

POLIANE FERREIRA ALFENAS

**IDENTIFICAÇÃO DE GENES POTENCIALMENTE ENVOLVIDOS NA
INTERAÇÃO TOMATEIRO – *Potyvirus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Doctor Scientae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

POLIANE FERREIRA ALFENAS

**IDENTIFICAÇÃO DE GENES POTENCIALMENTE ENVOLVIDOS NA
INTERAÇÃO TOMATEIRO – *Potyvirus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Doctor Scientiae”.

APROVADA: 20 de março de 2006.

Prof^a Elza Fernandes de Araújo
(Conselheiro)

Prof. Júlio Cezar de Mattos Cascardo
(Conselheiro)

Prof. Ivan de Godoy Maia

Prof^a Elizabeth Pacheco Batista Fontes

Prof. Sérgio Hermínio Brommonschenkel
(Presidente)

AGRADECIMENTOS

Ao meu Pai por estimular o gosto pela ciência.

À minha mãe, por estar sempre do meu lado, mostrando que o melhor caminho é o do equilíbrio, ajudando sempre, principalmente naquelas horas mais difíceis.... e não foram poucas!!!

Aos meus irmãos, Kiki, Rafa e Batata pelos momentos de descontração, e por me lembrar que nem tudo na vida é uma tese!

À Marisa por preparar deliciosos lanchinhos durante as horas de estudo e trabalho no computador.

Ao Murilo pelo carinho.

Ao Murilo orientador, pelos ensinamentos, pela confiança e por acreditar sempre, que ia dar certo.

Aos amigos, Júlio e Ivan, pela enorme ajuda durante o desenvolvimento do trabalho. Sem a colaboração de vocês esse trabalho não teria sido possível.

À professora Elza pelo apoio e ensinamentos durante toda a minha caminhada pela UFV.

Ao Tutu, por tudo que vivemos e aprendemos durante esse longo tempo de bancada juntos (IC, MS e DS!!!!).

À Dani por estar sempre comigo nos momentos difíceis e de alegria durante todo esse tempo de trabalho. Sei que posso sempre contar com você.

À equipe do laboratório, Evando, Glória, Miguel, Ana e Adriana por tornar a jornada de trabalho mais amena.

Aos “meninos” da iniciação, em especial ao Carlos e ao Alison.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Viçosa.pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| RESUMO | iv |
| ABSTRACT | vi |
| INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA | 1 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 8 |
| 1. Obtenção e manutenção do isolado viral | 8 |
| 2. Inoculação das plantas e coleta de amostras..... | 8 |
| 3. Avaliação dos sintomas e ELISA indireto..... | 9 |
| 4. Construção das bibliotecas subtrativas e análise das sequências | 9 |
| 5. Hibridização diferencial | 10 |
| 6. Análise de macroarranjos..... | 10 |
| 7. RT-PCR quantitativo | 11 |
| RESULTADOS | 13 |
| 1. Detecção de PepYMV em folhas infectadas sistemicamente..... | 13 |
| 2. Identificação dos genes diferencialmente expressos na interação tomateiro-PepYMV | 15 |
| 3. Validação da expressão diferencial..... | 23 |
| 4. Cinética da expressão de alguns dos genes diferencialmente expressos por qRT-PCR | 23 |
| DISCUSSÃO | 29 |
| LITERATURA CITADA | 34 |
| ANEXOS..... | 40 |

RESUMO

Alfenas, Poliane Ferreira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2006.
Identificação de genes potencialmente envolvidos na interação tomateiro - *Potyvirus*. Orientador: Francisco Murilo Zerbini Junior. Conselheiros: Julio César de Mattos Cascardo e Elza Fernandes de Araújo.

Durante a coevolução entre vírus e hospedeiro desenvolve-se uma interação complexa envolvendo diversos mecanismos de ataque do patógeno, e de defesa do hospedeiro. A alteração no padrão de expressão gênica do hospedeiro é uma consequência desses mecanismos. Entretanto, o conhecimento sobre os efeitos da infecção viral na expressão gênica ainda é limitado. Com o objetivo de identificar genes diferencialmente expressos em uma interação vírus - planta, uma biblioteca subtrativa foi produzida a partir de plantas suscetíveis de tomateiro infectadas pelo potyvírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV), utilizando-se folhas inoculadas, 72 horas após a inoculação. Foram identificados 777 genes diferencialmente expressos durante a infecção viral, que possuem homologia com proteases, proteossomos, diversos fatores de transcrição, proteínas envolvidas na via de ubiquitinação, proteínas de resposta a choque térmico, catalases, proteínas envolvidas em silenciamento gênico, dentre outras. Também foram identificados 104 genes reprimidos, que da mesma forma apresentaram homologia com genes envolvidos em diversas vias celulares. A expressão diferencial dos genes foi validada por RT-PCR quantitativo e análise de macroarranjos. O estudo dos genes identificados, em conjunto com as informações sobre o ciclo de infecção viral, proporciona uma visão global de como o vírus utiliza fatores do hospedeiro para a biossíntese de proteínas virais e infecção de novos tecidos, e também das respostas de defesa do hospedeiro

na tentativa de conter, ou ao menos minimizar, os danos causados pela infecção viral. A análise funcional dos genes identificados será necessária para determinar seu papel específico na interação.

ABSTRACT

Alfenas, Poliane Ferreira, D.S., Federal University of Viçosa, March 2006.
Identification of genes potentially involved in the interaction tomato - *Potyvirus*. Advisor: Francisco Murilo Zerbini Junior. Committee Members: Julio César de Mattos Cascardo and Elza Fernandes de Araújo.

During co-evolution between virus and host, a complex interaction has been developed involving several mechanisms of pathogen attack and host defense. Host defense responses cause up- and downward shifts in gene expression. However, the effects of viral infection in the host's gene expression profile are still poorly understood. With the objective of identifying differentially expressed genes in a virus-host interaction, susceptible tomato plants were inoculated with the potyvirus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV), and a subtractive library was constructed based on mRNA extracted from inoculated leaves at 72 h after inoculation. A total of 777 genes differentially expressed were identified, including genes involved in a number of plant defense responses as well as transcriptional regulators and signaling proteins, including catalase, aldolase, cystein proteases, heat shock proteins, polyubiquitin, proteasome subunits, proteins involved in gene silencing, among others. A total of 104 down-regulated genes were also identified, which likewise display homology with genes involved in several metabolic pathways. Differential expression of selected genes was validated by quantitative RT-PCR and macroarray analysis. The study of these genes, together with information on the viral infection cycle, provides a global view of the host factors used by the virus to synthesize its proteins and to infect new cells and tissues, as well as the responses from the host, in its attempt to contain or

at least minimize the damage caused by the infection. Functional analysis of these genes will be necessary in order to determine their specific role in the interaction.

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Os vírus utilizam uma grande variedade de estratégias para promover a infecção em hospedeiros suscetíveis. A infecção por vírus pode alterar profundamente a fisiologia do hospedeiro. Em plantas, as doenças induzidas por vírus podem variar amplamente em termos de severidade, incluindo desde respostas tolerantes que pouco alteram a fisiologia da planta hospedeira até respostas severas que podem culminar com a morte da planta (Collmer *et al.*, 2000, Hull, 2002, Krause-Sakate *et al.*, 2005).

Durante a co-evolução entre vírus e hospedeiro desenvolveu-se uma interação complexa, envolvendo diversos mecanismos de ataque do patógeno, e de defesa do hospedeiro. As estratégias utilizadas pelos vírus para infectar o hospedeiro incluem modificações estruturais na célula hospedeira, a supressão do silenciamento gênico pós-transcricional (Roth *et al.*, 2004, Voinnet, 2005) e a interferência com a regulação do ciclo celular (Gutierrez, 2000), dentre outras. Em contrapartida, as plantas desenvolveram mecanismos para se proteger da infecção viral, como o próprio silenciamento gênico pós-transcricional (Baulcombe, 2004), e a ativação de respostas como a hipersensibilidade e a resistência sistêmica adquirida (Baker *et al.*, 1997, Durrant & Dong, 2004, Seo *et al.*, 2004). Essas respostas de defesa são acompanhadas de alterações na expressão gênica do hospedeiro que incluem a expressão de proteínas relacionadas à patogênese (*pathogenesis-related proteins* - proteínas PR) e inúmeras proteínas envolvidas na sinalização celular (Cooper, 2001).

A alteração no padrão de expressão gênica do hospedeiro é uma consequência dos mecanismos que o vírus utiliza para infectá-lo. Entretanto, o

conhecimento sobre os efeitos da infecção viral na expressão gênica ainda é limitado. Um melhor entendimento das alterações transcricionais associadas com a infecção viral pode demonstrar como as plantas respondem aos vírus e os mecanismos que os vírus utilizam para infectar as plantas. A melhor compreensão dos mecanismos de interação entre o vírus e o hospedeiro pode levar a novas estratégias de controle, por exemplo por meio da superexpressão de genes envolvidos em pontos-chave das respostas de defesa.

Algumas alterações no padrão de expressão gênica causada pelo processo de infecção viral já foram relatadas em diversas interações compatíveis. Estudos de hibridização *in situ* mostraram que a infecção de cotilédones de ervilha por diferentes vírus induz o acúmulo do mRNA de *Hsp70*, um gene envolvido em resposta a estresses abióticos (Escaler *et al.*, 2000). A infecção de *Arabidopsis thaliana* por diversos vírus com genoma composto de RNA ou DNA levou a mudanças coordenadas na expressão gênica (Whitham *et al.*, 2003). As modificações incluem alterações gerais e específicas na expressão de genes associados a respostas de defesa e de estresse. Uma análise da região promotora destes genes sugere que diversos vírus induzem respostas comuns em plantas hospedeiras suscetíveis por vias de sinalização ainda não caracterizadas. Uma análise de abundância de transcritos no patossistema *Populus-Poplar mosaic virus* (PopMV) identificou um aumento na abundância de transcritos de genes envolvidos em morte celular programada, remodelamento de parede celular, proteínas relacionadas a patogenicidade (PRs) e glucanases (Smith *et al.*, 2004). Na interação *Arabidopsis-Tobacco mosaic virus* (TMV) também foram identificados genes envolvidos em respostas a estresses, como por exemplo os genes que codificam tioredoxina, glutathionina-S transferase e β -glucanases, além de fatores de transcrição como proteínas de ligação a DNA tipo WRKY e proteínas que respondem a etileno (Golem & Culver, 2003). A ativação transcricional de vários fatores de transcrição tipo WRKY e MYB foi observada na interação incompatível TMV-tabaco. O acúmulo do RNA mensageiro de *WRKY3* (Chen & Chen, 2000) e de *MYB1* (Yang & Klessig, 1996) é rapidamente induzido após a infecção pelo TMV de plantas de tabaco contendo o gene de resistência *N*.

O desenvolvimento de ferramentas para a análise global da expressão de genes tem permitido a identificação de um grande número de genes envolvidos na interação vírus-planta. Técnicas como microarranjos de cDNA (Schena *et al.*, 1995) e de oligonucleotídeos (Lockhart *et al.*, 1996) são métodos sensíveis e eficientes

para detectar os efeitos da infecção viral no controle da expressão gênica do hospedeiro em escala genômica (Golem & Culver, 2003, Smith *et al.*, 2004, Whitham *et al.*, 2003). Para isso, fragmentos de DNA (cDNAs ou oligonucleotídeos) são imobilizados em uma lâmina de vidro e hibridizados com RNA total marcado com fluorescência. A intensidade da fluorescência reflete a abundância do RNA mensageiro correspondente na amostra. Os trabalhos citados no parágrafo anterior constituem exemplos da aplicação dos microarranjos no estudo da expressão diferencial de genes em interações planta-patógeno.

A hibridização subtrativa é uma técnica que permite comparar duas populações de mRNA e obter clones de transcritos que são expressos em uma população mas não em outra (Diatchenko *et al.*, 1996). Esta técnica tem sido eficiente em detectar genes diferencialmente expressos na interação planta-patógeno. Na interação tomateiro-*Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) foram identificados 47 genes cuja expressão foi induzida na presença do patógeno (Itaya *et al.*, 2001). A indução de expressão de genes que codificam catalase, quitinase, proteínas que respondem a choque térmico e a proteína relacionada a patogênese PR1b foi correlacionada com o surgimento de sintomas, e o nível de expressão destes genes foi muito maior em tomates inoculados com a estirpe severa do viróide.

Progressos significativos na compreensão das interações planta-patógeno tem sido realizados utilizando a planta-modelo *Arabidopsis thaliana* (Golem & Culver, 2003, Whitham *et al.*, 2003). Entretanto, a análise comparativa de ESTs de tomateiro e *Arabidopsis* indica uma perda seletiva de genes em *Arabidopsis*. Por exemplo, polifenoloxidasas e ornitina decarboxilases são encontradas em tomateiro e em muitos outros grupos de planta, mas não em *Arabidopsis*. Portanto, é possível que *Arabidopsis* tenha perdido algumas funções gênicas que permanecem em outras plantas, não sendo desta forma um modelo ideal para o estudo de interações com patógenos (Van Der Hoeven *et al.*, 2002). O tomateiro é uma planta cultivada ideal para estudos desta natureza, pois possui aproximadamente 120.000 ESTs caracterizados, além de mapas genéticos saturados (<http://sgn.cornell.edu>; <http://www.tigr.org/tdb/lqi>) (Tanksley *et al.*, 1992). O tomateiro é infectado por um grande número de patógenos (Lopes & Santos, 1994), incluindo fungos, bactérias, nematóides e vírus. O estudo das interações tomateiro-nematóide (*Meloidogyne incognita*) (Lau, 2005) e tomateiro-fungo (*Alternaria solani*) (Scheuermann *et al.*, 2004) vem sendo realizado na UFV.

A família *Potyviridae* é a maior e economicamente mais importante entre os vírus que infectam plantas, contendo cerca de 20% das espécies descritas (Fauquet *et al.*, 2005). Os membros dessa família estão agrupados em seis gêneros (*Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus*), que diferem quanto ao tipo de vetor e organização do genoma (Berger *et al.*, 2005). Os potyvírus são cosmopolitas, sendo encontrados em todo o mundo, infectando mais de 2.000 espécies de plantas em mais de 550 gêneros e 81 famílias. Todos os potyvírus formam corpos de inclusões cilíndricas no citoplasma de células infectadas, também denominadas “cata-ventos”, sendo esta uma característica relevante para a identificação de espécies pertencentes à família. Membros dessa família são facilmente transmitidos experimentalmente de plantas infectadas para plantas saudáveis, pela inoculação via extrato vegetal infectado ou preparações virais purificadas (Berger *et al.*, 2005).

O gênero *Potyvirus* é o mais numeroso da família, com 91 espécies. Esses vírus são transmitidos de maneira não-circulativa por afídeos, por intermédio de uma proteína auxiliar (HC-Pro) codificada pelo vírus (Hull, 2002). As partículas virais são alongadas, flexuosas, com 680-900 nm de comprimento e 11-13 nm de diâmetro. Seu genoma é constituído de uma única molécula de RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10.000 nucleotídeos. O RNA genômico é envolto por um capsídeo formado por cerca de 2.000 cópias da proteína capsidial (CP), com massa molecular de aproximadamente 34 kDa. A proteína capsidial dos *Potyvirus* apresenta uma região amino-terminal variável em tamanho e seqüência, uma região central altamente conservada contendo de 215 a 227 aminoácidos, e uma região carboxi-terminal de 18-20 aminoácidos. As regiões amino e carboxi-terminal estão voltadas para o exterior da partícula viral, sendo responsáveis pelas propriedades antigênicas (Shukla *et al.*, 1994). A seqüência de nucleotídeos da região 5' não traduzida (NTR) é essencial para a tradução do RNA viral por conter um sítio de entrada interna do ribossomo (Basso *et al.*, 1994). A região 3'NTR coopera com a 5'NTR para uma tradução eficiente (Gallie *et al.*, 1995).

Os potyvírus se assemelham aos picornavírus quanto à organização do genoma e estratégia de expressão gênica via processamento de uma poliproteína (Bedard & Semler, 2004). O RNA viral possui uma proteína de origem viral (VPg), covalentemente ligada à sua extremidade 5' e uma cauda poliadenilada na extremidade 3' (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001). A região 5' não-traduzida (5'NTR) de diversos potyvírus possui seqüências regulatórias da tradução do genoma. A região

3' não-traduzida (3'NTR) apresenta uma considerável variabilidade de seqüência e tamanho (variando de 163 a 475 nucleotídeos) (Shukla *et al.*, 1994). A seqüência da 3'NTR é importante para o reconhecimento do RNA viral pelo complexo replicativo, contendo elementos em *cis* essenciais para a replicação (Haldeman-Cahill *et al.*, 1998).

O genoma viral codifica uma única fase aberta de leitura (*open reading frame*, ORF), localizada entre as extremidades 5'NTR e 3'NTR. A tradução da ORF origina uma poliproteína com cerca de 350 kDa, que é processada por três proteases virais (P1, HC-Pro e NIa), originando de 8 a 10 produtos finais (Shukla *et al.*, 1994), conforme diagramado na Figura 1. As proteínas CI, 6K₂, VPg e NIb atuam diretamente na replicação do genoma viral. Entretanto, a maioria das proteínas codificadas pelos potyvírus são necessárias, direta ou indiretamente, para a replicação. Uma característica das proteínas sintetizadas pelos potyvírus é o seu caráter multifuncional. Cada proteína é geralmente responsável por várias funções durante o ciclo de infecção (revisado por Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001). A proteína capsidial, por exemplo, está envolvida em diversas funções, como o encapsidamento do RNA viral, transmissão pelo vetor (Atreya *et al.*, 1995), movimento célula-a-célula (Dolja *et al.*, 1995, Rojas *et al.*, 1997), movimento a longa distância (Dolja *et al.*, 1995) e indução de sintomas (Naderi & Berger, 1997).

A principal consequência do mecanismo de expressão gênica dos potyvírus é a produção de todas as proteínas virais em quantidades estequiometricamente idênticas, independente da necessidade do vírus de cada proteína em particular. As proteínas produzidas em excesso acumulam na célula infectada na forma de inclusões. Essa estratégia de replicação e expressão gênica é bastante danosa para a célula infectada, implicando em um grande dreno de metabólitos, o que se reflete em sintomas severos na planta infectada (Zerbini & Zambolim, 1999). Outra característica interessante dos potyvírus é a sua capacidade de suprimir o silenciamento gênico por meio da proteína HC-Pro (Anandalakshmi *et al.*, 1998). Uma característica interessante deste supressor é que ele atua em duas vias de forma distinta: inibição do acúmulo de siRNAs envolvidos no silenciamento, e aumento do acúmulo de miRNAs endógenos envolvidos na regulação do desenvolvimento da planta (Mallory *et al.*, 2002).

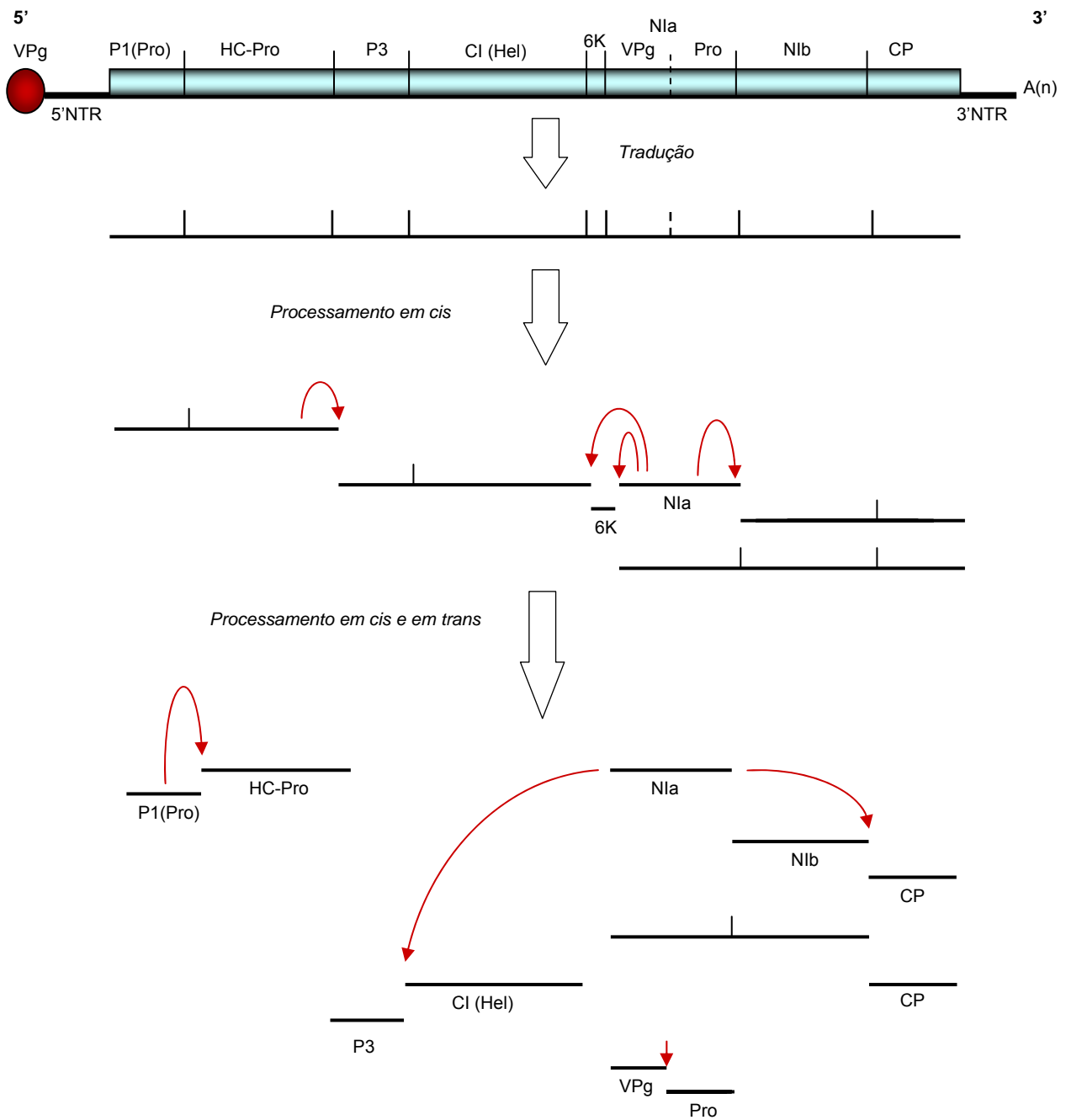


Figura 1. Representação esquemática do genoma e do processamento da poliproteína dos potyvírus. A autocatalise proteolítica ocorre simultaneamente com a tradução. Adaptado de Shukla *et al.* (1994).

O nível de identidade entre as seqüências dos genomas de espécies do gênero *Potyvirus* é relativamente baixo. Comparação ao nível de aminoácidos revela uma identidade média inferior a 70% para a proteína capsidial, refletindo uma elevada flexibilidade evolutiva do grupo e sugerindo que os potyvírus continuam a se adaptar às condições ambientais (Callaway *et al.*, 2001). A análise de 187 seqüências de genomas completos da família, por meio de comparações entre as seqüências da ORF completa, determinou que a maioria das espécies em um mesmo gênero possuem entre 50 e 55% de identidade, embora existam alguns grupos de espécies mais relacionadas (Adams *et al.*, 2005). O nível de identidade para demarcação de espécies foi proposto em 76% para seqüências de nucleotídeos, e 82% para seqüências de aminoácidos. A análise de cada gene em separado indicou níveis de demarcação de espécies (nucleotídeos) de 58% (P1) ou de 74-78% (demais genes). Comparações utilizando o gene CI foram as que melhor representaram o genoma completo. A análise com base em 1.220 seqüências da proteína capsidial indicou um valor de 76-77% de identidade de nucleotídeos para demarcação de espécies baseado nessa região codificadora (Adams *et al.*, 2005). Como outros vírus de RNA, os potyvírus acumulam mutações a uma taxa mais elevada quando comparados aos vírus de DNA (Domingo & Holland, 1997).

Neste trabalho, uma biblioteca subtrativa foi produzida a partir de plantas suscetíveis de tomateiro infectadas pelo potyvírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV), utilizando-se folhas inoculadas, 72 horas após a inoculação. Foram identificados 777 genes que possuem similaridade com proteases, proteossomos, diversos fatores de transcrição, proteínas envolvidas na via de ubiquitinação, proteínas de resposta a choque térmico, catalases, supressão de silenciamento, dentre outras. A análise dos genes identificados, em conjunto com as informações sobre o ciclo de infecção viral, proporciona uma visão global de como o vírus utiliza fatores do hospedeiro para biossíntese de proteínas virais e infecção de novos tecidos, e também das respostas de defesa do hospedeiro na tentativa de conter, ou ao menos minimizar, os danos causados pela infecção viral.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Obtenção e manutenção do isolado viral

O isolado 3 do PepYMV (*Pepper yellow mosaic virus*) (Truta, 2002) foi mantido em plantas de *Nicotiana debneyi* por meio de inoculações sucessivas via extrato vegetal tamponado (EVT) em fosfato de potássio 0,2 M pH 7,2, contendo sulfito de sódio a 1 g/l e utilizando carborundum (600 mesh) como abrasivo. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação.

2. Inoculação das plantas e coleta de amostras

O segundo par de folhas completamente expandidas de plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* cv. Moneymaker) foi inoculado via EVT, conforme descrito no item 1, com extrato de planta infectada pelo PepYMV ou com extrato de planta sadia. Em um primeiro experimento foram coletadas folhas não inoculadas (o primeiro par de folhas completamente expandidas) de cada planta, aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação (dpi). Em um segundo experimento foram coletadas as próprias folhas inoculadas, a 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a inoculação (hai). Em ambos os experimentos, para cada tempo de coleta foram inoculadas 12 plantas com extrato de planta infectada pelo PepYMV e 12 com o extrato de planta sadia. As folhas coletadas foram armazenadas a -80°C. As plantas inoculadas foram mantidas em câmara de crescimento a 26°C e fotoperíodo de 16 horas para avaliação visual de sintomas e confirmação da infecção viral por ELISA.

3. Avaliação dos sintomas e ELISA indireto

Quatorze dias após a inoculação foi realizada a avaliação visual dos sintomas nas plantas inoculadas. Para a confirmação da infecção sistêmica foram coletados 0,3 g de folhas não-inoculadas (a primeira folha completamente expandida de cada planta). As folhas foram homogeneizadas em 3 ml de tampão de extração (Van Regenmortel & Burckard, 1980), adicionando-se 100 µl do homogeneizado a cada cavidade de uma placa de poliestireno. Após incubação a 37°C por uma hora as cavidades foram lavadas três vezes com aproximadamente 200 µl de PBS-T (Clark & Adams, 1977) por vez. Em seguida foi adicionado o anti-soro específico para PepYMV (Truta *et al.*, 2004), diluído 1:10.000 em tampão PEP (Clark & Adams, 1977), e incubado a 37°C por uma hora. As cavidades foram novamente lavadas com PBS-T por três vezes. Adicionou-se o IgG conjugado cabra-anti-coelho/fosfatase alcalina, diluído 1:2.000 em tampão PEP, seguindo-se incubação a 37°C por três horas. Após novo ciclo de lavagens, foi adicionado o substrato da enzima, *p*-nitrofenilfosfato, na concentração de 10 µg/ml. Após cerca de 20 minutos as absorbâncias a 405 nm foram medidas em uma leitora Titertek Multiskan plus MKII. O limite adotado para distinguir amostras infectadas das sadias consistiu no dobro do valor médio de absorbância das amostras sadias (Sutula *et al.*, 1986).

A ausência de contaminação com CMV e TMV foi confirmada por ELISA indireto conforme descrito anteriormente, utilizando-se anti-soros específicos para estes vírus.

4. Construção das bibliotecas subtrativas e análise das seqüências

Para a construção das bibliotecas subtrativas, o RNA total das folhas coletadas nos tratamentos “PepYMV” e “Sadia” a 14, 21 e 28 dpi (primeiro experimento) e 72 hai (segundo experimento) foi extraído utilizando-se o “Concert Plant RNA Reagent” (Invitrogen), conforme instruções do fabricante. O mRNA foi purificado a partir de 500 µg de RNA total, utilizando-se o kit “NucleoTrap Nucleic Acid Purification” (BD Biosciences), conforme instruções do fabricante.

As bibliotecas subtrativas foram construídas utilizando-se o kit “PCR-Select cDNA Subtraction” (Clontech), de acordo com as instruções do fabricante. Foram realizadas subtrações em ambas as direções (*forward* e *reverse*, de forma a identificar genes induzidos e reprimidos, respectivamente). Os cDNAs subtraídos foram clonados no vetor pGEM-T-Easy (Promega). Células de *Escherichia coli* DH5α

foram transformadas por choque térmico com a mistura de ligação de acordo com técnicas padrão (Sambrook *et al.*, 1989). Os clones foram seqüenciados em um seqüenciador automático MegaBACE 1000 (Amersham Biosciences), utilizando-se o kit “DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Mega BACE” (Amersham Biosciences), conforme instruções do fabricante.

As seqüências obtidas foram comparadas com seqüências depositadas nos bancos de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://ncbi.nlm.nih.gov>), utilizando-se o algoritmo BLASTx (Altschul *et al.*, 1990). Os genes foram agrupados em categorias funcionais de acordo com a classificação do banco de dados MIPS (<http://mips.gsf.de/proj/fincatDB>). A similaridade foi considerada significativa quando o valor esperado (*e-value*) foi inferior a $1.e^{-3}$.

5. Hibridização diferencial

Cem clones recombinantes contendo os cDNAs subtraídos na direção *forward* e 100 na direção *reverse* foram transferidos para membranas de náilon (Hybond-N⁺, Amersham Biosciences) de acordo com técnicas padrão (Sambrook *et al.*, 1989). Para cada membrana foi realizada uma réplica. Como sondas foram utilizados os fragmentos de cDNAs subtraídos em ambas as direções. As sondas foram marcadas com α -[P³²]-dATP utilizando-se o kit “Prime-it II Random Primer Labeling” (Stratagene), de acordo com instruções do fabricante. As membranas foram pré-hibridizadas por 30 minutos em solução de hibridização (Na₂HPO₄ 0,25 M, formamida deionizada 50%, SDS 7% e EDTA 1 mM), a 42°C. Após a pré-hibridização adicionou-se a sonda, previamente desnaturada por meio da adição de NaOH 2,0 N e incubação por 10 minutos a temperatura ambiente. A hibridização foi realizada a 42°C por aproximadamente 18h. As membranas foram lavadas em 10 ml de solução de lavagem I (Na₂HPO₄ 0,25 M, EDTA 1 mM, SDS 2,0%), duas vezes por 15 minutos, e em solução de lavagem II (Na₂HPO₄ 0,04 M, EDTA 1 mM e SDS 1%), uma vez por 15 minutos. Todas as lavagens foram conduzidas a 65°C. Os sinais de hibridização foram detectados por autoradiografia a -80°C por 8h, utilizando-se “Lightning-Plus Intensifying Screen” (Sigma).

6. Análise de macroarranjos

Duzentos nanogramas de DNA plasmidial foram desnaturados com NaOH 0,5 M e transferidos em duplicatas para membrana de náilon (Hybond-N⁺, Amersham Biosciences). Duas sondas foram preparadas, a primeira a partir de RNA total

extraído de plantas inoculadas com o PepYMV, e a segunda a partir de RNA total extraído de plantas inoculadas com solução tampão, em ambos os casos a 72 hai. O RNA foi utilizado como molde para a síntese de cDNA fita dupla de acordo com técnicas padrão (Sambrook *et al.*, 1989). O cDNA sintetizado foi marcado com α -[P³²]-dATP, conforme descrito no item 5. As condições de hibridização foram as mesmas descritas no item 5. Os sinais de hibridização foram detectados por autoradiografia a -80°C por 24h, utilizando-se “Lightning-Plus Intensifying Screen” (Sigma).

7. RT-PCR quantitativo

Dois microgramas de RNA total de cada tratamento (folhas coletadas a 0, 24, 48, 72 e 96 hai) foram tratados com DNase (Promega) e utilizado para a síntese de cDNA, utilizando a enzima SuperScript II (Invitrogen), conforme instruções do fabricante. As análises quantitativas foram realizadas em um termociclador ABI 7000 (Applied Biosystems), utilizando SYBR Green para monitorar a síntese de DNA fita dupla. As reações foram montadas em um volume final de 25 μ l utilizando-se “SYBR Green Master Mix” (Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante.

Para determinar o melhor normalizador para os tratamentos foram testados 5 genes com expressão teoricamente constitutiva e que não devem ser afetados pela infecção viral: actina 2 (ACT), β -6-tubulina (TUB6), fator de alongação 1 α (EF1), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (G3PDH) e adenosil-fosforibosil transferase 1 (APT1). As seqüências dos oligonucleotídeos específicos para cada gene (RT-ACT-F, 5'-CGG TGA CCA CTT TCC GAT CT-3' e RT-ACT-R, 5'-TCC TCA CCG TCA GCC ATT TT-3'; RT-TUB6-F, 5'-TTG GTT TTG CAC CAC TGA CTT C-3' e RT-TUB6-R, 5'-AAG CTC TGG CAC TGT CAA AGC-3'; RT-EF1-F, 5'-GAT TGA CAG ACG TTC TGG TAA GGA-3' e RT-EF1-R, 5'-ACC GGC ATC ACC ATT CTT CA-3'; RT-G3PDH-F, 5'-GCC AGG GTG GCT CTA CAA AG-3' e RT-G3PDH-R, 5'-CGG TGA TGA AGG GAT CGT TAA-3'; RT-APT1-F, 5'-GAA CAG ACA AGA TTG AGA TGC ATG TA-3' e RT-APT1-R, 5'-CCA CGA GGG CAC GTT CA-3') foram determinadas com base nos unigenes correspondentes: actina 2, TC116117; β -6-tubulina, TC123940; EF1 α , SGN U143399; G3PDH, SGN U218153; e APT1, TC115870 (Lau, 2005).

As seqüências dos oligonucleotídeos específicos para análise dos genes candidatos foram determinadas utilizando-se o software Primers Express 2.0

(Applied Biosystems). Todas as amostras foram analisadas em triplicatas. A especificidade da amplificação foi determinada por meio da análise das curvas de dissociação. O incremento no nível de expressão foi calculado baseado no $\Delta\Delta CT$, onde $\Delta\Delta CT = (\Delta CT_{\text{tratamento}}) - (\Delta CT_{\text{controle}})$, $\Delta CT_{\text{tratamento}} = (\text{média } CT_{\text{gene alvo}}) - (\text{média } CT_{\text{normalizador}})$, e $\Delta CT_{\text{controle}} = \text{média } CT_{\text{gene alvo}} \text{ no tratamento 0}$ hai.

RESULTADOS

1. Detecção do PepYMV em folhas infectadas sistemicamente

Os sintomas de infecção pelo PepYMV em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* cv. Moneymaker) surgem aproximadamente aos 10 dias após inoculação, na forma de mosaico amarelo e leve distorção foliar (Figura 2). O segundo par de folhas completamente expandidas de plantas de tomateiro foi inoculado mecanicamente com extrato de plantas sadias ou com extrato de plantas infectadas pelo PepYMV, e coletado a 0, 7, 14, 21 e 28 dpi (primeiro experimento), ou a 0, 24, 48, 72, 96 e 120 hai (segundo experimento). Para cada tempo de coleta foram inoculadas 12 plantas com extrato de planta sadia e 12 com o extrato de planta infectada pelo PepYMV. As plantas foram mantidas a 26°C até o surgimento dos sintomas.

Quatorze dias após a inoculação, foi realizada uma avaliação visual de sintomas e de infecção sistêmica. Nenhuma das plantas inoculadas com extrato de planta sadia desenvolveu sintomas. No primeiro experimento, todas as plantas inoculadas com o vírus desenvolveram sintomas sistêmicos, e a infecção foi confirmada por ELISA indireto (dados não mostrados).

No segundo experimento, todas as plantas dos tratamentos PepYMV-72, PepYMV-96 e PepYMV-120 desenvolveram sintomas típicos de infecção pelo vírus. Cinco plantas do tratamento PepYMV-0 também desenvolveram sintomas de infecção sistêmica, o que foi inesperado considerando que a folha infectada foi removida da planta logo após a inoculação. Embora a inoculação via extrato vegetal tamponado atinja predominantemente células da epiderme e do mesofilo (Hull, 2002), é provável que algumas células do floema também tenham sido inoculadas,



Figura 2. Sintomas induzidos pelo *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) em plantas de tomateiro cv. Momeymaker. **A.** Planta infectada, apresentando sintomas de mosaico e distorção foliar, aos 14 dias após a inoculação. **B.** Planta sadia.

e que isso tenha sido suficiente para o rápido movimento a longa distância do vírus e consequente estabelecimento de infecção sistêmica nessas cinco plantas. Nas plantas que não desenvolveram sintomas provavelmente foram atingidas apenas células da epiderme e mesofilo, e o tempo de coleta das folhas inoculadas foi inferior ao tempo necessário para o estabelecimento da infecção sistêmica. Os tratamentos PepYMV-24 e PepYMV-48 apresentaram, respectivamente, seis e sete plantas com sintomas sistêmicos.

A confirmação da infecção sistêmica foi realizada por meio de ELISA indireto com anti-soro específico para o PepYMV. Foram coletadas folhas de todas as plantas, de todos os tratamentos inoculadas com o vírus ou com extrato de planta sadia. Os resultados do ELISA confirmaram que todas as plantas inoculadas com o PepYMV dos tratamentos 72, 96 e 120 dpi estavam infectadas e que as plantas inoculadas com extrato de planta sadia não estavam infectadas. Nos demais tratamentos, as plantas que desenvolveram sintomas foram positivas e as que não desenvolveram sintomas foram negativas (Figura 3A).

Cucumber mosaic virus (CMV) e *Tobacco mosaic virus* (TMV) são vírus que também infectam o tomate e que são facilmente transmitidos via EVT. Para eliminar a possibilidade de contaminação com estes vírus, todas as plantas foram testadas por ELISA. Os resultados confirmaram que todas as plantas de todos os tratamentos estavam livres de infecção por estes vírus (Figura 3B e C).

No primeiro experimento, os mRNAs purificados dos tratamentos 14, 21 e 28 dpi foram agrupados e utilizados para a construção da biblioteca subtrativa, pois a partir de 14 dpi todas as plantas inoculadas com o vírus apresentavam plenos sintomas da infecção viral. No segundo experimento, o tratamento 72 dpi correspondeu ao menor período de inoculação em que todas as plantas estavam infectadas pelo PepYMV e, portanto, foi utilizado para a construção da biblioteca subtrativa.

2. Identificação dos genes diferencialmente expressos na interação tomateiro-PepYMV

Para identificar os genes diferencialmente expressos na interação tomateiro-PepYMV foram construídas 2 bibliotecas subtrativas. As subtrações foram realizadas em ambas as direções (*forward* e *reverse*). A subtração na direção *forward* utiliza excesso de cDNA de plantas não inoculadas, enriquecendo a amostra para os

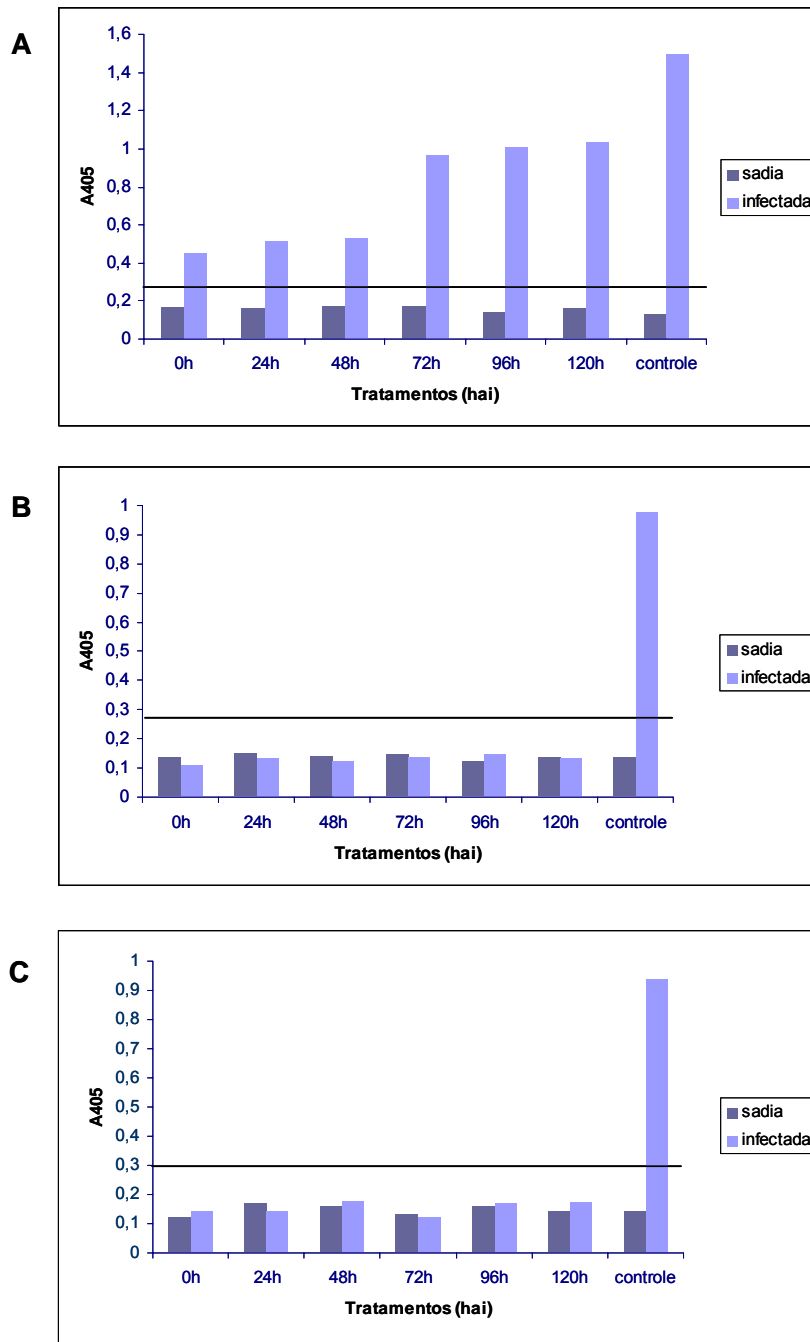


Figura 3. Detecção viral via ELISA indireto nas plantas inoculadas para construção da biblioteca subtrativa. **A.** Anti-soro PepYMV. **B.** Anti-soro CMV. **C.** Anti-soro TMV. Os valores de absorbância para cada tratamento correspondem à médias das 12 plantas. Os controles consistiram de plantas infectadas com PepYMV, CMV e TMV. As linhas horizontais, em cada gráfico, indicam o limite entre as amostras consideradas positivas (valores acima da linha) e negativas (valores abaixo da linha).

cDNAs presentes apenas nas plantas inoculadas. Assim, espera-se que a biblioteca *forward* seja constituída de genes induzidos durante a infecção viral. O contrário ocorre na biblioteca *reverse*, na qual a subtração utiliza excesso de cDNA de plantas inoculadas, selecionando genes reprimidos durante a infecção. Na construção da biblioteca *forward*, foi adicionado RNA viral à amostra de plantas saudáveis, para garantir a subtração de genes virais. Sendo assim, duas coleções de ESTs foram obtidas, uma correspondente aos genes induzidos pela infecção viral e a outra correspondente aos genes reprimidos.

No primeiro experimento, cDNAs de plantas inoculadas com o PepYMV foram subtraídos de cDNAs de plantas inoculadas com extrato de planta saudável, a 14, 21 e 28 dpi. Um total de 96 clones obtidos da biblioteca *forward* foram seqüenciados, e as seqüências obtidas foram comparadas com seqüências depositadas no banco de dados do NCBI. As comparações de seqüências indicaram que a biblioteca apresentava uma baixa complexidade, pois estava constituída basicamente de genes que codificam rRNA. Assim, as bibliotecas produzidas a partir de plantas inoculadas a 14, 21 e 28 dpi foram abandonadas.

No segundo experimento, cDNAs de plantas inoculadas com o PepYMV foram subtraídos de cDNAs de plantas inoculadas com extrato de planta saudável, a 72 hpi. Para confirmar que as coleções obtidas estavam de fato enriquecidas para genes diferencialmente expressos, foi realizado inicialmente um *screening* diferencial, onde uma fração das bibliotecas (100 clones de cada uma, selecionados aleatoriamente) foram hibridizadas com as sondas *forward* e *reverse* (produzida utilizando-se os cDNAs correspondentes a genes induzidos e reprimidos, respectivamente). Os clones das bibliotecas *forward* e *reverse* hibridizaram intensamente com suas respectivas sondas homólogas, e bem menos intensamente com as sondas heterólogas (Figura 4). Estes resultados confirmam que as bibliotecas estão enriquecidas para genes diferencialmente expressos: genes induzidos no caso da biblioteca *forward*, e genes reprimidos no caso da biblioteca *reverse*.

Foram seqüenciados um total de 1.344 clones, 970 da biblioteca *forward* e 374 da biblioteca *reverse*. As seqüências obtidas foram comparadas com seqüências depositadas no banco de dados do NCBI. A comparação das seqüências via BLASTx indicou que 86 ESTs (6,4%) foram encontrados em ambas as coleções. Estes ESTs representam genes que estão expressos em ambas as

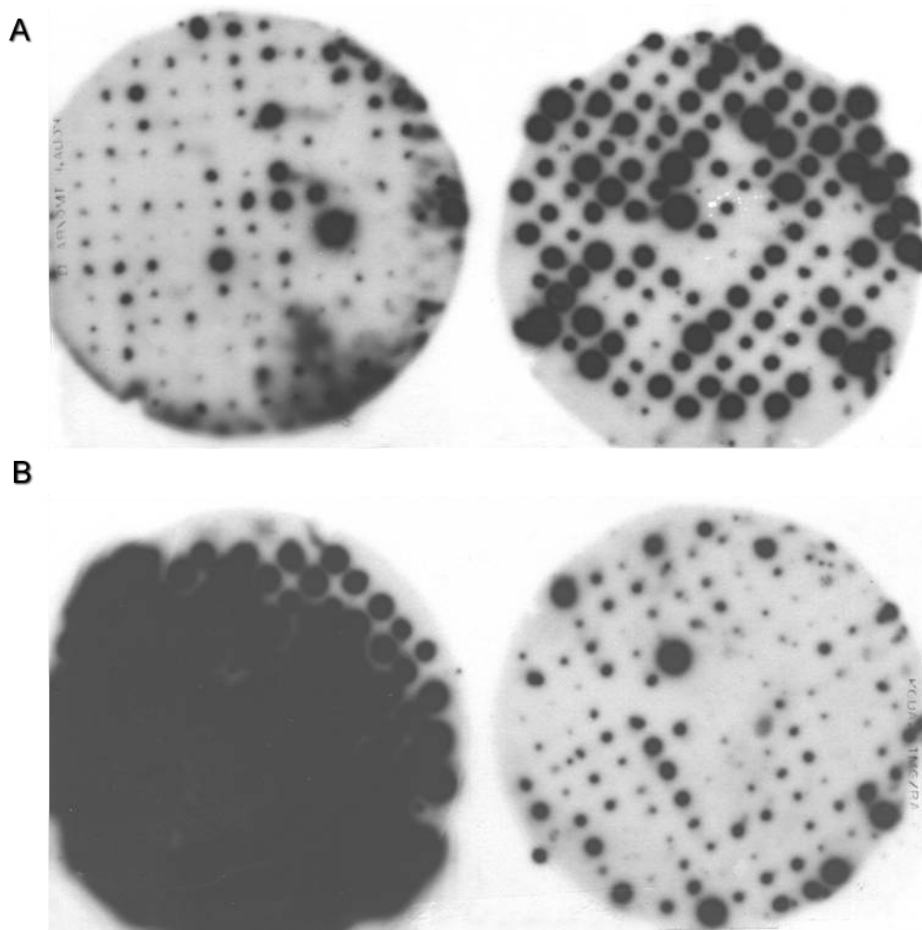


Figura 4. Validação da biblioteca subtrativa por *screening* diferencial. **A.** Membranas hibridizadas com a sonda *forward*. **B.** Membranas hibridizadas com sonda *reverse*. À direita, clones correspondentes à coleção de ESTs induzidos (biblioteca *forward*). À esquerda, clones correspondentes à coleção de ESTs reprimidos (biblioteca *reverse*).

amostras, ou seja, que não foram removidos durante a subtração. Um total de 777 clones representam genes distintos na coleção de ESTs induzidos (12,1% de redundância), e 104 clones na coleção dos ESTs reprimidos (63,9% de redundância).

As listagens parciais desses clones encontram-se nas Tabelas 1 e 2. As listas completas encontram-se no Anexo. Estes resultados indicam que a infecção viral no tempo e local analisados (72 hai, folha inoculada) leva a uma maior indução da expressão gênica do que repressão. Nenhum clone da coleção de ESTs induzidos apresentou homologia com o genoma viral, confirmando que a adição de RNA viral à amostra sadia foi eficiente para subtrair os genes virais.

Os genes identificados foram agrupados em categorias funcionais de acordo com a classificação do banco de dados MIPS. Dentre os ESTs da coleção dos genes induzidos, 12,9% correspondem a genes que codificam proteínas envolvidas em transdução de sinais, 10,3% envolvidos em síntese de proteínas, 9,1% envolvidos na biogênese de componentes celulares, dentre outros (Figura 5A).

Dentre os 5,3% de ESTs classificados como envolvidos no processo de transcrição, 2,3% possuem identidade com genes envolvidos na regulação da transcrição, 1,4% com genes envolvidos no processamento do mRNA, e 0,6% correspondem a fatores gerais de transcrição. Dentre os 10,3% classificados como envolvidos na síntese de proteínas, 1% estão envolvidos no controle da tradução, 3,7% fazem parte da via de degradação ubiquitina/proteossomo, 1,1% são ativadores de proteases, 1,8% são ativadores de cinases, 0,8% são inibidores enzimáticos, e 1,8% estão relacionados com a montagem de complexos protéicos. Dentre os 12,9% classificados como envolvidos em transdução de sinais, 4,9% estão envolvidos na transdução de sinal dependente de cálcio, 5,1% são cinases, 1,4% foram agrupados como receptores transmembrana do tipo tirosina cinase e 2% como receptores transmembrana tipo serina/treonina cinase.

Uma grande parte dos ESTs (9,1%) foram classificados como envolvidos na biogênese de componentes celulares. Dentre estes, 3,8% estão envolvidos na biossíntese de membranas e 2,8% foram classificados como envolvidos em respostas de defesa, incluindo genes envolvidos nos processos de resposta a estresse oxidativo (0,8%) e detoxificação celular envolvendo o citocromo P450 (1%).

Dentre os ESTs da coleção dos genes reprimidos, 17,3% estão envolvidos em processos metabólicos, 9,1% em respostas a estresses, 8,4% correspondem a

Tabela 1. Lista dos ESTs induzidos na interação tomateiro-PepYMV, a 72 horas após a inoculação.

| Anotação | No. de acesso no GenBank | Valor e |
|--|--------------------------|----------|
| Proteína P23 (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA40472 | 3,00E-55 |
| PAB1; endopeptidase/ peptidase | NP_001031057 | 3,00E-55 |
| Precursor de serina carboxipeptidase 1 | AAN15500 | 5,00E-55 |
| Possível fator de transcrição da família LysR | AAL19557 | 1,00E-54 |
| Possível guanililtransferase de capeamento de mRNA (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC009326 | 1,00E-54 |
| Proteína de resposta a estresses múltiplos | XP_483230 | 1,00E-54 |
| Proteína de ligação a auxina (<i>Gossypium hirsutum</i>) | AAO92740 | 3,00E-53 |
| Proteína PR4b | BAD11073 | 4,00E-52 |
| Proteína induzida por estresse (<i>Glycine max</i>) | X60044 | 1,00E-51 |
| Poliubiquitina 6 - (<i>Petroselinum crispum</i>) | S30151 | 5,00E-51 |
| Cisteína proteinase semelhante a NTCP23 | AAK07729 | 6,00E-50 |
| Proteína desconhecida (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_189308 | 2,00E-49 |
| UB2 (enzima de ativação de ubiquitina 2) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08968 | 1,00E-48 |
| Possível calnexina papilar específica | AAK84429 | 1,00E-48 |
| Possível proteína associada a senescência | AAL79714 | 1,00E-48 |
| Protease Clp dependente de ATP (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB09167 | 9,00E-46 |
| Possível fator de transcrição SF3 | 7489184 | 4,00E-45 |
| Fator de remodelamento da cromatina CHD3 (<i>Oryza sativa</i>) | AAL47203 | 6,00E-45 |
| Serina/treonina cinase SNFL1 | ABA91407 | 2,00E-43 |
| SNARE 12 (<i>Oryza sativa</i>) | AAU94636 | 2,00E-43 |
| Poliubiquitina (<i>Oryza sativa</i>) | AAX40652 | 3,00E-43 |
| Possível transportina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_127248 | 6,00E-42 |
| Subunidade α tipo 2 do proteossomo (<i>Oryza sativa</i>) | CA753798 | 1,00E-41 |
| Cisteína proteinase Mir2 (<i>Zea mays</i>) | AAB88262 | 5,00E-39 |
| Proteína de ligação a calmodulina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_201209 | 3,00E-37 |
| Proteína <i>one-helix</i> de resposta a estresses | BAD52885 | 6,00E-37 |
| Porina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08784 | 1,00E-36 |
| Possível regulador gênico SCARECROW (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08619 | 2,00E-36 |
| Possível serina protease | CAD29822 | 7,00E-36 |
| Proteína CAST de ligação a cálcio (<i>Solanum tuberosum</i>) | Q09011 | 1,00E-34 |
| Semelhante a ciclina C (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB10697 | 5,00E-34 |
| Fen cinase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF76314 | 5,00E-33 |
| Possível serina/treonina fosfatase tipo um (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_187209 | 1,00E-32 |
| Fator de splicing Prp8 | AAZ32862 | 6,00E-32 |
| Fator de transcrição "MADS-box" FBP28 (<i>Petunia x hybrida</i>) | AAK21257 | 1,00E-30 |
| Proteína <i>homeobox</i> 1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAD09582 | 5,00E-30 |
| Fator de transcrição WRKY 22 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF442392 | 5,00E-26 |
| HSP90 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AY368907 | 9,00E-25 |
| Proteína DnaJ (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF28382 | 8,00E-20 |
| UBQ12 (Ubiquitina 12) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564675 | 1,00E-18 |
| Pre-pro-cisteína protease (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA88629 | 1,00E-17 |
| Pto cinase (<i>Lycopersicon pimpinelli</i>) | AAF76306 | 5,00E-17 |
| Catalase 2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAD41256 | 4,00E-16 |
| PR5 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AY257487 | 6,00E-16 |
| Alfa-desoxigenase induzida por patógenos (<i>Nicotiana attenuata</i>) | AAG59584 | 2,00E-15 |
| Calnexina (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD99512 | 4,00E-15 |
| HSP 70 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | P24629 | 3,00E-10 |
| MTSHP (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAA32547 | 3,00E-10 |
| Endoribonuclease (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_188674 | 1,00E-09 |

Tabela 2. Lista dos ESTs reprimidos na interação tomateiro-PepYMV, a 72 horas após a inoculação.

| Anotação | No. de acesso no GenBank | Valor e |
|---|--------------------------|----------|
| Proteína de resistência BS2 (<i>Capsicum chacoense</i>) | BM173590 | 6,00E-53 |
| Proteína relacionada a patogênese PR 3 | DW359656 | 2,00E-40 |
| Proteína com domínio SET (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AJ294474 | 2,00E-37 |
| Tioredoxina 1 | AAH94308 | 3,00E-33 |
| Ciclina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | Z36397 | 2,00E-32 |
| Partícula regulatória do proteossomo 26S (<i>Oryza sativa</i>) | AB070259 | 6,00E-30 |
| Piruvato/2-oxiglutarato desidrogenase | AJ223204 | 6,00E-29 |
| Possível esterase (<i>Oryza sativa</i>) | NM_197003 | 6,00E-29 |
| Proteína transportadora (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_114644 | 6,00E-29 |
| Pectinesterase 1, precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB01985 | 8,00E-29 |
| Inibidor de cisteína protease | NM_129651 | 1,00E-28 |
| Homólogo a receptor S (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP200898 | 2,00E-25 |
| Proteína hipotética (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD95796 | 2,00E-21 |
| Carbonil redutase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BM367494 | 5,00E-21 |
| Hidrolase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_196856 | 2,00E-20 |
| Aldolase cloroplastídica | AAV74407 | 3,00E-18 |
| Proteína hipotética (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT024548 | 4,00E-18 |
| ZW10 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_128850 | 2,00E-17 |
| Fitoeno desidrogenase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB023033 | 9,00E-17 |
| Proteinase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB04405 | 9,00E-17 |
| Proteína Mlo (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_201398 | 9,00E-17 |
| Proteína NIFS (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF419347 | 1,00E-16 |
| Semelhante a proteína a Gip1 (<i>Petunia x hybrida</i>) | CAD10105 | 2,00E-16 |
| Citocromo oxidase subunidade III | DT003457 | 3,00E-16 |
| Proteína desconhecida (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF40539 | 3,00E-16 |
| Similar a NAM (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM125774 | 5,00E-16 |
| J1P (<i>Daucus carota</i>) | AF308737 | 2,00E-15 |
| Similar a oxidases (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | DT042888 | 2,00E-15 |
| Possível fitoquelatina sintetase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NC_003076 | 2,00E-15 |
| Proteína desconhecida (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT024841 | 6,00E-15 |
| Fator de transcrição bZIP (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AY045572 | 6,00E-15 |
| Proteína RPS6 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB057424 | 6,00E-15 |
| Proteína envolvida em morte celular programada | AY01317 | 8,00E-15 |
| 2-oxoglutarato desidrogenase, subunidade E3 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AJ223804 | 2,00E-14 |
| Transportador de açúcares (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAD20917 | 2,00E-14 |
| Fator de despolimerização da actina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BU721836 | 2,00E-14 |
| Proteína de ligação a DNA E4/E8BP-1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CO723926 | 2,00E-14 |
| Análogo ao gene de resistência Ve (<i>Solanum tuberosum</i>) | AF467245 | 2,00E-14 |
| Profilina (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AJ447553 | 3,00E-14 |
| Pectate liase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_101064 | 3,00E-14 |
| Proteína de resposta a hipersensibilidade (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY086631 | 4,00E-14 |
| Fructose-1, 6-bisfosfato plastídica | AY234786 | 1,00E-13 |
| Manganês superóxido dismutase | NM111929 | 2,00E-12 |
| Pectinaesterase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL49785 | 4,00E-10 |
| Fator de transcrição ZFP38 (<i>Oryza sativa</i>) | AY377427 | 5,00E-10 |
| Extensina da classe I (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CK574987 | 1,00E-09 |
| Homólogo a proteína de resistência (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_195388 | 8,00E-05 |
| Proteína PINHEAD (ZWILLE) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF174272 | 5,00E-04 |

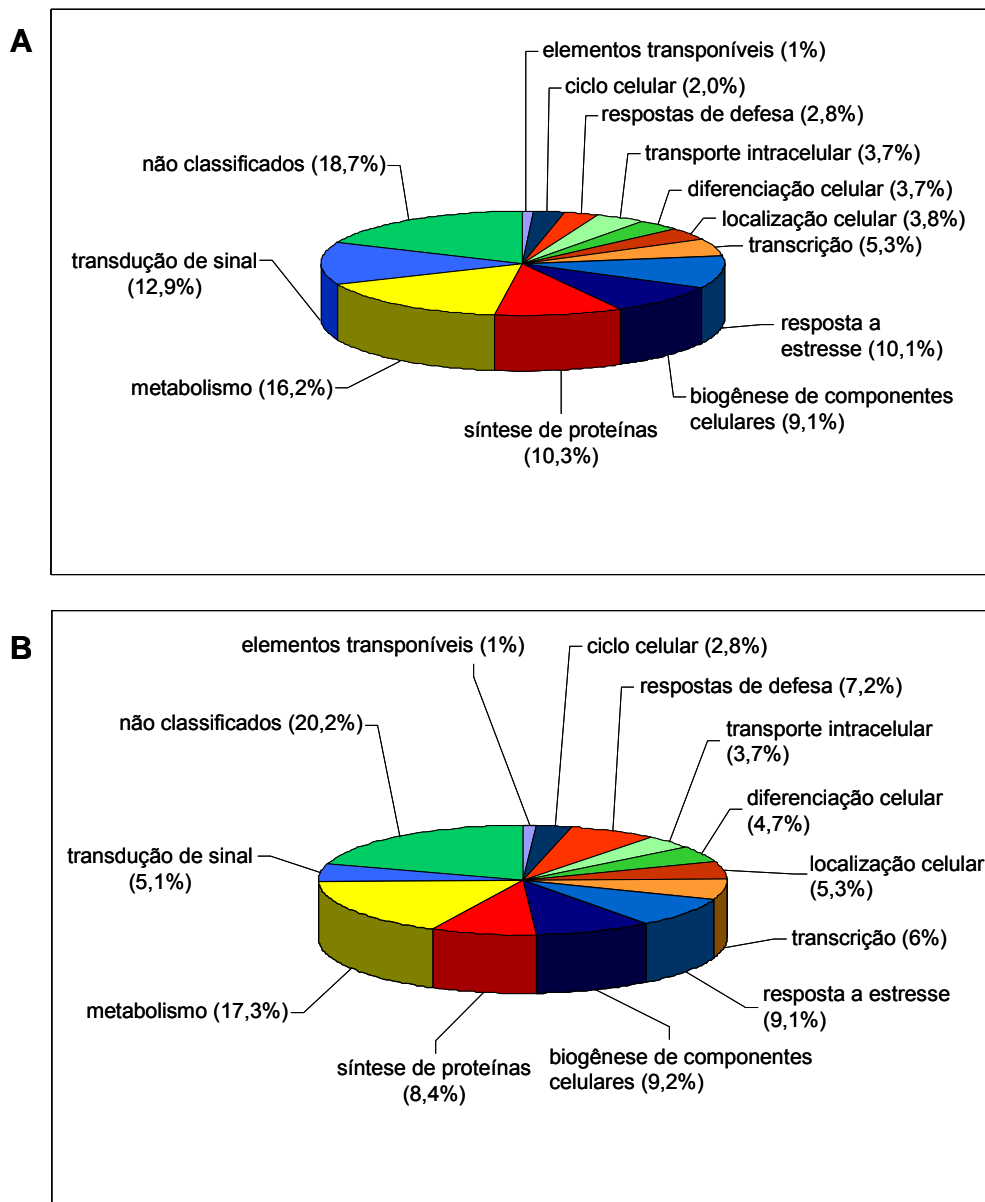


Figura 5. Classificação dos ESTs sequenciados a partir das bibliotecas subtrativas.

A. ESTs com expressão induzida. **B.** ESTs com expressão reprimida.

genes envolvidos na síntese de proteínas, 7,2% foram classificados como envolvidos em resposta de defesa, e 1% correspondem a elementos transponíveis (Figura 5B).

A análise das duas coleções em conjunto sugere um padrão de interação extremamente complexo onde o vírus e o hospedeiro, os quais regulam, cada um a seu favor, diferentes pontos de um mesmo processo celular.

3. Validação da expressão diferencial

DNA plasmidial de 480 clones da coleção dos ESTs induzidos e 288 clones da coleção de ESTs reprimidos foram transferidos para membranas de náilon e submetidos à análise de expressão diferencial por macroarranjos (Figura 6). Um total de 42 genes tiveram a expressão diferencial confirmada (Tabela 3). Os clones que não tiveram a expressão diferencial confirmada podem corresponder a transcritos diferencialmente expressos que acumulam em uma taxa menor que os demais também diferencialmente expressos, e sendo assim a quantidade de sonda e/ou o tempo de exposição não foi suficiente para detectá-los.

4. Cinética da expressão de alguns genes diferencialmente expressos por qRT-PCR

Foram selecionados cinco genes para estudos de cinética da expressão. Quatro foram selecionados a partir da coleção de ESTs induzidos: (i) endopeptidase, (ii) cisteína protease, (iii) ubiquitina e (iv) poliubiquitina. O quinto gene, um inibidor de proteases, foi selecionado a partir da coleção de ESTs reprimidos. Os potyvírus expressam suas proteínas por meio de processamento (autoproteólise) de uma poliproteína, portanto estes genes foram selecionados com base na hipótese de que possam ser fatores do hospedeiro que auxiliam no processo de autoproteólise ou no destino das proteínas virais produzidas em excesso.

Para determinar o melhor normalizador para os tratamentos foram testados cinco genes com expressão teoricamente constitutiva e que não devem ser afetados pela infecção viral: actina 2 (ACT), β -6-tubulina (TUB6), fator de alongação 1 α (EF1), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (G3PDH) e adenosil-fosforibosil transferase 1 (APT1) (Lau, 2005). O gene APT1 apresentou a menor variação de expressão entre todos os tratamentos (Figura 7), e portanto foi utilizado como normalizador em todos os experimentos subsequentes.

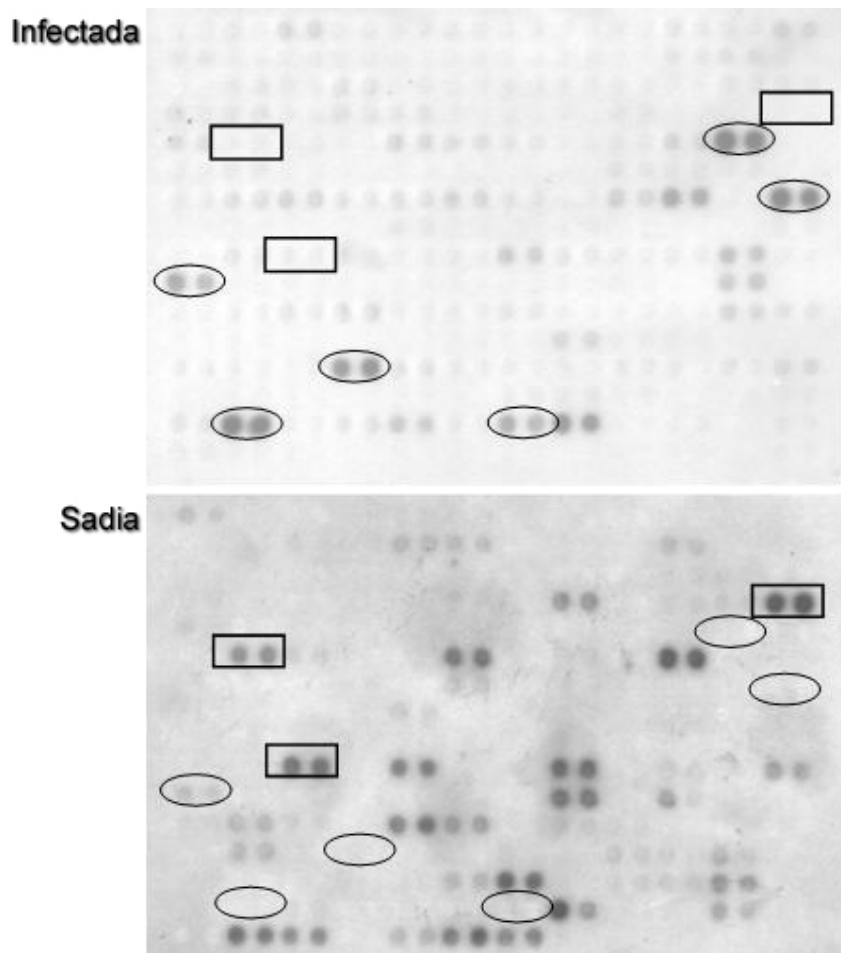


Figura 6. Análise de macroarranjos a partir de DNA plasmidial dos clones da biblioteca subtrativa. As membranas foram hibridizadas com sonda preparada a partir de plantas saudias ou infectadas, 72 horas após a inoculação, conforme indicado. Os genes induzidos são indicados por círculos e os reprimidos por retângulos.

Tabela 3. Genes que tiveram a expressão diferencial validada por macroarranjos.

| Anotação | No. de acesso no GenBank | Valor e | Induzido/reprimido |
|--|--------------------------|----------|--------------------|
| Chaperonina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_568670 | 4.00E-47 | induzido |
| Calnexina (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD99512 | 4.00E-15 | induzido |
| Catalase 2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAD41256 | 4.00E-16 | induzido |
| Proteína E1 de ligação a celulose | BAB86305 | 3.00E-50 | induzido |
| Cisteína proteinase semelhante a NTCP23 | AAK07729 | 6.00E-50 | induzido |
| Citocromo oxidase subunidade III | DT003457 | 3.00E-16 | reprimido |
| CPase I B (<i>Hordeum vulgare</i>) | 1314177B | 6.00E-09 | induzido |
| Endoribonuclease (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_188674 | 1.00E-09 | induzido |
| Fator de transcrição WRKY 22 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF442392 | 5.00E-26 | induzido |
| HSP90 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AY368907 | 9.00E-25 | induzido |
| Inibidor de cisteína protease | NM_129651 | 1.00E-28 | reprimido |
| PR STH-2. (<i>Solanum tuberosum</i>) | P17642 | 1.00E-08 | induzido |
| Pectinaesterase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL49785 | 4.00E-10 | reprimido |
| Fitoeno desidrogenase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB023033 | 9.00E-17 | reprimido |
| Piruvato/2-oxiglutarato desidrogenase | AJ223204 | 6.00E-29 | reprimido |
| PKL (PICKLE) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_565587 | 3.00E-50 | induzido |
| Poliubiquitina (<i>Oryza sativa</i>) | AAX40652 | 3.00E-43 | induzido |
| Porina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08784 | 1.00E-36 | induzido |
| Possível fator de transcrição SF3 | 7489184 | 4.00E-45 | induzido |
| Possível regulador da expressão gênica SCARECROW (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08619 | 2.00E-36 | induzido |
| Protease Ctp dependente de ATP (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB09167 | 9.00E-46 | induzido |
| Proteína CAST de ligação a cálcio (<i>Solanum tuberosum</i>) | Q09011 | 1.00E-34 | induzido |
| Proteína de ligação a calmodulina (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_201209 | 3.00E-37 | induzido |
| Proteína de resistência BS2 (<i>Capsicum chacoense</i>) | BM173590 | 6.00E-53 | reprimido |
| Proteína de resposta a hipersensibilidade (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY086631 | 4.00E-14 | reprimido |
| Proteína DnaJ (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF28382 | 8.00E-20 | induzido |
| Proteína envolvida em morte celular programada | AY01317 | 8.00E-15 | reprimido |
| Proteína hipotética (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD95796 | 2.00E-21 | reprimido |
| Proteína induzida por estresse (<i>Glycine max</i>) | X60044 | 1.00E-51 | induzido |
| Proteína <i>one-helix</i> de resposta a estresses | BAD52885 | 6.00E-37 | induzido |
| Proteína PINHEAD (ZWILLE) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF174272 | 5.00E-04 | reprimido |
| Proteína RPS6 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB057424 | 6.00E-15 | reprimido |
| Proteinase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB04405 | 9.00E-17 | reprimido |
| Provável guanililtransferase de capeamento de mRNA (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC009326 | 1.00E-54 | induzido |
| Possível proteína associada a senescência | AAL79714 | 1.00E-48 | induzido |
| Possível serina/treonina fosfatase tipo um (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_187209 | 1.00E-32 | induzido |
| Fator 4 de alcalinização | AAR00328.1 | 1.00E-60 | induzido |
| RNA metiltransferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_194904 | 9.00E-61 | induzido |
| Tioredoxina 1 | AAH94308 | 3.00E-33 | reprimido |
| Inibidor traducional p14.5 | AF375446 | 2.00E-16 | induzido |
| UB2 (ubiquitin activating enzyme 2) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08968 | 1.00E-48 | induzido |
| Proteína desconhecida (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF75750 | 2.00E-16 | induzido |
| Cinase associada a parede celular (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_101479 | 3.00E-09 | induzido |

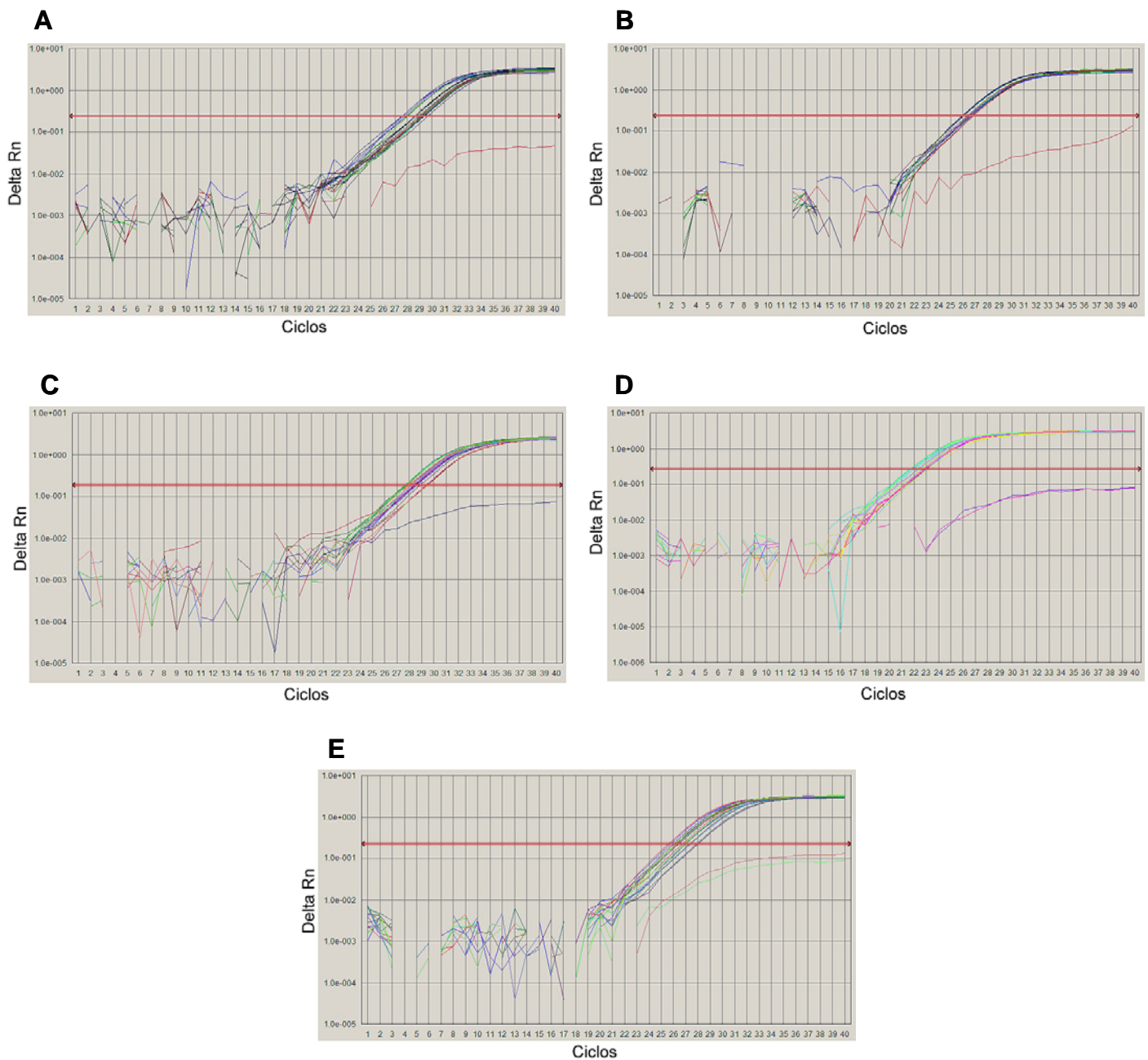


Figura 7. Análise por q-RT-PCR da cinética de expressão dos genes candidatos a normalizadores. **A.** Actina 2. **B.** Adenosil-fosforibosil transferase 1. **C.** β -6-Tubulina. **D.** Fator de alongação 1 α . **E.** Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase. Em cada gráfico, cada curva corresponde ao acúmulo do amplicon em cada tratamento (planta infectada e planta sadia, a 0, 24, 48, 72 e 96 hai). As linhas horizontais correspondem ao valor de Delta Rn (fluorescência observada em relação à fluorescência basal) utilizado para o cálculo do Δ CT.

Para os genes correspondentes a ubiquitina, poliubiquitina e inibidor de protease, não foi possível obter um único amplicon nos ensaios preliminares de RT-PCR (dados não mostrados). Assim, esses três genes não puderam ser submetidos à análise de qRT-PCR. Para os genes correspondentes a cisteína protease e endopeptidase, a indução do transcrito foi observada inicialmente a 72 hai, mantendo-se até 96 hai (Figura 8). Esses resultados indicam que a indução destes genes provavelmente se inicia entre 48 e 72 hai, mantendo-se pelo menos até 96 hai (o último tempo analisado).

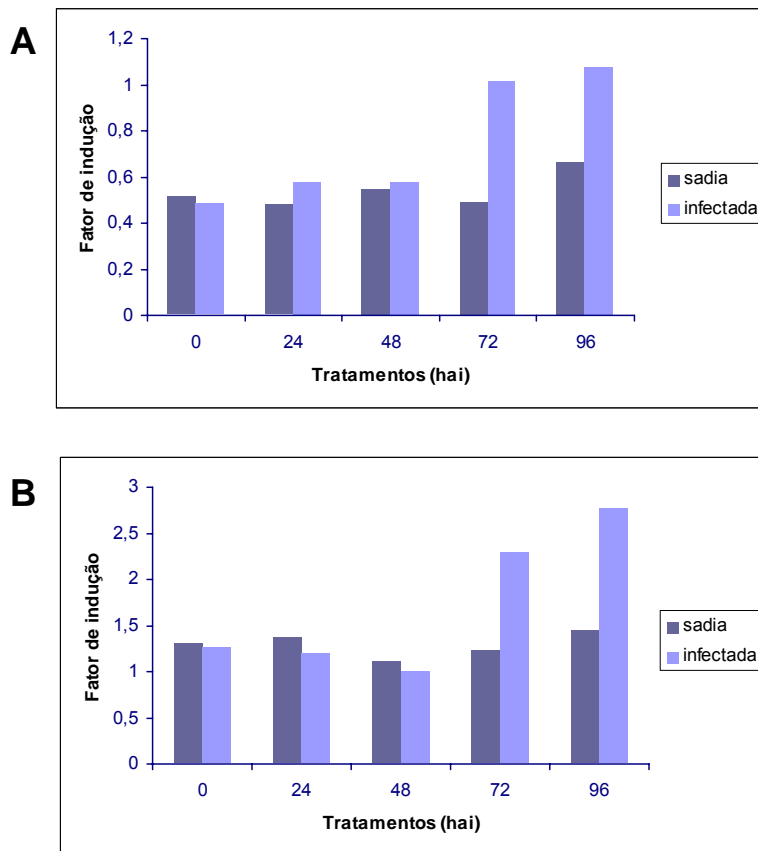


Figura 8. Análise da cinética de expressão por q-RT-PCR de dois genes presentes na biblioteca subtrativa. **A.** Gene com homologia a cisteína protease. **B.** Gene com homologia a endopeptidase. O fator de indução (correspondente ao incremento no nível de expressão) foi calculado com base no $\Delta\Delta CT$: $\Delta\Delta CT = (\Delta CT_{tratamento}) - (\Delta CT_{controle})$, $\Delta CT_{tratamento} = (\text{média } CT_{\text{gene alvo}}) - (\text{média } CT_{\text{normalizador}})$, e $\Delta CT_{controle} = \text{média } CT_{\text{gene alvo}}$ no tratamento 0 hai.

DISCUSSÃO

Neste trabalho foi realizada uma análise global do padrão de expressão gênica de plantas de tomateiro infectadas pelo potyvírus PepYMV. Um total de 881 genes foram identificados como potencialmente envolvidos na interação. Quarenta e dois desses genes tiveram a expressão diferencial confirmada por macroarranjos, e dois (cisteína protease e uma endopeptidase) por PCR quantitativo. Os resultados do PCR quantitativo indicaram que a indução da expressão dos dois genes testados ocorre entre 48 e 72 horas após a inoculação. A análise de um número maior de genes será necessária para determinar se o primeiro ponto da infecção com uma ampla alteração no padrão de expressão gênica ocorre de fato entre 48 e 72 horas após o estímulo inicial. Em conjunto, os resultados demonstram a existência de uma interação complexa entre o vírus e o hospedeiro, pois diversos pontos das mesmas vias metabólicas celulares foram induzidos ou reprimidos durante a infecção.

Um estudo comparativo dos genes identificados neste trabalho com genes identificados em outros patossistemas vírus-planta mostra que diversos genes semelhantes (ou mesmo idênticos) são identificados nas diferentes interações. Entretanto, o requerimento de um determinado fator do hospedeiro pode ocorrer de forma diferenciada entre vírus distintos. Assim, diferentes interações podem alterar o padrão da expressão gênica de genes comuns, porém em cada patossistema essas alterações podem ter efeito diferenciado, levando a uma maior ou menor adaptação do vírus ao hospedeiro.

Neste trabalho foram detectados vários genes que codificam proteínas de resposta a choque térmico (*heat shock proteins*, HSPs). A indução na expressão de genes que codificam HSPs também foi verificada em diversas outras interações

vírus-planta (Escaler *et al.*, 2000, Senthil *et al.*, 2005, Smith *et al.*, 2004, Whitham *et al.*, 2003). Além disso, a ativação de proteínas que respondem a choque térmico foi demonstrada ser essencial para a replicação eficiente de adenovírus em células LMH (Glotzer *et al.*, 2000). Entretanto, o papel das HSPs em patossistemas vegetais ainda não está totalmente elucidado. A indução destas proteínas pode ser uma reação do hospedeiro à síntese de proteínas exógenas ou, alternativamente, como as proteínas de resposta a choque térmico podem atuar como chaperones moleculares, facilitando o dobramento de outras proteínas, é possível que os vírus utilizem essa via para garantir o dobramento ideal de suas proteínas. O fato de alguns vírus de plantas codificarem proteínas homólogas a HSPs (Dolja *et al.*, 1994), e dessas proteínas estarem envolvidas na montagem da partícula viral e no movimento do vírus na planta (Agranovsky *et al.*, 1998, Alzhanova *et al.*, 2001, Prokhnevsky *et al.*, 2002) sugere que as HSPs podem ser necessárias para que esses processos ocorram de forma eficiente. É relevante notar que os potyvírus não possuem uma proteína de movimento “clássica” como o TMV, por exemplo, e portanto podem utilizar proteínas do hospedeiro para completar essa etapa fundamental do ciclo de infecção.

Na coleção dos genes reprimidos, uma grande quantidade de ESTs foram classificados como envolvidos em resposta de defesa, sugerindo que o vírus inibe diversos pontos das diferentes vias de defesa da planta. Alguns dos genes agrupados nesta categoria codificam análogos de genes de resistência previamente identificados em tomateiro, como por exemplo um análogo do gene de resistência *Ve*, que participa da via de transdução de sinal de resistência ao fungo *Verticillium dahliae* (Kawchuk *et al.*, 2001), um gene com similaridade ao complexo I2C-3 envolvido na resistência a *Fusarium oxysporum* (Ori *et al.*, 1997), e um gene que codifica a proteína BS2, que confere resistência a *Xantomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Tai *et al.*, 1999). É possível que estes genes controlem pontos regulatórios em comum que podem levar a respostas gerais de defesa, e por esse motivo são inibidos pelo vírus. Uma comparação da porcentagem de ESTs classificados como envolvidos em resposta de defesa na coleção de ESTs induzidos (2,8%) com a de reprimidos (7,2%), sugere que o vírus é mais eficiente em inibir as respostas de defesa do hospedeiro do que o hospedeiro em ativá-las.

Nos últimos anos tem sido demonstrada a interação de proteínas de movimento viral com diversas proteínas celulares como cinases (Yoshioka *et al.*, 2004), proteínas com homeodomínios (Desvoyes *et al.*, 2002) e proteínas

semelhantes a DNA-J (Von Bargen *et al.*, 2001). Na coleção de ESTs induzidos foram encontrados ESTs com similaridade a todos estes genes, sugerindo um possível envolvimento destes no movimento viral e no consequente estabelecimento da infecção sistêmica na planta. Recentemente foi demonstrado que níveis elevados de calreticulina na célula interferem com o movimento viral, bloqueando o direcionamento da proteína de movimento do TMV para os plasmodesmas (Chen *et al.*, 2005). É possível que o aumento na expressão de genes que codificam calreticulinas seja uma tentativa de resposta do hospedeiro em limitar o movimento viral.

Entre os diversos genes induzidos, aqueles que codificam proteínas envolvidas na via ubiquitina/proteossomo merecem atenção especial. Em plantas, a degradação de proteínas regulada pelo complexo ubiquitina/ proteossomo 26S controla diversos processos celulares, como embriogênese, sinalização hormonal, senescência e respostas de defesa (Smalle & Vierstra, 2004). Considerando o grande acúmulo de proteínas virais observado em células infectadas por potyvírus, é razoável supor que essa via pode ser utilizada pela planta como um mecanismo de defesa contra a infecção viral. Substratos que são destinados para o proteossomo são covalentemente modificados pela adição de uma cadeia de ubiquitina ligada por um resíduo de lisina, em um processo dependente de ATP. Proteínas contendo cadeias de ubiquitina ligadas pelo resíduo de lisina 48 são direcionadas para a rota de degradação de proteínas via proteossomo 26S (Elsasser & Finley, 2005).

A primeira evidência da importância da via ubiquitina/proteossomo 26S na resposta de defesa a patógenos foi a descoberta de que plantas de tabaco transgênicas suscetíveis a TMV, expressando uma variante de ubiquitina contendo uma arginina na posição 48 (ubR48) no lugar de lisina, e dessa forma incapaz de formar cadeias de poliubiquitina e de ser direcionada para o proteossomo, apresentavam lesões necróticas semelhantes a reação de hipersensibilidade e a replicação viral nestas plantas era diminuída (Becker *et al.*, 1993). O envolvimento da via ubiquitina/proteossomo em respostas de defesa de plantas contra patógenos foi demonstrado de forma definitiva por meio da identificação de elementos chaves nas respostas de defesa que fazem parte da via de ubiquitinação. Dois componentes da via de ubiquitinação essenciais para a resistência ao TMV mediada pelo gene *N* foram identificados em tabaco. A supressão de SGT1, um componente do complexo E3 de ubiquitina ligase, e do sinalossomo COP9, um complexo multiprotéico envolvido na degradação de proteínas via proteossomo 26S, comprometem a

resistência mediada pelo gene *N*, indicando uma ligação entre resistência e a via de ubiquitinação (Azevedo *et al.*, 2002, Liu *et al.*, 2002).

Em patossistemas animais, o envolvimento da via ubiquitina/ proteossomo na infecção viral encontra-se plenamente estabelecido. Por exemplo, em células HeLa infectadas pelo HIV a inibição do proteossomo interfere com o processamento da poliproteína Gag, com a maturação do virions e diminui a infectividade dos vírions secretados (Schubert *et al.*, 2000). Foi demonstrado também que a RNA polimerase do vírus da hepatite C (HCV) é ubiquitinada e degradada via proteossomo, mantendo constante o nível de replicase e RNA viral na célula e sugerindo que a ubiquitinação possui um papel importante na regulação da replicação do HCV (Gao *et al.*, 2003).

A indução de genes que codificam proteínas envolvidas na via envolvidos na via ubiquitina/proteossomo 26S também foi identificada em outros patossistemas, como ervilha - *Pea seed borne mosaic virus* (PSbMV) (Aranda *et al.*, 1996), *Arabidopsis* - TMV (Schenk *et al.*, 2003), tomateiro - PSTVd (Itaya *et al.*, 2001), *Saccharomyces cerevisiae* - *Brome mosaic virus* (BMV) (Kushner *et al.*, 2003) e *Nicotiana benthamiana* - *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) (Senthil *et al.*, 2005). Além disso, recentemente foi demonstrada a interação direta entre o proteossomo e a proteína HC-Pro do potyvírus *Lettuce mosaic virus* (LMV) (Ballut *et al.*, 2005), sugerindo que esta via que possui um importante papel no processo de infecção viral. Os potyvírus replicam associados à membrana do retículo, e após síntese de uma fita o complexo fica inativo. É provável que os potyvírus estejam utilizando a via de degradação de proteínas do hospedeiro para remover complexos de replicação inativos da membrana para a montagem de novos complexos funcionais. A detecção representativa (3,8%) de genes envolvidos em biossíntese de membranas suportam esta idéia. Desta forma é possível especular que talvez os potyvírus usurpem o sistema de defesa via ubiquitina/proteossomo que é induzido pela planta em resposta ao vírus para otimizar o processo de infecção.

Outros genes interessantes identificados como envolvidos na interação são os que codificam proteases e inibidores de proteases. Os potyvírus expressam suas proteínas por meio do processamento de uma poliproteína codificada pelo genoma viral. Desta forma é razoável supor que proteases da planta possam ser recrutadas para auxiliar no processo, e que a planta utiliza inibidores de proteases em uma tentativa de combater a infecção viral. Entretanto, a infecção viral neutraliza esta

tentativa de defesa reprimindo a expressão dos genes que codificam os inibidores de protease.

Genes possivelmente envolvidos na resposta de defesa via silenciamento gênico também foram identificados. Na coleção de ESTs reprimidos foram identificados ESTs que apresentaram similaridade com genes que codificam proteínas com domínios de ligação a RNA fita dupla e domínios PAZ/PIWI (domínios funcionais conservados em proteínas envolvidas em silenciamento gênico). Além disso foi detectado um EST induzido que possui similaridade com calmodulina. Os potyvírus suprimem o silenciamento gênico por meio da interação da HC-Pro com rgs-Cam, uma calmodulina (Anandalakshmi *et al.*, 2000).

A capacidade das plantas em montar uma resposta de defesa eficiente depende da capacidade do hospedeiro em reconhecer o patógeno e iniciar um mecanismo de defesa que limite a infecção. Portanto, o conhecimento básico dos mecanismos genéticos, bioquímicos e moleculares que estão envolvidos na interação vírus hospedeiro torna-se extremamente relevante, pois pode permitir o desenvolvimento de estratégias mais eficientes de controle.

A técnica de hibridização subtrativa se mostrou uma metodologia eficiente para identificar genes diferencialmente expressos em uma interação vírus-planta. A análise dos genes identificados permitiu a formulação de várias hipóteses em relação ao processo de infecção viral e também sobre os mecanismos de defesa utilizados por uma planta suscetível. Estudos de análise funcional serão necessários para confirmar essas hipóteses e definir de forma mais específica o papel dos genes aqui identificados na interação vírus-hospedeiro.

LITERATURA CITADA

- ADAMS, M.J.; ANTONIW, J.F.; FAUQUET, C.M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. *Archives of Virology*, v. 150, p. 459-479, 2005.
- AGRANOVSKY, A.A.; FOLIMONOV, A.S.; FOLIMONOVA, S.Y.; MOROZOV, S.Y.; SCHIEMANN, J.; LESEMANN, D.; ATABEKOV, J.G. Beet yellows closterovirus HSP70-like protein mediates the cell-to-cell movement of a potexvirus transport-deficient mutant and a hordeivirus-based chimeric virus. *Journal of General Virology*, v. 79, p. 889-895, 1998.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, v. 215, p. 403-410, 1990.
- ALZHANOVA, D.V.; NAPULI, A.J.; CREAMER, R.; DOLJA, V.V. Cell-to-cell movement and assembly of a plant closterovirus: Roles for the capsid proteins and Hsp70 homolog. *EMBO Journal*, v. 20, p. 6997-7007, 2001.
- ANANDALAKSHMI, R.; MARATHE, R.; GE, X.; HERR JR., J.M.; MAU, C.; MALLORY, A.; PRUSS, G.; BOWMAN, L.; VANCE, V.B. A calmodulin-related protein that suppresses posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, v. 290, p. 142-144, 2000.
- ANANDALAKSHMI, R.; PRUSS, G.J.; GE, X.; MARATHE, R.; MALLORY, A.C.; SMITH, T.H.; VANCE, V.B. A viral supressor of gene silencing in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 95, p. 13079-13084, 1998.
- ARANDA, M.A.; ESCALER, M.; WANG, D.; MAULE, A.J. Induction of HSP70 and polyubiquitin expression associated with plant virus replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 93, p. 15289-15293, 1996.
- ATREYA, P.L.; LOPEZ-MOYA, J.J.; CHU, M.H.; ATREYA, C.D.; PIRONE, T.P. Mutational analysis of the coat protein N-terminal amino acids involved in potyvirus transmission by aphids. *Journal of General Virology*, v. 76, p. 265-270, 1995.
- AZEVEDO, C.; SADANANDOM, A.; KITAGAWA, K.; FREIALDENHOVEN, A.; SHIRASU, K.; SCHULZE-LEFERT, P. The RAR1 interactor SGT1, an essential

- component of R gene-triggered disease resistance. *Science*, v. 295, p. 2073-2076, 2002.
- BAKER, B.; ZAMBRYSKI, P.; STASKAWICZ, B.; DINESHKUMAR, S.P. Signaling in plant-microbe interactions. *Science*, v. 276, p. 726-733, 1997.
- BALLUT, L.; DRUCKER, M.; PUGNIERE, M.; CAMBON, F.; BLANC, S.; ROQUET, F.; CANDRESSE, T.; SCHMID, H.P.; NICOLAS, P.; GALL, O.L.; BADAOU, S. HcPro, a multifunctional protein encoded by a plant RNA virus, targets the 20S proteasome and affects its enzymic activities. *Journal of General Virology*, v. 86, p. 2595-2603, 2005.
- BASSO, J.; DALLAIRE, P.; CHAREST, P.J.; DEVANTIER, Y.; LALIBERTE, J.F. Evidence for an internal ribosome entry site within the 5' non-translated region of turnip mosaic potyvirus RNA. *Journal of General Virology*, v. 75, p. 3157-3165, 1994.
- BAULCOMBE, D. RNA silencing in plants. *Nature*, v. 431, p. 356-363, 2004.
- BECKER, F.; BUSCHFELD, E.; SCHELL, J.; BACHMAIR, A. Altered response to viral infection by tobacco plants perturbed in the ubiquitin system. *Plant Journal*, v. 3, p. 875-881, 1993.
- BEDARD, K.M.; SEMLER, B.L. Regulation of picornavirus gene expression. *Microbes Infect*, v. 6, p. 702-713, 2004.
- BERGER, P.H.; ADAMS, M.J.; BARNETT, O.W.; BRUNT, A.A.; HAMMOND, J.; HILL, J.H.; JORDAN, R.L.; KASHIWAZAKI, S.; RYBICKI, E.P.; SPENCE, N.; STENGER, D.C.; OHKI, S.T.; UYEDA, I.; VAN ZAAYEN, A.; VALKONEN, J.P.; VETTEN, H.J. Family *Potyviridae*. pp.819-841 In: FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Eds.) *Virus Taxonomy*. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier Academic Press. 2005.
- CALLAWAY, A.; GIESMAN-COOKMEYER, D.; GILLOCK, E.T.; SIT, T.L.; LOMMEL, S.A. The multifunctional capsid proteins of plant RNA viruses. *Annual Review of Phytopathology*, v. 39, p. 419-435, 2001.
- CHEN, C.; CHEN, Z. Isolation and characterization of two pathogen- and salicylic acid-induced genes encoding WRKY DNA-binding proteins from tobacco. *Plant Molecular Biology*, v. 42, p. 387-396, 2000.
- CHEN, M.H.; TIAN, G.W.; GAFNI, Y.; CITOVSKY, V. Effects of calreticulin on viral cell-to-cell movement. *Plant Physiology*, v. 138, p. 1866-1876, 2005.
- CLARK, M.F.; ADAMS, A.N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, v. 34, p. 475-483, 1977.
- COLLMER, C.W.; MARSTON, M.F.; TAYLOR, J.C.; JAHN, M. The *I* gene of bean: A dosage-dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitive resistance, or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus *Bean common mosaic virus*. *Phytopathology*, v. 13, p. 1266-1270, 2000.
- COOPER, B. Collateral gene expression changes induced by distinct plant viruses during the hypersensitive resistance reaction in *Chenopodium amaranticolor*. *Plant Journal*, v. 26, p. 339-349, 2001.
- DESVOYES, B.; FAURE-RABASSE, S.; CHEN, M.H.; PARK, J.W.; SCHOLTHOF, H.B. A novel plant homeodomain protein interacts in a functionally relevant

- manner with a virus movement protein. *Plant Physiology*, v. 129, p. 1521-1532, 2002.
- DIATCHENKO, L.; LAU, Y.-F.C.; CAMPBELL, A.P.; CHENCHIK, A.; MOQADAM, F.; HUANG, B.; LUKYANOV, S.; LUKYANOV, K.; GURSKAYA, N.; SVERDLOV, E.D.; SIEBERT, P.D. Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 93, p. 6025-6030, 1996.
- DOLJA, V.V.; HALDEMAN CAHILL, R.; MONTGOMERY, A.E.; VANDENBOSCH, K.A.; CARRINGTON, J.C. Capsid protein determinants involved in cell-to-cell and long distance movement of tobacco etch potyvirus. *Virology*, v. 206, p. 1007-1016, 1995.
- DOLJA, V.V.; KARASEV, A.V.; KOONIN, E.V. Molecular biology and evolution of Closteroviruses: Sophisticated build-up of large RNA genomes. *Annual Review of Phytopathology*, v. 32, p. 261-285, 1994.
- DOMINGO, E.; HOLLAND, J.J. RNA virus mutations and fitness for survival. *Annual Review of Microbiology*, v. 51, p. 151-178, 1997.
- DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, v. 42, p. 185-209, 2004.
- ELSASSER, S.; FINLEY, D. Delivery of ubiquitinated substrates to protein-unfolding machines. *Nature Cell Biology*, v. 7, p. 742-749, 2005.
- ESCALER, M.; ARANDA, M.A.; THOMAS, C.L.; MAULE, A.J. Pea embryonic tissues show common responses to the replication of a wide range of viruses. *Virology*, v. 267, p. 318-325, 2000.
- FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Eds.) *Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press. 1259p. 2005.
- GALLIE, D.R.; TANGUAY, R.L.; LEATHERS, V. The tobacco etch viral 5' leader and poly(A) tail are functionally synergistic regulators of translation. *Gene*, v. 165, p. 233-238, 1995.
- GAO, L.; TU, H.; SHI, S.T.; LEE, K.-J.; ASANAKA, M.; HWANG, S.B.; LAI, M.M.C. Interaction with a ubiquitin-like protein enhances the ubiquitination and degradation of *Hepatitis C virus* RNA-dependent RNA polymerase. *Journal of Virology*, v. 77, p. 4149-4159, 2003.
- GLOTZER, J.B.; SALTIK, M.; CHIOCCA, S.; MICHOU, A.I.; MOSELEY, P.; COTTEN, M. Activation of heat-shock response by an adenovirus is essential for virus replication. *Nature*, v. 407, p. 207-211, 2000.
- GOLEM, S.; CULVER, J.N. *Tobacco mosaic virus*-induced alterations in the gene expression profile of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 16, p. 681-688, 2003.
- GUTIERREZ, C. Geminiviruses and the plant cell cycle. *Plant Molecular Biology*, v. 43, p. 763-772, 2000.
- HALDEMAN-CAHILL, R.; DAROS, J.A.; CARRINGTON, J.C. Secondary structures in the capsid protein coding sequence and 3' nontranslated region involved in amplification of the tobacco etch virus genome. *Journal of Virology*, v. 72, p. 4072-4079, 1998.

- HULL, R. Matthew's Plant Virology (4^a ed.). Londres, Inglaterra: Academic Press. 1001p. 2002.
- ITAYA, A.; FOLIMONOV, A.; MATSUDA, Y.; NELSON, R.S.; DING, B. Potato spindle tuber viroid as inducer of RNA silencing in infected tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 14, p. 1332-1334, 2001.
- KAWCHUK, L.M.; HACHEY, J.; LYNCH, D.R.; KULCSAR, F.; VAN ROOIJEN, G.; WATERER, D.R.; ROBERTSON, A.; KOKKO, E.; BYERS, R.; HOWARD, R.J.; FISCHER, R.; PRUFER, D. Tomato Ve disease resistance genes encode cell surface-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 98, p. 6511-6515, 2001.
- KRAUSE-SAKATE, R.; REDONDO, E.; RICHARD-FORGET, F.; JADAO, A.S.; HOUVENAGHEL, M.C.; GERMAN-RETANA, S.; PAVAN, M.A.; CANDRESSE, T.; ZERBINI, F.M.; LE GALL, O. Molecular mapping of the viral determinants of systemic wilting induced by a *Lettuce mosaic virus* (LMV) isolate in some lettuce cultivars. *Virus Research*, v. 109, p. 175-180, 2005.
- KUSHNER, D.B.; LINDENBACH, B.D.; GRDZELISHVILI, V.Z.; NOUEIRY, A.O.; PAUL, S.M.; AHLQUIST, P. Systematic, genome-wide identification of host genes affecting replication of a positive-strand RNA virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 100, p. 15764-15769, 2003.
- LAU, E.Y. Identificação e caracterização parcial de genes diferencialmente expressos na interação tomateiro-*Meloidogyne incognita*. Tese DS, Dep. de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 66 p. 2005.
- LIU, Y.; SCHIFF, M.; SERINO, G.; DENG, X.W.; DINESH-KUMAR, S.P. Role of SCF ubiquitin-ligase and the COP9 signalosome in the N gene-mediated resistance response to *Tobacco mosaic virus*. *Plant Cell*, v. 14, p. 1483-1496, 2002.
- LOCKHART, D.J.; DONG, H.; BYRNE, M.C.; FOLLETTIE, M.T.; GALLO, M.V.; CHEE, M.S.; MITTMANN, M.; WANG, C.; KOBAYASHI, M.; HORTON, H.; BROWN, E.L. Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nature Biotechnology*, v. 14, p. 1675-1680, 1996.
- LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. Doenças do tomateiro. Brasília: Embrapa. 67p. 1994.
- MALLORY, A.C.; REINHART, B.J.; BARTEL, D.; VANCE, V.B.; BOWMAN, L.H. A viral suppressor of RNA silencing differentially regulates the accumulation of short interfering RNAs and micro-RNAs in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 99, p. 15228-15233, 2002.
- NADERI, M.; BERGER, P.H. Effects of chloroplast targeted potato virus Y coat protein on transgenic plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 50, p. 67-83, 1997.
- ORI, N.; ESHED, Y.; PARAN, I.; PRESTING, G.; AVIV, D.; TANKSLEY, S.; ZAMIR, D.; FLUHR, R. The I2C family from the wilt disease resistance locus I2 belongs to the nucleotide binding, leucine-rich repeat superfamily of plant resistance genes. *Plant Cell*, v. 9, p. 521-532, 1997.
- PROKHNEVSKY, A.I.; PEREMYSLOV, V.V.; NAPULI, A.J.; DOLJA, V.V. Interaction between long-distance transport factor and Hsp70-related movement protein of Beet yellows virus. *Journal of Virology*, v. 76, p. 11003-11011, 2002.

- ROJAS, M.R.; ZERBINI, F.M.; ALLISON, R.F.; GILBERTSON, R.L.; LUCAS, W.J. Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell movement proteins. *Virology*, v. 237, p. 283-295, 1997.
- ROTH, B.M.; PRUSS, G.J.; VANCE, V.B. Plant viral suppressors of RNA silencing. *Virus Research*, v. 102, p. 97-108, 2004.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. *Molecular Cloning - A Laboratory Manual* (2^a ed.). Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989.
- SCHENA, M.; SHALON, D.; DAVIS, R.W.; BROWN, P.O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, v. 270, p. 467-470, 1995.
- SCHENK, P.M.; KAZAN, K.; MANNERS, J.M.; ANDERSON, J.P.; SIMPSON, R.S.; WILSON, I.W.; SOMERVILLE, S.C.; MACLEAN, D.M. Systemic gene expression in *Arabidopsis* during an incompatible interaction with *Alternaria brassicicola*. *Plant Physiology*, v. 132, p. 999-1010, 2003.
- SCHEUERMANN, K.K.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; ZERBINI, F.M.; MAIA, I.G. Identificação de genes diferencialmente expressos na interação tomateiro-*Alternaria solani*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, p. S182, 2004.
- SCHUBERT, U.; OTT, D.E.; CHERTOVA, E.N.; WELKER, R.; TESSMER, U.; PRINCIOTTA, M.F.; BENNINK, J.R.; KRAUSSLICH, H.G.; YEWDELL, J.W. Proteasome inhibition interferes with gag polyprotein processing, release, and maturation of HIV-1 and HIV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 97, p. 13057-13062, 2000.
- SENTHIL, G.; LIU, H.; PURAM, V.G.; CLARK, A.; STROMBERG, A.; GOODIN, M.M. Specific and common changes in *Nicotiana benthamiana* gene expression in response to infection by enveloped viruses. *Journal of General Virology*, v. 86, p. 2615-2625, 2005.
- SEO, Y.S.; GEPTS, P.; GILBERTSON, R.L. Genetics of resistance to the geminivirus, *Bean dwarf mosaic virus*, and the role of the hypersensitive response in common bean. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 108, p. 786-793, 2004.
- SHUKLA, D.D.; WARD, C.W.; BRUNT, A.A. *The Potyviridae*. Wallingford, UK: CAB International. 516p. 1994.
- SMALLE, J.; VIERSTRA, R.D. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annual Review of Plant Biology*, v. 55, p. 555-590, 2004.
- SMITH, C.M.; RODRIGUEZ-BUEY, M.; KARLSSON, J.; CAMPBELL, M.M. The response of the poplar transcriptome to wounding and subsequent infection by a viral pathogen. *New Phytologist*, v. 164, p. 123-136, 2004.
- SUTULA, C.L.; GILLETT, J.M.; MORRISSEY, S.M.; RAMSDELL, D.C. Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. *Plant Disease*, v. 70, p. 722-726, 1986.
- TAI, T.H.; DAHLBECK, D.; CLARK, E.T.; GAJIWALA, P.; PASION, R.; WHALEN, M.C.; STALL, R.E.; STASKAWICZ, B.J. Expression of the Bs2 pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 96, p. 14153-14158, 1999.
- TANKSLEY, S.D.; GANAL, M.W.; PRINCE, J.P.; VICENTE, M.C.; BONIERBALE, M.W.; BROUN, P.; FULTON, T.M.; GIOVANNONI, J.J.; GRANDILLO, S.;

- MARTIN, G.B.; MESSEGUER, R.; MILLER, J.C.; MILLER, L.; PATERSON, A.H.; PINEDA, O.; RODER, M.S.; WING, R.A.; WU, W.; YOUNG, N.D. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, v. 132, p. 1141-1160, 1992.
- TRUTA, A.A.C. Identidade e propriedade de isolados de potyvírus provenientes de *Capsicum* spp. Tese de Doutorado, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 68 p. 2002.
- TRUTA, A.A.C.; SOUZA, A.R.R.; NASCIMENTO, A.V.S.; PEREIRA, R.C.; PINTO, C.M.F.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; CARVALHO, M.G.; ZERBINI, F.M. Identidade e propriedades de isolados de potyvírus provenientes de *Capsicum* spp. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, p. 160-168, 2004.
- URCUQUI-INCHIMA, S.; HAENNI, A.L.; BERNARDI, F. Potyvirus proteins: A wealth of functions. *Virus Research*, v. 74, p. 157-175, 2001.
- VAN DER HOEVEN, R.S.; RONNING, C.; GIOVANNONI, J.J.; MARTIN, G.B.; TANKSLEY, S.D. Deductions about the number, organization, and evolution of genes in the tomato genome based on analysis of a large Expressed Sequence Tag collection and selective genomic sequencing. *Plant Cell*, v. 14, p. 1441-1456, 2002.
- VAN REGENMORTEL, M.H.V.; BURCKARD, J. Detection of a wide spectrum of tobacco mosaic virus strains by indirect enzyme-linked immunosorbent assays. *Virology*, v. 106, p. 327-334, 1980.
- VOINNET, O. Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections. *Nature Reviews Genetics*, v. 6, p. 206-220, 2005.
- VON BARGEN, S.; SALCHERT, K.; PAAPE, M.; PIECHULLA, B.; KELLMANN, J.W. Interactions between the tomato spotted wilt virus movement protein and plant proteins showing homologies to myosin, kinesin and DNAJ-like chaperones. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 39, p. 1083-1093, 2001.
- WHITHAM, S.A.; QUAN, S.; CHANG, H.S.; COOPER, B.; ESTES, B.; ZHU, T.; WANG, X.; HOU, Y.M. Diverse RNA viruses elicit the expression of common sets of genes in susceptible *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Journal*, v. 33, p. 271-283, 2003.
- YANG, Y.; KLESSIG, D.F. Isolation and characterization of a tobacco mosaic virus-inducible myb oncogene homolog from tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 93, p. 14972-14977, 1996.
- YOSHIOKA, K.; MATSUSHITA, Y.; KASAHARA, M.; KONAGAYA, K.; NYUNOYA, H. Interaction of tomato mosaic virus movement protein with tobacco RIO kinase. *Molecules and Cells*, v. 17, p. 223-229, 2004.
- ZERBINI, F.M.; ZAMBOLIM, E.M. A família *Potviridae*. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 7, p. 1-66, 1999.

ANEXOS

Tabela 4. Lista completa de anotação da coleção de ESTs induzidos.

| Anotação | No. de acesso no GenBank | Valor e |
|---|---------------------------------|----------------|
| 2-Cys peroxiredoxin (<i>Pisum sativum</i>) | CAC48323 | 7,00E-31 |
| CBP20 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAB29960 | 3,00E-82 |
| RNA binding protein 3 - wood tobacco | BF153801 | 3,00E-77 |
| Rna binding protein-like (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AK222121 | 3,00E-76 |
| AT3g14420/MOA2_2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL16258 | 2,00E-75 |
| Polyphenol oxidase B chloroplast precursor(Catechol oxidase). (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | Q08304 | 2,00E-75 |
| SOUL heme-binding protein-like (<i>Oryza sativa</i>) | BAD29282 | 2,00E-75 |
| F7F22.5 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF24535 | 1,00E-73 |
| ATP-binding cassette transporter (<i>Pteris vittata</i>) | AAS77222 | 1,00E-72 |
| AT4g38970/F19H22_70 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL16224 | 4,00E-71 |
| Auxin-binding protein ABP19 (<i>Prunus persica</i>) | AAD00295 | 4,00E-70 |
| Granule-bound glycogen [starch] synthase chloroplast (<i>Ipomoea batatas</i>) | Q42857 | 3,00E-69 |
| GTP binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_191788 | 9,00E-69 |
| Putative transcriptional regulator | YP_215624.1 | 7,00E-66 |
| Putative damage-specific DNA binding protein 2 (<i>Oryza sativa</i>) | NM_118228 | 2,00E-64 |
| Putative translational inhibitor | XP_478414.1 | 5,00E-64 |
| Putative zinc finger protein ZmZf | AAS00453.1 | 5,00E-64 |
| PVPR3 | AAA33773.1 | 1,00E-62 |
| Pyruvate dehydrogenase E1 alpha subunit (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_171617 | 2,00E-61 |
| RNA methyltransferase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_194904 | 9,00E-61 |
| Rapid alkalization factor 4 | AAR00328.1 | 1,00E-60 |
| RNA polymerase II transcription factor | AAW44974.1 | 2,00E-60 |
| Rapid alkalization factor 5 | AAT74390.1 | 1,00E-59 |
| RCA (RUBISCO ACTIVASE) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_850320.1 | 2,00E-59 |
| Cold-induced glucosyl transferase (<i>Solanum sogarandinum</i>) | AAK54465 | 3,00E-59 |
| P21 | AAC49361 | 3,00E-59 |
| Rpl7A | AAZ21196.1 | 4,00E-59 |
| Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase | CAA29403.1 | 6,00E-59 |
| CYP71B25; heme binding / iron ion binding / monooxygenase/ oxygen binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_189258 | 2,00E-58 |
| At2g39730/T5I7.3 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAN18180 | 4,00E-57 |
| Photosystem II 23 kDa protein | CAA44736 | 4,00E-57 |
| SPF1 protein (<i>Ipomoea batatas</i>) | BAA06278.1 | 4,00E-57 |
| Chloroplast ATP synthase (delta subunit) (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA45153 | 1,00E-55 |
| Putative tRNA isopentenylpyrophosphate transferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY080847 | 1,00E-55 |
| Putative iron inhibited ABC | XP_483817 | 1,00E-55 |
| Arbutin synthase (<i>Rauvolfia serpentina</i>) | CAC35167 | 2,00E-55 |
| CIPK23 (CBL-INTERACTING PROTEIN KINASE 23) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564353 | 3,00E-55 |
| P23-like protein (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA40472 | 3,00E-55 |
| PAB1; endopeptidase/ peptidase | NP_001031057 | 3,00E-55 |
| Serine carboxypeptidase 1 precursor | AAN15500 | 5,00E-55 |
| Non-symbiotic hemoglobin class 2 | AAK07677 | 6,00E-55 |
| Putative LysR family transcription | AAL19557 | 1,00E-54 |
| Putative mRNA capping enzyme RNA guanylyltransferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC009326 | 1,00E-54 |
| Putative multiple stress-respons. | XP_483230 | 1,00E-54 |
| NPQ4 (NONPHOTOCHEMICAL QUENCHING) | NP_175092 | 2,00E-54 |
| Putative NADH dehydrogenase (ubiquinona oxidoreductase) | AAM61225 | 3,00E-54 |

| | | |
|--|-----------|----------|
| Lipase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB85518 | 5,00E-54 |
| P protein; component of aminomethyltransferase (<i>Pisum sativum</i>) | CAA42443 | 2,00E-53 |
| Auxin binding protein (<i>Gossypium hirsutum</i>) | AAO92740 | 3,00E-53 |
| Putative bundle sheath defective | BAD32967 | 3,00E-53 |
| Putative nodulin-26 (<i>Oryza sativa</i>) | NP_922305 | 3,00E-53 |
| Putative RNA-binding protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM65150 | 3,00E-53 |
| Putative protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB94143 | 4,00E-53 |
| Ribulose bisphosphate carboxylase | AAF71272 | 4,00E-53 |
| AGT (ALANINE:GLYOXYLATE AMINOTRANSFERASE) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_849951 | 6,00E-53 |
| RNA binding protein putative (<i>Oryza sativa</i>) | ABA97622 | 2,00E-52 |
| Contains similarity to actin (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB09300 | 4,00E-52 |
| Pathogenesis-related protein 4b | BAD11073 | 4,00E-52 |
| PEX14 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB17667 | 4,00E-52 |
| Unnamed protein product (<i>Spinacia oleracea</i>) | CAA43634 | 4,00E-52 |
| Unnamed protein product (<i>Spinacia oleracea</i>) | CAA29062 | 9,00E-52 |
| CAX-interacting protein 4 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAO17572 | 1,00E-51 |
| photosystem II protein 33kD | 1204192A | 1,00E-51 |
| Unnamed protein product (<i>Spinacia oleracea</i>) | CAA31524 | 1,00E-51 |
| Stress induced protein (<i>Glycine max</i>) | X60044 | 1,00E-51 |
| Seed maturation protein PM37 (<i>Glycine max</i>) | AAD51625 | 2,00E-51 |
| Trigger factor-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_124904 | 2,00E-51 |
| Unknown (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA46763 | 2,00E-51 |
| Chlorophyll binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_198197 | 3,00E-51 |
| NT3 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAD32567 | 4,00E-51 |
| Putative Rieske Fe-S protein precursor | AAQ90151 | 4,00E-51 |
| Polyubiquitin 6 - (<i>Petroselinum crispum</i>) | S30151 | 5,00E-51 |
| Cellulose-binding protein E1 | BAB86305 | 3,00E-50 |
| PKL (PICKLE) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_565587 | 3,00E-50 |
| PREDICTED OJ1065_B06.19-1 gene | XP_507384 | 3,00E-50 |
| Arabidopsis thaliana gibberellin-induced mRNA for putative cell wall protein | X74360 | 4,00E-50 |
| NTCP23-like cysteine proteinase | AAK07729 | 6,00E-50 |
| PREDICTED OJ1626_B09.4 gene | XP_507513 | 1,00E-49 |
| Cell division cycle protein 48 homolog (<i>Glycine max</i>) | P54774 | 2,00E-49 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_189308 | 2,00E-49 |
| At1g74680/F1M20_36 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAO11529 | 3,00E-49 |
| NOD26-like membrane integral protein | AAK26753 | 3,00E-49 |
| NtSar1 protein (<i>Nicotiana tabacum</i>) | BAA13463 | 3,00E-49 |
| Stearoyl-acyl carrier protein desaturase (<i>Sesamum indicum</i>) | D42086 | 3,00E-49 |
| Nucleoid DNA-binding-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB81805 | 4,00E-49 |
| Cysteine synthase (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAC12819 | 6,00E-49 |
| Ubiquitin activating enzyme 2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08968 | 1,00E-48 |
| ly200 protein (<i>Capsicum annuum</i>) | AAR83884 | 1,00E-48 |
| Putative papillar cell-specific calne | AAK84429 | 1,00E-48 |
| Putative senescence-associated protein | AAL79714 | 1,00E-48 |
| WD-40 repeat protein MS12 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_180143 | 1,00E-48 |
| Chloroplast photosystem I reaction center V (<i>Camellia sinensis</i>) | AAU21476 | 2,00E-48 |
| Putative reverse transcriptase | CAD59768 | 2,00E-48 |
| Ring finger and KH domain | NP_976049 | 3,00E-48 |
| Catalytic/ serine carboxypeptidase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_179876 | 3,00E-48 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_188235 | 3,00E-48 |
| Beta-glucosidase homolog F8K4.2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF22295 | 1,00E-47 |
| PREDICTED OSJNB0060J21.18 gene | XP_507556 | 1,00E-47 |

| | | |
|--|-------------|----------|
| Probable lipoxygenase (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAA65268 | 1,00E-47 |
| Protein F17L21.10 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC004557 | 1,00E-47 |
| Vacuolar sorting protein-like | BAB09729 | 1,00E-47 |
| BOU (A BOUT DE SOUFFLE); binding / transporter (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_568670 | 4,00E-47 |
| COG0075: Serine-pyruvate aminotransferase/archaeal aspartate aminotransferase | ZP_00243148 | 5,00E-47 |
| SBT1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA67429 | 5,00E-47 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_563815 | 5,00E-47 |
| ATP-dependent Clp protease-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB09167 | 9,00E-46 |
| Probable glucosyltransferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB78568 | 2,00E-45 |
| UV-damaged DNA binding factor-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AL161503 | 2,00E-45 |
| Probable transcription factor SF3 | 7489184 | 4,00E-45 |
| Chromatin-remodeling factor CHD3 (<i>Oryza sativa</i>) | AAL47203 | 6,00E-45 |
| Protein F15H18.11 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC013354 | 1,00E-44 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_189308 | 1,00E-44 |
| Protein phosphatase-2C PP2C (<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>) | NM_122675 | 3,00E-44 |
| At1g19940/F6F9_1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM47371 | 5,00E-44 |
| Putative peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_112068 | 5,00E-44 |
| Putative serine carboxypeptidase | NP_919459 | 5,00E-44 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_175963 | 7,00E-44 |
| Protein hli4 | AAP99156 | 1,00E-43 |
| Protein phosphatase type 2C-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_122502 | 1,00E-43 |
| F17L21.24 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF99737 | 2,00E-43 |
| PAP2 (PHYTOCHROME-ASSOCIATED PROTEIN) | NP_194637 | 2,00E-43 |
| Serine/threonine kinase SNFL1 | ABA91407 | 2,00E-43 |
| SNARE 12 (<i>Oryza sativa</i>) | AAU94636 | 2,00E-43 |
| Polyubiquitin (<i>Oryza sativa</i>) | AAX40652 | 3,00E-43 |
| AT5g01530/F7A7_50 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAK82524 | 8,00E-43 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_200409 | 9,00E-43 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_566739 | 9,00E-43 |
| Protein F12K21.24 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC023279 | 1,00E-42 |
| Prohibitin 1-like protein (<i>Brassica napus</i>) | DW357776 | 2,00E-42 |
| Prosystemin PRO2 | AF000374 | 2,00E-42 |
| Arabidopsis thaliana putative transportin | NM_127248 | 6,00E-42 |
| Proteasome subunit alpha type 2 (<i>Oryza sativa</i>) | CA753798 | 1,00E-41 |
| Catechol O-methyltransferase (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA50561 | 6,00E-41 |
| CAB-like protein (<i>Ipomoea nil</i>) | AAS56914 | 1,00E-40 |
| Ferredoxin--nitrite reductase (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA46941 | 1,00E-40 |
| Gamma hydroxybutyrate dehydrogenase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAK94781 | 1,00E-40 |
| Proteasome subunit (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_194439 | 1,00E-40 |
| AT4g33010/F26P21_130 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL57651 | 3,00E-40 |
| DNA-directed RNA polymerase II 8.2 kDa polypeptide (<i>Brassica napus</i>) | Q39290 | 3,00E-40 |
| RNA binding / adenosine deaminase | NP_171681 | 4,00E-40 |
| Elicitor inducible gene product EIG-I24 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | BAB16426 | 5,00E-40 |
| At5g12240 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAQ65148 | 3,00E-39 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_196647 | 3,00E-39 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_190693 | 4,00E-39 |
| Cysteine proteinase Mir2 (<i>Zea mays</i>) | AAB88262 | 5,00E-39 |
| Elicitor-responsive Dof protein ERDP (<i>Pisum sativum</i>) | BAA85655 | 6,00E-39 |
| Putative elicitor-inducible cytochrome P450 (<i>Oryza sativa</i>) | BAD38066 | 1,00E-38 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_683560 | 1,00E-38 |
| AT5g01750/T20L15_20 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM98298 | 2,00E-38 |
| RNA binding / adenosine deaminase | NP_171681 | 2,00E-38 |
| Probable RNA 3'-terminal phosphate cyclase-like protein (<i>Arabidopsis</i> | Q9C578 | 5,00E-38 |

| | | |
|--|--------------|----------|
| <i>thaliana</i>) | | |
| Putative ADP-ribosylation factor | CAC84494 | 5,00E-38 |
| 60S ribosomal protein L7A-like (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABB87129 | 2,00E-37 |
| P0683B11.27 (<i>Oryza sativa</i>) | NP_916664 | 2,00E-37 |
| Calmodulin binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_201209 | 3,00E-37 |
| At1g80760 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAV74223 | 6,00E-37 |
| PGK1 (PHOSPHOGLYCERATE KINASE 1) | NP_187884 | 6,00E-37 |
| PGPS/D10 (<i>Petunia hybrida</i>) | AAD02552 | 6,00E-37 |
| Stress-responsive one-helix | BAD52885 | 6,00E-37 |
| Ubiquinol--cytochrome-c reductase | S23558 | 6,00E-37 |
| Porin-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08784 | 1,00E-36 |
| NySS41 (<i>Nicotiana glauca</i>) | CAA37516 | 2,00E-36 |
| Probable SCARECROW gene regulator (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08619 | 2,00E-36 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_175633 | 6,00E-36 |
| Putative serine protease | CAD29822 | 7,00E-36 |
| Photosystem I complex PsaN subunit | AAC26197 | 1,00E-35 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_565091 | 3,00E-35 |
| Phosphoglycerate kinase precursor | AAC26785 | 4,00E-35 |
| Photosystem I light-harvesting | CAA45523 | 4,00E-35 |
| Putative delta subunit of ATP synthase | BAA11390 | 4,00E-35 |
| OCL4 protein (<i>Zea mays</i>) | CAB96424 | 7,00E-35 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_191209 | 7,00E-35 |
| OHP2 (ONE-HELIX PROTEIN 2) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564432 | 9,00E-35 |
| Calcium-binding protein CAST (<i>Solanum tuberosum</i>) | Q09011 | 1,00E-34 |
| At2g39730/T5I7.3 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | JAAN18180 | 3,00E-34 |
| F-box family protein-like (<i>Oryza sativa</i>) | XP_468361 | 3,00E-34 |
| Perchloric acid soluble | BAD00048 | 3,00E-34 |
| Strong similarity to an unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF82202 | 3,00E-34 |
| Anthranilate synthase alpha subunit (<i>Catharanthus roseus</i>) | CAC29060 | 5,00E-34 |
| Cyclin C-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB10697 | 5,00E-34 |
| P0690B02.29 (<i>Oryza sativa</i>) | NP_916711 | 5,00E-34 |
| PEX14 (PEROXISOME DEFECTIVE 2) | NP_201087 | 5,00E-34 |
| Expressed protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAN15510 | 1,00E-33 |
| GATA-binding transcription factor homolog 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_195194 | 1,00E-33 |
| Putative actin protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_001036649 | 1,00E-33 |
| ATNPSN12; protein transporter (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_175258 | 2,00E-33 |
| OJ991214_12.3 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_472416 | 2,00E-33 |
| Omega-6 fatty acid desaturase chloroplast precursor (<i>Glycine max</i>) | P48628 | 2,00E-33 |
| P0663E10.18 (<i>Oryza sativa</i>) | NP_917851 | 2,00E-33 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_175963 | 2,00E-33 |
| GLP1 (GERMIN-LIKE PROTEIN 1); nutrient reservoir (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_177405 | 4,00E-33 |
| Fen kinase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF76314 | 5,00E-33 |
| GDP dissociation inhibitor (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAB80717 | 5,00E-33 |
| Kinesin-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB89042 | 9,00E-33 |
| Putative serine/threonine protein phosphatase type one (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_187209 | 1,00E-32 |
| <i>Arabidopsis thaliana</i> AGT (ALANINE:GLYOXYLATE AMINOTRANSFERASE) | NM_179620 | 1,00E-32 |
| Alanine aminotransferase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61453 | 2,00E-32 |
| At1g23310/F26F24_4 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL24255 | 2,00E-32 |
| Ly200-like protein (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABB02639 | 2,00E-32 |
| Subtilisin-like protease (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAA59963 | 2,00E-32 |
| Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (<i>Oryza sativa</i>) | XP_493811 | 3,00E-32 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_188235 | 3,00E-32 |

| | | |
|---|-----------|----------|
| At1g67910 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAV74242 | 5,00E-32 |
| Calreticulin precursor (<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>) | Q40401 | 5,00E-32 |
| OSJNBb0062H02.3 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_471833 | 5,00E-32 |
| Subtilisin-like protease (<i>Glycine max</i>) | AAQ23176 | 5,00E-32 |
| Putative splicing factor Prp8 | AAZ32862 | 6,00E-32 |
| Putative transcription factor protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF308595 | 1,00E-31 |
| pi1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAC81819 | 2,00E-31 |
| Putative CTP synthase (<i>Oryza sativa</i>) | NM_192800 | 4,00E-31 |
| GA (<i>Pisum sativum</i>) | CAA46272 | 1,00E-30 |
| MADS-box transcription factor FBP28 (<i>Petunia x hybrida</i>) | AAK21257 | 1,00E-30 |
| Contains similarity to RNA adenosine deaminase | AAF78409 | 4,00E-30 |
| Histone H1. [Tomato] (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA12232 | 4,00E-30 |
| Putative CASP protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB026658 | 4,00E-30 |
| Homeobox 1 protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAD09582 | 5,00E-30 |
| MutT domain protein-like (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT000563 | 6,00E-30 |
| N-acetylglucosaminyltransferase I (<i>Solanum tuberosum</i>) | AJ249880 | 6,00E-30 |
| Hypothetical protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAO11661 | 6,00E-30 |
| VIP2 protein (<i>Avena fatua</i>) | CAB75506 | 6,00E-30 |
| Homeobox gene (<i>Oryza sativa</i>) | BAA77822 | 9,00E-30 |
| Homeobox gene (<i>Oryza sativa</i>) | CAC03454 | 1,00E-29 |
| WIN2 protein (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAA31852 | 1,00E-29 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAV59327 | 3,00E-29 |
| Unnamed protein product (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB02821 | 3,00E-29 |
| Wound inducive gene (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AB009885 | 3,00E-29 |
| Glucose-1-phosphate adenyltransferase isoform L3 large chain (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CN741738 | 6,00E-29 |
| Limonene-6-hydroxylase (<i>Mentha x gracilis</i>) | AAQ18706 | 2,00E-28 |
| Tuber-induction protein (<i>Solanum tuberosum</i>) | AAN87055 | 2,00E-28 |
| twi1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA59450 | 2,00E-28 |
| UDP-glucose glucosyltransferase | DQ218277 | 2,00E-28 |
| Unknown (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA81880 | 2,00E-28 |
| Unknown (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA81880 | 2,00E-28 |
| Unnamed protein product (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB02821 | 2,00E-28 |
| Unnamed protein product (<i>Oryza sativa</i>) | NP_912888 | 2,00E-28 |
| Unnamed protein product (<i>Oryza sativa</i>) | NP_913415 | 2,00E-28 |
| Wound-induced protein CBP1 precursor | AAF18934 | 2,00E-28 |
| Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AY429422 | 3,00E-28 |
| ABI3-interacting protein 2 AIP2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB75509 | 4,00E-28 |
| NAF specific protein kinase family | AAO73884 | 4,00E-28 |
| Unnamed protein product (<i>Oryza sativa</i>) | BAA14403 | 5,00E-28 |
| Cathepsin B-like cysteine proteinase (<i>Nicotiana rustica</i>) | CAA57522 | 6,00E-28 |
| <i>Arabidopsis thaliana</i> ribonuclease/ transcriptional repressor | NM_179584 | 6,00E-28 |
| Putative chaperon P13.9 (<i>Castanea sativa</i>) | AAK25754 | 6,00E-28 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAV59327 | 6,00E-28 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAV59389 | 8,00E-28 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_568019 | 9,00E-28 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAT77003 | 1,00E-27 |
| Chilling tolerance-related protein:ISOTYPE=pBC121 (<i>Oryza sativa</i>) | 1908434A | 2,00E-27 |
| Coproporphyrinogen III oxidase chloroplast precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | Q9LR75 | 2,00E-27 |
| Putative curly leaf protein (<i>Oryza sativa</i>) | CD777036 | 2,00E-27 |
| Casein kinase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB09477 | 5,00E-27 |
| Actin 97 (<i>Solanum tuberosum</i>) | P30171 | 6,00E-27 |
| Shikimate kinase chloroplast precursor (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA45121 | 7,00E-27 |

| | | |
|---|-----------|----------|
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_196721 | 7,00E-27 |
| Putative cytokinin-repressed protein | CAC84488 | 9,00E-27 |
| KNAT4; transcription factor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_196667 | 1,00E-26 |
| PREDICTED OJ1065_B06.19-1 gene | XP_507384 | 1,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAK95290 | 1,00E-26 |
| ACX3 (ACYL-COA OXIDASE 3); acyl-CoA oxidase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_172119 | 2,00E-26 |
| Hypothetical protein (<i>Plantago major</i>) | CAH59418 | 2,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_173428 | 2,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_173428 | 3,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAD44449 | 3,00E-26 |
| Putative acyl-CoA oxidase ACX3 | BAD35410 | 4,00E-26 |
| nifU-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB79177 | 5,00E-26 |
| WRKY transcription factor 22 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF442392 | 5,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM20597 | 6,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_469638 | 6,00E-26 |
| Phenylpropanoid:glucosyltransferase 2 | AAK28304 | 7,00E-26 |
| 21kd polypeptide (<i>Oryza sativa</i>) | BAA02151 | 8,00E-26 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_469635 | 8,00E-26 |
| Putative internal rotenone-insensitive NADH dehydrogenase (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAB52796 | 1,00E-25 |
| S3 self-incompatibility locus-link | AAQ09995 | 1,00E-25 |
| Similar to phosphoribosyl transferase from <i>Pisum sativum</i> | AAD55273 | 1,00E-25 |
| Acyl-[acyl-carrier protein] desaturase chloroplast precursor | XM_480551 | 2,00E-25 |
| Early leaf senescence abundant cysteine protease (<i>Pisum sativum</i>) | CAC41636 | 3,00E-25 |
| PETC | NP_192237 | 3,00E-25 |
| Tomato histone H4 | X69180 | 3,00E-25 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 3,00E-25 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | BAD35615 | 4,00E-25 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_475465 | 4,00E-25 |
| Tomato HSP90 | AY368907 | 9,00E-25 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61208 | 9,00E-25 |
| EST gb T44882 comes from this gene (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF06043 | 1,00E-24 |
| At5g67360/K8K14_8 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAN46863 | 3,00E-24 |
| Hydrolase, acting on acid anhydrides / nucleic acid binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_173495 | 3,00E-24 |
| Light stress-responsive one-helix protein-like (<i>Oryza sativa</i>) | BAD52885 | 3,00E-24 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_476950 | 3,00E-24 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAT77003 | 4,00E-24 |
| Bifunctional histidine biosynthesis protein HisHF chloroplast precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | Q9SZ30 | 6,00E-24 |
| ERD7 protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB63916 | 6,00E-24 |
| Glutaredoxin-like (<i>Oryza sativa</i>) | BAD73683 | 7,00E-24 |
| NLM1; water channel (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_567572 | 7,00E-24 |
| PSI-G=8 kda photosystem I psaG | AAB29511 | 7,00E-24 |
| Unknown (<i>Sorghum bicolor</i>) | AAD43043 | 7,00E-24 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_467275 | 1,00E-23 |
| Translation elongation factor eEF1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB64729 | 2,00E-23 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_479300 | 2,00E-23 |
| NIP3 (<i>Medicago truncatula</i>) | AAS48063 | 6,00E-23 |
| Caffeic acid O-methyltransferase II | AAL91506 | 1,00E-22 |
| At2g30570/T6B20.8 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL16242 | 2,00E-22 |
| Hypothetical protein AAD41432.1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM14980 | 2,00E-22 |
| Peroxisomal biogenesis factor 11 | XP_550574 | 2,00E-22 |
| Serine/threonine protein kinase Fen | AAB47422 | 2,00E-22 |
| Subunit 2 of cotton catalase | CAA39998 | 2,00E-22 |

| | | |
|---|-----------|----------|
| Unnamed protein product (<i>Pisum sativum</i>) | CAA33262 | 2,00E-22 |
| CYP71B10; heme binding / iron ion binding / monooxygenase/ oxygen binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_200536 | 5,00E-22 |
| ATGCN1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_200887 | 7,00E-22 |
| ATGSTU8; glutathione transferase | NP_187538 | 7,00E-22 |
| Contains a weak similarity to Rap8 (Rac-3-1) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF79914 | 8,00E-22 |
| Ca/calmodulin-dependent protein kinase phosphatase-N | BAD95887 | 9,00E-22 |
| Metalloprotease inhibitor IIa precursor | AAC95130 | 1,00E-21 |
| Phosphoribulokinase precursor | XP_467296 | 1,00E-21 |
| Unnamed protein product (<i>Spinacia oleracea</i>) | CAA43634 | 1,00E-21 |
| AT3g02110/F1C9_10 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAO11573 | 2,00E-21 |
| Glutathione S-transferase U1 (<i>Nicotiana benthamiana</i>) | AAPO4395 | 2,00E-21 |
| Peroxisomal biogenesis factor 11 | XP_550574 | 2,00E-21 |
| Phosphatidylinositol transfer-like protein III (<i>Lotus japonicus</i>) | AAK63247 | 2,00E-21 |
| S-adenosylmethionine synthetase (Methionine adenosyltransferase 1) | AAM65240 | 2,00E-21 |
| Sulfite oxidase (SOX) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF13276 | 2,00E-21 |
| Hypothetical protein AAF76472.1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB94131 | 3,00E-21 |
| Amidase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_120818 | 5,00E-21 |
| PS II complex subunit | NM_117102 | 5,00E-21 |
| Crystallinum glycolate oxidase-like (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABB02645 | 7,00E-21 |
| Auxin-induced protein (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA39709 | 1,00E-20 |
| AlaT1 (<i>Vitis labrusca</i>) | AAZ43368 | 2,00E-20 |
| Brassinosteroid biosynthetic protein LKB (<i>Pisum sativum</i>) | AAK15493 | 2,00E-20 |
| Hypothetical protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAK73146 | 2,00E-20 |
| PsaH (<i>Spinacia oleracea</i>) | CAA34749 | 2,00E-20 |
| Calcineurin B-like interacting protein kinase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAG30526 | 5,00E-20 |
| PREDICTED P0567H04.15 gene product | XP_507368 | 6,00E-20 |
| S1 self-incompatibility locus-link | AAQ09993 | 6,00E-20 |
| Contains similarity to signal peptidase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB02011 | 7,00E-20 |
| DnaJ-like protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF28382 | 8,00E-20 |
| PSI-N; calmodulin binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_201209 | 1,00E-19 |
| Chloroplast photosynthetic oxygen-evolving protein 33 kDa subunit (<i>Nicotiana benthamiana</i>) | AAX53163 | 2,00E-19 |
| S-adenosylmethionine decarboxylase SAMDC (<i>Solanum tuberosum</i>) | S74514 | 2,00E-19 |
| Cristal-Glass1 protein (<i>Capsicum annuum</i>) | AAR83879 | 3,00E-19 |
| PREDICTED: similar to 14.5 kDa protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | XP_424175 | 6,00E-19 |
| Glutamate-1-semialdehyde 2 1-aminomutase chloroplast precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | P42799 | 7,00E-19 |
| ATMPK9 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAA92223 | 1,00E-18 |
| PREDICTED: similar to 24432 protein | XP_511036 | 1,00E-18 |
| PREDICTED: similar to 24432 protein | XP_511036 | 1,00E-18 |
| Tomato 5-LOX | BF112534 | 1,00E-18 |
| UBQ12 (UBIQUITIN 12) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564675 | 1,00E-18 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 1,00E-18 |
| PREDICTED: similar to RING finger | XP_860585 | 2,00E-18 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_180615 | 2,00E-18 |
| 12-oxophytodienoate reductase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAB43506 | 3,00E-18 |
| PREDICTED: similar to ubiquitin | XP_414881 | 3,00E-18 |
| TCH2 (TOUCH 2) | NP_198593 | 3,00E-18 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 3,00E-18 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 3,00E-18 |
| Carnitine/acylcarnitine translocase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB08924 | 5,00E-18 |
| PSBP (OXYGEN-EVOLVING ENHANCER PROTEIN) | NP_172153 | 8,00E-18 |
| Oxygen-evolving enhancer protein | P26320 | 1,00E-17 |
| Pre-pro-cysteine proteinase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA88629 | 1,00E-17 |

| | | |
|--|--------------|----------|
| Aquaporin-like protein (<i>Petunia x hybrida</i>) | AAL49753 | 2,00E-17 |
| At1g55840/F14J16_2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL84992 | 2,00E-17 |
| DNA binding / zinc ion binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_566429 | 2,00E-17 |
| Homologous to plastidic aldolases (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAA71408 | 2,00E-17 |
| Similar to aquaporin (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD95790 | 2,00E-17 |
| Arabidopsis thaliana NIR1 ferredoxin-nitrate reductase | NM_127123 | 2,00E-17 |
| ATP synthase C chain (EC 3.6.1.34) (Lipid-binding protein) (Subunit III). | NM_120953 | 4,00E-17 |
| Calcium ion binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_197249 | 5,00E-17 |
| PSBO-1 (OXYGEN-EVOLVING ENHANCER) | NP_201458 | 5,00E-17 |
| Pto kinase (<i>Lycopersicon pimpinelli</i>) | AAF76306 | 5,00E-17 |
| Victorin binding protein | AAA63798 | 5,00E-17 |
| Similar to wpk4 protein kinase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM13241 | 6,00E-17 |
| Phloem-specific lectin PP2-like protein | AAM64609 | 7,00E-17 |
| Knotted1-like homeobox protein (<i>Malus x domestica</i>) | CAA96512 | 1,00E-16 |
| Aldehyde oxidase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF258812 | 2,00E-16 |
| KNOX family class 2 homeodomain protein (<i>Oryza sativa</i>) | BAD37613 | 2,00E-16 |
| Translational inhibitor protein p14.5 | AF375446 | 2,00E-16 |
| Unknown (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF75750 | 2,00E-16 |
| Membrane protein 37K precursor chloroplast inner envelope (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CN745821 | 3,00E-16 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_190349 | 3,00E-16 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAV24911 | 3,00E-16 |
| Unknown protein (<i>Zea mays</i>) | AAU93534 | 3,00E-16 |
| Catalase 2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAD41256 | 4,00E-16 |
| Endoplasmic reticulum alpha-mannosidase putative (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAG52061 | 4,00E-16 |
| Oxidoreductase | AY429422 | 5,00E-16 |
| S2 self-incompatibility locus-link | AAQ09994 | 5,00E-16 |
| Pathogenesis-related protein R major form precursor (Thaumatin-like protein E22). (<i>Nicotiana tabacum</i>) | P13046 | 6,00E-16 |
| Pseudotzain | AAC49455 | 6,00E-16 |
| Tomato PR5 | AY257487 | 6,00E-16 |
| UDP rhamnose--anthocyanidin-3-glucoside rhamnosyltransferase | Z25802 | 6,00E-16 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM62584 | 6,00E-16 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAD29798 | 6,00E-16 |
| Victorin binding protein | AAA63798 | 6,00E-16 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC015447 | 7,00E-16 |
| Unknown protein; 20348-23707 | AAG51797 | 7,00E-16 |
| Hypothetical protein At2g25170 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | B84645 | 8,00E-16 |
| Hypothetical protein AT4g22120 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAD93792 | 8,00E-16 |
| Calmodulin-like protein (<i>Oryza sativa</i>) | BAD72274 | 1,00E-15 |
| Hypothetical protein T6K21.120 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB10193 | 1,00E-15 |
| P0415C01.15 (<i>Oryza sativa</i>) | NP_917460 | 1,00E-15 |
| AOAT2 (ALANINE-2-OXOGLUTARATE AMINOTRANSFERASE 2); alanine transaminase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_001031262 | 2,00E-15 |
| Hypothetical protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAD94213 | 2,00E-15 |
| Chain A, Nmr Structure Of The Single Qalgg Zinc Finger Domain From Arabidopsis Thaliana Superman Protein | 1NJQA | 2,00E-15 |
| Pathogen-inducible alpha-dioxygenase (<i>Nicotiana attenuata</i>) | AAG59584 | 2,00E-15 |
| Transaldolase ToTAL2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AY007225 | 2,00E-15 |
| Unknown (<i>Brassica rapa</i>) | ABB97030 | 2,00E-15 |
| Calnexin-like protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD99512 | 4,00E-15 |
| APT2 (ADENINE PHOSPHORIBOSYL TRANSFERASE 2); adenine phosphoribosyltransferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_178122 | 5,00E-15 |
| Acyl-ACP thioesterase (<i>Capsicum chinense</i>) | AAG35064 | 6,00E-15 |
| Immediate-early salicylate-induced glucosyltransferase (<i>Nicotiana</i> | AAB36653 | 7,00E-15 |

| | | |
|---|-----------|----------|
| <i>tabacum</i>) | | |
| Hypothetical protein T15N1.40 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAC04901 | 8,00E-15 |
| Hydrolase, acting on acid anhydrides, catalyzing transmembrane movement of substances (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_194953 | 8,00E-15 |
| Induced stolon tip protein (<i>Capsicum annuum</i>) | AAR83854 | 9,00E-15 |
| Adenine phosphoribosyltransferase-like (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABB86271 | 1,00E-14 |
| At4g16360 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAW28550 | 1,00E-14 |
| Inositol methyltransferase (<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>) | AAB05891 | 1,00E-14 |
| OSJNBa0093F12.16 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_462686 | 1,00E-14 |
| At2g07350/T13E11.12 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM16175 | 2,00E-14 |
| Cytosolic pyruvate kinase (<i>Solanum tuberosum</i>) | AAA13372 | 2,00E-14 |
| Hydrogen-transporting ATPase, rotational mechanism (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_192703 | 2,00E-14 |
| Ketol-acid reductoisomerase chloroplast precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | Q05758 | 2,00E-14 |
| Sorting nexin-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_120696 | 2,00E-14 |
| T19E23.15 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF24589 | 2,00E-14 |
| Electron transporter/ thiol-disulfide exchange intermediate (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_563691 | 4,00E-14 |
| Hypothetical protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAD10683 | 4,00E-14 |
| Endo-xyloglucan transferase (<i>Gossypium hirsutum</i>) | BAA21107 | 5,00E-14 |
| Farnesyl-pyrophosphate synthetase FPS1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAC73051 | 5,00E-14 |
| At2g35190/T4C15.14 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAAN28778 | 9,00E-14 |
| Phloroglucinol O-methyltransferase | BAD18975 | 9,00E-14 |
| Polygalacturonase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB10507 | 9,00E-14 |
| T25K16.13 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF26468 | 9,00E-14 |
| Magnesium transporter protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAG45213 | 1,00E-13 |
| Electron transporter/ iron ion binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_172565 | 2,00E-13 |
| AT3g16170/MSL1_21 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM91488 | 3,00E-13 |
| Phosphate translocator (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA52979 | 3,00E-13 |
| CAA303719.1 protein (<i>Oryza sativa</i>) | CAB53492 | 4,00E-13 |
| AT3g54890 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAG40043 | 5,00E-13 |
| 36kDa porin II (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAA56600 | 6,00E-13 |
| N-acetylglucosaminyltransferase (<i>Brassica napus</i>) | CAD90583 | 6,00E-13 |
| G-box-binding protein | X74942 | 9,00E-13 |
| F1N19.8 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF19690 | 1,00E-12 |
| Putative gamma TIP (<i>Nicotiana glauca</i>) | AAG44946 | 1,00E-12 |
| ARA12; subtilase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_569048 | 2,00E-12 |
| Calmodulin-related protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM67124 | 2,00E-12 |
| Serine/threonine kinase | AAQ82659 | 2,00E-12 |
| Putative 16kDa membrane protein (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAB75430 | 2,00E-12 |
| 38 kDa ribosome-associated protein precursor (<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>) | AAO22242 | 3,00E-12 |
| AMP-activated protein kinase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_197615 | 3,00E-12 |
| ARF1-like GTP-binding protein (<i>Gossypium hirsutum</i>) | AAO62347 | 3,00E-12 |
| Putative acid phosphatase (<i>Hordeum vulgare</i>) | AJ250282 | 3,00E-12 |
| Flavin-containing monooxygenase 3-like (<i>Oryza sativa</i>) | BAD33741 | 4,00E-12 |
| CYP71B24; heme binding / iron ion binding / monooxygenase/ oxygen binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_189254 | 5,00E-12 |
| Glyoxalase-I (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA88233 | 5,00E-12 |
| Hypothetical protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAK73142 | 5,00E-12 |
| Shaggy-related protein kinase NtK-1 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA54803 | 5,00E-12 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_566055 | 9,00E-12 |
| 24K germin like protein (<i>Nicotiana tabacum</i>) | BAC77634 | 1,00E-11 |
| Pathogen- and wound-inducible | AAB29959 | 1,00E-11 |
| Photosystem I subunit O precursor | CAH04628 | 1,00E-11 |

| | | |
|--|-----------|----------|
| Probable (S)-2-hydroxy-acid oxidase peroxisomal 2 (Glycolate oxidase 2) (GOX 2) | NP_060015 | 1,00E-11 |
| Serine/threonine kinase, putative (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAG50566 | 1,00E-11 |
| 13 kDa cold-induced protein | Q06396 | 2,00E-11 |
| AKIN beta1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM65684 | 2,00E-11 |
| WIN1 protein (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAA31851 | 2,00E-11 |
| 4-nitrophenylphosphatase-like (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAA98057 | 3,00E-11 |
| Ferredoxin:ISOTYPE=A (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | 2210387C | 3,00E-11 |
| GAL83 protein (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAB52141 | 3,00E-11 |
| NAD(P)H:quinone oxidoreductase (<i>Solanum tuberosum</i>) | BAC23037 | 3,00E-11 |
| Putative alanine aminotransferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61453 | 4,00E-11 |
| Endopeptidase/ threonine endopeptidase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_178042 | 6,00E-11 |
| Tomato PRK | NC_003074 | 9,00E-11 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM67086 | 9,00E-11 |
| Glutathione-conjugate transporter AtMRP4 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_182301 | 1,00E-10 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_190349 | 1,00E-10 |
| CCR protein | AAP23943 | 2,00E-10 |
| Photosystem I:SUBUNIT=PS I-H | 1910333A | 2,00E-10 |
| PSBO-2/PSBO2; oxygen evolving (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_190651 | 2,00E-10 |
| Acyl-ACP thioesterase (<i>Capsicum chinense</i>) | AAG35064 | 3,00E-10 |
| Heat shock cognate 70 kDa protein 1 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | P24629 | 3,00E-10 |
| Heat shock protein MTSHP (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAA32547 | 3,00E-10 |
| malate dehydrogenase (oxaloacetate-decarboxylating) (NADP+) (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAV36609 | 3,00E-10 |
| Manganese superoxide dismutase (<i>Taiwanofungus camphorata</i>) | CAD42938 | 3,00E-10 |
| Xaa-Pro aminopeptidase 2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AJ310676 | 3,00E-10 |
| At2g35190/T4C15.14 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAN28778 | 4,00E-10 |
| Contains similarity to ribonucleoprotein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF81363 | 4,00E-10 |
| GTP-binding nuclear protein RAN2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | P38547 | 4,00E-10 |
| H1flk (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAA44318 | 4,00E-10 |
| High light inducible protein hli4 | AAP99156 | 4,00E-10 |
| Peroxisomal membrane protein PEX11-2 | CAD58676 | 4,00E-10 |
| Plastocyanin chloroplast precursor (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | P17340 | 4,00E-10 |
| Probable alanine--glyoxylate transaminase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAC26854 | 4,00E-10 |
| T3B23.2/T3B23.2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC012193 | 4,00E-10 |
| Probable chaperonin-containing TCP-1 complex gamma chain (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAC26244 | 5,00E-10 |
| XTH9 (XYLOGLUCAN ENDOTRANSGLUCOS) | NP_192230 | 5,00E-10 |
| Alcohol dehydrogenase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_123761 | 6,00E-10 |
| OSJNBb0072N21.3 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_474946 | 6,00E-10 |
| Probable chloroplast 50S ribosomal protein | F84745 | 7,00E-10 |
| Endoribonuclease (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_188674 | 1,00E-09 |
| Heat stress transcription factor A3 (<i>Lycopersicon peruvianum</i>) | AAF74563 | 1,00E-09 |
| OSJNBb0024F06.20 (<i>Oryza sativa</i>) | NP_917415 | 1,00E-09 |
| Plastid ribosomal protein S6 precursor | AAF64311 | 1,00E-09 |
| Unnamed protein product (<i>Pisum sativum</i>) | CAA33557 | 1,00E-09 |
| Chromatin-remodeling factor CHD3 (<i>Oryza sativa</i>) | AAL47211 | 2,00E-09 |
| Cytochrome c oxidase subunit Vc (<i>Oryza sativa</i>) | ABA98934 | 2,00E-09 |
| Pto-like protein kinase D (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAK11569 | 2,00E-09 |
| Selenium binding protein (<i>Medicago sativa</i>) | AJ01228 | 2,00E-09 |
| Violaxanthin de-epoxidase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAN63503 | 2,00E-09 |
| Probable phosphoprotein phosphatase | DT042523 | 3,00E-09 |
| SNF1 kinase complex anchoring protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAO89082 | 3,00E-09 |
| Double WRKY type transfactor (<i>Solanum tuberosum</i>) | BAE46417 | 3,00E-09 |
| Elongation factor 1-alpha (EF-1-alpha) (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | P17786 | 3,00E-09 |

| | | |
|--|-------------|----------|
| Glycine decarboxylase P subunit | AAB82711 | 3,00E-09 |
| Leghemoglobin (<i>Glycine max</i>) | CAA23732 | 3,00E-09 |
| LHCA1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_850706 | 3,00E-09 |
| OSJNBb0072N21.5 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_474948 | 3,00E-09 |
| Outer envelope membrane protein homolog (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_568378 | 3,00E-09 |
| Oxalic acid oxidase (<i>Brassica napus</i>) | AA35339 | 3,00E-09 |
| Tetratricoredoxin (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AY064253 | 3,00E-09 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 3,00E-09 |
| Wall-associated kinase 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_101479 | 3,00E-09 |
| Water channel (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_192776 | 3,00E-09 |
| Helicase, C-terminal:DEAD/DEAH box helicase | ZP_00581142 | 4,00E-09 |
| Porphobilinogen deaminase chloroplast precursor (Hydroxymethylbilane synthase) | Q43082 | 4,00E-09 |
| Xyloglucan endotransglycosylase | AAZ08349 | 4,00E-09 |
| Zeta-carotene desaturase chloroplast precursor | AY096583 | 4,00E-09 |
| Calcium-binding protein (<i>Olea europaea</i>) | AAF31152 | 5,00E-09 |
| HEV1.2; hevein (<i>Hevea brasiliensis</i>) | AAO63572 | 5,00E-09 |
| CPase I B (<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>) | 1314177B | 6,00E-09 |
| Leghemoglobin C2 (<i>Glycine max</i>) | P02236 | 6,00E-09 |
| NADP-dependent glyceraldehydephosphate | AAD10217 | 9,00E-09 |
| Serine-rich protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM67211 | 9,00E-09 |
| Zinc metalloprotease (insulinase family) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_103851 | 9,00E-09 |
| ATP synthase delta subunit precursor (<i>Spinacia oleracea</i>) | AAA34024 | 1,00E-08 |
| Histidine kinase, HAMP region:Histidine kinase A, N-terminal (<i>Chlorobium phaeobacteroides</i> BS1) | ZP_00533378 | 1,00E-08 |
| Pathogenesis-related protein STH-2. (<i>Solanum tuberosum</i>) | P17642 | 1,00E-08 |
| Protein T19E23.7 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC007654 | 1,00E-08 |
| Probable mannitol dehydrogenase 2 | CB096622 | 1,00E-08 |
| Receptor protein kinase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_103434 | 1,00E-08 |
| (S)-2-hydroxy-acid oxidase | P05414 | 2,00E-08 |
| ER lumen protein retaining receptor (HDEL receptor) (<i>Petunia hybrida</i>) | Q9ZTN2 | 2,00E-08 |
| Major intrinsic protein, putative (<i>Oryza sativa</i>) | ABA96110 | 2,00E-08 |
| Plastidic aldolase | BAA77603 | 2,00E-08 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM65879 | 3,00E-08 |
| Pentameric polyubiquitin (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA54603 | 4,00E-08 |
| Phosphoribosylanthranilate transferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_191775 | 4,00E-08 |
| Photosystem I P700 apoprotein A1 | BAA83440 | 4,00E-08 |
| Possible high light inducible | BAD79460 | 4,00E-08 |
| CEN-like protein 1 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AF145259 | 4,00E-08 |
| Ubiquitin (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA51679 | 5,00E-08 |
| Flavonoid 3',5'-hydroxylase (<i>Solanum tuberosum</i>) | AAV85473 | 6,00E-08 |
| Fructose-bisphosphate aldolase cytoplasmic isozyme 1 (<i>Pisum sativum</i>) | P46256 | 6,00E-08 |
| G2/mitotic-specific cyclin 2 (<i>Medicago sativa</i>) | P30278 | 6,00E-08 |
| G5bf (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAA71589 | 6,00E-08 |
| N-terminally acetylated protein | NC_002929 | 8,00E-08 |
| mevalonate disphosphate decarboxylase (<i>Hevea brasiliensis</i>) | AAL18927 | 9,00E-08 |
| S-adenosyl-l-homocysteine hydrolase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAD50775 | 1,00E-07 |
| Ert1 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAR85966 | 1,00E-07 |
| Ubiquitin conjugating enzyme 2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF332958 | 1,00E-07 |
| bZIP DNA-binding protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | NM125246 | 1,00E-07 |
| 33 kDa polypeptide of water-oxidizing complex of photosystem II (<i>Nicotiana tabacum</i>) | CAA45701 | 2,00E-07 |
| 33kDa precursor protein of oxygen-evolving complex (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA78043 | 2,00E-07 |
| G protein alpha subunit 3 (<i>Solanum tuberosum</i>) | AAL51157 | 2,00E-07 |

| | | |
|--|-------------|----------|
| N2 N2-dimethylguanine tRNA methyltransferase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAC01780 | 2,00E-07 |
| NAC2-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB62457 | 2,00E-07 |
| TCTP (TRANSLATIONALLY CONTROLLED) | NP_188286 | 2,00E-07 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61208 | 2,00E-07 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_200409 | 2,00E-07 |
| OSJNBa0093F12.5 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_462675 | 3,00E-07 |
| SKP1 interacting partner 3 (SKIP3) | AAC78517 | 3,00E-07 |
| Cysteine protease (<i>Nicotiana tabacum</i>) | BAA96501 | 4,00E-07 |
| Mitochondrial succinate dehydrogenase iron-sulphur subunit (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAC19857 | 4,00E-07 |
| Putative GDSL-motif lipase/acylhydrolase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_202203 | 4,00E-07 |
| SNARE 11 (<i>Oryza sativa</i>) | AAU94635 | 4,00E-07 |
| Transferase, transferring glycosyl groups (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_567420 | 5,00E-07 |
| Betaine-aldehyde dehydrogenase (<i>Amaranthus hypochondriacus</i>) | AAB58165 | 5,00E-07 |
| LescPth2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AAF76311 | 5,00E-07 |
| Ubiquitin-conjugating enzyme UBC7 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_125320 | 5,00E-07 |
| Subtilisin-like proteinase 4 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA06997 | 5,00E-07 |
| Putative protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB40760 | 6,00E-07 |
| At5g38410/F1O19.10 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY098970 | 7,00E-07 |
| Enzymatic resistance protein (<i>Glycine max</i>) | AAZ94162 | 8,00E-07 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_189308 | 8,00E-07 |
| CIPK-like protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAP82174 | 1,00E-06 |
| O-methyltransferase | AAQ24361 | 1,00E-06 |
| Senescence/dehydration-associated protein | BAD87055 | 1,00E-06 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_180615 | 1,00E-06 |
| Unnamed protein product (<i>Pisum sativum</i>) | CAA33262 | 1,00E-06 |
| TMV-induced protein I (<i>Capsicum annuum</i>) | AF242731 | 2,00E-06 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 2,00E-06 |
| Zinc finger (AN1-like) family protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_129189 | 3,00E-06 |
| Alpha-tubulin (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AJ421413 | 4,00E-06 |
| F10B6.18 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF79223 | 4,00E-06 |
| ORF; able to induce HR-like lesions (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAC49975 | 4,00E-06 |
| Ornithine carbamoyltransferase | AAG43481 | 4,00E-06 |
| OSH45 (<i>Oryza sativa</i>) | BAA08552 | 4,00E-06 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | TO2714 | 4,00E-06 |
| Branched-chain alpha keto-acid dehydrogenase E1 alpha subunit-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAC05456 | 5,00E-06 |
| CBS domain protein-like (<i>Oryza sativa</i>) | BAD69439 | 5,00E-06 |
| TonB-dependent receptor: TonB-d. | ZP_00464452 | 5,00E-06 |
| Unknown (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM61097 | 5,00E-06 |
| Probable transcriptional regulator | NP_214900 | 5,00E-06 |
| Putative reverse transcriptase | AJ535749 | 5,00E-06 |
| Cysteine protease 10 (<i>Trifolium repens</i>) | AAP32197 | 6,00E-06 |
| Putative glycosyltransferase (<i>Solanum tuberosum</i>) | BAD89035 | 6,00E-06 |
| Citrolysin protein 1 | P23182 | 7,00E-06 |
| OSH45 (<i>Oryza sativa</i>) | BAA08552 | 7,00E-06 |
| Leucine-rich repeat protein LRP | CAA64565 | 9,00E-06 |
| OSJNBa0014K14.11 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_473080 | 9,00E-06 |
| ARF-like small GTPase 1 (<i>Brassica juncea</i>) | AAW23955 | 1,00E-05 |
| At1g16470/F3O9_27 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAN18089 | 1,00E-05 |
| At5g21175 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAT41861 | 1,00E-05 |
| LHCA5 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_175137 | 1,00E-05 |
| Vamp7B | NM_100353 | 1,00E-05 |
| Chloroplastic aldolase (<i>Oryza sativa</i>) | BAA02730 | 1,00E-05 |

| | | |
|--|-----------|----------|
| DNA-binding protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | NM202980 | 1,00E-05 |
| Unnamed protein product (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM124888 | 1,00E-05 |
| Carotenoid 9 10-9' 10' cleavage dioxygenase (<i>Phaseolus vulgaris</i>) | AAK38744 | 2,00E-05 |
| Elongation factor 1-alpha (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA37212 | 2,00E-05 |
| Component of 6.1 kDa polypeptide of photosystem II reaction center (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAA62296 | 2,00E-05 |
| Ferredoxin-I (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA99756 | 2,00E-05 |
| Leucine-rich repeat resistance protein-like protein (<i>Gossypium hirsutum</i>) | AAK70805 | 2,00E-05 |
| Membrane protein Mlo14 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564257 | 2,00E-05 |
| OSJNBa0032F06.25 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_474404 | 2,00E-05 |
| OSJNBa0043A12.28 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_474291 | 2,00E-05 |
| Proteinase inhibitor type II CEVI57 precursor (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AW217790 | 2,00E-05 |
| Unnamed protein product (<i>Pisum sativum</i>) | CAA33557 | 2,00E-05 |
| Vesicle soluble NSF attachment protein | XP_479265 | 2,00E-05 |
| LHCB4.2; chlorophyll binding (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_850545 | 3,00E-05 |
| OSJNBa0083D01.25 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_472224 | 3,00E-05 |
| Phosphoribosylanthranilate isomerase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_174234 | 3,00E-05 |
| P-Protein precursor (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAB16918 | 3,00E-05 |
| Putative protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM20492 | 3,00E-05 |
| Senescence-associated cysteine protease | AAL60580 | 3,00E-05 |
| UBQ10 (POLYUBIQUITIN 10) | NP_849301 | 3,00E-05 |
| 3'(2') 5'-BISPHOSPHATE NUCLEOTIDASE-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB81051 | 4,00E-05 |
| DNA-binding protein pabf (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAA50196 | 4,00E-05 |
| Light regulated protein-like protein (<i>Thellungiella halophila</i>) | AAM19704 | 4,00E-05 |
| Mitogen-activated protein kinase homolog NTF4 | Q40532 | 4,00E-05 |
| Putative ripening-related P-450 enzyme (<i>Vitis vinifera</i>) | AJ237995 | 4,00E-05 |
| F11A17.20 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AD49774 | 5,00E-05 |
| Glutation-S-transferase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAB61885 | 5,00E-05 |
| Glycine cleavage system protein H precursor | P49361 | 5,00E-05 |
| P-protein-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAM91322 | 5,00E-05 |
| Pathogenesis-related protein-like protein (<i>Oryza sativa</i>) | AY224422 | 5,00E-05 |
| mRNA-binding protein precursor tomato | AAD21574 | 6,00E-05 |
| Potato ubiquitin | P69324 | 6,00E-05 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_567995 | 6,00E-05 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564173 | 6,00E-05 |
| OSJNBb0012E08.10 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_472371 | 7,00E-05 |
| Adenosine diphosphate glucose pyrophosphatase (<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>) | CAC32847 | 8,00E-05 |
| AT5g01530/F7A7_50 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAK82524 | 8,00E-05 |
| Cytochrome c1 precursor (<i>Solanum tuberosum</i>) | AAB28813 | 8,00E-05 |
| Cellulose syntase | NM129120 | 8,00E-05 |
| Ethylene receptor homolog (<i>Solanum tuberosum</i>) | AAD12777 | 9,00E-05 |
| Aminotransferase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB03068 | 1,00E-04 |
| At2g15480 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAU94428 | 1,00E-04 |
| Bundle sheath defective protein 2 (<i>Zea mays</i>) | AAD28599 | 1,00E-04 |
| CR9 (<i>Cucumis sativus</i>) | BAA06153 | 1,00E-04 |
| DnaJ-like protein-like (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABB55383 | 1,00E-04 |
| GAPB (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_174996 | 1,00E-04 |
| Proton pump interactor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_112397 | 1,00E-04 |
| T6D22.20 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF79827 | 1,00E-04 |
| Type I (26 kD) CP29 polypeptide (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA43590 | 1,00E-04 |
| Unknown (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA81880 | 1,00E-04 |
| PS60 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | X96932 | 1,00E-04 |
| ATPP2-B15 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_563837 | 2,00E-04 |

| | | |
|---|-----------|----------|
| Fatty acid hydroperoxide lyase (<i>Solanum tuberosum</i>) | CAC44040 | 2,00E-04 |
| FH protein interacting protein FIP1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAF14549 | 2,00E-04 |
| Glycine dehydrogenase (decarboxylating) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_180178 | 2,00E-04 |
| Glycine hydroxymethyltransferase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_568488 | 2,00E-04 |
| Glycolate oxidase (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AAC33509 | 2,00E-04 |
| Chlorophyll a/b binding protein CP29 (<i>Vigna radiata</i>) | AAD27878 | 3,00E-04 |
| Multiple stress-associated zinc-finger | AAN15744 | 3,00E-04 |
| Sadtomato protein (<i>Capsicum annuum</i>) | AAS77347 | 3,00E-04 |
| Saline responsive OSSRIII protein (<i>Oryza sativa</i>) | AAM00365 | 3,00E-04 |
| Type I (26 kD) CP29 polypeptide (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA43590 | 3,00E-04 |
| Unknown (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABA40431 | 3,00E-04 |
| Unnamed protein product (<i>Silene latifolia</i>) | CAA26281 | 4,00E-04 |
| Probable deoxyguanosine kinase F28P5.7 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT024528 | 5,00E-04 |
| TSI-1 protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA75803 | 5,00E-04 |
| Hypothetical protein AT4g08320 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB86422 | 5,00E-04 |
| myb-related protein 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB89341 | 6,00E-04 |
| At3g10130 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAW38980 | 7,00E-04 |
| DNA-binding protein DF1 (<i>Pisum sativum</i>) | BAB41080 | 7,00E-04 |
| Histone H2A (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AY081836 | 7,00E-04 |
| Translationally controlled tumor protein | AAT65968 | 7,00E-04 |
| UBQ12 (UBIQUITIN 12) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_564675 | 7,00E-04 |
| Unknown (<i>Solanum tuberosum</i>) | ABB29921 | 7,00E-04 |
| Cytochrome P-450LXXIA1 (<i>Oryza sativa</i>) | ABA97037 | 8,00E-04 |
| SNF1-related kinase complex anchor | AAG41995 | 8,00E-04 |
| At1g19150 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAV85677 | 1,00E-03 |
| ATP-dependent protein binding protein, putative | AAW46345 | 1,00E-03 |
| Ankyrin-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB03143 | 4,00E-03 |
| Cell wall protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CAA54561 | 2,00E-02 |
| AT4g33010/F26P21_130 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL24244 | 4,00E-02 |

Tabela 5. Lista completa de anotação da coleção de ESTs reprimidos

| Anotação | No. de acesso no GenBank | Valor e |
|--|---------------------------------|----------------|
| Disease resistance protein BS2 (<i>Capsicum chacoense</i>) | BM173590 | 6,00E-53 |
| F5O11.17 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AE005172 | 2,00E-45 |
| Pathogenesis-related protein 3 - kidney bean | DW359656 | 2,00E-40 |
| SET-domain-containing protein (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AJ294474 | 2,00E-37 |
| Thioredoxin domain containing 1 | AAH94308 | 3,00E-33 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AC236289 | 2,00E-32 |
| Cyclin (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | Z36397 | 2,00E-32 |
| Ferric leghemoglobin reductase-2 precursor | NP_105199 | 6,00E-30 |
| Potato cab | BI176415 | 6,00E-30 |
| 26S proteasome regulatory particle non-ATPase subunit5 (<i>Oryza sativa</i>) | AB070259 | 6,00E-30 |
| Pyruvate/2-oxoglutarate dehydrogenase | AJ223204 | 6,00E-29 |
| RAN GTPase-activating protein 2 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_121137 | 6,00E-29 |
| Putative esterase (<i>Oryza sativa</i>) | NM_197003 | 6,00E-29 |
| Probable transporter (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_114644 | 6,00E-29 |
| Pectinesterase 1 precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BAB01985 | 8,00E-29 |
| Cystein protease inhibitor | NM_129651 | 1,00E-28 |
| Apyrase precursor | BF949644 | 3,00E-28 |
| At2g31040/T16B12.15 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY090339 | 4,00E-28 |
| At2g21320/F3K23.8 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY125573 | 1,00E-27 |
| Putative chromomethylase (<i>Oryza sativa</i>) | NM194511 | 6,00E-27 |
| Ubiquinol--cytochrome-c reductase | CAA55862 | 2,00E-26 |
| S-receptor kinase homolog (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP200898 | 2,00E-25 |
| Hypothetical protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | BAD95796 | 2,00E-21 |
| Carbonyl reductase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BM367494 | 5,00E-21 |
| Leukotriene-A4 hydrolase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_196856 | 2,00E-20 |
| Putative reverse transcriptase | AJ535749 | 6,00E-20 |
| Chloroplast latex aldolase-like protein | AAV74407 | 3,00E-18 |
| Predicted protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT024548 | 4,00E-18 |
| ZW10 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_128850 | 2,00E-17 |
| AT5g02160 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAG40386 | 4,00E-17 |
| Phytoene dehydrogenase-like (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB023033 | 9,00E-17 |
| Proteinase homolog F19B15.70 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB04405 | 9,00E-17 |
| Mlo protein-like (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_201398 | 9,00E-17 |
| Lethal leaf spot 1-like protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF321984 | 9,00E-17 |
| NIFS-like protein CpNifsp precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF419347 | 1,00E-16 |
| Gip1-like protein (<i>Petunia x hybrida</i>) | CAD10105 | 2,00E-16 |
| Receptor-like protein kinase (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AB073628 | 2,00E-16 |
| Cytochrome oxidase subunit III | DT003457 | 3,00E-16 |
| Unknown (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF40539 | 3,00E-16 |
| Contains similarity to NAM (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM125774 | 5,00E-16 |
| 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF331705 | 1,00E-15 |
| J1P (<i>Daucus carota</i>) | AF308737 | 2,00E-15 |
| Similar to oxidases (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | DT042888 | 2,00E-15 |
| Probable phytochelatin synthetase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NC_003076 | 2,00E-15 |
| Permease 1 - common ice plant | AAM20536 | 3,00E-15 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT024841 | 6,00E-15 |
| bZIP transcription factor BZI-2 (<i>Nicotiana tabacum</i>) | AY045572 | 6,00E-15 |
| RPS6-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AB057424 | 6,00E-15 |
| Programmed cell death protein | AY01317 | 8,00E-15 |

| | | |
|---|-----------|----------|
| Hypothetical protein AAD30599.1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY452044 | 8,00E-15 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | DY449891 | 1,00E-14 |
| Ubiquitin / ribosomal protein CEP52 - wood tobacco | DW36024 | 1,00E-14 |
| Resistance complex protein I2C-3 - tomato (fragment) | AF004880 | 1,00E-14 |
| 2-oxoglutarate dehydrogenase, E3 subunit (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AJ223804 | 2,00E-14 |
| Probable sugar transporter (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAD20917 | 2,00E-14 |
| Actin-depolymerizing factor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BU721836 | 2,00E-14 |
| Hypothetical protein At2g03200 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CAB79699 | 2,00E-14 |
| DNA binding protein E4/E8BP-1 - tomato | CO723926 | 2,00E-14 |
| Late embryogenesis (Lea)-like protein - tomato | CD002820 | 2,00E-14 |
| Response regulator 17 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF305722 | 2,00E-14 |
| Ve resistance gene analog (<i>Solanum tuberosum</i>) | AF467245 | 2,00E-14 |
| Profilin (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AJ447553 | 3,00E-14 |
| Pectate lyase-like protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM_101064 | 3,00E-14 |
| 26S protease regulatory subunit 6B homolog (<i>Solanum tuberosum</i>) | BG593323 | 3,00E-14 |
| Verticillium wilt disease resistance protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AF272367 | 3,00E-14 |
| Hypersensitive-induced response protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY086631 | 4,00E-14 |
| Plastid-targeted class I fructose-1, 6-bisphosphate | AY234786 | 1,00E-13 |
| Unknown protein (<i>Oryza sativa</i>) | XP_493880 | 2,00E-13 |
| Acyl-peptide hydrolase-like (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BF221335 | 2,00E-13 |
| myb-related transcription factor MYB59 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | H96782 | 4,00E-13 |
| Contains similarity to unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | DY256566 | 9,00E-13 |
| Manganese superoxide dismutase | NM111929 | 2,00E-12 |
| 2-oxoglutarate/malate translocator (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CD028213 | 2,00E-12 |
| MUK11.15 unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | DY449891 | 3,00E-12 |
| Hypothetical protein protein containing a von Willebrand factor type A domain (<i>Oryza sativa</i>) | AC069158 | 5,00E-12 |
| Ras-related protein RHN1 (<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>) | CN655361 | 8,00E-12 |
| Putative thiamin pyrophosphokinase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM179249 | 2,00E-11 |
| OSJNBb0022F23.11 (<i>Oryza sativa</i>) | XP_472843 | 3,00E-11 |
| Lon protease homolog 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | CK148687 | 3,00E-11 |
| FAD flavoprotein | NC_003071 | 6,00E-11 |
| Lox homologus | CAA05278 | 9,00E-11 |
| Dehydrin homolog Cl7 (<i>Petunia x hybrida</i>) | DY306117 | 3,00E-10 |
| Pirin-like protein (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | AL3506014 | 3,00E-10 |
| Pectinesterase (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AAL49785 | 4,00E-10 |
| Cellulase (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CN745713 | 4,00E-10 |
| Transcription factor ZFP38 (<i>Oryza sativa</i>) | AY377427 | 5,00E-10 |
| CycD3;2 (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | DY523920 | 6,00E-10 |
| Extensin class I (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | CK574987 | 1,00E-09 |
| Atranbp1a (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NM125246 | 1,00E-09 |
| Stearoyl-acyl carrier protein desaturase (<i>Sesamum indicum</i>) | D42086 | 3,00E-09 |
| Transcription initiation factor IIB (TFIIB) (<i>Glycine max</i>) | AAB09756 | 3,00E-09 |
| TFL1 (<i>Vitis vinifera</i>) | AY260166 | 4,00E-09 |
| At2g21330/F3K23.9 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AY090291 | 4,00E-09 |
| 2-Carboxyarabinitol 2 | CI400977 | 4,00E-09 |
| Multiple stress-responsive zinc-finger protein (<i>Oryza sativa</i>) | AF140722 | 4,00E-09 |
| P0683B11.27 (<i>Oryza sativa</i>) | NM191775 | 4,00E-09 |
| NIFS-like protein CpNifsp precursor (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF419347 | 4,00E-09 |
| Ubiquitin carrier protein 4 (<i>Glycine max</i>) | AF180143 | 4,00E-09 |
| Hypothetical protein F18E5.160 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_565294 | 5,00E-09 |
| Disease resistance protein homolog (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | NP_195388 | 8,00E-05 |
| Unknown protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | BT024841 | 3,00E-04 |
| PINHEAD protein (ZWILLE protein) (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | AF174272 | 5,00E-04 |