiro de 2009 em Microbiologia Agropecuária (concentração em Microbiologia) pela Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal (FCAV/UNESP).

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina

(Cora Coralina)

Aos meus pais, Fouad e Walkiria, meus pontos de referência na vida, pelo amor, incentivo, dedicação e apoio proporcionados no decorrer dos anos.

Amo muito vocês!!!

Aos meus irmãos Aleksander e Frederic

Pela alegria de tê-los como família.

Amo muito vocês !!!

À minha avó Luzia, pelo exemplo de força e perseverança, a madrinha Wilma

Cleuza e Olavo pelo carinho e dedicação.

Amo vocês.

Dedico

Any e Dari; Guti e Angêlica, ao Walter e a Kite ("in memoriam"). Muito obrigada

pelo apoio e por nunca deixarem de acreditar em mim.

Amo vocês

Agradeço

AGRADECIMENTOS

À Deus pela Onipotência e Inteligência Suprema que sustenta o equilíbrio da vida....

À Profa. Maria Inês Tiraboschi Ferro, pelo apoio, discussões e sugestões indispensáveis para o desenvolvimento do trabalho, amizade e acima de tudo pela confiança.

À Prof. Jesus Aparecido Ferro, pelos conselhos e contribuição na realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador Dr. Marcelo Luiz de Laia, pelo imenso suporte dado a este trabalho, ensinamentos e amizade.

À Dra Poliana Fernanda Giachetto, minha grande amiga, pela ajuda no trabalho sendo responsável em grande parte por minha formação profissional.

Aos Professores componentes da banca de qualificação Dr. Marcelo Luiz de Laia, Dra. Janete Aparecida Desidério Senna, Dra. Eliana Gertrudes De Macedos Lemos, Dr. João Suzuki, Dr. João Pizauro Júnior, pelas correções e sugestões aplicadas no exame de qualificação.

Aos professores Dr. Marcelo Luiz de Laia, Dr. Haroldo Alves Pereira Júnior, Dra. Luciana Rossini Pinto, Dra. Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva e Dra. Eliana Gertrudes De Macedos Lemos por aceitarem compor a banca de defesa e por suas imensuráveis contribuições.

Agradeço àqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a elaboração deste trabalho: Profa. Dra. Suzelei, Prof. Dr. Silvio Lopes e Ronaldo (UNAERP), Vicente Alberto (CTC), Profa. Dra. Maria Cristina Carreira e França (USP).

À Profa. Dra Sônia Marli Zingaretti pela confecção das membranas de macroarranjos.

As minhas grandes amigas, Dra. Neli Martins de Barros e Dra. Poliana Fernanda Giachetto pela amizade, pelas idéias, discussões, sugestões e auxílio que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao pessoal da Bioinformática, Renata e Arthur pelo auxílio e atenção no decorrer do trabalho.

Ao meu amigo André (Splinter) pela ajuda nos experimentos de PCR em tempo real pelas discussões, dicas e paciência.

Ao meu amigo, Dr. Roberto Wilians Noda, pelos ensinamentos e amizade.

As minhas queridas e eternas amigas por estarem sempre do meu lado, por todos os momentos de carinho e compreensão: Fernanda (Ferzinha), Fabiana (Fabi), Elizabete (Bete), Andrea (Dea), Daniele (Dani), Poliana (Polinha), Ana Karina, Fabiana (Fafá), Flávia (e fofo do Gabriel), Gisele (Gigi). Adoro vocês !

Ao meu grande amigo Fabricio (Anjo) pela amizade, conselhos e apoio no meu trabalho. Adoro você !

Às amigas do LBM: Elaine, Juliana, Renata, Agda, Flávia (Flavinha), Mariza, Daniele, Flávia e Gisele e Maria Angela (nossa amiga agredada do LBM). Por todos os momentos de carinho, apoio e os infinitos momentos de alegria.

Aos meus amigos do LBM: Gustavo, Fabricio, Arthur, Rafael e Julio. Por todos os momentos de carinho, apoio e momentos de alegria.

Aos muitos e queridos amigos que passaram pelo LBM e deixaram muita saudade.

A Graça e ao Edmar pelo carinho e amizade.

Ao Seu Antônio e Dona Maria pelas conversas no horário de almoço.

Aos funcionários da UNESP, pela colaboração e pelo respeito com que sempre fui tratada.

Minha gratidão também para com os professores da Pós-graduação e colegas de doutorado.

Ao CTC (Centro Tecnológico Canavieiro Piracicaba) pelas orientações e doação das plantas.

À Capes, pelo auxílio financeiro pela bolsa de doutorado.

A todos os meus sinceros agradecimentos

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
CAPÍTULO 2- GENES DE CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADOS AO METABOLISMO DE DEFESA DURANTE O PROCESSO DE INFECÇÃO POR <i>Xanthomonas albilineans</i>	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
Ensaio experimental	16
Construção do macroarranjo de cDNA em membranas de náilon.....	17
Extração de RNA e Preparação do alvo de cDNA	18
Hibridação de membranas de alta densidade	19
Análise dos dados	20
Validação dos resultados por RT-qPCR.....	21
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	41
CAPÍTULO 3- Genes relacionados à transdução de sinal em cana-de-açúcar inoculada com <i>Xanthomonas albilineans</i>	48

RESUMO.....	48
ABSTRACT.....	49
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS.....	54
Ensaio experimental	54
Construção do macroarranjo de cDNA em membranas de náilon.....	55
Extração de RNA e Preparação do alvo de cDNA	55
Hibridação de membranas de alta densidade	56
Análise dos dados	57
Validação dos resultados por RT-qPCR.....	58
RESULTADOS	59
DISCUSSÃO	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	77
Anexo A.....	85
Anexo B.....	111
Anexo C	138

LISTA DE FIGURAS

Página

Capítulo 2

- Figura 1: Agrupamento dos 472 genes diferencialmente expressos nos macroarranjos de acordo com o perfil de expressão nas variedades resistente (R) e suscetível (S) (Tabela 1, anexo A). O número de genes dentro de cada Grupo está descrito acima do gráfico que representa o perfil de expressão de Grupo. 24
- Figura 2: Principais categorias funcionais dos genes diferencialmente expressos nas variedades com base no banco de dados "Gene Ontology", considerando um número mínimo de seqüências por GO igual a 2. 25
- Figura 3: Agrupamento dos 475 genes diferencialmente expressos nos macroarranjos de acordo com o perfil de expressão em resposta a inoculação com *X. albilineans*. (I) plantas inoculadas e (NI) plantas não inoculadas (**Tabela 2, anexo B**). O número de genes dentro de cada Grupo está descrito acima do gráfico que representa o perfil de expressão de Grupo. 27
- Figura 4: Principais categorias funcionais dos genes diferencialmente expressos após inoculação com *X. albilineans* com base no banco de dados "Gene Ontology", considerando um número mínimo de seqüências por GO igual a 2. 28
- Figura 5: Agrupamento dos 994 genes diferencialmente expressos nos macroarranjos de acordo com o perfil de expressão ao longo da cinética de infecção com *X. albilineans* (**Tabela 3, anexo C**). O número de genes dentro de cada Grupo está descrito acima do gráfico que representa o perfil de expressão de Grupo. 31
- Figura 6: Principais categorias funcionais dos genes diferencialmente expressos ao longo do tempo com base no banco de dados "Gene Ontology", considerando um número mínimo de seqüências por GO igual a 2. 32

Figura 7: Validação dos resultados dos macroarranjos por RT- qPCR de duas ESTs que apresentaram expressão diferenciada devido o estresse biótico ocasionado por *X. albilineans* (Tabela 2, Anexo B). A- EST com similaridade ao fator de transcrição MYB (SCRLLR1059C04). B- EST com similaridade ao fator de transcrição WRKY (SCRLLR1059H01). A quantificação relativa foi obtida através do método $2^{-\Delta\Delta C_T}$, usando o gene da proteína 14-3-3 como controle endógeno. Os dados representam a media de três replicatas biológicas (controles e tratadas)..... 33

Capítulo 3

Figura 1: Ilustração das possíveis vias de transdução de sinais já descritas na literatura e que foram identificadas no patossistema *X. albilineans* versus cana-de-açúcar. 53

LISTA DE TABELAS

Página

Capítulo 3

Tabela 1: ESTs que foram diferencialmente expressas ao longo da cinética de infecção com inoculadas com *X. albilineans* 62

Tabela 2: ESTs que foram diferencialmente expressas nas plântulas de cana-de-açúcar de variedade suscetível (SP78-4467) e resistente (SP82-1176). 65

Tabela 3: ESTs que foram diferencialmente expressas durante a inoculação das plântulas de cana-de-açúcar com *X. albilineans* 67

Capítulo 2 (Anexos A, B e C)

Tabela 1: Descrição dos genes diferencialmente expressos em ambas as variedades com base no banco de dados do “gene ontology” 85

Tabela 2: Descrição dos genes diferencialmente expressos após inoculação com *X. albilineans* com base no banco de dados do “gene ontology” 111

Tabela 3: Descrição dos genes diferencialmente expressos ao longo do tempo com base no banco de dados do “gene ontology” 138

RESUMO

A escaldadura da folha se destaca dentre as principais doenças que acometem a cultura da cana-de-açúcar no Brasil, provocando prejuízos em função da diminuição da produtividade e necessidade de troca precoce dos canaviais, principalmente nas variedades suscetíveis. A doença é causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* que coloniza o xilema da planta. O principal sintoma da doença é caracterizado por uma faixa clorótica que acompanha a nervura central da folha resultante da ação da fitotoxina albicidina que inibe a replicação de DNA dos cloroplastos. Os métodos de controle se baseiam no uso de variedades resistentes por meio de melhoramento genético. Diante deste fato, o objetivo do trabalho foi estudar os mecanismos moleculares envolvidos no processo de defesa de duas variedades de cana-de-açúcar, uma resistente (SP82-1176) e outra suscetível (SP78-4467), contra a infecção por *X. albilineans*. Para esta finalidade foi realizado um ensaio experimental seguindo uma cinética de infecção com intervalos de coleta de 6, 48 e 120 horas após a infecção com a fitobactéria. O perfil de expressão gênica foi avaliado por meio da utilização de um macroarranjo contendo 3.575 cDNAs de duas bibliotecas de folha (LV e LR) provenientes do projeto SUCEST. Os dados gerados pelas análises estatísticas evidenciaram que 473 genes foram diferencialmente expressos (induzidos ou reprimidos) na interação entre as variedades, 472 genes durante o tratamento e 994 genes foram diferencialmente expressos ao longo da cinética de infecção. Foi possível identificar genes pertencentes a famílias de fatores de transcrição como WRKY e Myb assim como proteínas envolvidas com processos de detoxificação de espécies reativas de oxigênio como as peroxidasas e outras proteínas relacionadas com mecanismos de defesa. Os dados mostram também que houve a indução de genes relacionados a transdução de sinal ao longo da toda a cinética de infecção, porém no intervalo de 6 horas apresentou o maior número de transcritos diferencialmente expressos quando a planta foi confrontada com o fitopatógeno.

Palavras-chave: cana-de-açúcar, EST, *Xanthomonas albilineans*, macroarranjos

GENE EXPRESSION PROFILING OF SUGARCANE SUBMITTED TO *Xanthomonas albilineans* BIOTIC STRESS

ABSTRACT

The leaf scald disease is one of the most devastating sugarcane diseases in Brazil, causing losses in terms of decreased productivity and the need for early replacement of sugarcane, especially in susceptible varieties. The disease is caused by the xylem-invading pathogen *Xanthomonas albilineans*. The main symptom of the disease is characterized by a chlorotic band that accompanies the midrib of the leaf, resulting from the action of albicidin phytotoxin, that inhibits the replication of chloroplast DNA. Leaf scald control methods are based on use of resistant varieties obtained through genetic improvement. The objective of this work was to study the molecular mechanisms involved in defense process against *X. albilineans* infection, in two sugarcane varieties, resistant (SP82-1176) and susceptible (SP78-4467). For this purpose, a test was conducted following a kinetics of experimental infection with collection intervals of 6, 48 and 120 hours after phytoinfection. The gene expression profile was evaluated by using a microarray containing 3,575 cDNAs from two leaf libraries (LV and LR) from SUCEST. Statistical analysis showed 473 genes differentially expressed (induced or repressed) in the interaction between variety, 472 between treatments and 994 over the kinetics. It was possible to identify genes belonging to families of transcription factor, as well as Myb and WRKY, proteins involved in detoxification processes of reactive oxygen species, such as peroxidase, and other proteins related to defense mechanisms. The data also show that there was induction of genes related to signal transduction along the kinetics of infection, with the first 6 hours presenting the highest number of differentially expressed transcripts, after the plant was faced with the pathogen.

Keywords: sugarcane, EST, *Xanthomonas albilineans*, microarray

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

Cana-de-açúcar: classificação botânica, origem e importância economia

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) é uma espécie alógama pertencente a família Gramineae (Poaceae), do gênero *Saccharum*. É originária do sudeste Asiático, na grande região da Nova Guiné e Indonésia (DANIELS & ROACH, 1987) A maioria das variedades comerciais é originária do cruzamento interespecífico de *Saccharum officinarum* com outras espécies do gênero como *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. sinense* e *S. barbieri*. As variedades comerciais de cana-de-açúcar cultivadas atualmente são resultantes de cruzamentos realizado na Índia, entre as espécies do gênero *Saccharum*. Em meados do século XIX, os melhoristas realizaram o cruzamento de alguns tipos de *S. officinarum* (cana nobre) com outras espécies do gênero, especialmente *S. spontaneum*, com a finalidade de reunir, nos híbridos, a capacidade de armazenamento de sacarose presente em *S. officinarum* com características de resistência a doenças e tolerância a fatores abióticos de outras espécies do gênero *Saccharum* (MATSUOKA et al., 1999). Porém, há relatos de que as primeiras mudas de cana-de-açúcar foram trazidas para o Brasil, através de Martim Afonso de Souza, que na metade do século XVI, iniciou o seu cultivo na Capitania de São Vicente (CASTRO et al., 2001).

Para o Brasil a cultura de cana-de-açúcar é especialmente importante por possuir duas regiões produtoras, com safras alternadas, podendo assim, manter sua presença no mercado mundial ao longo de todo o ano. Os dados da safra de 2007/08 mostram que esta cultura está presente em mais de 6,92 milhões de hectares, em duas regiões distintas: Centro-Sul (82,27%) e Norte-Nordeste (17,73%), separadas por regimes de chuvas diferentes (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR).

Atualmente, a cana-de-açúcar é uma das melhores opções dentre as fontes de energia renováveis e, por isso, ocupa lugar estratégico dentro das políticas econômica

e agrícola brasileiras. De acordo com os dados atuais de produtividade de cana-de-açúcar no país, nos últimos anos houve significativa evolução, sendo que a produção nacional, destinada à indústria sucroalcooleira e a outros fins, gerou em torno de 547,2 milhões de toneladas, superando a safra anterior em 15,20%. Desse total, aproximadamente 473,16 milhões de toneladas, das quais 46,92% (221,99 milhões de toneladas) são para a fabricação de açúcar e 53,08% (251,17 milhões de toneladas) é para a produção de álcool, uma importante fonte econômica para o Brasil, utilizada como combustível alternativo, o qual, além de menos poluente, tem menor custo em relação ao combustível derivado do petróleo (Unica). O restante, 74,02 milhões de toneladas, é destinado a fabricação de cachaça, à alimentação animal (CONAB-<http://www.conab.gov.br>) e outros fins como o bagaço, que é matéria prima para produção de energia e papel, e a vinhaça, que pode ser utilizada como fertilizante ou complemento de ração animal (LUCCHESI, 1995).

Toda essa produção e utilidades somente foram possíveis graças ao melhoramento genético dessa espécie, principalmente às variedades. Neste tocante, as variedades comerciais de cana-de-açúcar são oriundas do cruzamento interespecífico de *Saccharum officinarum* e *Saccharum spontaneum*, seguido de retrocruzamentos usando *Saccharum officinarum* como espécie genitora recorrente, podendo possuir apenas de 5 a 10% do genoma das espécies parentais doadoras (LU et al., 1994). Esta estratégia de melhoramento resulta em um germoplasma com elevado número de ploidia e de complexo comportamento meiótico, sendo talvez, por isso, dentre os membros da família *Poaceae*, a espécie menos caracterizada do ponto de vista genético. No entanto, esta cultura é bastante estudada quanto aos seus aspectos produtivos, fato que decorre da sua importância econômica.

Mas, mesmo com esse programa de melhoramento genético excelente, a cana-de-açúcar tem sofrido ataque de diversas doenças, fator que limita o rendimento e a longevidade da cultura. Dentre as mais de cem doenças que já foram identificadas, nessa cultura, as mais importantes são a escaldadura das folhas, o raquitismo da soqueira, mosaico e ferrugem, que resultam nas perdas mais significativas para a

produção (RAMALLO et al., 2000). Portanto, estudos que possam auxiliar na obtenção de variedades resistentes à doenças em cana-de-açúcar são de extrema importância.

Escaldadura da folha em cana-de-açúcar

A escaldadura da folha é uma das principais doenças que acomete a cultura de cana-de-açúcar em vários países. Foi primeiramente detectada em Java, Austrália e Fuji em 1920 e teve sua disseminação difundida em 58 localizações geográficas nas Américas, África, Ásia, Austrália e Oceania (ROTT et al., 1994).

O agente causal, *Xanthomonas albilineans*, é uma bactéria Gram negativa, sistêmica, flagelada, não formadora de esporos, aeróbica, e restrita ao xilema da planta (ZHANG & BIRCH, 1997). Suas células são geralmente baciliformes e medem de 0,25 a 0,3 μm por 0,6 a 1,0 μm . As colônias apresentam aspecto circular, viscoso e de pigmentação amarela (RICAUD & RYAN, 1989). Essa fitobactéria é responsável pela produção de uma família de antibióticos e fitotoxinas chamadas albicidinas, que inibem a replicação de DNA em organismos procarióticos e proplastídeos em cana-de-açúcar (BIRCH & PATIL, 1987). Diversos estudos têm relatado que a albicidina está envolvida na patogenicidade e especialmente no desenvolvimento da doença (BIRCH, 2001). A toxina também inibe a duplicação de DNA de procariotos, agindo como bactericida para uma grande diversidade de bactérias gram-positivas e gram-negativas (BIRCH & PATIL 1985).

A doença já foi relatada em praticamente todas as regiões do mundo onde a cultura é cultivada (DAVIS et al., 1997). É uma doença potencialmente destrutiva, principalmente nas variedades suscetíveis, provocando perdas na produtividade tanto no campo como na indústria, em função da diminuição da qualidade e quantidade de caldo (ROTT & DAVIS, 1994; JAUFEEERALLY-FAKIM et al., 2000). A capacidade de extermínio da cultura em poucos meses implica na necessidade de reforma precoce

dos canaviais, assim como no desenvolvimento de cultivares resistentes à doença (DAVIS et al., 1997).

A manifestação da doença pode ocorrer de duas maneiras. A fase crônica que é caracterizada pelo aparecimento de sintomas foliares, como o aparecimento de uma faixa branca (clorótica), de aproximadamente 1 a 2 mm, que acompanha a nervura central das folhas. No interior do colmo, observa-se a descoloração do xilema na região nodal, desenvolvendo-se até o entrenó (ROTT et al., 1994). Já na fase aguda, a faixa clorótica pode aumentar, culminando para clorose parcial ou total e evoluindo para o murchamento, necrose e morte da planta. Os sintomas da doença em cana-de-açúcar madura são caracterizados pelo desenvolvimento anormal com multibrotamento de gemas laterais (RICAUD & Ryan, 1989). A observação dos sintomas nas folhas e colmo é utilizada como parâmetro durante a avaliação da gravidade da doença e da resistência da planta após a infecção artificial com a fitobactéria (DAVIS et al., 1997).

Os seres humanos são os principais vetores para a disseminação do patógeno, visto que a transmissão dessa doença ocorre durante o corte da cultura por meio da utilização de facões ou implementos agrícolas contaminados com exsudatos de plantas doentes e/ou pelo plantio de mudas não certificadas. No entanto, acredita-se que existam outras formas de contaminação, visto que o patógeno já foi encontrado em raízes de plantas infectadas, sugerindo uma possível transmissão por contato de raiz (KLETT & ROTT, 1994), gotículas de água presentes em folhas de plantas sintomáticas e assintomática (AUTREY et al., 1995, KLETT & ROTT, 1994).

Esta doença apresenta como agravante a possibilidade de ocorrer infecção latente durante muitos meses. Nesta condição, apesar do patógeno colonizar o colmo, os sintomas podem ser transientes ou mesmo ausentes em cultivares resistentes, o que dificulta o diagnóstico (RICAUD & RYAN, 1989). Portanto, dado a todas estas características, a escaldadura é uma doença extremamente importante para a indústria canavieira, merecendo atenção especial.

Atualmente, as estratégias de controle da doença se restringem à troca de variedades suscetíveis por variedades resistentes e no plantio de mudas sadias. Assim, variedades com características agronômicas desejáveis e com alto potencial de produção, mas que são suscetíveis à doença, são descartadas durante o processo de seleção de novas variedades comerciais. Logo, a introdução de genes, por engenharia genética, que conferissem resistência à *X. albilineans*, é uma estratégia que poderia permitir o aproveitamento deste material genético, que comumente, é descartado durante o processo de melhoramento.

Interação planta-patógeno

Durante o contato da planta e patógeno ocorre uma comunicação estreita entre os dois organismos. Enquanto o patógeno tenta colonizar o sítio de infecção, retirando nutrientes do hospedeiro para sua sobrevivência, a planta é capaz de reconhecer o invasor e responder ao ataque com a produção de compostos antimicrobianos e outras respostas de defesa. As plantas e as diversas espécies de patógenos co-evoluíram. Como exemplo, as plantas estão equipadas com as defesas pré-existentes conhecidas como constitutivas, funcionando como barreiras físicas, porém, durante o processo evolutivo, algumas espécies de microorganismos se tornaram hábeis para contornar estas barreiras e causar infecção (WAN et al., 2002). Em contraposição, as plantas possuem outros mecanismos de defesa ainda mais eficientes que permanecem inativos, sendo acionados apenas quando entram em contato com os agentes invasores. Nesta situação, a resistência é dita pós-infeccional ou induzida (STICHER et al., 1997, AGRIOS et al., 1997).

Nas interações planta-patógeno, para que ocorra a ativação do sistema de defesa da planta, é preciso o reconhecimento de determinantes de avirulência pelos receptores da planta. Durante este reconhecimento, vias de transdução de sinais específicos são ativadas, resultando na produção de espécies reativas do oxigênio e acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (MCDOWELL & DANGL, 2000).

As interações entre planta e bactérias fitopatogênicas podem ser classificadas como compatíveis ou incompatíveis. Na interação compatível o patógeno invade o tecido vegetal e é capaz de inativar os mecanismos de defesa do hospedeiro, desenvolvendo-se nos tecidos resultando na manifestação dos sintomas através de mecanismos de patogenicidade que envolvem a produção de toxinas, secreção de enzimas líticas extracelulares e liberação de fatores de virulência no meio extra e intracelular do tecido vegetal. Estes fatores são capazes de modular, interferir, ou suprimir os mecanismos de defesa da planta (WHITE et al., 2000). Na interação incompatível o patógeno é restringido no sítio de infecção. A interpretação molecular para este tipo de interação prediz que um gene de avirulência (*avr*) do patógeno codifica uma proteína elicitadora (*Avr*) capaz de interagir especificamente com um receptor da planta (proteína *R*) codificada por um gene de resistência (FLOR 1971, KEEN, 1990). Em algumas interações incompatíveis existe evidência genética para a existência de uma relação gene-a-gene entre a planta e o patógeno (FLOR, 1971), existindo hipóteses de que os produtos de genes *avr* sejam reconhecidos pelos produtos de genes *R*, receptores nas plantas, resultando na resistência (DE WIT, 1995).

As respostas celulares da planta diante de um processo infeccioso são frequentemente correlacionadas com uma rápida morte celular chamada de resposta de hipersensibilidade (HR) na qual células do hospedeiro, vicinais ao ponto de entrada do patógeno, morrem logo após a infecção, restringindo assim o crescimento do patógeno no sítio de infecção (MOREL & DANGL, 1997). Outra resposta para este tipo de invasão é a explosão oxidativa, conduzindo para produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como H_2O_2 , radical superóxido (O_2^-), radical hidroxil (HO^\cdot) e o oxigênio singleto (O_2) (MITTLER, 2002). O desenvolvimento da HR, inicialmente desencadeado pela presença de espécies reativas de oxigênio, promove o estabelecimento gradual da resistência sistêmica adquirida (SAR). As respostas sistêmicas adquiridas e resposta sistêmica induzida (RSI) são reguladas por várias respostas sistêmicas do hospedeiro e resultam em uma elevada produção de compostos antimicrobianos, potencializando as respostas de defesa contra subseqüentes infecções (ALVAREZ et al., 1998).

Uso da metodologia de macroarranjos de cDNA

Dentre as diversas técnicas utilizadas para identificação de genes que respondem a determinado estímulo, biótico ou abiótico, os macroarranjos de cDNA permitem o monitoramento simultâneo do perfil de expressão de inúmeros genes, possibilitando a análise em larga escala de muitos processos biológicos que ocorrem em células, tecidos e organismos (ZHAO et al., 1995; COX, 2001).

O seqüenciamento do genoma da cana-de-açúcar pela rede ONSA ("Organization for Nucleotide Sequencing and Analysis") da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) possibilitou diversos tipos de abordagens por diferentes grupos de pesquisadores, visando o entendimento de vários processos bioquímicos-fisiológicos desta planta, que possui um genoma complexo, fato que dificulta os programas de melhoramento desta cultura, de grande interesse agro-econômico.

No laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBM) da FCAV/UNESP-campos de Jaboticabal vêm sendo desenvolvidos projetos relacionados ao estudo da interação planta-patógeno em cana-de-açúcar por meio da técnica de macroarranjos de cDNA, que se baseia no arranjo de milhares de amostras de DNA em uma única membrana de náilon. Estas amostras podem ser oriundas de bibliotecas de cDNAs, como as que foram geradas no projeto SUCEST. Assim, tornou-se possível a condução de estudos visando a identificação de genes envolvidos na interação cana-de-açúcar e o fitopatógeno *X. albilineans*, causadora da doença escaldadura da folha. A descoberta de genes induzidos na planta, pelo patógeno, durante o processo de infecção, pode levar ao conhecimento de detalhes desta interação e de mecanismos de patogenicidade, o que propiciaria a oportunidade de desenvolvimento de mecanismos de prevenção e controle da doença.

O estudo do perfil de expressão diferencial de genes em variedades de cana-de-açúcar resistente e suscetível à escaldadura da folha permitirá um maior entendimento a respeito deste patossistema. O conhecimento de novos genes relacionados com os

mais variados mecanismos de defesa pode permitir a obtenção de plantas transgênicas resistentes à doenças, tornando possível o plantio de variedades suscetíveis que possuam características culturais importantes.

Para elucidação dos mecanismos de defesa da cana-de-açúcar contra a fitobactéria *Xanthomonas albilineans*, o objetivo do trabalho foi verificar a expressão de genes durante uma cinética de infecção utilizando duas variedades de cana-de-açúcar, uma resistente e outra suscetível. Com o auxílio da técnica de macroarranjos de DNA, foi possível verificar o padrão de expressão de ESTs (“Expressed Sequence Tags”), provenientes de bibliotecas de cDNA construídas pelo projeto SUCEST. Para atingir esse objetivo, este trabalho de tese será dividido em dois capítulos, sendo o primeiro capítulo intitulado “Genes de cana-de-açúcar relacionados ao metabolismo de defesa durante o processo de infecção por *Xanthomonas albilineans*”, e o segundo intitulado “Identificação de genes relacionados à transdução de sinal em cana-de-açúcar submetida a estresse biótico”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 4. ed. Academic Press: San Diego, 1997. 635p.

ALVAREZ, M. E.; PENNELL, R. I.; MEIJER, P. J.; ISHIKAWA, A.; DIXON, R. A.; LAMB, C. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity, **Cell**, v. 92, p. 1-20, 1998.

AUTREY, L. J. C.; SAUMTALLY, S.; DOOKUN, A.; SULLIVAN, S.; DHAYAN, S. Aerial transmission of the leaf scald pathogen, *Xanthomonas albilineans*. **Proceedings International Society of Sugar Cane Technologists**, v.21, p.508–526, 1995.

BIRCH, R. G. *Xanthomonas albilineans* and the antipathogenesis approach to disease control. **Molecular Plant Pathology**, v.2, p.1-11, 2001.

BIRCH, R. G.; PATIL, S. S. Evidence that an albicidin-like phytotoxin induces chlorosis in sugarcane leaf scald disease by blocking plastid DNA replication. **Molecular Plant Pathology**, vol.30, p.207-214, 1987.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. **Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar; seringueira; coqueiro; dendezeiro e oliveira**. *Cosmópolis*: Editora Stoller do Brasil, 138p, 2001.

CONAB: <http://www.conab.gov.br>

COX, J. M. Applications of nylon membrane arrays to gene expression analysis. **Journal Immunological Methods**, v.250, p.3-13, 2001.

DANIELS, J., ROACH. B. T. **Taxonomy and evolution**. In: HEINZ, D.J. (ed.).

Sugarcane improvement through breeding. New York: Elsevier. p. 7-84, 1987

DAVIS, M. J.; ROTT, P.; WARMUTH, C. J.; CHATENET, M.; BAUDIN, P. Intraspecific genomic variation within *Xanthomonas albilineans*, the sugar cane leaf scald pathogen. **Phytopathology**, v.87, n.3, p.316-324, 1997.

DE WIT, P.J. G. M. Fungal avirulence genes and plant resistance genes: unraveling the molecular basis of gene-for-gene interactions. **ADV. BOT. RES.**, v.21, p.147-185, 1995.

FLOR, H. H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annu. Rev. Phytopathol.** v.9, p. 275-296, 1971.

JAUFEERALLY-FAKIM, Y.; AUTREY, J. C.; DOOKUM, A.; TOTH, I. K.; DANIELS, M. Genetic identification of the leaf scald pathogen, *Xanthomonas albilineans*, In Mauritius using a new set of specific primers. **Sugar Cane International**, v.24, n.1, p. 7-13, 2000.

KEEN, N. T. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. **Annu. Rev. Genet.**, v. 24, p. 447-463, 1990.

KLETT, P.; ROTT, P. Inoculum sources for the spread of leaf scald disease of sugarcane caused by *Xanthomonas albilineans* in Guadeloupe. **Journal of Phytopathology**, v.142, p. 283–291, 1994.

LU, Y. H.; D'HONT, A.; WALKER, D. I. T.; RAO, P. S.; FELDMANN, P.; GLASZMANN, J. C. Relationships among ancestral species of sugarcane revealed with RFLP using single-copy maize nuclear probes. **Euphytica**, v. 78, p. 7–18, 1994.

LUCCHESI, A.A. **Processos fisiológicos da cultura de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)**. Piracicaba, ESALQ/USP, 1995, 50 p.

MCDOWELL, J.M.; DANGL, J.L. Signal transduction in the plant immune response. **Trends Biochem. Science**, v.25, p.79-82, 2000.

MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; CALHEIROS, G. C. **Hibridação em cana-de-açúcar**. Visoça: Editora UFV, 1999. P. 221-2454.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **TRENDS in Plant Science**, v.7, n.9, 2002.

MOREL, J.-B. & Dangl, J. L. The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. **Cell Death Differ.** v. 4, p. 671–683, 1997.

RAMALLO, J.; RAMALLO, N. E. V.; PLOPER, L. D. Diagnóstico de enfermidade de la caña de azúcar: metodologías aplicadas por la EEADAC. *Avance Agroindustrial*, Tucumã, v.21, n.1, p.8-12, 2000.

RICAUD, C.; RYAN, C. C. Leaf Scald. IN: RICAUD, C.; RYAN, B. T.; GILLASPIE, A. G.; HUGHES, C. G (Ed). **Diseases of Sugarcane**. Amsterdam, Elsevier Publishing Co. p.39-58, 1989.

ROTT, P., M. ABEL, D. SOUPA, P. FELDMANN, P. Letourmy. Population dynamics of *Xanthomonas albilineans* in sugarcane plants as determined with an antibiotic resistant mutant. **Plant Dis.** v. 78, p.241–247, 1994.

ROTT, P.; DAVIS, M. J.; BAUNDIN, P. Serological variability of *Xanthomonas albilineans*, causal agente of sugarcane leaf scald disease. *Plant Pathology*, v. 43, p. 344-9, 1994

STICHER, L., MAUCH-MANI, B., MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance **Annual Review of Phytopathology**, v.35, p.235-270, 1997.

WAN, J.; DUNNING, F. M. BENT, A. F.; Probing plant-pathogen interactions and downstream defense signaling using DNA microarrays. **Funct Integr Genomics**, v.2, p.259–273, 2002.

WHITE, F. F.; YANG, B.; JOHNSON, LB. Prospects for understanding avirulence gene function. **Curr Opin Plant Biol**, v. 3, p. 291-298, 2000.

ZHANG, L. BIRCH, R. G. The gene for albicidin detoxification from *Pantoea dispersa* encodes an esterase and attenuates pathogenicity of *Xanthomonas albilineans* to sugarcane **Plant Biology**. v. 94, n.18, p. 9984–9989, 1997.

ZHAO, N.; NASHIDA, H.; TAKAHASHI, N.; MISUMI, Y.; SAKAKI, Y. High density cDNA filter analysis: a novel approach for large-scale, quantitative analysis of gene expression. **Gene**, v.156, p.207-213, 1995.

CAPÍTULO 2- GENES DE CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADOS AO METABOLISMO DE DEFESA DURANTE O PROCESSO DE INFECÇÃO POR *Xanthomonas albilineans*.

RESUMO

A escaldadura da folha, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* colonizadora do xilema, é uma das principais doenças da cana-de-açúcar. A sintomatologia na fase crônica é caracterizada principalmente pelo aparecimento de sintomas foliares com o aparecimento de uma faixa branca paralela à nervura central da folha, que pode evoluir até a queima total e culminar na morte da touceira. Neste trabalho, a técnica de macroarranjos de cDNA foi empregada para o estudo da expressão de 3.575 ESTs (expressed sequence tags) em folhas de cana-de-açúcar. Foram utilizadas duas variedades, sendo uma resistente (SP82-1176) e outra suscetível (SP78-4467) a *Xanthomonas albilineans*, as quais foram infectadas mecanicamente por ferimentos. As membranas dos macroarranjos foram confeccionadas a partir de ESTs de bibliotecas de folha e cartucho de cana-de-açúcar provenientes do projeto SUCEST e hibridizadas contra sondas de cDNA de plantas infectadas e de plantas controles marcadas com isótopos radioativos. As análises estatísticas indicaram que das 3.575 ESTs analisadas, 472 foram diferencialmente expressas entre as variedades resistentes e suscetíveis, enquanto que 475 apresentaram comportamento diferenciado em relação ao tratamento. A interação que apresentou maior número de ESTs diferencialmente regulados foi em relação aos intervalos de coleta, somando 994 ESTs. Dentre os genes diferencialmente expressos foi observado genes envolvidos com fatores de transcrição como o WRKY e MYB, proteína relacionada com a detoxificação de ROS como, por exemplo, a peróxido dismutase e proteínas relacionadas com mecanismos de defesa como citocromo P450.

Palavras-chave: EST, genes de resistencia, cana-de-açúcar, macroarranjo.

GENES RELATED TO DEFENSE MECHANISM DURING XANTHOMONAS ALBILINEANS INFECTION IN SUGARCANE

ABSTRACT

The leaf scald disease, caused by the xylem-invading pathogen *Xanthomonas albilineans*, is one of the most devastating diseases of sugarcane. Chronic symptoms are characterized by white pencil-line streaks surrounding invaded leaf vascular bundles, which may result in fully burnt leaves, and by lateral bud development. In this work, using a macroarray approach, we analyzed the expression profile of 3,575 ESTs (expressed sequence tags) of sugarcane, in two sugarcane varieties, classified as susceptible (SP78-4467) or resistant (SP82-1176) to *Xanthomonas albilineans* infection. Membranes were constructed with ESTs from sugarcane leaf roll tissues and hybridized with radio labeled cDNAs from infected and non-infected sugarcane tissue. Statistical analysis of 3,575 ESTs showed that 472 genes were differentially expressed between resistant and susceptible varieties, with 475 presenting different behavior for each variety during the pathogen attack. Among the differentially expressed genes were observed transcription factors, such as Myb and WRKY, a detoxification protein linked to ROS (peroxide dismutase) and proteins related to defense mechanisms (cytochrome P450).

Keywords: EST, resistance genes, sugarcane, macroarray.

INTRODUÇÃO

As doenças que acometem a cana-de-açúcar têm sido um dos fatores que ocasionam o decréscimo da produtividade da cultura. Mais de uma centena de doenças já foram identificadas, sendo o mosaico da cana-de-açúcar, carvão, raquitismo da soqueira e a escaldadura das folhas, consideradas as mais importantes (RAMALLO et al., 2000).

A escaldadura é uma doença de ação sistêmica causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*. O sintoma na fase inicial da doença é caracterizado por uma estreita faixa clorótica que acompanha a nervura central da folha podendo evoluir para necrose total e morte da planta. Esta sintomatologia é provocada pela ação de uma toxina, chamada albicidina, que bloqueia a replicação de DNA dos plastídeos, podendo, também, representar o fator chave para a invasão sistêmica e a transição da infecção latente para doença (BIRCH, 2001).

Sua transmissão ocorre durante o corte da cultura, por meio da utilização de facões ou implementos agrícolas contaminados com exsudatos de plantas doentes, e a manutenção da mesma nos canaviais se dá por meio de plantio de colmos infectados (RICAUD & RYAN, 1989).

Atualmente, as estratégias de controle da doença se restringem à troca de variedades suscetíveis por variedades resistentes e ao plantio de mudas saudáveis. Assim, variedades com características agronômicas desejáveis e com alto potencial de produção, mas suscetíveis à doença, são descartadas durante o processo de seleção de novas variedades comerciais. Logo, a introdução de genes, por meio de engenharia genética, que conferissem resistência à *X. albilineans*, é uma estratégia que poderia permitir o aproveitamento deste material genético, comumente descartado dentro dos programas de melhoramento.

Neste sentido, o estudo das respostas gênicas da cana-de-açúcar durante as etapas iniciais da interação com *X. albilineans* poderá fornecer informações a respeito

dos genes expressos em resposta à doença. Além disso, o acompanhamento dessas respostas ao longo do tempo pode revelar informações a cerca de como estes genes são regulados durante o processo infeccioso e, assim, permitir identificar o momento em que cada gene é importante. Desse modo, futuramente esses genes selecionados poderão ser transferidos para genótipos suscetíveis de cana-de-açúcar a fim de verificar se irá conferir resistência ao patógeno. Por outro lado, esse tipo de abordagem poderá permitir uma melhor compreensão das vias metabólicas envolvidas no processo de resistência a patógenos em cana-de-açúcar. Assim, com o intuito de identificar genes envolvidos com o mecanismo de defesa da cana-de-açúcar em resposta à interação com *X. albilineans* foi construído um macroarranjo de cDNA, com bibliotecas de folha e cartucho provenientes do projeto SUCEST, e a expressão gênica foi monitorada ao longo do tempo, após a infecção com *X. albilineans*, em duas variedades de cana-de-açúcar, uma resistente e outra suscetível a doença. Mas, devido ao grande número de genes e a complexidade das vias metabólicas, optou-se por estudar, neste trabalho, somente os genes envolvidos com os mecanismos de defesa da planta quando confrontada com a bactéria.

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio experimental

O presente experimento foi realizado com uma variedade de cana-de-açúcar suscetível (SP78-4467) e outra resistente (SP82-1176) à escaldadura da folha causada por *X. albilineans*. As plântulas foram obtidas a partir de cultura de meristema gentilmente fornecidas pelo CTC (Centro Tecnológico Canavieiro). Para evitar contaminação, todo o processo de produção das plântulas foi realizado de maneira asséptica e os instrumentos utilizados foram completamente esterilizados. O cultivo das plântulas se deu em frascos tipo magenta contendo 50 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962). O delineamento experimental foi do tipo fatorial 2x2x3,

consistindo de duas variedades, dois tratamentos (controle e inoculado) e três tempos (6, 24 e 120 horas após a inoculação), com três repetições. De maneira casualizada, cada variedade foi dividida em dois grupos de nove plantas, perfazendo 18 unidades por variedade, assim distribuída: 9 plantas resistentes (controle), 9 plantas resistentes inoculadas com solução bacteriana; 9 plantas suscetíveis (controle), 9 plantas suscetíveis inoculadas com solução bacteriana.

A inoculação das plantas foi realizada durante o repique, utilizando uma tesoura contaminada com inóculo de *X. albilineans*, em meio de cultura Wilbrink's (WILBRINK, 1920), com equivalente a aproximadamente 10^8 unidades formadoras de colônias por mililitro. As plantas controles foram repicadas com tesoura imersa em meio de cultura Wilbrink's esterilizado. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em laboratório climatizado sob condições ótimas de temperatura e luminosidade. Três plântulas do grupo controle e três do grupo inoculado foram coletadas após 6, 24, e 120 horas da inoculação. No momento da coleta em condições livres de RNase, as plantas foram envolvidas em papel alumínio e armazenadas em nitrogênio líquido para posterior processamento e extração do RNA total.

Construção do macroarranjo de cDNA em membranas de náilon

Inicialmente, 3575 ESTs presentes no banco de dados do projeto SUCEST (VETTORE et al., 2001), representantes de genes expressos na folha (LV) e no cartucho (LR) foram selecionadas. Em seguida, os clones bacterianos armazenados no BCCC (Centro Brasileiro de Estocagem de Clones) correspondentes a cada um destes ESTs foram multiplicados e o DNA plasmidial foi extraído segundo a metodologia da lise alcalina ([HTTP://sucest.lad.dcc.unicamp.br/en/downloads/downloads.html](http://sucest.lad.dcc.unicamp.br/en/downloads/downloads.html)). A fim de confirmar a identidade de cada clone, todos foram previamente submetidos à seqüenciamento automático.

As 3.575 amostras de DNA plasmidial foram transferidas para membranas de náilon de 85 x 125 mm, carregadas positivamente (Genetix), utilizando-se um sistema

robotizado (Q-BOT-GENETIX-UK) presente no BCCC. As amostras foram depositadas em duplicata, com espaçamento de 900 micras entre cada ponto, num arranjo 5X4, perfazendo um total de 7.150 ESTs por membrana. Após a transferência do DNA, as membranas foram submetidas a tratamento em solução de desnaturação (NaCl 1,5M e NaOH 0,5M) e de neutralização (NaCl 1,5M e Trizma 1M) por 5 e 10 min, respectivamente e, posteriormente, fixou-se o DNA à membrana por radiação com luz UV (1600 joules) em aparelho Ultraviolet Crosslinker (CL1000, UVP), seguindo as recomendações do fabricante (Genetix, UK).

Extração de RNA e Preparação do alvo de cDNA

Aproximadamente 0,3 g de tecido das plântulas foram macerados em N₂ líquido com auxílio de pistilo e cadinho a até formação de um pó bem fino, transferido para tubos falcon estéril e procedido à extração do RNA total com o reagente Trizol (Invitrogen), de acordo com as recomendações do fabricante.

O cDNA foi individualmente produzido para cada uma das 36 amostras de RNA total extraídas de cada variedade nos respectivos intervalos de coleta. Essa síntese foi executada conforme procedimentos descrito por Schummer e colaboradores com modificações (1999).

A primeira fita de cDNA foi sintetizada a partir de 30µg de RNA total e 156 pmol de oligo-dT (dT¹⁸ VN Invitrogen) em um volume final de 7,5 µL. Essa mistura foi aquecida a 75 °C durante 10 minutos, e, imediatamente, transferida para banho de gelo, quando então foram adicionados 5 µL de tampão de primeira fita (5x), 2,5 µL de DTT (100mM), 80 U de RNAGuard, 10 mM de dNTPs (ATG) (todos da Invitrogen) e 3.000 Ci.mmol⁻¹ de [α -³³P]dCTP (30µCi). Na sequência, após manter a reação por a 42°C por 5 minutos, 250 U da enzima Superscript II Reverse Transcriptase (Invitrogen) foram acrescentados à reação. Após 30 minutos foi adicionado à reação 1,25 µL de dCTP (10mM), mantendo-se a 42 °C por mais 60 minutos. Após esse período adicionou-se 1 µL de oligonucleotídeo Poly-A (2µg/µL, Invitrogen) e, posteriormente, a amostra foi

desnaturada a 94 °C durante 5 minutos. Acrescentaram-se 1,4 µL de NaOH 5M e manteve-se a 37 °C durante 15 minutos. Ao final desse período foram acrescentados 1,8 µL de HCl 3,94M e 7,0 µL de Tris-HCl 1M pH 7,5, e o volume final foi ajustado para 50 µL com água MilliQ. A reação foi purificada em colunas Sephadex G-50 (Invitrogen) seguindo as instruções de Sambrook e colaboradores (1989) e a incorporação radioativa foi determinada em cintilador (Beckman LS6500), para assegurar o uso de alvos com padrões similares de incorporação radioativa, sendo aceitável uma relação do valor da COM (contagem por minuto) acima de 30 %.

Hibridação de membranas de alta densidade

As hibridações foram feitas seguindo o protocolo descrito por McPherson (2000); (<http://www.tree.caltech.edu/protocols/overgo.html>) com modificações.

Para diminuir o *background*, as membranas foram colocadas, inicialmente, em solução fervente de SDS 0,1%, seguindo as recomendações do fabricante da membrana.

As membranas foram pré-hibridadas a 58 °C por 4 horas em uma solução contendo 1% BSA (m/v) (Fraction V, Sigma), 1 mM EDTA, 7% SDS (99,9%) e 0,5 M fostato de sódio (Na₂HPO₄). Decorrido o intervalo de pré-hibridação, os alvos marcados (previamente desnaturados) foram adicionados à mesma solução e as membranas foram hibridadas por 18 horas a 58 °C. Após esse processo as membranas foram lavadas, para retirar o excesso de alvo marcado e as hibridações inespecíficas que possivelmente tenham ocorrido. Foram realizadas duas lavagens, por períodos de 15 minutos a 58°C, de maneira sucessiva, com aproximadamente 100 mL de cada uma das seguintes soluções: 2xSSC + 0,1%SDS; 1,5xSSC + 0,1% SDS e 0,5xSSC + 0,1% SDS e uma última lavagem com 0,1X SSC por 5 minutos a temperatura ambiente. Após o processo de lavagem, as membranas foram seladas em filme plástico e expostas a cassetes sensíveis à radioatividade (Imaging Plates, Fujifilm, Japan) durante 96 horas, após o qual a imagem captada pelo cassete foi transferida para um computador por meio de um leitor de fósforo radioativo (Phosphoimager FLA3000-G-Fujifilm, Tokyo).

Logo em seguida à captação e armazenamento das imagens em microcomputador, as membranas utilizadas nos experimentos de hibridação tiveram as sequências marcadas removidas por meio de duas lavagens com uma solução (v/v) contendo 0,4N NaOH e 0,1% SDS por 15 minutos à 65 °C seguida por uma terceira lavagem com uma solução (v/v) contendo 0,2N Tris-HCl pH 8.0, 0,1% SDS e 0,1X SSC por 15 minutos à temperatura ambiente. Por fim, uma quarta e última lavagem foi executada com uma solução (v/v) de 0,2X SSC por cinco minutos à temperatura ambiente. A eficiência de remoção foi monitorada repetindo-se o processo de exposição da membrana ao cassete sensível à radioatividade e conseqüente leitura no aparelho (Phosphoimager FLA3000-G-Fujifilm, Tokyo), conforme descrito anteriormente.

Análise dos dados

As imagens, previamente digitalizadas, foram quantificadas no programa “Array Vision” (GE Helthcare). Após ajuste de uma grade conforme “layout” da membrana, os dados relativos à emissão de fundo para cada ponto, a emissão bruta dos pontos e a diferença entre eles foram exportados para um arquivo texto separado por tabulações.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico R (R Development Core Team, 2003) e bibliotecas desenvolvidas pelo projeto Bioconductor (R Development Core Team, 2008). Após a normalização dos dados com o pacote VSN (HUBER et al., 2002), procedeu-se à identificação dos genes diferencialmente expressos com o pacote maanova (WU et al., 2003), considerando um *p-value* menor ou igual a 0,01 (1%). Para análise diferencial foram levados em consideração os três fatores, tratamento (planta inoculada com a fitobactéria e controle inoculado com meio de cultura esterelizado), variedade (variedade suscetível e resistente) e tempo (coleta nos intervalos de 6, 24 e 120 horas). A fim de controlar a seleção de falsos positivos utilizou-se um valor de FDR igual a 5% ou seja, dentre todos os genes selecionados, a taxa de falso positivo estará, estatisticamente, sempre abaixo de 5%.

Após identificar os genes diferencialmente expressos, as respectivas sequências FASTA de nucleotídeos foram analisadas no programa Blast2GO, onde foi possível anotá-las, classificá-las de acordo com os termos do banco de dados Gene Ontology (Gene Ontology Consortium) e identificar possíveis domínios existentes no banco de dados InterPro (MULDER et al., 2007).

Validação dos resultados por RT-qPCR

O RNA total, utilizado nas hibridações das membranas, foi tratado com DNase (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. Na síntese da primeira fita de cDNA foram utilizados 5 µg do material tratado, 0,5 µg oligo (dT)₁₂₋₁₈ (Invitrogen) e 1 µl 10mM dNTP. Esta mistura foi aquecida a 65 °C por 5 minutos e mantida em banho de gelo por dois minutos. Após uma breve centrifugação, foram adicionados à reação 4 µl de 5X First-Strand Buffer (Invitrogen), 2 µl 0,1 M DTT, 40 U RNaseOUT (Invitrogen), mantida a 42 °C por dois minutos e então acrescida de 200 U de SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen) e mantida a 42 °C por mais 50 minutos. A reação foi finalizada a 70 °C por 15 minutos. O produto da síntese foi tratado com 2 U da enzima RNase H (Invitrogen) durante 30 minutos a 37 °C e em seguida a reação foi finalizada a 70 °C por 10 minutos.

As análises da transcrição reversa em tempo real por PCR (RT-qPCR) foram realizadas em termociclador ABI modelo 7500 System (Applied Biosystems) usando SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems). Com auxílio do programa Primer Express 3.0 Software (Applied Biosystems), foram desenhados oligonucleotídeos iniciadores a partir da seqüência consenso de cada gene alvo diferencialmente expresso, previamente assim identificados nos experimentos de hibridação. Esses oligos foram selecionados aleatoriamente dentre os resultados. As seqüências dos oligonucleotídeos iniciadores foram analisadas contra o banco de dados do SUCEST, usando a ferramenta Blast (ALTSCHUL et al., 1997), para verificar a especificidade das seqüências obtidas.

Para cada clone selecionado foram ensaiadas separadamente três replicatas biológicas de plantas controle e plantas tratadas. Cada reação foi amplificada em duplicata usando 2 µl de uma diluição 1:10 das amostras de cDNA, oligonucleotídeos na concentração final de 400 nM, 12,5 µl of SYBR Green Master Mix e água deionizada para o volume final de 25 µl. Os controles negativos para confirmar a ausência de contaminantes. Os parâmetros das amplificações foram: 50 °C por 2 minutos, 95 °C por 10 minutos, 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto. A expressão relativa dos genes foi normalizada usando o cDNA da proteína 14-3-3 (clone SCCSD2C03A12.g- Ca297824) e a razão da expressão diferencial (controle/tratado) foi determinada através do método $2^{-\Delta\Delta C T}$ (JOSHUA, et al., 2006).

RESULTADOS

Genes com expressão diferenciada entre as variedades de cana-de-açúcar

Das 3.575 ESTs analisadas, 472 foram diferencialmente expressas entre as variedades, representando 13,20 % do total. Um agrupamento baseado no perfil de expressão possibilitou identificar os transcritos que foram mais ou menos expressos em cada uma das variedades (**Figura 1**).

Dentre os genes selecionados como diferencialmente expressos entre as variedades, pode-se observar que 161 (34,11%) foram mais expressos na variedade resistente e estão reunidos nos grupos 1, 3 e 5. Por outro lado, 184 (38,98 %) foram mais expressos na variedade suscetível e são representados pelos grupos 2 e 4. Convém ressaltar que, apesar do perfil de expressão observado entre os grupos 1, 3 e 5 e entre os grupos 2 e 4 ter sido muito semelhante, o nível de expressão gênica detectado foi diferente para cada grupo.

Dentre os transcritos que tiveram uma maior expressão na variedade resistente é possível destacar proteínas com similaridade a $C_3H_2C_3$ dedos de zinco, glutathione

sintetase, proteína de 22 KDa induzível por seca, proteína similar ao hormônio giberelina e HSP70 de cloroplasto, que estão relacionadas a mecanismos de resistência e resposta à estresse (SPRUMILLI, 2000). Dentre outras proteínas encontradas destaca-se uma proteína “germin-like” associada com resposta ao ataque de patógenos, proteína de ligação a GTP, e duas proteínas ribossomais, que também tiveram uma maior expressão na variedade resistente (**Tabela 1, anexo A**).

Já com relação às proteínas codificadas pelos genes mais expressos na variedade suscetível, pode-se destacar: duas proteínas relacionadas com fatores de transcrição da família WRKY, uma proteína contendo o domínio F-box e duas proteínas envolvidas com degradação de proteínas, a subunidade 2-beta do proteosoma 20S e a subunidade tipo 5-alfa do proteosoma (**Tabela 1, anexo A**).

Dos 472 genes, 102 não apresentaram similaridade com proteínas conhecidas e 195 não apresentaram similaridade com nenhuma seqüência depositada no banco de dados GenBank, sendo assim, considerados “no hits”. Dentre as proteínas hipotéticas, 18 apresentaram similaridade com domínios no banco de dados InterPro (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>).

A anotação utilizando como base o banco de dados Gene Ontology (GO - <http://www.geneontology.org/>) permitiu a categorização funcional dos genes baseado na sua provável função. Após o mapeamento de 472 seqüências, 37 foram anotadas com sucesso e as categorias funcionais que apresentaram mais de duas seqüências para o GO são mostradas na **Figura 2**.

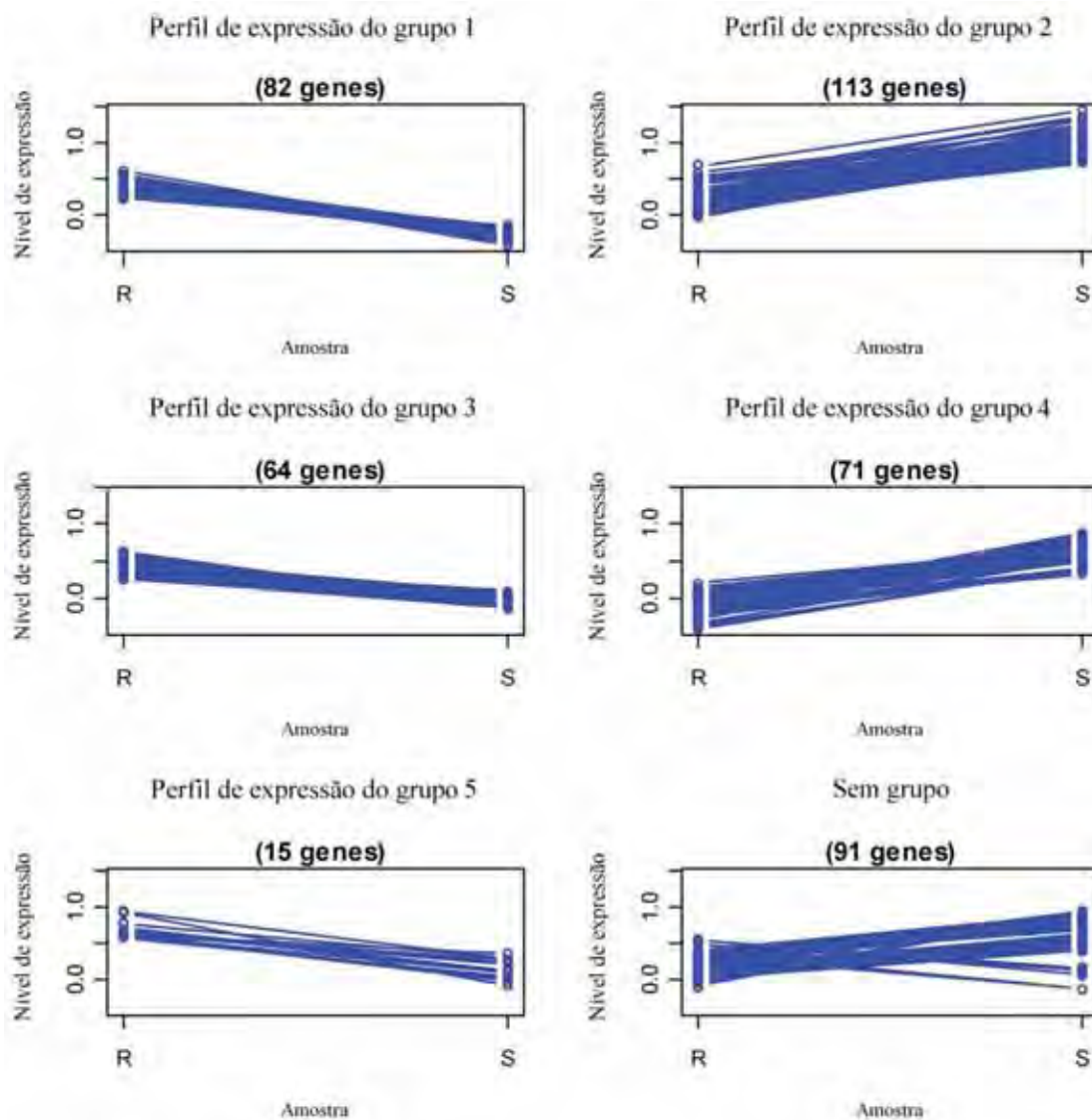


Figura 1: Agrupamento dos 472 genes diferencialmente expressos nos macroarranjos de acordo com o perfil de expressão nas variedades resistente (R) e suscetível (S) (Tabela 1, anexo A). O número de genes dentro de cada Grupo está descrito acima do gráfico que representa o perfil de expressão de Grupo.

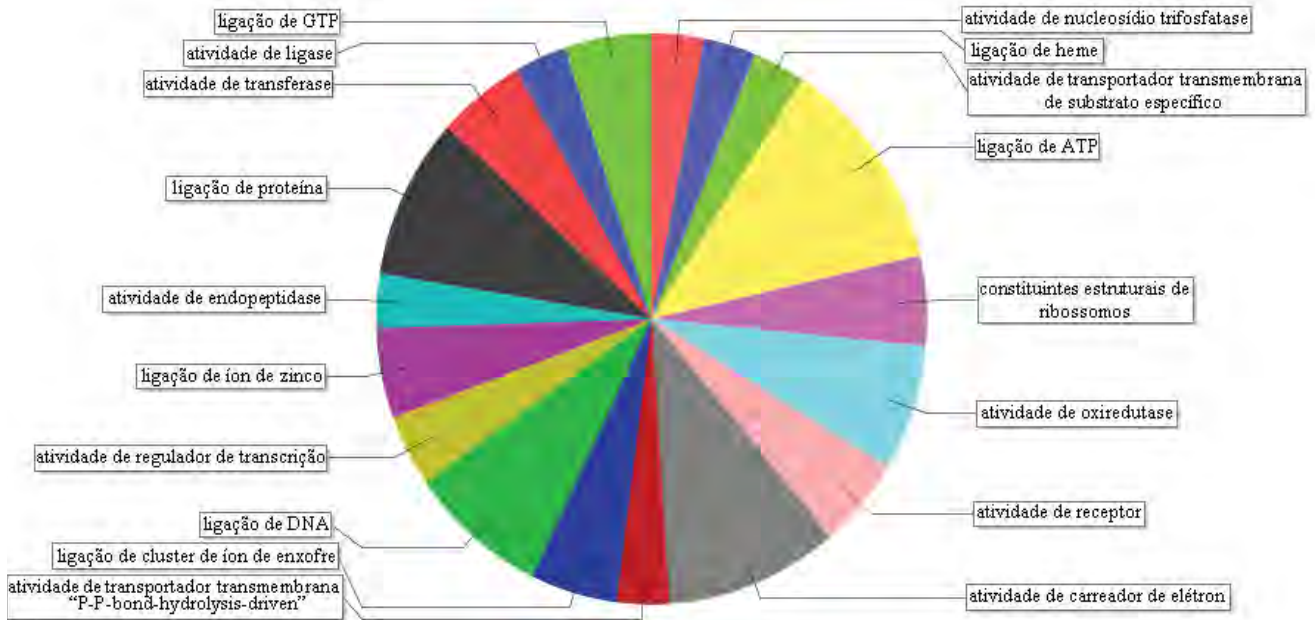


Figura 2: Principais categorias funcionais dos genes diferencialmente expressos nas variedades com base no banco de dados "Gene Ontology", considerando um número mínimo de seqüências por GO igual a 2.

Genes cuja expressão se alterou após inoculação com *X. albilineans*

Dos 3.575 genes depositados na membrana, 475 (13,28%) foram diferencialmente expressos em resposta à inoculação com o patógeno (**Tabela 2, Anexo B**). Desse total, 320 genes (67,36%) foram mais expressos nas plantas inoculadas com a fitobactéria (grupos 1 e 2; Figura 3). Entre os genes induzidos após a inoculação, alguns estão envolvidos com a organização celular e biogênese, tais como uma citocromo P450 monoxigenase, que foi identificada em interações entre plantas e insetos (SCHULER et al., 1996), magnésio, fungos e fermento (FRANK et al., 1996), uma proteína da família F-box e uma provável proteína contendo o domínio NB-ARC,

envolvida com mecanismos de resistência (OOIJEN, et al., 2008). Foi possível identificar uma categoria de proteínas relacionadas com fatores de transcrição, tais como um fator de transcrição da família MYB e uma proteína MADS-box (Tabela 2). Uma proteína similar à “tetratricopeptide-like helical”, envolvida em vários processos biológicos, como por exemplo, interações proteína-proteína, ciclo celular e atividade de chaperona (CORTAJARENA & REGAN, 2006), superóxido dismutase, envolvida na proteção contra estresse oxidativo (GUPTA, 1993), proteínas com similaridade ao hormônio auxina, proteína de choque térmico 101 induzida por cálcio e histona H3, também foram induzidas após inoculação com patógeno. Por outro lado, os genes que apresentaram repressão após a inoculação (gráficos 3, 4 e 5, **Figura 3**) somam 136 genes (28,63%) (**Tabela 2, anexo B**).

Dentre as proteínas hipotéticas, 15 apresentaram motivos com similaridade à domínios presentes no banco de dados Interpro.

Após o mapeamento das 475 seqüências diferencialmente expressas em resposta a inoculação com *X. albilineans*, 37 foram anotadas e as categorias funcionais que apresentaram mais de duas seqüências por GO são mostradas na Figura 4.

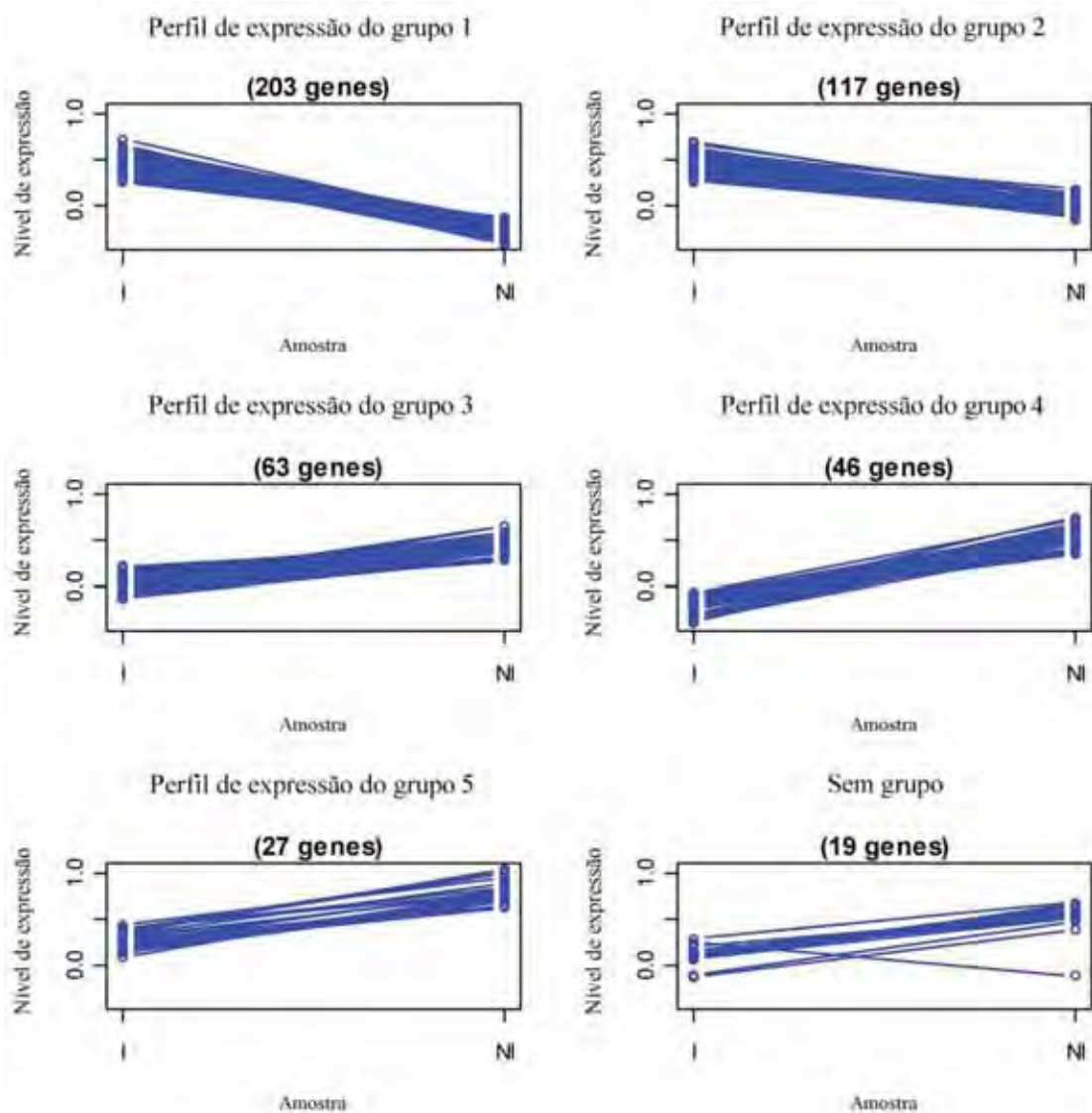


Figura 3: Agrupamento dos 475 genes diferencialmente expressos nos macroarranjos de acordo com o perfil de expressão em resposta a inoculação com *X. albilineans*. (I) plantas inoculadas e (NI) plantas não inoculadas (**Tabela 2, anexo B**). O número de genes dentro de cada Grupo está descrito acima do gráfico que representa o perfil de expressão de Grupo.

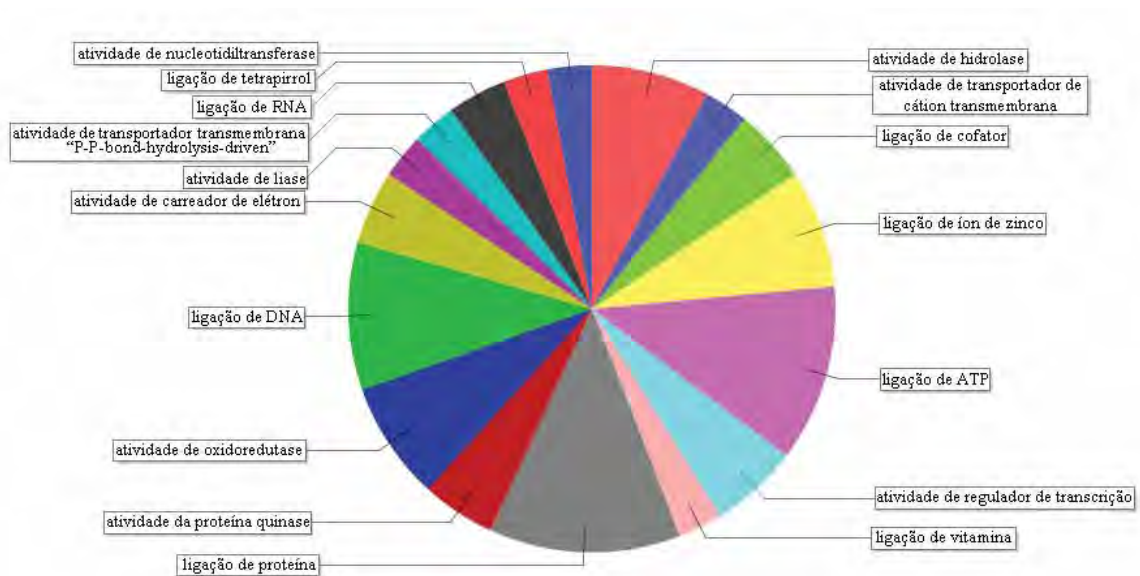


Figura 4: Principais categorias funcionais dos genes diferencialmente expressos após inoculação com *X. albilineans* com base no banco de dados "Gene Ontology", considerando um número mínimo de seqüências por GO igual a 2.

Expressão diferencial ao longo do tempo

Os dados evidenciaram que dos 3.575 genes, 994 foram diferencialmente regulados ao longo do intervalo de tempo analisado, perfazendo 27,80% dos genes presentes na membrana (**Tabela 3, Anexo C**).

Observa-se que dos 994 genes selecionados, 349 estão presentes nos grupos 1 e 3 (**Figura 5**) e apresentaram um perfil de expressão semelhante, mostrando aumento na expressão no intervalo entre 6 e 120 horas. No entanto, analisando o grupo 1, nota-se um aumento no nível de expressão contínuo no intervalo entre de 6 e 120 horas, contrastando com o perfil de expressão dos genes do grupo 3, que mostraram uma leve

repressão em 48 horas (**Figura 5**). Após identificação das proteínas pelo programa Blast2GO, verifica-se que os genes presentes nos grupos 1 e 3 codificam proteínas envolvidas em diversas funções, tais como fatores de transcrição (fator de ligação a g-box, "LIM transcription factor homolog", fator de transcrição) proteína com domínio pwwp, proteína "yabby 6-like", fator de transcrição MYB, outras relacionadas ao metabolismo de proteínas (protease específica de ubiquitina, proteínas ribossomais, proteossoma, precursor de serina carboxipeptidase, inibidor de serina protease Bowman-birk), proteínas de transporte ("mate efflux", proteína de transferência de lipídeos - LTP, proteína de transporte de aminoácidos), hormônios ("ethylene receptor-like protein 2", auxina), citocromo P450, que está envolvida em diversos processos metabólicos secundários, como a produção de fenilpropanóides e fitoalexinas (SCHULER et al., 1996, FRANK et al. 1996) e uma proteína envolvida com resposta à seca ("early-responsive to dehydration expressed") (**Tabela 3, Anexo C**). Por outro lado, na análise dos genes do grupo 2 e 5, nota-se que 232 genes apresentaram uma diminuição na expressão no intervalo de 6 a 120 horas, sendo que o grupo 5 teve uma queda constante e os do grupo 2 tiveram um declínio acentuado entre 6 e 48 horas, menos perceptível entre 48 e 120 horas (**Figura 5**). Os transcritos representantes destes grupos predizem proteínas envolvidas na biossíntese do etileno, hormônio vegetal envolvido em muitas respostas a estresse (acc oxidase, s-adenosilmetionina decarboxilase), proteína relacionada à senescência (senescence-associated protein), ao metabolismo de proteínas (proteínas ribossomais), histonas, proteínas com similaridade a uma ATPase de prótons vacuolar, proteínas relacionadas com atividade antioxidante (tioredoxina peroxidase), proteínas que estão envolvidas com o processo de desenvolvimento e bioenergética (protease dependente de energia "clp-like", proteína esterase lipase "thioesterase-like", GAMYB-binding protein), uma proteína do transportador ABC, dentre outras (**Tabela 3, Anexo C**).

O grupo 4 é composto por genes cuja expressão apresentou um incremento mais acentuado entre 6 e 48 horas, estabilizando depois entre 48 e 120 horas (**Figura 5**). Neste grupo, destacam-se proteínas relacionadas à estresse contendo o domínio nb-

arc, proteína de resistência e uma proteína associada à senescência (**Tabela 3, Anexo C**).

Dentre os genes diferencialmente expressos durante a cinética de infecção, 388 não apresentaram similaridade com nenhuma seqüência, sendo classificados como “no hit”, enquanto que 186 foram classificados como proteínas hipotéticas por apresentaram similaridade com seqüências de proteínas desconhecidas. Dentre as proteínas hipotéticas, 27 apresentaram similaridade com domínios do banco de dados InterPro (**Tabela 3**).

Após análise da função de cada uma das seqüências diferencialmente expressas ao longo do tempo estudado, 116 foram anotadas e as categorias funcionais que apresentaram mais de duas seqüências por GO são mostradas na **Figura 6**.

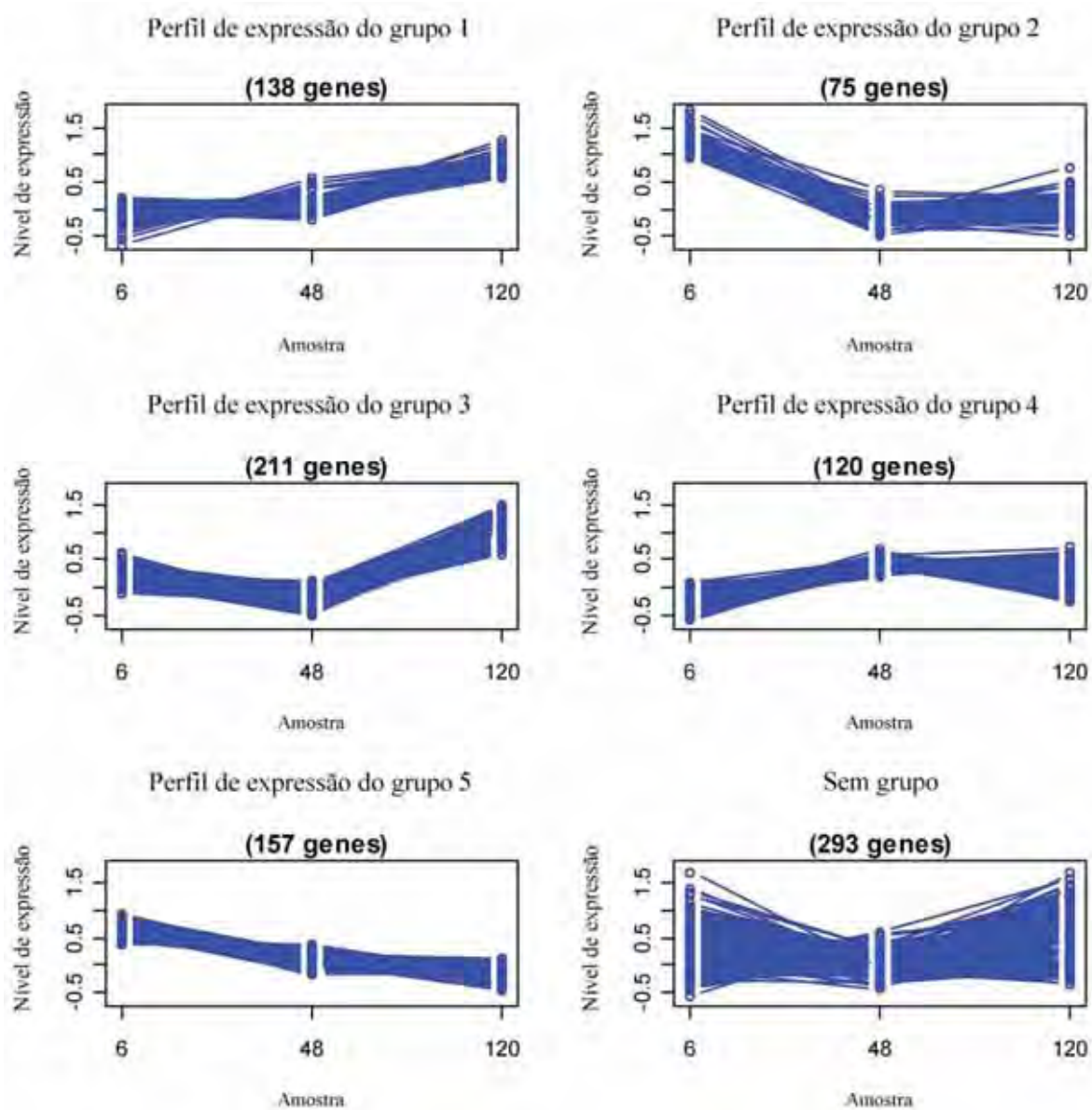


Figura 5: Agrupamento dos 994 genes diferencialmente expressos nos macroarranjos de acordo com o perfil de expressão ao longo da cinética de infecção com *X. albilineans* (Tabela 3, anexo C). O número de genes dentro de cada Grupo está descrito acima do gráfico que representa o perfil de expressão de Grupo.

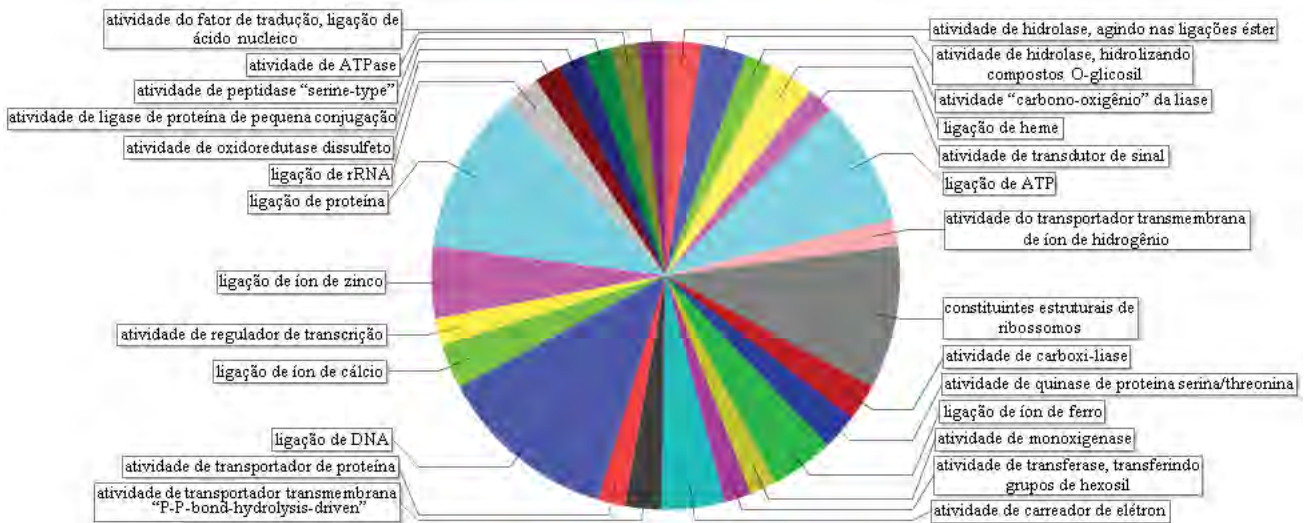


Figura 6: Principais categorias funcionais dos genes diferencialmente expressos ao longo do tempo com base no banco de dados "Gene Ontology", considerando um número mínimo de sequências por GO igual a 2.

A validação dos resultados de expressão obtidos na análise dos macroarranjos foi realizada por meio de RT-qPCR de duas ESTs escolhidas dentre aquelas que se mostraram diferencialmente expressas. Uma EST que tem similaridade com fator de transcrição MYB apresentou-se induzida na variedade resistente e pertence ao grupo 1 (SCRLLR1059C04, **Figura 1**). Enquanto que a EST que apresenta similaridade a um fator de transcrição WRKY mostrou-se reprimida na variedade resistente SCRLLR1059H01 em relação à variedade suscetível na qual foi induzida (**Figura 1**, grupo 4). O resultado do RT-qPCR corrobora com os dados gerados pelos macroarranjos como pode ser observado na **Figura 7**. As proteínas actina e β -tubulina, frequentemente utilizadas na literatura para a normalização de expressão gênica, não se mostrou adequada, pois apresentou variação de expressão ao longo do experimento quando comparada com o gene da proteína 14-3-3 (CA297824). Sendo assim, a normalização da expressão relativa dos genes candidatos para a validação do

macroarranjo foi realizada com o endógeno gene da proteína 14-3-3 (CA297824). Terzi e colaboradores (2005) também notaram que para a validação dos macroarranjos em um trabalho de expressão gênica de diversos órgãos de cana-de-açúcar os genes da actina e β -tubulina não foram os mais adequados. Por outro lado, o gene da proteína 14-3-3 e de uma poliubiquitina se mostraram eficientes para o controle da expressão gênica (TERZI et al. 2005) .

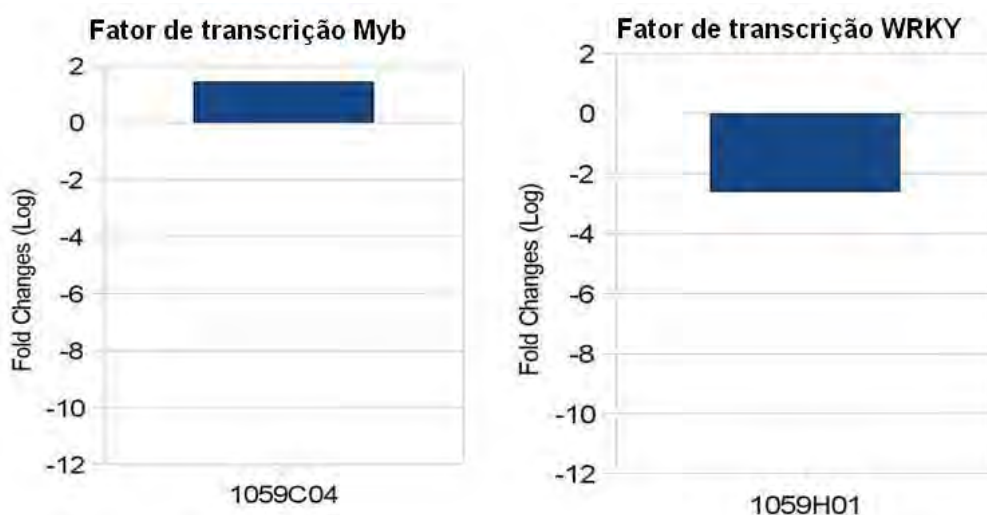


Figura 7: Validação dos resultados dos macroarranjos por RT- qPCR de duas ESTs que apresentaram expressão diferenciada devido o estresse biótico ocasionado por *X. albilineans* (Tabela 2, Anexo B). A- EST com similaridade ao fator de transcrição MYB (SCRLLR1059C04). B- EST com similaridade ao fator de transcrição WRKY (SCRLLR1059H01). A quantificação relativa foi obtida através do método $2^{-\Delta\Delta C_T}$, usando o gene da proteína 14-3-3 como controle endógeno. Os dados representam a media de três replicatas biológicas (controles e tratadas).

DISCUSSÃO

As bactérias endofíticas e fixadoras de nitrogênio como *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* têm sido isoladas de tecidos de cana-de-açúcar e sua presença na planta não causa alterações anatômicas ou sintomas de doenças. Neste tipo de interação, apesar das bactérias colonizarem os espaços intracelulares e tecidos vasculares de muitos órgãos dos vegetais, elas não atuam como fitopatógenos, e sim, estabelecem uma relação planta-bactéria com vantagens para ambas as espécies (REINHOLD, 1998). Acredita-se que esta interação benéfica, para ambas as partes, ocorra devido à ativação dos mecanismos de defesa do hospedeiro, que impede a colonização e crescimento excessivo até que ocorra o estabelecimento de uma interação eficiente para ambos (revisado por ARENCIBIA et al, 2006). Arencibia e colaboradores (2006) identificaram transcritos diferencialmente expressos, assim como a indução de mecanismos de defesa, durante a interação entre uma bactéria endofítica e cana-de-açúcar, versus a fitobactéria *Xanthomonas albilineans*.

Em nosso trabalho identificamos genes que foram diferencialmente expressos quando as plantas foram confrontadas com uma bactéria fitopatogênica. Como as plantas foram cultivadas a partir de região meristemática e foram manipuladas em condições estéreis, com ausência de qualquer outro microorganismo, podemos sugerir que os genes que foram diferencialmente expressos estão relacionados com a interação entre cana e a *X. albilineans*. Assim como nos relatos sobre a interação entre cana e endofíticos, em nosso trabalho identificamos genes relacionados à percepção do patógeno, no entanto, maior atenção foi dispensada aos genes relacionados com os mecanismos de defesa. Assim, a metodologia de macroarranjos foi utilizada com o objetivo de identificar alterações no perfil de expressão de plântulas de cana-de-açúcar após infecção com *X. albilineans*, visando um melhor entendimento deste patossistema. Esta técnica tem sido largamente empregada no monitoramento de alterações na

expressão gênica em plantas durante a interação planta-patógeno (EICHMANN et. Al. 2006, AGINDOTAN & PERRY, 2007).

Ainda não está claro quais são os mecanismos envolvidos neste tipo de interação, e que tipo de moléculas sinalizadoras estão envolvidas na relação entre planta e bactéria. Porém, estudos de interação planta-patógeno mostraram que a ativação do sistema de defesa da planta é dependente do reconhecimento de sinais moleculares por receptores da planta. Estes sinais moleculares gerados no sítio de infecção resultam na ativação/repressão de fatores de transcrição que reconhecem seqüências específicas da região promotora do DNA de genes relacionados à defesa (MCDOWELL & DANGL 2000).

Os fatores de transcrição contribuem para a regulação das respostas de defesa da planta, incluindo o aumento na expressão de genes PR (proteínas relacionadas à patogênese), através do reconhecimento de seqüências específicas de DNA na região promotora (RUSHTON & SOMSSICH, 1998).

Neste trabalho, observou-se a inibição da expressão do gene que codifica o fator de transcrição WRKY (SCRLLR1059H01, **Figura 1**, grupo 4), presente na variedade resistente contrastando com a variedade suscetível onde o gene apresentou-se induzido. Este resultado foi validado no ensaio realizado por RT-qPCR. As proteínas WRKY compreendem uma grande família de fatores de transcrição que são exclusivos de plantas. Em arabis, aproximadamente 6% do genoma codifica fatores de transcrição (EICHMANN et al., 2000), sendo que a maioria é representada por famílias que codificam as proteínas WRKY. Aproximadamente 74 famílias WRKY são encontradas em arabis e mais de 90 no genoma do arroz (ROBATZEK & SOMSSICH, 2002). Estas proteínas possuem uma ou duas cópias da seqüência consenso WRKYGQK e um domínio “*zinc finger*” (EUGLEM et al., 2000) e se ligam a regiões W-box encontradas em promotores de vários genes de resposta a patógenos, incluindo genes de resposta ao etileno, tais como PR1, PR2, PR3 e PR5 de tabaco (EUGLEM et al., 2000; KIM & ZHANG, 2004; YAMAMOTO et al., 2004). Estes fatores de transcrição atuam na regulação de processos biológicos como a defesa de

patógenos, ferimento e senescência (EUGLEM et al., 2000). Em muitas espécies de plantas, a infecção por patógenos e o tratamento com elicitores ou ácido salicílico rapidamente induz a expressão destes fatores de transcrição (DONG et al., 2003; KALDE et al., 2003). Em estudo realizado por Robatzek e colaboradores (2002), utilizando a metodologia de cDNA-AFLP DD, foi verificado que a mutação no WRKY6 resultou na alteração do perfil de expressão de genes envolvidos em processos de senescência e resposta à patógenos, como proteínas associada à senescência 1 (SEN1), uma protease, glutathione transferase, assim como genes que codificam proteínas PR (R22, R74, R143, R144), além de genes envolvidos com processos de sinalização, como cálcio e proteínas quinases. Além disso, quitinases e proteínas quinase “receptor-like” também têm sido indicadas como um possível alvo para as proteínas WRKY (YANG et al., 1999; DU & CHEN, 2000). Os resultados obtidos no trabalho evidenciaram um aumento na expressão de dois genes relacionados fatores de transcrição WRKY, sendo que um foi reprimido na variedade resistente e o mesmo mostrou perfil antagônico na suscetível (SCRLLR1059H01) e outro mostrou-se induzido no intervalo de 6 horas (SCQGLR2025E03).

Outra família de fatores de transcrição comumente encontrada em plantas são as proteínas que desempenham funções regulatórias no desenvolvimento e também nas respostas de defesa. A proteínas MYB geralmente possuem um domínio composto por três repetições imperfeitas, formando uma estrutura hélice-volta-hélice com aproximadamente 53 aminoácidos (R1, R2 e R3), com 3 resíduos de triptofano em cada repetição, espaçados regularmente, formando um agrupamento de triptofanos na estrutura tridimensional da proteína. Porém, podem ser encontradas proteínas com 2 repetições (R2 e R3), ou ainda com 1 repetição (R1) (STRACKE, 2001). Xavier e colaboradores (1999) identificaram e caracterizaram um novo gene AtMYB30, em arapidoopsis, o qual apresentou-se induzido durante uma resposta de hipersensibilidade desencadeada pela infecção da planta com *Xanthomonas campestris* PV. *campestris*. As proteínas MYB também agem na via biossintética de fenilpropanóides, que envolve a modificação de compostos derivados de fenilalanina, tendo como resultado a

produção de antocianinas e flavonóides. Alguns flavonóides e fenilpropanóides atuam como agentes de defesa (fitoalexinas) contra estresses bióticos e abióticos (MARTIN & PAZ-ARES, 1997). As proteínas MYB de *Antirrhinum majus* e tabaco ativam o gene da fenilalanina amônia-liase (FAL) que é a enzima que participa da rota inicial do metabolismo de fenilpropanóides, cuja participação resulta em compostos como a lignina e a fitoalexina (DIXON & PAIVA, 1995). A fenilalanina amônia-liase (FAL) possivelmente é a enzima mais estudada no metabolismo secundário vegetal, pois está situada em um ponto de ramificação entre o metabolismo primário e secundário e a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2004). A FAL está localizada nos cloroplastos das células vegetais, principalmente nas membranas dos tilacóides e atua na desaminação da L-fenilalanina, formando ácido trans-cinâmico e amônia. O ácido trans-cinâmico pode ser transformado em diferentes compostos fenólicos (ácido 4-cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico), os quais estão presentes na formação de ésteres, cumarinas, flavonóides e ligninas (CAVALCANTI et al., 2005). É importante ressaltar que em todos os intervalos da cinética de infecção conduzida no trabalho, assim como nas outras duas interações, tratamento e variedade foram observados a indução de ESTs relacionadas com proteínas Myb, identificadas nos intervalos de infecção (SCEQLR1094D08, SCBGLR1099F12, SCCCLR1080D10, SCCCLR1069B08) tratamento (SCQGLR2025H10) e variedade (SCRLLR1059C04). Ferro e colaboradores (2007) verificaram a presença de uma EST com similaridade a uma proteína MYB, induzida na variedade de cana-de-açúcar SP80-0185 que tem perfil de tolerância ao raquitismo da soqueira, doença causada pela bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*.

Os resultados mostram também que no intervalo de 6 horas houve a indução de uma EST com similaridade a um fator de transcrição G-box (SCEZLR1031F04) que se liga a seqüências promotoras cis-ativadoras presentes em vários promotores de plantas (MEIER & GRUÍSSEM, 1994), sendo requerido em respostas a diversos estímulos como irradiação, frio, desidratação, ácido abscísico e luz. De acordo com Ferl & Paul (2000), uma ruptura na seqüência G-box poderia culminar na perda da habilidade da região promotora em responder aos respectivos estímulos. Uma EST similar ao G-box

também foi induzida em plantas de cana-de-açúcar quando inoculadas com *Leifsonia xyli* subsp *xyli* (FERRO et al., 2007)

Identificamos também uma proteína com similaridade a citocromo P450 monooxigenase, induzida após tratamento com a fitobactéria. Esta enzima participa da via de biossíntese de componentes da parede celular (lignina), hormônios (ácido jasmônico, ácido salicílico, giberelinas) e alguns produtos como alcalóides e compostos antimicrobianos (fitoalexinas) (CHAPPLE, 1998, SCHOPFER, 1998). Os resultados dos ensaios de PCR em tempo real confirmaram os dados do macroarranjo, mostrando que houve indução desta enzima após o tratamento com a fitobactéria.

O dano oxidativo no tecido da planta causado pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) é evitado pela ação de enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase (FOYER & NOCTOR, 2005). No presente trabalho, encontrou-se um gene que codifica a enzima superóxido dismutase com maior expressão em plantas inoculadas (SCQGLR1088H10). O termo ROS (espécies reativas de oxigênio) é usado para descrever os produtos da remoção seqüencial de elétrons do oxigênio molecular (O_2), incluindo superóxido (O_2^-) e o radical hidroperoxil (H_2O_2) e hidroxila (OH). De acordo com Breusegem e colaboradores (2001), a ROS pode ser usada de maneira benéfica pelas plantas, pois desempenham um importante papel na indução de mecanismos de proteção durante estímulos bióticos e abióticos. O exemplo mais conhecido está na ativação de respostas de resistência durante interações planta-patógeno incompatíveis. Outra enzima que em plantas possui ação antioxidativa é a enzima peroxidase induzida nas plantas 6 horas após a inoculação com a bactéria (SCRFLV1036F07). A atividade desta enzima pode aumentar em plantas submetidas a diversos tipos de estresse (SIEGEL, 1993) e suas funções fisiológicas estão relacionadas ao “cross-link” entre proteínas estruturais da parede celular (FRY, 1986), estresse salino (AMAYA, 1999), lignificação (WHETTEN et al., 1998) e ferimentos (ESPELIE et al., 1986).

Os dados da análise estatística indicam que após o tratamento e durante os intervalos de 48 para 120 horas houve um aumento da expressão de uma proteína com domínio NB-ARC (SCUTLR1058D08). Uma região do domínio NBS de produtos de

genes de resistência (R) é similar ao mesmo domínio das proteínas **APAF-1** de humanos e **CED-4** de nematóides envolvidas na morte celular programada nestes organismos. Por esta razão, este domínio é atualmente denominado NB-ARC. O domínio NBS está presente em várias famílias de proteínas como G e ATPases, promovendo a hidrólise de nucleotídeos trifosfatados (ATP e GTP) em proteínas que atuam como sinalizadores celulares, e parece iniciar a ativação da resposta de resistência em plantas (PAN et al., 2000; BELKHADIR, 2004). A região NBS inclui motivos quinase 1^a (P-loop), 2 e 3, que auxiliam na ligação e hidrólise de nucleotídeos trifosfatados, e outros pequenos motivos com função desconhecida.

Existem poucos relatos a respeito da resposta de cana-de-açúcar ao processo de infecção com *X. albilineans*. Em trabalho realizado por Dabbas e colaboradores (2006) com cana-da-açúcar infectada com *X. albilineans* observou-se que o perfil de resistência pode estar relacionado principalmente com o controle do crescimento bacteriano pela indução de vias metabólicas envolvidas com a resistência como foi observado na variedade resistente SP82-1176. Os dados apresentados neste trabalho podem ajudar na identificação de genes que estão envolvidos na ativação dos mecanismos de defesa no início da infecção. Para esta finalidade realizamos o ensaio com plantas cultivadas “*in vitro*” e manipuladas em condições controladas a fim de evitar possíveis contaminações com outros microorganismos. As ESTs diferencialmente expressas entre as interações variedade, tempo e tratamento, notamos a indução na expressão de proteínas com similaridade a alguns fatores de transcrição como o G-box, fator de transcrição LIM, Myb, WRKY que podem estar envolvidos com a ativação de genes de resistência. Identificamos algumas proteínas com similaridade a hormônios auxina e etileno, giberelinas e proteínas envolvidas com organização celular e biogênese proteínas ribossomais transportador de aminoácido, transportador de lipídeos e proteínas que podem estar envolvidas na defesa da planta como citocromo P450, fosfolipase C, proteínas ubiquitinas e proteossoma.

Os dados acima demonstram várias respostas bioquímicas e moleculares de defesa da cana-de-açúcar. Estas respostas devem ser detalhadamente estudadas para

que melhor se compreenda as estratégias de defesa empregadas pela planta. Isto possibilitaria a manipulação das vias metabólicas e/ou substâncias intervenientes nos mecanismos ativos de defesa, visando o desenvolvimento de variedades mais aptas a se defenderem das pressões bióticas que lhes são impostas nos ambientes onde são cultivadas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGINDOTAN, B.; PERRY, K. L. Macroarray Detection of Plant RNA Viruses Using Randomly Primed and Amplified Complementary DNAs from Infected Plants. **Phytopathology**, v. 97, p.119-127, 2007.

ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped blast and psi-blast: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.

AMAYA, I.; BOTELLA, M. A.; DE LA CALLE, M.; MEDINA, M. I.; HEREDIA, A.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; QUESADA, M. A.; VALPUESTA, V. Improved germination under osmotic stress of tobacco plants overexpressing a cell wall peroxidase. **FEBS Letters**, v.457, p.80-84, 1999.

ARENCIBIA, A. D.; ESTEVEZ, Y.; VINAGRE, F.; BERNAL, A.; PEREZ, J.; CARMONA, E.; HEMERLY, A.E.; SANTANA, I. Induced-Resistance in sugarcane against pathogenic bacteria *Xanthomonas albilineans* mediated by an endophytic Interaction. **Sugar Tech**, v. 8, n.4, p. 272-280, 2006.

BELKHADIR, Y.; RAJAGOPAL, S.; DANGL, J. Plant disease resistance protein signaling: NBS-LRR proteins and their partners. **Curr. Opinion Plant Biol.** v.7: p. 391-399, 2004.

BIRCH, R. G. *Xanthomonas albilineans* and the antipathogenesis approach to disease control. **Molecular Plant Pathology**, v.2, p.1-11, 2001.

BREUSEGEM, F. V.; VRANOVÁ, E.; DAT, J. F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Sci.** v. 161, p.405-14, 2001.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. DA S. (Ed.). Indução de

resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, 2005 cap. 4, p. 81-123.

CHAPPLE, C. Molecular-genetic analysis of plant cytochrome P450-dependent monooxygenases. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 311–343, 1998.

CHOMCZYNSKI P & SACCHI N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal. Biochem.**, v. 162, p.156-9, 1987.

CORTAJARENA, A.L.; REGAN, L. Ligand binding by TPR domains. **Protein Sci** v. 15, p. 1193–1198, 2006.

DABBAS, K.M.; FERRO, M.I.T.; BARROS, N.M.; LAIA, M.L.; ZINGARETTI, S.M.; GIACHETTO, P.F.; MORAES, V.A.; FERRO, J.A. Differential gene expression in sugar cane infected with *Xanthomonas albilineans*, causal agent of leaf scald. **Summa phytopathol.**, v. 32, n.4, p.328-338, 2006.

Daniels, J.; Roach, B.T. **Taxonomy and evolution in sugarcane**. Amsterdam: Elsevier Press, 1987.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism The **Plant Cell**, v. 7, p.1085-1097, 1995.

DONG, J.; CHEN, C.; CHEN, Z. Expression profile of the Arabidopsis WRKY gene superfamily during plant defense response. **Plant Mol Biol**, v.51, p.21-37, 2003.

DU, L.; CHEN, Z. Identification of genes encoding re receptor-like protein kinases as possible targets of pathogen and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding proteins in *Arabidopsis*. **Plant J.**, v.24, p.837-847, 2000.

EICHMANN, R.; BIEMELT, S.; SCHAFFER, P.; SCHOLZ, U.; JANSEN, C.; FELK, A.; SCHAFFER, W.; LANGEN, G.; SONNEWALD, U.; KOGEL, K. H.; HUCKELHOVEN, R.

Macroarray expression analysis of barley susceptibility and nonhost resistance to *Blumeria graminis*. **Journal of Plant Physiology**, v. 163, p 657-670, 2006.

ESPELIE, K. E.; FRANCESCHI, V. R.; KOLATTUKUDY, P. E. Immunocytochemical localization and time course of appearance of an anionic peroxidase associated with suberization in wound healing potato tuber tissue. **Plant Physiol**, v. 81, p. 487-492, 1986.

EUGLEM, T; RHUSTON, P.J.; Robatzek, S.; Somssich, I.E .The WRKY superfamily of plant transcription factors.**Trends in Plant Science**, v.5 n.5, p. 199.206, 2000.

FERL, R.; PAUL, A. Genome Organization and Expression. In: Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p.312-357, 2000.

FERRO, M. I. T.; BARROS, N. M.; DABBAS, K. M.; LAIA, M. L.; KUPPER, K. C.; MORAES, V. A.; OLIVEIRA, J. C. F.; FERRO, J. A.; ZINGARETTI, S. M. Análise do perfil de expressão dos genes da cana-de-açúcar envolvidos na interação com *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. **Summa Phytopathol**,v. 33, p. 157-166, 2007.

FOYER, C.H.; Noctor, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, v. 17, p. 1866 -1875, 2005.

FRANK, M. R., DEYNEKA, J. M.; SCHULER, M.A. Cloning of Wound-Induced Cytochrome P450 Monooxygenases Expressed in Pea. **Plant Physiol.**, v.110, p. 1035-1046, 1996.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Plant disease resistance genes. Annual Review of Plant Physiology and **Plant Molecular Biology**, v.48, p.575-607, 1997.

HUBER, W.; HEYDEBRECK, A. Von; SÜLTMANN, H.; POUSTKA, A.; VINGRON, M. Variance stabilization applied to microarray data calibration and to the quantification of differential expression. **Bioinformatics** 18 suppl. 1, S96-S104 2002.

KALDE, M.; BARTH, M.; SOMSSICH, I. E.; LIPPOK, B. Members of the Arabidopsis WRKY group III transcription factors are part of different plant defense signaling pathways. **Mol Plant Microbe Interact**, v.16, n.4, p. 295-305, 2003.

KIM, C. J.; ZHANG, S. Activation of a mitogen-activated protein kinase cascade induces WRKY family of transcription factors and defense genes in tobacco. **Plant Journal**. v.38, p.142–151, 2004.

MARTIN, C.; PAZ-ARES, J. Myb transcription factors in plant., **Trends in Genetics**, v. 13 n. 2, 1997.

MCDOWELL, J. M.; DANGL, J. L. Signal transduction in the plant immune response. **Trends Biochem. Science**, v.25, p.79-82, 2000.

McPherson, J. D. Overgo probing of high-density filters. Disponível em <http://www.tree.caltech.edu/protocols/overgo.html>, 2000.

MEIER, I.; GRUISSEM, W. Novel conserved sequence motifs in plant Gbox binding proteins and implications for interactive domains. **NucleicAcids Research**, Oxford, v.22, n.3, p.470-478, 1994.

MULDER, N. J.; APWEILER, R.; ATTWOOD, T. K.; New developments in the InterPro database. **Nucleic Acid Res**, v.35, p.224-228, 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.

OOIJEN G. V.; MAYR, G., MOBIEN M. A. KASIEM, Mario Albrecht, Ben J. C. Cornelissen and Frank L. W. Takken Structure–function analysis of the NB-ARC domain of plant disease resistance proteins. **Journal of Experimental Botany**, p. 1 of 15.

R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>, 2008.

RAMALLO, J.; RAMALLO, N.E.V.; PLOPER, L.D. Diagnóstico de enfermedad de la caña de azúcar: metodologías aplicadas por la EEADAC. *Avance Agroindustrial*, Tucumã, v.21, n.1, p.8-12, 2000.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Life in grasses: diazotrophic endophytes. **Trends Microbiol**, v.6, p.139-144, 1998.

RICAUD, C.; RYAN, C.C. Leaf Scald. IN: RICAUD, C.; RYAN, B.T.; GILLASPIE, A.G.; HUGHES, C.G (Ed). **Diseases of Sugarcane**. Amsterdam, Elsevier Publishing Co. p.39-58, 1989.

RIECHMANN, J. L.; HEARD, J.; MARTIN, G.; REUBER, L.; JIANG, C. Z.; KEDDIE, J.; PINEDA, O.; RATCLIFFE, O. J.; SAMAHA, R. R. ; CREELMAN, R. P.; BROUN, P.; ZHANG, J. Z.; GHANDEHARI, D.; SHERMAN, B. K.; YU, G. L. Arabidopsis transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. **Science**, v.290, p.2105-2110, 2000.

ROBATZEK, S.; SOMSSICH, I.E. Targets of AtWRKY6 regulation during plant senescence and pathogen defense. **Gene Dev**, v.16, p.1139-1149, 2002.

RUSHTON, P. J.; SOMSSICH, I. E. Transcriptional control of plant genes responsive to pathogens. **Curr. Opin. Plant Biol.**, v.1, p 311–315, 1998.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2 ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SCHOPFER, C. R; EBE, Á J. Identification of elicitor-induced cytochrome P450s of soybean (*Glycine max* L.) using differential display of mRNA. **Mol Gen Genet**, v.258, p.315-322, 1998.

SCHULER, M.A. Plant cytochrome P450 monooxygenases **Crit. Rev. Plant Sci.**, v.15, p.235–284, 1996.

SCHUMMER, M.; WAILAP, V .N. G.; BUMGARNER, R. E.; NELSON, P. S.; SCHUMMER, B.; BERDNASKI, D. W.; HASSEL, L.; BALDWIN, R. L.; KARLAN, B. Y.; HOOD, L. Comparative hybridization of an array of 21500 ovarian cDNAs for the discovery of genes over expressed in ovarian carcinomas. **Gene**, v.238, p. 375-385,1999.

SIEGEL, B. Z. Plant peroxidases: an organismic perspective. **Plant Growth Regulation**, v.12, p.303-312, 1993.

SPRUMILLI, L. Protein Synthesis, Assembly and Degradation. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000, cap.7, p.312-357.

STRACKE, R., WERBER, M.; WEISSHAAR, B. The R2R3-MYBgene family in *Arabidopsis thaliana*. **Curr. Opin. Plant Biol.** v.4, n. 5, p. 447–456, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: ARTMED Editora S.A. 2004

TERZI-PANINI, F. S. et al. Transcription profiling of signal transduction-related genes in sugarcane tissues. **DNA Research**, v. 12, p. 27-38, 2005.

VETTORE, A. L.; SILVA, F. R.; KEMPER, E.; ARRUDA, P. The libraries that made SUCEST. **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, p. 1-7, 2001.

WHETTEN, R. W.; MACKAY, J. J.; SEDEROFF, R. R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **Plant Mol. Biol**, v.49, p.585–609, 1998.

Wilbrink, G. De gomziekte van het suikerriet, hare oorzaak in hare bestrijding. **Archief voor de Suikerindustrie in Nederlandsch-Indie**, v. 28, p.1399-1525, 1920.

WU, H.; KERR, M. K.; CUI, X.; CHURCHILL, G. A. MAANOVA: a software package for the analysis of spotted cDNA microarray experiments. In: PARMIGIANI G, GARRETT E,

IRIZARRY R, ZEGER S, (ed). **The Analysis of Gene Expression Data: Methods and Software**. New York: Springer-Verlag, p. 313–341, 2003.

XAVIER, D.; CHRISTOPHE, L.; JEAN-BENOÎT, M.; DOMINIQUE, R. A novel *myb* oncogene homologue in *Arabidopsis thaliana* related to hypersensitive cell death. **The Plant Journal**, v. 20, n.1, p. 57-66, 1999

YAMAMOTO, S.; NAKANO, T.; SUZUKI, K.; SHINSHI, H. Elicitor-induced activation of transcription via W box-related cis-acting elements from a basic chitinase gene by WRKY transcription factors in tobacco. **Biochim Biophys Acta**, v.1679, p.279–287, 2004.

YANG, P. *et al.* A pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding activity recognizes the elicitor response element of tobacco class I chitinase gene promoter. **Plant J.**, v.18, p.141–149, 1999.

CAPÍTULO 3- GENES RELACIONADOS À TRANSDUÇÃO DE SINAL EM CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADA COM *Xanthomonas albilineans*.

RESUMO

Utilizando a técnica de “macroarray”, esse trabalho teve como objetivo verificar o padrão de expressão de ESTs relacionadas com os mecanismos de percepção e transdução de sinal em duas variedades de cana-de-açúcar, uma suscetível (SP78-4467) e outra resistente (SP82-1176), 6, 48 e 120 horas após a inoculação com *Xanthomonas albilineans*. Os resultados apontam para proteínas relacionadas com mensageiros de transdução de sinal secundários, como calmodulinas, e proteínas receptoras de cálcio e transdução de sinal via proteínas regulatórias, como as proteínas quinases, proteínas com repetições ricas em leucina e receptores de quinase. Observou-se um maior número de ESTs com perfil de expressão induzida no intervalo de 6 horas de infecção, assim como na variedade resistente em relação à suscetível. Quando as plantas foram desafiadas com a fitobactéria também foi verificado um maior número de ESTs com aumento na expressão.

Palavras-chave: EST, macroarranjos, calmodulinas, quinases, cana-de-açúcar

GENES RELATED TO SIGNAL TRANSDUCTION IN SUGAR CANE INOCULATED WITH XANTHOMONAS ALBILINEANS

ABSTRACT

Using macroarray, this work aimed to verify the pattern of expression of ESTs related to perception and signal transduction mechanisms in two varieties of sugarcane, susceptible (SP78-4467) and resistant (SP82-1176), during 6, 48 and 120 hours after inoculation with *Xanthomonas albilineans*. The results suggest proteins related to signal transduction as second messengers, like calmodulin and calcium receptor proteins, signal transduction via regulatory proteins, such as protein kinases, protein with leucine-rich repeats and kinase receptors. There was a higher number of ESTs with induced expression profile within 6 hours of infection, as well as in the resistant variety more susceptible. When plants were challenged with phyto-bacteria, was also found a higher number of ESTs with increased expression.

Keywords: EST, macroarray, calmodulin, kinase, sugarcane

INTRODUÇÃO

Entre as doenças bacterianas que trazem preocupações ao setor canavieiro em todo o mundo, destaca-se a escaldadura das folhas. Essa doença, causada pela fitobactéria *Xanthomonas albilineans*, foi primeiramente relatada em 1920 e desde então já foi encontrada em pelo menos 55 países (COMSTOCK & LENINI, 2002). A escaldadura é uma doença que apresenta um grande potencial destrutivo, principalmente em variedades suscetíveis, podendo levar a quase 100% da perda da produtividade em decorrência da queima completa das folhas e morte dos colmos. No entanto, mesmo variedades comerciais que apresentam certa resistência podem ser portadoras do patógeno, em virtude da ocorrência de doença latente, ou seja, sem manifestação de sintomatologia (DAVIS et al 1999).

O estudo dos mecanismos de resposta à infecção por patógenos em cana-de-açúcar pode contribuir para a criação de variedades mais resistentes. Com esta finalidade, muitos estudos que empregam a metodologia de macroarranjo têm sido desenvolvidos para a identificação de genes regulados por estresses bióticos e abióticos. Muitos destes genes codificam proteínas envolvidas nas vias de sinalização, incluindo as Mapks (*mitogen-activated protein kinase*), proteínas dependentes de cálcio, proteínas quinases, hormônio etileno e lipases (WAN et al., 2002).

Em células vegetais, os principais elementos das vias de transdução de sinais são representados pelos íons Ca^{2+} e pelas proteínas quinases, que são as enzimas que catalisam reações de fosforilação, resultando na ativação de proteínas alvo. O termo mensageiro secundário é freqüentemente usado para descrever uma rápida passagem da informação do meio extracelular para as enzimas alvo que se encontram no interior da célula. A percepção dos sinais gerados pelo patógeno, conhecidos como moléculas elicitoras, pode ser mediada por receptores específicos localizados na membrana plasmática das células do tecido vegetal (EBEL & SCHEEL, 1992; BOLLER, 1995). A conversão e transdução desta informação para o interior da célula ocasionam alterações transitórias na permeabilidade da membrana plasmática ao íon cálcio, com a geração de espécies reativas de oxigênio, e alterações na condição de fosforilação de

várias proteínas, estabelecendo um aumento nas respostas de defesa da planta (DIETRICH, 1990; SUZUKI, 1995)

Os íons Ca^{2+} ativam diretamente um grupo de enzimas chamadas de proteínas quinases dependentes de cálcio (ROBERTS, 1992; HARMON, 2000), ou atuam indiretamente, por meio de moduladores, como as proteínas calmodulinas - CaM (SNEDDEN, 1998; ZIELINSKI, 1998). CaM são proteínas de ligação a cálcio ubíquas em células eucarióticas e funcionam como receptores citoplasmáticos primários. Em plantas, numerosas isoformas de calmodulinas são expressas a partir de uma pequena família multigênica presentes em um mesmo organismo. Como exemplo, existem pelo menos quatro isoformas em soja (LEE et al. 1995), três isoformas em trigo (YANG, et al. 1996; TAKEZAWA, 1999) e quatro em arábida (GAWIENOWSKI, 1993). A existência de múltiplas isoformas em plantas leva ao questionamento se elas permitem ou não a regulação diferencial de enzimas alvo e podem conferir diferente sensibilidade para enzimas ou proteínas que se ligam a calmodulinas. A expressão de isoformas de calmodulinas é diferencialmente induzida em resposta à estímulos físicos e químicos, incluindo a invasão de patógenos (HEO et al., 1999).

Estudos têm fornecido evidências de que o íon cálcio desempenha um papel importante na ativação dos mecanismos de defesa contra tentativas de invasão microbiana (YANG et al., 1997; SCHEEL, 1998). Acredita-se que os mecanismos de defesa sejam acionados em decorrência do reconhecimento de proteínas elicitoras geradas pelo patógeno (YANG et al., 1997; SCHEEL, 1998; NÜRNBERGER, 1999).

Os genes de resistência que já foram clonados e caracterizados possuem domínios comuns na estrutura protéica codificada. Desta maneira, são classificados em grupos baseado na estrutura da proteína sintetizada (SONG et al., 1997). Um destes grupos é representado pelo gene de resistência Pto, o qual apresenta um sítio catalítico quinase na porção C-terminal. Este sítio possivelmente está envolvido na fosforilação de proteínas durante a transdução de sinal do meio extracelular para o meio intracelular. A maioria dos genes R apresenta um domínio do tipo repetições ricas em

leucina (LRR) em sua estrutura (DIXON et al., 1990), podendo conter outros domínios mais comuns como zíper de leucina (LZ), o transmembrana (DT), sítio de ligação a nucleotídeos (NBS) ou domínio com função catalítica (quinase).

As proteínas de resistência que apresentam capacidade de ligação à membrana plasmática levam à hipótese de que os genes de resistência codificam proteínas receptoras, que seriam responsáveis pela especificidade do mecanismo de reconhecimento entre planta-patógeno, gerando a transdução de sinal. Estas proteínas apresentam similaridade com proteínas receptoras do tipo quinase (WALKER, 1994).

Usando duas bibliotecas de ESTs de tecidos de cartucho e de folha de cana-de-açúcar, provenientes do projeto SUCEST, o trabalho teve como objetivo identificar quais genes de transdução de sinal são diferencialmente expressos em duas variedades de cana-de-açúcar, sendo suscetível (SP78-4467) e resistente (SP82-1176), quando submetidas à infecção por *Xanthomonas albilineans*. A **Figura 1** ilustra os tipos de sinalização descritos na literatura e que serão alvo do presente trabalho.

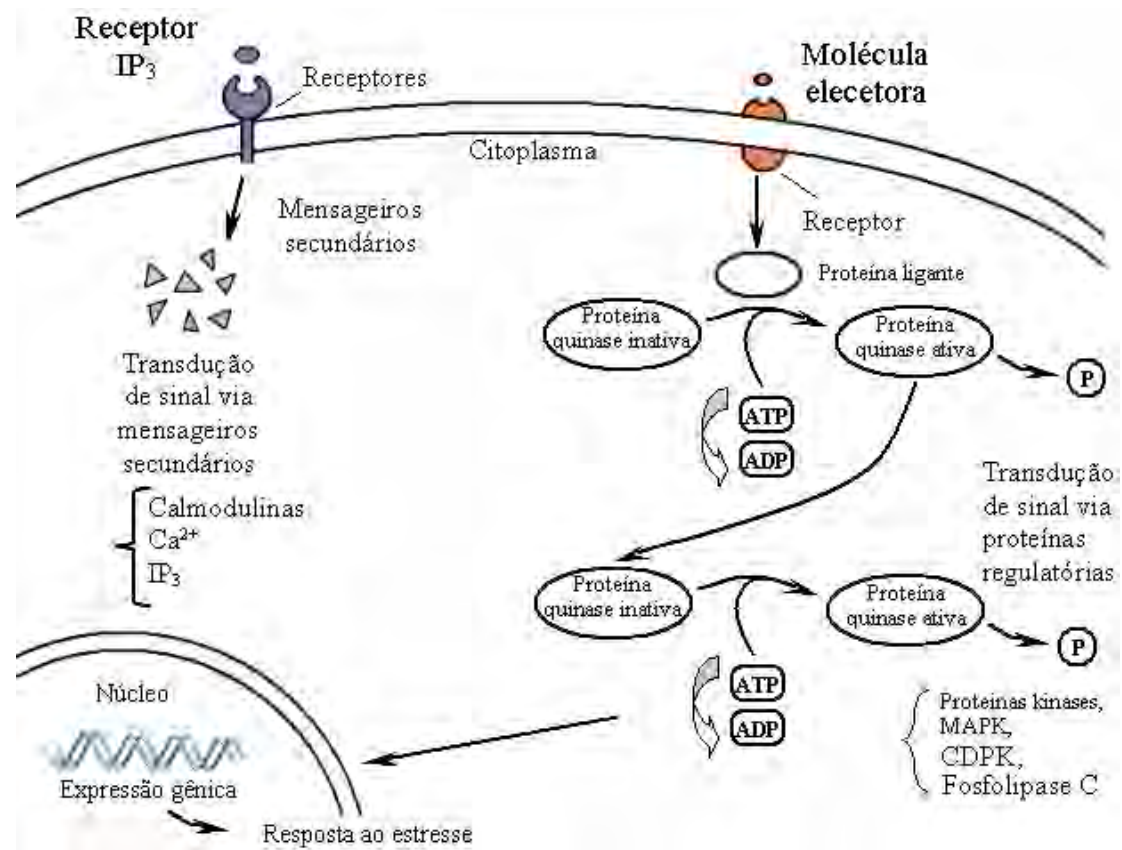


Figura 1: Ilustração das possíveis vias de transdução de sinais já descritas na literatura e que foram identificadas no patossistema *X. albilineans* versus cana-de-açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio experimental

O presente experimento foi realizado com variedades de cana-de-açúcar suscetível (SP78-4467) e resistente (SP82-1176) à escaldadura da folha causada por *X. albilineans*. As plântulas foram obtidas a partir de cultura de meristema e fornecidas pelo CTC (Centro Tecnológico Canavieiro). Para evitar contaminação, todo o processo de produção das plântulas foi realizado de maneira asséptica e os utensílios utilizados foram completamente esterilizados. O cultivo das plântulas se deu em frascos tipo magenta contendo 50 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962). O delineamento experimental foi do tipo fatorial 2x2x3, consistindo-se de duas variedades, dois tratamentos (controle e inoculado) e três tempos (6, 24 e 120 horas após a inoculação), com três repetições. De maneira casualizada, cada variedade foi dividida em dois grupos de nove plantas, perfazendo 18 unidades por variedade, assim distribuída: 9 plantas resistentes (controle), 9 plantas resistentes inoculadas com solução bacteriana; 9 plantas suscetíveis (controle), 9 plantas suscetíveis inoculadas com solução bacteriana.

A inoculação das plantas foi realizada durante o repique utilizando uma tesoura contaminada com inóculo de *X. albilineans* em meio de cultura Wilbrink's (Wilbrink, 1920) equivalente a aproximadamente 10^8 unidades formadora de colônia por mililitro. As plantas controles foram repicadas com tesoura imersa em meio de cultura Wilbrink's esterilizado. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em laboratório climatizado sob condições ótimas de temperatura e luminosidade. Três plântulas do grupo controle e três do grupo inoculado foram coletadas após 6, 24, e 120 horas da inoculação, em condições livre de RNase, e armazenadas em nitrogênio líquido para posterior processamento e extração do RNA total.

Construção do macroarranjo de cDNA em membranas de náilon

Inicialmente, 3575 ESTs presentes no banco de dados do projeto SUCEST (Vettore *et al.*, 2001), representantes de genes expressos na folha (LV) e no cartucho (LR) foram selecionadas. Em seguida, os clones bacterianos armazenados no BCCC (Centro Brasileiro de Estocagem de Clones) correspondentes a cada um destes ESTs foram multiplicados e o DNA plasmidial foi extraído segundo a metodologia da lise alcalina ([HTTP://sucest.lad.dcc.unicamp.br/en/downloads/downloads.html](http://sucest.lad.dcc.unicamp.br/en/downloads/downloads.html)). A fim de confirmar a identidade de cada clone, todos foram previamente submetidos à seqüenciamento automático.

As 3.575 amostras de DNA plasmidial foram transferidas para membranas de náilon de 85 x 125 mm, carregadas positivamente (Genetix), utilizando-se um sistema robotizado (Q-BOT-GENETIX-UK) presente no BCCC. As amostras foram depositadas em duplicata, com espaçamento de 900 micras entre cada ponto, num arranjo 5X4, perfazendo um total de 7.150 ESTs por membrana. Após a transferência do DNA, as membranas foram submetidas a tratamento em solução de desnaturação (NaCl 1,5M e NaOH 0,5M) e de neutralização (NaCl 1,5M e Trizma 1M) por 5 e 10 min, respectivamente e, posteriormente, fixou-se o DNA à membrana por radiação com luz UV (1600 joules) em aparelho Ultraviolet Crosslinker (CL1000, UVP), seguindo as recomendações do fabricante (Genetix, UK).

Extração de RNA e Preparação do alvo de cDNA

Aproximadamente 0,3 g de tecido das plântulas foram macerados em N₂ líquido com auxílio de pistilo e cadinho até a formação de um pó bem fino, transferido para tubos falcon estéril e procedido à extração do RNA total com o reagente Trizol (Invitrogen), de acordo com as recomendações do fabricante.

O cDNA foi individualmente produzido para cada uma das 36 amostras de RNA total extraídas de cada variedade nos respectivos intervalos de coleta. Essa síntese foi

executada conforme procedimentos descrito por Schummer e colaboradores com modificações (1999).

A primeira fita de cDNA foi sintetizada a partir de 30 mg de RNA total e 156 pmol de oligo-dT (dT¹⁸ VN Invitrogen) em um volume final de 7,5 mL. Essa mistura foi aquecida a 75 °C durante 10 minutos, e, imediatamente, transferida para banho de gelo, quando então foram adicionados 5 mL de tampão de primeira fita (5x), 2,5 mL de DTT (100mM), 80 U de RNAGuard, 10 mM de dNTPs (ATG) (todos da Invitrogen) e 3.000 Ci.mmol⁻¹ de [α -³³P]dCTP (30 μ Ci). Na sequência, após manter a reação por a 42°C por 5 minutos, 250 U da enzima Superscript II Reverse Transcriptase (Invitrogen) foram acrescentados à reação. Após 30 minutos foi adicionado à reação 1,25 mL de dCTP (10mM), mantendo-se a 42 °C por mais 60 minutos. Após esse período adicionou-se 1 mL de oligonucleotídeo Poly-A (2 mg/mL, Invitrogen) e, posteriormente, a amostra foi desnaturada a 94 °C durante 5 minutos. Acrescentaram-se 1,4 mL de NaOH 5M e manteve-se a 37 °C durante 15 minutos. Ao final desse período foram acrescentados 1,8 mL de HCl 3,94M e 7,0 mL de Tris-HCl 1M pH 7,5, e o volume final foi ajustado para 50 mL com água MilliQ. A reação foi purificada em colunas Sephadex G-50 (Invitrogen) seguindo as instruções de Sambrook e colaboradores (1989) e a incorporação radioativa foi determinada em cintilador (Beckman LS6500), para assegurar o uso de alvos com padrões similares de incorporação radioativa, sendo aceitável uma relação do valor da COM (contagem por minuto) acima de 30 %.

Hibridação de membranas de alta densidade

As hibridações foram feitas seguindo o protocolo descrito por McPherson (2000); (<http://www.tree.caltech.edu/protocols/overgo.html>) com modificações.

Para diminuir o *background*, as membranas foram colocadas, inicialmente, em solução fervente de SDS 0,1%, seguindo as recomendações do fabricante da membrana.

As membranas foram pré-hibridadas a 58 °C por 4 horas em uma solução contendo 1% BSA (m/v) (Fraction V, Sigma), 1 mM EDTA, 7% SDS (99,9%) e 0,5 M fostato de sódio (Na_2HPO_4). Decorrido o intervalo de pré-hibridação, os alvos marcados (previamente desnaturados) foram adicionados à mesma solução e as membranas foram hibridadas por 18 horas a 58 °C. Após esse processo as membranas foram lavadas, para retirar o excesso de alvo marcado e as hibridações inespecíficas que possivelmente tenham ocorrido. Foram realizadas duas lavagens, por períodos de 15 minutos a 58°C, de maneira sucessiva, com aproximadamente 100 mL de cada uma das seguintes soluções: 2xSSC + 0,1%SDS; 1,5xSSC + 0,1% SDS e 0,5xSSC + 0,1% SDS e uma última lavagem com 0,1X SSC por 5 minutos a temperatura ambiente. Após o processo de lavagem, as membranas foram seladas em filme plástico e expostas a cassetes sensíveis à radioatividade (Imaging Plates, Fujifilm, Japan) durante 96 horas, após o qual a imagem captada pelo cassete foi transferida para um computador por meio de um leitor de fósforo radioativo (Phosphoimager FLA3000-G-Fujifilm, Tokyo). Logo em seguida à captação e armazenamento das imagens em microcomputador, as membranas utilizadas nos experimentos de hibridação tiveram as sequências marcadas removidas por meio de duas lavagens com uma solução (v/v) contendo 0,4N NaOH e 0,1% SDS por 15 minutos à 65 °C seguida por uma terceira lavagem com uma solução (v/v) contendo 0,2N Tris-HCl pH 8.0, 0,1% SDS e 0,1X SSC por 15 minutos à temperatura ambiente. Por fim, uma quarta e última lavagem foi executada com uma solução (v/v) de 0,2X SSC por cinco minutos à temperatura ambiente. A eficiência de remoção foi monitorada repetindo-se o processo de exposição da membrana ao cassete sensível à radioatividade e conseqüente leitura no aparelho (Phosphoimager FLA3000-G-Fujifilm, Tokyo), conforme descrito anteriormente.

Análise dos dados

As imagens, previamente digitalizadas, foram quantificadas no programa “Array Vision” (GE Helthcare). Após ajuste de uma grade conforme “layout” da membrana, os

dados relativos à emissão de fundo para cada ponto, a emissão bruta dos pontos e a diferença entre eles foram exportados para um arquivo texto separado por tabulações.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico R (R Development Core Team, 2003) e bibliotecas desenvolvidas pelo projeto Bioconductor (R Development Core Team, 2008). Após a normalização dos dados com o pacote VSN (HUBER et al., 2002), procedeu-se à identificação dos genes diferencialmente expressos com o pacote maanova (WU et al., 2003), considerando um p-value menor ou igual a 0,01 (1%). Para análise diferencial foram levados em consideração os três fatores, tratamento (planta inoculada com a fitobactéria e controle inoculado com meio de cultura esterilizado), variedade (variedade suscetível e resistente) e tempo (coleta nos intervalos de 6, 24 e 120 horas). A fim de controlar a seleção de falsos positivos utilizou-se um valor de FDR (False Discovery Rate) igual a 5% ou seja, dentre todos os genes selecionados, a taxa de falso positivo estará, estatisticamente, sempre abaixo de 5%.

Após identificar as ESTs diferencialmente expressas, a respectiva seqüência FASTA de nucleotídeos foi analisada no programa Blast2GO, onde foi possível anotá-las, classificá-las de acordo com os termos do banco de dados Gene Ontology (Gene Ontology Consortium) e identificar possíveis domínios existentes no banco de dados InterPro (MULDER et al., 2007).

Validação dos resultados por RT-qPCR

O RNA total, utilizado nas hibridações das membranas, foi tratado com DNase (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. Na síntese da primeira fita de cDNA foram utilizados 5 µg do material tratado, 0,5 µg oligo (dT)₁₂₋₁₈ (Invitrogen) e 1 µl 10mM dNTP. Esta mistura foi aquecida a 65 °C por 5 minutos e mantida em banho de gelo por dois minutos. Após uma breve centrifugação, foram adicionados à reação 4 µl de 5X First-Strand Buffer (Invitrogen), 2 µl 0,1 M DTT, 40 U RNaseOUT (Invitrogen), mantida a 42 °C por dois minutos e então acrescida de 200 U SuperScript II Reverse

Transcriptase (Invitrogen) e mantido a 42 °C por mais 50 minutos. A reação foi finalizada a 70 °C por 15 minutos. O produto da síntese foi tratado com 2 U da enzima RNase H (Invitrogen) durante 30 minutos a 37 °C e em seguida a reação foi finalizada a 70 °C por 10 minutos.

As análises da transcrição reversa em tempo real por PCR (RT-qPCR) foram realizadas em termociclador ABI modelo 7500 System (Applied Biosystems) usando SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems). Com auxílio do programa Primer Express 3.0 Software (Applied Biosystems), foram desenhados oligonucleotídeos iniciadores a partir da seqüência consenso de cada gene alvo diferencialmente expressos, previamente assim identificados nos experimentos de hibridação. Esses oligos foram selecionados aleatoriamente dentre os resultados. As seqüências dos oligonucleotídeos iniciadores foram analisadas contra o banco de dados do SUCEST, usando a ferramenta Blast (ALTSCHUL et al., 1997), para verificar a especificidade das seqüências obtidas.

Para cada clone selecionado foram ensaiadas separadamente três replicatas biológicas de plantas controle e plantas tratadas. Cada reação foi amplificada em duplicata usando 2 µl de uma diluição 1:10 das amostras de cDNA, oligonucleotídeos na concentração final de 400 nM, 12,5 µl of SYBR Green Master Mix e água deionizada para o volume final de 25 µl. Os controles negativos para confirmar a ausência de contaminantes. Os parâmetros das amplificações foram: 50 °C por 2 minutos, 95 °C por 10 minutos, 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto. A expressão relativa dos genes foi normalizada usando o cDNA da proteína 14-3-3 (clone SCCSD2C03A12.g- Ca297824) e a razão da expressão diferencial (controle/tratado) foi determinada através do método $2^{-\Delta\Delta C T}$ (JOSHUA, 2006).

RESULTADOS

A análise do perfil de expressão ao longo da cinética de infecção mostrou que alguns genes que possivelmente estejam relacionados com processos de percepção de

transdução de sinais apresentaram aumento na expressão quando entraram em contato com a bactéria, enquanto outros foram reprimidos durante a cinética. Entretanto, este comportamento de indução ou repressão variou ao longo da cinética de infecção.

Os valores de expressão em cada uma das interações (tempo, tratamento e variedade) foram obtidos a partir dos dados gerados pela análise estatística, a qual foi realizada com o auxílio do programa estatístico R e bibliotecas desenvolvidas pelo Biocondutor. Após normalização e correção da hibridação inespecífica de ruído de fundo (“background”) com o pacote VSN procedeu-se a identificação das ESTs diferencialmente reguladas considerando um p-value menor ou igual a 0,01% (1%) e com limiar de FDR de 5% (**Tabela 1, 2 e 3**). As seqüências das ESTs selecionadas foram comparadas com seqüências depositadas em bancos de dados públicos, por meio do programa Blast2GO, para a busca de proteínas similares considerando como limiar de aceitação para o BLAST um e-value de 1×10^{-5} . O programa Blast2Go também permitiu a anotação das seqüências que apresentaram anotações no Gene Ontology (GO) assim como a adição do respectivo número de identificação (E.C.) nas proteínas anotadas.

Das 3.575 ESTs analisadas, 35 foram diferencialmente reguladas durante a cinética de infecção e apresentam similaridade à proteínas com potencial envolvimento no processo de percepção e transduções de sinal para serem estudadas no trabalho. O perfil das ESTs expressas nos intervalos, o número de ESTs exclusivas e as que apareceram em mais de um intervalo estão resumidas na **Tabela 1**.

Observa-se que o maior número de ESTs foi induzido no início da cinética de infecção, ou seja, no intervalo de 6 horas, representando 88,7 % do total de ESTs diferencialmente expressas (n=31) (**Tabela 1**) sendo que, 18 são exclusivas do intervalo de 6 horas. As proteínas codificadas por ESTs exclusivas do primeiro intervalo da cinética de infecção apresentam similaridade a proteína com domínio dedos de zinco C3H2C3 (SCVPLR1006A05, SCJLLR1054B07, SCUTLR1037H09), serina treonina quinase (SCAGLR1064D07), proteína dedo de zinco (SCUTLR2015E02), proteína

quinase dependente de cálcio (SCCCLR1024H03), calmodulinas (SCEQLR1029B05, SCJFLR2035H04), mapk (SCRFLR1055H03), proteínas integradas à membrana plasmática (SCCCLR1079B05), quinases (SCBGLR1097F03) e proteína de ligação de cálcio (SCRFLR2037F09). As enzimas s-adenosilmetionina decarboxilase (SCCCLR2C02A12, EC:4.1.1.50), acc oxidase (SCEZLR1009E06) e s-adenosilmetionina (SCRFLR2021B05) são enzimas da via do etileno, um hormônio vegetal que possui múltiplas funções fisiológicas em plantas (BOLLER, 1990). Estas ESTs foram exclusivas e tiveram expressão intensificada no intervalo de 6 horas. Contrastando com o intervalo de 6 horas, o intervalo de 48 horas apresentou o menor número de transcritos diferencialmente regulados, com o percentual de 22,85 % (n=8). Deste total, 3 ESTs foram expressas também no intervalo de 6 horas e 5 ESTs no intervalo de 120 horas, como ilustrado na **Figura 2**. A expressão de uma proteína com similaridade a fosfolipase c específica de fosfoinosítídeo apresentou um aumento de expressão do intervalo de 48 para 120 horas. Proteínas fosfolipases ou derivados de fosfolipídeos têm demonstrado crítica função celular, particularmente como mediador ou mensageiro secundários em vias de sinalização de defesa (BUCHANAN et al, 2000). Foi evidenciada também a presença de proteínas quinases e dedos de zinco. No intervalo de 120 horas foram identificadas 15 ESTs com nível de expressão aumentado; destas, 5 apareceram no intervalo de 48 horas. Entre o intervalo de 6 e 120 horas, ocorreu um aumento significativo na expressão de 10 ESTs representadas pelas proteínas calmodulinas (SCCCLR1C04H11, SCMCLR1122G02) proteínas LRR (SCSFLV1046H07), quinase (SCRFLR2021H11), acb transporte (SCACLV1022E08), “phosphoinositide kinase” (SCCCLR1C06A07) , e proteínas dedos de zinco (SCAGLR2018A02, SCVPLR1006A05, SCJLLR1054B07, SCSGLR1081A05) (**Tabela 1**). Uma EST que prediz uma proteína com similaridade a LRR foi induzida no intervalo de 120 horas (**Tabela 1**).

Tabela 1: ESTs que foram diferencialmente expressas ao longo da cinética de infecção com *X. albilineans*

Clone	Descrição	e-value	6 h	48 h	120 h
SCEZLR1009E06	acc oxidase P:GO:0055114 F:GO:0016491	1.0E-5.22983E-56	X	-	-
SCRLLR1059C06	iron inhibited abc transporter 2 C:GO:0005739 C:GO:0009536	1.0E-2.39242E-72	X	-	-
SCAGLR1064D07	serine threonine protein kinase	1.0E-1.66787E-52	X	-	-
SCCCLR2004A08	multiple stress-responsive zinc-finger protein	1.0E-1.19681E-76	X	-	-
SCCCLR2C02A12	s-adenosylmethionine decarboxylase P:GO:0006597 F:GO:0004014 EC:4.1.1.50,	1.0E-4.39804E-44	X	-	-
SCCCLR1024H03	calcium-dependent protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005509 EC:2.7.11,	1.0E-9.99462E-70	X	-	-
SCEQLR1029B05	calmodulin-binding protein	1.0E-5.62035E-75	X	-	-
SCUTLR1037H09	zinc finger c3hc4 type family protein	1.0E-4.18906E-32	X	-	-
SCRFLR1055H03	mpk4_orysj mitogen-activated protein kinase 4 (map kinase 4)C:GO:0009536	1.0E-6.78166E-30	X	-	-
SCCCLR1079B05	plasma membrane integral protein2-1 P:GO:0006810 C:GO:0005886	1.0E-7.25842E-80	X	-	-
SCBGLR1097F03	protein kinase	1.0E-1.30433E-36	X	-	-
SCQGLR2010G04	abc transporter family protein C:GO:0016020	1.0E-1.03403E-81	X	-	-
SCUTLR2015B09	probable zinc finger protein - alfalfa	1.0E-1.93389E-59	X	-	-
SCVPLR2012F05	pr4_c-induced basic protein	1.0E-8.60117E-17	X	-	-
SCRFLR2021B05	s-adenosylmethionine:2-demethylmenaquinone methyltransferase-like C:GO:0009536	1.0E-3.81319E-70	X	-	-
SCJFLR2035H04	calmodulin F:GO:0005509	1.0E-6.01248E-79	X	-	-
SCRFLR2037F09	calcium-binding protein P:GO:0006457 C:GO:0005783	1.0E-1.5552E-108	X	-	-
SCACLV1022F02	kinase interacting protein 1 F:GO:0003674	1.0E-4.10924E-64	X	-	-
SCCCLR1065B08	protein kinase pk12	1.0E-2.91565E-51	-	X	X
SCQSLR1040H04	phosphoinositide-specific phospholipase c F:GO:0004871 P:GO:0007242 EC:3.1.4.11,	1.0E-7.80194E-85	-	X	X
SCUTLR2015E02	zinc finger familyexpressed	1.0E-1.89652E-36	-	X	X
SCSGLV1007D12	s-receptor kinase-like C:GO:0009536	1.0E-2.47031E-71	-	X	X
SCSGLV1012G12	chy zinc finger familyexpressed	1.0E-4.38382E-18	-	X	X
SCVPLR1006A05	zinc finger (c3hc4-type ring finger) C:GO:0016020	1.0E-4.40014E-70	X	-	X

SCJLLR1054B07	zinc finger (c3hc4-type ring finger)-like C:GO:0005739 C:GO:0016020	1.0E-1.7671E-63	X	-	X
SCSGLR1081A05	zinc finger poz domain protein	1.0E-4.44615E-95	X	-	X
SCMCLR1122G02	calmodulin-domain protein kinase	1.0E-1.31987E-45	X	-	X
SCCCLR1C04H11	calmodulin-binding protein	1.0E-6.93475E-103	X	-	X
SCCCLR1C06A07	fyve finger-containing phosphoinositide kinase-like	1.0E-4.25379E-70	X	-	X
SCAGLR2018A02	af150113_1 small zinc finger-like protein F:GO:0008270 F:GO:0015450	1.0E-1.80678E-43	X	-	X
SCRFLR2021H11	protein kinase pk12 P:GO:0006468 F:GO:0005524 EC:2.7.11,	1.0E-5.97393E-100	X	-	X
SCUTLR1015A05	phospholipase d	1.0E-2.20962E-87	X	-	X
SCSFLV1046H07	leucine rich repeat family expressed	1.0E-6.99967E-25	X	-	X
SCACLV1022E08	abc transporter	1.0E-1.40457E-62	X	-	X
SCJLLR1104F08	leucine zipper protein C:GO:0009536	1.0E-1.66159E-110	X	X	-
SCSGLV1008C01	serine threonine kinase protein C:GO:0016023	1.0E-4.36675E-29	X	X	-
SCQGLV1015H12	zinc finger transcription factor zfp30 F:GO:0008270 C:GO:0005622	1.0E-5.62818E-71	X	X	-

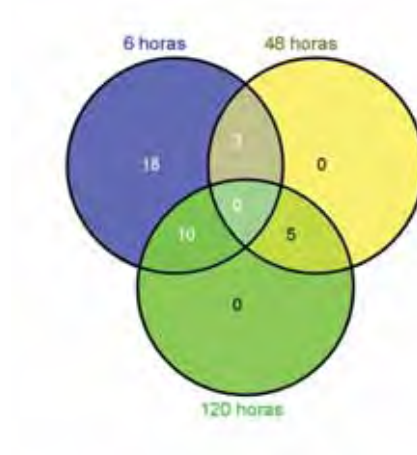


Figura 2: O diagrama apresenta os números de ESTs diferencialmente expressas nos 3 intervalos de coleta das plântulas após inoculação com *X albilineans* que foram exclusivas e comuns entre diferentes condições analisadas

Ao se analisar a interação entre as variedades, foram observadas 9 ESTs induzidas na variedade resistente (**Tabela 2**). As proteínas codificadas pelas ESTs induzidas apresentaram similaridade com proteínas envolvidas com sinalização, que culminam na ativação dos mecanismos de defesa. Além das proteínas quinases dedos de zinco e calmodulinas, que também apareceram na interação tempo, notamos a presença de 3 genes que predizem proteínas de ligação a GTP (SCCCLR1048E11, SCBGLR1117E04, SCRLLV1026D05) que foram expressas apenas na variedade resistente. As plântulas da variedade suscetível expressaram um total de 6 ESTs induzidas, e assim como na interação tempo, encontramos genes que codificam proteínas que se ligam ao íon cálcio (SCSGLR1025C12), quinase (SCEQLR1007C11), proteínas ligantes de DNA (SCRLLR1111E050) e dedos de zinco (SCSGLV1012G12).

Tabela 2: ESTs que foram diferencialmente expressas nas plântulas de cana-de-açúcar de variedade suscetível (SP78-4467) e resistente (SP82-1176).

Variedade Resistente		
ESTs Induzidas	Descrição	e-value
SCRLLV1049C01	protein kinase receptor type precursor C:GO:0016023	1.0E-4.94879E-43
SCCCLR1048E11	gtp-binding protein C:GO:0005739	1.0E-8.14303E-56
SCJFLR1071H01	c3h2c3 ring-finger F:GO:0046872	1.0E-1.4903E-44
SCCCLR1076C06	ghmp kinase-like	1.0E-2.25407E-54
SCACLR1127D01	protein kinase domain containing expressed	1.0E-1.44921E-27
SCJLLR1102E03	atypical receptor-like kinase mark C:GO:0009536	1.0E-6.94162E-31
SCBGLR1117E04	gtp-binding protein rab7d F:GO:0005525 C:GO:0005886 F:GO:0005524 F:GO:0008134	1.0E-1.27896E-75
SCRLLV1026D05	gtp-binding protein C:GO:0009507	1.0E-1.1355E-86
SCSFLV1048G01	atp binding protein binding unfolded protein binding P:GO:0009627 F:GO:0005488 P:GO:00051085	1.0E-2.58305E-44
Variedade Suscetível		
ESTs induzidos	Descrição	e-value
SCSGLR1025C12	calcium binding protein F:GO:0005509	1.0E-2.10999E-41
SCRLLR1038C04	leucine zipper protein	1.0E-5.31322E-43
SCRLLR111E05	dna-binding protein F:GO:0003677 C:GO:0005634 F:GO:0008270	1.0E-4.71516E-44
SCAGLR2018A02	af150113_1 small zinc finger-like protein F:GO:0008270 F:GO:0015450 C:GO:0005743	1.0E-1.80636E-43
SCSGLV1012G12	chy zinc finger familyexpressed	1.0E-4.38293E-18
SCEQLR1007C11	protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005524 F:GO:0004674 [EC:2.7.11,]	1.0E-7.29217E-11

As plântulas, quando submetidas à inoculação artificial com a fitobactéria mostraram um aumento na expressão 23 ESTs (**Tabela 3**). Duas ESTs com similaridade a proteína serina treonina quinase (SCRFLR1012D04, SCBGLR1044H10), proteína receptora de quinase (SCRULR1042H11) proteínas com repetições ricas em leucina (SCCCLR1066D09, SCSGLR1045E07), inositol polifosfato 5-fosfatase (SCJLLR1102E08) foram induzidas após inoculação. Duas ESTs foram induzidas em tempo e tratamento e predizem as proteínas Mapk4 (SCRFLR1055H03) e zipper de leucina (SCJLLR1104F08) (**Tabelas 3 e 1**). Os dados evidenciam também que, após a inoculação com a fitobactéria, 6 ESTs foram reprimidas e destas, duas proteínas com similaridade a quinases (SCBGLR1097F03, SCJLLR1108G11), duas com similaridade a proteína de membrana (SCACLV1019B11, SCACLV1019C10) (**Tabela 3**).

Tabela 3: ESTs que foram diferencialmente expressas durante a inoculação das plântulas de cana-de-açúcar com *X. albilineans*

Plantas Inoculadas		
ESTs induzidos	Descrição	e-value
SCRFLR1012D04	serine threonine protein kinase F:GO:0004672	1.0E-6.41162E-21
SCRULR1042H11	receptor-like protein kinase-likeC:GO:0016023	1.0E-1.29065E-19
SCBGLR1044H10	serine threonine kinase C:GO:0016023	1.0E-2.00172E-39
SCSGLR1045E07	srif8 (strubbelig-receptor family 8) kinase C:GO:0012505 P:GO:0006468	1.0E-1.62384E-88
SCCCLR1066D09	leucine-rich repeat transmembrane protein P:GO:0006468 F:GO:0005524 P:GO:0007169	1.0E-8.22144E-30
SCCCLR1066G05	nucleoid dna-binding protein cnd41 C:GO:0016023	1.0E-5.00705E-88
SCEQLR1091C06	bzip protein	1.0E-1.07042E-60
SCJLLR1102E08	inositol polyphosphate 5-phosphatase	1.0E-1.66124E-110
SCJLLR1104F08	leucine zipper protein C:GO:0009536	1.0E-4.58865E-44
SCRLLR1111F02	dna-binding protein F:GO:0003677 C:GO:0005634 F:GO:0008270	1.0E-7.8391E-35
SCSGLV1013D04	protein kinase domain containing expressed C:GO:0005739 C:GO:0009536	1.0E-6.3755E-35
SCSFLV1044G05	signal recognition particle subunit 14 P:GO:0006605 C:GO:0005786 EC:3.6.5.4,	1.0E-1.65784E-26
SCRFLR1034D08	ring-h2 finger protein C:GO:0005739	1.0E-6.78021E-30
SCRFLR1055H03	mpk4_orysj mitogen-activated protein kinase 4 (map kinase 4) C:GO:0009536	1.0E-7.60692E-74
SCJFLR1056A05	calcium homeostasis regulator chor1 C:GO:0009536	1.0E-2.72994E-38
SCJFLR1056E04	ring-h2 zinc finger C:GO:0009536	1.0E-2.13793E-74
SCACLR1057A09	copper-exporting atpase F:GO:0046872 P:GO:0006825 F:GO:0004008 EC:3.6.3.4,	1.0E-2.72187E-49
SCCCLR1066B03	leucine rich repeat family expressed F:GO:0005515 F:GO:0004672	1.0E-9.85202E-42
SCRLLR1111A06	fyve zinc finger containing protein F:GO:0008270	1.0E-1.24514E-16
SCJLLR2013A03	Protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005524 EC:2.7.11, EC:2.7.10,	1.0E-1.45765E-15
SCQGLR2025H08	proline-rich cell wall C:GO:0009536	1.0E-2.31E-124
SCQGLV1014D02	organic cation transporter-like protein	1.0E-1.80636E-43
SCAGLR2018A02	af150113_1 small zinc finger-like protein [F:GO:0008270 F:GO:0015450 C:GO:0005743]	
Genes Reprimidos	Descrição	e-value
SCBGLR1097F03	protein kinase	1.0E-1.30404E-36
SCJLLR1108G11	protein kinase F:GO:0004672 P:GO:0006397 F:GO:0000166	1.0E-6.50705E-53
SCACLR1132E07	sap1_orysi zinc finger a20 and an1 domain-containing stress-associated protein 1	1.0E-1.1878E-15
SCCCLR1048E11	gtp-binding protein C:GO:0005739	1.0E-8.14462E-56
SCACLV1019B11	seven transmembrane protein mlo4 P:GO:0008219 C:GO:0016021	1.0E-3.23298E-26
SCACLV1019C10	transmembrane protein	1.0E--

Foi possível observar que 3 ESTs foram comuns nas interações tempo e tratamento mpk4 (SCRFLR1055H03), quinase (SCBGLR1097F03), zíper de leucina (SCJLLR1104F08), uma EST comum entre tratamento e variedade gtp-binding protein (SCCCLR1048E11), e entre tempo e variedade notamos a EST chy dedos de zinco (SCSGLV1012G12) e uma proteína foi identificada em todos os tratamentos mostrando similaridade a dedos de zinco (SCAGLR2018A02) (**Figura 3**)

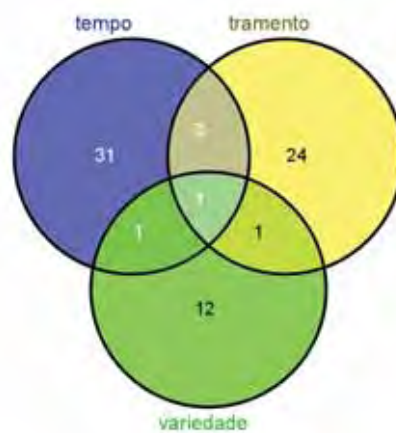


Figura 3. O diagrama de venn representando o número de genes que foram exclusivos e comuns entre diferentes condições analisadas (variedade, tratamento e tempo após inoculação).

A **Figura 4** mostra o total de proteínas representantes das ESTs que foram diferencialmente reguladas em todas as interações, ou seja, na interação variedade (resistente e suscetível), na cinética de infecção (tempo), e quando as plântulas de cana-de-açúcar cultivadas “*in vitro*”, ou seja sem interferência de nenhum outro microorganismo, foram submetidas a infecção por *X. albilineans*.

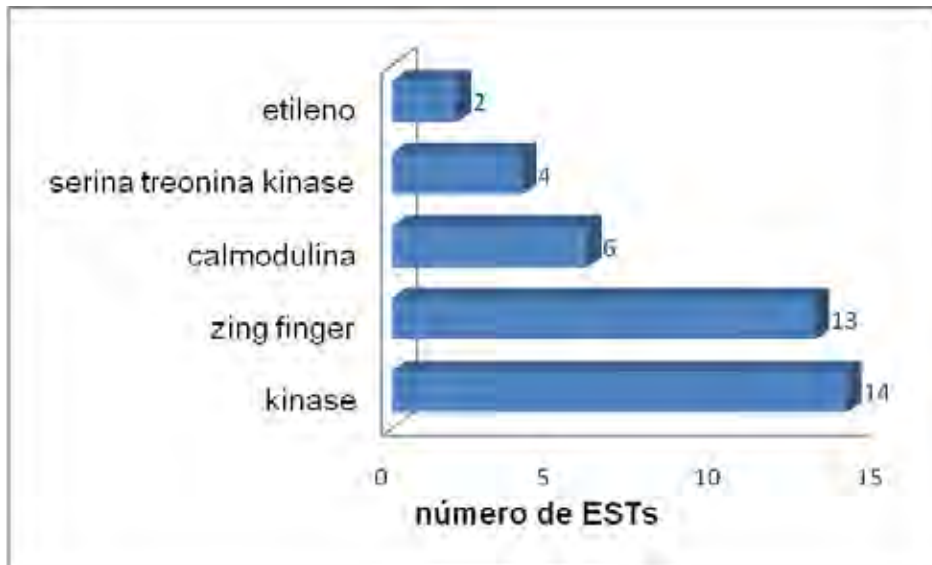


Figura 4: Proteínas identificadas em todas as interações.

A validação dos resultados de expressão gerados pelas análises dos macroarranjos foi realizada por meio da metodologia de RT-qPCR de 2 ESTs escolhidas dentre aquelas que apresentaram diferença no perfil de expressão. As 2 ESTs selecionadas para este ensaio mostraram-se induzidas na variedade suscetível o que significa que foram reprimidos na variedade resistente em relação a suscetível que teve perfil de indução (**Figura 5**). Corroborando com os dados do RT-qPCR, visto que na variedade resistente as duas proteínas selecionadas foram reprimidas. Uma que codifica a proteína de ligação ao cálcio (SCSGLR1025C12) e uma com similaridade a proteína quinase (SCJLLR1108G11). Para a normalização da expressão relativa dos genes candidatos para a validação do macroarraanjo, foi utilizado como endógeno o gene da proteína 14-3-3 (CA297824). Apesar da β -tubulina e actina serem utilizadas com frequência na literatura para normalização da expressão gênica em cana-de-açúcar, no experimento que conduzimos estes genes não se mostraram apropriados. Terzi e colaboradores (2005) também notaram que para a validação dos macroarranjos

em um trabalho de expressão gênica de diversos órgãos de cana-de-açúcar os genes da actina e β -tubulina não foram os mais adequados. Por outro lado, o gene da proteína 14-3-3 e de uma poliubiquitina se mostraram eficientes para o controle da expressão gênica (TERZI et al. 2005) .

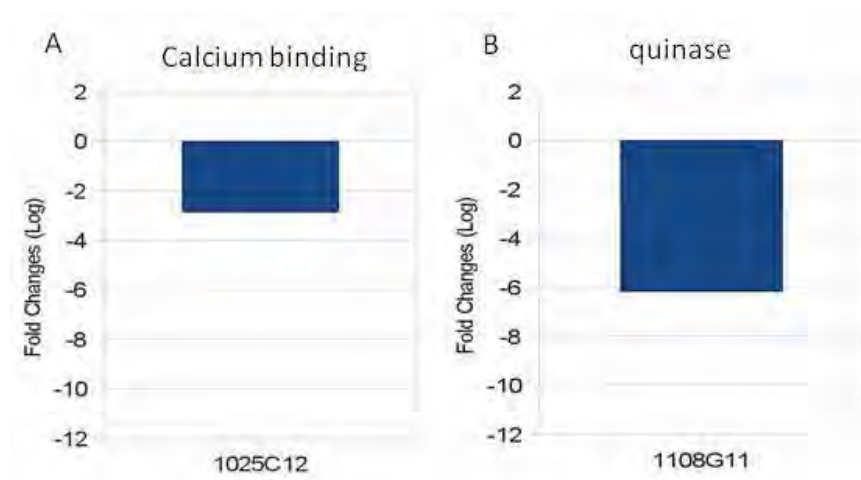


FIGURA 5: Validação dos resultados dos macroarranjos por RT- qPCR . A- uma EST com similaridade a proteína “calcium binding” (SCSGLR1025C12). B- uma EST (SCJLLR1108G11) com similaridade a proteína quinase (Tabela 2). A quantificação relativa foi obtida através do método $2^{-\Delta\Delta CT}$ usando o gene da proteína 14-3-3 como controle endógeno. Os dados representam a média de três replicatas biológicas (controles e tratadas).

DISCUSSÃO

Durante o estabelecimento da interação planta-patógeno, todo um mecanismo de interação é acionado, envolvendo um sistema de ataque e defesa com um sistema de contra-ataque. De um lado a planta, ao detectar o agente fitopatogênico, procura ativar seus mecanismos de resistência, enquanto que o fitopatógeno tenta vencer as estratégias de defesa (STHAL & BISHOP, 2000). A identificação de genes do hospedeiro envolvidos em resposta de defesa é importante para a elucidação dos mecanismos de resistência em plantas contra fitopatógenos.

Analisando as ESTs selecionadas a partir análise estatística gerada com os dados do macroarranjo, foi possível observar importantes alterações relacionadas ao sistema de defesa de plântulas de cana-de-açúcar provenientes de dois clones, um resistente e outro suscetível, quando inoculadas com *X. albilineans*. Foram observadas ESTs com perfil de indução e repressão relacionadas à percepção e transdução de sinal, assim como mensageiros secundários.

A ativação dos mecanismos de defesa da planta após a infecção por patógenos é regulada pela indução de vários genes do hospedeiro (RUSHTUN, 1998) que estão envolvidos em múltiplas vias de sinalização (GLAZEBROOK, 2001). A ativação dessas respostas depende da eficiência do hospedeiro em reconhecer a presença de patógenos através de mecanismos de percepção e transdução de sinais, que envolvem alterações transitórias no fluxo de íons através da membrana plasmática e mudanças no estado de fosforilação de várias proteínas. Como consequência desse processo, ocorre a ativação de fatores de transcrição no núcleo da célula vegetal, com a expressão subsequente de genes de defesa (EULGEM et al., 2004)

Estudos realizados com diferentes patossistemas têm revelado que esta resposta resulta na reprogramação do metabolismo celular (SOMSSICH & HAHLBROCK, 1998), sendo que alguns genes induzidos durante a infecção codificam proteínas que possuem atividade antimicrobiana (glucanases e quitinases) ou enzimas envolvidas na biossíntese de compostos antimicrobianos (fitoalexinas). Além disso,

também são ativados outros genes que codificam proteínas que regulam as vias de sinalização de defesa, os fatores de transcrição (YANG et al., 1997; SOMSSICH & HAHLBROCK, 1998).

Inúmeras vias de transdução de sinal são ativadas em plantas em resposta a vários tipos de estresse incluindo Ca^{2+} , proteínas kinases e lipídeos. Genes que codificam proteínas calmodulina foram identificados presente trabalho com maior expressão após 6 (SCJFLR2035H04, SCEQLR1029B05) e 120 horas (SCMCLR1122G02, SCCCLR1C04H11) de infecção. Em plantas, o íon cálcio citosólico (Ca^{2+}) é considerado o segundo maior mensageiro, envolvido no disparo de mecanismos de defesa (CLECOURIEUX et al., 2006). Estímulos bióticos e abióticos alteram a concentração e o fluxo de Ca^{2+} intracelular, desencadeando a cascata de sinalização (SANDERS et al., 2002; BERRIGE et al., 2003). Proteínas calmodulina são sensores que detectam e transduzem os sinais, regulando a atividade de proteínas alvo, as quais permitem ao organismo se adaptar às mudanças ambientais (BAUM et al., 1996). Alteração na permeabilidade da membrana plasmática ao íon Ca^{2+} é um evento precoce e comum na sinalização de defesa em plantas (JABS et al., 1997). Uma característica das proteínas calmodulina é a expressão de múltiplas isoformas (REDDY, 2001; LUAN et al., 2002), mecanismo pelo qual as células de plantas transduzem os sinais de cálcio para estabelecer respostas fisiológicas específicas. Em um ensaio experimental, Heo e colaboradores (1999) demonstraram a presença de isoformas específicas de calmodulina durante a resposta de plantas à infecção causada pelos fungos *Fusarium solani* e *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* e pelo vírus do mosaico do tabaco. Estes autores evidenciaram a diferença entre as isoformas, sendo que SCaM-4 e SCaM-5 foram induzidas após a infecção pelos patógenos, aumentando a resposta de resistência em plantas transgênicas, enquanto que outras isoformas, como SCaM-1 e SCaM-2 não apresentaram a mesma propriedade. EST com similaridade a uma proteína que se liga ao cálcio foi selecionada para a validação por RT-qPCR e apresentou um perfil de expressão semelhante ao verificado nos macroarranjos mostrando que na variedade resistente foi reprimida em comparação a suscetível (**Figura 5**), o que mostra uma consistência dos dados de expressão,

confirmado pelas duas técnicas, conferindo assim confiabilidade aos resultados obtidos pelo macroarranjo.

Genes de transdução de sinal normalmente envolvidos na percepção de estresse, como as proteínas quinases, foram mais expressos nas seguintes condições: plantas inoculadas (SCJLLR2013A03) e uma proteína receptora quinase (SCRULR1042H11), 6 horas (SCBGLR1097F03) 120 horas (SCSGLV1007D12, SCRFLR2021H11, SCCCLR1065B08) na variedade suscetível (SCEQLR1007C11), e na variedade resistente (SCRLV1049C01, SCACLR1127D01, SCJLLR1102E03) (**Tabelas** 1, 2 e 3) Foi identificado também uma EST com similaridade a uma proteína quinase (SCJLLR1108G11) que apresentou-se reprimida após a inoculação. Estudos relatam que as proteínas quinases podem conferir resistência de plantas à doença (SWIDERSKI & INNES, 2001; BRUEGGEMAN et al., 2002). Um estudo realizado por Glynn e colaboradores (2008) possibilitou a identificação de genes de resistência análogos (RGA) em cana-de-açúcar. As sequências encontradas apresentaram significativa similaridade com proteínas quinases reportadas em genes de resistência à doenças, já descritos em outras espécies de plantas. Proteínas quinases contendo repetições ricas em leucina representam o maior grupo de proteínas quinase no genoma de arabis, com 216 membros (SHIU & BLEECKER, 2002). Foi validado por meio de RT-qPCR, uma EST com similaridade a proteína quinase (SCJLLR1108G11) que apresentou perfil de repressão após a inoculação o que mostra a confiabilidade da técnica utilizada para a análise da expressão gênica no patossistema cana-de-açúcar e *X. albilineans*.

Gómez e colaboradores (1999) identificaram o gene *FL2* envolvido na percepção de estrutura flagelar bacteriana. Este gene produz uma proteína com um receptor de quinase com domínio extracelular composto por repetições ricas em leucina e um domínio serina treonina quinase intracelular. Interessantemente, o receptor quinase é semelhante ao gene de resistência *Xa21*, enquanto o domínio extracelular se assemelha à família de genes Cf, que promove resistência a várias cepas do fungo *Cladosporium fulvum*, que acomete as culturas de tomate, sugerindo que vias de

reconhecimento para vários elicitores como, por exemplo, o flagelo, possam se assemelhar a vias envolvidas em resistência específica, definida pela interação gene a gene. No presente trabalho, foram identificadas ESTs após a inoculação das plântulas com *X. albilineans*, que por sua vez, é uma bactéria que possui flagelo. Sendo assim, podemos sugerir a presença de proteínas que percebam a presença desta estrutura, promovendo a sinalização do elicitor bacteriano extracelular para o meio intracelular da célula vegetal. Proteínas com repetições ricas em leucina também foram mais expressas na variedade resistente após 120 horas (SCSFLV1046H07) e uma proteína com zíper de leucina apresentou um perfil de indução na variedade resistente (SCRLLR1038C04).

Ao longo das últimas décadas, genes de resistência (R) conferindo resistência a bactérias, fungos e vírus têm sido clonados de várias espécies de vegetais (DANGL & JONES, 2001). A caracterização molecular dos genes de resistência de plantas através de clonagens tem revelado a existência de alguns domínios conservados, como é o caso dos domínios com função quinase, zíper de leucina (LZ), sítio de adesão a nucleotídeos (NBS) e repetições ricas em leucinas (LRR) (BENT, 1996; HAMMOND-KOSACK & JONES, 1997). Após a clonagem do gene Xa21, foi observado que ele codifica uma proteína com sítio catalítico do tipo quinase na porção C-terminal que possivelmente está envolvido na fosforilação de proteínas durante a transdução de sinal do meio extracelular para o meio intracelular. Genes desta família também possuem repetições ricas em leucina (LRR) num provável domínio extracelular, um único domínio transmembrana e um domínio intracelular serina/treonina quinase (SONG et al., 1995, WANG & LEUNG, 1998). Análises de dois ESTs (SCCCCL3080E03.g e SCCCL3080B03.g) de cana-de-açúcar mostraram homologia com o gene Xa1 (QUIRINO, 2003), sugerindo então que, provavelmente, a cana-de-açúcar codifica proteínas do tipo NBS-LRR. No presente estudo, foi encontrada uma EST similar a proteína LRR e proteínas com domínios de zíper de leucina.

Em estudo realizado “in silico”, Nogueira e colaboradores (2007) identificaram 280 genes de resistência no transcriptoma da cana-de-açúcar distribuídos nas

seguintes classes: proteínas quinases, proteínas LRR (repetições ricas em leucina), LRR quinase, TM-LRR (domínio transmembrana rico em leucina). Dabbas e colaboradores (2004) realizaram um ensaio experimental com plantas de cana-de-açúcar com 5 meses de plantio e identificaram que na variedade resistente ocorreu aumento na expressão de duas ESTs, uma com similaridade à proteína LRR transmembrânica (gi:15241089) e outra com similaridade a proteína com zipper de leucina (gi:50947893) em plantas inoculadas com *X. albilineans*.

As enzimas fosfolipase D (SCSGLV1012G07, SCUTLR1015A05) estão relacionadas com transdução de sinal, convertendo fosfatidilcolina em ácido fosfatídico. Ademais, vias propostas mostram o envolvimento das fosfolipases D na biossíntese de glicina betaína, um osmoprotetor acumulado em plantas sob estresse osmótico (BRAY et al., 2002). Esta enzima tem sido relatada em resposta a vários estresses bióticos e abióticos e suas funções hipotéticas no metabolismo celular estão relacionadas com a degradação de membrana, transporte intracelular e transdução de sinal (ZHANG et al., 2005; BARGMANN & MUNIK, 2006). No presente trabalho, esta enzima foi a mais expressa na variedade resistente durante o intervalo de 120 horas da inoculação (**Tabela 2**).

O etileno é um hormônio vegetal volátil de múltiplas funções fisiológicas em plantas e é produzido como consequência de injúria, de tratamento com elicitores e através de vários processos metabólicos. Embora a participação do etileno na RSI (resposta sistêmica induzida) ou na RSA (resposta sistêmica adquirida) não seja clara, alguns estudos mostram sua necessidade para a expressão de resistência (KNOESTER et al., 1999). No entanto, outros indicam que a síntese de etileno após uma infecção deve ser um sintoma e não uma causa da indução de respostas de defesa (STICHER et al., 1997).

É interessante ressaltar que a etapa limitante da rota biossintética do etileno é catalisada pela enzima ACC sintase. E existem indícios de que a regulação da estabilidade da proteína ocorra por meio de fosforilação reversível na região C-terminal.

Sebastia e colaboradores (2004) realizaram um ensaio “in vitro” com peptídeos sintéticos baseados na sequência da enzima LeACS2-Ser460 de tomate e mostraram que as proteínas quinase dependentes de cálcio (CDPKs) são proteínas quinase que estão envolvidas na fosforilação desta enzima, sugerindo que o controle da biossíntese do etileno envolva a sinalização de Ca^{2+} . A ativação da enzima ACS5 de arabidopsis necessita da dissociação da proteína ETO1, provavelmente um processo que envolve a fosforilação com proteínas MAPK. Os autores reportaram que na condição de estresse tanto as proteínas quinases dependentes de cálcio (CDPK) quanto as proteínas MAPK podem agir em paralelo e contribuir para a ativação de vias de sinalização precoce e sinalização de hormônios. Nesse estudo foi identificada a presença de uma EST (SCCCLR1024H03) cuja proteína traduzida tem semelhança com CDPK, e uma EST com similaridade a MAPK (SCRFLR1055H03) com perfil de indução 6 horas após submetida a estresse biótico com *X. albilineans*. É interessante ressaltar que no intervalo de 6 horas foi observada a indução de duas ESTs relacionadas com a biossíntese do hormônio etileno. Uma que atua no início da via biossintética, a S-adenosilmetionina metiltransferase (SCRFLR2021B05) e a última enzima da via, a ACC oxidase (SCEZLR1009E06), nos levando a crer que a enzima ACC sintase estava sendo expressa, embora não tenha sido detectada no ensaio que realizamos.

Com base nos dados obtidos, pode-se observar a diferença na expressão gênica entre as plântulas cana-de-açúcar quando submetidas a estresse biótico com *X. albilineans*. Os resultados obtidos mostram que o perfil de resistência pode estar relacionado principalmente com percepção precoce do agente infeccioso e subsequente transdução de sinal para o interior da célula, para posterior ativação e/ou manutenção da expressão de genes de resistência, visto que a maioria dos genes foram expressos no intervalo de 6 horas e após a inoculação. Os dados também evidenciam que a variedade resistente apresentou mais genes induzidos, em relação à variedade suscetível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped blast and psi-blast: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.
- BARGMANN, B.O.; MUNNIK, T. The role of phospholipase D in plant stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, p. 515-522, 2006.
- BAUM, G.; LEV-YADUN, S.; FRIDMANN, Y.; ARAZI, T.; KATSNELSON, H. Z. M.; FROMM, H. Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation of glutamate and GABA metabolism and normal development in plants. **EMBO Eur. Mol. Biol. Organ. J.** p. 2988-2996, 1996.
- BENT, A.F. Plant disease resistance genes: function meets structure. **Plant Cell**, v. 8, p. 1757-1771, 1996.
- BERRIGE, M.J.; BOOTMAN, M.D.; RODERICK, H.L. Calcium signaling: dynamics homeostasis and remodeling. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 4, p. 517-529, 2003.
- BOGDANOVA, A. J.;. Protein-protein interactions in pathogen recognition by plants. **Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 981–989, 2002.
- BOLLER, T. Annu. Vev, Plant Physiol. **Plant Mol Biol.**, v. 46, p. 189-214, 1995.
- BOLLER, T. Ethylene and plant-pathogen interactions. **Curr. Top. Plant Physiol.** v. 5, p. 138-145, 1990.
- BONAS, U.; LAHAYE, T. Plant disease resistance triggered by pathogen-derived molecules: refined models of specific recognition. **Current Opinion in Microbiology.** v. 5, p. 44–50, 2002.
- BRAY, E. A. Abscisic acid regulation of gene expression during water deficit stress in the era of the *Arabidopsis* genome. **Plant Cell and Environment**, v. 25, p. 153-161, 2002.

BRUEGGEMAN, R.; ROSTOKS, N.; KUDRNA, D.; KILIAN, A.; HAN, F.; CHEN, J.; et al. The barley stem rust-resistance gene Rpg1 is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinase. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 99, p. 9328-9333, 2002.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal Biochem. Apr.** v. 162, n. 1, p. 156-159 1987.

COMSTOCK, J.C.; SHINE, J.M. Outbreak of leaf scald of sugarcane caused by *Xanthomonas albilineans*, in Florida. **Plant Disease**, St Paul, v. 76, n. 4, p.426, 1992.

DANGL, J.L.; JONES, J.D.G. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. **Nature**, v. 411, 2001.

DAVIS, M.J.; ROTT, P.; WARMUTH, C.J.; CHATENET, M.; BAUDIN, P. Intraspecific genomic variation within *Xanthomonas albilineans*, the sugar cane leaf scald pathogen. **Phytopathology**, v. 87, n. 3, p. 316-324, 1997.

DIETRICH, A.; MAYER, J.A.; HALBROCK, K. **J. Biol. Chem.**, v.265, p.6360-6368, 1990.

DIXON, R.A.; Lamb, C.J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.41, p.339-367, 1990.

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review Phytopathologist**, Palo Alto, North Carolina, v. 42, p.185-209, 2004.

EBEL, J.; SCHEEL, D. In **Genes Involved in Plant Defense**, (ed). Boller, T & Meins, F., Jr (Springer, Wien, Germany), p.184-205, 1992.

GAWIENOWSKI, M. C.; SZYMANSKI, D.; PERERA, I. Y.; ZIELINSKI, R. E. Calmodulin isoforms in *Arabidopsis* encoded by multiple divergent mRNAs. **Plant Molecular Biology**, v. 22, p. 215-225, 1993.

GLAZEBROOK, J. Genes controlling expression of defense responses in *Arabidopsis* status. **Curr Opin Plant Biol**, v. 4, p. 301-308, 2001.

GLYNN, N.C.; COMSTOCK, J.C.; SOOD, S.; DANG, P.; CHAPPARO, J.X. Isolation of NBSLRR resistance gene analogues and kinase analogues from Sugarcane (*Saccharum* spp.). **Pest Manage. Sci.** v. 64, p. 48–56, 2008.

GÓMEZ-GÓMEZ, L.; BAUER, Z.; BOLLER, T. Both the Extracellular Leucine-Rich Repeat Domain and the Kinase Activity of FLS2 Are Required for Flagellin Binding and Signaling in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 13, p. 1155–1163, 2001.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. Piracicaba, 2004. 236p. Tese de doutorado. Centro de energia nuclear na agricultura, Universidade de São Paulo.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Plant disease resistance genes. Annual Review of Plant Physiology and **Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 575-607, 1997.

HARMON, A. C.; GRIBSKOV, M.; HARPER, J. F. CDPKs - a kinase for every Ca²⁺ signal?. **Trends Plant Sci.** v. 5, p. 154-159, 2000.

HEO, W.D.; LEE, S.H.; KIM, M.C.; KIM, J.C.; CHUNG, W.S.; CHUN, H.J.; LEE, K.J.; PARK, H.C.; CHOI, J.Y.; CHO, M.J. Involvement of specific calmodulin isoforms in salicylic acid independent activation of plant disease resistance responses. **Proc Natl Acad. Sci**, v. 96, p. 766-711, 1999.

HUBER, W.; VON HEYDEBRECK A.; SÜLTMANN, H.; POUSTKA, A.; VINGRON, M. Variance stabilization applied to microarray data calibration and to the quantification of differential expression. **Bioinformatics**. v. 18, n. 1, p. S96-S104, 2002.

JABS, T.; TSCHOPE, M.; COLLING, C.; HAHLBROCK, K.; SCHEEL, D. Elicitor-stimulated ion fluxes and O₂ from the oxidative burst are essential components in triggering defence gene activation and phytoalexin synthesis in parsley. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, p. 4800–4805, 1997.

KNIGHT, M.R.; CAMPBELL, A.K.; SMITH, S.M.; TREWAVAS, A.J. **Nature**. London v.352, p.524-526, 1991.

KNOESTER, M.; PIETERSE, C.M.J.; BOL, J.F. & VAN LOON, L.C. Systemic resistance in Arabidopsis induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. **Mol. Plant- Microbe Interact**. v. 12, p. 720-727, 1999.

LECOURIEUX, D.; RANJEVA, R.; PUGIN, A. Calcium in plant defence-signalling pathways. **New Phytologist** . v. 17, p. 249–269, 2006.

LEE, S. H.; KIM, J. C.; LEE, M. S.; HEO, W. D.; SEO, H. Y.; YOON, H. W.; HONG, J.C.; LEE, S.Y.; BAHK, J.D., HWANG, I.; CHO, M.J. Identification of a novel divergent calmodulin isoform from soybean which has differential ability to activate calmodulin-dependent enzymes. **J. Biol. Chem**. v. 270, p. 21806-21812, 1995.

MCPHERSON, J.D. Overgo probing of high-density filters. Disponível em <http://www.tree.caltech.edu/protocols/overgo.html>, 2000.

MULDER, N. J.; APWEILER, R.; ATTWOOD, T. K.; et al. New developments in the InterPro database. **Nucleic Acid Res**, v. 35, p. 224-228, 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NOGUEIRA-WANDERLEY, A. C.; SOARES-CAVALCANTI, N. M.; MORAIS, D. A. L.; BELARMINO, L. C.; BARBOSA-SILVA, A.; BENKO-ISEPPON, A. M. Abundance and diversity of resistance genes in the sugarcane transcriptome revealed by in silico analysis. **Genet. Molecular Res**. v. 6, n. 4, p. 866-899, 2007.

NÜRNBERGER, T. Signal perception in plant pathogen defense. **Cell. Mol. Life Sci**. v. 55, p. 167–182, 1999.

R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>, 2008.

REDDY, A.S.N. Calcium: silver bullet in signalling. **Plant Science**, v. 160, p. 381–404, 2001.

ROBERTS, D. M.; HARMON, A. C. Calcium-Modulated Proteins: Targets of Intracellular Calcium Signals in Higher Plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 43, p. 375-414, 1992.

ROTT, P.; DAVIS, M. J.; BAUNDING, P. Serological variability in *Xanthomonas albilineans*, causal agent of leaf scald disease of sugarcane. **Plant Pathology**. v. 43, p. 344-349, 1994.

RUSHTUN, P. J.; TORRES, J. T.; PARNISKE, M.; WERNERT, P.; HAHLBROCK, K.; SOMSSICH, I. E Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. **Embo J**, v. 5, n. 20, p. 5690-5700, 1996.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2 ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANDERS, D.; PELLOUX, J.; BROWNIE, C.; HARPER, J.; Calcium at the crossroads of signaling. **Plant Cell**, v. 14, p. 401-417, 2002.

SCHEEL, D. Resistance response physiology and signal transduction. **Curr. Opin. Plant Biol.** v.1, p. 305–310, 1998.

SCHULER, M. A. Plant cytochrome P450 monooxygenases **Crit. Rev. Plant Sci.** v. 15, p. 235–284, 1996.

SCHUMMER, M.; WAILAP, V. N. G.; BUMGARNER, R. E.; NELSON, P. S.; SCHUMMER, B.; BERDNASKI, D. W.; HASSEL, L.; BALDWIN, R. L.; KARLAN, B. Y.;

- HOOD, L. Comparative hybridization of an array of 21500 ovarian cDNAs for the discovery of genes over expressed in ovarian carcinomas. **Gene**, v. 238, p. 375-385, 1999.
- SHIU, S.H.; BLEECKER, A.B. Expansion of the receptor-like kinase/Pelle gene family and receptor-like proteins in Arabidopsis. **Plant Physiol.** v. 132, p. 530-543. 2002.
- SNEDDEN, W.A.; FROMM, H. Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses to the environment. **Trends Plant Sci.** v. 3, n. 8, p. 299-304, 1998.
- SOMSSICH, I.E.; HAHLBROCK, K. Pathogen defense in plants-a paradigm of biological complexity. **Trends Plant Sci**, v. 3, p. 86-90, 1998.
- SONG, W.Y. et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene Xa21. **Science**, v. 270, p. 661-667, 1995.
- SONG, W. Y.; PI, L. Y.; WANG, G. L., GARDNER, J. et al. Evolution of the rice Xa21 disease resistance gene family. **Plant Cell.** v. 9, p. 1279-1287, 1997.
- STHAL, E.A.; BISHOP, J.G. Plant-pathogen arms races at the molecular level. **Current Opinion in Plant Biology.** v. 3, p. 299-304, 2000.
- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.
- SUZUKI, K.; SHINSHI, H. Transient Activation and Tyrosine Phosphorylation of a Protein Kinase in Tobacco Cells Treated with a Fungal Elicitor. **Plant Cell**, v. 7, p. 639-647, 1995.
- SWIDERISK, M. R.; INNES, R. W. The Arabidopsis PBS1 resistance gene encodes a member of a novel protein kinase subfamily. **Plant J.** v. 26, p. 101-112, 2001.
- TAKEZAWA, D.; LIU, Z.H.G.; AN, B. W. POOVALAH. Calmodulin gene family in potato: developmental and touch-induced expression of the mRNA encoding a novel isoform. **Plant Molecular Biology.** v. 27, p. 693-703, 1999.

TERZI-PANINI, F.S. et al. Transcription profiling of signal transduction-related genes in sugarcane tissues. **DNA research**. v. 12, p. 27-38, 2005.

The gene ontology consortium. Gene ontology: tool for the unification of biology. **Nature genetic** 25:25-29, 2000.

VETTORE, A. L.; SILVA, F. R.; KEMPER, E; ARRUDA, P. The libraries that made SUCEST. **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, p. 1-7, 2001.

WALKER, J. C. Structure and function of the receptor-like protein kinases of higher plants. **Plant Molecular Biology**, v. 26, p. 1599-1609, 1994.

WAN, J.; DUNNING, F. M. BENT, A. F.; Probing plant-pathogen interactions and downstream defense signaling using DNA microarrays. **Funct Integr Genomics**, v. 2, p. 259–273, 2002.

WANG, G. L.; LEUNG, H. Molecular biology of host-pathogen interactions in rice diseases. In: SHIMAMOTO, K., (ed). **Molecular Biology of rice**. Tokyo:Springer-Verlag, p. 201-232, 1998.

Wilbrink, G. De gomziekte van het suikerriet, hare oorzaak in hare bestrijding. **Archief voor de Suikerindustrie in Nederlandsch-Indie**, v. 28, p.1399-1525

WU, H.; KERR, M. K.; CUI, X.; CHURCHILL, G. A. MAANOVA: a software package for the analysis of spotted cDNA microarray experiments. In: PARMIGIANI G, GARRETT E, IRIZARRY R, ZEGER S, (ed). **The Analysis of Gene Expression Data: Methods and Software**. New York: Springer-Verlag. p. 313–341, 2003.

YANG, T. S.; GREGORIO, A.; SHAHAL, F.; MOSHE, F.; Hillel. Characterization of the calmodulin gene family in wheat: structure, chromosomal location, and evolutionary aspects. **Mol Gen Genet**, v. 252, p. 684-694, 1996.

YANG, Y.; SHAH, J.; KLESSIG, D. F. Signal perception and transduction in plant defense responses. **Genes. Dev**, v. 1, p. 1621-1639, 1997.

ZHANG, J. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. **Genome Biol**, v. 5, p. R80-R80, 2004.

ZHANG, W.; YU, L.; ZHANG, Y.; WANG, X. Phospholipase D in the signaling of plant response to abscisic acid and reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1736, p. 1-9, 2005.

ZIELINSKI, R. E. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 49, p. 697-725, 1998.

Anexo A

Tabela 1: Descrição dos genes diferencialmente expressos em ambas as variedades com base no banco de dados do “gene ontology”.

Grupo 1 variedade		
Clone	Descrição	e-value
SCBFLR1005F02	No hit	-
SCEQLR1007B10	nuclear pore complex protein nup155	5,08E-98
SCACLR1014B04	No hit	-
SCACLR1014H12	leucine rich repeat family expressed	8,08E-56
SCOSLR1018B06	No hit	-
SCQGLR1019A06	No hit	-
SCQGLR1019B07	No hit	-
SCSGLR1025C12	calcium binding protein F:GO:0005509	2,11E-37
SCSGLR1025H10	proteína hipotética F:GO:0003674	3,91E-24
SCBFLR1026E08	mterf familyexpressed C:GO:0005739	2,04E-55
SCEPLR1030E11	yab6_onysj protein yabby 6 C:GO:0009536	9,03E-32
SCMCLR1032F01	no hit	-
SCUTLR1037B09	no hit	-
SCUTLR1037C06	phenylalanyl-trna synthetase class iic familyexpressed	2,75E-68

Tabela 1: continuação

SCUTLR1037C11	no hit	-
SCUTLR1037F06	proteína hipotética	3,08E-08
SCRLLR1038B09	hsp70t-2 atp binding P:GO:0006457 P:GO:0009644 F:GO:0005524 P:GO:0042542	1,69E-80
SCRLLR1038C04	leucine zipper protein	5,31E-38
SCQSLR1040F07	no hit	-
SCQGLR1041H03	ribosomal protein l15 C:GO:0005739	8,06E-07
SCRULR1042E09	proteína hipotética	2,22E-27
SCRULR1042G01	no hit	-
SCAGLR1043C10	no hit	-
SCBGLR1044C08	mate efflux familyexpressed C:GO:0016020	4,87E-28
SCBGLR1044H05	no hit	-
SCSGLR1045D12	no hit	-
SCBGLR1047B10	no hit	-
SCCCLR1048C05	dead h (asp-glu-ala-asp his) box polypeptide 8 (rna helicase)	3,31E-82
SCCCLR1048D01	proteína hipotética C:GO:0005739	1,15E-18
SCVPLR1049E11	no hit	-
SCRFLR1055C03	proteína hipotética F:GO:0005509	1,86E-13
SCRLLR1059D12	no hit	-
SCBFLR1060F10	g-patch domain containingexpressed	2,51E-09

Tabela 1: continuação

SCBFLR1060G11	Proteína hipotética C:GO:0009536	5,04E-63
SCQSLR1061A11	proteína hipotética	6,93E-20
SCQGLR1062E05	no hit	-
SCQGLR1062E08	proteína hipotética	4,01E-14
SCRULR1063B03	natural resistance-associated macrophageexpressed C:GO:0016020	1,42E-41
SCCCLR1065G01	no hit	-
SCCCLR1066E01	proteína hipotética	4,14E-85
SCCCLR1067E11	proteína hipotética F:GO:0003674 C:GO:0009507	5,01E-63
SCJFLR1074E05	retinoblastoma-binding protein C:GO:0005834 F:GO:0000166	3,25E-55
SCJFLR1074H09	nhp2-like proteinexpressed	5,38E-50
SCSGLR1084A10	no hit	-
SCSGLR1084G03	proteína hipotética	7,20E-27
SCQGLR1085E07	single-strand dna binding F:GO:0003697 C:GO:0005739	3,97E-61
SCQGLR1086B02	proteína hipotética	1,07E-17
SCQGLR1086C12	pentatricopeptiderepeat-containing protein	8,78E-79
SCQGLR1086G03	rwd domain containing 1-like protein F:GO:0003674 P:GO:0008150	4,18E-59
SCQGLR1087F08	proteína hipotética	3,37E-23
SCQSLR1090E05	transport inhibitor response-like protein F:GO:0005515 F:GO:0004842 F:GO:0010011	4,87E-60
SCQSLR1090E07	peroxidase 55 precursor C:GO:0005739	1,57E-63

Tabela 1: continuação

SCQSLR1090G05	methyladenine glycosylase	1,19E-18
SCEQLR1091C10	no hit	-
SCEQLR1092A11	no hit	-
SCEQLR1092B01	no hit	-
SCEQLR1093A01	no hit	-
SCBGLR1100A04	no hit	-
SCRLLR1111E05	dna-binding protein F:GO:0003677 C:GO:0005634 F:GO:0008270 P:GO:0006355	4,72E-39
SCBGLR1113E12	no hit	-
SCBGLR1115D07	ring-box protein F:GO:0008270 F:GO:0005515	8,95E-43
SCBGLR1115H09	centromeric histone h3 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	1,32E-09
SCBGLR1116F04	no hit	-
SCCCLR1C04A01	associated with hox familyexpressed	2,84E-76
SCCCLR1C04F10	cation exchanger-like protein	1,17E-40
SCCCLR1C05F12	receptor protein kinase perk1 -like protein	2,05E-07
SCCCLR2001C02	proteína hipotética	1,17E-98
SCCCLR2001G05	erwinia induced protein 1	3,48E-47
SCCCLR2003D09	no hit	-
SCCCLR2004A05	centromeric histone h3 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	1,37E-46
SCCCLR2004B11	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCCCLR2004C02	no hit	-
SCQGLR2017C06	no hit	-
SCAGLR2018A02	small zinc finger-like protein F:GO:0008270 F:GO:0015450 C:GO:0005743 P:GO:0045039 C:GO:0042719 P:GO:0065002	1,81E-38
SCUTLR2023G06	no hit	-
SCSFLR2024B01	no hit	-
SCSFLR2024B05	proteína hipotética	1,57E-10
SCSFLR2024C04	proteína hipotética	7,68E-06
SCVPLR2027C08	proteína hipotética C:GO:0009536	1,23E-43
SCJLLR2028D03	no hit	-
SCUTLR2030C07	no hit	-
SCUTLR2030E04	beta 2 subunit of 20s proteasome C:GO:0005839 P:GO:0006511	1,54E-42
SCSFLR2031A07	no hit	-
SCJFLR2036D05	proteína hipotética	1,32E-07
SCRFLR2037F01	proteína hipotética	1,56E-27
SCCCLV1002A11	proteína hipotética	7,35E-42
SCSGLV1005C06	proteína hipotética	3,15E-43
SCSGLV1005G05	no hit -	-
SCSGLV1006H09	no hit	-
SCSGLV1009E06	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCSGLV1010A03	no hit	-
SCSGLV1011C09	proteína hipotética C:GO:0009536	2,50E-60
SCSGLV1011E09	no hit	-
SCSGLV1011F05	nadh-dependent reductase P:GO:0008152 F:GO:0003824 F:GO:0005488 C:GO:0009507 F:GO:0016564	1,82E-105
SCSGLV1012A09	dwarf3 F:GO:0020037 F:GO:0004497 F:GO:0009055 F:GO:0005506	2,18E-90
SCSGLV1012G12	chy zinc finger familyexpressed	4,38E-13
SCQGLV1015F07	p-type atpase F:GO:0005524 P:GO:0015992 C:GO:0016021 P:GO:0008152 F:GO:0015662	5,10E-69
SCQGLV1017A04	no hit	-
SCRLLV1025B12	phosphoglycerate mutase	7,66E-45
SCMCLV1033G06	no hit	-
SCRFLV1035D10	protein F:GO:0051082	1,13E-71
SCRFLV1035F03	no hit	-
SCRFLV1037E06	proteína hipotética C:GO:0009536	1,71E-28
SCRFLV1038E02	proteína hipotética	9,75E-21
SCRFLV1038E10	proteína hipotética	2,62E-24
SCAGLV1040H10	proteína hipotética	7,62E-92
SCAGLV1042H11	no hit	-
SCAGLV1042H12	lysyl-trna synthetase C:GO:0005739 P:GO:0048481 F:GO:0005524 F:GO:0004812 P:GO:0006418	4,41E-20
SCSFLV1045A07	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCSFLV1045A10	microtubule-associated protein map65-1a	F:GO:0008017 P:GO:0051322 P:GO:0001578 P:GO:0007020 C:GO:0009524 C:GO:0005634 P:GO:0031116	2,31E-47
SCSFLV1045B03	no hit		-
SCSFLV1045C03	no hit		-
SCCCLV1C04C07	no hit		-

Grupo 2 variedade

Clone	Descrição	e-value	
SCMCLR1010A02	replication protein a 70kda	F:GO:0003676 C:GO:0005634 P:GO:0006260	9,60E-54
SCJLLR1011H08	rin2 (rpm1 interacting protein 2) protein binding zinc ion binding	F:GO:0004842 F:GO:0005515 P:GO:0009626 C:GO:0005886	5,00E-42
SCRFLR1012D06	early nodule-specific-like protein enod8	F:GO:0008168 P:GO:0008152	1,83E-90
SCRFLR1012G01	garp protein		2,14E-80
SCRFLR1012G08	proteína hipotética		9,26E-57
SCJFLR1017H07	proteína hipotética		1,01E-28
SCVPLR1028H06	no hit		-
SCMCLR1032A08	no hit		-
SCJLLR1033C02	growth-regulating factor 8		2,15E-31
SCJFLR1035E12	proteína hipotética	C:GO:0016023	1,53E-75
SCACLR1036E02	proteína hipotética		3,55E-32

Tabela 1: continuação

SCEQLR1050H07	retroelement protein F:GO:0005488 P:GO:0009987	3,06E-08
SCEZLR1052C01	no hit	-
SCEZLR1052H05	inorganic phosphate transporter 1 C:GO:0016021 F:GO:0005315 P:GO:0006817	1,90E-52
SCMCLR1053H01	beta-amylin synthase F:GO:0003824	1,24E-43
SCACLR1057B02	ppr protein C:GO:0009536	8,45E-82
SCACLR1057B04	proteína hipotética	1,05E-30
SCACLR1057B07	no hit	-
SCUTLR1058E11	proteína hipotética	3,16E-77
SCRLLR1059C04	myb-like dna-binding domain containing expressed P:GO:0045449 F:GO:0003677 C:GO:0005634	4,42E-25
SCQGLR1062C01	nucleoside diphosphate kinase P:GO:0009201 F:GO:0016740	8,26E-37
SCCCLR1068A04	no hit	-
SCJFLR1073B03	no hit	-
SCJFLR1074A01	transposonpong sub-class	5,79E-66
SCCCLR1077B05	no hit	-
SCCCLR1077H12	no hit	-
SCCCLR1078A09	far-red impaired response protein	4,00E-49
SCCCLR1080C09	2h2 type family protein	1,31E-08
SCCCLR1080D02	set domain-containing	5,76E-36
SCSGLR1084B01	pre-mrna cleavage complex ii protein pcf11	3,58E-36

Tabela 1: continuação

SCSGLR1084B04	voltage-dependent anion channel protein 2 C:GO:0005741 P:GO:0006820 F:GO:0008308	9,72E-19
SCBGLR1097F10	uncharacterized plant-specific domain tigr01615 familyexpressed C:GO:0009536	1,14E-16
SCJLLR1102D06	no hit	-
SCJLLR1102D06	no hit	-
SCJLLR1102G08	no hit	-
SCJLLR1102G08	no hit	-
SCJLLR1103D09	no hit	-
SCJLLR1103G06	no hit	-
SCJLLR1103H02	poz domain protein family-like F:GO:0005515	1,69E-70
SCJLLR1104A08	proteína hipotética	2,30E-17
SCJLLR1104A08	proteína hipotética	1,08E-10
SCJLLR1104B07	no hit	-
SCJLLR1104B07	no hit	-
SCJLLR1104B09	no hit	-
SCJLLR1104B09	no hit	-
SCJLLR1104E04	no hit	-
SCJLLR1104E11	proteína hipotética C:GO:0005739	1,33E-87
SCJLLR1104E11	proteína hipotética C:GO:0005739	4,37E-49

Tabela 1: continuação

SCJLLR1104H01	growth-regulating factor 3	1,57E-27
SCJLLR1106B01	no hit	-
SCBGLR1119H08	proteína hipotética C:GO:0005739	1,06E-22
SCCCLR1121B12	no hit	-
SCMCLR1122D04	no hit	-
SCMCLR1123D12	polyol transported protein 2	1,83E-33
SCACLR1126F06	proteína hipotética	6,35E-22
SCACLR1128A09	proteína hipotética	2,07E-29
SCACLR1128A10	importin 9	2,90E-67
SCUTLR2008A05	autophagy-related protein 8c precursor (autophagy-related ubiquitin-like modifier atg8c) C:GO:0005739	5,95E-15
SCUTLR2008E02	no hit	-
SCVPLR2012E08	af169025_1seed maturation protein pm41 C:GO:0005739 C:GO:0009536	1,07E-15
SCJLLR2013B12	mcm33_maizedna replication licensing factor mcm3 homolog 3 (replication origin activator 3) (roa protein 3) P:GO:0006270 F:GO:0003677 P:GO:0007049	6,54E-31
SCJLLR2013C01	proteína hipotética	7,85E-67
SCJLLR2013C01	proteína hipotética	6,05E-69
SCJLLR2013E09	no hit	-
SCUTLR2015E05	no hit	-
SCUTLR2015G02	no hit	-
SCSFLR2016C03	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCJLLR2020A07	no hit	-
SCJLLR2020F11	disease resistance protein rps2	4,77E-62
SCACLR2029A05	no hit	-
SCAGLR2033G11	no hit	-
SCAGLR2033H01	peroxisomal membrane protein 22expressed	1,02E-09
SCCCLV1001A06	no hit	-
SCCCLV1001B03	importin-alpha re-exporter	4,56E-09
SCCCLV1001C03	axi 1 C:GO:0009536	6,63E-59
SCCCLV1001E06	no hit	-
SCRLLV1024B09	no hit	-
SCRLLV1024B09	no hit	-
SCMCLV1029H10	proteína hipotética	9,94E-72
SCMCLV1031D08	no hit	-
SCMCLV1032E11	polyprenyl diphosphate synthase	8,21E-96
SCSFLV1047D10	outer arm dynein intermediate chain 1	9,82E-75
SCSFLV1047D12	retrotransposonty3-gypsy subclass C:GO:0000785 F:GO:0003964 F:GO:0003677 P:GO:0006333 F:GO:0006278 F:GO:0003723	7,45E-46
SCSFLV1048C04	no hit	-
SCSFLV1048C06	cytochrome p450 C:GO:0016023	1,16E-49

Tabela 1: continuação

SCRLLV1049C01	protein kinase receptor type precursor C:GO:0016023	4,95E-38
SCRLLV1049G04	no hit	-
SCRLLV1050C05	proteína hipotética	5,08E-43
SCRLLV1050E11	no hit	-
SCRLLV1051B06	carboxypeptidase 1 precursor (serine carboxypeptidase i) (cp-mi) C:GO:0005576 C:GO:0005777	8,24E-75

Grupo 3 variedade

Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001A02	Multisubunit regulator protein cop9	5,50E-84
SCEZLR1009B12	no hit	-
SCMCLR1010D03	fae2 protein P:GO:0008152 F:GO:0008415	1,82E-75
SCJLLR1011C11	no hit	-
SCJLLR1011G01	no hit	-
SCEZLR1031C05	no hit	-
SCMCLR1032B08	no hit	-
SCMCLR1032E02	no hit	3,59E-88
SCJLLR1033G08	cfi_maizechalcone--flavonone isomerase (chalcone isomerase) P:GO:0009813 F:GO:0045430 C:GO:0009536	5,36E-93

Tabela 1: continuação

SCCCLR1048E11	gtp-binding protein C:GO:0005739	8,14E-51
SCVPLR1049F12	Cytochrome p450 C:GO:0009536	1,00E-65
SCJLLR1054A10	harpin-induced protein 1 family-like	2,06E-56
SCRFLR1055B02	dentin sialophosphoprotein precursor-like	3,17E-60
SCJFLR1056A12	no hit	-
SCRLLR1059A07	glutathione synthetase F:GO:0005524 P:GO:0006750 F:GO:0004363	2,05E-96
SCQSLR1061E04	proteína hipotética	4,22E-18
SCJFLR1071H01	c3h2c3 ring-finger F:GO:0046872	1,49E-40
SCCCLR1075F09	rna recognition motif familyexpressed F:GO:0003676 F:GO:0000166	9,07E-32
SCCCLR1076C06	ghmp kinase-like	2,25E-49
SCCCLR1076F06	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide g P:GO:0016071 C:GO:0030529	1,63E-29
SCCCLR1079C05	no hit	-
SCEQLR1093H12	no hit	-
SCEQLR1094F04	no hit	-
SCBGLR1096B04	proteína hipotética	8,75E-43
SCBGLR1096C06	60s acidic ribosomal protein p0 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006414	1,21E-30
SCBGLR1099A08	proteína hipotética	1,46E-27
SCJLLR1101G12	no hit	-
SCJLLR1102B01	proteína hipotética	5,79E-35

Tabela 1: continuação

SCJLLR1103D10	proteína hipotética C:GO:0005739	1,14E-08
SCJLLR1103E05	no hit	-
SCJLLR1104D02	no hit	-
SCBGLR1117D09	no hit	-
SCMCLR1124A06	at5g49210 k21p3_8 C:GO:0005739	2,67E-30
SCMCLR1125A03	proteína hipotética C:GO:0005576	3,08E-06
SCMCLR1125F11	metal-transporting p-type atpase-like protein C:GO:0009536 F:GO:0005524 C:GO:0016020 P:GO:0030001 F:GO:0046872	1,46E-26
SCACLR1127D01	protein kinase domain containing expressed	1,45E-22
SCACLR1128F11	no hit	-
SCACLR1132C09	ternary complex factor	9,84E-30
SCCCLR2004C03	no hit	-
SCCCLR2004D02	proteína hipotética	5,04E-25
SCCCLR2004D08	no hit	-
SCJLLR2006G07	no hit	-
SCACLR2007G11	oxidoreductase-like protein	6,73E-61
SCUTLR2008D11	vesicle transport v-snare (vesicle soluble nsf attachment protein receptor) C:GO:0016020 P:GO:0006886	1,94E-64
SCQGLR2010D05	no hit	-
SCJLLR2013F01	no hit	-
SCJLLR2013F01	gibberellin regulated protein	7,58E-12

Tabela 1: continuação

SCAGLR2026F12	bet v i allergen P:GO:0009607 P:GO:0006952	5,11E-10
SCRFLR2037B02	histone h2a histone-fold C:GO:0009536 C:GO:0000786 F:GO:0003677 C:GO:0005634 P:GO:0006334	4,49E-11
SCQGLV1018H01	sodium-lithium tolerant 2	6,98E-15
SCACLV1022E05	tubby protein	1,68E-93
SCRLLV1026A01	drought inducible 22 kd protein P:GO:0006950	3,22E-09
SCRLLV1026E10	non-phototropic hypocotyl 3 P:GO:0009416	1,16E-55
SCRLLV1026F06	no hit	-
SCRLLV1027C08	no hit	-
SCMCLV1033D09	no hit	-
SCSFLV1044C07	proteína hipotética	1,25E-40
SCSFLV1045C09	proteína hipotética	9,95E-15
SCSFLV1045C12	no hit	-
SCSFLV1045E01	moco containing protein F:GO:0016491 F:GO:0009055 F:GO:0030151 P:GO:0006118	4,22E-74
SCSFLV1046A05	no hit	-
SCSFLV1046C06	no hit	-
SCSFLV1047F01	no hit	-
SCSFLV1048C08	no hit	-
SCRLLV1052C12	vacuolar proton-ATPase F:GO:0046933 F:GO:0046872 P:GO:0006754 F:GO:0005524 F:GO:0046961 P:GO:0015992 C:GO:0016469	2,56E-64

Tabela 1: continuação

Grupo 4 variedade		
Clone	Descrição	e-value
SCBFLR1005F10	no hit	-
SCEQLR1007C11	protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005524 F:GO:0004674	7,29E-06
SCRULR1020A11	no hit	-
SCAGLR1021C12	no hit	-
SCAGLR1021G12	no hit	-
SCCCLR1022C08	no hit	-
SCBGLR1023A12	no hit	-
SCCCLR1024A07	pri-interacting factor n	7,31E-07
SCSGLR1025A05	no hit	-
SCEPLR1030G03	no hit	-
SCEZLR1031A12	f-box domain containing expressed C:GO:0005739	2,24E-26
SCBGLR1044D12	proteína hipotética	1,20E-10
SCBGLR1044E03	stachyose synthase C:GO:0005737 P:GO:0009312 F:GO:0047268	9,68E-61
SCBGLR1044H02	proteína hipotética C:GO:0005739	1,14E-29
SCSGLR1045G12	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCBFLR1046D02	proteína hipotética	4,20E-22
SCBGLR1047C11	scarecrow-like transcription factor 11 C:GO:0005739	1,49E-33
SCCCLR1048A01	thioredoxin m P:GO:0045454 F:GO:0009055 F:GO:0015035 P:GO:0006662 C:GO:0009507 P:GO:0006810	5,23E-72
SCMCLR1053H07	proteína hipotética C:GO:0012505	2,17E-29
SCRLLR1059H01	wrky family transcription factor-like	1,61E-38
SCQGLR1062D05	no hit	-
SCRULR1063C05	no hit	-
SCAGLR1064A03	flavonol 3-o-glucosyltransferase F:GO:0016758	4,33E-40
SCAGLR1064B06	no hit	-
SCAGLR1064C05	no hit	-
SCAGLR1064E01	carboxymethylenebutenolidase-like protein C:GO:0005739	2,09E-50
SCCCLR1065D12	rhomboid-like protein C:GO:0009536	7,14E-70
SCCCLR1065E01	brittle stalk2	1,11E-15
SCCCLR1065H10	no hit	-
SCCCLR1066D03	proteína hipotética C:GO:0009536	3,31E-21
SCCCLR1066E10	no hit	-
SCCCLR1066G09	proteína hipotética C:GO:0016020	1,51E-29
SCCCLR1068A03	growth-regulating factor 11	5,34E-60
SCCCLR1068E10	proteína hipotética	1,45E-52

Tabela 1: continuação

SCJFLR1074B12	no hit	-
SCSGLR1084A08	udp-glucuronic acid decarboxylase C:GO:0009536	2,50E-112
SCQGLR1085H09	no hit	-
SCQSLR1089D09	no hit	-
SCQSLR1089D10	proteína hipotética	2,09E-54
SCEQLR1091E06	branched-chain alpha-keto acid decarboxylase e1 beta subunit C:GO:0005739	5,95E-36
SCEQLR1092C01	proteína hipotética C:GO:0005739	5,36E-09
SCBGLR1100A08	no hit	-
SCBGLR1112G01	cysteine proteinase inhibitor F:GO:0004869	1,06E-47
SCBGLR1113C12	no hit	-
SCBGLR1113G08	proteína hipotética	1,48E-08
SCBGLR1114C09	proteína hipotética F:GO:0003674	6,03E-38
SCBGLR1114H06	n-terminal domain containingexpressed C:GO:0005739	1,35E-17
SCBGLR1116A10	no hit	-
SCCCLR1C05H11	no hit	-
SCCCLR1C10B06	no hit	-
SCCCLR2002H02	f13j11 prli-interacting factorexpressed	1,26E-44
SCCCLR2003G03	hat family dimerisation C:GO:0009536 C:GO:0016020	9,43E-92
SCAGLR2026H11	succinate dehydrogenase subunit 3 F:GO:0009055 P:GO:0006099 F:GO:0000104 C:GO:0016020	1,21E-32

Tabela 1: continuação

SCVPLR2027G10	no hit	-
SCVPLR2027H01	proteína hipotética	4,91E-26
SCRFLR2037D02	proteína hipotética	4,84E-06
SCSGLV1013B02	proteína hipotética	1,52E-25
SCSGLV1013B02	proteína hipotética	5,37E-30
SCSGLV1013D05	proteína hipotética	2,80E-94
SCSGLV1013D05	proteína hipotética	1,74E-24
SCSGLV1013G05	no hit	-
SCSGLV1013G05	heavy meromyosin-like protein	3,65E-21
SCSGLV1013G07	pentatricopeptiderepeat-containing protein	3,80E-79
SCQGLV1016B09	proteína hipotética	5,84E-17
SCQGLV1016G06	gamyb-binding protein	1,75E-48
SCQGLV1016H02	phragmoplastin 12	1,39E-34
SCQGLV1016H08	no hit	-
SCRLLV1024C08	proteína hipotética	1,04E-33
SCRFLV1036G07	no hit	-
SCAGLV1041C07	nadh dependent glutamate synthase P:GO:0006537 F:GO:0016040 F:GO:0015036	8,58E-80
SCAGLV1041H04	psa5_orysj proteasome subunit alpha type-5 (20s proteasome alpha subunit e) (20s proteasome subunit alpha-5) C:GO:0005839 F:GO:0004298	1,02E-94
SCSFLV1044B07	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCSFLV1045B01	proteína hipotética	1,05E-95
SCRLLV1053F05	proteína hipotética C:GO:0009536	1,21E-22
Grupo 5 variedade		
Clone	Descrição	eValue
SCEPLR1051D03	no hit	-
SCJLLR1101A02	histone h2a C:GO:000786 F:GO:0006334 P:GO:0005515 P:GO:0009909 C:GO:0006634 C:GO:0009536	7,36E-35
SCJLLR1101E03	protein C:GO:0009536	6,68E-56
SCJLLR1102E03	atypical receptor-like kinase mark C:GO:0009536	6,94E-26
SCJLLR1102E03	protein P:GO:0006468 F:GO:0005515 F:GO:0005524 P:GO:0007169 C:GO:0009536 C:GO:0005739	2,09E-52
SCBGLR1112A01	no hit	-
SCBGLR1117E04	gtp-binding protein rab7d F:GO:0005525 C:GO:0005886 F:GO:0005524 F:GO:0008134 P:GO:0007264 C:GO:0005739 P:GO:0006355 P:GO:0015031	1,28E-70
SCBGLR1118B05	chloroplast heat shock protein 70 F:GO:0051082 F:GO:0005524 P:GO:0006950 C:GO:0009507 F:GO:0000166 P:GO:0006457	3,69E-04
SCACLR2007D05	f-box family	5,68E-11
SCVPLR2012D04	proteína hipotética	4,94E-17
SCCCLR2020D04	germin-like protein F:GO:0045735 F:GO:0030145 C:GO:0016023 C:GO:0048046	3,29E-95
SCRLLV1024F02	burp domain-containing protein C:GO:0016023 C:GO:0009536	2,54E-59
SCRLLV1026D05	gtp-binding protein C:GO:0009507	1,14E-82

Tabela 1: continuação

SCSFLV1045E06	no hit	-
SCSFLV1048G01	atp binding protein binding unfolded protein binding P:GO:0009627 F:GO:0005488 P:GO:0051085 P:GO:0008219 C:GO:0009536	2,58E-39
SCRLLV1053G10	no hit	-

Grupo 6 variedade

Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001E07	proteína hipotética	4,08E-57
SCVPLR1006A03	60s acidic ribosomal protein p0 F:GO:0003735 P:GO:0006414 C:GO:0030529 C:GO:0005840 P:GO:0042254 C:GO:0005622	5,00E-71
SCVPLR1006E01	proteína hipotética	2,31E-13
SCEQLR1007E06	no hit	-
SCEQLR1007G06	proteína hipotética	2,41E-34
SCEPLR1008F07	pumilio domain-containing protein ppd1	2,94E-79
SCJFLR1013H09	no hit	-
SCRLLR1016D06	40s ribosomal protein s11 F:GO:0003723 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0005737 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622 F:GO:0019843	3,12E-66
SCRLLR1016H01	proteína hipotética	9,26E-39
SCJFLR1017E12	no hit	-
SCQGLR1019E10	no hit	-
SCRULR1020G12	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCAGLR1021B01	no hit	-
SCCCLR1022A03	proteína hipotética	1,43E-14
SCCCLR1022D12	heat shock protein hsp26 P:GO:0006950 C:GO:0009507	1,87E-56
SCBGLR1023B03	retrotransposon ty3-gypsy subclass F:GO:0003676	2,29E-105
SCEZLR1031G04	proteína hipotética C:GO:0005739	2,00E-19
SCUTLR1037C04	proteína hipotética	3,22E-37
SCBFLR1039A08	no hit	-
SCBFLR1039C09	retinoblastoma-related protein 1 P:GO:0006355 P:GO:0007049 P:GO:0044419 P:GO:0006350 C:GO:0005634	8,82E-52
SCQSLR1040D02	arsencial pump-driving atpase	6,35E-34
SCQGLR1041B08	no hit	-
SCBGLR1044E05	proteína hipotética	1,94E-37
SCSGLR1045H06	proteína hipotética	7,08E-104
SCCCLR1048D03	proteína hipotética C:GO:0009536	3,13E-23
SCEPLR1051D04	no hit	-
SCMCLR1053A09	no hit	-
SCMCLR1053H05	no hit	-
SCRFRLR1055C07	no hit	3,27E-52
SCBFLR1060B08	big (dark over-expression of cab 1) binding ubiquitin-protein ligase zinc ion binding	3,25E-57
SCBFLR1060C06	40s ribosomal protein s9 F:GO:0003723 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0015935 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622 F:GO:0019843	6,97E-58

Tabela 1: continuação

SCBFLR1060D07	no hit	-
SCRULR1063B05	proteína hipotética	5,26E-45
SCAGLR1064D07	serine threonine protein kinase	1,67E-47
SCCCLR1065A07	no hit	-
SCCCLR1065B08	Protein kinase pk12	2,92E-46
SCCCLR1067A05	major facilitator superfamily protein	2,19E-79
SCCCLR1068D06	calcyclin-binding protein	1,52E-75
SCCCLR1069C09	no hit	-
SCCCLR1079B05	plasma membrane integral protein2-1 C:GO:0016021 C:GO:0016020 F:GO:0005215 C:GO:0005886 P:GO:0006810	7,26E-75
SCBGLR1082B02	splicing factor 3b subunit expressed	9,50E-72
SCBFLR1083B07	no hit	-
SCSGLR1084G11	proteína hipotética	1,16E-69
SCSGLR1084H08	stem-specific proteinexpressed	1,24E-49
SCQGLR1085D02	class iii chitinase homologue (hib3h-a) F:GO:0004553 P:GO:0045493 C:GO:0005739 C:GO:0016023 P:GO:0005975 F:GO:0003824 F:GO:0043169	2,80E-54
SCQGLR1086H08	60s ribosomal protein l36 C:GO:0009536 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622	2,67E-37
SCEQLR1093G08	no hit	-
SCBGLR1098H04	nucleolar rna-binding nop10p-like protein	8,64E-25
SCJLLR1101B06	no hit	-
SCJLLR1107G11	50s ribosomal protein l18 family P:GO:0006412 C:GO:0005840	8,72E-28

Tabela 1: continuação

SCRLLR1109C06	no hit	-
SCRLLR1109H08	no hit	-
SCBGLR1116G06	no hit	-
SCMCLR1123D10	proteína hipotética	3,17E-14
SCMCLR1125E09	vacuolar processing enzyme P:GO:0006508 C:GO:0016023 F:GO:0001509 F:GO:0004197	2,09E-19
SCACLR1129D02	proteína hipotética F:GO:0003674	4,78E-20
SCACLR1129G09	proteína hipotética	5,71E-14
SCACLR1130C08	proteína hipotética C:GO:0009536	4,03E-12
SCACLR1132A10	ma-binding protein F:GO:0003676 C:GO:0005739 F:GO:0000166	1,07E-45
SCACLR1132D07	no hit	-
SCACLR1132D11	no hit	-
SCACLR1132G12	no hit	-
SCCCLR1C10F06	no hit	-
SCCCLR2001G02	no hit	-
SCCCLR2002E03	no hit	-
SCCCLR2003E12	no hit	-
SCQGLR2010G04	abc transporter family protein C:GO:0016020	1,03E-76
SCUTLR2015E02	zinc finger family:expressed	1,90E-32
SCVPLR2019D07	no hit	-

Tabela 1: continuação

SCVPLR2019F04	proteína hipotética	2,13E-14
SCACLR2022A07	no hit	-
SCUTLR2023A08	no hit	-
SCAGLR2026E05	no hit	-
SCSGLV1007C06	no hit	-
SCSGLV1013B05	no hit	-
SCSGLV1013B05	no hit	-
SCQGLV1014A08	rh25_onysj dead-box atp-dependent rna helicase 25 C:GO:0005739	3,43E-25
SCRLLV1024G01	ac087797_9ln1 protein F:GO:0048244	3,96E-64
SCRFLV1035D03	proteína hipotética	8,45E-26
SCRFLV1035F06	no hit	-
SCRFLV1035H12	d-mannose binding lectin familyexpressed	3,14E-20
SCRFLV1036E07	no hit	-
SCRFLV1036G08	no hit	-
SCRFLV1037E03	no hit	-
SCAGLV1040F06	no hit	-
SCAGLV1040G06	no hit	-
SCAGLV1041D11	disrupted meiotic cdna 1 F:GO:0003684 F:GO:0008094 P:GO:0000724 P:GO:0006259 P:GO:0006310 C:GO:0005634 F:GO:0003677 F:GO:0000166	7,79E-42
SCAGLV1041H09	small g protein family protein C:GO:0005739 P:GO:0007165 C:GO:0005622	3,52E-26

Tabela 1: continuação

SCAGLV1042C07	no hit	1,71E-15
SCAGLV1042D09	no hit	-
SCAGLV1042G05	no hit	-
SCRLLV1052D08	no hit	9,16E-28

Anexo B

Tabela 2: Descrição dos genes diferencialmente expressos após inoculação com *X. albilineans* com base no banco de dados do “gene ontology”.

Grupo 1 Tratamento		
Clone	Descrição	eValue
SCEZLR1009H07	mitochondrial substrate carrier family protein P:GO:0006810	8,49E-24
SCMCLR1010A08	proteína hipotética C:GO:0016020	5,00E-98
SCMCLR1010B03	no hit	-
SCMCLR1010B08	ethe1 glx2-3 gly3 (glyoxalase 2-3) hydroxyacylglutathione hydrolase C:GO:0005739	4,53E-33
SCMCLR1010E04	proteína hipotética	1,45E-30
SCJLLR1011D11	no hit	-
SCJLLR1011G01	no hit	-
SCRFLR1012D04	serine threonine protein kinase F:GO:0004672	8,32E-18
SCJFLR1013A07	no hit	-
SCRULR1020B02	no hit	-
SCRULR1020B05	proteína hipotética C:GO:0009507	1,97E-67
SCRULR1020D02	proteína hipotética	1,49E-31
SCAGLR1021A05	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCAGLR1021A06	no hit	-
SCAGLR1021A08	transcriptional co-activator C:GO:0005575	2,47E-29
SCAGLR1021B04	no hit	-
SCAGLR1021D09	msp1(mitochondrial sorting of proteins) protein	6,55E-34
SCCCLR1022A11	no hit	-
SCCCLR1022D07	no hit	-
SCBGLR1023B05	no hit	-
SCBGLR1023H01	no hit	-
SCMCLR1032E02	proteína hipotética	3,59E-88
SCJLLR1033A09	phospholipase d betaexpressed	4,18E-80
SCJLLR1033G07	no hit	-
SCRFLR1034F02	ac092548_14reverse transcriptase F:GO:0003964 P:GO:0006278 F:GO:0003723 C:GO:0009536	5,56E-79
SCRFLR1034F05	no hit	-
SCJFLR1035A12	rwd domain containingexpressed	1,69E-48
SCJFLR1035E01	proteína hipotética	1,88E-93
SCJFLR1035G12	no hit	4,35E-20
SCACLR1036C03	cipk-like proteinexpressed	3,93E-15
SCRULR1042H11	receptor-like protein kinase-like C:GO:0016023	6,41E-16
SCAGLR1043E07	proteína hipotética C:GO:0016023	2,41E-06

Tabela 2: continuação

SCAGLR1043G09	no hit	-
SCAGLR1043H01	porphobilinogen deaminase F:GO:0004418 P:GO:0033014	5,85E-50
SCBGLR1044E04	u-box domain containingexpressed C:GO:0009536	3,32E-45
SCBGLR1044H10	serine threonine kinase C:GO:0016023	1,29E-14
SCSGLR1045A09	at3g10060 t22k18_11 P:GO:0006457 C:GO:0009543 F:GO:0005528	2,56E-31
SCSGLR1045B10	no hit	-
SCSGLR1045C11	no hit	-
SCSGLR1045C12	no hit	-
SCSGLR1045E07	srf8 (strubbelig-receptor family 8) kinase C:GO:0012505 P:GO:0006468	2,00E-34
SCBFLR1046C08	no hit	-
SCBFLR1046D09	no hit	-
SCBFLR1046H07	no hit	-
SCRFLR1055G06	no hit	-
SCJFLR1056C02	proteína hipotética	1,55E-24
SCACLR1057A01	ac090882_2tgf beta receptor associatedprotein	1,30E-89
SCACLR1057B07	no hit	-
SCACLR1057D09	snf7-like protein	1,02E-17
SCACLR1057E08	no hit	-
SCUTLR1058D08	nb-arc domain-containing protein F:GO:0005524 P:GO:0006915 P:GO:0006952	1,66E-29

Tabela 2: continuação

SCUTLR1058H04	no hit	-
SCRLLR1059A07	glutathione synthetase F:GO:0005524 P:GO:0006750 F:GO:0004363	2,05E-96
SCRLLR1059D06	no hit	-
SCRLLR1059H07	condensin subunit 1	2,34E-61
SCAGLR1064E11	no hit	-
SCAGLR1064G03	proteína hipotética	2,39E-58
SCAGLR1064G12	proteína hipotética	3,25E-76
SCAGLR1064H10	no hit	-
SCAGLR1064H11	no hit	-
SCCCLR1065C12	proteína hipotética	1,06E-42
SCCCLR1065D03	proteína hipotética C:GO:0005739	1,61E-96
SCCCLR1065F11	nicotianamine aminotransferase a	4,62E-65
SCCCLR1066A02	no hit	-
SCCCLR1066D09	leucine-rich repeat transmembrane protein P:GO:0006468 F:GO:0005524 P:GO:0007169	1,62E-83
SCCCLR1066G05	nucleoid dna-binding protein cnd41 C:GO:0016023	8,22E-25
SCCCLR1067A04	no hit	-
SCCCLR1067A11	proteína hipotética	5,34E-71
SCCCLR1067B01	proteína hipotética C:GO:0009536	4,73E-18
SCCCLR1067B02	proteína hipotética C:GO:0009536	2,60E-88

Tabela 2: continuação

SCCCLR1067B09	no hit	-
SCCCLR1067C12	no hit	-
SCCCLR1067D04	human rev interacting-like P:GO:0032312 F:GO:0008270	6,07E-33
SCCCLR1067D09	vacuolar protein sortingexpressed	8,77E-61
SCCCLR1068A04	no hit	-
SCCCLR1068C11	p-type atpase F:GO:0005524 P:GO:0006812 C:GO:0016021 P:GO:0008152 F:GO:0015662	6,56E-112
SCCCLR1076B08	proteína hipotética	8,39E-56
SCCCLR1076D03	gasa-like protein C:GO:0016023 P:GO:0008283	3,71E-31
SCCCLR1076D06	no hit	-
SCCCLR1076E02	proteína hipotética	8,30E-64
SCCCLR1076F08	soluble acid invertase F:GO:0004564 P:GO:0005975	8,33E-62
SCCCLR1076G02	no hit	-
SCCCLR1076G03	proteína hipotética	2,91E-15
SCCCLR1077B08	dual-specificity phosphatase protein	1,18E-67
SCCCLR1077H06	no hit	-
SCCCLR1078C04	no hit	-
SCCCLR1080E01	proteína hipotética C:GO:0005739 C:GO:0016020	2,58E-86
SCCCLR1080F09	no hit	-
SCCCLR1080H09	no hit -	-

Tabela 2: continuação

SCQGLR1087C03	proteína hipotética F:GO:0030528	2,11E-23
SCQGLR1088D01	no hit	-
SCQGLR1088H07	no hit	-
SCQGLR1088H10	superoxide dismutase4 F:GO:0005507 P:GO:0055114 C:GO:0005737 P:GO:0006801 F:GO:0004784 F:GO:0016209 F:GO:0008270	2,61E-45
SCQSLR1089A05	no hit	-
SCQSLR1089B09	mads-box protein fdrnads3	4,65E-65
SCQSLR1089G09	no hit	-
SCQSLR1090A07	no hit	-
SCQSLR1090D08	no hit	-
SCEQLR1091C06	bzip protein	5,01E-83
SCEQLR1091D06	no hit	-
SCEQLR1091D12	sugar transporter familyexpressed	9,13E-45
SCEQLR1091H03	gdsl-motif lipase hydrolase-like P:GO:0006629 C:GO:0012505	1,95E-63
SCJLLR1101F03	no hit	-
SCJLLR1101F04	proteína hipotética	3,17E-92
SCJLLR1101F10	no hit	-
SCJLLR1102B03	proteína hipotética C:GO:0016020	1,13E-74
SCJLLR1102B03	proteína hipotética C:GO:0016020	8,35E-36
SCJLLR1102B06	embryogenesis transmembrane C:GO:0009536 C:GO:0016020	1,06E-24

Tabela 2: continuação

SCJLLR1102B07	no hit	-
SCJLLR1102E08	inositol polyphosphate 5-phosphatase	1,07E-55
SCJLLR1102F10	disease resistant allele xa13	1,93E-24
SCJLLR1103C09	proteína hipotética	4,69E-70
SCJLLR1103E05	no hit	-
SCJLLR1103F03	proteína hipotética C:GO:0009536	9,40E-58
SCJLLR1103F08	otu-like cysteine protease-like C:GO:0009536	3,07E-65
SCJLLR1103H09	no hit	-
SCJLLR1104D05	proteína hipotética	3,10E-27
SCJLLR1104F08	leucine zipper protein C:GO:0009536	1,66E-105
SCJLLR1105C05	no hit	-
SCJLLR1105G08	ac087851_7glutamine synthetase	3,36E-37
SCRLLR1111F02	dna-binding protein F:GO:0003677 C:GO:0005634 F:GO:0008270 P:GO:0006355	4,59E-39
SCRLLR1111F03	no hit	-
SCRLLR1111F07	auxin-induced-related indole-3-acetic acid induced-related-like C:GO:0005739	4,48E-15
SCRLLR1111G09	proteína hipotética	4,30E-10
SCBGLR1112C12	no hit	-
SCBGLR1112H04	heat shock protein hsp101 F:GO:0000166	2,01E-41
SCBGLR1113D03	proteína hipotética C:GO:0005739 C:GO:0016020	1,96E-22

Tabela 2: continuação

SCBGLR1114A09	no hit	-
SCBGLR1114E03	snf2 family dna-dependent atpase C:GO:0005739	1,67E-90
SCBGLR1114E11	no hit	-
SCMCLR1124H05	Rch2 protein	1,33E-11
SCMCLR1124H07	no hit	-
SCMCLR1125B03	rna polymerase beta subunit F:GO:0003899 P:GO:0006351 F:GO:0003677 C:GO:0009507	2,75E-47
SCMCLR1125B04	origin recognition complex subunit 6 -like protein	9,22E-11
SCMCLR1125F01	no hit	-
SCMCLR1125G01	no hit	-
SCACLR1126B09	proteína hipotética	3,92E-08
SCACLR1126E11	proteína hipotética	8,53E-63
SCACLR1126H11	acyl carrier P:GO:0006633 F:GO:0000036 C:GO:0005759 F:GO:0048037 F:GO:0031177	1,14E-36
SCACLR1127A06	proteína hipotética	1,39E-19
SCCCLR1C06F01	no hit	-
SCCCLR2001G10	arfh_orysjauxin response factor 8 C:GO:0009536	1,74E-25
SCCCLR2002A06	proteína hipotética	4,72E-08
SCCCLR2002B12	no hit	-
SCVPLR2012B09	no hit	-
SCJLLR2013D02	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCJLLR2013G04	no hit	-
SCJLLR2013H02	proteína hipotética C:GO:0009536	6,68E-12
SCSFLR2016E06	dna mismatch repair protein	3,46E-52
SCSFLR2016G11	gdsl-like lipase acylhydrolase familyexpressed C:GO:0016023	9,35E-10
SCSFLR2024C09	seed specific protein bn15d17a-like	7,62E-20
SCSFLR2024G12	proteína hipotética	5,12E-28
SCSFLR2024H12	no hit	-
SCQGLR2025A06	u139_arath upf0139 membrane protein at5g07960 P:GO:0008150	4,33E-39
SCQGLR2025A10	proteína hipotética	1,60E-31
SCQGLR2025C06	nuclear protein p30 F:GO:0016846 P:GO:0008152	6,24E-58
SCQGLR2025E02	no hit	-
SCJLLR2028B06	no hit	-
SCJLLR2028B11	proteína hipotética F:GO:0003674 P:GO:0008150	7,50E-31
SCACLR2029A05	no hit	-
SCCCLR2029B04	no hit	-
SCCCLR2029C08	no hit	-
SCCCLR2029G04	no hit	-
SCCCLV1001C09	no hit	-
SCCCLV1001D08	short-chain dehydrogenase reductase	7,11E-48

Tabela 2: continuação

SCSGLV1004B06	proteína hipotética	4,45E-06
SCSGLV1004C01	proteína hipotética	6,25E-77
SCSGLV1012E08	no hit	-
SCSGLV1012G07	phospholipase d-like protein	9,22E-19
SCSGLV1013D03	anther-specific proline-rich protein C:GO:0016023	3,89E-38
SCSGLV1013D04	protein kinase domain containingexpressed C:GO:0005739 C:GO:0009536 C:GO:0016020	7,84E-31
SCQGLV1014A05	no hit	-
SCQGLV1014A06	no hit	-
SCQGLV1014G06	no hit	-
SCQGLV1015B08	no hit	-
SCQGLV1015B09	serine carboxypeptidase ii precursor	2,66E-21
SCQGLV1015G02	proteína hipotética C:GO:0009536	5,06E-46
SCQGLV1015H06	no hit	-
SCRLLV1027C08	no hit	-
SCRLLV1028C01	Tetratricopeptide-like helical	2,06E-72
SCRLLV1028C05	cytochrome p450 monooxygenase cyp72a26 F:GO:0020037 P:GO:0055114 F:GO:0004497 F:GO:0009055 F:GO:0005506	1,25E-67
SCRLLV1028E10	proteína hipotética	4,38E-09
SCMCLV1029C04	no hit	-
SCMCLV1030C08	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCMCLV1031E12	no hit	-
SCMCLV1031F09	proteína hipotética	9,99E-20
SCMCLV1032E11	polyprenyl diphosphate synthase	8,14E-96
SCMCLV1033B12	fatty acid elongase C:GO:0005739	3,11E-29
SCMCLV1033D02	proteína hipotética	1,10E-27
SCMCLV1033D08	gdsl-like lipase acylhydrolase familyexpressed C:GO:0005739	9,12E-54
SCAGLV1039A05	no hit	-
SCAGLV1039E06	anthocyanin 5-o-glucosyltransferase	5,31E-13
SCAGLV1039H07	proteína hipotética	1,42E-80
SCAGLV1041E03	gamyb-binding protein	8,90E-131
SCAGLV1042A02	no hit	-
SCAGLV1042D12	no hit	-
SCAGLV1042H01	casp c C:GO:0016021 C:GO:0005794	1,66E-18
SCAGLV1042H06	proteína hipotética	1,48E-90
SCSFLV1044G05	signal recognition particle subunit 14 P:GO:0006605 C:GO:0005786	6,38E-31

Grupo 2 tratamento

Tabela 2: continuação

Clone	Descrição	eValue
SCEPLR1008E02	no hit	-
SCEZLR1009A03	proteína hipotética F:GO:0003723	3,28E-88
SCEZLR1009A05	no hit	-
SCEZLR1009B12	no hit	-
SCEZLR1009E01	no hit	-
SCEZLR1009G12	nodulin-like protein 5ng4 C:GO:0005887 C:GO:0016023 P:GO:0006810 C:GO:0005938 P:GO:0009734	1,01E-27
SCMCLR1010B11	proteína hipotética C:GO:0005739 C:GO:0016020	7,58E-43
SCMCLR1010F05	rhodanese family	5,05E-37
SCMCLR1010G08	no hit	-
SCMCLR1010H03	translation initiation factor	1,00E-50
SCJLLR1011G05	no hit	-
SCJLLR1011G06	at3g03380 t21p5_20 P:GO:0006508 F:GO:0008236	9,64E-83
SCJFLR1013E08	no hit	-
SCRULR1020F04	no hit	-
SCCCLR1022A03	proteína hipotética	1,43E-14
SCBGLR1023B07	major facilitator superfamily antiporter P:GO:0015904 C:GO:0016021 P:GO:0046677 F:GO:0015520	2,31E-33
SCBGLR1023E09	tyrosine decarboxylase F:GO:0004837 P:GO:0006520	3,73E-65
SCBGLR1023F11	xyloglucan endotransglycosylase hydrolase precursor xth-30 C:GO:0016023	1,46E-29

Tabela 2: continuação

SCMCLR1032B08	no hit	-
SCMCLR1032D12	histone h3 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0009507 C:GO:0005634 C:GO:0005739	1,59E-49
SCJLLR1033A05	tobamovirus multiplication proteinexpressed C:GO:0016020	1,53E-25
SCJLLR1033A07	proteína hipotética F:GO:0016787	2,51E-44
SCJLLR1033D06	rna-binding protein F:GO:0003676 F:GO:0000166	1,12E-55
SCJLLR1033H09	biostress-resistance-related protein	2,27E-70
SCRFLR1034A11	short chain dehydrogenase reductase familyexpressed	3,30E-103
SCRFLR1034B04	at3g03310 t21p5_27 F:GO:0004607 P:GO:0006629	2,19E-53
SCRFLR1034D08	ring-h2 finger protein C:GO:0005739	1,66E-21
SCJFLR1035B07	ac012654_15est gb C:GO:0005783	7,18E-61
SCACL1R1036H03	gras family transcription factor containingexpressed	6,64E-78
SCAGLR1043B04	no hit	-
SCBGLR1047F03	proteína hipotética	5,69E-60
SCRFLR1055B02	dentin sialophosphoprotein precursor-like	3,17E-60
SCRFLR1055F03	tetrapeptide repeat-containingprotein F:GO:0005488	6,54E-96
SCRFLR1055F06	ripening regulated protein ddtfr18	1,57E-14
SCRFLR1055F09	beta-glycosyltransferase-like protein i	9,35E-16
SCRFLR1055H03	mpk4_orysj mitogen-activated protein kinase 4 (map kinase 4)(multiple stress-responsive map kinase 3) C:GO:0009536	6,78E-25
SCJFLR1056A05	calcium homeostasis regulator chor1 C:GO:0009536	7,61E-69

Tabela 2: continuação

SCJFLR1056A07	senescence-associated senescence-associated protein sag102 C:GO:0009536	2,85E-25
SCJFLR1056B10	heat repeat family expressed C:GO:0005739	2,71E-108
SCJFLR1056C10	no hit	-
SCJFLR1056E04	ring-h2 zinc finger C:GO:0009536	2,73E-33
SCACLR1057A09	copper-exporting atpase F:GO:0046872 P:GO:006825 F:GO:0004008 F:GO:0005524 C:GO:0016021 P:GO:0008152	2,14E-69
SCACLR1057E10	nadh-ubiquinone oxidoreductase b18 subunit family expressed C:GO:0009536	3,72E-44
SCUTLR1058A02	auxin-induced protein	2,43E-34
SCUTLR1058B05	no hit	-
SCCCLR1065A09	hat family dimerisation domain containing protein	1,77E-29
SCCCLR1065E01	brittle stalk2	1,11E-15
SCCCLR1066B03	leucine rich repeat family expressed F:GO:0005515 F:GO:0004672	2,72E-44
SCCCLR1066B05	proteína hipotética C:GO:0009536	9,30E-13
SCCCLR1068D05	proteína hipotética	2,92E-36
SCCCLR1069A06	no hit	-
SCCCLR1075F09	rna recognition motif family expressed	9,07E-32
SCCCLR1076A12	no hit	-
SCCCLR1076B11	no hit	-
SCCCLR1076E10	bsd domain containing expressed	1,61E-44
SCCCLR1076F06	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide g	1,63E-30

Tabela 2: continuação

SCCCLR1076G06	no hit	-
SCCCLR1078B02	no hit	-
SCCCLR1078B09	Immature pollen 1	1,19E-88
SCCCLR1079E06	argonaute protein C:GO:0005739 C:GO:0009536	2,67E-23
SCCCLR1080H12	trna synthetase class ifamily protein C:GO:0009536	7,12E-100
SCBGLR1100G05	no hit	-
SCJLLR1101B06	no hit	-
SCJLLR1101E10	no hit	-
SCJLLR1102B01	proteína hipotética	5,79E-35
SCJLLR1104A05	proteína hipotética	9,73E-13
SCJLLR1104D02	no hit	-
SCRLLR1111A06	fyve zinc finger containing protein F:GO:0008270	9,85E-37
SCBGLR1116C04	udp-glucose 4-epimerase P:GO:0044237 F:GO:0016853 F:GO:0005488	4,51E-31
SCBGLR1116C07	proteína hipotética	5,25E-14
SCMCLR1125A07	no hit	-
SCMCLR1125F12	no hit	-
SCACLR1126C01	proteína hipotética C:GO:0000811 P:GO:0006270	1,21E-54
SCACLR1127E11	no hit	-
SCACLR1129A12	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCCCLR1C09C02	transcription factor F:GO:0030528 P:GO:0045449 C:GO:0005634	2,76E-25
SCCCLR1C09C11	proteína hipotética C:GO:0016023	1,15E-31
SCCCLR2003H08	f-box domain containingexpressed	5,07E-74
SCVPLR2012B05	domain containingexpressed	9,73E-42
SCVPLR2012D04	proteína hipotética	4,94E-17
SCJLLR2013A03	ac077693_30protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005524 F:GO:0004674 F:GO:0004713	1,25E-11
SCJLLR2013D11	sec14 like protein	9,51E-82
SCACLR2014C11	cytochrome b5 F:GO:0020037 F:GO:0046914	1,37E-62
SCACLR2014F07	no hit	-
SCSFLR2016B06	no hit	-
SCSFLR2016B07	no hit	-
SCQGLR2025H08	proline-rich cell wall C:GO:0009536	1,46E-10
SCQGLR2025H10	myb factor	1,17E-27
SCVPLR2027D05	tubulin folding cofactor b P:GO:0007021 C:GO:0009524 C:GO:0005634	3,29E-40
SCVPLR2027H12	proteína hipotética	2,17E-60
SCUTLR2030C12	ribosomal protein l10 containingexpressed	2,42E-66
SCUTLR2030D12	nadh-ubiquinone oxidoreductase-related C:GO:0005739	7,43E-31
SCRFLR2038D07	proteína hipotética	7,44E-13
SCRFLR2038H12	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCCCLR2C03B02	proteína hipotética C:GO:0005739	4,79E-12
SCCCLR2C03F07	no hit	-
SCCCLV1001A04	anaphase promoting complex subunit 11	2,74E-44
SCCCLV1001H06	no hit	-
SCCCLV1002H05	proteína hipotética	1,61E-31
SCSGLV1013D02	no hit	-
SCQGLV1014D02	organic cation transporter-like protein	2,31E-124
SCQGLV1015E10	glucan endo--beta-d-glucosidase F:GO:0042973 P:GO:0005975 F:GO:0043169	9,29E-58
SCQGLV1015E12	no hit	1,23E-71
SCRLLV1027D11	no hit F:GO:0003674 P:GO:0008150	4,78E-23
SCRLLV1027H02	nucleotidyltransferase domain containingexpressed	6,20E-31
SCRLLV1028B03	nad-malate dehydrogenase C:GO:0009536	2,09E-19
SCRLLV1028D10	no hit	-
SCMCLV1029G09	no hit	-
SCMCLV1029H06	proteína hipotética	2,88E-63
SCMCLV1030C12	fructose-bisphosphate aldolase class-i P:GO:006096 F:GO:0004332 C:GO:0009536	2,33E-57
SCMCLV1032F11	wd-40 repeat family protein zfwd2 protein F:GO:0008270 F:GO:0003676	9,81E-110
SCAGLV1041D09	proteína hipotética C:GO:0016023 F:GO:0003824 C:GO:0005739	7,53E-48
SCAGLV1043A02	no hit	-

Tabela 2: continuação

Grupo 3 tratamento		
Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001E07	proteína hipotética	4.08E-57
SCEQLR1007G06	proteína hipotética	2.41E-34
SCBGLR1027D04	no hit	-
SCBGLR1027E05	no hit	-
SCVPLR1028B03	hua enhancer 2 P:GO:0016070 C:GO:0005634 F:GO:0003724	2.78E-102
SCEQLR1029C06	no hit	-
SCVPLR1049G05	proteína hipotética	9.00E-103
SCEPLR1051E12	pseudouridylylate synthase-like	8.03E-14
SCBFLR1060B08	big (dark over-expression of cab 1) binding ubiquitin-protein ligase zinc ion binding	3.25E-57
SCRULR1063B11	proteína hipotética	1.72E-59
SCCCLR1070A06	proteína hipotética	2.24E-74
SCJFLR1073F07	no hit	-
SCCCLR1075C06	proteína hipotética	7.74E-38
SCSGLR1081D07	no hit	-
SCQGLR1086D11	no hit	2.34E-13
SCQGLR1086E02	endo-betaano hitglucanase precursor	6.37E-65

Tabela 2: continuação

SCEQLR1094C08	hmgj y protein C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634 P:GO:0006355	1.26E-29
SCEQLR1094F04	no hit	-
SCEQLR1094H08	no hit	-
SCBGLR1095H05	no hit	-
SCBGLR1096C06	60s acidic ribosomal protein p0 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006414	1.21E-30
SCBGLR1097E04	cytokinesis-specific syntaxin-related protein C:GO:0016020 F:GO:0005484 P:GO:0016192 P:GO:0006886	9.94E-26
SCBGLR1097F03	protein kinase	1.30E-31
SCBGLR1098H04	nucleolar rna-binding nop10p-like protein	8.64E-26
SCJLLR1106A09	proteina hipotética C:GO:0016020	2.44E-13
SCJLLR1106F01	proteina hipotética	2.89E-35
SCJLLR1108G11	protein kinase F:GO:0004672 P:GO:0006397 F:GO:0000166	6.51E-48
SCRLLR1109D04	no hit	-
SCBGLR1117A03	proteina hipotética F:GO:0003674	2.21E-12
SCBGLR1117D09	no hit	-
SCBGLR1119E06	no hit	-
SCBGLR1120G12	no hit	-
SCMCLR1122G01	cation diffusion facilitator 9 C:GO:0016020 F:GO:0008324 P:GO:0006812	9.41E-55
SCACLR1129C03	translation elongation factor p C:GO:0005739 P:GO:0006414	4.02E-61

Tabela 2: continuação

SCACLR1132E07	sap1_orysi zinc finger a20 and an1 domain-containing stress-associated protein 1(multiple stress-responsive zinc finger protein isap1)	1.19E-11
SCCCLR2004H10	no hit	-
SCJLLR2006A11	no hit	-
SCJLLR2006A11	no hit	-
SCACLR2007B09	bhlh transcription-like P:GO:0045449 F:GO:0030528 C:GO:0005634	4.62E-24
SCSFLR2009B07	no hit	-
SCJLLR2020B05	no hit	-
SCACLR2022A09	proteína hipotética	4.88E-18
SCACLR2022A12	no hit	-
SCQGLR2032B10	no hit	-
SCQGLR2032G06	no hit	-
SCAGLR2033B05	no hit	-
SCAGLR2033D06	no hit	-
SCAGLR2033H10	proteína hipotética	6.98E-12
SCSGLV1009C11	proteína hipotética	1.10E-61
SCQGLV1017G09	nodulin-like protein C:GO:0005739 C:GO:0016020	2.49E-51
SCQGLV1017H09	proteína hipotética C:GO:0005739	2.12E-30
SCQGLV1018H01	sodium-lithium tolerant 2	6.98E-15
SCACLV1021D08	proteína hipotética	1.25E-29

Tabela 2: continuação

SCACLV1023D09	gnat familyexpressed	7.14E-07
SCRLLV1024B10	no hit	-
SCRLLV1024E07	no hit	-
SCRLLV1025E03	no hit	-
SCMCLV1033D09	no hit	-
SCRFLV1036F04	proteína hipotética	1.98E-63
SCSFLV1045F07	no hit	-
SCSFLV1046C06	no hit	-
SCSFLV1047E12	no hit	-
SCRLLV1049E12	no hit	-
SCRLLV1052A03	no hit	-

Grupo 4 tratamento

Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001A02	multisubunit regulator protein cop9	5,50E-84
SCCCLR1001F03	tetrachloro-p-hydroquinone reductive dehalogenase-related	2,92E-71
SCBGLR1003C09	proteína hipotética C:GO:0009536	9,59E-63

Tabela 2: continuação

SCBGLR1003E11	no hit	-
SCBFLR1026G10	dna topoisomerase ii	1,35E-42
SCBGLR1027F10	proteína hipotética	1,24E-25
SCVPLR1028G03	lysine decarboxylase-like protein P:GO:0010083 P:GO:0048832 P:GO:0010076 P:GO:0009691 C:GO:0009536 P:GO:0010077	3,24E-17
SCVPLR1028G08	no hit	-
SCCCLR1048E11	gtp-binding protein C:GO:0005739	8,14E-51
SCVPLR1049C04	proteína hipotética	1,80E-55
SCVPLR1049F12	cytochrome p450 C:GO:0009536	1,01E-65
SCEQLR1050A05	no hit	-
SCEPLR1051A09	transposonpong sub-class C:GO:0005739	9,44E-95
SCCCLR1070H04	proteína hipotética	1,33E-07
SCJFLR1071C02	no hit	-
SCJFLR1071C09	no hit	-
SCJFLR1071H11	ldh3 protein isoform a	7,47E-51
SCCCLR1072G04	no hit	-
SCJFLR1073D02	retinoblastoma-related protein 1 P:GO:0007049 C:GO:0005634 P:GO:0006355 P:GO:0044419	2,71E-112
SCEQLR1093H01	proteína hipotética	4,27E-08
SCEQLR1094H01	no hit	-
SCBGLR1095E02	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCBGLR1095E10	udlacyanin 3 C:GO:0016023	9,92E-26
SCBGLR1116H10	transposonmutator sub-class	9,31E-09
SCBGLR1118C01	no hit	-
SCBGLR1118C02	no hit	-
SCBGLR1118F08	proteína hipotética	1,08E-45
SCBGLR1118G09	proteína hipotética F:GO:0030528 P:GO:0045449 C:GO:0005634 C:GO:0009536	9,58E-37
SCBGLR1119B09	shr1_orysiprotein short-root 1 C:GO:0009536	4,90E-47
SCBGLR1119E11	no hit	-
SCBGLR1120A05	universal stress protein early nodulin enod18-like	7,06E-19
SCBGLR1120G11	no hit	-
SCCCLR2004C03	no hit	-
SCSFLR2031A12	nucleotide sugar translocator bt2b precursor	7,52E-69
SCQGLR2032G07	exostosin familyprotein C:GO:0016023	4,55E-81
SCAGLR2033C02	no hit	-
SCRFLR2034A02	no hit	-
SCQGLV1017F12	heat shock factor protein hsf8-like C:GO:0009507	1,57E-47
SCQGLV1018F08	no hit	-
SCACLV1019B11	seven transmembrane protein ml64 P:GO:0008219 C:GO:0016021	3,23E-21
SCACLV1019C10	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCACLV1020B06	proteína hipotética	1,92E-51
SCACLV1022A08	clathrin adaptor complex medium subunit family protein C:GO:0030125 F:GO:0005515 F:GO:0008565 C:GO:0009536	2,78E-63
SCSFLV1045C09	proteína hipotética	9,95E-15
SCSFLV1045F01	no hit	-
SCRLLV1052E12	no hit	-

Grupo5 tratamento

Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001D12	proteína hipotética C:GO:0016020	7,00E-26
SCUTLR1037F06	proteína hipotética	3,08E-08
SCSGLR1084G12	no hit	-
SCEQLR1094D08	myb family	1,54E-10
SCRLLR1109F09	no hit	-
SCBGLR1117C07	f-box domain containing protein	7,38E-32
SCMCLR1123D10	proteína hipotética	3,17E-14
SCACLR1129G09	proteína hipotética	5,71E-14
SCQGLR2017B04	no hit	-

Tabela 2: continuação

SCQGLR2017C06	no hit	-
SCQGLR2017D06	no hit	-
SCAGLR2018A02	af150113_1small zinc finger-like protein F:GO:0008270 F:GO:0015450 C:GO:0005743 P:GO:0045039 C:GO:0042719 P:GO:0065002	1,81E-38
SCVPLR2019F04	proteína hipotética	2,13E-14
SCRFLR2021A10	dihydropicolinate reductase-like protein	9,19E-09
SCACLR2022G06	no hit	-
SCUTLR2023C05	no hit	-
SCSFLR2024C04	proteína hipotética	7,68E-06
SCQGLR2025H11	no hit	-
SCQGLR2032B05	proteína hipotética	7,18E-11
SCQGLR2032F01	no hit	-
SCQGLR2032G02	peroxidase 53expressed C:GO:0016023 F:GO:0004601	1,45E-24
SCSGLV1004G06	no hit	-
SCSGLV1005G05	no hit	-
SCSGLV1009D03	no hit	-
SCSGLV1009D03	no hit	-
SCMCLV1033G06	no hit	-
SCRFLV1038E10	proteína hipotética	2,62E-24
SCRLLV1051H04	chlorophyll a b-binding apoprotein cp24 precursor P:GO:0009765 C:GO:0009523 P:GO:0018298 F:GO:0016168 C:GO:0016021 C:GO:0009507	2,30E-33

Tabela 2: continuação

Grupo 6 tratamento		
Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001A08	no hit	-
SCJFLR1017E12	no hit	-
SCVPLR1028B01	proteína hipotética	2.58E-17
SCCCLR1069E05	fiber proteinexpressed	1.35E-20
SCCCLR1070G11	haloacid dehalogenase-like hydrolase familyexpressed F:GO:0016787	1.89E-17
SCJFLR1073C03	protein kinase C:GO:0016023	6.45E-36
SCEQLR1093H10	transcription regulator C:GO:0005634 F:GO:0030528	1.01E-43
SCEQLR1093H11	no hit	-
SCBGLR1117A09	leucine zipper factor-like	1.42E-68
SCACLR1128A09	proteína hipotética	2.06E-29
SCCCLR2004C05	proteína hipotética	3.80E-13
SCVPLR2005D03	no hit	-
SCQGLR2010A11	proteína hipotética	2.22E-12
SCQGLR2010D06	no hit	-
SCQGLR2017E02	no hit	-
SCAGLR2033B01	carnitine racemase -like F:GO:0003824 P:GO:0008152	6.98E-16

Tabela 2: continuação

SCAGLR2033D08	proteína hipotética	1.02E-08
SCACLV1023C07	helicase domain-containing protein C:GO:0005739 C:GO:0009536	1.43E-71
SCRFLV1036E07	no hit	-

Anexo C

Tabela 3: Descrição dos genes diferencialmente expressos ao longo do tempo com base no banco de dados do “gene ontology”.

Grupo 1 Tempo		
Clone	Descrição	e-value
SCCCLR1001A08	no hit	-
SCVPLR1006B04	no hit	-
SCEZLR1009B02	laf3 laf3 isf1 laf3 (long after far-red 3) hydrolase C:GO:0016023	7,94E-69
SCJFLR1013H01	ydg sra domain containingexpressed F:GO:0003677 C:GO:0005634 P:GO:0006355	2,71E-107
SCJFLR1013H09	no hit	-
SCACLR1014E09	bag6 (arabidopsis thaliana bcl-2-associated athanogene 6) calmodulin binding protein binding F:GO:0005515	4,42E-47
SCRLLR1016H09	cpsf1_orysprobable cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 1	2,21E-87
SCRULR1020A11	no hit	-
SCAGLR1021C12	no hit	-
SCAGLR1021H03	no hit	-
SCBGLR1023D01	no hit	-
SCCCLR1024A09	no hit	-
SCSGLR1025A05	no hit	-
SCSGLR1025C08	proteína hipotética C:GO:0009536 C:GO:0016020	1,74E-39

Tabela 3: continuação

SCSGLR1025C09	proteína hipotética C:GO:0005739	9,76E-67
SCSGLR1025C12	no hit -	-
SCSGLR1025H10	proteína hipotética F:GO:0003674	3,91E-24
SCEZLR1031B01	proteína hipotética	2,45E-24
SCEZLR1031F04	g-box binding factor 1 F:GO:0043565 F:GO:0046983 F:GO:0003700 C:GO:0005634 P:GO:0006355	1,03E-67
SCJLLR1033B05	lim transcription factor homolog F:GO:0008270	1,38E-20
SCRFLR1034C09	cytochrome p450-like protein F:GO:0008398 F:GO:0009055 F:GO:0005506 F:GO:0020037 P:GO:0055114 C:GO:0016021 F:GO:0008168	1,27E-39
SCBFLR1039C09	retinoblastoma-related protein 1 P:GO:0007049 C:GO:0005634 P:GO:0006355 P:GO:0044419	8,82E-51
SCQSLR1040F07	no hit	-
SCQSLR1040H04	phosphoinositide-specific phospholipase c F:GO:0004871 P:GO:0007242 P:GO:0006629 F:GO:0004435	7,80E-80
SCRULR1042G01	no hit	-
SCSGLR1045D12	no hit	-
SCSGLR1045H06	proteína hipotética	7,08E-103
SCBFLR1046D11	ac123594_25nucleosid phosphatase	1,52E-55
SCBFLR1046D12	proteína hipotética	1,51E-18
SCCCLR1048D03	proteína hipotética C:GO:0009536	3,12E-23
SCCCLR1048H06	no hit	-
SCCCLR1048H10	no hit	-
SCMCLR1053H08	proteína hipotética	8,18E-112

Tabela 3: continuação

SCRFLR1055C03	proteína hipotética F:GO:0005509	1,86E-13
SCRFLR1055G01	no hit	-
SCJFLR1056G03	proteína hipotética	2,46E-19
SCJFLR1056H07	proteína hipotética F:GO:0004672 F:GO:0005524 P:GO:0006468	8,24E-53
SCACLR1057B10	cyclin-dependent kinase-like protein P:GO:0006468 F:GO:0005524 F:GO:0004674	1,14E-63
SCACLR1057D06	proteína hipotética	7,34E-25
SCBFLR1060D07	no hit	-
SCQSLR1061D11	no hit	-
SCQGLR1062D11	proteína hipotética	1,41E-23
SCQGLR1062E05	no hit	-
SCRULR1063C05	no hit	-
SCAGLR1064A03	flavonol 3-o-glucosyltransferase F:GO:0016758	4,33E-40
SCCCLR1065B08	protein kinase pk12	2,92E-46
SCCCLR1066E01	proteína hipotética	4,14E-85
SCCCLR1066E10	no hit	-
SCCCLR1067A05	major facilitator superfamily protein	2,19E-79
SCCCLR1067E02	chalcone-flavanone isomerase familyexpressed	4,97E-31
SCJFLR1074A04	no hit	-
SCJFLR1074A10	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCJFLR1074C06	no hit	-
SCJFLR1074D11	no hit	-
SCCCLR1075A10	pentatricopeptiderepeat-containing protein C:GO:0012505 F:GO:0003674	6,91E-21
SCCCLR1076F04	ubiquitin-specific protease	1,86E-32
SCCCLR1080A01	nls receptor	2,02E-51
SCBGLR1082B08	proteína hipotética	4,68E-31
SCSGLR1084A07	dna polymerase iii gamma chain	2,13E-94
SCSGLR1084A08	udp-glucuronic acid decarboxylase C:GO:0009536	2,50E-112
SCSGLR1084G12	no hit	-
SCQGLR1085A04	basic helix-loop-expressed	2,96E-25
SCQGLR1085D02	class iii chitinase homologue (hib3h-a) F:GO:0004553 F:GO:0043169 C:GO:0016023 C:GO:0005739 P:GO:0045493	2,80E-54
SCQGLR1086H08	60s ribosomal protein l36 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0009536	2,67E-37
SCQSLR1089E05	no hit	-
SCQSLR1089H09	no hit	-
SCQSLR1090G05	methyladenine glycosylase	1,19E-18
SCEQLR1094D08	myb family	1,54E-10
SCBGLR1095D07	no hit	-
SCBGLR1095H05	no hit	-
SCJLLR1102E07	proteína hipotética	1,98E-10

Tabela 3: continuação

SCJLLR1104C12	no hit	-
SCJLLR1105C01	proteína hipotética C:GO:0009536	1,25E-14
SCJLLR1105H04	proteína hipotética F:GO:0003674 C:GO:0009507	7,15E-51
SCJLLR1107G11	50s ribosomal protein 118 family C:GO:0005840 P:GO:0006412	8,72E-28
SCJLLR1108C03	no hit	-
SCJLLR1108H09	proteína hipotética C:GO:0005739	1,39E-18
SCRLLR1109B09	no hit	-
SCRLLR1109C06	no hit	-
SCRLLR1109C12	60s ribosomal protein 112	5,81E-77
SCRLLR1109F09	no hit	-
SCRLLR1110F04	no hit	-
SCRLLR1111B02	sam domain family protein F:GO:0003674 C:GO:0005575	8,49E-31
SCBGLR1113D01	proteína hipotética C:GO:0005739	4,18E-18
SCBGLR1115E03	histone h2a C:GO:0005694	4,17E-25
SCBGLR1115E11	no hit	-
SCBGLR1120C02	high pi alpha-glucosidase P:GO:0005975 F:GO:0004553	6,12E-15
SCMCLR1123H04	no hit	-
SCMCLR1124D07	proteína hipotética	3,91E-22
SCMCLR1125C10	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCACLR1130F07	no hit	-
SCACLR1130H09	no hit	-
SCACLR1132G02	no hit	-
SCACLR1132G12	no hit	-
SCCCLR1C04F10	cation exchanger-like protein	1,17E-40
SCCCLR1C07E06	no hit	-
SCCCLR1C10F06	no hit	-
SCCCLR2001C02	proteína hipotética	1,17E-98
SCCCLR2001D05	core alpha-fucosyltransferase F:GO:0008417 C:GO:0005794 P:GO:0006486 C:GO:0016021	1,72E-10
SCCCLR2002E03	no hit	-
SCCCLR2002H02	f13j11 prii-interacting factorexpressed	1,26E-44
SCUTLR2008A12	no hit	-
SCACLR2014E09	cystathionine beta-lyase P:GO:0006520 C:GO:0009536	5,92E-47
SCUTLR2015E02	zinc finger familyexpressed	1,90E-31
SCQGLR2017C06	no hit	-
SCQGLR2017E02	no hit	-
SCVPLR2019A05	no hit	-
SCVPLR2019D07	no hit	-
SCRFLR2021A10	dihydropicolinate reductase-like protein	9,19E-09

Tabela 3: continuação

SCUTLR2023C05	no hit -	-
SCUTLR2023G06	no hit	-
SCSFLR2024C04	proteína hipotética	7,68E-06
SCAGLR2026E05	no hit	-
SCAGLR2026H11	succinate dehydrogenase subunit 3 F:GO:0009055 P:GO:0006099 F:GO:0000104 C:GO:0016020	1,21E-32
SCAGLR2026H12	no hit	-
SCACLR2029H01	lim domain-containing expressed	2,39E-16
SCUTLR2030E01	gdsI-like lipase acylhydrolase	4,02E-36
SCSFLR2031A07	no hit	-
SCSFLR2031A12	nucleotide sugar translocator bt2b precursor	7,52E-69
SCRFLR2037E08	fructose--bisphosphatase 2	1,96E-23
SCCCLV1001D06	reticulon family expressed C:GO:0016020	1,20E-39
SCSGLV1007D12	s-receptor kinase-like C:GO:0009536	2,47E-66
SCSGLV1008H12	hapin-induced protein 1 containing expressed C:GO:0012505	2,70E-23
SCSGLV1012G12	chy zinc finger family expressed	4,38E-13
SCSGLV1012G12	chy zinc finger family expressed F:GO:0008270	5,33E-17
SCSGLV1013F03	no hit	-
SCACLV1020A05	no hit	-
SCRLLV1026A06	alpha beta fold family expressed	5,33E-50

Tabela 3: continuação

SCRLLV1026C01	no hit	-
SCRLLV1027F09	no hit	-
SCRFLV1034H10	no hit	-
SCRFLV1035D03	proteína hipotética	8,45E-26
SCRFLV1036G07	no hit	-
SCRFLV1037E03	no hit	-
SCAGLV1042H11	no hit	-
SCSFLV1045C03	no hit	-
SCSFLV1048G06	no hit	-
SCRLLV1050G12	no hit	-

Grupo 2 Tempo

Clone	Descrição	eValue
SCEZLR1009E06	acc oxidase P:GO:0055114 F:GO:0016491 F:GO:0005506	5,23E-51
SC-JFLR1013D01	ribosomal protein l18a	7,06E-89
SCACLR1014E01	translation initiation factor 5a P:GO:0006413 F:GO:0003743	2,06E-77
SCRLLR1016A07	no hit	-
SC-JFLR1017A01	ubiquitin carrier protein P:GO:0006512 F:GO:0004842 P:GO:0051246 C:GO:0005739	9,19E-70

Tabela 3: continuação

SCJFLR1035C05	60s ribosomal protein l38	9,53E-27
SCUTLR1037B01	kelch motif family expressed	3,73E-16
SCQGLR1041G12	no hit	-
SCVPLR1049E11	no hit	-
SCEQLR1050C03	adf2_orys] actin-depolymerizing factor 2(adf-2)	1,91E-70
SCEQLR1050E10	proteína hipotética	9,85E-24
SCEQLR1050H04	ycf3_sorbiphotosystem i assembly protein ycf3 C:GO:0009579 F:GO:0005488 C:GO:0009507 P:GO:0015979	8,34E-08
SCEQLR1050H09	drepp2 protein C:GO:0005739	3,14E-46
SCMCLR1053E03	no hit	-
SCRFLR1055A01	histone h3 C:GO:000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634 C:GO:0005739	2,94E-37
SCJFLR1056C03	proteína hipotética	3,70E-84
SCUTLR1058A08	dth1 (dead box rna helicase 1) F:GO:0016887	5,67E-45
SCRLLR1059C06	iron inhibited abc transporter 2 C:GO:0005739 C:GO:0009536	2,39E-67
SCRULR1063E02	no hit	-
SCAGLR1064D07	serine threonine protein kinase	1,67E-47
SCCCLR1065G02	cmp-sialic acid transporter	4,96E-55
SCCCLR1069B08	myb transcription factor-like C:GO:0005739	1,44E-37
SCCCLR1070G07	no hit	-
SCCCLR1078D08	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCSGLR1081E04	translationally controlled tumorprotein C:GO:0005737 F:GO:0005509	6,24E-75
SCSGLR1084E04	no hit -	-
SCQGLR1085E05	40s ribosomal protein s24 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412 F:GO:0000166	8,85E-60
SCQSLR1089A04	glycosyl hydrolase family 3 n terminal domain containingexpressed F:GO:0004812 P:GO:0005975 F:GO:0004338 F:GO:0005524	4,75E-86
SCBGLR1095E01	nucleoside diphosphate kinase P:GO:0006241 F:GO:0004550 P:GO:0006228 F:GO:0005524 C:GO:0009536	1,67E-66
SCBGLR1095E08	high mobility group protein C:GO:0000785 F:GO:0003677 C:GO:0005634 P:GO:0006355	1,34E-18
SCBGLR1095G03	actin depolymerizing factor F:GO:0003779 C:GO:0005737	2,98E-66
SCBGLR1095H08	proteína hipotética	5,11E-32
SCBGLR1096D04	no hit	-
SCBGLR1120G10	60s ribosomal protein l38	7,03E-26
SCACLR1127G10	40s ribosomal proteinexpressed C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412	3,22E-37
SCACLR1129H08	no hit	-
SCCCLR1C11C06	no hit	-
SCCCLR2003H03	proteína hipotética	3,25E-63
SCCCLR2004A08	multiple stress-responsive zinc-finger protein	1,20E-71
SCVPLR2005F05	proteína hipotética	1,27E-29
SCJLLR2006G03	no hit	-
SCAGLR2011B07	histone h2b C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	7,18E-31
SCVPLR2012E06	proteína hipotética C:GO:0005739	7,51E-21

Tabela 3: continuação

SCJLLR2013G07	no hit	-
SCACLR2014E11	no hit	-
SCACLR2014G09	proteína hipotética	3,07E-41
SCUTLR2015D07	no hit	-
SCQGLR2017G06	Proteína hipotética C:GO:0005739	2,79E-65
SCAGLR2018H08	Proteína hipotética C:GO:0005739	2,65E-21
SCVPLR2027A03	no hit	-
SCVPLR2027D12	histone 3 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	3,96E-38
SCJFLR2035E12	no hit	-
SCJFLR2035F03	histone h2a F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005694	7,88E-22
SCJFLR2035F06	no hit	-
SCJFLR2036D05	proteína hipotética	1,32E-07
SCCCLR201C11	no hit	-
SCCCLR202A12	s-adenosylmethionine decarboxylase P:GO:0006597 F:GO:0004014 P:GO:0008295 C:GO:0005739	4,40E-39
SCSGLV1009A11	no hit	-
SCSGLV1012H08	proteína hipotética	3,04E-15
SCRLLV1026D05	small gtp-binding protein domain containing expressed C:GO:0009507	1,14E-81
SCRLLV1026E05	senescence-associated protein	1,32E-18
SCRFLV1035F11	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCRFL1038H01	adp-ribosylation factor C:GO:0005794 P:GO:0016192 P:GO:0006886 P:GO:0006471 P:GO:0007264 C:GO:0005739 F:GO:0005215	1,38E-74
SCAGLV1041C07	nadh dependent glutamate synthase P:GO:0006537 F:GO:0016040 F:GO:0015036	8,58E-80
SCAGLV1043D04	high mobility group protein C:GO:0000785 F:GO:0003677 C:GO:0005634 P:GO:0006355	5,83E-17
SCSFLV1047B08	af480497_2apospory-associated protein c F:GO:0004034 P:GO:0006012	2,33E-79
SCRLLV1049C05	rnase s-like protein precursor C:GO:0016023 F:GO:0003723 F:GO:0004521	1,10E-81
SCRLLV1049D06	thioredoxin m P:GO:0045454 F:GO:0009055 F:GO:0015035 P:GO:0006662 C:GO:0009507 P:GO:0006810	9,00E-64
SCRLLV1049D09	no hit	-
SCCLV1C04E11	proteína hipotética	1,59E-06

Grupo 3 Tempo

Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001F11	domain containingexpressed	3,48E-89
SCCCLR1001G02	af466646_9gag-pol polyprotein P:GO:0006259 F:GO:0003676 F:GO:0003824 C:GO:0005739	5,19E-74
SCBGLR1003F03	inositol--trisphosphate 5-phosphatase	8,09E-16
SCBFLR1005F12	no hit	-
SCVPLR1006A05	zinc finger (c3hc4-type ring finger) C:GO:0016020	4,40E-65
SCEQLR1007B10	nuclear pore complex protein nup155	5,08E-98
SCEPLR1008C02	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCEPLR1008C12	rna helicaseexpressed F:GO:0003724	1,07E-86
SCEZLR1009C04	no hit	-
SCMCLR1010F09	no hit F:GO:0003674 P:GO:0008150	7,95E-46
SCJLLR1011E05	plus-3 domain containingexpressed	1,88E-31
SCUTLR1015A05	phospholipase d	2,21E-82
SCUTLR1015H05	no hit	-
SCRLLR1016D05	proteína hipotética C:GO:0016020	2,18E-46
SCQSLR1018B06	no hit	-
SCQGLR1019B07	no hit	-
SCQGLR1019E10	no hit	-
SCCCLR1024C12	proteína hipotética	3,38E-92
SCBGLR1027C08	transcription factor (pwwp domain protein) -like protein	5,71E-12
SCEPLR1030E11	yab6_orysj protein yabby 6 C:GO:0009536	9,03E-32
SCEPLR1030F02	r137a_orysj 60s ribosomal protein l37a C:GO:0005739	8,57E-42
SCEZLR1031A02	ketose-bisphosphate aldolase class-ii family protein C:GO:0012505 P:GO:0006096	7,87E-100
SCEZLR1031C09	no hit	-
SCMCLR1032A01	proteína hipotética F:GO:0003674 P:GO:0008150	7,30E-57
SCMCLR1032A04	cipkg_orysjcbl-interacting protein kinase 16	1,40E-29
SCMCLR1032C03	gtp binding protein C:GO:0005739	6,32E-24

Tabela 3: continuação

SCMCLR1032H08	no hit	-
SCJLLR1033G11	proteína hipotética	2,52E-21
SCJFLR1035F05	auxin-regulated protein	2,29E-30
SCUTLR1037B09	no hit	-
SCRLLR1038D07	peroxin 6 F:GO:0005524 F:GO:0017111	1,04E-87
SCRLLR1038E03	no hit	-
SCRLLR1038H03	Transducin family expressed	3,08E-73
SCCCLR1048G07	no hit	-
SCVPLR1049B12	no hit	-
SCEPLR1051F06	no hit	-
SCEPLR1051H03	xap-5 protein C:GO:0005634	1,62E-64
SCEZLR1052B06	proteína hipotética	1,12E-44
SCEZLR1052D11	no hit	-
SCMCLR1053C09	proteína hipotética	2,51E-07
SCJLLR1054B07	zinc finger (c3hc4-type ring finger)-like C:GO:0005739 C:GO:0016020	1,77E-59
SCJFLR1056G04	no hit	-
SCACLR1057F02	proteasome regulatory non-atpase subunit	2,75E-74
SCRLLR1059D12	no hit	-
SCBFLLR1060G11	proteína hipotética C:GO:0009536	5,04E-64

Tabela 3: continuação

SCQSLR1061A05	proteína hipotética	3,00E-19
SCQGLR1062A08	proteína hipotética	3,37E-34
SCQGLR1062F12	no hit	-
SCCCLR1068E10	proteína hipotética	1,45E-52
SCJFLR1073G05	proteína hipotética	1,36E-22
SCJFLR1074D04	6pgl4_orysprobable 6-phosphogluconolactonasechloroplast precursor (6pgl 4) C:GO:0009536	3,88E-50
SCJFLR1074E05	retinoblastoma-binding protein C:GO:0005834 F:GO:0000166	3,25E-55
SCJFLR1074F08	proteína hipotética F:GO:0005515	1,11E-30
SCJFLR1074F11	no hit	-
SCCCLR1075B09	serine carboxypeptidase precursor C:GO:0016023	1,59E-11
SCCCLR1079F03	proteína hipotética	1,90E-48
SCCCLR1080B06	lipid transfer protein P:GO:0006869 C:GO:0016023	9,30E-27
SCCCLR1080G01	proteína hipotética	1,67E-51
SCSGLR1081A05	zinc finger poz domain protein	4,45E-90
SCBGLR1082B09	y4115_arath uncharacterized proteinchloroplast precursor C:GO:0009535	3,92E-16
SCBGLR1082C01	60s ribosomal protein I9	3,04E-08
SCBGLR1082D04	no hit	-
SCBGLR1082H10	proteína hipotética	3,03E-08
SCSGLR1084A10	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCSGLR1084B08	no hit	-
SCQGLR1085D08	no hit	-
SCQGLR1085H04	no hit	-
SCQGLR1087F08	proteína hipotética	3,37E-23
SCEQLR1093E09	amino acid transport protein aap1 P:GO:0006865	1,37E-61
SCBGLR1095D06	no hit	-
SCBGLR1095G10	sec14 cytosolic factor family protein phosphoglyceride transfer family protein P:GO:0006810	9,26E-51
SCBGLR1097A04	no hit	-
SCBGLR1098G06	no hit	-
SCBGLR1099F12	r2f3 myb transcription factor myb-if25 P:GO:0045449 F:GO:0003677 C:GO:0005634	2,80E-21
SCBGLR1099G07	proteína hipotética C:GO:0009536	4,83E-71
SCBGLR1100A04	no hit	-
SCBGLR1100B04	no hit	-
SCJLLR1106A07	60s ribosomal protein l7a C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412	1,21E-65
SCJLLR1107C03	proteína hipotética	1,39E-11
SCJLLR1107E12	nucleoid dna-binding protein ond41 C:GO:0005739	3,34E-25
SCJLLR1108G05	udp-galactose transporter homologrelated	2,45E-37
SCRLLR1109E02	no hit	-
SCRLLR111A01	proteína hipotética C:GO:0005739	8,43E-27

Tabela 3: continuação

SCRLLR111E06	proteína hipotética	3,05E-07
SCBGLR113E12	no hit	-
SCBGLR113G08	proteína hipotética	1,48E-08
SCBGLR114E02	proteína hipotética	2,02E-20
SCBGLR114G12	auxin response factorexpressed	3,02E-71
SCBGLR115D05	no hit	-
SCBGLR115H09	centromeric histone h3 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	1,32E-10
SCBGLR116A10	no hit	-
SCBGLR117F03	proteína hipotética	2,31E-18
SCBGLR118F05	proteína hipotética	1,70E-55
SCBGLR1120C03	proteína hipotética	7,86E-24
SCBGLR1120E11	no hit	-
SCMCLR1122A06	no hit	-
SCMCLR1122D02	proteína hipotética	2,67E-65
SCMCLR1122D05	transcription factor iia gamma subunit	3,59E-46
SCMCLR1122E09	no hit	-
SCMCLR1122G02	calmodulin-domain protein kinase	1,32E-40
SCMCLR1123B11	no hit	-
SCMCLR1123C11	proteína hipotética	7,02E-112

Tabela 3: continuação

SCMCLR1125E02	no hit	-
SCMCLR1125H02	proteína hipotética C:GO:0016023 C:GO:0009536	1,79E-13
SCACLR1126A09	translation initiation factor if-3-like	9,21E-35
SCACLR1126C09	no hit	-
SCACLR1126C11	no hit	-
SCACLR1126D01	no hit	-
SCACLR1126D09	no hit	-
SCACLR1128B12	FALSE	-
SCACLR1130C06	cellulose synthase8 F:GO:0016760 F:GO:0005515 P:GO:0030244 C:GO:0016021 F:GO:0008270	4,79E-41
SCACLR1130C08	proteína hipotética C:GO:0009536	4,03E-12
SCACLR1130E04	no hit	-
SCACLR1130H02	no hit	-
SCRLLR1131F07	no hit	-
SCACLR1132C07	no hit	-
SCCCLR1C01A11	tyrosine-trna ligase C:GO:0009536	2,10E-33
SCCCLR1C04H11	calmodulin-binding protein	6,93E-98
SCCCLR1C06A07	fyve finger-containing phosphoinositide kinase-like	4,25E-65
SCCCLR1C08C03	no hit	-
SCCCLR1C08E02	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCCCLR1C08G10	lhy protein	6,90E-50
SCCCLR1C11A10	early drought induced protein C:GO:0016023 C:GO:0016021	8,93E-17
SCCCLR2001G02	no hit	-
SCCCLR2001G05	erwinia induced protein 1	3,48E-47
SCCCLR2004A05	centromeric histone h3 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	1,37E-46
SCJLLR2006H01	no hit	-
SCACLR2007D03	plastidpppp synthase C:GO:0009536	9,31E-91
SCSFLR2009B10	unknow protein	5,33E-10
SCSFLR2009H11	tgb12k interacting protein 3	5,58E-63
SCAGLR2011G03	no hit	-
SCAGLR2011G10	proteína hipotética	3,05E-50
SCACLR2014E01	no hit	-
SCSFLR2016E07	proteína hipotética	2,41E-06
SCAGLR2018A02	af150113_1small zinc finger-like protein F:GO:0008270 F:GO:0015450 C:GO:0005743 P:GO:0045039 C:GO:0042719 P:GO:0065002	1,81E-38
SCAGLR2018A05	no hit	-
SCAGLR2018A12	no hit	-
SCJLLR2020E01	no hit	-
SCRFLR2021B04	proteína hipotética	1,35E-61
SCRFLR2021B09	y5486_arath uncharacterized protein at5g64816 precursor	5,70E-59

Tabela 3: continuação

SCRFLR2021E03	proteína hipotética C:GO:0005739	1,50E-27
SCRFLR2021E07	no hit	-
SCRFLR2021H11	protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005524 F:GO:0004674	5,97E-95
SCACLR2022C03	no hit	-
SCUTLR2023B01	proteína hipotética	1,02E-25
SCSFLR2024C07	no hit	-
SCQGLR2025A08	hva22-like proteinexpressed	6,07E-73
SCQGLR2025A09	proteína hipotética	1,49E-15
SCQGLR2025D06	no hit	-
SCVPLR2027G10	no hit	-
SCVPLR2027H01	proteína hipotética	4,91E-24
SCJLLR2028D03	no hit	-
SCJLLR2028G05	no hit	-
SCACLR2029D05	proteína hipotética C:GO:0016023	2,21E-75
SCJFLR2035D10	40s ribosomal protein s15 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412	7,99E-27
SCJFLR2035E01	no hit	-
SCJFLR2036C01	no hit	-
SCJFLR2036C09	no hit	-
SCRFLR2037G02	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCCCLR2C03D04	no hit	-
SCCCLV1001E05	beta-alanine synthases	1,45E-82
SCCCLV1002C11	no hit	-
SCSGLV1004G02	no hit	-
SCSGLV1005C07	cell division-related protein P:GO:0006468 C:GO:0009507	1,44E-53
SCSGLV1005G05	no hit	-
SCSGLV1006A10	had-superfamilysubfamilyvariant 3 containingexpressed C:GO:0012505 F:GO:0003919 P:GO:0009231 F:GO:0005515 F:GO:0008531	1,03E-99
SCSGLV1006C01	ethylene receptor-like protein 2 F:GO:0000156 P:GO:0000160 F:GO:0004867 C:GO:0005739 F:GO:0003677 C:GO:0016023 F:GO:0005524	3,93E-86
SCSGLV1006C10	no hit	-
SCSGLV1007C08	3hc4 type familyexpressed	3,67E-47
SCSGLV1008C08	no hit	-
SCSGLV1009C06	suppressor of forked protein containingexpressed	1,49E-10
SCSGLV1009E06	phospholipase d F:GO:0003824 P:GO:0008152	5,45E-60
SCSGLV1009F02	proteína hipotética C:GO:0009507	5,31E-57
SCQGLV1014D08	no hit	-
SCQGLV1016B06	early-responsive to dehydrationexpressed C:GO:0016023 C:GO:0005886	4,72E-121
SCQGLV1016H08	no hit	-
SCACLV1021H06	protein transport protein sec61 gamma subunit-like F:GO:0015450 C:GO:0016020 P:GO:0006886	4,13E-17
SCACLV1022E08	abc transporter	1,40E-57

Tabela 3: continuação

SCACLV1023C09	proteína hipotética	1,55E-60
SCRLLV1024E10	no hit	-
SCRLLV1025A09	proteína hipotética C:GO:0009536	2,88E-45
SCRLLV1025E02	nam-like protein C:GO:0005739	3,66E-20
SCRLLV1026G03	nucleolar gtp-binding proteinexpressed	2,14E-66
SCRLLV1026H11	bowman-birk serine protease inhibitor C:GO:0016023	2,87E-23
SCRLLV1028A02	no hit	-
SCMCLV1029E08	no hit	-
SCMCLV1033B03	no hit	-
SCMCLV1033G02	kow motif familyexpressed	3,98E-48
SCMCLV1033G06	no hit	-
SCRFLV1034E06	glutamate decarboxylase F:GO:0016831 P:GO:0006520	9,05E-87
SCRFLV1035B10	carboxyl-terminal proteinase C:GO:0005622 P:GO:0006511	1,23E-73
SCRFLV1035D10	protein F:GO:0051082	1,13E-71
SCRFLV1036F06	proteína hipotética	9,45E-88
SCRFLV1036H06	no hit	-
SCRFLV1037A02	proteína hipotética	2,05E-52
SCRFLV1038F08	arfe_orysjauxin response factor 5	7,81E-26
SCAGLV1040H10	proteína hipotética	7,62E-92

Tabela 3: continuação

SCAGLV1042C07	c-5 cytosine-specific dna methylase vacuolar protein sorting-associated protein	1,71E-15
SCSFLV1045A10	microtubule-associated protein map65-1a F:GO:0008017 P:GO:0051322 P:GO:0001578 C:GO:0005819 P:GO:0007020 C:GO:0009524	2,31E-47
SCSFLV1046H07	leucine rich repeat familyexpressed	7,00E-20
SCRLLV1049G12	nitrate transporter nrt1 C:GO:0016020	1,92E-58
SCRLLV1051E08	no hit	-
SCRLLV1051H02	adenosine kinase isoform 2s F:GO:0016301 C:GO:0005739	2,27E-18
SCRLLV1052B07	no hit	-
SCRLLV1052B09	early-responsive to dehydrationexpressed C:GO:0016020	6,36E-65

Grupo 4 Tempo

Clone	Descrição	e-value
SCEZLR1009B12	no hit	-
SCMCLR1010B03	no hit	-
SCMCLR1010E04	proteína hipotética	1,45E-31
SCJLLR1011G01	no hit	-
SCACLR1014G02	alpha beta fold family protein P:GO:0006508	2,66E-76
SCQSLR1018A12	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCQSLR1018B05	harpin-induced protein 1 containing expressed	1,65E-15
SCBGLR1023B03	retrotransposony3-gypsy subclass F:GO:0003676	2,29E-105
SCSGLR1025H04	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase	2,15E-42
SCBFLR1026D05	proteína hipotética C:GO:0005739	3,14E-94
SCBGLR1027D04	no hit	-
SCJLLR1033C03	no hit	-
SCRFLR1034F05	no hit	-
SCJFLR1035B04	no hit	-
SCJFLR1035D11	proteína hipotética	2,11E-23
SCBFLR1039C06	proteína hipotética	8,10E-16
SCBFLR1039G04	nitrate transporter nit1 C:GO:0016020	2,84E-33
SCQSLR1040C05	no hit	-
SCAGLR1043A11	no hit	-
SCBGLR1044E06	bgal3_orysj beta-galactosidase 3 precursor (lactase 3) P:GO:0005975 C:GO:0016023 C:GO:0009341 F:GO:0004565 F:GO:0043169	5,87E-34
SCRFLR1055C07	proteína hipotética	3,27E-52
SCJFLR1056A07	senescence-associatedsenescence-associated protein sag102 C:GO:0009536	2,85E-26
SCJFLR1056A12	no hit	-
SCJFLR1056D07	proteína hipotética	6,03E-76
SCACLR1057A03	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCACLR1057E08	no hit	-
SCUTLR1058D08	nb-arc domain-containing protein F:GO:0005524 P:GO:0006915 P:GO:0006952	1,65E-30
SCQGLR1062F04	no hit	-
SCRULR1063B11	proteína hipotética	1,69E-59
SCCCLR1068F06	resistance protein	8,76E-29
SCCCLR1072D07	proteína hipotética	9,42E-81
SCCCLR1076B11	no hit	-
SCCCLR1076C09	proteína hipotética	8,86E-27
SCCCLR1076D06	no hit	-
SCCCLR1076E10	bsd domain containing expressed	1,61E-44
SCCCLR1077B07	proteína hipotética	1,15E-22
SCCCLR1077C02	clathrin assembly expressed	1,23E-17
SCCCLR1077E06	no hit	-
SCCCLR1078B02	no hit	-
SCCCLR1078C04	no hit	-
SCCCLR1079C05	no hit	-
SCQGLR1087E11	no hit	-
SCQSLR1089F09	exb16_orys expansin-b16 precursor(beta-expansin-16) C:GO:0016023	4,51E-22
SCEQLR1092F03	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCEQLR1093H08	proteína hipotética	5,58E-34
SCEQLR1093H11	no hit	-
SCBGLR1095E02	no hit	-
SCBGLR1097E04	cytokinesis-specific syntaxin-related protein C:GO:0016020 F:GO:0005484 P:GO:0016192 P:GO:0006886	9,94E-26
SCBGLR1098H04	nucleolar rna-binding nop10p-like protein	8,64E-25
SCJLLR1101F03	no hit	-
SCJLLR1101F10	no hit	-
SCJLLR1101G12	no hit	-
SCJLLR1102D06	no hit	-
SCJLLR1103B01	proteína hipotética C:GO:0005739	4,89E-22
SCJLLR1103E05	no hit	-
SCJLLR1103F03	proteína hipotética C:GO:0009536	9,41E-58
SCJLLR1103H12	proteína hipotética F:GO:0003674 P:GO:0008150	4,27E-36
SCJLLR1104F08	leucine zipper protein C:GO:0009536	1,66E-105
SCJLLR1107H04	no hit	-
SCJLLR1108B10	proteína hipotética	1,77E-59
SCRLLR1109F06	af236369_1 prohibitin C:GO:0016020	2,65E-18
SCCCLR1121D03	proteína hipotética C:GO:0009536	3,54E-07
SCMCLR1123C04	proteína hipotética	1,40E-06

Tabela 3: continuação

SCMCLR1124D08	f-box domain containing protein	9,19E-42
SCMCLR1124F01	no hit	-
SCMCLR1124H07	no hit	-
SCMCLR1125A03	proteína hipotética	3,08E-06
SCMCLR1125A07	no hit	-
SCMCLR1125B04	origin recognition complex subunit 6 -like protein	9,22E-11
SCACLR1126F10	no hit	-
SCAGLR1127A05	no hit	-
SCACLR1127A06	proteína hipotética	1,39E-19
SCACLR1128A10	importin 9	2,88E-67
SCRLLR1131G06	no hit	-
SCACLR1132B04	dihydroxy-acid dehydratase	8,92E-75
SCACLR1132D07	no hit	-
SCCCLR2001G12	proteína hipotética	1,34E-37
SCCCLR2003H12	no hit	-
SCCCLR2004C05	proteína hipotética	3,80E-11
SCACLR2007B09	bhlh transcription-like P:GO:0045449 F:GO:0030528 C:GO:0005634	4,62E-23
SCAGLR2011E12	proteína hipotética C:GO:0009536	3,46E-41
SCAGLR2011F11	proteína hipotética	1,30E-22

Tabela 3: continuação

SCVPLR2012A09	no hit	-
SCJLLR2013G04	no hit	-
SCJLLR2013G04	no hit	-
SCJLLR2013H02	proteína hipotética C:GO:0009536	6,68E-12
SCACLR2014F07	no hit	-
SCACLR2014F09	proteína hipotética	3,07E-15
SCSFLR2016B07	no hit	-
SCJLLR2020B05	no hit	-
SCACLR2022A09	proteína hipotética	4,88E-19
SCVPLR2027D05	tubulin folding cofactor b P:GO:0007021 C:GO:0009524 C:GO:0005634	3,29E-40
SCACLR2029B07	no hit	-
SCACLR2029C03	no hit	-
SCAGLR2033H10	proteína hipotética	6,98E-12
SCCCLR2C03A08	no hit	-
SCCCLR2C03F07	no hit	-
SCCCLR2C03G04	no hit	-
SCCCLV1001H06	no hit	-
SCSGLV1008C01	serine threonine kinase protein C:GO:0016023	4,37E-24
SCSGLV1008C01	serine threonine kinase protein C:GO:0016023	3,65E-68

Tabela 3: continuação

SCSGLV1008H07	proteína hipotética	5,13E-28
SCSGLV1009E12	proteína hipotética C:GO:0016023	8,94E-22
SCQGLV1015H12	zinc finger transcription factor zfp30 F:GO:0008270 C:GO:0005622	5,63E-66
SCACLV1022A08	clathrin adaptor complexes medium subunit family protein C:GO:0030125 F:GO:0005515 F:GO:0008565 C:GO:0009536	2,78E-63
SCRLLV1027C08	no hit	-
SCRLLV1027G05	no hit	-
SCRLLV1028B03	nad-malate dehydrogenase C:GO:0009536	2,09E-19
SCRLLV1028C01	tetratricopeptide-like helical	2,06E-72
SCMCLV1029C04	no hit	-
SCMCLV1029G09	no hit	-
SCMCLV1030C08	no hit	-
SCMCLV1031E06	proteína hipotética	1,87E-19
SCRFLV1035H12	d-mannose binding lectin familyexpressed	3,14E-20
SCAGLV1041D09	proteína hipotética C:GO:0016023 F:GO:0003824 C:GO:0005739	7,53E-48
SCSFLV1045C09	proteína hipotética	9,96E-15
SCSFLV1045C12	no hit	-
SCSFLV1046C06	no hit	-

Tabela 3: continuação

Grupo 5 Tempo		eValue
Clone	Descrição	
SCCCLR1001D12	proteína hipotética C:GO:0016020	7,00E-26
SCBGLR1003A06	no hit	-
SCBFLR1004C09	60s ribosomal proteinexpressed	4,34E-85
SCEZLR1009A03	proteína hipotética F:GO:0003723	3,29E-88
SCEZLR1009G12	nodulin-like protein 5ng4 C:GO:0005887 C:GO:0016023 P:GO:0006810 C:GO:0005938 P:GO:0009734	1,01E-27
SCMCLR1010E06	hxx8_orysjhexokinase-8 (hexokinase-4)	1,14E-14
SCJLLR1011C11	no hit	-
SCACLR1014B04	no hit	-
SCUTLR1015G06	cytidyltransferase familyexpressed	6,38E-09
SCCCLR1024H03	calcium-dependent protein kinase P:GO:0006468 F:GO:0005509 F:GO:0005524 F:GO:0004674 C:GO:0009536	9,99E-65
SCSGLR1025A04	gibberellin 20-oxidase P:GO:0055114 F:GO:0016491 F:GO:0005506	1,68E-56
SCEQLR1029B05	calmodulin-binding protein	5,62E-70
SCEQLR1029B07	no hit	-
SCEZLR1031A12	f-box domain containingexpressed C:GO:0005739	2,24E-25
SCEZLR1031D03	no hit	-
SCMCLR1032A11	rna recognition motif-containing	2,12E-81
SCMCLR1032B04	h2b2_orysi histone C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	3,15E-38

Tabela 3: continuação

SCMCLR1032F10	ribosomal protein cytosolic	7,65E-76
SCJLLR1033A07	proteína hipotética F:GO:0016787	2,51E-44
SCJLLR1033D06	rna-binding protein F:GO:0003676 F:GO:0000166	1,12E-55
SCRFLR1034A11	short chain dehydrogenase reductase family expressed	3,30E-103
SCACLR1036B01	no hit	-
SCUTLR1037A07	dna-directed rna polymerase iikda polypeptide	-
SCUTLR1037C10	no hit	-
SCUTLR1037D01	no hit	-
SCUTLR1037H09	zinc finger c3hc4 type family protein	4,19E-27
SCRLLR1038C03	esterase lipase thioesterase-like protein C:GO:0009536	1,75E-124
SCRLLR1038H12	nramp metal ion transporter 1 C:GO:0016020	7,04E-08
SCBFLR1039B12	proteína hipotética	5,93E-100
SCQSLR1040C01	no hit	-
SCQGLR1041C07	no hit	-
SCAGLR1043H07	proteína hipotética C:GO:0016020	1,12E-38
SCBGLR1044H02	proteína hipotética C:GO:0005739	1,15E-30
SCEPLR1051G07	no hit	-
SCEZLR1052A06	no hit	-
SCMCLR1053D12	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCMCLR1053E05	glycosyltransferase family 14expressed	1,97E-48
SCMCLR1053F12	at5g04480 t32m21_80 C:GO:0005794	2,03E-62
SCRFLR1055H03	mpk4_orysj mitogen-activated protein kinase 4 (map kinase 4)(multiple stress-responsive map kinase 3) C:GO:0009536	6,78E-25
SCJFLR1056B10	heat repeat familyexpressed C:GO:0005739	2,72E-108
SCACLR1057H10	60s ribosomal protein l7	1,32E-59
SCRULR1063C12	importin-beta n-terminal domain containingexpressed	4,77E-54
SCCCLR1065B09	atp-dependent cippoteolytic subunit C:GO:0009536	1,42E-41
SCCCLR1069A06	no hit	-
SCCCLR1069B06	no hit	-
SCCCLR1069E05	fiber proteinexpressed	1,35E-20
SCCCLR1069G04	prenyl-dependent caax protease P:GO:0006508	3,23E-105
SCJFLR1071G11	hla-b associated transcript 1 C:GO:0009536	6,01E-71
SCCCLR1072D03	proteína hipotética	4,64E-11
SCJFLR1073H01	no hit	-
SCJFLR1074H11	40s ribosomal protein s11 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412 F:GO:0019843	2,50E-71
SCCCLR1076C11	60s ribosomal protein l31 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412	1,81E-47
SCCCLR1076F06	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide g	1,63E-29
SCCCLR1077C09	no hit	-
SCCCLR1079B05	plasma membrane integral protein2-1 P:GO:0006810 C:GO:0005886 C:GO:0016021 F:GO:0005215	7,26E-75

Tabela 3: continuação

SCCCLR1079H12	transcriptional factor b3-like	2,58E-27
SCCCLR1080D10	target of myb1 -like	5,27E-16
SCSGLR1081H10	no hit	-
SCSGLR1081H12	no hit	-
SCBFLR1083D11	seryl-trna synthetase1 F:GO:0004812 P:GO:0006418 F:GO:0000166	3,55E-67
SCSGLR1084G11	proteína hipotética	1,16E-69
SCEQLR1093H10	transcription regulator C:GO:0005634 F:GO:0030528	1,01E-42
SCBGLR1097F03	protein kinase	1,30E-31
SCBGLR1098D05	inosine-uridine nucleoside n-ribohydrolase F:GO:0016787	3,37E-61
SCBGLR1099D01	proteína hipotética	5,63E-69
SCBGLR1100F03	acyl carrier-like protein P:GO:0009416 P:GO:0006633	5,05E-47
SCJLLR1101E03	Proteína hipotética C:GO:0009536	6,68E-56
SCRLLR1109H06	phosphoinositide-specific phospholipase c P:GO:0006629 F:GO:0004871 P:GO:0007242 F:GO:0004435 C:GO:0005739	3,53E-41
SCBGLR1112A01	no hit	-
SCBGLR1112G08	no hit	-
SCBGLR1112H05	no hit	-
SCBGLR1113A12	carbonic anhydrase F:GO:0008270 C:GO:0009507 F:GO:0004089 P:GO:0015976	1,25E-76
SCBGLR1116D01	small nuclear ribonucleoprotein e	9,63E-21
SCBGLR1117A01	proteína hipotética	7,10E-12

Tabela 3: continuação

SCBGLR117E04	proteína hipotética F:GO:0005525 F:GO:0005524 F:GO:0008134 P:GO:0007264 C:GO:0005739 P:GO:0006355 P:GO:0015031	1,28E-70
SCBGLR117E07	no hit	-
SCBGLR118B05	no hit	-
SCMCLR123E11	proteína hipotética	1,32E-08
SCMCLR124G01	Proteína hipotética C:GO:0016023	1,05E-29
SCRLLR1131C02	psag protein psag1 C:GO:0009536	2,55E-76
SCRLLR1131G03	light-harvesting chlorophyll-a b protein of photosystem i	8,46E-64
SCACLR1132B05	eukaryotic cap-binding protein	9,78E-73
SCCCLR1C06B11	transcriptional activator demeter	6,40E-42
SCCCLR1C09D05	proteína hipotética	7,23E-12
SCJLLR2006E12	proteína hipotética P:GO:0048827 P:GO:0010229 C:GO:0005680	1,88E-23
SCACLR2007D05	f-box family	5,68E-11
SCUTLR2008B01	ribosome inactivating protein 1 F:GO:0016787	1,90E-43
SCUTLR2008H11	proteína hipotética	3,94E-22
SCQGLR2010D05	no hit	-
SCQGLR2010G04	abc transporter family protein C:GO:0016020	1,03E-76
SCAGLR2011B01	brain protein 44-like	2,05E-41
SCAGLR2011B04	cytoplasmic ribosomal protein 118 C:GO:0005840 F:GO:0003735 P:GO:0006412	2,70E-49
SCVPLR2012D04	proteína hipotética	4,95E-17

Tabela 3: continuação

SCVPLR2012F05	pr4_phavuwound-induced basic protein	8,60E-12
SCACLR2014G02	in22_maizein2-2 protein F:GO:0016491 P:GO:0055114	6,76E-89
SCUTLR2015B06	histone h4 P:GO:0009414 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	2,77E-31
SCUTLR2015B09	probable zinc finger protein - alfalfa	1,93E-54
SCSFLR2016D03	proteína hipotética	1,24E-25
SCJLLR2020B06	histone h4 C:GO:0000786 F:GO:0003677 P:GO:0006334 C:GO:0005634	1,22E-33
SCQGLR2025E03	wrky dna binding domain containingexpressed F:GO:0003677	4,28E-53
SCJLLR2028A03	60s ribosomal protein l37	8,01E-23
SCQGLR2032D11	no hit	-
SCJFLR2035H01	no hit	-
SCJFLR2035H04	calmodulin F:GO:0005509	6,01E-74
SCJFLR2036A04	no hit	-
SCRFLR2037F09	calcium-binding protein P:GO:0006457 C:GO:0005783 F:GO:0051082 F:GO:0005509	1,56E-104
SCCCLR2C03B02	proteína hipotética C:GO:0005739	4,79E-12
SCCCLV1001D01	proteína hipotética C:GO:0016020	8,58E-124
SCCCLV1001H05	rna recognition motif-containing protein	2,06E-52
SCCCLV1002A09	no hit	-
SCCCLV1003D07	clp-like energy-dependent protease F:GO:0008462 C:GO:0005739 P:GO:0006508	8,20E-74
SCCCLV1003G03	rad23 protein P:GO:0006289 C:GO:0005634	1,15E-29

Tabela 3: continuação

SCSGLV1004F11	expansin os-expa2 C:GO:0005576 C:GO:0016020 C:GO:0016023 P:GO:0009664	5,78E-78
SCSGLV1004G01	no hit	-
SCSGLV1006E06	1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase 1 F:GO:0008661 P:GO:0016114	5,94E-51
SCSGLV1007B04	proteína hipotética	1,93E-37
SCSGLV1008F02	iron ascorbate-dependent oxidoreductase	6,20E-18
SCSGLV1009C03	pyrophosphate-dependent phosphofructo-1-kinase F:GO:0005515 C:GO:0005945 P:GO:0006096 C:GO:0009536	5,59E-93
SCSGLV1009H12	proteína hipotética C:GO:0016023	1,19E-26
SCSGLV1011A08	phosphoenolpyruvate carboxylase P:GO:0006099 F:GO:0008964 P:GO:0015977	1,29E-35
SCSGLV1011H06	ubiquitin carrier-like protein	1,34E-73
SCSGLV1012A03	proteína hipotética	3,10E-22
SCSGLV1012B05	proteína hipotética	1,79E-65
SCSGLV1012C12	Nuclear matrix constituent protein 1	4,83E-33
SCSGLV1013B05	no hit	-
SCSGLV1013C09	metallothionein-like proteinexpressed	5,22E-09
SCQGLV1014A02	no hit	-
SCQGLV1014D02	organic cation transporter-like protein	2,31E-119
SCQGLV1015F10	cytochrome p450 71e1	3,10E-39
SCQGLV1017B03	beta-glucosidase isozyme 2 precursor F:GO:0004553 P:GO:0005975 C:GO:0005739	5,84E-81
SCQGLV1017D06	clb1 protein C:GO:0016023	7,16E-24

Tabela 3: continuação

SCQGLV1017H09	proteína hipotética C:GO:0005739	2,12E-30
SCACLV1022B06	no hit	-
SCACLV1022F02	kinase interacting protein 1 F:GO:0003674	4,11E-59
SCRLLV1024F02	burp domain-containing protein	2,54E-58
SCRLLV1028E11	no hit	-
SCMCLV1030G08	proteína hipotética	3,90E-108
SCMCLV1032F11	wd-40 repeat family protein zfwad2 protein F:GO:0008270 F:GO:0003676	9,81E-110
SCRFLV1036F07	thioredoxin peroxidase	1,40E-30
SCAGLV1039C12	no hit	-
SCAGLV1039D10	potyvirus vpg interactingexpressed F:GO:0008270 F:GO:0005515	1,30E-52
SCAGLV1040B06	no hit	-
SCAGLV1040G11	no hit	-
SCAGLV1041C12	tetratricopeptide repeat protein expressed	1,23E-58
SCAGLV1041E03	gamyb-binding protein	8,90E-131
SCAGLV1042E11	translation initiation factor if-3-like	1,40E-10
SCAGLV1043D01	proteína hipotética C:GO:0005739	3,94E-11
SCSFLV1046D02	histidine-containing phosphotransfer protein	1,87E-23
SCSFLV1048G01	chaperonin 60 beta precursor C:GO:0009536	2,53E-39
SCRLLV1052C12	vacuolar proton-ATPase F:GO:0046872 P:GO:0006754 F:GO:0005524 F:GO:0046961 P:GO:0015992 C:GO:0016469	2,56E-64

Tabela 3: continuação

SCRELLV1053E09	proteína hipotética C:GO:0016023	1,02E-54
SCCCLV1C04H09	at1g15980 t24d18_8	2,20E-46
Grupo 6 Tempo		
Clone	Descrição	eValue
SCCCLR1001H06	per1-like familyexpressed C:GO:0016023 C:GO:0016020	9,15E-90
SCBGLR1003E01	ef1b_orysj elongation factor 1-beta (ef-1-beta) (elongation factor 1b-alpha 2) (eef-1b alpha 2) (elongation factor 1-beta) (ef-1-beta) P:GO:0006414 F:GO:0003746 P:GO:0006412 C:GO:0005853	1,09E-35
SCBFLR1004D12	abc transporter C:GO:0005739	5,92E-38
SCBFLR1004H11	No hit	-
SCBFLR1005B07	3 exoribonuclease family domain 1-containingexpressed F:GO:0003723 P:GO:0006396 F:GO:0000175	3,69E-92
SCBFLR1005F02	No hit	-
SCVPLR1006A03	60s acidic ribosomal protein p0 F:GO:0003735 P:GO:0006414 C:GO:0030529 C:GO:0005840 P:GO:0042254 C:GO:0005622	5,00E-71
SCVPLR1006C09	No hit	-
SCEPLR1008A07	transformer-sr ribonucleoprotein C:GO:0009536	3,70E-38
SCEPLR1008F07	pumilio domain-containing protein ppd1	2,94E-79
SCEZLR1009C03	No hit	-
SCMCLR1010D02	pfe18 protein	5,39E-36

Tabela 3: continuação

SCJLLR1011A03	proteína hipotética C:GO:0009536 C:GO:0016020	2,16E-25
SCJLLR1011A03	proteína hipotética C:GO:0009536 C:GO:0016020	3,98E-21
SCJLLR1011E04	proteína hipotética C:GO:0009536 C:GO:0005739	1,74E-18
SCJLLR1011E04	no hit	-
SCJLLR1011G06	at3g03380 t21p5_20 P:GO:0006508 F:GO:0008236 C:GO:0005575	9,64E-83
SCJLLR1011G06	proteína hipotética	2,54E-63
SCJLLR1011G09	no hit	-
SCJFLR1013B06	fructose-6-phosphate 2-kinase fructose--biphosphatase F:GO:0016301 F:GO:0005524 P:GO:0006003 F:GO:0030246 P:GO:0005975	1,76E-77
SCACLR1014C04	cyclic nucleotide-gated calmodulin-binding ion channel C:GO:0016020	1,42E-77
SCACLR1014C07	proteína hipotética F:GO:0003674 P:GO:0008150	8,89E-28
SCACLR1014H12	leucine rich repeat familyexpressed	8,08E-56
SCUTLR1015C11	cytosolic factor-like protein	9,77E-06
SCUTLR1015G04	serine threonine protein kinase	4,70E-37
SCRLLR1016D06	40s ribosomal protein s11 F:GO:0003723 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0005737 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622	3,12E-66
SCRLLR1016H01	proteína hipotética	9,26E-39
SCJFLR1017A08	ribosomal protein l12-like protein	1,02E-36
SCJFLR1017B12	at3g29240 mxo21_9 C:GO:0009536 F:GO:0003674 C:GO:0009543	2,73E-23
SCJFLR1017E12	no hit	-
SCQGLR1019A06	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCQGLR1019A09	no hit	-
SCCCLR1024A10	no hit	-
SCBFLLR1026E09	no hit	-
SCEZLR1031F11	proteína hipotética	5,83E-09
SCMCLR1032C05	cytoplasmic aconitate hydratase F:GO:0003994 P:GO:0008152 F:GO:0051539 P:GO:0006979	5,06E-62
SCMCLR1032F01	no hit	-
SCMCLR1032F06	nodulin-like protein C:GO:0016020	1,24E-57
SCMCLR1032G07	no hit	-
SCJFLR1035G02	no hit	-
SCACLR1036A03	no hit	-
SCACLR1036A11	no hit	-
SCACLR1036H11	proteína hipotética C:GO:0016023	1,56E-58
SCUTLR1037A06	somatic embryogenesis protein kinase 1 C:GO:0009536 F:GO:0005524 C:GO:0016023 F:GO:0004713 P:GO:0006468 F:GO:0004674	6,46E-94
SCUTLR1037C04	proteína hipotética	3,22E-37
SCUTLR1037C11	no hit	-
SCUTLR1037G11	no hit	-
SCRLLR1038B05	proteína hipotética	7,26E-16
SCRLLR1038B09	70kd heat shock protein	1,69E-81
SCRLLR1038C04	leucine zipper protein	5,32E-38

Tabela 3: continuação

SCRLLR1038C10	cysteine synthase cpacs1 C:GO:0009536 P:GO:0019344 F:GO:0004124	2,73E-108
SCRLLR1038G04	disease resistance protein rpm1	2,23E-16
SCBFLLR1039C04	proteína hipotética F:GO:0004553 C:GO:0016023 P:GO:0005975	6,39E-65
SCBFLLR1039C08	beta--glucanase precursor	1,37E-79
SCBFLLR1039G05	cw-type zinc finger familyexpressed	2,67E-33
SCQSLR1040H11	no hit	-
SCRULR1042E09	proteína hipotética	2,22E-27
SCRULR1042H03	proteína hipotética	1,10E-17
SCAGLR1043C10	no hit	-
SCBGLR1044B12	af416867_1sugar transporter P:GO:0008643 C:GO:0016020 F:GO:0005351 F:GO:0005215 P:GO:0006810	2,16E-60
SCBGLR1044E05	proteína hipotética	1,94E-37
SCBGLR1044H05	no hit	-
SCBFLLR1046D02	proteína hipotética	4,20E-22
SCCCLR1048C05	dead h (asp-glu-ala-asp his) box polypeptide 8 (rma helicase)	3,31E-82
SCCCLR1048D01	proteína hipotética C:GO:0005739	1,15E-18
SCEQLR1050F05	auxin-repressedprotein arp2	1,29E-15
SCEQLR1050H12	26s proteasome non-atpase regulatory subunitexpressed P:GO:0008150 F:GO:0005515	2,21E-70
SCMCLR1053A09	no hit	-
SCJLLR1054C03	protein kinase-like	2,21E-77

Tabela 3: continuação

SCJLLR1054C05	no hit	-
SCRFLR1055A02	no hit	-
SCRFLR1055B10	zinc finger familyexpressed F:GO:0003676 C:GO:0012505 F:GO:0008270 C:GO:0005622	3,13E-57
SCRFLR1055G09	proteína hipotética	3,98E-23
SCJFLR1056A09	ac098682_10transposable element C:GO:0005739	2,32E-50
SCJFLR1056H11	no hit	-
SCUTLR1058C05	peptide methionine sulfoxideexpressed F:GO:0016671 P:GO:0019538	3,50E-53
SCUTLR1058D10	no hit	-
SCUTLR1058H07	no hit	-
SCBFLR1060B08	big (dark over-expression of cab 1) binding ubiquitin-protein ligase zinc ion binding	3,25E-57
SCBFLR1060C06	40s ribosomal protein s9 F:GO:0003723 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0015935 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622	6,97E-58
SCBFLR1060E06	oxysterol-binding protein	3,76E-32
SCQSLR1061A11	proteína hipotética	6,93E-20
SCQSLR1061D05	ac068923_15pre-mrna splicing factor P:GO:0000398 C:GO:0009568 P:GO:0005976 P:GO:0019252	2,47E-82
SCQGLR1062D05	no hit	-
SCQGLR1062E08	proteína hipotética	4,01E-14
SCRULR1063A09	no hit	-
SCRULR1063B03	natural resistance-associated macrophageexpressed C:GO:0016020	1,42E-42
SCRULR1063F01	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCAGLR1064A04	emb2745 (embryo defective 2745)	1,98E-51
SCAGLR1064A08	no hit	-
SCAGLR1064C05	no hit	-
SCAGLR1064E03	proteína hipotética C:GO:0005739	1,64E-55
SCCCLR1065G10	proteína hipotética	1,30E-49
SCCCLR1067E08	sr43c_orys probable signal recognition particle 43 kdachloroplast precursor P:GO:0009644 C:GO:0009536 C:GO:0009507 F:GO:0005515	4,81E-39
SCCCLR1067E11	proteína hipotética F:GO:0003674 C:GO:0009507	5,02E-63
SCCCLR1067F09	no hit	-
SCCCLR1068A06	ma apurinic site specific lyase C:GO:0009536	7,11E-34
SCCCLR1068C07	importin 7<ran-binding protein 7	2,20E-99
SCCCLR1069F12	auxin efflux carrier P:GO:0009926 C:GO:0016021	6,35E-35
SCCCLR1069G03	cbs domain containingexpressed C:GO:0009536	6,23E-81
SCCCLR1070A06	proteína hipotética	2,24E-75
SCCCLR1070A08	no hit	-
SCJFLR1071G01	proteína hipotética C:GO:0016020	2,46E-79
SCJFLR1074H09	nhp2-like proteinexpressed	5,39E-50
SCCCLR1075F10	no hit	-
SCCCLR1076E11	transcription factor e2fe F:GO:0003677	7,04E-48
SCCCLR1077A05	translation initiation factor P:GO:0006412 F:GO:0003743	1,33E-64

Tabela 3: continuação

SCBFLR1083B07	no hit	-
SCSGLR1084G03	proteína hipotética	7,21E-27
SCSGLR1084H05	no hit	-
SCSGLR1084H08	stem-specific proteinexpressed	1,24E-49
SCQGLR1085E07	single-strand dna binding C:GO:0005739 F:GO:0003697	3,97E-61
SCQGLR1085H09	no hit	-
SCQGLR1086B02	proteína hipotética	1,07E-17
SCQGLR1086B11	isoamylase-type starch debranching enzyme iso3 F:GO:0004553 P:GO:0005975 F:GO:0003824 F:GO:0043169	3,39E-35
SCQGLR1086C12	pentatricopeptiderepeat-containing protein	8,79E-79
SCQGLR1087A04	ubiquitin-conjugating enzyme5a F:GO:0004842 P:GO:0006512 P:GO:0006464	4,83E-48
SCQGLR1087F12	histone h4 C:GO:0005694 C:GO:0000786 P:GO:0006334 F:GO:0003677 C:GO:0005634	1,06E-30
SCQSLR1090E07	tpa: class iii peroxidase 55 precursor C:GO:0005739	1,57E-63
SCEQLR1091B02	no hit	-
SCEQLR1091C10	no hit	-
SCEQLR1092A11	no hit	-
SCEQLR1092B01	no hit	-
SCEQLR1092C01	proteína hipotética C:GO:0005739	5,37E-09
SCEQLR1093A01	no hit	-
SCEQLR1093C02	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCEQLR1094F02	40s ribosomal protein s12 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622	3,51E-32
SCBGLR1097B02	no hit	-
SCBGLR1097D12	no hit	-
SCBGLR1098C07	gblp_orysj guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein (gpb-lr)	2,50E-70
SCBGLR1099A08	proteína hipotética	1,46E-27
SCBGLR1099C04	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase F:GO:0051287 P:GO:0055114 P:GO:0006096 F:GO:0016491 F:GO:0003824 P:GO:0006006	3,70E-100
SCBGLR1100A05	no hit	-
SCJLLR1101A02	histone h2a C:GO:0005694 C:GO:0009536 C:GO:0000786 P:GO:0006334 F:GO:0003677 C:GO:0005634	7,37E-36
SCJLLR1101G03	rna pol ii accessorycdc73 familyexpressed	4,81E-44
SCJLLR1106C06	early salt stress and cold acclimation-induced protein 2-1 F:GO:0009055 C:GO:0016023 F:GO:0005199 F:GO:0005507	1,28E-31
SCJLLR1106C09	no hit	-
SCJLLR1106E05	no hit	-
SCJLLR1106G12	no hit	-
SCJLLR1107G03	proteína hipotética	6,77E-55
SCJLLR1107G06	proteína hipotética	2,26E-28
SCRLLR1109D04	no hit	-
SCRLLR1111D12	no hit	-
SCBGLR1112C06	peptide transporter C:GO:0009507 F:GO:0015035	4,12E-25
SCBGLR1112F10	cytochrome oxidase subunit 3 C:GO:0005739 P:GO:0022904 F:GO:0004129 P:GO:0006123 C:GO:0016021 C:GO:0016020	3,42E-70

Tabela 3: continuação

SCBGLR114A03	proteína hipotética	6,23E-13
SCBGLR114C09	proteína hipotética F:GO:0003674	6,03E-37
SCBGLR114F05	no hit	-
SCBGLR114G02	at1g07790 f24b9_10 C:GO:0000786 P:GO:0006334 C:GO:0005634	1,81E-13
SCBGLR116H01	no hit	-
SCBGLR119H02	no hit	-
SCBGLR119H10	qm protein F:GO:0003735 C:GO:0005739 P:GO:0006412 C:GO:0030529 C:GO:0005840 C:GO:0005622	3,83E-33
SCBGLR1120D03	no hit	-
SCBGLR1120F01	af439446_1lipid transfer protein P:GO:0006869 F:GO:0008289 P:GO:0006810	1,85E-40
SCBGLR1120G08	no hit	-
SCMCLR1122D09	reverse transcriptase C:GO:0005739	9,96E-21
SCMCLR1122G01	cation diffusion facilitator 9 F:GO:0008324 C:GO:0016020 P:GO:0006812	9,42E-55
SCMCLR1123D10	proteína hipotética	3,17E-14
SCMCLR1123E06	no hit	-
SCMCLR1124E09	no hit	-
SCMCLR1125E09	vacuolar processing enzyme P:GO:0006508 C:GO:0016023 F:GO:0001509 F:GO:0004197	2,09E-19
SCACLR1126H11	acyl carrier P:GO:0008610 F:GO:0048037 F:GO:0000036 C:GO:0005759 P:GO:0006633 F:GO:0031177	1,14E-36
SCACLR1128A09	proteína hipotética	2,06E-29
SCACLR1128F07	na+ h+ antiporter C:GO:0016020	4,62E-14

Tabela 3: continuação

SCACLR1130A09	proteína hipotética	3,02E-28
SCACLR1130B05	proteína hipotética F:GO:0003674 P:GO:0009853 C:GO:0045271	4,19E-27
SCACLR1130H05	proteína hipotética F:GO:0003674 C:GO:0009507	2,52E-33
SCACLR1130H06	no hit	-
SCRLLR1131E07	no hit	-
SCACLR1132A05	copper chaperone P:GO:0010093 P:GO:0030001 C:GO:0005634 C:GO:0005737 F:GO:0018024 F:GO:0010314 P:GO:0009909	1,92E-25
SCACLR1132E12	proteína hipotética	1,52E-21
SCCCLR1C04A01	associated with hox familyexpressed	2,84E-77
SCCCLR1C05F12	receptor protein kinase perk1-like protein	2,05E-07
SCCCLR1C09E11	polyubiquitin-like protein	6,86E-20
SCCCLR1C09H08	no hit	-
SCCCLR1C10B05	no hit	-
SCCCLR1C10D12	no hit	-
SCCCLR2001C12	no hit	-
SCCCLR2002B04	no hit	-
SCCCLR2002F06	no hit	-
SCCCLR2002H08	no hit	-
SCCCLR2003D09	no hit	-
SCCCLR2003E12	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCCCLR2003G03	hat family dimerisation C:GO:0009536 C:GO:0016020	9,44E-91
SCCCLR2004C02	no hit	-
SCACLR2007E07	no hit	-
SCUTLR2008C06	no hit	-
SCUTLR2008G10	endo--beta-d-glucanase precursor C:GO:0005739 F:GO:0016787 C:GO:0005576	7,50E-82
SCQGLR2010H05	no hit	-
SCVPLR2012G04	proteína hipotética C:GO:0009536	8,74E-33
SCUTLR2015A02	no hit	-
SCSFLR2016D09	proteína hipotética C:GO:0016020	4,52E-21
SCQGLR2017B04	no hit	-
SCQGLR2017C02	no hit	-
SCQGLR2017C08	serine threonine protein phosphatase 2aregulatory subunit b C:GO:0005739	7,66E-108
SCQGLR2017D04	tonoplast membrane integral protein4-2 C:GO:0005774 C:GO:0016021 C:GO:0005215 P:GO:0006810	2,21E-23
SCVPLR2019D12	no hit	-
SCVPLR2019F01	r111_orysj 60s ribosomal protein l11 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0005840	4,16E-68
SCVPLR2019F04	proteína hipotética	2,13E-14
SCRFLR2021G05	no hit	-
SCACLR2022D01	aaa-type atpase familyexpressed	1,29E-12
SCACLR2022G06	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCACLR2022H01	no hit	-
SCSFLR2024B01	no hit	-
SCSFLR2024B05	proteína hipotética	1,57E-10
SCVPLR2027B10	sm protein f	2,56E-21
SCVPLR2027C08	proteína hipotética C:GO:0009536	1,23E-43
SCJLLR2028E05	1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase F:GO:0003841 F:GO:0008415 F:GO:0016740 P:GO:0008152 P:GO:0008654 C:GO:0016021	4,39E-95
SCUTLR2030C07	no hit	-
SCUTLR2030E04	beta 2 subunit of 20s proteasome C:GO:0005839 P:GO:0006511	1,54E-42
SCSFLR2031A01	ma3 domain-containing protein	3,64E-08
SCSFLR2031H01	nb-arc domain containing protein	2,25E-17
SCAGLR2033D01	no hit	-
SCAGLR2033D08	proteína hipotética	1,02E-08
SCRFLR2034B11	no hit	-
SCRFLR2034E06	no hit	-
SCJFLR2035F04	vq motif-containing C:GO:0009536	1,61E-10
SCJFLR2036B11	no hit	-
SCJFLR2036D10	proteína hipotética	5,65E-31
SCJFLR2036G04	no hit	-
SCJFLR2036G10	na+ h+ exchanger 4 F:GO:0015299 F:GO:0015297 C:GO:0016021 C:GO:0016020 P:GO:0006814 P:GO:0006811 P:GO:0006810	4,77E-65

Tabela 3: continuação

SCRFLR2037B12	no hit	-
SCRFLR2037F01	proteína hipotética	1,56E-27
SCRFLR2038A02	proteína hipotética	1,49E-22
SCRFLR2038C11	phospholipase-like protein F:GO:0003824	3,49E-74
SCCCLR2C01A12	proteína hipotética	6,09E-13
SCCCLR2C02D02	macrophage migration inhibitory factor familyexpressed	1,25E-49
SCCCLR2C02F08	cell death-related protein spl11	1,08E-93
SCCCLV1003B07	no hit	-
SCCCLV1003H08	probable atp-dependent rna helicase – fission yeast (schizosaccharomyces pombe) C:GO:0005739	1,02E-46
SCSGLV1005C06	proteína hipotética	3,15E-43
SCSGLV1005E06	isp4 protein C:GO:0016020	8,63E-99
SCSGLV1006H09	no hit	-
SCSGLV1007C06	no hit	-
SCSGLV1007D05	proteína hipotética	2,48E-57
SCSGLV1009D03	no hit	-
SCSGLV1010C07	had-superfamilysubfamilyvariant 3 containingexpressed	2,32E-43
SCSGLV1010E01	proteína hipotética	1,23E-43
SCSGLV1010E01	proteína hipotética	1,06E-41
SCSGLV1011E09	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCSGLV1011E09	no hit	-
SCSGLV1012A09	dwarf3 F:GO:0009055 F:GO:0020037 F:GO:0005506 F:GO:0004497	2,18E-90
SCSGLV1012A09	cytochrome p450 dwarf3 F:GO:0016023 F:GO:0005506 C:GO:0016021 C:GO:0016020 F:GO:0009055 P:GO:0009685	2,46E-41
SCSGLV1012C06	cytochrome f F:GO:0020037 F:GO:0005506 C:GO:0016021 C:GO:0016020 F:GO:0009055 P:GO:0015979 P:GO:0006810 C:GO:0009579	6,90E-90
SCSGLV1013C08	transferase familyexpressed	1,78E-39
SCSGLV1013C08	transferase familyexpressed F:GO:0016740 P:GO:0008150	2,29E-52
SCQGLV1014H04	il13 protein	-
SCQGLV1015B12	no hit	-
SCQGLV1015F07	p-type atpase C:GO:0016021 C:GO:0016020 P:GO:0006812 F:GO:0015662 F:GO:0016787 P:GO:0006810 F:GO:0000166 F:GO:0005524	5,11E-69
SCQGLV1016A04	bifunctional nuclease C:GO:0005739 C:GO:0016023	1,20E-73
SCQGLV1016H02	phragmoplastin 12	1,39E-34
SCQGLV1017A04	no hit	-
SCACLV1019F07	no hit	-
SCACLV1021F10	proteína hipotética	2,04E-12
SCACLV1022A03	2-isopropylmalate synthaseexpressed	1,35E-22
SCRLLV1024G01	ac087797_9ln1 protein F:GO:0048244	3,96E-64
SCRLLV1025A04	chainsolution structure of 3-methyladenine dna glycosylase i	2,80E-13
SCRLLV1025H12	no hit	-
SCRLLV1028D06	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCMCLV1031B05	rnase3 domain containingexpressed	1,06E-62
SCMCLV1033C04	no hit	-
SCMCLV1033D09	no hit	-
SCRFLV1034C02	c4-specific pyruvate orthophosphate dikinase F:GO:0016301 F:GO:0016310 F:GO:0016740 F:GO:0003824 F:GO:0016772 F:GO:0050242	8,12E-66
SCRFLV1034G01	no hit	-
SCRFLV1035C04	60s ribosomal protein l31 F:GO:0003735 P:GO:0006412 C:GO:0005840 C:GO:0005622	5,48E-45
SCRFLV1035F06	no hit	-
SCRFLV1035H08	no hit	-
SCRFLV1037B07	leucine rich repeat family protein	5,35E-61
SCRFLV1037D01	abc transporter subunit-like C:GO:0009536 P:GO:0016226 F:GO:0005515	2,30E-86
SCRFLV1038E10	proteína hipotética	2,62E-26
SCAGLV1040C07	early responsive to dehydration protein C:GO:0016020	1,00E-99
SCAGLV1041D11	disrupted meiotic cdna 1 F:GO:0003684 F:GO:0008094 P:GO:0000724 P:GO:0006259 P:GO:0006310 C:GO:0005634 F:GO:0003677 F:GO:0000166	7,79E-41
SCAGLV1041H05	carboxypeptidase d P:GO:0006508 F:GO:0004180 C:GO:0016023 F:GO:0016787 F:GO:0004187 F:GO:0008233 F:GO:0004185	1,93E-111
SCAGLV1041H09	small g protein family protein C:GO:0005739 P:GO:0007165 C:GO:0005622	3,52E-26
SCAGLV1042G05	no hit	-
SCAGLV1043B10	proteína hipotética C:GO:0009536	2,35E-44
SCAGLV1043C10	ac069158_13abc transporter F:GO:0004672 F:GO:0005524 C:GO:0005739 P:GO:0006468	3,38E-78
SCSFLV1044G10	no hit	-

Tabela 3: continuação

SCSFLV1045A07	no hit	-
SCSFLV1045B01	proteína hipotética	1,05E-95
SCSFLV1045B03	no hit	-
SCSFLV1045D12	plastidic general dicarboxylate transporter P:GO:0006814 C:GO:0016020 F:GO:0005215	1,82E-98
SCSFLV1045E11	fip1 motif familyexpressed	4,19E-51
SCSFLV1046G11	no hit	-
SCRLLV1049D03	no hit	-
SCRLLV1050H10	ac005916_1est.gb C:GO:0009536 P:GO:0000304	4,29E-49
SCRLLV1051A10	no hit	-
SCRLLV1052H09	mip-like abc transporter C:GO:0016020	4,99E-15
SCRLLV1053A01	no hit	2,98E-17
SCRLLV1053F05	no hit C:GO:0009536	1,21E-22