

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**  
**Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal**

**Any Caroliny Pinto Rodrigues**

**PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* AFETADOS PELO DISTÚRBO FISIOLÓGICO DO EUCALIPTO (DFE)**

**Diamantina**

**2020**

**Any Caroliny Pinto Rodrigues**

**PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* AFETADOS PELO DISTÚRBO FISIOLÓGICO DO EUCALIPTO (DFE)**

Tese apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal, área de concentração em Recursos Florestais, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Luiz de Laia

**Diamantina**

**2020**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R696p

Rodrigues, Any Caroliny Pinto

Perfil de expressão gênica em híbridos de *eucalyptus grandis* x *eucalyptus urophylla* afetados pelo distúrbio fisiológico do eucalipto (DFE) / Any Caroliny Pinto Rodrigues, 2020.

142 p.: il.

Orientador: Marcelo Luiz de Laia

Tese (Doutorado– Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

1. Expressão gênica. 2. Distúrbio fisiológico do eucalipto (DFE). 3. Doença abiótica. 4. Genômica florestal. 5. RNA-seq. 6. Estresse abiótico. I. Laia, Marcelo Luiz de. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 634.97342**

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM

Bibliotecária: Viviane Pedrosa – CRB6/2641



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

ANY CAROLINY PINTO RODRIGUES

**PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA EM HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* AFETADOS PELO DISTÚRBO FISIOLÓGICO DO EUCALIPTO (DFE)**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, nível Doutorado, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Luiz de Laia

Data de aprovação: 08/06/2020

**Prof. Dr. Marcelo Luiz de Laia**  
Orientador  
UFVJM

**Dr. Edival Ângelo Valverde Zauza**  
Gerente de Tecnologia  
SUZANO S.A.

**Dr. Helton Maycon Lourenco**  
Esp. Solos, Manejo e Ecofisiologia  
Veracel Celulose S.A.

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Janaína Fernandes Gonçalves**  
Membro  
UFVJM

**Dr<sup>ª</sup>. Karina Carnielli Zamprogno Ferreira**  
Gerente de P&D Florestal  
International Paper S.A.

**Dr. Rodrigo Neves Graça**  
Head of Plant Breeding  
FuturaGene

DIAMANTINA - MG



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Luiz de Laia, Servidor**, em 11/06/2020, às 15:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Edival Ângelo Valverde Zauza, Usuário Externo**, em 12/06/2020, às 09:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **KARINA CARNIELLI ZAMPROGNO FERREIRA, Usuário Externo**, em 15/06/2020, às 08:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Janaína Fernandes Gonçalves, Coordenadora**, em 15/06/2020, às 17:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Neves Graça, Usuário Externo**, em 17/06/2020, às 00:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **HELTON MAYCON LOURENCO, Usuário Externo**, em 18/06/2020, às 16:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0112364** e o código CRC **30D31225**.

Aos meus pais e ao meu irmão por tudo que representam em minha vida e, de maneira mais especial, pelos últimos meses!

Dedico com amor e gratidão!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter sempre iluminado e guiado o meu caminho, por ter me dado fé e coragem para seguir a caminhada.

Aos meus pais, Marly e Joaquim, os grandes mestres da minha vida! Agradeço o amor, apoio, incentivo e confiança incondicionais.

Ao meu irmão, Thiago, que é o meu companheiro, cúmplice e melhor amigo. Agradeço por tornar sempre os meus dias mais alegres e por ter sido força quando eu mais precisei.

À minha cunhada, por todo o suporte, força, ajuda e carinho que foram essenciais.

A toda a minha família, em especial meus tios Marley, Flávio, Jorge e Mara, que são minha grande fonte de inspiração.

A meus eternos amigos Laís (Grazy) e Luiz Paulo (Peré) que foram e são verdadeiros anjos em minha vida.

À Ana pelo laço de amizade sincero e verdadeiro que construímos nesta caminhada.

Ao professor Marcelo Luiz de Laia pela oportunidade de realizar o mestrado e doutorado, pela confiança, orientação, incentivo, paciência e pelos valiosos ensinamentos.

À banca examinadora, Janaína Fernandes Gonçalves, Karina Carnielli Zamprogno, Rodrigo Neves Graça, Helton Maycon Lourenço e Edival Angelo Zauza, pela efetiva contribuição ao trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Genética e Biotecnologia Florestal, especial ao Tarcísio, Tamira, Renata e Farley pela significativa contribuição durante o desenvolvimento da pesquisa.

À empresa VERACEL pelo apoio, fomento e colaboração com a pesquisa.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) pelo suporte financeiro e possibilidade de realização desta pesquisa.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal pela oportunidade de trabalho.

A todos os professores e funcionários da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri por toda assistência, ensinamentos e aprendizado.

A todos os amigos e colegas que fiz em Diamantina pelos eternos laços de amizade e pelos maravilhosos momentos vividos.

À bela Diamantina, por me acolher tão bem durante todos esses anos, meus sinceros agradecimentos!

Aos essenciais e antigos e eternos amigos por estarem sempre comigo, mesmo existindo a distância.

E, por fim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a concretização deste trabalho.

Minha eterna gratidão!

## RESUMO

No início dos anos 2000 o Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE) passou a ser relatado como o principal responsável pela redução da produtividade em plantios comerciais de eucalipto localizados nos litorais do Espírito Santo e da Bahia. Os sintomas causados por essa desordem fisiológica incluem perda da dominância apical, trincamento de casca e emissão de brotações adventícias ao longo do tronco, comprometendo o crescimento e a produtividade, podendo levar a morte de genótipos muito suscetíveis. A hipótese prevalente é de que o DFE é causado por fatores abióticos e que o padrão de expressão de genes implicados em vias metabólicas seja responsável pela resposta de resistência ou suscetibilidade. Para tanto, analisou-se o padrão de expressão gênica total em folhas de plantas com sintomas e em plantas sem sintomas de três clones de eucalipto. A tecnologia utilizada para detectar e quantificar os transcritos foi RNA-Seq na plataforma Illumina HiSeq 4000 *paired-end*. O sequenciamento resultou em 14,00 G de bases brutas, 13,60 G de bases limpas que compreendem 46,3 milhões de sequências brutas e 45,4 milhões de sequências limpas. Após o processo de mapeamento dos *reads* no genoma do eucalipto, pode-se observar que a porcentagem de mapeamento foi maior que 95%. Uma análise mais refinada do processo de mapeamento mostra que acima de 50% dos *reads* mapeados ocorreram em regiões anotadas, em torno de 6 a 7% não foram mapeados, entre 6 e 8% foram alinhados em múltiplos locais, 4% foram alinhados em região não anotada e 30%, aproximadamente, foram ambíguos, impedindo o correto alinhamento. Foram obtidos 2.819 exons diferencialmente expressos (DEG) entre plantas com sintomas e plantas sem sintomas. Desse total, 1.265 (44,87%) foram induzidos e 1.554 (55,13%) foram reprimidos nas plantas com sintomas de DFE. A classificação desses exons quanto a possíveis funções. Assim, 1.064 exons diferencialmente expressos possuem similaridade com genes catalogados no NCBI. Alguns desses DEG compõem vias bioquímicas/metabólicas/biossíntese implicadas com estresse abiótico. Esses dados estão descritos e serão relacionados com a literatura disponível.

**Palavras-Chave:** Expressão Gênica; Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE); Doença Abiótica; Genômica Florestal; RNA-Seq; Estresse Abiótico.



## ABSTRACT

In the early 2000s, the Physiological Disturbance of the Eucalyptus (DFE) started to be reported as the main responsible for the reduction of productivity in commercial eucalyptus plantations located on the coast of Espírito Santo and Bahia. Symptoms caused by this physiological disorder include loss of apical dominance, cracking of the bark and the emission of adventitious shoots along the trunk, compromising growth and productivity, which can lead to the death of very susceptible genotypes. The prevailing hypothesis is that DFE is caused by abiotic factors and that the pattern of expression of genes involved in metabolic pathways is responsible for the response of resistance or susceptibility. So much, the pattern of total gene expression was analyzed in leaves of plants with symptoms and in plants without symptoms of three clones of eucalyptus. The technology used to detect and quantify the transcripts was RNA-Seq on the Illumina HiSeq 4000 paired-end platform. The sequencing resulted in 14.00 G of crude bases, 13.60 G of crude bases that comprise 46.3 million crude strings and 45.4 million of clean strings. After the reading mapping process in the eucalyptus genome, it can be seen that the mapping percentage was greater than 95%. A more refined analysis of the mapping process shows that over 50% of the mapped reads occurred in annotated regions, around 6 to 7% were not mapped, between 6 and 8% were aligned in multiple locations, 4% were aligned in the region not noted and approximately 30% were ambiguous, preventing correct alignment. 2,819 differentially expressed exons (DEG) were obtained between plants with symptoms and plants without symptoms. Of this total, 1,265 (44.87%) were induced and 1,554 (55.13%) were suppressed in plants with symptoms of DFE. The classification of these exons for possible functions. Thus, 1,064 differentially expressed exons have similarity with genes cataloged in the NCBI. Some of these DEGs comprise biochemical / metabolic / biosynthesis pathways involved with abiotic stress. These data are described and will be related to the available literature.

**Keywords:** Gene Expression; Eucalyptus Physiological Disorder (DFE); Abiotic disease; Forest Genomics; RNA-Seq; Abiotic Stress.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2	HIPÓTESE .....	12
3	OBJETIVOS .....	12
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
4.1	Florestas plantadas e o eucalipto .....	13
4.2	Caracterização do Problema: Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE) .....	15
4.3	Respostas moleculares de plantas aos estresses abióticos .....	18
4.4	Sequenciamento do Transcritoma: RNA-seq e as Novas Tecnologias de Sequenciamento .....	22
4.5	Plataforma de Sequenciamento <i>Illumina HiSeq 4000</i> .....	30
5	MATERIAL E MÉTODOS .....	32
5.1	Material vegetal .....	32
5.2	Extração de RNA Total .....	38
5.3	Sequenciamento do RNA .....	44
5.4	Análise dos resultados do sequenciamento .....	44
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
6.1	Qualidade do material genético extraído .....	47
6.2	Resumo dos dados de sequenciamento.....	50
6.3	Transcritos diferencialmente expressos (DE).....	51
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS .....	71
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72
9.	APÊNDICE A – Lista dos exons diferencialmente expressos com a respectiva anotação e respectivo tamanho em pares de bases.....	89

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE) é relatado como o principal responsável pela redução da produtividade em plantios comerciais de eucalipto localizados nos litorais do Espírito Santo e Bahia (REIS, 2011; RODRIGUES, 2013), e recentemente, tem sido observado também em plantios comerciais localizados em algumas regiões no interior do Maranhão (CÂMARA et al., 2018). Os sintomas causados por essa desordem fisiológica incluem, perda da dominância apical, trincamento de casca e emissão de brotações adventícias ao longo do tronco, comprometendo o crescimento e a produtividade, podendo levar a morte de genótipos muito suscetíveis. (SILVA et al., 2010).

Acredita-se que esta desordem fisiológica seja resultante de interações entre fatores ambientais adversos, relacionados ao clima, que, em genótipos suscetíveis, causam alterações no metabolismo celular e na expressão gênica desses genótipos, provocando alterações nas características fenotípicas normais da planta. No entanto, a sua etiologia exata ainda é desconhecida (SILVA et al., 2010).

Modelos de previsão climática recentes indicam que a tendência atual mundial é a ocorrência de eventos climáticos extremos, com períodos prolongados de seca e aumento na sazonalidade de precipitação, aumentando a probabilidade das plantas experimentarem múltiplos estresses no campo, incluindo a pressão adicional de patógenos e pragas (LESK et al., 2016; IPCC, 2018; SOARES et al., 2019). Em vista disso, é de grande importância entender os mecanismos de respostas das plantas em nível celular e molecular frente a tais condições ambientais, informações estas, fundamentais para os programas de melhoramento genético.

As respostas das plantas aos estresses abióticos envolvem muitos genes e mecanismos moleculares e bioquímicos. Uma rede regulatória complexa está envolvida na indução de diversos genes em resposta aos estresses. Desta forma, as plantas lidam com as mudanças ambientais ativando cascatas de sinalização de sinais que controlam e coordenam as respostas fisiológicas e bioquímicas necessárias para a adaptação. Como resposta às injúrias recebidas, um grande número de genes é ativado ou desligado, cujos produtos podem estar envolvidos em diversas funções adaptativas de condições de estresse. Neste sentido, o estresse desencadeia uma ampla gama de respostas nas plantas, que vão desde mudanças no crescimento e desenvolvimento até alterações no metabolismo celular e nos padrões de expressão gênica (TAIZ e ZEIGER, 2013; KIMOTHO et al., 2019).

Existem relatos na literatura a respeito do Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE) e sua relação com: qualidade da madeira, produção de celulose, variáveis dendrométricas e efeito dos níveis dos distúrbios no produto final (REIS, 2011; RODRIGUES, 2013; SILVA, 2016; CÂMARA et al., 2018). Porém, são escassos os estudos que analisem o padrão de expressão gênica visando identificar genes relacionados à tolerância ou suscetibilidade ao DFE.

Neste sentido, a partir de estudos da expressão gênica, verifica-se que é possível caracterizar genes cuja expressão foi alterada. Estes genes podem suscitar alguma informação relevante que poderão indicar as causas de ocorrência dessa anomalia fisiológica (CORDEIRO, 2003; GRIFFITHS et al., 2009). Em estudo recente foram demonstrados indícios de que genótipos com diferentes graus de tolerância ao DFE apresentam expressão gênica diferencial em relação a genótipos saudáveis, com ativação e/ou repressão de determinados genes, no entanto, as análises não permitiram apontar quais são os genes específicos associados a resposta ao DFE (RODRIGUES, 2015). Uma análise efetiva do perfil da expressão gênica pode contribuir para o entendimento do mecanismo de resistência de genótipos de eucalipto ao estresse.

Diante do exposto, observa-se que o entendimento das bases moleculares envolvidas em plantas com sintomas da doença representa um importante avanço para a compreensão do comportamento das plantas afetadas pelo DFE. Assim, o conhecimento acerca dos mecanismos de resposta ao estresse em nível molecular torna-se de extrema importância para assistir programas de melhoramento genético na seleção de genótipos de *Eucalyptus* spp. tolerantes ao DFE, tornando possível intervir ou melhorar a tolerância dos genótipos sob condições edafoclimáticas adversas.

## **2 HIPÓTESE**

O Distúrbio Fisiológico do Eucalipto é decorrente de estresse causado por fatores abióticos e, em resposta a este estresse, a planta ativa ou desativa a expressão de genes implicados em vias metabólicas que levam à sintomatologia observada a campo.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Identificar genes responsivos ao Distúrbio Fisiológico do Eucalipto em híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* por meio da técnica RNA-Seq.

### 3.2 Objetivos específicos

1. Comparar a expressão gênica em genótipos de eucalipto que apresentavam sintomas de DFE *versus* genótipos que não apresentavam a sintomatologia observada;
2. Relacionar genes diferencialmente expressos com vias metabólicas;
3. Relacionar vias metabólicas com a ocorrência dos sintomas elicitados pelo DFE.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Florestas plantadas e o eucalipto

O grupo de plantas denominado, popularmente, eucalipto (família Myrtaceae, tribo Eucalypteae) é composto por sete gêneros (WILSON et al. 2005). Dentre estes, os gêneros *Corymbia* e *Eucalyptus* (HILL e JOHNSON 1995; PARRA-O et al., 2009) são aqueles com o maior número de espécies cultivadas com fins econômicos.

Natural da Oceania, onde a maioria possui sua origem na Austrália, o eucalipto agrupa cerca de 900 espécies já descritas, além de muitas variedades e híbridos com interesse comercial (LADIGES et al., 2003; BOLAND et al., 2006; RITTER, 2014). Por apresentar particularidades, como rápido crescimento, ampla capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas, baixa exigência nutricional, facilidade para se regenerar e alta capacidade de ciclagem de nutrientes no perfil do solo, esta essência florestal destaca-se como uma das mais importantes na produção mundial de madeira plantada, sendo os seus maiores produtores o Brasil, China, Moçambique e EUA (FONSECA et al., 2010; GRATTAPAGLIA et al., 2012; IBÁ, 2019).

As árvores plantadas de eucalipto geram inúmeros produtos e subprodutos oferecendo múltiplos usos decorrentes do aproveitamento de suas folhas, cascas, madeira, resina, flores, frutos e galhos. O seu cultivo é destinado para os mais diversos fins, incluindo: óleos essenciais para indústrias farmacêuticas; produtos de limpeza e alimentos; setores de papel e celulose; setor de energia (lenha industrial e carvão vegetal); produção de produtos sólidos da madeira (serraria, aglomerados, madeira maciça e madeira industrializada); quebra-vento, mel e ornamentação (SCOLFORO, 2008; VALVERDE et al., 2012; IBÁ, 2019).

No Brasil, a eucaliptocultura tem se expandido para praticamente todas as regiões e representa importante papel econômico e social. Os últimos levantamentos do setor da indústria florestal mostram que o país possui uma área de 7,84 milhões de hectares de florestas plantadas (constituídas por eucalipto, pinus, teca, acácia, araucária e paricá), sendo predominantemente de eucalipto (73 % da área), os quais chegam a produzir comercialmente

um volume em torno de  $36,0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  de madeira. A maior concentração destas áreas ocorre nas regiões Sul e Sudeste (Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul), onde também estão localizadas as principais unidades industriais dos segmentos de celulose, papel e painéis de madeira industrializada. Estima-se, segundo dados mais recentes, que o setor florestal gerou cerca de 508 mil empregos diretos nos últimos anos. Considerando ainda os empregos indiretos e aqueles gerados pelo efeito de renda, o número chega a 3,8 milhões de beneficiados (MAPA, 2018; IBÁ, 2019).

Além de contribuir significativamente para o avanço da economia nacional, os plantios de árvores desempenham importante papel na prestação de serviços ambientais. Assim, contribuem diretamente na conservação ambiental ao reduzir significativamente a exploração sobre as florestas nativas e promovem diversos benefícios ecológicos como: a regulação dos ciclos hidrológicos, o controle da erosão e da qualidade do solo, a conservação da biodiversidade, a provisão de oxigênio para o planeta e contribuição na mitigação dos efeitos das mudanças climáticas. O setor industrial florestal é altamente comprometido com a preservação ambiental e possui cerca de 5,8 milhões de hectares certificados, garantindo a sustentabilidade e boas práticas do setor. Além disso, possui áreas naturais protegidas e conservadas na forma de Reserva Legal (RL), Área de Preservação Permanente (APP) e Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) (MAPA, 2018; IBÁ, 2019).

As elevadas produtividades das florestas brasileiras, fruto de nossas condições climáticas propícias e da tecnologia desenvolvida por empresas e instituições de pesquisa do país, permitiram grandes avanços e conquistas ao setor. Juntamente com os esforços bem-sucedidos do melhoramento genético convencional, houve também o desenvolvimento em larga escala de ferramentas biotecnológicas e moleculares para as espécies do gênero *Eucalyptus* com o objetivo de encontrar indivíduos cada vez mais superiores em crescimento, adaptação e qualidade da madeira (GRATTAPAGLIA e KIRST, 2008; GOLLE et al., 2009; DASGUPTA, 2011; PAIVA et al., 2011).

A hibridação interespecífica (cruzamento entre espécies) constitui uma das vantagens do gênero que contribui para este grande desempenho em produção. Hoje, os plantios clonais de híbridos prevalecem no país permitindo obter produtividades de 35 a 55  $\text{m}^3$  de madeira por ha/ano (ASSIS e MAFIA, 2007; CASTRO et al., 2016; IBÁ, 2019). Um dos híbridos mais utilizados e conhecidos no setor florestal e industrial brasileiro é o *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla* (*E. urograndis*). Este cruzamento reúne as melhores características do *E. grandis* (crescimento e qualidade da madeira) e do *E. urophylla* (adaptação e resistência a doenças, particularmente ao fungo, *Cryphonectria cubensis*, causador do cancro do eucalipto),

sendo ambos os genótipos de grande importância para uso industrial visando, principalmente, produção de papel e celulose, dentre outros fins (ASSIS e MAFIA, 2007; WILCKEN et al., 2008; FILHO; SANTOS, 2013).

Atualmente, com a expansão dos plantios de eucalipto para as diversas regiões brasileiras e com as alterações extremas das condições climáticas, é preciso adaptar as práticas silviculturais e o material genético a esta nova realidade. Neste sentido, a interação genótipo X ambiente constitui-se num dos maiores problemas dos programas de melhoramento de qualquer espécie (ASSIS, 2014).

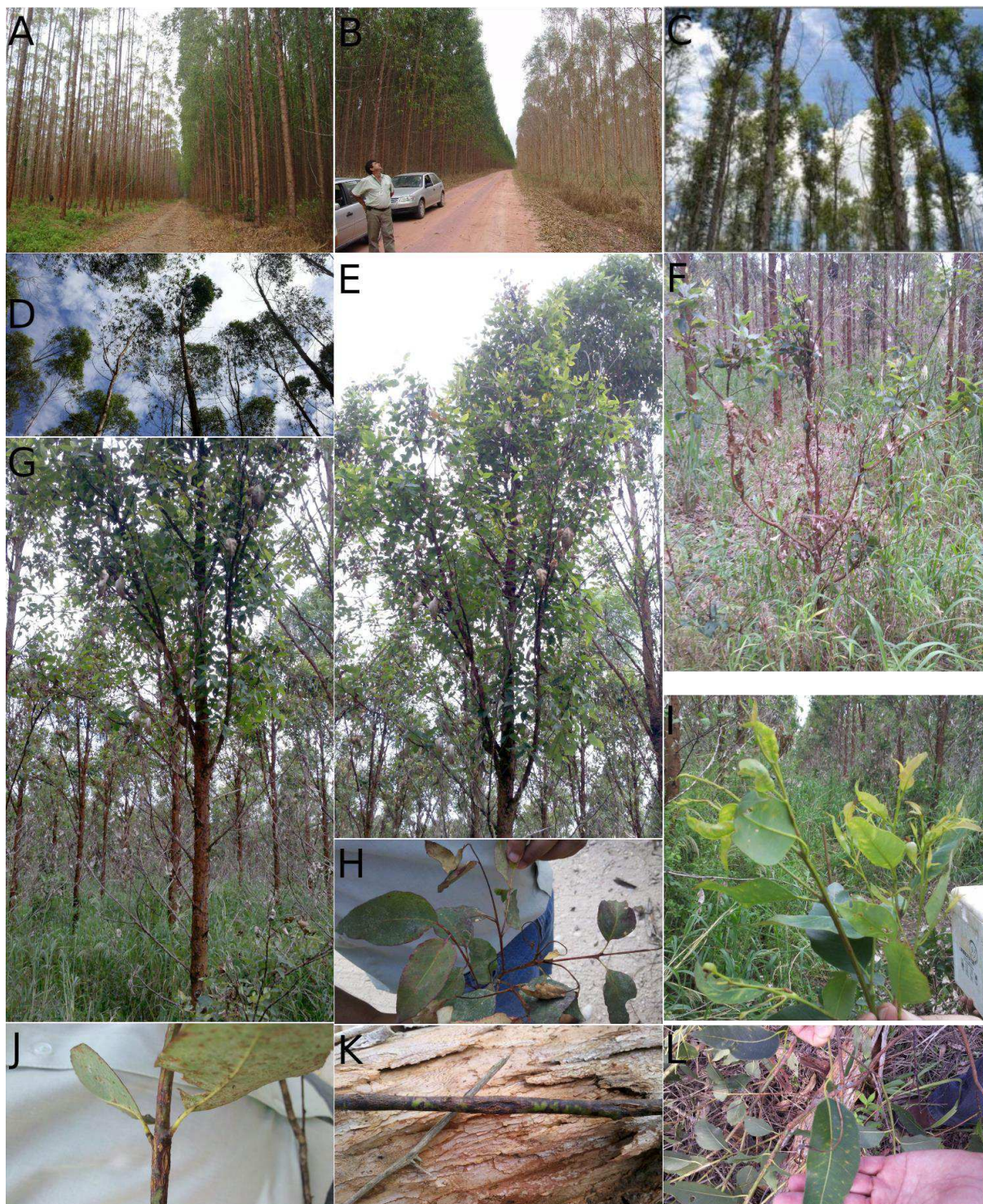
Desta forma, torna-se fundamental uma recomendação efetiva de materiais genéticos para os plantios comerciais, bem como a seleção de clones tolerantes a diversos ambientes e resistentes aos diversos estresses de natureza biótica e abiótica.

#### **4.2 Caracterização do Problema: Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE)**

Nos últimos anos, problemas de adaptação de alguns clones foram observados em empresas florestais produtoras de celulose, o que provocou queda significativa na produtividade dos plantios de eucalipto, causando danos irreparáveis e impactos negativos ao setor. Este fenômeno, conhecido por Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE), ocorreu em diferentes regiões do país e afetou, principalmente, plantios localizados nas regiões dos estados da Bahia e Espírito Santo (SILVA et al., 2010; REIS, 2011; RODRIGUES, 2013).

Os primeiros indícios desta doença foram observados em meados de 2000 na região norte do Espírito Santo e no extremo sul da Bahia. Os plantios afetados pelo distúrbio fisiológico apresentaram árvores com os mais variados sintomas, como: bifurcação da copa, seca de folhas, formação de brotações no tronco, intenso desfolhamento, rachaduras e tortuosidades ao longo do tronco, morte das porções apicais dos galhos e seca de ponteiro (Figura 1). Tais sintomas foram identificados como uma espécie de desordem no crescimento que compromete o desenvolvimento normal das árvores, podendo gerar, eventualmente, a morte de genótipos muito suscetíveis (SILVA et al., 2010; RODRIGUES, 2013; MAFIA, 2017).





**Figura 1** – Sintomatologia ocasionada pelo Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE). “A”, “B” e “C” = Eunápolis, BA (Autor: SILVA et al., 2010); “D” a “L” = Mucuri, ES (Autor: LAIA, ML, 2012).

Sua sintomatologia é muito semelhante à Seca de Ponteiros do Eucalipto do Vale do Rio Doce (SPEVRD), uma anomalia diagnosticada nos anos 80 em plantios de eucalipto no Vale do Rio Doce em Minas Gerais (FERREIRA, 1989) e, posteriormente, observada em outras regiões do Brasil, como na região norte do Paraná (FERREIRA e OLIVEIRA, 1993).



Além desta e de outras regiões deste estado, como em Arapoti – PR (MASHIO et al., 1996, 2000), a enfermidade já foi detectada em outros estados brasileiros como Goiás, Maranhão, Pará e São Paulo (FERREIRA, 1997; ASSIS, 2014). A SPEVRD apresenta-se com distintas denominações em decorrência de um ou mais sintomas adicionais, a depender das condições ambientais do local, como: Seca de Ponteiros Laterais; Distúrbio Abiótico do Eucalipto; Inadaptabilidade Clonal; Seca de Ponteiros do Eucalipto da Região do Vale do Rio Doce (SPEVRD); Seca de Ponteiros da Região de Arapoti (SPEA) e Declínio Clonal do Eucalipto.

Embora as verdadeiras causas que levam ao surgimento do DFE sejam ainda desconhecidas, sabe-se que esta disordem fisiológica está intimamente ligada a fatores abióticos, mais especificamente às condições locais de clima (eventos extremos ou alteração do padrão climático), que a depender do material genético utilizado, leva a modificações fisiológicas expressivas, comprometendo o desenvolvimento normal da planta (MAFIA et al., 2013; CÂMARA et al., 2018).

Neste sentido, plantios suscetíveis ao distúrbio são fortemente ameaçados pelas novas condições ambientais registradas, como frequente alternância entre excesso e falta de chuvas (inundações e secas prolongadas) seguido de variações bruscas de temperatura. Tais fatores, aliados à variação do tipo de solo local, dificultam a translocação de sais minerais e nutrientes do solo para a planta interferindo nos processos fisiológicos e afetando diretamente as trocas gasosas entre a planta e o meio (SILVA et al., 2010; MAFIA et al., 2013, 2017).

Associados com o fator genético da espécie, estes aspectos atuam como importantes agentes no surgimento e manifestação contínua dos sintomas, provocando anomalias no crescimento e consequente perda das características fenotípicas normais da planta através de alterações no metabolismo celular e na expressão gênica da espécie. Ou seja, a interação entre o fator genético da espécie com as condições do meio pode levar a alterações quanto à expressão gênica da planta, o que provoca uma expressão gênica diferencial gerando anomalias e provocando os distúrbios fisiológicos (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Os fatores limitantes da produtividade potencial do eucalipto, que está relacionada às condições ambientais do local de plantio, podem ser reduzidos por meio de adubação, irrigação e aplicação de técnicas silviculturais adequadas (RYAN et al., 2010; STAPE et al., 2010). Já as limitações fornecidas pelas características adaptativas das espécies são manipuladas por meio de programas de melhoramento genético, devidamente planejados com base nas características da espécie e do local de plantio (solo, disponibilidade hídrica, clima, etc) (GRATTAPAGLIA e KIRST, 2008). Em vista disso, atualmente o grande impasse do melhoramento genético é desenvolver genótipos com todas as características de interesse e

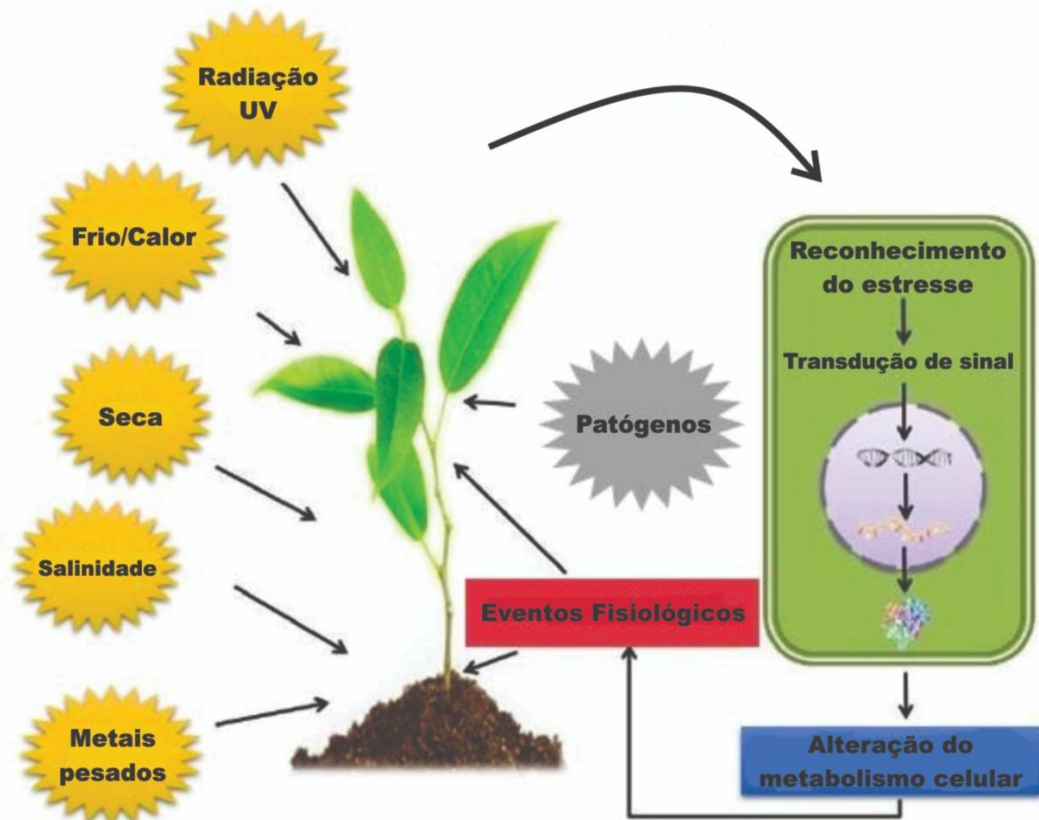
adaptados às condições do ambiente e às intempéries locais (pragas, doenças, geada, seca, Distúrbio Fisiológico).

### **4.3 Respostas moleculares de plantas aos estresses abióticos**

As plantas, como organismos sésseis, estão frequentemente expostas a inúmeras mudanças nas condições ambientais que muitas vezes podem ser desfavoráveis ou estressantes para o seu desenvolvimento e crescimento. Estas condições desfavoráveis incluem os estresses bióticos (como infecção por patógenos e ataques de herbívoros) e os estresses abióticos (como seca, calor, frio e deficiência de nutrientes). Neste sentido, o termo “estresse” é caracterizado como toda perturbação que surge a partir do excesso ou déficit de fatores físicos e químicos no meio, exercendo influência desvantajosa sobre a planta e dificultando o funcionamento normal dos sistemas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Os estresses abióticos são considerados um dos principais fatores responsáveis pela perda da produtividade agrícola, limitando os rendimentos médios esperados das principais culturas em mais de 50% (AHUJA et al., 2010; GRAYSON, 2013; MAHALINGAM, 2015). Variações hídricas e salinas, temperaturas extremas, alta exposição à radiação ultravioleta (UV), reduções das taxas de oxigênio bem como a exposição a níveis tóxicos de determinados nutrientes estão entre os maiores estresses abióticos que afetam negativamente o crescimento das plantas, impedindo que elas alcancem todo o seu potencial genético (WANG et al., 2003; CRAMER et al., 2011; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Os efeitos causados pelos estresses promovem desde alterações em nível morfológico e fisiológico quanto alterações em nível bioquímico e molecular. Como forma de sobrevivência e proteção às injúrias ambientais recebidas, as plantas desenvolveram diferentes estratégias de adaptação (GUDURU et al., 2019). No aspecto molecular, a forma delas lidarem com estas injúrias pode resultar em alterações no padrão da expressão gênica, através de múltiplas vias de percepção de estresse e transdução de sinais, os quais se manifestam por meio de mudanças aos níveis celular, fisiológico e morfológico. Neste sentido, as plantas percebem os estímulos e respondem a eles através de transdução de sinais para o núcleo da célula, o que permite a ativação de vários mecanismos de resposta ao estresse (MOHANTA et al., 2017) (Figura 2).

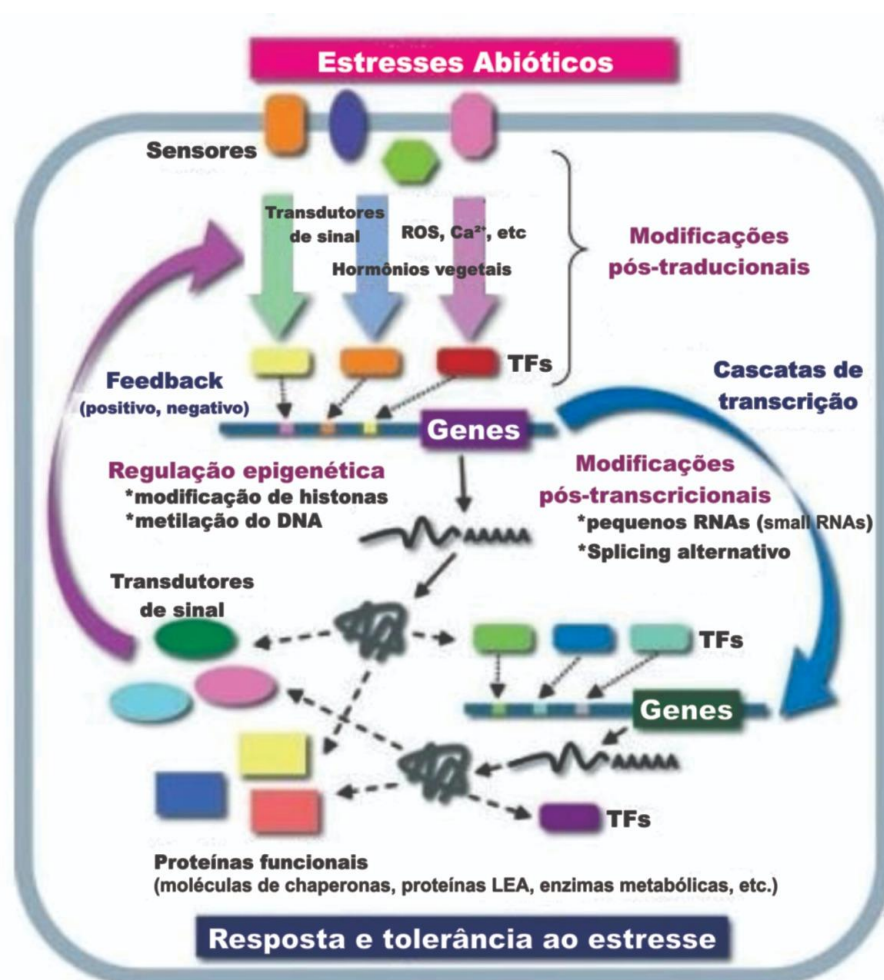


**Figura 2** – Mecanismos de percepção da planta em resposta a diferentes estresses. Adaptado de NETO (2016).

As tensões abióticas encontradas pelas plantas podem ser de natureza reversível ou irreversível, as quais são completamente dependentes das condições ambientais circundantes (CRAMER et al., 2011). Quando o estresse é rápido, seu efeito de baixo nível pode aumentar a transmissão de moléculas de sinalização, ocorrendo a transmissão de moléculas de sinalização que induzem as respostas de defesa, podendo gerar reversibilidade. Quando o estresse é prolongado e se torna grave, essas moléculas atuam como pró-oxidantes e se tornam sinais de desordem celular gerando doenças (KHAN et al., 2019).

As plantas são organismos multicelulares e suas respostas às tensões abióticas são complexas e dinâmicas. Em média, uma célula vegetal típica contém mais de 30.000 genes com inúmeras variantes transcritas e um número desconhecido de proteínas com mais de 200 modificações pós-traducionais. Isso reflete a complexidade do ambiente celular e as respostas ao estresse das plantas (QAZI et al., 2019). Neste processo, uma multiplicidade de moléculas de sinalização, incluindo genes, proteínas, metabólitos e hormônios, desempenham um papel crucial na superação das tensões (MOHANTA et al., 2017).

Em vista disso, verifica-se que as respostas aos estímulos se estabelecem a partir de uma complexa via de respostas, iniciando com a percepção do estresse pela membrana celular por meio de proteínas sensoriais, que desencadeiam uma sequência de eventos de ordem molecular, e consequente ativação de cascatas de transdução de sinais que controlam e coordenam as respostas fisiológicas e bioquímicas necessárias para a sua adaptação (Figura 3). Estas cascatas de transdução de sinal são a ligação entre o mecanismo de detecção e a resposta genética (HIRAYAMA e SHINOZAKI et al., 2010; HUANG et al., 2012).



**Figura 3** – Representação esquemática da cascata de eventos moleculares em resposta das plantas aos estresses abióticos. Adaptado de HIRAYAMA e SHINOZAKI, 2010.

Diversos genes são regulados em resposta a estes fatores e podem ser ativados ou reprimidos. Genes responsivos aos estresses (induzidos ou reprimidos) podem ser classificados em dois grupos funcionais. Um grupo que codifica proteínas envolvidas na cascata de sinalização e no controle transcricional (Proteínas Funcionais), como as quinases e os fatores de transcrição (FTs). O outro grupo (Proteínas Regulatórias) inclui proteínas que funcionam diretamente na proteção de membranas e tolerância da planta ao estresse, como

proteínas de choque térmico e chaperonas, proteínas LEA (do inglês, *Late embryogenesis abundant proteins*), osmoprotetores, aquaporinas, trocadores e transportadores de íons (SHINOZAKI et al., 2003).

Além disso, condições estressantes também alteram o metabolismo de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e metabólitos secundários (compostos fenólicos). O acúmulo de metabólitos nas plantas é considerado uma resposta ao estresse, sendo uma capacidade adaptativa para lidar com restrições estressantes durante ambientes de crescimento desafiadores e mutáveis que podem envolver a produção de tipos químicos complexos e interações na estabilização estrutural e funcional por meio de processos e vias de sinalização (SELMAR et al., 2013; ISAH, 2019). Os metabólitos secundários, portanto, constituem mecanismos de defesa e adaptação das plantas.

Para que a mensagem contida no genótipo (DNA) da espécie possa ser convertida em uma função celular, é necessário que os genes sejam transcritos em um outro tipo de molécula, um RNA (mRNA), que posteriormente será traduzido em proteínas. Assim, as proteínas estão diretamente envolvidas na resposta ao estresse das plantas, tanto na forma de proteínas estruturais quanto proteínas envolvidas na regulação do epigenoma, transcrito e metaboloma da planta. O RNA, portanto, é considerado uma “ponte” de transferência de informações biológicas entre o DNA e as proteínas (PÉREZ-CLEMENTE et al., 2013; STARK et al., 2019).

Acredita-se que o RNA celular é constituído principalmente de RNA ribossomal (rRNA 80 – 90%), RNA transportador (tRNA 5-15%), RNA mensageiro (mRNA 2-4%) e RNA não codificante (1%, ncRNA) com funções de regulação indefinidas. Os RNAs mensageiros são originados pela célula no momento da transcrição dos genes e são aqueles que contêm todas as informações necessárias para formar as proteínas sendo, portanto, considerados alvo de estudos de expressão dos genes (GRIFFITHS et al., 2009).

Diante do exposto, verifica-se que a reprogramação dos padrões de expressão gênica modifica os níveis de mRNA e de proteínas. Logo, o papel das proteínas na resposta ao estresse das plantas é crucial, uma vez que estas biomoléculas estão diretamente envolvidas na modelagem do novo fenótipo, ajustando as características fisiológicas ao ambiente alterado. Assim, a regulação da expressão gênica via mecanismos transcricionais e pós-transcricionais é indispensável tanto para o reconhecimento do estresse quanto para as respostas ao estresse (ALPTEKIN et al., 2017).

#### 4.4 Sequenciamento do Transcritoma: RNA-seq e as Novas Tecnologias de Sequenciamento

O conjunto completo de transcritos, RNA codificante (mRNA) e RNA não codificante (rRNA, tRNA, RNA estrutural, RNA regulatório e outros tipos de RNAs), produzidos por uma célula, tipo celular ou organismo específico é denominado de transcriptoma, do inglês *transcriptome*, ou transcritoma ou ainda transcrissoma. O transcritoma representa apenas as regiões do genoma que estão sendo expressas em um determinado momento e que são sujeitas a determinada condição fisiológica e/ou ambiental. Enquanto uma célula apresenta apenas um genoma estático, a mesma pode apresentar milhares de diferentes regiões a serem transcritas, já que a expressão de genes varia de acordo com o ambiente externo, condição fisiológica ou estágio de desenvolvimento do organismo (GRIFFITHS et al., 2009; MOROZOVA, 2009; WANG et al., 2009; BAYEGA et al., 2018).

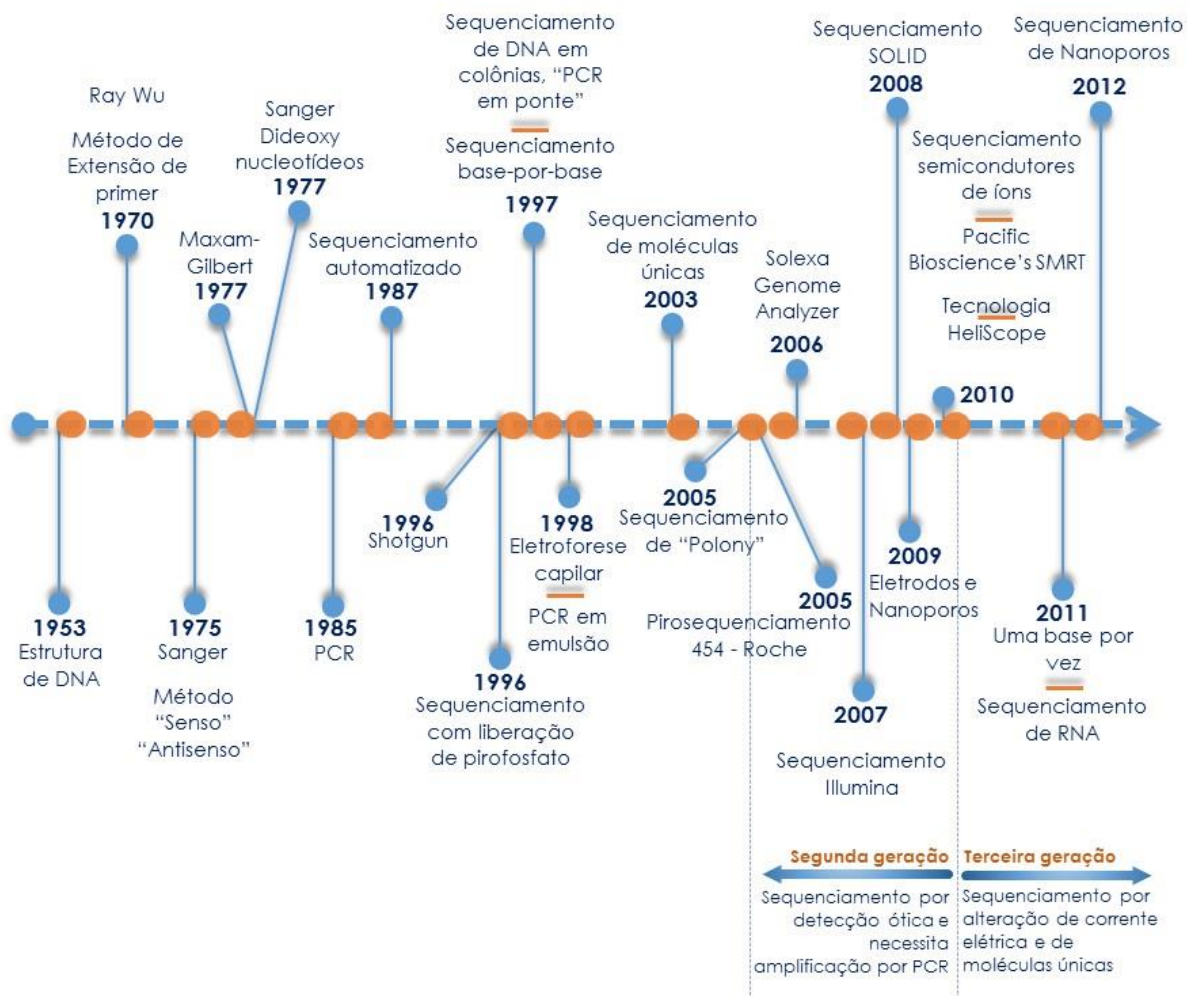
Assim, a análise do transcritoma tem sido uma abordagem essencial tanto para revelar a expressão de determinados genes na célula em uma dada condição específica, como para identificar os elementos funcionais do genoma e interpretar as variações fenotípicas produzidas por combinações de fatores genotípicos e ambientais, sendo, portanto, uma área vital para a compreensão da relação entre genótipo e fenótipo (GRIFFITHS et al., 2009; WANG et al., 2009; PEREIRA et al., 2017).

A transcritômica oferece informações importantes sobre estrutura, expressão e regulação da expressão gênica, as quais buscam entender como a maquinaria celular e molecular ativam a regulação da expressão dos genes responsivos aos mais variados estímulos. Neste sentido, ela tem sido aplicada em inúmeras áreas da pesquisa incluindo a compreensão e o diagnóstico de doenças, a identificação de genes e vias metabólicas que respondem a estresses ambientais diversos (bióticos e abióticos), o reconhecimento de novas redes de transcrição em sistemas complexos e a caracterização de genes diferencialmente expressos (LOWE et al., 2017; PEREIRA et al., 2017) em situações contrastantes.

Existem diversas ferramentas que permitem a análise do perfil transcricional. Inicialmente, por volta dos anos 1995, os estudos de transcritoma eram feitos utilizando a tecnologia de microarranjos de DNA (*microarray*), a qual era baseada em hibridação. Porém, uma grande barreira deste método era a necessidade de um conhecimento prévio das sequências dos genes, além do seu alto custo, o que inviabilizava esta técnica (MALONE et al., 2011). Ainda, novos métodos (agora baseados em sequenciamento) foram testados e incorporados aos estudos genômicos, como o Sequenciamento Sanger de cDNA ou ESTs

(*expressed sequence tag*), a análise serial da expressão gênica (SAGE), a análise da expressão de genes *cap* (*cap analysis of gene expression* – CAGE) e o sequenciamento massivo em paralelo (*massivelt parallel signature sequencing* – MPSS). No entanto, além de serem baseados na onerosa tecnologia de sequenciamento de Sanger, estes métodos são geralmente não quantitativos, possuem custos expansivos e apresentam limitado desempenho, o que dificultava bastante os estudos da expressão gênica (WANG, 2009; LOWE, 2017; TURCHETTO-ZOLET et al., 2017).

Em busca de maior eficiência e baixo custo nos processos de sequenciamento, houve, nas últimas décadas, um crescimento explosivo de tecnologias de sequenciamento genômico. O desenvolvimento recente e a chegada no mercado de diferentes plataformas de alto desempenho, as chamadas plataformas de Sequenciamento de Nova Geração (NGS – *Next-Generation Sequencing*), renderam um enorme potencial para revolucionar o campo da transcritômica (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017; STARK et al., 2019). As principais contribuições das metodologias moleculares para o desenvolvimento de sequenciadores, os quais culminaram nas principais técnicas atualmente conhecidas, podem ser cronologicamente observadas conforme descrito na Figura 4.



**Figura 4** – Cronologia dos principais eventos e principais técnicas moleculares. Fonte: modificado de TURCHETTO-ZOLET et al., 2017.

Em vista disso, tecnologias como o sequenciamento de mRNA em larga escala (RNA-Seq) surgiram como técnica de ponta para análise do transcriptoma. Esta técnica consiste no sequenciamento direto de transcritos através de plataformas de Sequenciamento de Nova Geração – NGS, onde um conjunto de RNA de interesse é convertido em uma biblioteca de fragmentos de DNA complementar (cDNA) e sequenciado de maneira de alto rendimento (*high-throughput*). O RNA-Seq permite a análise de transcriptomas em alta resolução com possibilidade de quantificar precisamente os níveis de transcritos, confirmar ou revisar sequências gênicas, mapear os limites entre éxon/intron, entre outras possibilidades. Além disso, é uma ferramenta que oferece a vantagem de estudar o transcriptoma de forma quantitativa (expressão gênica) e qualitativa (estrutura gênica) ao mesmo tempo (OZSOLAK et al., 2011; ESTEVE-CODINA, 2018; ZHANG et al., 2018; BERGE et al., 2019).

O RNA-seq trouxe inovações pelo fato de possuir um menor custo e eliminar a maioria das dificuldades das técnicas de *microarray*, que era a necessidade do conhecimento

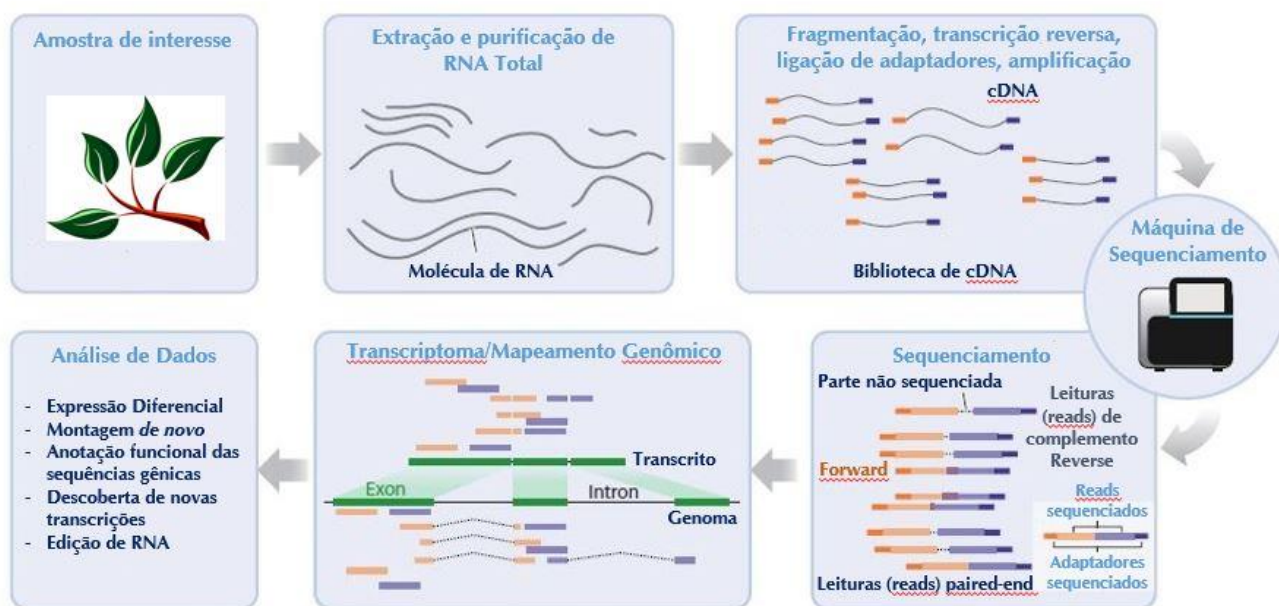


prévio do genoma em estudo. Assim, além de superar as limitações de outras metodologias existentes, a tecnologia de RNA-Seq também fornece altos níveis de reprodutibilidade dos dados (levando à redução de replicações técnicas para os experimentos), fácil identificação e quantificação da expressão de isoformas e transcrições desconhecidas, redução significativa dos custos dos experimentos, tempo e volume de dados produzidos de forma precisa e, principalmente, não há necessidade da obtenção de um genoma de referência. Todas estas vantagens fazem desta uma ferramenta que tem sido utilizada como referência ao estudo de transcritomas por métodos de NGS (KURKUBA et al., 2015; HRDLICKOVA et al., 2017; BERGE et al., 2019).

Várias plataformas NGS estão disponíveis comercialmente hoje em dia. Entre as mais utilizadas tem-se o sequenciamento por síntese da Illumina/Solexa, o sequenciamento por ligação da Solid/Life Technologies e o pirosequenciamento da Roche/454 (METZKER, 2010; DIJK et al., 2014; GOODWIN et al., 2016; STARK et al., 2019). Dependendo da plataforma utilizada, a metodologia do sequenciamento do RNA apresenta algumas variações. Contudo, alguns passos são fundamentais, os quais incluem a extração do RNA Total, a checagem da qualidade e integridade das amostras, a preparação das bibliotecas de cDNA, o sequenciamento e análises de bioinformática (CONESA et al., 2016).

Em síntese, a metodologia de RNA-Seq nada mais é do que o sequenciamento de transcritos e sua quantificação através de plataformas de sequenciamento de alto desempenho (WANG et al., 2009; ZHAO, 2016; BERGE et al., 2019). Uma visão geral básica das principais etapas de um experimento padrão de RNA-Seq é apresentada na Figura 5.

Conforme apresentado na Figura 5, o primeiro passo no sequenciamento do transcritoma é o isolamento do RNA a partir de uma amostra biológica. A extração e o isolamento de um RNA com alta qualidade são fundamentais para muitos estudos de nível molecular, incluindo análises de expressão gênica, descoberta de novos genes, construções de biblioteca de cDNA, dentre outros. Para garantir uma experiência bem sucedida de RNA-Seq, as amostras de RNA devem ter qualidade e quantidade suficientes para produzir uma biblioteca para sequenciamento. Desta forma, a pureza do RNA e a sua integridade devem ser bem analisadas, a fim de obter amostras da mais alta qualidade, as quais apresentem a menor degradação, contribuindo para resultados satisfatórios (TAN et al., 2009; NILSEN, 2013).



**Figura 5** – Metodologia de RNA-Seq esquematizada de forma simplificada. O primeiro passo é a extração e purificação de RNA de uma amostra. Posteriormente, os fragmentos de RNA são convertidos em DNA complementar (cDNA) por transcrição reversa e, em seguida, se ligam a adaptadores em ambas as extremidades. Cada molécula de cDNA é amplificada para ser, então, sequenciada em uma extremidade (*single-end*) ou em ambas as extremidades (*paired-end*). Após o sequenciamento, as *reads* resultantes podem ser alinhadas a um genoma de referência ou podem ser usados para realizar uma montagem *de novo* do Transcriptoma. O alinhamento das sequências em um genoma de referência permite o mapeamento da estrutura e estimativa dos níveis de expressão de cada gene. Fonte: Modificado de BERGE (2019).

Porém, por ser uma molécula extremamente instável, o risco de degradação da molécula de RNA durante a sua manipulação é um grande desafio para o sucesso das análises de transcriptoma. Por causa do grupo 2'-hidroxila ligado ao anel da pentose, o esqueleto de RNA é intrinsecamente mais sensível à quebra do que o DNA. Isso ocorre porque o grupo 2'-hidroxila adjacente às ligações fosfodiéster pode atuar como um nucleófilo intramolecular atacando a ligação fosfodiéster adjacente, criando um fosfato cíclico 2', 3' e clivando a espinha dorsal do RNA. Neste sentido, o maior obstáculo em qualquer aspecto da pesquisa de RNA é preparar moléculas de RNA intactas e mantê-las intactas através de manipulações subsequentes (TAIZ e ZEIGER, 2013; NILSEN, 2013; STROM, 2019).

Um dos principais entraves a uma extração de RNA de qualidade consiste na presença de enzimas estáveis e ativas nos tecidos e no ambiente, denominadas ribonucleases (RNases), as quais agem no RNA (altamente instável) degradando-o rapidamente. Estas enzimas são resistentes a diversos tratamentos (inclusive térmicos) e o seu contato acelera a quebra de moléculas de RNA em componentes menores podendo desnaturar as células e afetar o

processo de extração. Elas podem ser encontradas em todas as células vivas, materiais biológicos e tecidos (PERÉZ-NOVO et al., 2005; NILSEN, 2013).

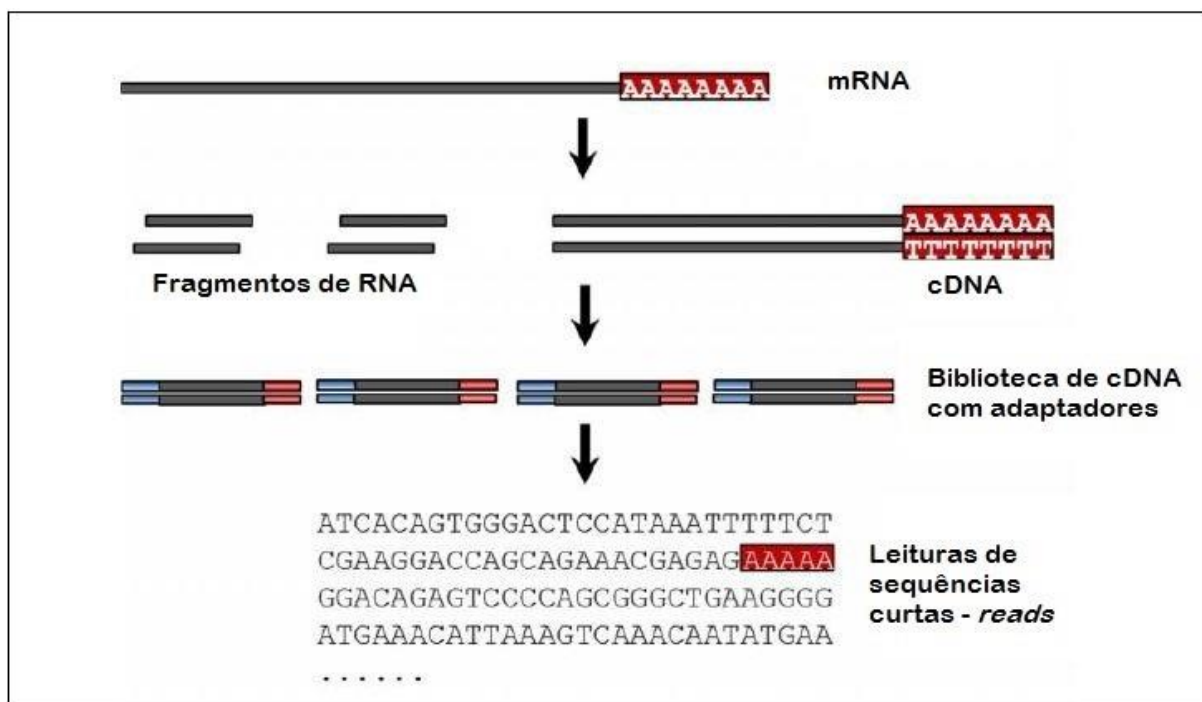
Por este motivo, são necessários alguns cuidados específicos com o material utilizado, bem como durante todo o procedimento de extração, tais como: uma correta e cuidadosa assepsia do ambiente de trabalho e dos instrumentos utilizados, uso de luvas esterilizadas, utilização de todas as soluções e instrumentos livres de RNases, extremo cuidado com o manuseio e armazenamento adequado do material em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Outras estratégias amplamente empregadas para bloquear a atividade das RNases são o congelamento imediato das amostras ao utilizá-las (em nitrogênio líquido ou gelo seco) e a aplicação de tampões de extração com reagentes inibidores (como cloreto de lítio, isotiocianato de guanidina e fenol) capazes de assegurar a manutenção do RNA intacto, pois estes atuam na degradação das RNases endógenas (NILSEN, 2013; LIMA, et al., 2016; STROM, 2019).

Além disso, o estudo da expressão gênica e o isolamento do RNA podem ser tecnicamente comprometidos devido à grande quantidade de compostos fenólicos, polissacarídeos e outros metabólitos secundários frequentemente presentes na composição dos tecidos de diversas espécies vegetais, os quais se acumulam durante o seu desenvolvimento ou em resposta a estímulos do ambiente. Estes compostos possuem a tendência de coprecipitarem juntamente com o RNA, devido às suas propriedades físico-químicas similares. Assim, são rapidamente oxidados e formam quinonas que se ligam facilmente aos ácidos nucleicos, contaminando e prejudicando a integridade do material genético. A presença destes compostos nas amostras, portanto, é outro motivo que pode afetar a qualidade e o rendimento do RNA, tornando esta uma etapa de difícil padronização. Outro ponto essencial é a eliminação completa de qualquer DNA genômico presente na amostra após a extração, além de proteínas (absorbância 260nm/280nm) e inibidores enzimáticos (GHAWANA et al., 2011; DASH, 2013).

Verifica-se portanto que o procedimento de isolamento de RNA frequentemente enfrenta diversas dificuldades. No entanto, é uma etapa crucial e primordial para o sucesso das análises moleculares. Dessa forma, além de todos os cuidados e precauções específicas, inúmeras adaptações e otimizações nas metodologias de extrações para os diferentes tecidos e espécies de plantas sempre se fazem necessárias e são comuns nas etapas vinculadas ao isolamento de RNA. Muitas das vezes sonegadas do planejamento inicial, estas padronizações consomem demasiado tempo do projeto.

Após o isolamento do RNA, os próximos passos no sequenciamento do transcrito são a síntese de DNA complementar (cDNA) e a preparação de uma biblioteca de RNA-Seq,

que podem variar pela seleção de espécies de RNA e entre plataformas NGS. A construção de bibliotecas de sequenciamento envolve principalmente o isolamento e a fragmentação das moléculas de mRNA desejadas, a transcrição reversa do mRNA para o DNA complementar (cDNA) e a ligação de adaptadores (bases de DNA) às extremidades dos fragmentos de cDNA, conforme mostrado na Figura 6 (WANG et al., 2009; ZHAO, 2016; BERGE et al., 2019).



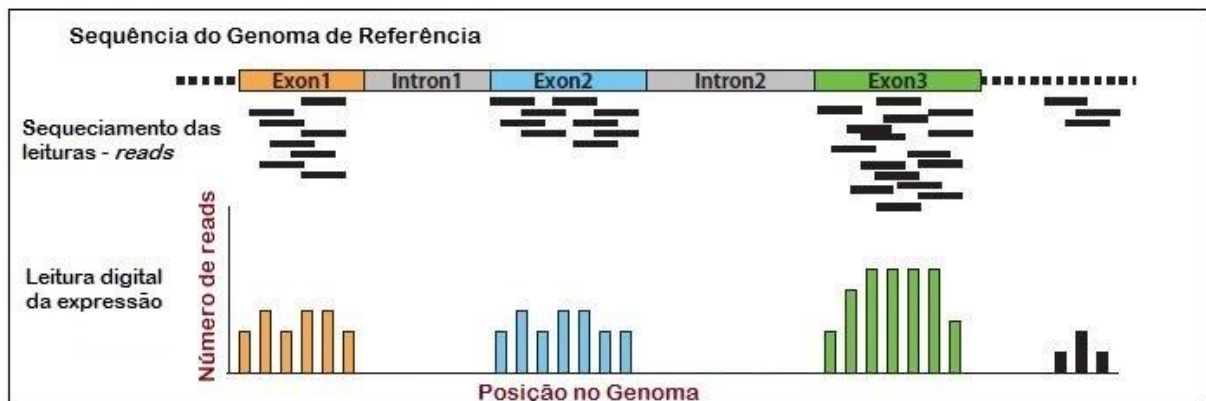
**Figura 6** – Após a extração, o mRNA é convertido para cDNA e ligado a adaptadores. Esse material é processado por uma plataforma de sequenciamento e são geradas milhões de leituras curtas. FONTE: WANG et al., 2009 e COVRE et al., 2013.

Desse modo, a biblioteca final de cDNA consiste em inserções de cDNA flanqueadas por uma sequência adaptadora em cada extremidade, as quais podem ser sequenciadas em um dos dois modos: extremidade única (*single-end*) ou em ambas as extremidades (*paired-end*). No modo de extremidade única, apenas uma extremidade da inserção de cDNA é sequenciada, enquanto que no modo de extremidade pareada, ambas as extremidades (5' e 3') são sequenciadas, produzindo duas leituras na orientação oposta, uma de cada extremidade (WANG et al., 2009; ZHAO, 2016; BERGE et al., 2019).

Em seguida, a biblioteca de cDNA é amplificada por reação em cadeia da polimerase (PCR) usando partes das sequências adaptadoras como iniciadores. A biblioteca é então sequenciada para uma profundidade de leitura de 10 a 30 milhões de leituras por amostra em uma plataforma de alto rendimento e, dessa forma, são obtidas sequências curtas (*reads*) de

cada cDNA. Cada sequência gerada pode ter de 30 – 400 pb, dependendo da plataforma utilizada (Figura 6) (WANG et al., 2009; ZHAO, 2016; BERGE et al., 2019).

Posteriormente à geração dos *reads*, as etapas de organização e análise dos dados são feitas usando ferramentas de bioinformática. Após a normalização, que é a padronização dos dados obtidos, quanto maior a contagem de *reads* correspondentes a um determinado gene em certa condição experimental, maior a sua expressão (Figura 7). A alteração nos níveis de expressão está diretamente relacionada à modificações na fisiologia, metabolismo e conseqüentemente ao processo de adaptação celular. Assim, a presença de transcrito na célula é um forte indicativo de que o gene em questão está sendo expresso (WANG et al., 2009; ZHAO, 2016; BERGE et al., 2019). Por outro lado, a baixa presença de um dado transcrito na célula indica que gene correspondente foi regulado negativamente.



**Figura 7** – Perfil de expressão gênica usando sequenciamento de transcrito de alto rendimento. Modificado de MOROZOVA et al., 2009.

As etapas finais do procedimento são computacionais: alinhamento e montagem dos *reads* a um genoma de referência (no caso de um genoma disponível) ou remontados sem um genoma de referência (montagem *de novo*); quantificação dos *reads* que se sobrepõem às transcrições; caracterização e anotação funcional das sequências gênicas e avaliação da expressão diferencial (Figura 5).

Com o sequenciamento de nova geração e o fornecimento de ferramentas de bioinformática cada vez mais robustas para melhor explorar o transcrito, verifica-se que estas metodologias tem contribuído e auxiliado na compreensão dos mecanismos e respostas envolvidas em diferentes condições de estresse de diversas espécies estudadas (WU et al., 2018; KAMITANI et al., 2019; LI et al., 2019; DOSSA et al., 2020; TIWARI et al., 2020).

Diante disto, compreender os mecanismos genéticos da interferência entre as redes de sinalização de respostas ao estresse e identificar os genes envolvidos nas espécies tem uma

importância potencial para o aprimoramento das culturas e estratégias de melhoramento. Percebe-se que o RNA-Seq é, portanto, uma ferramenta de alto desempenho que tem permitido sequenciar, mapear e quantificar os perfis de transcrito, fornecendo uma melhor abordagem para estudar a dinâmica de expressão gênica em escala global e em diferentes contextos celulares e biológicos, revolucionando, assim, a compreensão de como os genomas são expressos (MALIK, 2016; ESTEVE-CODINA, 2018; BERGE et al., 2019).

#### 4.5 Plataforma de Sequenciamento *Illumina HiSeq 4000*

Conforme discorrido acima, existem uma diversidade relativamente grande de tecnologias de sequenciamento de segunda geração (NGS) comercialmente disponíveis. Dentre as opções, as plataformas fornecidas pela empresa Illumina ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)) vêm dominando o mercado (BIOSPACE, 2019).

Para o sequenciamento de RNA mensageiro, as metodologias Illumina podem partir de amostras de RNA total ou de RNA mensageiro enriquecido. Quando a amostra é composta por RNA total, primeiro há a eliminação do RNA ribossomal. Após a eliminação do RNAr, procede-se a fragmentação aleatória do RNA em tamanhos menores, seguida da síntese da primeira e da segunda fitas de cDNA. Por fim, são ligados adaptadores às extremidades dos fragmentos e cada amostra recebe uma marca específica que permite identificá-la dentre outras amostras sequenciadas em conjunto. Tais etapas, realizadas durante o preparo das bibliotecas genômicas, são muito importantes porque a fragmentação do RNA minimiza os erros de sequenciamento e a ligação dos fragmentos a adaptadores permite que genomas complexos sejam amplificados por meio do uso de iniciadores (*primers*) aleatórios.

Na etapa de formação dos grupos (*clusters*) os fragmentos de cDNA são imobilizados em uma superfície sólida (lâmina de vidro) denominada de *flow cell* (célula de fluxo). Essa célula de fluxo possui em sua superfície uma alta densidade de adaptadores covalentemente ligados. Estes adaptadores possuem complementariedade de bases com os adaptadores que foram previamente ligados aos fragmentos de cDNA durante a produção das bibliotecas. A extremidade 5' desses adaptadores estão fixadas na lâmina de vidro de modo que sua extremidade 3' está livre para a ligação a outros nucleotídeos durante o processo de polimerização da fita de DNA. No primeiro ciclo de amplificação, nucleotídeos não marcados são fornecidos para que haja a síntese da fita complementar ao fragmento hibridado. Desse modo, a extremidade 3' do adaptador que está fixo na lâmina de vidro é estendida pela DNA polimerase. Logo, esse fragmento de DNA estará fixo ao suporte. Na sequência, o fragmento inicial que servia de molde é liberado. Após esse primeiro ciclo, todos os fragmentos estão

covalentemente ligados ao suporte sólido. Em seguida, o fragmento se curva de modo que sua extremidade 3', que também tem um outro adaptador, pareia com o adaptador que está ao seu lado, fixo na lâmina, formando uma ponte. Ocorre, então, a extensão da fita complementar. No próximo ciclo, as fitas são separadas e linearizadas, tornando-se alvos para nova síntese de fita complementar. Esses ciclos são repetidos até 150 vezes, de modo que milhares de cópias (clones) de cada fragmento de cDNA são geradas próximas umas das outras, formando um grupo (*cluster*) de fragmentos aptos ao sequenciamento (<https://youtu.be/fCd6B5HRaZ8>). Esta fase é executada em um equipamento denominado CBot (Illumina) e pode produzir de 100 a 200 milhões de grupos clonais separados espacialmente na célula de fluxo. Nas extremidades livres dos fragmentos de DNA que compõem esses grupos é possível a ligação de um oligonucleotídeo de sequenciamento universal para iniciar a reação de sequenciamento (METZKER, 2010).

Dependendo da plataforma (MiSeq, HiSeq, NextSeq), o número de linhas por lâmina (*flow cell*), bem como a quantidade de *reads* que pode ser obtida por linha, pode variar. Para a plataforma HiSeq 4000, geralmente são possíveis obter 280 a 330 milhões de *reads* por linha, um total de aproximadamente 2,2 bilhões de *reads* por corrida e gerar até 1.500 Gb e 5 bilhões de leituras por execução (*reads paired end* de 150 pb). O tempo de corrida varia de 1 a 3,5 dias, que garante um rendimento diário em torno de 400 Gb. Nesta plataforma cada *flow cell* possui oito linhas, o que possibilita correr oito bibliotecas, uma em cada linha, ou realizar multiplex, que possibilita correr até 12 amostras diferentes por linha, totalizando 96 bibliotecas por *flow cell*.

A próxima etapa, o sequenciamento propriamente dito, é realizado pelo método de ciclo de terminação reversível (METZKER, 2010). Nesta tecnologia, os quatro nucleotídeos fluorescentes, cada um marcado com uma cor diferente, são adicionados simultaneamente à *flow cell*. A incorporação destes a fita complementar do fragmento de DNA fixado a célula de fluxo é realizado pela DNA polimerase. Quando um desses nucleotídeos é incorporado à fita nascente, ele bloqueia a elongação da mesma, pois possui um terminador que bloqueia a extremidade 3'OH, necessária para a formação da próxima ligação fosfodiéster. Esse terminador é reversível. Em um próximo passo, a célula de fluxo é lavada e os nucleotídeos não incorporados são eliminados do sistema. Procede-se, então, a captura da fluorescência, por meio de uma imagem, e a clivagem do grupo de inibição da síntese, o que regenera o grupo 3'OH, que permite a continuação da elongação da fita complementar de DNA. Esse processo é repetido diversas vezes até que seja realizada a leitura do comprimento em bases máximo para cada equipamento Illumina (JU et al., 2006; METZKER, 2010). O registro da

sequência de DNA é realizado a cada ciclo, por meio do armazenamento, em uma imagem, da cor da fluorescência emitida pelo terminador reversível (JU et al., 2006). Ao final da corrida, valores de qualidade para cada base, bem como a remoção das sequências com baixa qualidade, é realizada por um algoritmo *base-calling*. As sequências dos adaptadores também são removidas neste processo, deixando a sequência obtida limpa (MARDIS, 2008).

Finalizada a etapa de sequenciamento, o sistema gera arquivos do tipo FASTQ<sup>1</sup>, um padrão de arquivo adotado pela Illumina, que armazena, em formato texto puro, as sequências de DNA obtidas, dentre outras informações referentes a cada amostra.

O próximo passo é a análise dos dados obtidos, que são realizados por meio do uso de ferramentas de bioinformática. Basicamente, são três os procedimentos essenciais numa análise de dados de RNA-Seq: (i) alinhamento; (ii) montagem de transcritos e/ou anotação do genoma e, (iii) quantificação de genes e transcritos.

Caso o organismo em estudo já tenha sido sequenciado, as etapas de alinhamento e montagem podem ser realizadas usando um genoma de referência. Caso não exista um genoma de referência, deve-se proceder a montagem de um novo genoma (SCHLEBUSCH e ILLING, 2012). Para eucalipto já existe um genoma publicado (MYBURG et al., 2014), logo, este pode ser utilizado como um genoma de referência (<http://www.phytozome.net/>).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Material vegetal

Folhas de árvores de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* foram coletadas em novembro de 2012 em plantios com ocorrência do distúrbio fisiológico do eucalipto e também em áreas sem sintomas, localizados no sul do estado da Bahia, nos municípios de Porto Seguro e Itabela (Figuras 8, 9 e 10 e Tabela 1).

---

1 <https://support.illumina.com/bulletins/2016/04/fastq-files-explained.html>



**Tabela 1.** Características dos materiais genéticos (clones) de eucalipto analisadas por meio da técnica de RNA-Seq.

Pool (Clone)	Dup.	Rep.		Amb. Projeto	Talhão	Data Plantio	de UMO	Unidade de solo	Município	Espaçamento (m)	Precipitação Média Anual	Genótipo	Coordenadas Geográficas	Estado Fisiológico	
A1 (1004)	A1.1	A1.1.1	A1.1.2	A1.1.3	1	Boleira	013-01	11/09/2007	1	PAd2.1	Porto Seguro	4,00x3,00	1.400	<i>Eucalyptus grandis</i> x16°41'01"S/39°Com <i>Eucalyptus urophylla</i> 22'31"W	Sintomas
	A1.2	A1.2.1	A1.2.2	A1.2.3											
	A1.3	A1.3.1	A1.3.2	A1.3.3											
A2 (1004)	A2.1	A2.1.1	A2.1.2	A2.1.3	1	Jambeiro III	061-01	15/06/2011	1	PAd2.1	Porto Seguro	5,00x2,40	1.350	<i>Eucalyptus grandis</i> x16°34'38"S/39°Sem <i>Eucalyptus urophylla</i> 25'40"W	Sintomas
	A2.2	A2.2.1	A2.2.2	A2.2.3											
	A2.3	A2.3.1	A2.3.2	A2.3.3											
A3 (1004)	A3.1	A3.1.1	A3.1.2	A3.1.3	2	Gameleira	041-01	24/01/2011	4	LAdx2.1	Itabela	5,00x2,40	1.300	<i>Eucalyptus grandis</i> x16°42'27"S/39°Sem <i>Eucalyptus urophylla</i> 36'22"W	Sintomas
	A3.2	A3.2.1	A3.2.2	A3.2.3											
	A3.3	A3.3.1	A3.3.2	A3.3.3											
A4 (0361)	A4.1	A4.1.1	A4.1.2	A4.1.3	1	Boleira	012-01	17/09/2007	1	PAd2.1	Porto Seguro	4,00x3,00	1.400	<i>Eucalyptus grandis</i> x16°41'02"S/39°Com <i>Eucalyptus urophylla</i> °22'31"W	Sintomas
	A4.2	A4.2.1	A4.2.2	A4.2.3											
	A4.3	A4.3.1	A4.3.2	A4.3.3											
A5 (0975)	A5.1	A5.1.1	A5.1.2	A5.1.3	1	Boleira	003-01	17/09/2007	1	PAd2.1	Porto Seguro	4,00x3,00	1.400	<i>Eucalyptus grandis</i> x16°41'43"S/39°Sem <i>Eucalyptus urophylla</i> °23'35"W	Sintomas
	A5.2	A5.2.1	A5.2.2	A5.2.3											
	A5.3	A5.3.1	A5.3.2	A5.3.3											

PAd2.1 - Argissolo Amarelo;

LAdx2.1 – Latossolo amarelo;

UMO - Unidade de Manejo Operacional;

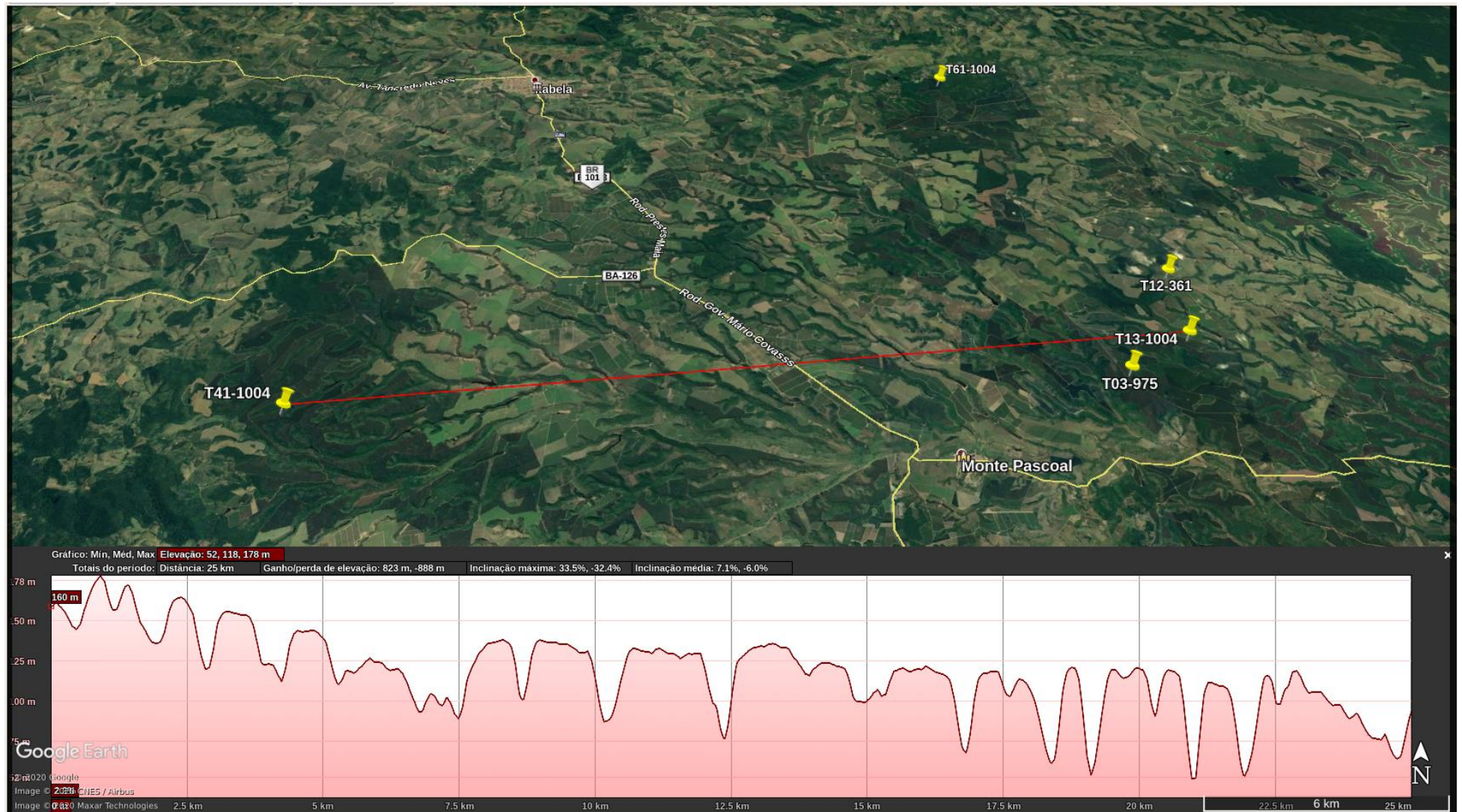
Dup. = duplicata biológica (árvores diferentes de um mesmo clone);

Rep. = replicata (amostras diferentes de uma mesma árvore)



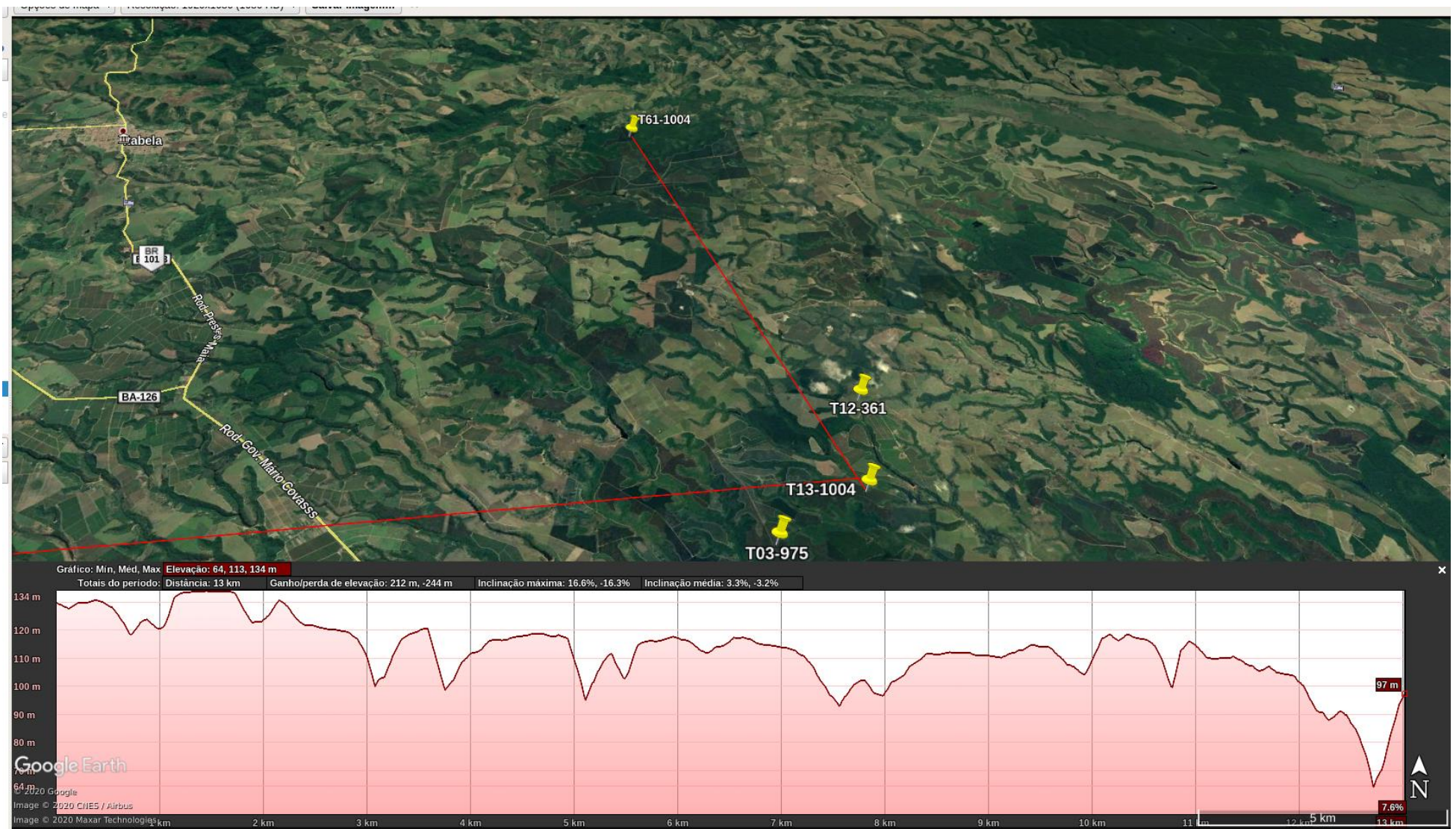
**Figura 8** – Localização das áreas onde foram coletadas as amostras de folhas. A1 (1004) = T013-1004; A2 (1004) = T061-1004; A3 (1004) = T41-1004; A4 (361) = T12-361; A5 (975) = T03-975. As indicações no mapa estão descritas na Tabela 1.





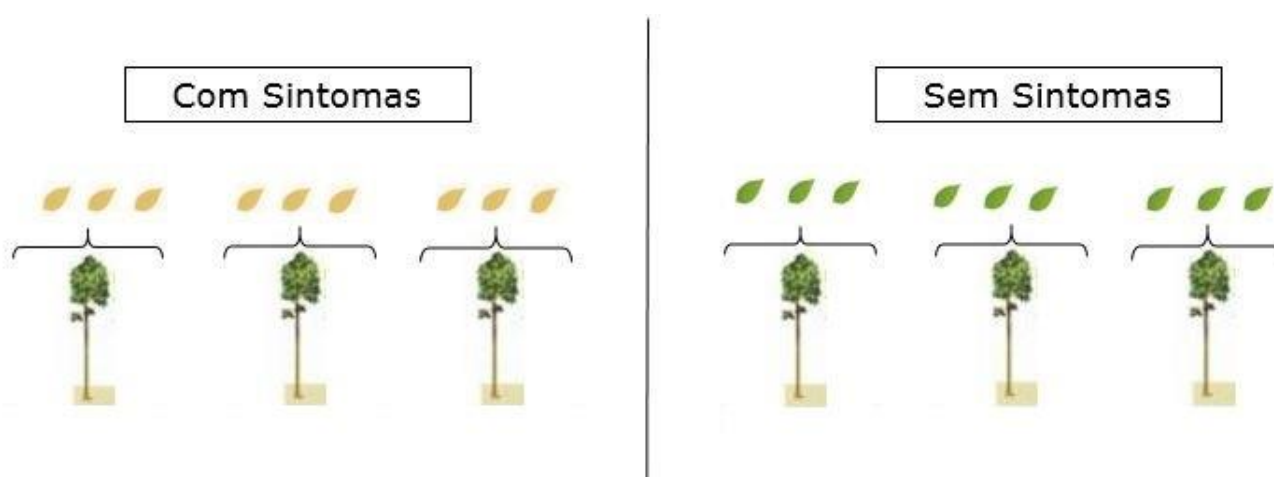
**Figura 9** – Distância e diferença de altitude entre a Unidade de Manejo Operacional 1 e a Unidade de Manejo Operacional 4. UMO-1 = (T03-975; T12-361; T013-1004; T061-1004); UMO-4 = (T41-1004). As indicações no mapa estão descritas na Tabela 1.





**Figura 10** – Distância e diferença de altitude entre a amostra T061-1004 e as demais amostras (T03-975; T12-361; T013-1004) da Unidade de Manejo Operacional 1. As indicações no mapa estão descritas na Tabela 1.

Para que fosse possível verificar se as diferenças de resposta às anomalias são provocadas apenas pelo ambiente, unicamente pelo genótipo ou, ainda, por uma interação entre eles, indivíduos de um mesmo genótipo com sintomas de DFE e sem sintomas foram coletados dentro de um mesmo ambiente (Ambiente 1) e em ambiente diferente (Ambiente 2). A fim de evitar possíveis interferências procedimentais, a coleta do material vegetal foi realizada por meio de uma amostragem aleatória simples, sendo esta amostragem feita em zigue-zague dentro de cada área de coleta. Três árvores com sintomas e três sem sintomas foram selecionadas em cada área. Em cada uma destas árvores os tecidos foliares foram coletados em triplicata, a fim de aumentar o número de repetições e diminuir possíveis erros nas análises moleculares, conforme esquema apresentado na Figura 11.



**Figura 11** – Esquema representativo da coleta dos tecidos foliares. Para cada sítio foram selecionadas aleatoriamente (amostragem aleatória simples) três árvores com sintomas e três árvores sem sintomas e, em cada uma destas árvores, os tecidos foram coletados em triplicata.

As árvores selecionadas foram derrubadas com o auxílio de uma motosserra. Em seguida, a copa de cada uma delas foi dividida em três partes: terço superior, terço médio e terço inferior. Coletou-se quantidades iguais de folhas de cada um dos três terços para compor uma amostra. De cada árvore foram coletadas três amostras (replicata técnica). Em cada um dos locais foram coletadas três árvores (replicata biológica). Imediatamente após coletadas, as amostras dos tecidos foram identificadas individualmente, embaladas em saco plástico e acondicionadas em recipiente próprio com nitrogênio líquido.

Os tecidos coletados foram devidamente conduzidos ao Laboratório de Genética e Biotecnologia Florestal (LGBF), localizado no Departamento de Engenharia Florestal (DEF) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Campus JK, Diamantina/MG, onde foram armazenados em ultrafreezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração do RNA Total.

## 5.2 Extração de RNA Total

Avaliaram-se diferentes protocolos de extração que diferiam entre si, além de suas sequências e etapas rotineiras (lavagem, incubação, temperatura e precipitação), pela composição do tampão de extração, que é a primeira solução empregada no processo de extração de ácidos nucleicos, bem como em outras etapas. Dentre os protocolos testados, três serão descritos, sendo dois comerciais, *Pure Link Plant RNA Purification Reagent* (Invitrogen) e *TRI Reagent* (Sigma), e um protocolo clássico, denominado de CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990) com modificações (INGLIS et al., 2018).

Em todos os protocolos testados, a etapa inicial de maceração foi realizada padronizada. As amostras foliares foram submetidas à maceração mecânica com o uso do disruptor Mini Beadbeater™ (Biospec Products) em tubos de polietileno de 2,0 mL resfriados em nitrogênio líquido com 3 esferas de aço inoxidável de 3,2 mm de diâmetro (Figura 12).



**Figura 12** – Metodologia de extração de RNA dos tecidos foliares. Os tecidos foliares foram submetidos à maceração mecânica com o uso do aparelho chamado disruptor Mini Beadbeater™ (Biospec Products) em tubos de polietileno de 2,0 mL resfriados em nitrogênio líquido com 3 esferas de aço inoxidável de 3,2 mm de diâmetro.

Foram macerados aproximadamente 100 mg de material vegetal até obtenção de um pó fino. Durante todo o processo de extração de RNA foram tomados cuidados rigorosos e adequados com a manipulação dos tecidos e instrumentos utilizados, como o uso frequente de luvas esterilizadas, a constante assepsia da bancada e dos utensílios e a utilização de todas as soluções e instrumentos livres de RNases. Além disso, todos os utensílios utilizados eram previamente tratados com SDS a 0,5% para a inativação de endo e exonucleases, principalmente as RNases. Por fim, durante todo o processo de extração de ácido nucleico

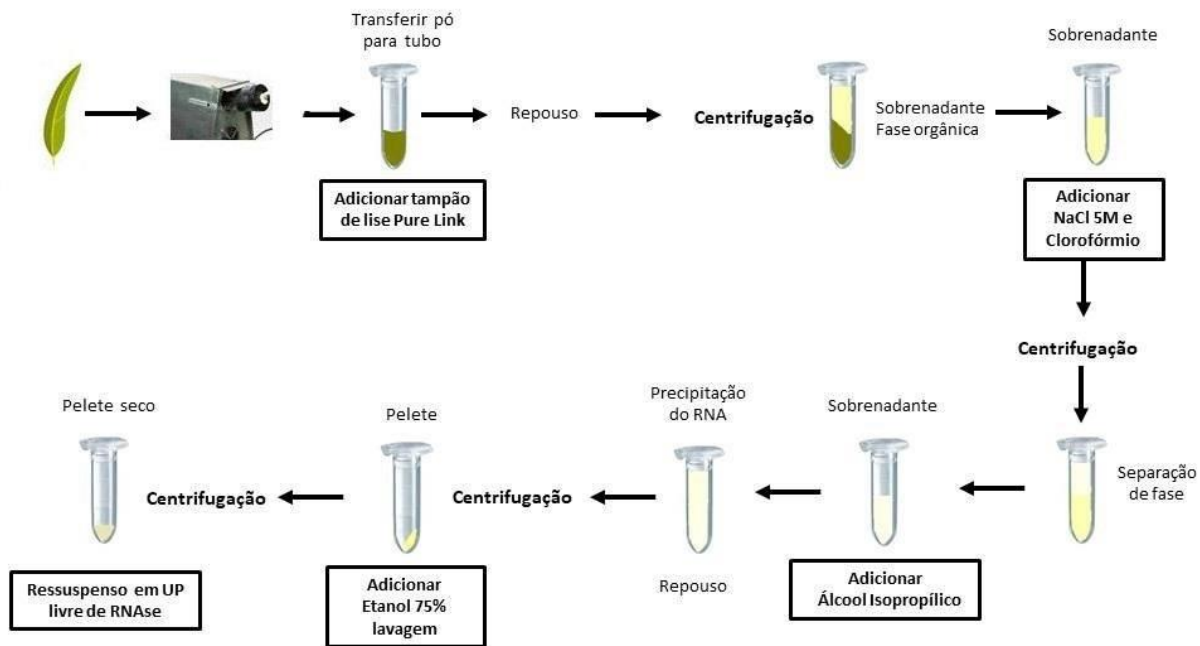
todas as amostras e os materiais utilizados eram previamente refrigerados e mantidos a baixa temperatura com o constante uso de gelo e nitrogênio líquido.

A seguir, o detalhamento dos três protocolos:

**Protocolo 1 – Pure Link Plant RNA Purification Reagent (Invitrogen):** Este método é baseado na lise celular com reagente comercial. Para o procedimento, seguiu-se instruções do fabricante (Invitrogen) com algumas modificações. O material macerado foi transferido para tubos de polietileno de 1,5 mL previamente resfriados. O tecido foi homogeneizado com 500  $\mu$ L do reagente *Pure Link Plant RNA Purification Reagent*. Os tubos foram então deixados em posição horizontal a temperatura ambiente (T.A.) por 5 minutos. Após o tempo de incubação, foram centrifugados por 2 minutos a 12.000 x g a 4° C e o sobrenadante resultante transferido para novos tubos. Foram adicionados aos tubos 100  $\mu$ L de NaCl 5 M, homogeneizando o conteúdo. Em seguida, 300  $\mu$ L de clorofórmio foram acrescentados e misturados por inversão. Os tubos foram levados à centrífuga por 10 minutos a 12.000 x g a 4 °C e a fase superior resultante da centrifugação foi transferida para novos tubos de 1,5 mL. Os ácidos nucleicos foram, então, precipitados pela adição de um volume de álcool isopropílico gelado. O conteúdo foi misturado por inversão e os tubos mantidos em repouso no gelo por 10 minutos. Após esta etapa, realizou-se nova centrifugação a 12.000 x g por 10 minutos a 4° C. A fase aquosa foi descartada e o pelete lavado com adição de 1.000  $\mu$ L de etanol 75%, seguido de centrifugação a 12.000 x g por 1 minuto. O sobrenadante foi removido cuidadosamente para evitar a perda do pelete que, posteriormente, foi seco por 10 minutos em câmara de fluxo laminar devidamente esterilizada. Após a secagem, os peletes foram ressuspensos em 35  $\mu$ L de água ultrapura (UP) livre de RNase (Ambion).

As etapas de extração com este protocolo podem ser observadas na Figura 13.



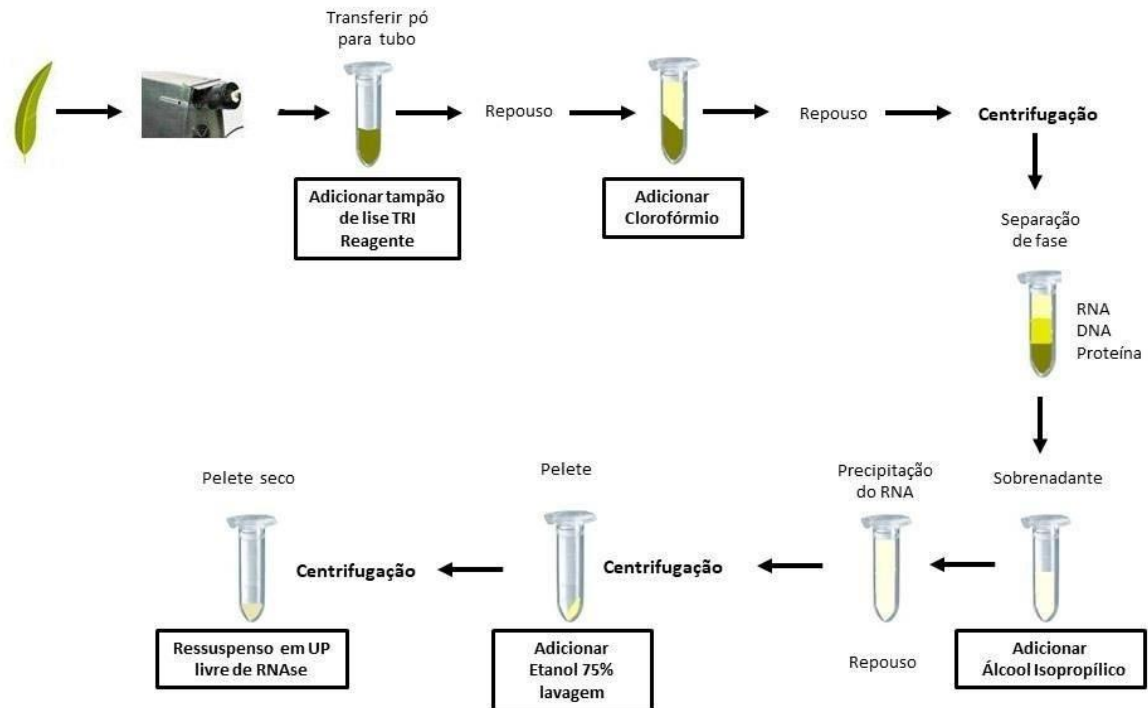


**Figura 13** - Etapas do processo de extração de RNA pelo método Pure Link Plant RNA Purification Reagent (Invitrogen).

**Protocolo 2 – TRI Reagent® (Sigma):** Este método é baseado na lise celular com reagente comercial. Para o procedimento, seguiu-se as instruções do fabricante (Sigma). O material macerado foi transferido para tubos de polietileno de 1,5 mL previamente resfriados. O tecido foi homogeneizado com 1.000  $\mu$ L do reagente *TRI Reagent* e as amostras foram misturadas por agitação no disruptor por 15 segundos. Em seguida, foram deixadas à T.A. por 5 minutos. Após esta etapa, foram adicionados aos tubos 200  $\mu$ L de clorofórmio, misturados por inversão e incubados por 15 minutos em temperatura ambiente. Na sequência, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 4 °C a velocidade de 12.000 x g. O sobrenadante resultante da centrifugação foi transferido para novos tubos de polietileno de 1,5 mL e seguiu-se para a etapa de precipitação. O conteúdo foi, então, precipitado pela adição de 500  $\mu$ L de álcool isopropílico, mantido em repouso no gelo por 10 minutos e centrifugado a 12.000 x g por mais 10 minutos a 4° C. A fase aquosa foi descartada e o pelete lavado com adição de 1.000  $\mu$ L de etanol 75%, seguido de centrifugação a 800 x g por 5 minutos. O sobrenadante formado foi removido cuidadosamente para evitar a perda do pelete que, posteriormente, foi seco por 10 minutos em câmara de fluxo laminar devidamente esterilizada. Após a secagem, os peletes foram ressuspensos em 50  $\mu$ L de água ultrapura (UP) livre de RNase (Ambion).

As etapas de extração com este protocolo podem ser observadas na Figura 14.



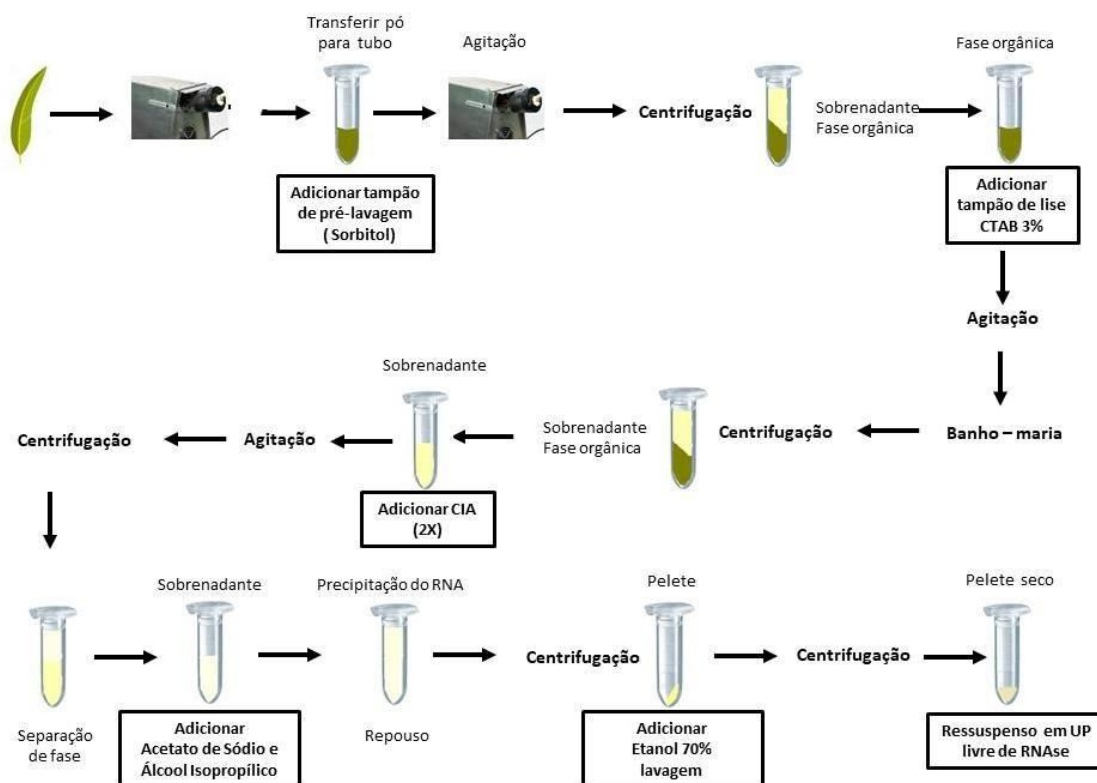


**Figura 14** - Etapas do processo de extração de RNA pelo método TRI Reagent® (Sigma).

**Protocolo 3 – CTAB com adição de Sorbitol (INGLIS et al., 2018):** Este método é baseado na lise celular com o reagente CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990) e emprega uma etapa adicional de pré-lavagem (INGLIS et al., 2018) ao material usando uma solução tamponada de sorbitol combinada com o CTAB contendo alto teor de sal (3%), a qual é realizada antes da etapa da lise celular. A função desta lavagem complementar é remover os metabólitos interferentes, como polifenóis e polissacarídeos. Após a maceração dos tecidos, as amostras foram transferidas para tubos de polietileno de 2,0 mL previamente resfriados. O tecido foi homogeneizado em 1.500  $\mu$ L de tampão de lavagem sorbitol [Tris pH 8.0 100 mM, Sorbitol 0,35 M, EDTA 5 mM, Polivinilpirrolidona (PVP-40) 1% (w/v)] com 1% de 2- $\beta$ mercaptoetanol (adicionado imediatamente antes do uso) e o conteúdo misturado por agitação no disruptor por 10 segundos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 5.000 x g por 5 minutos a 4 °C e o sobrenadante descartado. Um processo de lavagem foi suficiente para que não apresentasse mais suspensão no tampão. Após o descarte da solução à base de sorbitol, foram adicionados 700  $\mu$ L de tampão CTAB 3% [Tris pH 8,0 100 mM, NaCl 3 M, CTAB (Brometo de Cetil Trimetil Amônio) 3%, EDTA 20 mM, PVP-40 1% (w/v)] com 1% de 2- $\beta$ mercaptoetanol (adicionado imediatamente antes do uso), preaquecido a 65° C. As amostras foram ressuspenso no tampão de lise (CTAB) por agitação no disruptor por 5 a 10

segundos. As amostras foram, então, incubadas em banho-maria a 65° C por 60 minutos, misturando-se o conteúdo por inversão dos tubos a cada 10 minutos. Os tubos foram resfriados em temperatura ambiente por 5 minutos antes da adição de 700 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (CIA 24:1). Em seguida, agitados por 10 segundos no disruptor e centrifugados a 5.000 x g por 10 minutos a 4 °C. A fase superior aquosa foi transferida para novos tubos. A fim de aumentar a pureza do RNA, foi realizada uma segunda extração com CIA a uma velocidade de centrifugação de 13.000 x g por 10 minutos a 4 °C. Os ácidos nucleicos foram, então, precipitados pela adição de 0,1 volume de acetato de sódio 3 M pH 5,2 e 0,66 volume de álcool isopropílico gelado. O conteúdo foi misturado por inversão e os tubos mantidos a -20 °C por 1 hora. Após esta etapa, realizou-se nova centrifugação a 13.000 x g por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o pelete lavado com adição de 1.000 µL de etanol 70%, seguido de centrifugação a 13.000 x g por 10 minutos. Novamente, o sobrenadante foi cuidadosamente removido para evitar a perda do pelete que, posteriormente, foi seco por 10 minutos em câmara de fluxo laminar devidamente esterilizada. Após a secagem, os peletes foram ressuspensos em 35 µL de água ultrapura (UP) livre de RNase (Ambion).

As etapas de extração com este protocolo podem ser observadas na Figura 15.



**Figura 15** – Etapas do processo de extração de RNA pelo método CTAB com Sorbitol (INGLIS *et al.*, 2018).

Após a escolha do protocolo adequado para a extração do RNA das amostras, procedeu-se às extrações para a análise RNA-Seq. Para cada um dos *pools* descritos na Tabela 1 realizaram-se nove extrações: três replicatas para cada duplicata, perfazendo um total de 45 amostras extraídas. A avaliação da qualidade e integridade do RNA extraído foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídeo (0,5  $\mu$ l), submerso em tampão Tris-Acetato-EDTA [1x] (TAE). Em cada poço do gel foram aplicadas alíquotas de 4  $\mu$ L de cada amostra, coradas com tampão de carregamento *Blue Loading Dye* 6x (1  $\mu$ L). Para a comparação das bandas, no primeiro poço de cada linha, aplicou-se o marcador de peso molecular 1 Kb DNA *Ladder* (Invitrogen). Em seguida, o sistema foi exposto a uma corrente elétrica com voltagem constante a 40 V, 150 mA, 300 W por aproximadamente 3 h. Após a eletroforese, o gel foi visualizado no sistema de aquisição de imagens Loccus Biotecnologia – LPix Image.

Para a quantificação e avaliação de pureza, foi utilizado um espectrofotômetro (Lamba Bio – PerkinElmer), onde as amostras foram avaliadas por comprimento de onda. As amostras foram diluídas na proporção de 2:48 ou 2:98 em água DEPC e, assim, realizadas leituras dos comprimentos de onda a ( $\lambda$ ) 260, 280 e 230 nm, correspondentes ao pico de absorção dos ácidos nucleicos, proteínas e impurezas (polissacarídeos e polifenóis), respectivamente. A qualidade do RNA foi analisada com base nas razões da absorbância A260/A280 e A260/A230, para certificação da obtenção de um RNA de elevado grau de pureza. Os RNAs obtidos e selecionados para as etapas posteriores possuem valores entre 1,8 e 2,0, para ambas as razões, garantindo, assim, qualidade assegurada do material. Amostras cuja qualidade e, ou a qualidade não se mostraram adequadas foram reextraídas.

Após a seleção das amostras que passaram nos testes de qualidade e quantidade, produziram-se os *pools* a serem sequenciados. Cada *pool* representou um material genético (clone) de eucalipto, conforme a Tabela 1. Cada duplicata biológica foi composta por quantidades equitativas de RNA de cada replicata. Por sua vez, cada *pool* foi formado juntando-se quantidades equitativas de cada triplicata biológica (Tabela 1). Desse modo, possíveis erros experimentais inerentes ao processo de extração do material genético foram minimizados.

### 5.3 Sequenciamento do RNA

Os *pools* de amostras de RNA total de cada um dos materiais genéticos, clones de eucalipto, foram submetidos à análise RNA-Seq para a análise da expressão gênica. Desse modo, foram construídas cinco bibliotecas *paired ends*, que resultaram em cinco conjunto de dados de expressão gênica, um para cada um dos clones analisados. Inicialmente, as amostras tiveram a quantidade de RNA padronizadas para a mesma concentração.

As bibliotecas de cDNA foram obtidas com o conjunto de reagentes *NEBNext Ultra II RNA Library Prep Kit for Illumina*, conforme as instruções do fabricante (New England, Biolabs, MA, EUA). Cada biblioteca é etiquetada com um índice (*index code*), de modo que mesmo sendo sequenciadas juntas, os *reads* de cada uma delas pode ser separado por meio de bioinformática.

A clusterização das amostras etiquetadas foi realizada em um equipamento *cBot Cluster Generation System* (Illumina, San Diego, EUA) utilizando o conjunto de reagentes *TruSeq PE Cluster Kit v3-cBot-HS* (Illumina, San Diego, EUA), conforme instruções do fabricante.

Após a geração dos *clusters*, as bibliotecas foram sequenciadas em uma plataforma *Illumina HiSeq 4000* (Illumina, San Diego, EUA), quando fragmentos de 150 pb *paired-end* foram gerados.

### 5.4 Análise dos resultados do sequenciamento

Os dados brutos gerados (*raw sequences*) foram submetidos a uma análise de qualidade por meio do programa FastQC (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>).

Após essa primeira checagem, os dados foram filtrados para a exclusão de sequências de adaptadores remanescentes, bases e *reads* com baixa qualidade (*Phred* < 20), *reads* com presença de N (base que não pode ser determinada) maior que 10% e fragmentos curtos (< 60 pb). A qualidade das bases é avaliada por meio do *score* chamado *Phred*, que indica quanto confiável foi o resultado do sequenciamento para cada uma das bases que compõem o *read*. Desse modo, quanto maior o valor de *Phred*, maior será confiança de que determinada base teve sua atribuição correta no *read*.

Os dados limpos foram classificados, indexados e alinhados no genoma de referência utilizando o programa *HISAT2* (KIM, et al., 2019). Utilizaram-se a versão mais recente do genoma e da anotação do eucalipto disponível no portal banco de genomas do NCBI ([https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/annotation\\_releases/71139/101/GCF\\_000612305.1\\_Egrandis1\\_0/](https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/annotation_releases/71139/101/GCF_000612305.1_Egrandis1_0/)). Os comando utilizados foram:

```

hisat2-build -p 1 ./NCBI/GCF_000612305.1_Egrandis1_0_genomic.fna
./HiSat2/GCF_000612305.1_Egrandis1_0_genomic_hisat2

for f in `ls ./raw_data/*.fq.gz | sed 's/_[12].fq.gz//g' | sort -u`;
do
hisat2 -p 1 -x ./HiSat2/GCF_000612305.1_Egrandis1_0_genomic_hisat2 -1
${f}_1.fq.gz -2 ${f}_2.fq.gz -S ${f}.sam;
done

```

Após a obtenção dos arquivos SAM (<https://genome.sph.umich.edu/wiki/SAM>), procedeu-se a conversão destes em arquivos BAM (<https://genome.sph.umich.edu/wiki/BAM>) com o uso do programa Samtools (<http://www.htslib.org/>) (LI et al., 2009), conforme código abaixo:

```

for f in `ls ./raw_data/A*.sam | sed 's/_A[1].sam//g' | sort -u`;
do
samtools view -b -o ${f}.bam ${f};
done

```

Em seguida, realizou-se a contagem das leituras mapeadas por meio do uso da função *featureCounts* do pacote *Rsubread* (LIAO et al., 2019) no ambiente R (<https://www.r-project.org/>). O comando abaixo foi aplicado em cada uma das cinco amostras (A1 a A5).

```

featureCounts -p -F GFF -a ./NCBI/GCF_000612305.1_Egrandis1_0_genomic.gff \
-t exon -g ID -o ./featureCounts/A1.counts.exon.txt -f --extraAttributes \
gene ./raw_data/A1.sam.bam

```

Os genes diferencialmente expressos (DE) foram obtidos por meio do pacote *NOISeq: Differential Expression in RNA-seq* (TARAZONA et al., 2011; TARAZONA et al., 2015). Os comandos utilizados foram os seguintes:

```

rm(list=ls())
library(NOISeq)
library("pheatmap")
library(ggplot2)
library("RColorBrewer")

any.data.exon <- read.table("Any_exons_counts.csv",
                          header=TRUE, dec=",", sep="t", row.names=1)
any.GC.exon <- as.matrix(any.data.exon[, 11])
colnames(any.GC.exon) <- c("GC")
rownames(any.GC.exon) <- rownames(any.data.exon)
any.factors <- read.table("any.factors.csv", header=TRUE)#, row.names=1)
any.lengths.exon <- as.matrix(any.data.exon[, 4])
colnames(any.lengths.exon) <- c("Length")
rownames(any.lengths.exon) <- rownames(any.data.exon)
any.chroms.exon <- as.matrix(any.data.exon[, c(1:3)])
any.counts.exon <- as.matrix(any.data.exon[, c(6:10)])
any.data.exon <- readData(data = any.counts.exon, length = any.lengths.exon,
                        gc=any.GC.exon, chromosome = any.chroms.exon,
                        factors = any.factors)

```

```

myresults.exon <- noiseg(any.data.exon, factor = "Estado", k = NULL,
                        norm = "tmm", pnr = 0.2, nss = 5, v = 0.02,
                        lc = 1, replicates = "no")
mynoiseg.deg.exon = degenes(myresults.exon, q = 0.8, M = NULL)
write.table(mynoiseg.deg.exon,
            file="Genes_DE_Estado_Exons_NCBI.csv", dec=".", sep="\t")

```

A matriz de fatores (`any.factors`) foi construída com a seguinte configuração:

Amostra	Estado	Ambiente	Genótipo
A1	CS	1	1004
A2	SS	1	1004
A3	SS	2	1004
A4	CS	1	361
A5	SS	1	975

A1 a A5: *pools* de amostras de RNA para cada um dos estados fisiológicos, ambientes e genótipos;  
 CS: com sintomas;  
 SS: sem sintomas.

Dessa maneira, é possível realizar os seguintes contrastes: com sintomas *versus* sem sintomas; genótipo 1004 *versus* 361 *versus* 975; ambiente 1 *versus* 2. Aqui serão apresentados e discutidos os dados provenientes do contraste “Estado” (com sintomas *versus* sem sintomas).

No arquivo “Genes\_DE\_Estado\_Exons\_NCBI.csv” foram armazenados os genes diferencialmente expressos entre indivíduos com sintomas *versus* indivíduos sem sintomas.

A análise funcional de cada gene foi realizada por meio dos programas *Diamond* ([www.diamondsearch.org](http://www.diamondsearch.org)) (BUCHFINK et al., 2015) e *Blast2GO* ([www.blast2go.com](http://www.blast2go.com) - GÖTZ et al., 2008). O primeiro executa o Blastx sobre o NCBI e o segundo integra esses dados com os sistemas de categorização funcional do *Gene Ontology Consortium* e *GO Slim Viewer*. Ao final da anotação, os genes diferencialmente expressos são mapeados e anotados, além de serem classificados em 3 grupos funcional:

- processo biológico – conjunto de eventos moleculares cujo produto do gene participa e que são fundamentais para o funcionamento de uma célula, tecido, órgão ou organismo;
- função molecular – refere-se a atividades elementares do produto gênico a nível molecular;
- componente celular – relação de genes cujo produto desempenha função na célula ou no ambiente extracelular.

Neste mesmo programa foi realizada uma análise no banco de dados *InterPro*. Neste banco de dados é possível verificar se determinado gene possui domínios envolvido direta ou indiretamente em funções biológicas.

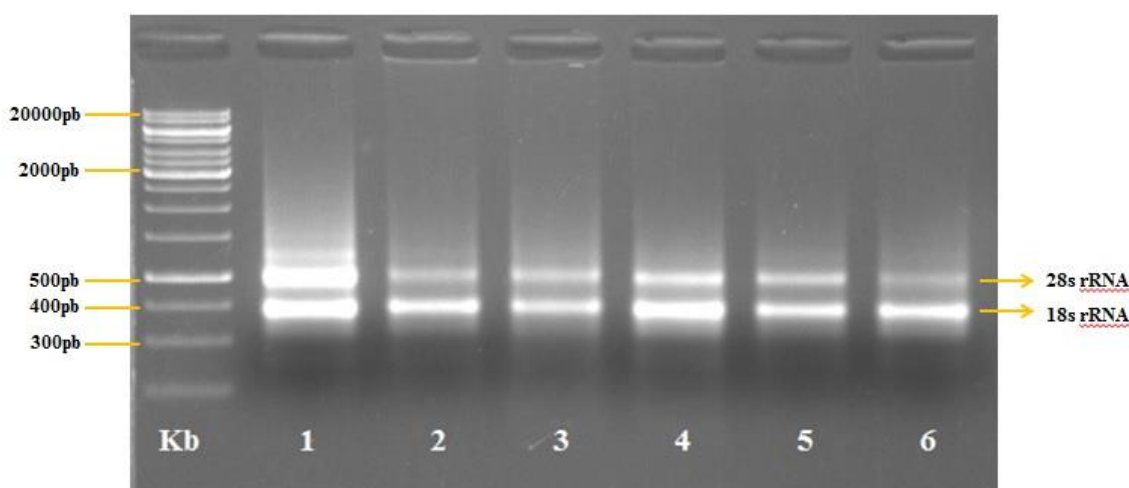
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Qualidade do material genético extraído

A qualidade e integridade do RNA extraído das amostras são essenciais em análises de expressão gênica. As amostras extraídas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1% e corado com brometo de etídeo para visualização e confirmação da integridade do RNA total isolado.

Os testes iniciais para seleção e adequação do protocolo de extração de RNA indicou que o protocolo *Pure Link* foi o mais adequado.

A eletroforese em gel de agarose mostrou que as bandas ribossomais de 28S e 18S estavam intactas e bastante nítidas, demonstrando que o RNA não foi degradado e também não foi detectada contaminação por gDNA (Figura 16).



**Figura 16** – Imagem de um gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo contendo 06 amostras de RNA total de boa qualidade e apresentando as subunidades 28S e 18S do RNA. O material foi extraído de tecido foliar de eucalipto com distúrbios fisiológicos.

A análise espectrofotométrica mostrou que a razão  $A_{260}/280$  das amostras de RNA variaram entre 1,8 e 2,2, indicando boa qualidade das amostras de RNA. Do mesmo modo, os valores de  $A_{260}/230$  variaram de 1,6 a 2,1, indicando que o RNA extraído estava livre de contaminantes. De modo geral, as extrações apresentaram bons resultados, com alta qualidade e boa concentração do RNA total obtidos de amostras do tecido foliar.

A ausência de rastros (*smear*) no gel é um indicativo de que o material extraído não apresentou índices expressivos de contaminação por proteínas e/ou metabólitos secundários. É

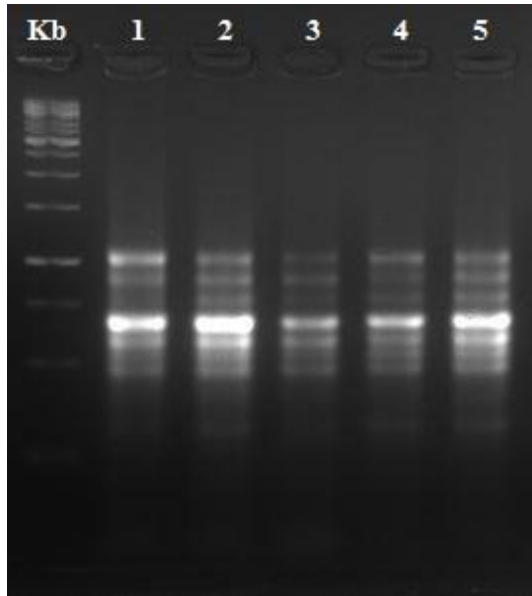
um indício, também, de que as amostras não sofreram degradação ao longo do processo de extração.

Salienta-se que, para obter estes resultados, inúmeros testes e otimizações nos protocolos foram realizados, tornando os procedimentos de extração e isolamento de RNA laboriosos e demorados. Devido a presença de metabólitos secundários nas espécies vegetais, esse procedimento, que pode ser simples para dado tecido e/ou organismo, pode ser gravemente afetado, tendo sua eficácia consideravelmente diminuída. A instabilidade natural do RNA e a presença inevitável de RNAses no meio agravam a situação. Além disso, é sabido que o eucalipto é uma espécie que apresenta alto teor fenólico, polissacarídeos e compostos secundários em seus tecidos, os quais se acumulam em resposta aos diversos estímulos do ambiente, na defesa contra diversos estresses e durante o desenvolvimento da planta (SANTOS et al.; 2013; FORTES e SANTOS, 2016; SAULLE et al.; 2018). Considerando duas amostras, com sintomas e sem sintomas de DFE, claramente observou-se que amostras com sintomas são mais difíceis de produzirem amostras de RNA de boa qualidade. Suspeita-se que a doença induz a produção de compostos indesejáveis ao processo de extração de ácidos nucleicos. Por esse motivo, protocolos diferentes foram testados e diversos ajustes foram realizados até obter-se a qualidade necessária às amostras. Isso tornou os procedimentos de isolamento de RNA muito extenso e demasiado trabalhoso.

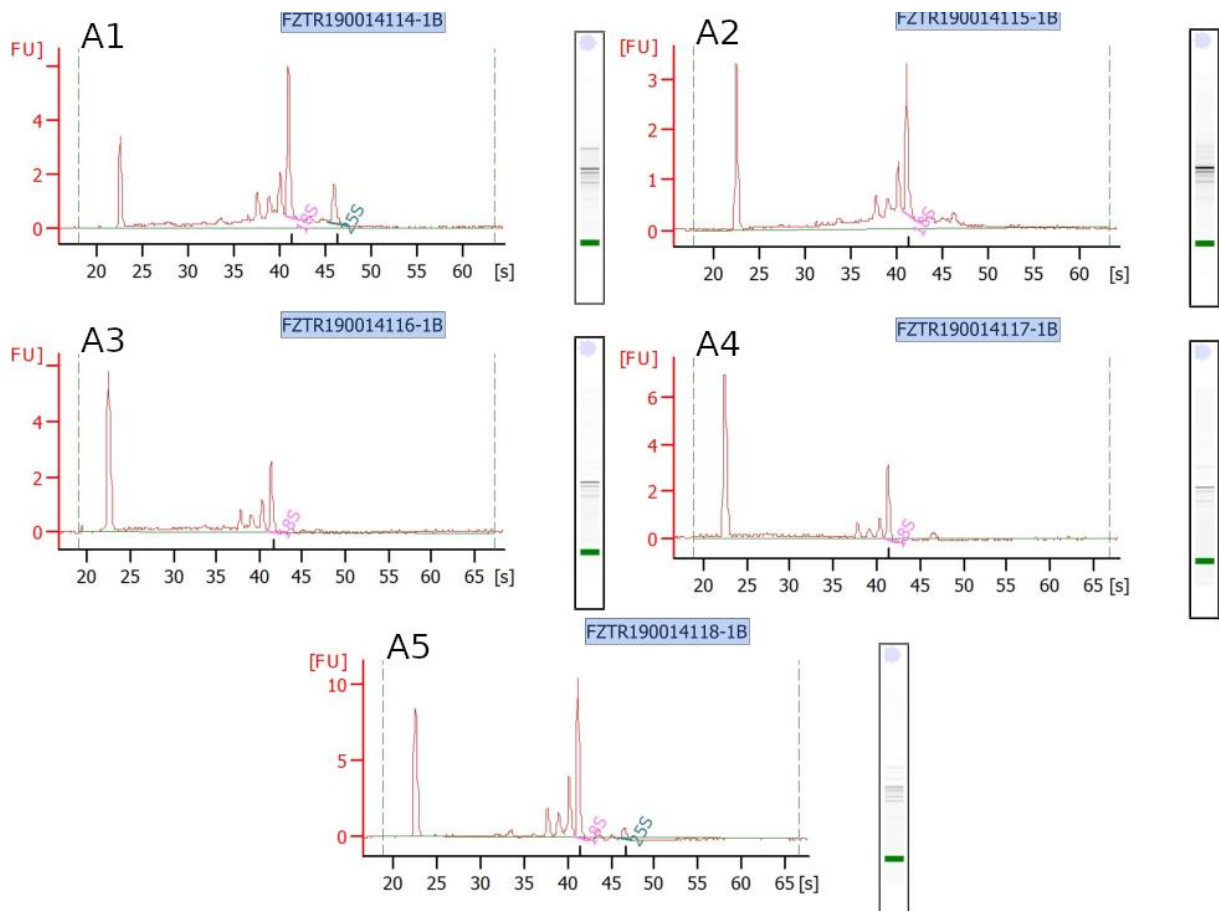
Os *pools* de amostras enviadas a empresa para confecção das bibliotecas e sequenciamento apresentaram ótima qualidade, tanto observadas em gel de agarose (Figuras 16 e 17) quanto analisadas em equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) (Figura 18 e Tabela 2).

Normalmente, os valores de *RNA integrity number* (RIN) obtidos no equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer que classificam uma amostra como adequada para submissão ao sequenciamento deve ser igual ou maior que 7,0. No entanto, alguns organismos, tecidos ou situações ambientais podem interferir nas quantidades de rRNA, que é utilizado para o cálculo do RIN. Nestes casos, além do RIN, analisa-se os demais dados fornecidos pelo equipamento, bem como o padrão de cada amostra no gel de agarose. Além disso, o tamanho da sequência obtida nos equipamentos Illumina HiSeq 4000 (150 pb) são muito pequenas para sofrer grandes interferências de degradação parcial. Inclusive, para a produção das bibliotecas o RNA é submetido a um processo de fragmentação, que nada mais é que uma degradação controlada (vide seção Material e Métodos).





**Figura 17** – Padrão apresentado pelos cinco *pools* de amostras encaminhadas para a confecção das bibliotecas e para sequenciamento. Kb = 1 Kb DNA Ladder. 1 a 5 = *pools* de amostras A1 a A5, respectivamente, representando cada um dos materiais analisados (detalhes na Tabela 1).



**Figura 18** – Eletroferograma obtidos das amostras de RNA total extraídas de tecido foliar de eucalipto com sintomas e sem sintomas de declínio fisiológico. A1 a A5 refere-se a cada pool de amostras (vide detalhes na Tabela 1).

**Tabela 2.** Resumo do controle de qualidade dos *pools* de amostras submetidos ao sequenciamento realizados pela empresa que sequenciou as amostras.

Amostra	Sample ID	RNA Con (ng/ul)	Vol (ul)	Quantidade (ug)	OD260/280	OD260/230	RIN	Conclusão
A1	FKRN190014114-1A	470	27,00	12,69	1,47	0,73	6,40	Pass
A2	FKRN190014115-1A	260	27,00	7,02	1,49	0,78	6,30	Hold
A3	FKRN190014116-1A	210	27,00	5,67	1,41	0,61	6,90	Hold
A4	FKRN190014117-1A	160	27,00	4,32	1,43	0,66	7,10	Hold
A5	FKRN190014118-1A	360	27,00	9,72	1,54	0,79	6,50	Pass

Pass: A amostra está qualificada para o preparo da biblioteca;

Hold: A amostra tem certa qualidade para o preparo da biblioteca, mas, podem ocorrer falhas.

## 6.2 Resumo dos dados de sequenciamento

O sequenciamento resultou em 14,00 G de bases brutas, 13,60 G de bases limpas que compreendem 46,3 milhões de sequências brutas e 45,4 milhões de sequências limpas. Observa-se que a quantidade de bases erradas foi muito baixo e que acima de 97,54% das bases possuem qualidade *Phred* maior do que 20 (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resumo do processo de sequenciamento.

Amostra	Total Reads	Reads Limpos	Total Base (G)	Base Limpa (G)	Efetividade (%)	Erro (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	Conteúdo de GC (%)
A1	9.250.005	9.046.113	2,80	2,70	97,80	0,03	97,56	94,00	52,55
A2	8.885.057	8.674.388	2,70	2,60	97,63	0,03	97,54	93,72	52,38
A3	10.136.016	9.913.492	3,00	3,00	97,80	0,02	98,27	95,51	51,05
A4	10.201.418	10.023.395	3,10	3,00	98,25	0,02	98,38	95,68	50,33
A5	7.837.306	7.726.865	2,40	2,30	98,59	0,03	97,69	94,22	53,59
Total	46.309.802	45.384.253	14,00	13,60					

Total de reads: quantidade total de reads obtidos. Para sequenciamento *paired-end*, este valor é igual para read1 e read2.

Reads limpos: quantidade total de reads após o processo de filtragem (controle de qualidade). Para sequenciamento *paired-end*, este valor é igual para read1 e read2.

Total de bases: (Total de reads) × (tamanho da sequência), calculado em G. Para sequenciamento *paired-end* (PE150), o tamanho da sequência é igual a 150 pb.

Bases limpas: (Reads limpos) × (tamanho da sequência), calculado em G. Para sequenciamento *paired-end* (PE150), o tamanho da sequência é igual a 150 pb.

Efetividade (%): (Reads limpos/Total de reads) × 100%

Erro: razão de bases erradas

Q20, Q30: (qualidade da base atribuída pelo *Phred* > 20 ou 30) / (Total de base)

Conteúdo GC: (quantidade de bases G e C) / (Total de bases)

Após o processo de mapeamento dos *reads* no genoma do eucalipto, pode-se observar que a porcentagem de mapeamento foi maior que 95% (Tabela 4).

**Tabela 4.** Proporção de *reads* mapeadas no genoma do eucalipto.

Amostras	Total de <i>reads</i>	<i>Reads</i> mapeados	Proporção de <i>reads</i> mapeados
A1	9.250.005	8.866.920	0,958585
A2	8.885.057	8.542.558	0,961452
A3	10.136.016	9.763.505	0,963249
A4	10.201.418	9.782.786	0,958963
A5	7.837.306	7.562.612	0,964950

Uma análise mais refinada do processo de mapeamento mostra que acima de 50% dos *reads* mapeados ocorreram em regiões anotadas, em torno de 6 a 7% não foram mapeados, entre 6 e 8% foram alinhados em múltiplos locais, 4% foram alinhados em região não anotada e 30%, aproximadamente, foram ambíguos, impedindo o correto alinhamento (Tabela 5).

### 6.3 Transcritos diferencialmente expressos (DE)

As análises com o programa NOIseq resultaram em 2.819 exons diferencialmente expressos (Apêndice A). Desse total, 1.265 (44,87%) foram induzidos e 1.554 (55,13%) foram reprimidos nas plantas com sintomas de DFE.

**Tabela 5.** Números de *reads* não atribuídos e as razões pelas quais eles não foram atribuídos, além do número de *reads* atribuídos com sucesso, para cada biblioteca

Status	A1	%	A2	%	A3	%	A4	%	A5	%
Assigned	4.990.208	51,71	4.952.223	53,17	5.321.310	50,11	5.368.631	50,19	4.462.471	54,72
Unassigned_Unmapped	667.255	6,91	600.972	6,45	666.877	6,28	678.541	6,34	488.714	5,99
Unassigned_MultiMapping	686.998	7,12	734.182	7,88	841.763	7,93	853.210	7,98	551.267	6,76
Unassigned_NoFeatures	331.621	3,44	338.656	3,64	411.262	3,87	474.834	4,44	306.394	3,76
Unassigned_Ambiguity	2.975.172	30,83	2.688.063	28,86	3.378.310	31,81	3.322.222	31,06	2.346.228	28,77
Total	9.651.254	100,00	9.314.096	100,00	10.619.522	100,00	10.697.438	100,00	8.155.074	100,00

Assigned: o *read* foi atribuído a um gene descrito no arquivo de anotação.

Unassigned\_Unmapped: o *read* não foi mapeado no genoma de referência.

Unassigned\_MultiMapping: o *read* mapeia em diferentes posições do genoma.

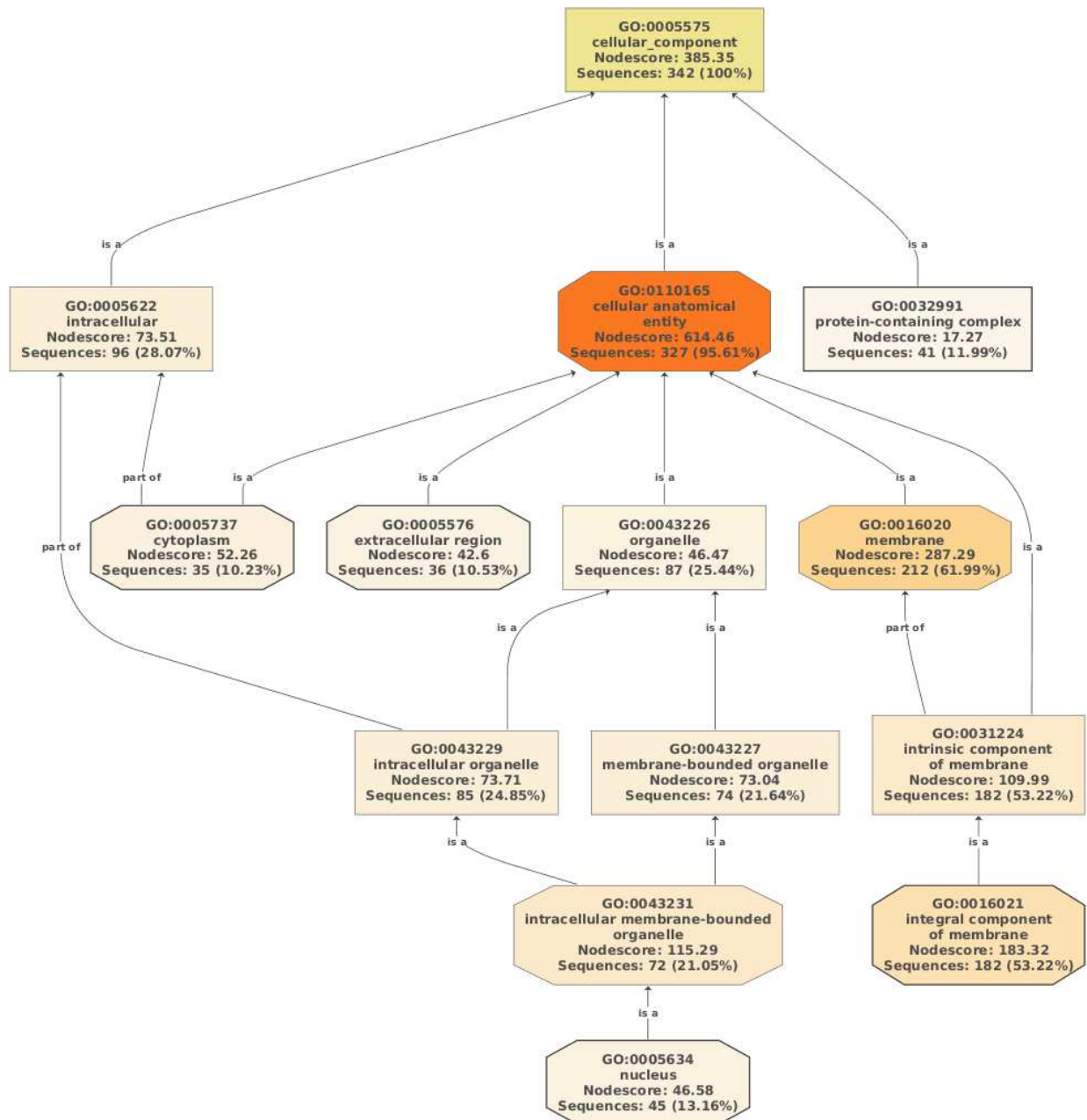
Unassigned\_NoFeatures: o *read* foi atribuído a uma região do genoma não anotada no arquivo de anotação.

Unassigned\_Ambiguity: o *read* pode ser originário do gene A ou do gene B. Não é possível determinar a origem.

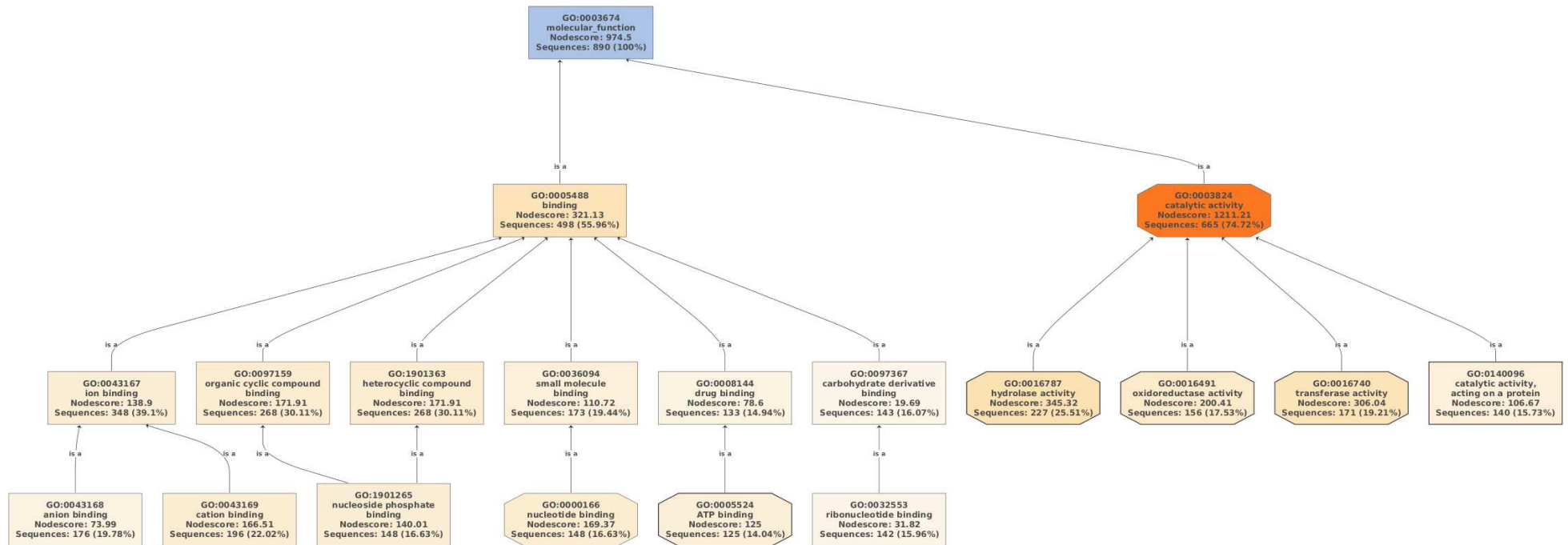
A classificação desses genes quanto às possíveis funções, realizadas nos programas Diamond e Blast2GO, mostra que 644 participam de processos biológicos, 342 são componentes celulares e 890 possuem função molecular (Figuras 19, 20 e 21).

No entanto, 1.469 exons receberam *NA* (descrição do gene não disponível no GenBank), 114 como *probable* (provável), 87 receberam *uncharacterized* (não caracterizado), 47 foram caracterizados como *hypothetical* (hipotéticos) e 38 receberam *putative* (putativo) quando analisados contra o banco de genes contido no NCBI por meio da ferramenta Blastx. Assim, 1.064 exons diferencialmente expressos possuem similaridade com genes catalogados

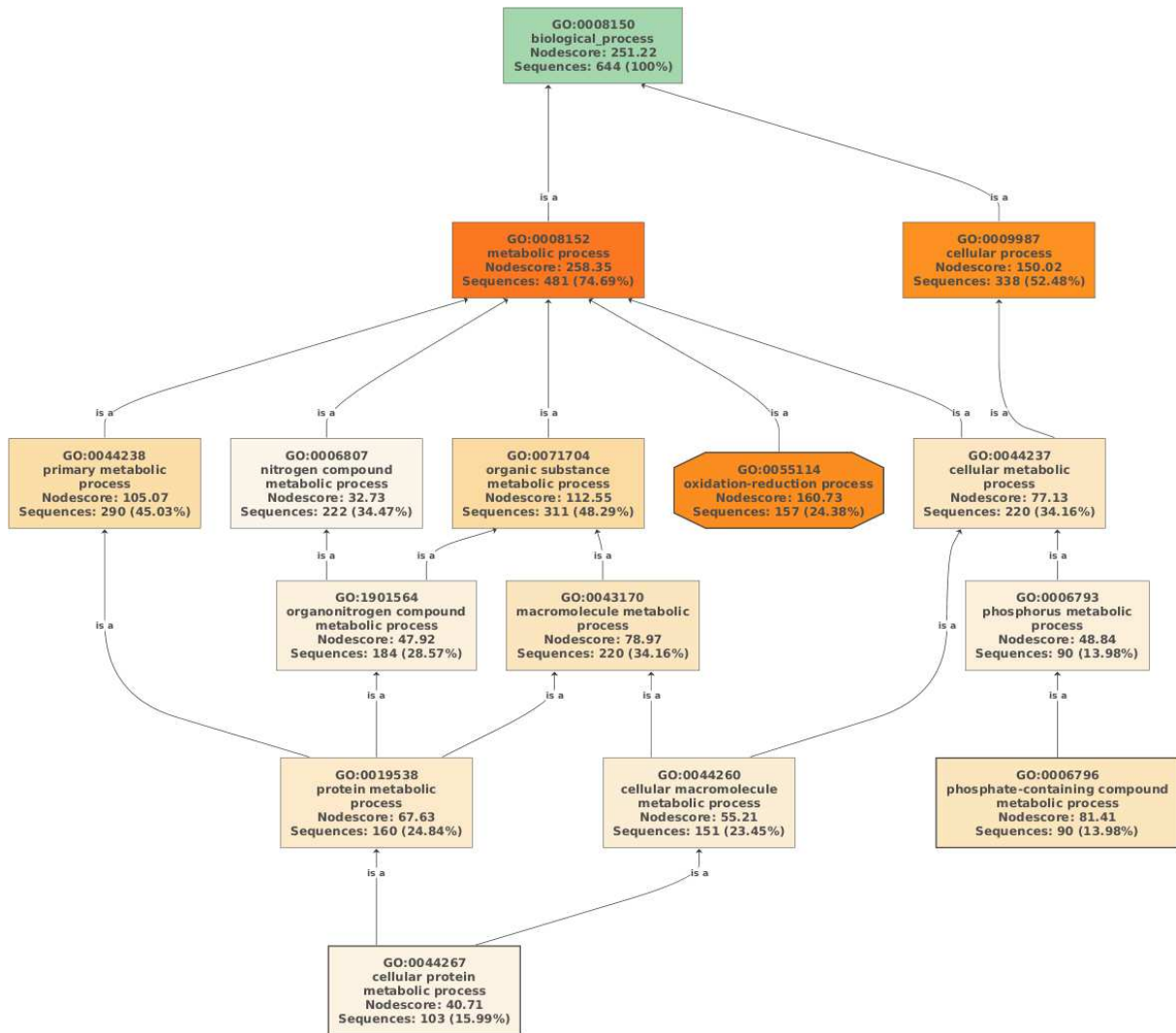
no NCBI. Mas, uma vez que utilizou-se um *cutoff*  $1 \times 10^{-5}$  para o *e-value*, um valor mais restritivo pode diminuir a quantidade de exons anotados, consideravelmente.



**Figura 19** – Distribuição dos genes diferencialmente expressos em subcategorias pertencentes a componente celular segundo o Gene Ontology.



**Figura 20** – Distribuição dos genes diferencialmente expressos em subcategorias pertencentes a função molecular segundo o Gene Ontology.



**Figura 21** – Distribuição dos genes diferencialmente expressos em subcategorias pertencentes a função processos biológicos segundo o Gene Ontology.

Dentre os genes DE classificados com a função processos biológicos encontram-se 37% categorizados com função em processos de óxido-redução, 18% proteólise, 16% referem-se a fosforilação proteica, 15% a transporte celular, 8% a processos biossintéticos celular e 6% a processos envolvidos na biossíntese de compostos orgânicos (Figura 22).

Destaca-se a quantidade de exons relacionados a genes envolvidos no processo de oxirredução (redox).

Ahmad e colaboradores (2016) afirmam que as condições ambientais adversas, intensificadas pelas mudanças climáticas, tais como seca, salinidade excessiva, altas temperaturas, radiações acima do tolerável, bem como metais pesados têm ocasionado estresse em plantas. Temperaturas extremas, por exemplo, podem acarretar alterações em várias vias metabólicas, inclusive na fotossíntese (ZINN, 2010). Além disso, o calor excessivo

altera o transporte de elétrons, diminuindo sua eficiência, fato que contribui para uma produção elevada de espécies reativas de oxigênio (ROS) (ASTHIR, 2015). Em resposta a situações de estresse, essas espécies químicas são formadas como subproduto do metabolismo aeróbico e participam de uma elaborada rede de vias de sinalização em planta. A expressão de vários genes envolvidos no metabolismo e nas vias de transdução de sinais sofrem influência das ROS (FOYER e NOCTOR, 2013; VAAHTERA et al., 2014; CONSIDINE et al., 2015; DIETZ, 2015; MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016). Portanto, essas moléculas são tidas como moléculas sinalizadoras ou mensageiros secundários. Elas são produzidas, principalmente, no apoplasto pelas NADPH oxidases e algumas oxidases e peroxidases, e nos cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e possivelmente outros compartimentos celulares, por diferentes vias. Como cada compartimento celular estabelece e controla sua própria homeostase de ROS, os diferentes níveis de ROS nos diferentes compartimentos podem ser vistos como geradores de uma assinatura de ROS específica. Essa assinatura pode mudar dependendo do tipo de célula, seu estágio de desenvolvimento ou nível de estresse. Estresses abióticos diferentes e/ou combinações diferentes de estresses abióticos, provavelmente, causam a formação de diferentes assinaturas ROS em células vegetais. A decodificação dessas assinaturas por meio de diferentes sensores ROS pode produzir um sinal específico para determinado estresse, que modulará a resposta de aclimação ao tipo de estresse/combinção que afeta a planta (DIETZ, 2015, 2016; DIETZ et al., 2016).

As duas principais fontes de ROS dependentes de estresse abiótico são aquelas produzidas como consequência de interrupções na atividade metabólica (ROS metabólica) e ROS produzidas para sinalização que são parte da rede de transdução de sinal em resposta ao estresse abiótico. (ROS de sinalização). As ROS metabólicas podem alterar diretamente a taxa limitadora do status redox de enzimas e controlar os fluxos metabólicos na célula, alterando, assim, diferentes reações metabólicas para combater os efeitos do estresse (MILLER et al., 2010). Além disso, pode afetar a transcrição e/ou tradução, alterando a função das principais proteínas reguladoras por meio de modificações redox derivadas de ROS (FOYER e NOCTOR, 2013, 2016). Por outro lado, as ROS de sinalização são geradas como uma resposta à percepção de estresse por sensores de estresse (por exemplo, canais dependentes de nucleotídeos cíclicos ativados por estresse pelo calor; MITTLER et al., 2012) e é mediada pela ativação de NADPH-oxidases (RBOH) derivada de cálcio e/ou fosforilação na membrana plasmática (SUZUKI et al., 2011; GILROY et al., 2014). Supõe-se, também, que a sinalização das ROS altera diretamente o estado redox das proteínas reguladoras e altera a transcrição e tradução, resultando na ativação de uma resposta de aclimação que mitigaria os efeitos do



estresse no metabolismo e reduziria o nível de ROS produzidas metabolicamente. As ROS metabólicas e de sinalização podem ser produzidas em diferentes compartimentos subcelulares (por exemplo, ROS metabólicas no cloroplasto e ROS de sinalização no apoplasto). No entanto, elas podem afetar o nível uma da outra e até se mover entre compartimentos (por exemplo,  $H_2O_2$  pode se mover através das membranas em um processo regulado por meio de aquaporinas; TIAN et al., 2016).

Dentre os exons diferencialmente expressos com similaridade a enzimas, há 24 induzidos relacionados com o aparato celular de oxirredução (GO:0055114) e 34 reprimidos, conforme detalhado nas tabelas abaixo (Tabelas 6 e 7).

**Tabela 6** – Lista dos 24 dos exons diferencialmente expressos que foram induzidos indicando o símbolo do gene, nome, processo biológico e função molecular de cada.

Exons Induzidos			
Símbolo do Gene	Nome	Processo Biológico	Função Molecular
ACO3	<i>1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog</i>	Biossíntese de etileno, amadurecimento de frutas	Oxidoredutase
FOLD2	<i>bifunctional protein FOLD 2</i>	Metabolismo de carbono, fototranspiração	Hidrolase, enzima multifuncional, oxidoredutase
CODM	<i>codeine O-demethylase</i>	Metabolismo alcalóide	Dioxigenase, Metiltransferase, Oxidoredutase, Transferase
CYPs	<i>cytochrome P450</i>	Síntese de ligninas, protetores de UV, pigmentos, compostos de defesa, ácidos graxos, hormônios e moléculas de sinalização	Monooxigenases
KAO2	<i>ent-kaurenoic acid oxidase 2</i>	Alongamento do caule e desempenham um papel central no desenvolvimento da planta.	Monooxigenase, Oxidoredutase
FLS1	<i>flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase</i>	Biossíntese de flavonóides	Dioxigenase, Oxidoredutase
GAPCP2	<i>glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPCP2</i>	Glicólise	Oxidoredutase
CYP81E9	<i>isoflavone 3'-hydroxylase</i>	Biossíntese das fitoalexinas pterocarpina.	Monooxigenase, Oxidoredutase
LAC9	<i>putative laccase-9</i>	Degradação de lignina	Oxidoredutase
EO	<i>2-methylene-furan-3-one reductase</i>	Produz furanol em frutas vermelhas	Oxidoredutase
N/A	<i>methylecgonone reductase</i>	Metabolismo alcalóide	Oxidoredutase
AYR1	<i>NADPH-dependent 1-acyldihydroxyacetone phosphate reductase</i>	Requerido para a biossíntese de ácido fosfatídico através da via DHAP	Oxidoredutase
COR2	<i>non-functional NADPH-dependent codeinone reductase 2</i>	Biossíntese da morfina	Oxidoredutase
DAO	<i>2-oxoglutarate-dependent dioxygenase DAO</i>	Essencial para o catabolismo de auxina e manutenção da homeostase de auxina em órgãos reprodutivo	Dioxigenase, Oxidoredutase
OPR3	<i>12-oxophytodienoate reductase 3</i>	Biossíntese de ácidos graxos, metabolismo de ácidos graxos, biossíntese de lipídeos, metabolismo de lipídeos, biossíntese de oxilipina	Oxidoredutase
PER10	<i>peroxidase 10</i>	Peróxido de hidrogênio	Oxidoredutase, Peroxidase
PER12	<i>peroxidase 12</i>	Peróxido de hidrogênio	Oxidoredutase, Peroxidase
HRPA2	<i>peroxidase A2</i>	Peróxido de hidrogênio	Oxidoredutase, Peroxidase
CAD1	<i>probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1</i>	Biossíntese de Lignina	Oxidoredutase
ELI3	<i>probable mannitol dehydrogenase</i>	Oxida o manitol em manose	Oxidoredutase
DLO2	<i>protein DMR6 oxygenase 2</i>	Defesa de plantas	Dioxigenase, Oxidoredutase
DMR6	<i>protein downy mildew resistance 6</i>	Defesa de plantas	Dioxigenase, Oxidoredutase
SRG1	<i>protein SRG1</i>	Biossíntese da serina	Oxidoredutase
N/A	<i>tropinone reductase homolog</i>	Biossíntese de metabólitos secundários	Oxidoredutase

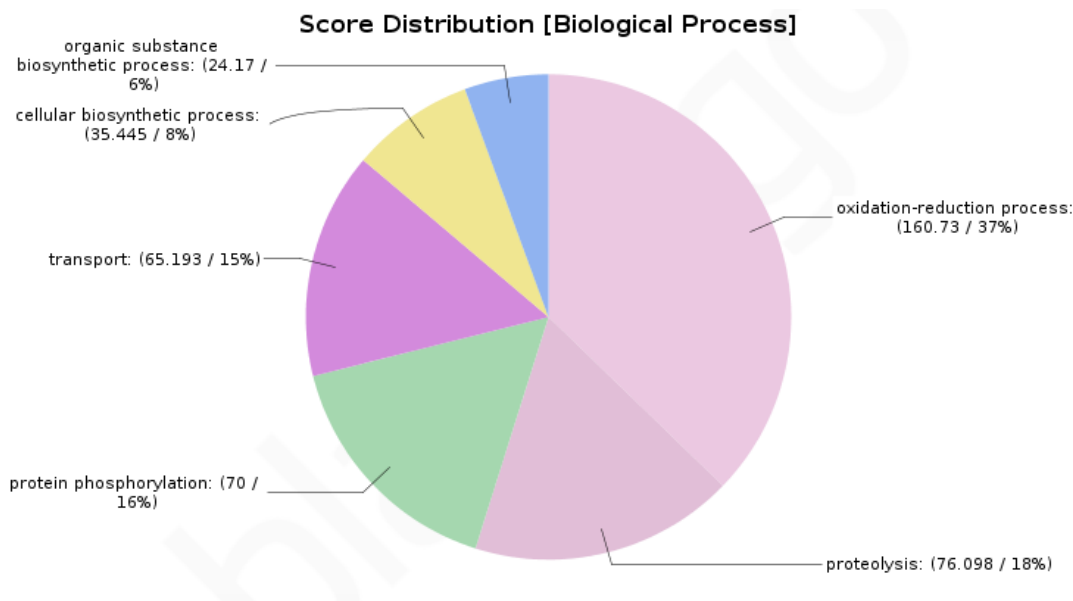
**Tabela 7** – Lista dos 34 dos exons diferencialmente expressos que foram reprimidos indicando o símbolo do gene, nome, processo biológico e função molecular de cada.

Exons Reprimidos			
Símbolo do Gene	Nome	Processo Biológico	Função Molecular
ACO3	<i>1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog</i>	Biossíntese de etileno, amadurecimento de frutas	Oxidoreductase
<i>N/A</i>	<i>4-coumarate 3-hydroxylase</i>	Biossíntese de Lignina	Monooxigenase, Oxidoreductase
ADH2	<i>alcohol dehydrogenase class -3</i>	Desempenha um papel central na desintoxicação de formaldeído	Oxidoreductase
<i>N/A</i>	<i>alcohol-forming fatty acyl-CoA reductase</i>	Biossíntese e metabolismo de lipídeos	Oxidoreductase
ALDH2C4	<i>aldehyde dehydrogenase family 2 member C4</i>	Biossíntese de ácido fólico	Oxidoreductase
ALDH3F1	<i>aldehyde dehydrogenase family 3 member F1</i>	Processo metabólico de aldeído celular	Oxidoreductase
mcm5	<i>DNA replication licensing factor MCM5</i>	Ciclo celular, replicação de DNA	Ligação a DNA, Helicase, Hidrolase
FAR3	<i>fatty acyl-CoA reductase 3</i>	Biossíntese e metabolismo de lipídeos	Oxidoreductase
FLS1	<i>flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase-like</i>	Biossíntese de flavonóides	Dioxygenase, Oxidoreductase
CYP76B6	<i>geraniol 8-hydroxylase</i>	Biossíntese de hidroxigeraniol	Monooxigenase, Oxidoreductase
GA20OX2	<i>gibberellin 20 oxidase 2</i>	Biossíntese de gibberelina	Oxidoreductase
HEMA1	<i>glutamyl-tRNA reductase 1</i>	Biossíntese de clorofila e porfirina	Oxidoreductase
EUGRSUZ_A02908	<i>hypothetical protein EUGRSUZ_A02908</i>	Atividade oxidoreductase	Oxidoreductase
LAC14	<i>laccase -14</i>	Degradação de Lignina	Oxidoreductase
Bp10	<i>L-ascorbate oxidase homolog</i>	Germinação	Oxidoreductase
EO	<i>2-methylene-furan-3-one reductase</i>	Produz fúranol em frutas vermelhas	Oxidoreductase
<i>N/A</i>	<i>methylegonone reductase</i>	Metabolismo alcalóide	Oxidoreductase
<i>N/A</i>	<i>monocopper oxidase-like protein</i>	Componente de membrana celular	Oxidoreductase
OPR3	<i>12-oxophytodienoate reductase 3</i>	Biossíntese de ácidos graxos, metabolismo de ácidos graxos, biossíntese de lipídeos, metabolismo de lipídeos, biossíntese de oxilipina	Oxidoreductase
FAD7	<i>omega-3 fatty acid desaturase</i>	Biossíntese de ácidos graxos, Metabolismo de ácidos graxos, Biossíntese de lipídios, Metabolismo de lipídios	Oxidoreductase
PER11	<i>peroxidase 11</i>	Ritmos biológicos, peróxido de hidrogênio	Oxidoreductase, Peroxidase
PER2	<i>peroxidase 2</i>	Peróxido de hidrogênio	Oxidoreductase, Peroxidase
PER4	<i>peroxidase 4</i>	Peróxido de hidrogênio	Oxidoreductase, Peroxidase
PER42	<i>peroxidase 42</i>	Ritmos biológicos, peróxido de hidrogênio	Oxidoreductase, Peroxidase

Exons Reprimidos			
Símbolo do Gene	Nome	Processo Biológico	Função Molecular
PER7	<i>peroxidase P7</i>	Peróxido de hidrogênio	Oxidoreductase, Peroxidase
ALMOND_2B03003_9	<i>Predicted: uncharacterized protein</i>	Regulação da resistência adquirida sistêmica	Oxidoreductase
CYP71D55	<i>premnaspirodiene oxygenase</i>	Biossíntese de solavetivona	Monooxygenase, Oxidoreductase
CAD1	<i>probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1</i>	Biossíntese da Lignina	Oxidoreductase
HTH	<i>protein hothead</i>	Sinalização celular	Oxidoreductase
LOC108980827	<i>putative quinone -oxidoreductase homolog</i>	Envolvida no metabolismo do cobre	Oxidoreductase
RBCS-3B	<i>ribulose biphosphate carboxylase small chain 3B chloroplastic</i>	Fotorrespiração	Monooxygenase
SODB	<i>superoxide dismutase [Fe] chloroplastic</i>	Destrói os radicais ânion superóxido que são normalmente produzidos dentro das células e que são tóxicos para os sistemas biológicos.	Oxidoreductase
N/A	<i>tropinone reductase homolog</i>	Biossíntese de metabólitos secundários	Oxidoreductase
ZDS1	<i>zeta-carotene desaturase</i>	Biossíntese de carotenóides	Oxidoreductase

Observa-se que alguns nomes estão presentes tanto no grupo induzido quanto no reprimido. Destaca-se que são locos diferentes e que, conseqüentemente, estão sob promotores distintos. Assim, cada um pode sofrer um tipo de regulação, positiva ou negativa. Outro ponto a destacar é que a RUBISCO detectada como DGE está reprimida. Isso é condizente, pois a planta em estresse pode possuir uma menor taxa de fixação de CO<sub>2</sub>, levando a menor quantidade de carboidratos, menor taxa de crescimento e menor taxa metabólica.

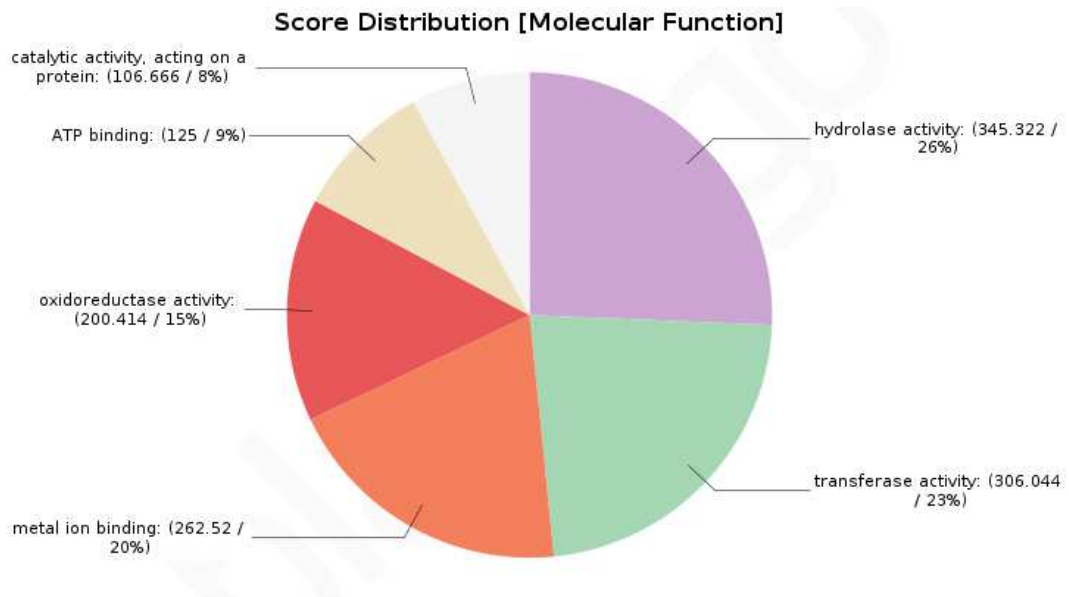
Além desse *roll* de genes, os resultados mostram duas aquaporinas: uma induzida, *Aquaporin PIP2-1*, presente na membrana plasmática, e uma outra reprimida, *Probable aquaporin TIP4-3*, provavelmente presente no vacúolo. Durante o mestrado, Rodrigues (2015) verificou, por meio de RT-qPCR, que uma aquaporina foi diferencialmente expressa entre genótipos com sintomas e genótipos sem sintomas, sendo mais expressa no genótipo com sintomas.



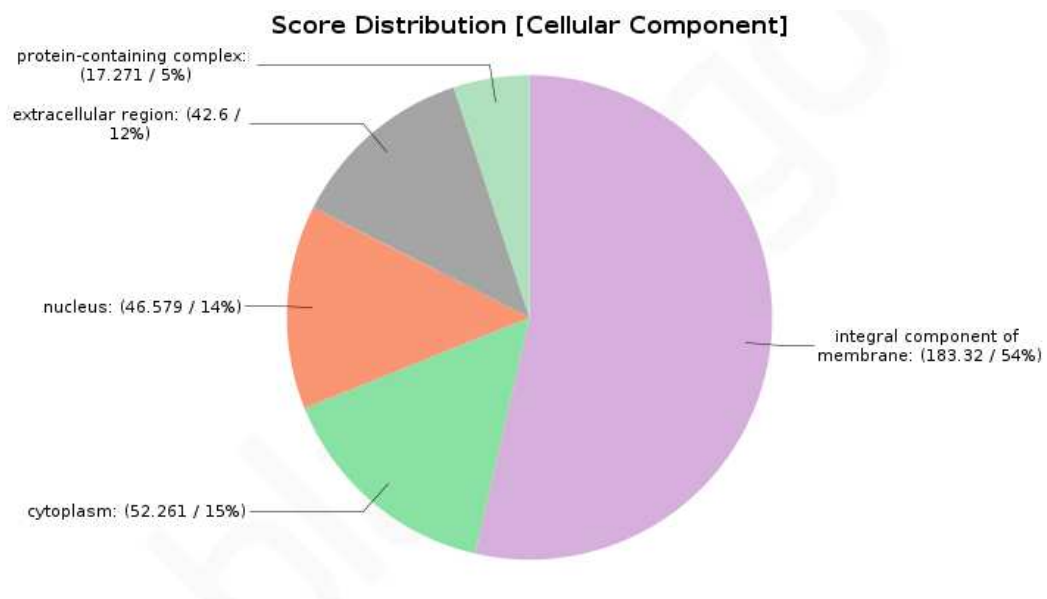
**Figura 22** – Distribuição funcional dos genes DE classificados como pertencentes aos processos biológicos.

Segundo Shapiguzov e colaboradores (2012), uma hipótese para a sinalização dependente de espécies de ROS conectando apoplasto, cloroplasto e o núcleo pode ser exemplificada pela Figura 23. Segundo estes autores, as ROS apoplásticas são produzidas por peroxidases extracelulares e por NADPH-oxidases ligadas à membrana plasmática (RBOH). O superóxido ( $O_2^-$ ) é então convertido em  $H_2O_2$ .  $H_2O_2$  (e possivelmente  $O_2^-$ ) pode entrar na célula através dos canais da membrana plasmática (aquaporinas, AQP) e/ou reagir com proteínas extracelulares (proteína apoplástica, AP) ou sensoras transmembranar (por exemplo, quinases semelhantes a receptores, RLKs) resultando em alterações na expressão gênica por meio de vias de sinalização intracelular, envolvendo, por exemplo, MAPKs (proteínas quinases ativadas por mitogênio). A produção extracelular de ROS é detectada através de mecanismos ainda desconhecidos no cloroplasto, onde a geração de ROS pela cadeia de transferência de elétrons aumenta após essa detecção. Quantidades elevadas de ROS dentro do cloroplasto implicam em regulação da transcrição, seja por meio de fatores conhecidos ou desconhecidos da sinalização retrógrada ou por meio da sinalização hormonal, como por exemplo pelo aumento da produção do ácido salicílico, conhecido por ser responsivos a estresses. As possíveis aquaporinas presentes na membrana do cloroplasto (AQP) podem permitir a passagem de ROS do cloroplasto para o citoplasma. Por sua vez, o cálcio ( $Ca^{2+}$ ) está envolvido na regulação da produção de ROS no apoplasto e no cloroplasto. Neste último



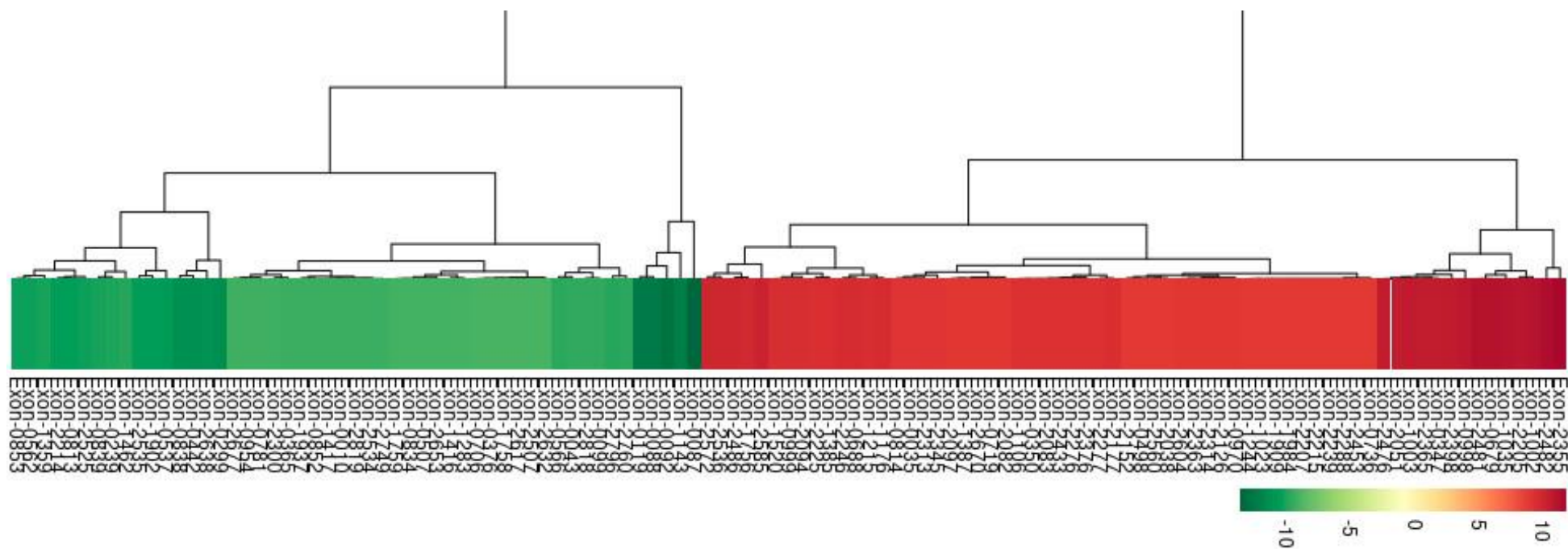


**Figura 24** – Distribuição funcional dos genes DE classificados como pertencentes à função molecular.



**Figura 25** – Distribuição funcional dos genes DE classificados como componentes celulares.

Considerando a grande quantidade de exons diferencialmente expressos, produziu-se um gráfico de calor contendo os exons com *foldchange* maior ou igual a 9,0. Ao todo, existem 115 exons nesta situação, 51 reprimidos e 64 induzidos em plantas com sintomas de DFE (Figuras 26 e 27).



**Figura 26** – Gráfico de calor com os 115 exons com *foldchange* maior que  $\pm 9,0$ . A cor verde indica exons reprimidos e a cor vermelha indica exons induzidos em plantas com sintomas.



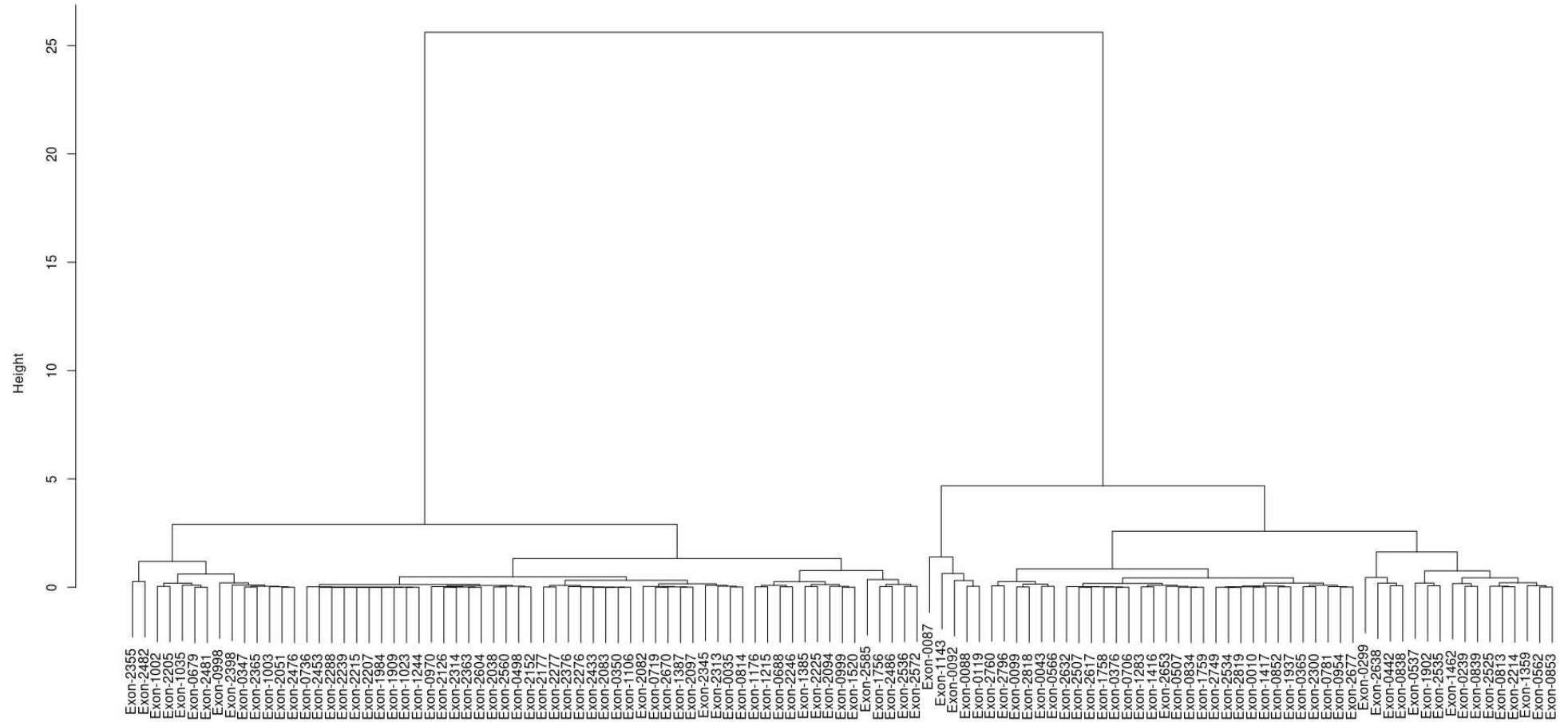


Figura 27 – Dendrograma com os 115 exons com *foldchange* maior que  $\pm 9,0$ . São apresentados 51 exons reprimidos e 64 exons induzidos em plantas com sintomas.

Dentre os genes DE reprimidos nas plantas com sintomas de DFE, pode-se destacar *Nuclear transport factor 2* (NTF2), provavelmente envolvido no transporte de proteínas para o núcleo e constituinte de um sistema multicomponente de fatores citossólicos que se agrupam no complexo de poros durante a importação nuclear. A proteína *Phloem Protein 2-Like A1* (PP2A1) tem atividade inseticida além de ser frequentemente encontrada ligando-se a outras proteínas presentes no floema (DINANT et al., 2003; BENETEAU et al., 2010). Além dessas duas proteínas, *Pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump*, possivelmente envolvida no crescimento de hipocótilo (NAKANISHI e MAESHIMA, 1998), *Stress-response A/B barrel domain-containing protein HSI*, envolvida na defesa contra fungos (PARK et al., 2007), *MLP-like protein 28* (MLP28), que pode se ligar a esteroides e a outros tipos de alvos hidrofóbicos (LYTLE et al., 2009), *Probable sulfate transporter 3.4* (SULTR3;4), *Auxin-binding protein ABP19a* (ABP19A), provável receptor do hormônio auxina, e *NmrA family NAD(P)-binding protein*, que é descrita como um regulador negativo da transcrição e como repressor de metabólitos de nitrogênio em fungos (STAMMERS et al., 2001), também estão entre os genes com maior *foldchange* para repressão.

Dentre os induzidos nas plantas com sintomas de DFE, pode-se encontrar representantes de *Salicylate carboxymethyltransferase* (SAMT), envolvida no metabolismo de ácido salicílico e com sítio de ligação de magnésio, *Thiol protease aleurain*, *Protein Root Hair Defective 3* (RHD3), provavelmente envolvida na expansão celular, requerida para o crescimento radicular, tem função na biossíntese da parede celular além de regular o transporte a partir do complexo de Golgi para o retículo endoplasmático (WANG et al., 1997; GALWAY et al., 1997; WANG et al., 2002; HU et al., 2003; ZHENG et al., 2004; YUEN et al., 2005), *Probable prefoldin subunit 3, Pentatricopeptide repeat-containing protein At4g02820, mitochondrial-like*, crucial para mitocôndrias desenvolverem suas funções e para o desenvolvimento das plantas (LEE et al., 2017), e *Annexin D1* (ANN1), uma proteína com atividade peroxidase, que pode agir para combater o estresse oxidativo e no desenvolvimento de mudas (CLARK et al., 2005; GORECKA et al., 2005).

Além desses genes, dentre todos os 2.819 diferencialmente expressos, houve a indução de seis fatores de transcrição (*transcription factor MYB114 isoform X2*, *probable WRKY transcription factor 70* (WRKY70), *transcription factor TGA2.2* (TGA2), *transcription factor MYB23* (MYB23), *heat stress transcription factor B-3* (HSFB3) e *WRKY transcription factor 42*) e a repressão de seis (*ethylene-responsive transcription factor ESR2* (ESR2), *truncated transcription factor CAULIFLOWER A*, *transcription factor MYB114*, *transcription factor MYB114*, *transcription factor MYC2-like* (MYC2), *probable WRKY transcription factor 9*).

*WRKY70* está envolvido nas respostas de senescência, estresse biótico e abiótico, modulando várias vias de sinalização de fitormônios (LI et al., 2004; LI et al., 2006; UELKER et al., 2007; CHEN et al., 2017). Esse fator de transcrição também desempenha um importante papel na sinalização de jasmonato e ácido salicílico (REN et al., 2008). Também é relatado que ele regula positivamente a via de sinalização mediada por ácido salicílico, mas, negativamente a via de sinalização mediada por ácido jasmônico, determinando, assim, o equilíbrio entre essas vias antagônicas (LI et al., 2004; LI et al., 2006; REN et al., 2008; LI et al., 2017). Juntamente com outros fatores de transcrição promove o crescimento de plantas, mas, evita a resposta à seca, modulando a expressão gênica. Também evita o fechamento estomático e, conseqüentemente, contribui para a tolerância ao estresse osmótico (LI et al., 2013; CHEN 2017).

*TGA2* é necessário para induzir resistência sistêmica adquirida (SAR) por meio da regulação da expressão de genes relacionados à patogênese. Também está relacionado a indução de genes de defesa em *Arabidopsis* (JOHNSON et al., 2003).

*MYB23* participa do controle do alongamento das células epidérmicas nas raízes, mas, negativamente em caules, levando à promoção do alongamento das raízes primárias e à repressão das folhas e do caule, respectivamente. Evita a formação de pelos radiculares ectópicos e controla a iniciação e ramificação de tricomas (KIRIK et al., 2001; ZIMMERMANN et al., 2004; KIRIK et al., 2005; MATSUI et al., 2005).

*HSFB-3* é parte de um grupo de fatores de transcrição de estresse térmico. É um dos principais componentes da cadeia de transdução de sinal, mediando a ativação de genes responsivos ao estresse térmico e a outros estresses abióticos e bióticos (WU et al., 1995).

*ESR2* pode regular positivamente a via de sinalização da giberelina, levando à germinação, alongamento do hipocótilo e expansão da folha. Está envolvido na via de sinalização de citocinina que promove a regeneração de brotações, provavelmente através da ativação transcricional de genes-alvo. Pode estar envolvido na regulação da expressão gênica por fatores de estresse e por componentes das vias de transdução de sinais de estresse (IKEDA et al., 2006; WARD et al., 2006; CHANDLER 2007).

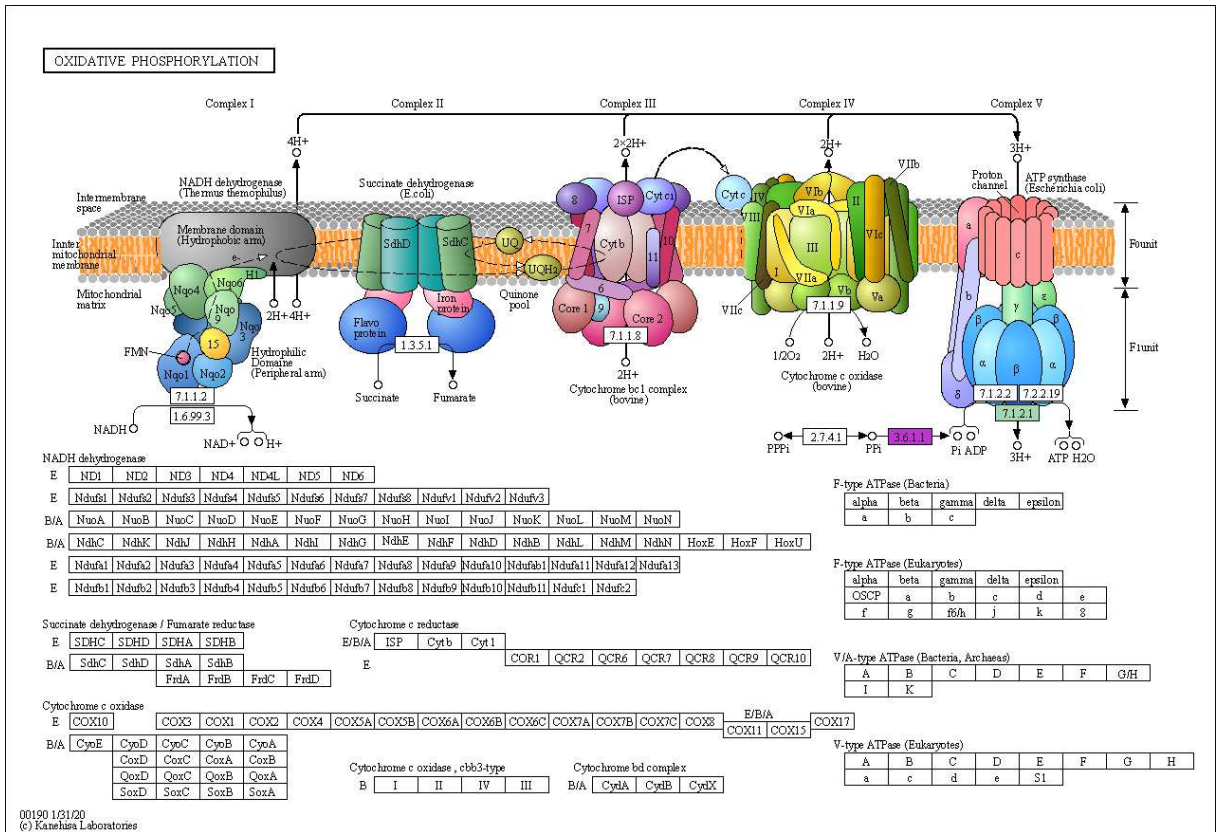
*MYC2* é um fator de transcrição comum das vias de sinalização de luminosidade, ácido abscísico (ABA) e ácido jasmônico (JA). Controla subconjuntos aditivos de respostas dependentes de JA. Está envolvido na regulação de genes induzíveis por ABA em condições de estresse hídrico. Pode formar complexos com todos os MYBs relacionados ao glucosinolato para regular a biossíntese de glucosinolato. Regulador negativo do crescimento fotomorfogênico mediado pela luz azul e da expressão de genes regulados pela luz vermelha

azul e distante. Regulador positivo da formação radicular lateral. Regula a biossíntese de sesquiterpeno (ABE et al., 1997; ABE et al., 2003; LORENZO et al., 2004; YADAV et al., 2005; CHEN et al., 2011; FERNANDEZ-CALVO et al., 2011; NIU et al., 2011; HONG et al., 2012; KAZAN E MANNERS 2013; SCHWEIZER et al., 2013; ZHAI et al., 2013).

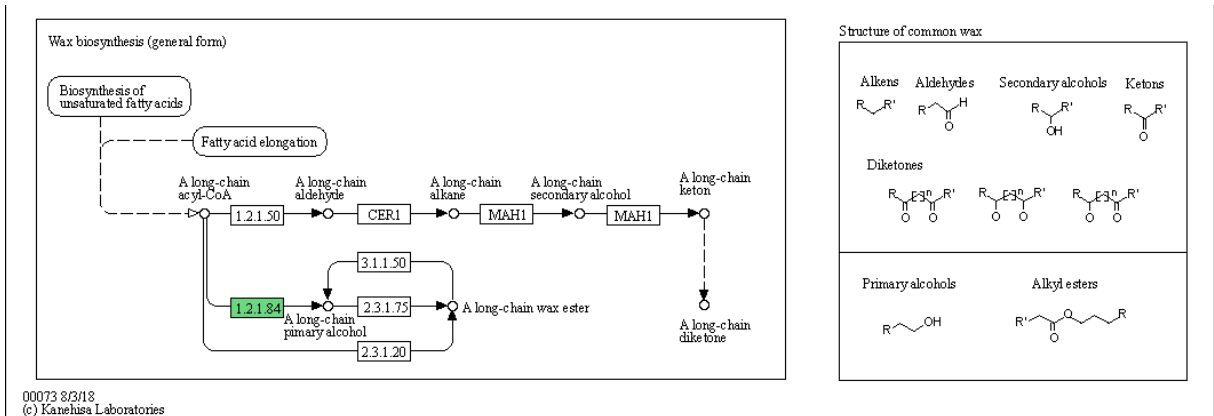
Conforme relatado acima, dentre os exons diferencialmente expresso reprimidos nas plantas com sintomas e com *foldchange* menor que -9,0 encontra-se uma *Pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump* (EC: 7.1.3.1). Ao buscar essa enzima na Kyoto Encyclopedia of Genes (KEGG) (KANEHISA e GOTO, 2000; KANEHISA et al., 2012) verifica-se que ela participa de uma via de fosforilação oxidativa (Figura 28). Juntamente com ela e no mesmo complexo V, uma outra enzima também foi detectada como reprimida. Trata-se da *ATPase 11, plasma membrane-type* (EC 3.6.1.1). As ATPase H<sup>+</sup> de membrana plasmática de plantas e fungos gera um gradiente de prótons que impulsiona o transporte ativo de nutrientes por meio da importação de H<sup>+</sup>. A acidificação externa resultante e / ou alcalinização interna podem mediar as respostas de crescimento. As pirofosfatases contribuem para a diferença de potencial eletroquímico do citosol para o lúmen do vacúolo. Elas estabelecem um gradiente de prótons de magnitude semelhante, ou geralmente maior, que as ATPase H<sup>+</sup> na mesma membrana. Além disso, as *Pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump* estão associadas a tolerância a metais pesados (ABOU-ELWAFI et al., 2019) e foram responsivas a salinidade (WU et al., 2020).

Dentre os exons reprimidos encontram-se três com similaridade a *fatty acyl-CoA reductase* (EC: 1.2.1.84) (Figura 29). Essa enzima está relacionada a biossíntese de cera de cutícula em plantas (DOAN et al., 2009). A cera cuticular protege as plantas contra estresse biótico e abiótico, incluindo estresse devido a falta de água (GUO et al., 2013). Em plantas de *Arabidopsis* mutante verificou-se que homólogo dessa enzima foi induzido em folhas de plantas sob estresse hídrico (ZHAO et al., 2018), sugerindo que as plantas em estresse ativam a produção de cera cuticular para se protegerem da falta d'água.

Nos resultados foram, também, identificadas sete enzimas com papel no metabolismo de amido e sacarose: *adenylyltransferase* (EC: 2.7.7.27), *synthase* (EC: 2.4.1.14), *synthase (UDP-forming)* (EC: 2.4.1.12), *synthase* (EC: 2.4.1.13) e *synthase* (EC: 2.4.1.11), induzidas, e *diphosphatase* (EC: 3.6.1.9) e *endo-1,4-beta-D-glucanase* (EC: 3.2.1.4), reprimidas (Figura 30). Interessante observar que a enzima *endo-1,4-beta-D-glucanase* que participa da conversão de celulose em celobiose está reprimida, bem como a enzima *diphosphatase* que participa da conversão de UDP-glicose em α-D-Glicose-1P.



**Figura 28** – Fosforilação oxidativa com ênfase às enzimas *Pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump* (EC: 7.1.3.1) e *ATPase 11, plasma membrane-type* (EC 3.6.1.1). Essas duas enzimas foram reprimidas em plantas com sintomas de DFE.



**Figura 29** – Biossíntese de cera cuticular com destaque para a enzima *fatty acyl-CoA reductase* (EC: 1.2.1.84).





Segundo a literatura, o estresse abiótico pode interferir na biossíntese de celulose. Dessa maneira, as plantas podem modular a expansão celular e o uso dos recursos disponíveis para o crescimento, simultaneamente. A síntese de celulose, ABA, prolina e ácido abscísico em altos níveis tem sido relatados como resposta à falta de água ou salinidade (WANG et al., 2016; CHEN et al., 2005).

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS**

O Distúrbio Fisiológico do Eucalipto é uma doença abiótica que desde o início dos anos 2000 impacta de forma significativa a produtividade de plantios de eucalipto localizados nos estados do Espírito Santo e Bahia, pode ser bem distinta daqueles. No entanto, apesar da importância desta disordem fisiológica para o setor florestal Brasileiro, pouco se conhece sobre o controle genético dessa disordem em genótipos de eucalipto. Esse trabalho é, possivelmente, a primeira abordagem sobre o impacto do DFE sobre a expressão gênica em clones de eucalipto.

As respostas das plantas às alterações ambientais estão relacionadas à regulação de genes por meio de um processo de sinalização celular. Esse processo regulatório pode gerar proteínas, as quais protegem a planta contra os efeitos deletérios dos estresses ou pode reprimir a síntese de produtos gênicos. Tais respostas são complexas e envolvem vários genes que impactam nas respostas ao nível bioquímico, fisiológico e molecular. Neste sentido, a identificação de genes com papel nas respostas ao DFE é fundamental para elucidar mecanismos específicos de adaptação e resistência em futuros genótipos.

Os dados analisados identificaram genes envolvidos em diversas vias metabólicas, os quais foram reprimidos ou induzidos, sugerindo que a expressão gênica observada pode ser decorrente de condições climáticas específicas aos locais de ocorrência, Bahia e Espírito Santo. Os resultados apresentados abrem caminho para pesquisas adicionais visando elucidar o controle genético do DFE.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, H.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; URAO, T.; IWASAKI, T.; HOSOKAWA, D.; SHINOZAKI, K. Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. **Plant Cell**. v. 9, p. 1859-1868, 1997.

ABE, H.; URAO, T.; ITO, T.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. **Plant Cell**. v. 15, p. 63-78, 2003.

ABOU-ELWAFI, S. F.; AMIN, A. E-E. A. Z.; SHEHZAD, T. Genetic mapping and transcriptional profiling of phytoremediation and heavy metals responsive genes in sorghum. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 173, p. 366-372, 2019.

AHMAD, P.; LATEF, A. A.H. A.; RASOOL, S.; AKRAM, N. A.; ASHRAF. M., GUCEL. S. Role of Proteomics in Crop Stress Tolerance. **Frontiers in Plant Science**. v. 7, 2016.

AHUJA I., DE VOS R.C., BONES A.M. & HALL R.D. Plant molecular stress responses face climate change. **Trends in PlantScience**. p. 664–674, 2010.

ALPTEKIN, B.; LANGRIDGE, P.; BUDAK, H. Abiotic stress miRNomes in the *Triticeae*. **Funct Integr Genomics**. 2017.

ASSIS, T.F.; MAFIA, R.G. **Hibridação e clonagem**. In: BORÉM, A. (Ed.) Biotecnologia florestal. Viçosa, MG: [s.n.], p.93-121, 2007.

ASSIS, T.F. **Melhoramento genético de *Eucalyptus*: desafios e perspectivas**. Nova Lima: Embrapa Florestas, 2014.

ASTHIR, B. Mechanisms of heat tolerance in crop plants. **Biol. Plant**. v. 59 p. 620–628, 2015.

BAYEGA, A.; FAHIMINIYA, S.; OIKONOMOPOULOS, S.; RAGOSSIS, J. Current and future methods for mRNA analysis: a drive toward single molecule sequencing. **Methods in molecular biology**. v. 1783, p. 209-241, 2018.

BENETEAU J, RENARD D, MARCHÉ L, et al. Binding properties of the N-acetylglucosamine and high-mannose N-glycan PP2-A1 phloem lectin in Arabidopsis. **Plant Physiology**. v. 153(3), p. 1345-1361, 2010.

BERGE, K. V.; HEMBACH, K. M.; SONESON, C.; TIBERI, S.; CLEMENT, L.; LOCE, M. I.; PATRO, R.; ROBINSON, M. D. RNA Sequencing Data: Hitchhiker's Guide to Expression Analysis. **Annual Review of Biomedical Data Science**. 2019.

BIOSPACE. Top 10 Gene Sequencing Companies by Revenue. Disponível em: <https://www.biospace.com/article/top-10-gene-sequencing-companies-by-revenue/> Acessado em: 20/02/2020

BOLAND, D. J.; BROOKER, M. I. H.; CHIPPENDALE, G. M.; HALL, N.; HYLAND, B. P. M.; JOHNSTON, R. D.; TURNER, J. D. (Ed.). **Forest trees of Australia**. 5<sup>o</sup> ed., CSIRO publishing, Collingswood, 2006.

BUCHFINK B, XIE C, HUSON DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. **Nature Methods**. v. 12, p. 59-60, 2015.

CÂMARA, A.P., OLIVEIRA, J.T.S., BOBADILHA G.S., VIDAURRE G.B., FILHO M.T., SOLIMAN E.P. Physiological disorders affecting dendrometric parameters and Eucalyptus wood quality for pulping wood. **Cerne**, v. 24, p. 27-34, 2018.

CASTRO, C. A. de O. et al. Brief history of Eucalyptus breeding in Brazil under perspective of biometric advances. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 46, n. 9, p. 1585-1593, Sept. 2016.

CHANDLER, J. W.; COLE, M.; FLIER, A.; GREWE, B.; WERR, W. The AP2 transcription factors DORNROSCHEN and DORNROSCHEN-LIKE redundantly control Arabidopsis embryo patterning via interaction with PHAVOLUTA. **Development**. v. 134, p. 1653-1662, 2007.

CHEN, Z.; HONG, X.; ZHANG, H.; WANG, Y.; LI, X.; ZHU, J.-K.; GONG, Z. Disruption of the cellulose synthase gene, AtCesA8/IRX1 , enhances drought and osmotic stress tolerance in Arabidopsis. **The Plant Journal**. v. 43, p. 273–283, 2005.

CHEN, Q.; SUN, J.; ZHAI, Q.; ZHOU, W.; QI, L.; XU, L.; WANG, B.; CHEN, R.; JIANG, H.; QI, J.; LI, X.; PALME, K.; LI, C. The basic helix-loop-helix transcription factor MYC2 directly represses PLETHORA expression during jasmonate-mediated modulation of the root stem cell niche in Arabidopsis. **Plant Cell**. v. 23, p. 3335-3352, 2011.

CHEN, J.; NOLAN, T. M.; YE, H.; ZHANG, M.; TONG, H.; XIN, P.; CHU, J.; CHU, C.; LI, Z.; YIN, Y. Arabidopsis WRKY46, WRKY54, and WRKY70 transcription factors are involved in brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses. **Plant Cell**. v. 29, p. 1425-1439, 2017.

CLARK, G. B.; LEE, D.; DAUWALDER, M.; ROUX, S. J. Immunolocalization and histochemical evidence for the association of two different Arabidopsis annexins with secretion during early seedling growth and development. **Planta**. v. 220, p. 621-631, 2005.

CONESA, A.; MADRIGAL, P.; TARAZONA, S.; GOMEZ-CABRERO, D.; CERVERA, A.; MCPHERSON, A.; SZCZWANIAK, M. W.; GAFFNEY, D. J.; ELO, L. L.; ZHANG, X.; MORTAZAVI, A. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. **Genome Biology**. 2016.

CONSIDINE, M.J., SANDALIO, L.M.; FOYER, C.H. Unravelling how plants benefit from ROS and NO reactions, while resisting oxidative stress. **Ann. Bot.** v. 116, p. 469–473, 2015.

CORDEIRO, M. C. R. **Engenharia Genética: conceitos básicos, ferramentas e aplicações**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 43, 2003.

COVRE, R. A. **Wedring: Pipeline para análise de expressão diferencial em experimentos de RNA-Seq**. 2013. 88p. Dissertação (Mestrado em Bioinformática) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2013.

CRAMER, G. R., URANO, K., DELROT, S., PEZZOTTI, M., AND SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biol.** v. 11(163), 2011.

DASGUPTA, M.G., **Advances in genomic research in eucalypts**, in: Bhojvaid, P.P., Kaushik, S., Singh, Y.P., Kumar, D., Thapliyal, M., Barthwal, S. (Eds.), Eucalypts in India. ENVIS Centre on Forestry, Dehradun, pp. 191–208, 2011.

DASH, P. K. High quality RNA isolation from ployphenol-, polysaccharideand protein-rich tissues of lentil (*Lens culinaris*). **Biotech.** v. 3, p. 109–114, 2013.

DIETZ, K.J. Thiol-based peroxidases and ascorbate peroxidases: why plants rely on multiple peroxidase systems in the photosynthesizing chloroplast?. **Mol. Cells**. v. 39, p. 20–25, 2016.

DIETZ, K.J., TURKAN, I. AND KRIEGER-LISZKAY, A. Redox- and reactive oxygen species-dependent signaling in and from the photosynthesizing chloroplast. **Plant Physiol.** v. 171, p. 1541–1550, 2016.

DIETZ, K.J. Efficient high light acclimation involves rapid processes at multiple mechanistic levels. **J. Exp. Bot.** v. 66, p. 2401–2414, 2015.

DIJK, E. L. van.; AUGER, H.; JASZCZYSZYN, Y.; THERMES, C. Ten years of next-generation sequencing technology. **Trends in Genetics.** p. 1-9, 2014.

DINANT S, CLARK AM, ZHU Y, et al. Diversity of the superfamily of phloem lectins (phloem protein 2) in angiosperms. **Plant Physiology.** v. 131(1), p. 114-128. 2003.

DOAN, T. T.; CARLSSON, A. S.; HAMBERG, M.; et al. Functional expression of five Arabidopsis fatty acyl-CoA reductase genes in Escherichia coli. **Journal of Plant Physiology.** v. 166(8), p. 787-796, 2009.

DOSSA, G. S.; QUIBOD, I.; ATIENZA-GRANDE, G.; OLIVA, R.; MAISS, E.; CRUZ, C. V.; WYDRA, K. Rice pyramided line IRBB67 (Xa4/Xa7) homeostasis under combined stress of high temperature and bacterial blight. **Scientific Reports.** 2020.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue authors. **Focus (Madison).** v. 12, p. 13-15, 1990.

ESTEVE-CODINA, A. RNA-Seq Data Analysis, Applications and Challenges. In: JAUMONT, J.; BEDIA, C.; TAULER, R. **Data Analysis for Omic Sciences: Methods and Applications.** 2018.

FERNANDEZ-CALVO, P.; CHINI, A.; FERNANDEZ-BARBERO, G.; CHICO, J. M.; GIMENEZ-IBANEZ, S.; GEERINCK, J.; EECKHOUT, D.; SCHWEIZER, F.; GODOY, M.; FRANCO-ZORRILLA, J. M.; PAUWELS, L.; WITTERS, E.; PUGA, M. I.; PAZ-ARES, J.; GOOSSENS, A.; REYMOND, P.; DE JAEGER, G.; SOLANO, R. The Arabidopsis bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses. **Plant Cell.** v. 23, p. 701-715, 2011.

FERREIRA, F.A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil.** Viçosa: SIF, 1989. 570p. 1989.

FERREIRA, F. A.; OLIVEIRA, J. G. Relato de SPEVRD no Norte do Paraná. **Fitopatologia Brasileira,** Brasília, v.18, p.328. 1993.

FERREIRA, F.A. A cultura do eucalipto II. Enfermidades do eucalipto no Brasil. Doenças em viveiros de eucalipto. **Informe agropecuário**, 18: 5-19, 1997.

FILHO, E. P.; SANTOS, P E. T. **Escolha de cultivares de eucalipto em função do ambiente e do uso**. Comunicado Técnico Embrapa. Colombo/PR, 11p., 2013.

FONSECA, S. M.; RESENDE, M. D. V.; ALFENAS, A. C., GUIMARÃES, L. M. S.; ASSIS, T. F.; GRATTAPAGLIA, D. **Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto**. Viçosa: UFV, 200p., 2010.

FORTES, G. A. C.; SANTOS, S. da C. **Isolamento, identificação, atividade antioxidante e variabilidade temporal de compostos fenólicos de folhas de *Eucalyptus microcorys* F. Muell.** 2016. 122 f. Tese de Doutorado (Programa de Pós Graduação em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 2016.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox signaling in plants. **Antioxid. Redox Signal.** v. 18, p. 2087–2090, 2013.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Stress-triggered redox signalling: what's in pROSpect? **Plant, Cell Environ.** 39, 951–964, 2016.

GALWAY, M. E.; HECKMAN, J. W. JR.; SCHIEFELBEIN, J.W. Growth and ultrastructure of Arabidopsis root hairs: the rhd3 mutation alters vacuole enlargement and tip growth. **Planta.** v. 201, p. 209-218, 1997.

GHAWANA, S.; PAUL, A.; KUMAR, H.; KUMAR, A.; SINGH, H.; BHARDWAJ, P. K.; RANI, A.; SINGH, R. S.; RAIZADA, J.; SINGH, K.; KUMAR, S. An RNA isolation system for plant tissues rich in secondary metabolites. **BMC Research Notes.** v. 4(85), 2011.

GILROY, S., SUZUKI, N., MILLER, G., CHOI, W.G., TOYOTA, M., DEVIREDDY, A.R.; MITTLER, R. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. **Trends Plant Sci.** v. 19, p. 623–630, 2014.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J. D.; MCCOMBIE, W. R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. **Nature Reviews – Genetics.** v. 17, 2016.

GOLLE DP, REINIGER LRS, CURTI AR, BEVILACQUA CB. Forestry improvement: emphasis on biotechnology application. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 39(5), p. 1606-1613, 2009.

GORECKA, K. M.; KONOPKA-POSTUPOLSKA, D.; HENNIG, J.; BUCHET, R.; PIKULA, S. Peroxidase activity of annexin 1 from *Arabidopsis thaliana*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 336, p. 868-875, 2005.

GÖTZ et al. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. **Nucleic Acids Research**. Vol. 36, June, p. 3420-3435, 2008.

GRATTAPAGLIA, D.; KIRST, M. Eucalyptus applied genomics: from gene sequences to breeding tools. **New Phytologist**, v. 179, p. 911-929, 2008.

GRATTAPAGLIA, D.; VAILLANCOURT, R. E.; SHEPHERD, M.; THUMMA, B. R.; FOLEY, W.; KÜLHEIM, C.; MYBURG, A. A. Progress in Myrtaceae genetics and genomics: *Eucalyptus* as the pivotal genus. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg, v. 8, n. 3, p. 463-508, 2012.

GRAYSON, M. Agriculture and drought. **Nature Outlook**. 2013.

GRIFFITHS, A. J. R.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. **Introdução à Genética**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 712 p, 2009.

GUDURU, K. K.; AKILA, C. S.; PULI, C. O. R. Engineering signaling molecules to improve abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Signaling Molecules**. 2019.

GUO, L.; YANG, H.; ZHANG, X.; YANG, S. Lipid transfer protein 3 as a target of MYB96 mediates freezing and drought stress in *Arabidopsis*. **J. Exp. Bot.** v. 64, p. 1755–1767, 2013.

HILL, K. D. & JOHNSON, L. A. S. Systematic studies in the eucalypts 7. A revision of the bloodwoods, genus *Corymbia* (Myrtaceae). **Telopea**. v. 6, p. 185-504, 1995.

HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. **The Plant Journal**. 2010.

HONG, G. J.; XUE, X. Y.; MAO, Y. B.; WANG, L. J.; CHEN, X. Y. *Arabidopsis* MYC2 interacts with DELLA proteins in regulating sesquiterpene synthase gene expression. **Plant Cell**. v. 24, p. 2635-2648, 2012.

HRDLICKOVA, R.; TOLOUE, M.; TIAN, B. RNA-Seq methods for transcriptome analysis. **Wiley Interdiscip Rev RNA**. 2017.



HU, Y.; ZHONG, R.; MORRISON, W. H. III.; YE, Z. H. The Arabidopsis RHD3 gene is required for cell wall biosynthesis and actin organization. **Planta**. v. 217, p. 912-921, 2003.

HUANG G, MA S, BAI L, ZHANG L, MA H, JIA P, LIU J, ZHONG M, GUO Z. Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. **Molecular Biology Reports**. v. 39, p. 969–987, 2012.

IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores: **Relatório 2019**.

IKEDA, Y.; BANNO, H.; NIU, Q.-W.; HOWELL, S. H.; CHUA, N.-H. The ENHANCER OF SHOOT REGENERATION 2 gene in Arabidopsis regulates CUP-SHAPED COTYLEDON 1 at the transcriptional level and controls cotyledon development. **Plant Cell Physiol**. v. 47, p. 1443-1456, 2006.

INGLIS, P. W.; PAPPAS, M. C. R.; RESENDE, L. V.; GRATTAPAGLIA, D. Fast and inexpensive protocols for consistent extraction of high quality DNA and RNA from challenging plant fungal samples for highthroughput SNP genotyping and sequencing applications. **PlosOne**. v. 13(10), 2018.

IPCC. **Summary for Policymakers. In: Global warming of 1.5°C**. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. IPCC. 2018.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**. 2019.

JOHNSON, C.; BODEN, E.; ARIAS, J. Salicylic acid and NPR1 induce the recruitment of trans-activating TGA factors to a defense gene promoter in Arabidopsis. **Plant Cell**. v. 15, p. 1846-1858, 2003.

JU, J. et al. Four-color DNA sequencing by synthesis using cleavable fluorescent nucleotide reversible terminators. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 103, p. 19635–19640, 2006.

KAMITANI, M.; KASHIMA, M.; TEZUKA, A.; NAGANO, A. J. Lasy-Seq: a high-throughput library preparation method for RNA-Seq and its application in the analysis of plant responses to fluctuating temperatures. **Scientific Reports**. 2019.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. **Nucleic acids research**. v. 28, p. 27–30, 2000.

KANEHISA, M.; GOTO, S.; SATO, Y.; FURUMICHI, M.; TANABE, M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. **Nucleic acids research**. v. 40, p. D109–D114, 2012.

KAZAN, K.; MANNERS, J. M. MYC2: the master in action. **Molecular Plant**. v. 6, p. 686–703, 2013.

KHAN, M. I. R.; REDDY, P. S.; FERRANTE, A.; KHAN, N. A. **Plant Signaling Molecules: Role and regulation under stressful environments**. 2019.

KIM, D., PAGGI, J.M., PARK, C. BENNET, C.; SALZBERG, S. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. **Nat Biotechnol**. v. 37, p. 907–915, 2019.

KIMOTHO, R. N.; BAILLO, E. H.; ZHANG, Z. Transcription factor involved in abiotic stress responses in Maize (*Zea mays* L.) and their roles in enhanced productivity in the post genomics era. **Peer J**. 2019.

KIRIK, V.; SCHNITTGER, A.; RADCHUK, V.; ADLER, K.; HUELSKAMP, M.; BAEUMLEIN, H. Ectopic expression of the Arabidopsis AtMYB23 gene induces differentiation of trichome cells. **Developmental Biology**. v. 235, p. 366–377, 2001.

KIRIK, V.; LEE, M. M.; WESTER, K.; HERRMANN, U.; ZHENG, Z.; OPPENHEIMER, D.; SCHIEFELBEIN, J.; HULSKAMP, M. Functional diversification of MYB23 and GL1 genes in trichome morphogenesis and initiation. **Development**. v. 132, p. 1477–1485, 2005.

KURKUBA, K. R.; MONTGOMERY, S. B. RNA Sequencing and Analysis. **Cold Spring Harb Protoc**. v.11, p. 951–969, 2015.

LADIGES, P. Y.; UDOVICIC, F.; NELSON G. Australian biogeographical connections and the phylogeny of large genera in the plant Family Myrtaceae. **Journal of Biogeography**. Melbourne, Australia, v.30, p. 989 a 998, 2003.

LEE, K.; HAN, J. H.; PARK, Y-I.; FRANCS-SMALL, C. C.; SMALL, I.; KANG, H. The mitochondrial pentatricopeptide repeat protein PPR19 is involved in the stabilization of NADH dehydrogenase 1 transcripts and is crucial for mitochondrial function and Arabidopsis thaliana development. **New Phytology**. v. 215(1), p. 202–216, 2017.

LESK, C.; ROWHANI, P.; RAMANKUTTY, N. Influence of extreme weather disasters on global crop production. **Nature**. 2016.

LI, J.; BRADER, G.; PALVA, E. T. The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. **Plant Cell**. v. 16, p. 319-331, 2004.

LI, J.; BRADER, G.; KARIOLA, T.; PALVA, E. T. WRKY70 modulates the selection of signaling pathways in plant defense. **The Plant Journal**. v. 46, p. 477-491, 2006.

LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH, G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R.; 1000 GENOME PROJECT DATA PROCESSING SUBGROUP. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. **Bioinformatics**. v. 25(16), p. 2078-2079, 2009.

LI, J.; BESSEAU, S.; TOEROENEN, P.; SIPARI, N.; KOLLIST, H.; HOLM, L.; PALVA, E.T. Defense-related transcription factors WRKY70 and WRKY54 modulate osmotic stress tolerance by regulating stomatal aperture in Arabidopsis. **New Phytology**. v. 200, p. 457-472, 2013.

LI, J.; ZHONG, R.; PALVA, E. T. WRKY70 and its homolog WRKY54 negatively modulate the cell wall-associated defenses to necrotrophic pathogens in Arabidopsis. **PLoS ONE**. v. 12, p. E0183731-E0183731, 2017.

LI, X.; LI, M.; ZHOU, B.; YANG, Y.; WEI, Q.; ZHANG, J. Transcriptome analysis provides insights into the stress response crosstalk in apple (*Malus × domestica*) subjected to drought, cold and high salinity. **Scientific Reports**. 2019.

LIAO, Y.; SMYTH, G. K.; SHI, W. The R package R subread in easier, faster, cheaper and better for alignment and quantification of RNA sequencing reads. **Nucleic Acids Research**. 2019.

LIMA, J. C.; FÜLLER, T. N.; COSTA, F.; RODRIGUES-CORRÊA, K. C. S.; FETT-NETO, A. G. A Modified Protocol for High-Quality RNA Extraction from Oleoresin-Producing Adult Pines. **Biotechnology of Plant Secondary Metabolism: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology**, v. 1405, 2016.

LORENZO, O.; CHICO, J. M.; SANCHEZ-SERRANO, J. J.; SOLANO, R. JASMONATE-INSENSITIVE1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate-regulated defense responses in Arabidopsis. **Plant Cell**. v. 16, p. 1938-1950, 2004.

LOWE, R.; SHIRLEY, N.; BLEACKLEY, M.; DOLAN, S.; SHAFEE, T. Transcriptomics technologies. **PLOS Computational Biology**. 2017.

LYTLE B.L., SONG J., DE LA CRUZ N.B., PETERSON F.C., JOHNSON K.A., BINGMAN C.A., PHILLIPS G.N. JR., VOLKMAN B.F. Structures of two *Arabidopsis thaliana* major latex proteins represent novel helix-grip folds. **Proteins**. v. 76, p. 237-24, 2009.

MAFIA, R. G.; ABAD, J. I. M.; FERREIRA, M. A. **Desafios e perspectivas para o controle de doenças do eucalipto**. In: NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA – NEFIT. Patologia Florestal: desafios e perspectivas. São Carlos-SP: Suprema. p. 119-136. 2013.

MAFIA, R. G., **Etiologia e Manejo do Distúrbio Fisiológico do Eucalipto – DFE**. In: II SEMINÁRIO SOBRE SANIDADE FLORESTAL, Belo Horizonte – MG. 2017

MAHALINGAM R. “Consideration of combined stress: a crucial paradigm for improving multiple stress tolerance in plants”. **Combined Stresses in Plants**. Cham: Springer International Publishing, p. 1–25, 2015.

MALIK, V. S. RNA sequencing as a tool for understanding biological complexity of abiotic stress in plants. **J. Plant Biochem. Biotechnol.** v. 25, p. 1-2, 2016.

MALONE, J. H.; OLIVER, B. Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome. **BMC Biology**. 2011.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: **Plano Nacional de Desenvolvimento de Florestas Plantadas (PNDF)**. 2018.

MARDIS ER. Next-Generation DNA Sequencing Methods. **Annu. Rev. Genomics Hum.Genet.**, v. 9, p. 387–402, 2008.

MASCHIO, L.M. DE A.; FERREIRA, C.A.; AUER, C.G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; WIECHETECK, M.R.S.; NARDELLI A.M.B.; BERNARDI, C.A. (1996). **Descrição de uma anomalia ocorrida em *Eucalyptus grandis* na região de Arapoti-Pr**, Brasil. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, n.32/33, p.85-87. Jan./Dez. 1996.

MASCHIO, L.M.A.; ANDRADE, F.M.; AUER, C.G. Contribuição de fatores climáticos na ocorrência da seca de ponteiros de *eucalyptus grandis* em Arapoti-PR. **Bol. Pesq. F.** Colombo, n. 41, p.55-63. Jul./Dez. 2000.

MATSUI, K.; HIRATSU, K.; KOYAMA, T.; TANAKA, H.; OHME-TAKAGI, M. A chimeric AtMYB23 repressor induces hairy roots, elongation of leaves and stems, and inhibition of the deposition of mucilage on seed coats in Arabidopsis. **Plant Cell Physiol.** V. 46, p. 147-155, 2005.

METZKER, M. L. Sequencing technologies – the next generation. **Nature Reviews – Genetics.** v. 11, 2010.

MIGNOLET-SPRUYT, L., XU, E., IDANHEIMO, N., HOEBERICHTS, F.A., MUHLENBOCK, P., BROSCHE, M., VAN BREUSEGEM, F.; KANGASJARVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **J. Exp. Bot.** v. 67, p. 3831–3844. 2016.

MILLER, G., SUZUKI, N., CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell Environ.** v. 33, p. 453–467, 2010.

MITTLER, R., FINKA, A.; GOLOUBINOFF, P. How do plants feel the heat?. **Trends Biochem. Sci.** v. 37, p. 118–125, 2012.

MOHANTA, T. K.; BASHIR, T.; HASHEM, AB.; ALLAH, E. F. A. Systems biology approach in plant abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry.** 2017.

MOROZOVA, O.; HIRST, M.; MARRA, M. A. Applications of New Sequencing Technologies for Transcriptome Analysis. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.** v. 10, p. 135–51, 2009.

MYBURG, A., GRATTAPAGLIA, D., TUSKAN, G. et al. The genome of Eucalyptus grandis. **Nature**, v. 510, p. 356–362, 2014.

NAKANISHI, Y.; MAESHIMA, M. Molecular Cloning of Vacuolar H<sup>+</sup>-Pyrophosphatase and Its Developmental Expression in Growing Hypocotyl of Mung Bean Yoichi Nakanishi, Masayoshi Maeshima. **Plant Physiology.** v. 116(2), p. 589-597, 1998.

NETO, J. P. B. **Respostas transcricionais e estresse-induzidas em genótipos contrastantes de *Glycine max* (SOJA) e *Vigna unguiculata* (FEIJÃO-CAUPI).** 2016. 208p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, 2016.

NILSEN, T. W. The Fundamentals of RNA Purification. **Cold Spring Harbor Protocols**. 2013.

NIU, Y.; FIGUEROA, P.; BROWSE, J. Characterization of JAZ-interacting bHLH transcription factors that regulate jasmonate responses in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**. v. 62, p. 2143-2154, 2011.

OZSOLAK, F.; MILOS, P. M. RNA sequencing: advances, challenges and opportunities. **Nat Rev Genet**. v. 12, n. 2, p. 87-98, 2011.

PAIVA, H. N. DE, JACOVINE, L. A. G., TRINDADE, C., RIBEIRO, G. T. **Cultivo de Eucalipto: Implantação e Manejo**. Aprenda Fácil: Viçosa, 353p. ISBN: 978- 85-62032-26-4, 2011.

PARRA-O, C. et al. Phylogeny, major clades and infrageneric classification of *Corymbia* (Myrtaceae), based on nuclear ribosomal DNA and morphology. **Australian Systematic Botany**. v. 22, p. 384–399, 2009.

PARK S.C., LEE J.R., SHIN S.O., PARK Y., LEE S.Y., HAHM K.S. Characterization of a heat-stable protein with antimicrobial activity from Arabidopsis thaliana. **Biochem. Biophys. Res. Commun**. v. 362, p. 562-567, 2007.

PEREIRA, M. A.; IMADA, E. L.; GUEDES, R. L. M. RNA-seq: Applications and Best Practices. In: MARCHI, F. A.; CIRILLO, P. D. R.; MATEO, E. C. **Applications of RNA-Seq and Omics Strategies – From Microorganisms to Human Health**. 2017.

PÉREZ-CLEMENTE, R. M.; VIVES, V.; ZANDALINAS, S. I.; LÓPEZ-CLIMENT, M. F.; MUNOZ, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Biotechnological approaches to study plant responses to stress. **BioMed Research International**. 2013.

PÉREZ-NOVO, C. A.; CLAEYS, C.; SPELEMAN, F.; CAUWENBERGE, P. V.; BACHERT, C.; VANDESOMPELE, J. Impact of RNA quality on reference gene expression stability. **BioTechniques**, v. 39, p. 52-56, 2005.

QAZI, H. A.; JAN, N.; RAMAZAN, S.; JOHN, R. Protein Modification in plants in response to abiotic stress. **Protein Modificomics**. 2019.

REIS, M. S. **A influência dos distúrbios fisiológicos na produtividade da madeira de eucalipto no extremo Sul da Bahia**. 2011. 30p. Monografia (Pós-graduação em Gestão Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2011.

REN, C.-M.; ZHU, Q.; GAO, B.-D.; KE, S.-Y.; YU, W.-C.; XIE, D.-X.; PENG, W. Transcription factor WRKY70 displays important but no indispensable roles in jasmonate and salicylic acid signaling. **J. Integr. Plant Biol.** v. 50, p. 630-637, 2008.

RITTER, M. Field guide to the cultivated *Eucalyptus* (Myrtaceae) and how to identify them. **Annals of the Missouri Botanical Garden.** California, USA, 99: 642–687, 2014.

RODRIGUES, B. P. **Qualidade do lenho de árvores de clone de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sob estresse abiótico e o impacto na produção de celulose.** 2013. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Mosteiro/ES, 2013.

RODRIGUES, A. C. P. **Identificação de genes diferencialmente expressos em híbridos de *Eucalyptus* sp. afetados por anomalias morfológicas e fisiológicas de causa desconhecida.** 2015. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/MG, 2015.

RYAN, M. G.; STAPE, J. L.; BINKLEY, D.; FONSECA, S.; LOSS, R. A.; TAKAHASHI, E. N.; SILVA, C. R.; SILVA, S. R.; HAKAMADA, R. E.; FERREIRA, J. M.; LIMA, A. M. N.; GAVA, J. L.; LEITE, F. P.; ANDRADE, H. B.; ALVES, J. M.; SILVA, G. G. C. Factors controlling *Eucalyptus* productivity: How water availability and stand structure alter production and carbon allocation. **Forest Ecology and Management**, v. 259, p. 1695-1703, 2010.

SANTOS, S. A. O. et al. Ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry applied to the identification of valuable phenolic compounds from *Eucalyptus* wood. **Elsevier**, Aveiro, p.65-74, 2013.

SAULLE, C. C. et al. Anatomy and volatile oil chemistry of *Eucalyptus saligna* cultivated in South Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, p. 125-134, 2018.

SCHLEBUSCH, S.; ILLING, N. Next generation shotgun sequencing and the challenges of de novo genome assembly. **South African Journal of Science**, 108p., 2012.

SCHWEIZER, F.; FERNANDEZ-CALVO, P.; ZANDER, M.; DIEZ-DIAZ, M.; FONSECA, S.; GLAUSER, G.; LEWSEY, M. G.; ECKER, J. R.; SOLANO, R.; REYMOND, P. Arabidopsis basic helix-loop-helix transcription factors MYC2, MYC3, and MYC4 regulate glucosinolate biosynthesis, insect performance, and feeding behavior. **Plant Cell.** v. 25, p. 3117-3132, 2013.



SCOLFORO, J. R. **O Mundo eucalipto: os fatos e mitos de sua cultura**. Ed. Mar de Idéias, v. 1, 2008.

SELMAR, D.; KLEINWACHTER. Impact of stress-related over reduction on the accumulation of natural products. **Plant & Cell Physiologi**. 2013

SHAFIGUZOV A; VAINONEN JP; WRZACZEK M; KANGASJÄRVI J. ROS-talk—how the apoplast, the chloroplast, and the nucleus get the message through. **Frontiers in Plant Science**. v. 3, 292p, 2012.

SHINOZAKI, K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. AND SEKI, M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. **Curr. Opin. Plant Biol**. v. 6, p. 410–417, 2003.

SILVA, S.R. ; BAZANI, J.H. ; VRECHI, A. ; GENTIL, M.S. ; ZAMPROGNO-FERREIRA, K. C. ; ROSSE, L.N. . Palestra no 'VI Workshop de Melhoramento e XVI Reunião Técnica Científica do Programa Temático de Silvicultura e Manejo - PTSM' (Botucatu - SP): **Distúrbios fisiológicos ocasionados pelo estresse hídrico em clones de eucalipto na Veracel: estudo de caso e hipóteses**. 2010.

SILVA, A. P. C. **Influência de distúrbios abióticos na qualidade da madeira de eucalipto para produção de celulose**. 2016. 45p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro/ES, 2016.

SOARES, C. J.; SANTOS, C. S.; CARVALHO, S. M. P.; PINTADO, M. M.; VASCONCELOS, M. W. Preserving the nutritional quality of crop plants under a changing climate: importance and strategies. **Plant Soil**. 2019.

STAMMERS, D. K.; REN, J.; LESLIE, K.; NICHOLS, C.E.; LAMB, H. K.; COCKLIN, S.; DODDS, A.; HAWKINS, A. R. The structure of the negative transcriptional regulator NmrA reveals a structural superfamily which includes the short-chain dehydrogenase/reductases. **The EMBO Journal**. v. 20, p. 6619-6626, 2001.

STAPE, J. L.; BINKLEY, D.; RYAN, M. G.; FONSECA, S.; LOSS, R. A.; TAKAHASHI, E. N.; SILVA, C. R.; SILVA, S. R.; HAKAMADA, R. E.; FERREIRA, J. M. A.; LIMA, A. M. N.; GAVA, J. L.; LEITE, F. P. The Brazil Eucalyptus Potential Productivity Project: Influence of water, nutrientes and stand uniformity on wood production. **Forest Ecology and Management**, v. 259, p. 1684-1694, 2010.

STARK, R., GRZELAK, M.; HADFIELD, J. RNA sequencing: the teenage years. **Nature Reviews**. 2019.

- STROM, S. P.; Fundamentals of RNA Analysis on Biobanked Specimens. **Biobanking: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology**. v. 2897, 2019.
- SUZUKI, N., MILLER, G., MORALES, J., SHULAEV, V., TORRES, M.A.; MITTLER, R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. **Curr. Opin. Plant Biol.** v. 14, p. 691–699, 2011.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 918p., 2013.
- TAN, S. C.; YISP, B. C. Siun Chee Tan and Beow Chin Yiap. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. 2009.
- TARAZONA, S.; GARCIA-ALCALDE, F.; DOPAZO, J.; FERRER, A.; CONESA, A. Differential expression in RNA-seq: a matter of depth. **Genome Research**. 2011.
- TARAZONA, S.; GARCIA-ALCALDE, F.; DOPAZO, J.; FERRER, A.; CONESA, A. Data quality aware analysis of differential expression in RNA-seq with NOISeq R/Bioc package. **Nucleic Acids Research**. 2015.
- TIAN, S., WANG, X., LI, P., WANG, H., JI, H., XIE, J., QIU, Q., SHEN, D.; DONG, H. Plant aquaporin AtPIP1;4 links apoplastic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induction to disease immunity pathways. **Plant Physiol.** 171, 1635–1650, 2016.
- TIWARI, J. K.; BUCKSETH, T.; ZINTA, R.; SARASWATI, A.; SINGH, R. K.; RAWAT S.; DUA, V. K.; CHAKRABARTI, S. K. Transcriptome analysis of potato shoots, roots and stolons under nitrogen stress. **Scientific Reports**. 2020.
- TURCHETTO-ZOLET A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações. Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**, 181 p., 2017.
- UELKER, B.; SHAHID MUKHTAR, M.; SOMSSICH, I. E. The WRKY70 transcription factor of Arabidopsis influences both the plant senescence and defense signaling pathways. **Planta**. v. 226, p. 125-137, 2007.
- VAAHTERA, L., BROSCHE, M., WRZACZEK, M.; KANGASJARVI, J. Specificity in ROS signaling and transcript signatures. **Antioxid. Redox Signal**. v. 21, p. 1422–1441, 2014.

VALVERDE, S.R.; MAFRA, J.W.A.; MIRANDA, M. A., SOUZA, C.S.; VASCONCELOS, D. C. **Silvicultura brasileira- oportunidades e desafios da economia verde**. 2012.

WANG, H.; LOCKWOOD, S. K.; HOELTZEL, M. F.; SCHIEFELBEIN, J. W. The ROOT HAIR DEFECTIVE3 gene encodes an evolutionarily conserved protein with GTP-binding motifs and is required for regulated cell enlargement in Arabidopsis. **Genes & Development**. v. 11, p. 799-81, 1997.

WANG, H.; LEE, M. M.; SCHIEFELBEIN, J. W. Regulation of the cell expansion gene RHD3 during Arabidopsis development. **Plant Physiology**. v. 129, p. 638-649, 2002.

WANG, W., VINO CUR, B., AND ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta** 218, p. 1–14, 2003.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature Reviews – Genetics**. v. 10, 2009.

WANG, T.; MCFARLANE, H. E.; PERSSON, S. The impact of abiotic factors on cellulose synthesis. **Journal of Experimental Botany**. v. 67(2) p. 543–552, 2016.

WARD, J. M.; SMITH, A. M.; SHAH, P. K.; GALANTI, S. E.; YI, H.; DEMIANSKI, A. J.; VAN DER GRAAFF, E.; KELLER, B.; NEFF, M. M. A new role for the Arabidopsis AP2 transcription factor, LEAFY PETIOLE, in gibberellin-induced germination is revealed by the misexpression of a homologous gene, SOB2/DRN-LIKE. **Plant Cell**. v. 18, p. 29-39, 2006.

WILCKEN, C. F. et al. **Guia prático de manejo de plantações de eucalipto**. Botucatu: FEPAF, 25 p., 2008.

WILSON P. et al. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**. v. 251, p. 3–19, 2005.

WU C. Heat shock transcription factors: structure and regulation, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* v. 11, p. 441-469, 1995.

WU, B.; MUNKHTUYA, Y.; LI, J.; HU, Y.; ZHANG, Q.; ZHANG, Z. Comparative Transcriptional Profiling and Physiological Responses of Two Contrasting Oat Genotypes under Salt Stress. **Scientific Reports**. 2018.

WU, P., COGILL, S., QIU, Y. ET AL. Comparative transcriptome profiling provides insights into plant salt tolerance in seashore paspalum (*Paspalum vaginatum*). **BMC Genomics**. v. 21(131), 2020.

YADAV, V.; MALLAPPA, C.; GANGAPPA, S. N.; BHATIA, S.; CHATTOPADHYAY, S. A basic helix-loop-helix transcription factor in Arabidopsis, MYC2, acts as a repressor of blue light-mediated photomorphogenic growth. **Plant Cell**. v. 17, p. 1953-1966, 2005.

YUEN, C. Y.; SEDBROOK, J. C.; PERRIN, R. M.; CARROLL, K. L.; MASSON, P. H. Loss-of-function mutations of ROOT HAIR DEFECTIVE3 suppress root waving, skewing, and epidermal cell file rotation in Arabidopsis. **Plant Physiology**. v. 138, p. 701-714, 2005.

ZHAI, Q.; YAN, L.; TAN, D.; CHEN, R.; SUN, J.; GAO, L.; DONG, M. Q.; WANG, Y.; LI, C. Phosphorylation-coupled proteolysis of the transcription factor MYC2 is important for jasmonate-signaled plant immunity. **PLoS Genetics**. v. 9, p. E1003422-E1003422, 2013.  
ZHANG, H.; HE, L.; CAI, L. Transcriptome Sequencing: RNA-Seq. 2018. **Methods in molecular biology**. v. 1754, p. 15-27, 2018.

ZHAO, S.; ZHANG, B.; ZHANG, Y.; GORDON, W.; DU, S.; PARADIS, T.; VINCENT, M.; SCHACK, D. Bioinformatics for RNA-Seq Data Analysis. In: ABDURAKHMONOV, I. Y. **Bioinformatics – Updated Features and Applications**. 2016.

ZHAO, Y.; CHENG, X.; LIU, X.; et al. The Wheat MYB Transcription Factor TaMYB31 Is Involved in Drought Stress Responses in Arabidopsis. **Frontiers in Plant Science**. v. 9 (1426), 2018.

ZHENG, H.; KUNST, L.; HAWES, C.; MOORE, I. A GFP-based assay reveals a role for RHD3 in transport between the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. **The Plant Journal**. v. 37, p. 398-414, 2004.

ZIMMERMANN, I. M.; HEIM, M. A.; WEISSHAAR, B.; UHRIG, J. F. Comprehensive identification of Arabidopsis thaliana MYB transcription factors interacting with R/B-like BHLH proteins. **The Plant Journal**. v. 40, p. 22-34, 2004.

ZINN, K. E.; TUNC-OZDEMIR, M.; HARPER, J. F. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. **Journal of Experimental Botany**. v. 61(7), p. 1959-1968, 2010.

## 9. APÊNDICE A – Lista dos exons diferencialmente expressos com a respectiva anotação e respectivo tamanho em pares de bases

ID	Anotação	Comprimento (pb)
Exon-0001	---NA---	73
Exon-0002	---NA---	27
Exon-0003	---NA---	67
Exon-0004	---NA---	100
Exon-0005	---NA---	30
Exon-0006	---NA---	45
Exon-0007	floral homeotic protein GLOBOSA-like	364
Exon-0008	---NA---	73
Exon-0009	---NA---	74
Exon-0010	---NA---	47
Exon-0011	probable mannitol dehydrogenase	180
Exon-0012	probable mannitol dehydrogenase	154
Exon-0013	probable mannitol dehydrogenase	389
Exon-0014	---NA---	41
Exon-0015	---NA---	54
Exon-0016	---NA---	75
Exon-0017	---NA---	53
Exon-0018	---NA---	65
Exon-0019	---NA---	48
Exon-0020	probable nucleoredoxin 1	872
Exon-0021	---NA---	67
Exon-0022	---NA---	49
Exon-0023	purple acid phosphatase 15	192
Exon-0024	purple acid phosphatase 15	218
Exon-0025	---NA---	25
Exon-0026	---NA---	96
Exon-0027	---NA---	94
Exon-0028	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 3	468
Exon-0029	---NA---	40
Exon-0030	---NA---	76
Exon-0031	---NA---	28
Exon-0032	PREDICTED: uncharacterized protein	123
Exon-0033	salicylate carboxymethyltransferase	432
Exon-0034	salicylate carboxymethyltransferase	432
Exon-0035	salicylate carboxymethyltransferase	255
Exon-0036	salicylate carboxymethyltransferase	612
Exon-0037	---NA---	68
Exon-0038	glutaredoxin-C1	949
Exon-0039	double-stranded RNA-binding protein 3	941
Exon-0040	---NA---	91
Exon-0041	---NA---	12
Exon-0042	toll/interleukin-1 receptor-like protein	176
Exon-0043	---NA---	13
Exon-0044	sugar transport protein 13	125
Exon-0045	---NA---	78
Exon-0046	calmodulin-binding protein 60 D-like	398
Exon-0047	calmodulin-binding protein 60 D-like	202

Exon-0048	---NA---	64
Exon-0049	---NA---	76
Exon-0050	---NA---	22
Exon-0051	endo-1,3;1,4-beta-D-glucanase	247
Exon-0052	---NA---	22
Exon-0053	---NA---	46
Exon-0054	---NA---	115
Exon-0055	acyl carrier protein 1, chloroplastic	123
Exon-0056	monothiol glutaredoxin-S4	730
Exon-0057	protein SRC2-like	516
Exon-0058	chalcone synthase	288
Exon-0059	chalcone synthase	1109
Exon-0060	---NA---	65
Exon-0061	NAC domain-containing protein 90	179
Exon-0062	bromodomain and WD repeat-containing protein 3-like isoform X4	107
Exon-0063	---NA---	201
Exon-0064	---NA---	73
Exon-0065	---NA---	20
Exon-0066	---NA---	53
Exon-0067	---NA---	75
Exon-0068	---NA---	38
Exon-0069	germin-like protein subfamily 1 member 13	211
Exon-0070	---NA---	54
Exon-0071	probable inactive ATP-dependent zinc metalloprotease FTSHI 5, chloroplastic	129
Exon-0072	---NA---	97
Exon-0073	probable aldo-keto reductase 1 isoform X2	168
Exon-0074	---NA---	81
Exon-0075	---NA---	70
Exon-0076	---NA---	54
Exon-0077	---NA---	62
Exon-0078	---NA---	86
Exon-0079	probable fructokinase-7	213
Exon-0080	probable fructokinase-7	198
Exon-0081	probable fructokinase-7	138
Exon-0082	carboxylesterase 1	1495
Exon-0083	nuclear transport factor 2	397
Exon-0084	nuclear transport factor 2	383
Exon-0085	---NA---	72
Exon-0086	---NA---	46
Exon-0087	nuclear transport factor 2-like	527
Exon-0088	nuclear transport factor 2-like	380
Exon-0089	---NA---	37
Exon-0090	---NA---	54
Exon-0091	---NA---	46
Exon-0092	---NA---	326
Exon-0093	---NA---	42
Exon-0094	esterase	335
Exon-0095	---NA---	99
Exon-0096	---NA---	42
Exon-0097	esterase	145
Exon-0098	---NA---	102
Exon-0099	---NA---	323

Exon-0100	---NA---	87
Exon-0101	---NA---	57
Exon-0102	protein DETOXIFICATION 27	239
Exon-0103	EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-like protein 1	440
Exon-0104	EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-like protein 1	628
Exon-0105	---NA---	39
Exon-0106	---NA---	49
Exon-0107	---NA---	64
Exon-0108	WD repeat domain-containing protein 83 isoform X2	103
Exon-0109	histone H3-like centromeric protein CSE4	752
Exon-0110	histone H3-like centromeric protein CSE4	691
Exon-0111	protein C15orf40 homolog	225
Exon-0112	aspartic proteinase Asp1	118
Exon-0113	---NA---	73
Exon-0114	amino-acid permease BAT1 homolog isoform X1	120
Exon-0115	subtilisin-like protease SBT1.9	2477
Exon-0116	gibberellin 20 oxidase 2	566
Exon-0117	gibberellin 20 oxidase 2	322
Exon-0118	gibberellin 20 oxidase 2	485
Exon-0119	---NA---	93
Exon-0120	---NA---	26
Exon-0121	PREDICTED: uncharacterized protein	138
Exon-0122	caffeic acid 3-O-methyltransferase	450
Exon-0123	---NA---	55
Exon-0124	---NA---	62
Exon-0125	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	178
Exon-0126	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	153
Exon-0127	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	198
Exon-0128	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	165
Exon-0129	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	170
Exon-0130	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	156
Exon-0131	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	347
Exon-0132	probable glucan 1,3-beta-glucosidase A	583
Exon-0133	---NA---	28
Exon-0134	non-specific phospholipase C6	177
Exon-0135	ethylene-responsive transcription factor ESR2	1348
Exon-0136	---NA---	46
Exon-0137	GDSL esterase/lipase	721
Exon-0138	---NA---	78
Exon-0139	---NA---	88
Exon-0140	PREDICTED: uncharacterized protein	162
Exon-0141	---NA---	84
Exon-0142	protein jagged-1-like isoform X2	126
Exon-0143	---NA---	253
Exon-0144	---NA---	18
Exon-0145	---NA---	55
Exon-0146	probable glutathione S-transferase	351
Exon-0147	probable glutathione S-transferase	616
Exon-0148	integumentary mucin C.1-like	634
Exon-0149	cytochrome P450	729
Exon-0150	cytochrome P450	426
Exon-0151	---NA---	79



Exon-0152	sigma factor binding protein 1, chloroplastic	363
Exon-0153	protein kinase APK1B, chloroplastic isoform X2	124
Exon-0154	---NA---	97
Exon-0155	---NA---	52
Exon-0156	---NA---	322
Exon-0157	---NA---	60
Exon-0158	---NA---	47
Exon-0159	---NA---	49
Exon-0160	---NA---	33
Exon-0161	monooxygenase 2-like	410
Exon-0162	---NA---	63
Exon-0163	hypothetical protein EUGRSUZ	178
Exon-0164	hypothetical protein EUGRSUZ	670
Exon-0165	---NA---	94
Exon-0166	PREDICTED: uncharacterized protein	458
Exon-0167	scopoletin glucosyltransferase	1929
Exon-0168	phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase 2, chloroplastic	465
Exon-0169	---NA---	96
Exon-0170	probable 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase 2, chloroplastic	282
Exon-0171	rhamnogalacturonate lyase B	160
Exon-0172	---NA---	51
Exon-0173	---NA---	35
Exon-0174	phytosulfokines 3	324
Exon-0175	lysine-rich arabinogalactan protein 18	602
Exon-0176	---NA---	264
Exon-0177	---NA---	14
Exon-0178	small RNA degrading nuclease 1	105
Exon-0179	PREDICTED: uncharacterized protein	2052
Exon-0180	---NA---	16
Exon-0181	patatin-like protein 1	187
Exon-0182	patatin-like protein 1	176
Exon-0183	putative phosphorylase kinase, gamma catalytic subunit, EF-hand domain pair	109
Exon-0184	PREDICTED: uncharacterized protein	867
Exon-0185	---NA---	72
Exon-0186	serine carboxypeptidase-like 18	137
Exon-0187	---NA---	38
Exon-0188	serine carboxypeptidase-like 18	353
Exon-0189	serine carboxypeptidase-like 18	119
Exon-0190	serine carboxypeptidase-like 18	114
Exon-0191	---NA---	58
Exon-0192	serine carboxypeptidase-like 18	146
Exon-0193	serine carboxypeptidase-like 18	123
Exon-0194	serine carboxypeptidase-like 18	103
Exon-0195	---NA---	38
Exon-0196	---NA---	87
Exon-0197	serine carboxypeptidase-like 18	153
Exon-0198	---NA---	58
Exon-0199	---NA---	87
Exon-0200	serine carboxypeptidase-like 18	153
Exon-0201	PXMP2/4 family protein 4	229
Exon-0202	---NA---	22
Exon-0203	peamaclein	417

Exon-0204	protein DMR6-LIKE OXYGENASE 2 isoform X3	315
Exon-0205	protein DMR6-LIKE OXYGENASE 2	328
Exon-0206	protein DMR6-LIKE OXYGENASE 2	483
Exon-0207	CCG-binding protein 1	421
Exon-0208	CCG-binding protein 1	633
Exon-0209	---NA---	79
Exon-0210	polyol transporter 5	245
Exon-0211	polyol transporter 5	347
Exon-0212	polyol transporter 5	1377
Exon-0213	organ-specific protein P4	441
Exon-0214	coatamer subunit gamma	114
Exon-0215	---NA---	60
Exon-0216	---NA---	48
Exon-0217	---NA---	93
Exon-0218	ATPase 11, plasma membrane-type	120
Exon-0219	---NA---	91
Exon-0220	probable aquaporin TIP4-3	1014
Exon-0221	protein NRT1/ PTR FAMILY 2.11	218
Exon-0222	chaperone protein dnaJ 11, chloroplastic	345
Exon-0223	---NA---	24
Exon-0224	beta-galactosidase 13	108
Exon-0225	---NA---	12
Exon-0226	probable galacturonosyltransferase 3	105
Exon-0227	probable serine/threonine-protein kinase NAK	143
Exon-0228	transport and Golgi organization protein 2 homolog	192
Exon-0229	---NA---	40
Exon-0230	---NA---	53
Exon-0231	protein NRT1/ PTR FAMILY 4.6	103
Exon-0232	---NA---	48
Exon-0233	---NA---	6
Exon-0234	glycerophosphodiester phosphodiesterase GDPD1, chloroplastic	197
Exon-0235	---NA---	5
Exon-0236	---NA---	26
Exon-0237	hypothetical protein EUGRSUZ	113
Exon-0238	---NA---	53
Exon-0239	PREDICTED: uncharacterized protein	106
Exon-0240	---NA---	295
Exon-0241	---NA---	44
Exon-0242	2-methylene-furan-3-one reductase	160
Exon-0243	2-methylene-furan-3-one reductase	525
Exon-0244	2-methylene-furan-3-one reductase	344
Exon-0245	2-methylene-furan-3-one reductase	309
Exon-0246	2-methylene-furan-3-one reductase	160
Exon-0247	2-methylene-furan-3-one reductase	425
Exon-0248	---NA---	60
Exon-0249	2-methylene-furan-3-one reductase	309
Exon-0250	2-methylene-furan-3-one reductase	484
Exon-0251	2-methylene-furan-3-one reductase	269
Exon-0252	---NA---	39
Exon-0253	gibberellin-regulated protein 14	521
Exon-0254	uncharacterized protein	162
Exon-0255	---NA---	84

Exon-0256	---NA---	60
Exon-0257	V-type proton ATPase subunit d2 isoform X2	135
Exon-0258	truncated transcription factor CAULIFLOWER A	119
Exon-0259	cell morphogenesis protein PAG1	118
Exon-0260	---NA---	53
Exon-0261	---NA---	48
Exon-0262	phosphoinositide phosphatase SAC6	107
Exon-0263	IST1-like protein	104
Exon-0264	lysine histidine transporter-like 8	508
Exon-0265	lysine histidine transporter-like 8	137
Exon-0266	---NA---	51
Exon-0267	lysine histidine transporter-like 8	383
Exon-0268	lysine histidine transporter-like 8	132
Exon-0269	lysine histidine transporter-like 8	715
Exon-0270	---NA---	48
Exon-0271	---NA---	68
Exon-0272	---NA---	67
Exon-0273	---NA---	100
Exon-0274	---NA---	42
Exon-0275	isoflavone reductase homolog A622	286
Exon-0276	---NA---	47
Exon-0277	---NA---	60
Exon-0278	---NA---	90
Exon-0279	---NA---	66
Exon-0280	---NA---	66
Exon-0281	STS14 protein	831
Exon-0282	---NA---	58
Exon-0283	---NA---	83
Exon-0284	---NA---	94
Exon-0285	ABC transporter G family member 11	442
Exon-0286	---NA---	80
Exon-0287	ABC transporter G family member 11	471
Exon-0288	---NA---	87
Exon-0289	ABC transporter G family member 11	126
Exon-0290	ABC transporter G family member 11 isoform X1	195
Exon-0291	---NA---	87
Exon-0292	ABC transporter G family member 11	885
Exon-0293	---NA---	51
Exon-0294	expansin-A15	146
Exon-0295	expansin-A15	313
Exon-0296	expansin-A15	770
Exon-0297	---NA---	63
Exon-0298	---NA---	61
Exon-0299	---NA---	2
Exon-0300	dynamamin-2A-like	118
Exon-0301	---NA---	64
Exon-0302	probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase	601
Exon-0303	UPF0481 protein	1690
Exon-0304	cyclin-D2-1	310
Exon-0305	---NA---	34
Exon-0306	PLASMODESMATA CALLOSE-BINDING PROTEIN 3	791
Exon-0307	---NA---	76

Exon-0308	salicylic acid-binding protein 2	519
Exon-0309	salicylic acid-binding protein 2	132
Exon-0310	salicylic acid-binding protein 2	502
Exon-0311	replication protein A 70 kDa DNA-binding subunit B	121
Exon-0312	---NA---	93
Exon-0313	---NA---	49
Exon-0314	---NA---	71
Exon-0315	hypothetical protein EUGRSUZ, partial	1109
Exon-0316	glycerol-3-phosphate 2-O-acyltransferase 6	838
Exon-0317	glycerol-3-phosphate 2-O-acyltransferase 6	1108
Exon-0318	protein LNK3 isoform X1	394
Exon-0319	putative RING-H2 finger protein ATL69	839
Exon-0320	---NA---	47
Exon-0321	---NA---	57
Exon-0322	hypothetical protein EUGRSUZ	511
Exon-0323	---NA---	64
Exon-0324	hypothetical protein EUGRSUZ	413
Exon-0325	mini-chromosome maintenance complex-binding protein	132
Exon-0326	---NA---	75
Exon-0327	---NA---	60
Exon-0328	---NA---	78
Exon-0329	---NA---	55
Exon-0330	---NA---	66
Exon-0331	histone H2B.7	576
Exon-0332	lysosomal Pro-X carboxypeptidase	190
Exon-0333	lysosomal Pro-X carboxypeptidase	113
Exon-0334	pleiotropic drug resistance protein 2	161
Exon-0335	---NA---	89
Exon-0336	---NA---	277
Exon-0337	fatty acyl-CoA reductase 3	104
Exon-0338	fatty acyl-CoA reductase 3	162
Exon-0339	---NA---	47
Exon-0340	---NA---	60
Exon-0341	---NA---	71
Exon-0342	---NA---	51
Exon-0343	---NA---	59
Exon-0344	---NA---	80
Exon-0345	---NA---	90
Exon-0346	omega-3 fatty acid desaturase, chloroplastic	529
Exon-0347	---NA---	47
Exon-0348	protein TIFY 4B	146
Exon-0349	---NA---	78
Exon-0350	protein PATRONUS 2 isoform X3	300
Exon-0351	---NA---	94
Exon-0352	---NA---	28
Exon-0353	---NA---	80
Exon-0354	---NA---	96
Exon-0355	---NA---	65
Exon-0356	---NA---	55
Exon-0357	---NA---	82
Exon-0358	histone H3-like centromeric protein CSE4	657
Exon-0359	---NA---	18

Exon-0360 ---NA---	32
Exon-0361 beta-glucosidase 24	103
Exon-0362 ---NA---	88
Exon-0363 beta-glucosidase 24	256
Exon-0364 ---NA---	69
Exon-0365 ---NA---	31
Exon-0366 ---NA---	96
Exon-0367 ---NA---	56
Exon-0368 ---NA---	74
Exon-0369 ---NA---	53
Exon-0370 ---NA---	86
Exon-0371 protein NRT1/ PTR FAMILY 5.4	252
Exon-0372 ---NA---	71
Exon-0373 ---NA---	93
Exon-0374 hypothetical protein EUGRSUZ	423
Exon-0375 PREDICTED: uncharacterized protein	126
Exon-0376 PREDICTED: uncharacterized protein	415
Exon-0377 PREDICTED: uncharacterized protein	434
Exon-0378 ---NA---	144
Exon-0379 ---NA---	62
Exon-0380 polygalacturonase	109
Exon-0381 nipped-B protein	126
Exon-0382 ---NA---	80
Exon-0383 proline-rich extensin-like protein EPR1	249
Exon-0384 proline-rich extensin-like protein EPR1	1131
Exon-0385 (-)-germacrene D synthase	249
Exon-0386 (-)-germacrene D synthase	515
Exon-0387 ---NA---	75
Exon-0388 ---NA---	59
Exon-0389 beta-glucosidase 44	116
Exon-0390 ---NA---	32
Exon-0391 ---NA---	91
Exon-0392 ---NA---	60
Exon-0393 ---NA---	25
Exon-0394 ---NA---	30
Exon-0395 ---NA---	76
Exon-0396 ---NA---	92
Exon-0397 ---NA---	55
Exon-0398 ---NA---	67
Exon-0399 ---NA---	69
Exon-0400 ---NA---	31
Exon-0401 ---NA---	14
Exon-0402 ---NA---	70
Exon-0403 ---NA---	70
Exon-0404 probable acyl-activating enzyme 18, peroxisomal	260
Exon-0405 eugenol synthase 1 isoform X1	226
Exon-0406 eugenol synthase 1 isoform X2	231
Exon-0407 ---NA---	67
Exon-0408 ---NA---	49
Exon-0409 ---NA---	64
Exon-0410 PREDICTED: uncharacterized protein isoform X2	142
Exon-0411 ---NA---	45

Exon-0412	---NA---	57
Exon-0413	tropinone reductase homolog isoform X1	217
Exon-0414	tropinone reductase homolog	184
Exon-0415	tropinone reductase homolog isoform X1	208
Exon-0416	tropinone reductase homolog isoform X1	217
Exon-0417	tropinone reductase homolog	420
Exon-0418	histone H3.2	873
Exon-0419	---NA---	74
Exon-0420	osmotin-like protein	740
Exon-0421	---NA---	53
Exon-0422	---NA---	56
Exon-0423	---NA---	85
Exon-0424	---NA---	78
Exon-0425	---NA---	38
Exon-0426	nuclear pore complex protein GP210	131
Exon-0427	---NA---	76
Exon-0428	---NA---	38
Exon-0429	---NA---	14
Exon-0430	PREDICTED: uncharacterized protein	412
Exon-0431	---NA---	116
Exon-0432	---NA---	90
Exon-0433	GDSL esterase/lipase EXL3	256
Exon-0434	---NA---	94
Exon-0435	protein MID1-COMPLEMENTING ACTIVITY 1	119
Exon-0436	---NA---	25
Exon-0437	---NA---	81
Exon-0438	---NA---	61
Exon-0439	---NA---	125
Exon-0440	---NA---	72
Exon-0441	protein PHLOEM PROTEIN 2-LIKE A1	199
Exon-0442	protein PHLOEM PROTEIN 2-LIKE A1	107
Exon-0443	disease susceptibility protein LOV1-like	1528
Exon-0444	acid phosphatase 1	530
Exon-0445	acid phosphatase 1	493
Exon-0446	phosphoethanolamine N-methyltransferase 1	144
Exon-0447	phosphoethanolamine N-methyltransferase 1	111
Exon-0448	phosphoethanolamine N-methyltransferase 1	162
Exon-0449	---NA---	68
Exon-0450	protein ODORANT1	130
Exon-0451	---NA---	52
Exon-0452	---NA---	64
Exon-0453	acid phosphatase 1	486
Exon-0454	acid phosphatase 1	494
Exon-0455	---NA---	48
Exon-0456	methyltransferase-like protein 22	139
Exon-0457	methyltransferase-like protein 22	106
Exon-0458	---NA---	91
Exon-0459	---NA---	87
Exon-0460	pleiotropic drug resistance protein 1	255
Exon-0461	pleiotropic drug resistance protein 1	455
Exon-0462	---NA---	57
Exon-0463	---NA---	72

Exon-0464	---NA---	78
Exon-0465	---NA---	51
Exon-0466	---NA---	82
Exon-0467	protein SRG1	296
Exon-0468	---NA---	89
Exon-0469	(-)-germacrene D synthase	219
Exon-0470	transcription factor MYB114 isoform X2	130
Exon-0471	early light-induced protein 1, chloroplastic	283
Exon-0472	---NA---	45
Exon-0473	early light-induced protein 1, chloroplastic	471
Exon-0474	early light-induced protein 1, chloroplastic	352
Exon-0475	---NA---	36
Exon-0476	early light-induced protein 1, chloroplastic	286
Exon-0477	early light-induced protein 1, chloroplastic	437
Exon-0478	chlorophyllase-2, chloroplastic	336
Exon-0479	chlorophyllase-2, chloroplastic	840
Exon-0480	---NA---	41
Exon-0481	GDSL esterase/lipase EXL3	481
Exon-0482	---NA---	55
Exon-0483	splicing factor U2AF-associated protein 2 isoform X1	135
Exon-0484	IAA-amino acid hydrolase ILR1-like 5	315
Exon-0485	---NA---	62
Exon-0486	superoxide dismutase [Fe], chloroplastic	172
Exon-0487	protein EXORDIUM-like 3	1382
Exon-0488	protein ODORANT1	335
Exon-0489	protein ODORANT1	792
Exon-0490	21 kDa protein	885
Exon-0491	21 kDa protein	1207
Exon-0492	---NA---	45
Exon-0493	---NA---	52
Exon-0494	---NA---	58
Exon-0495	MADS-box protein AGL42-like isoform X1	198
Exon-0496	---NA---	75
Exon-0497	---NA---	92
Exon-0498	---NA---	47
Exon-0499	PREDICTED: uncharacterized protein	160
Exon-0500	protein DOWNY MILDEW RESISTANCE 6	345
Exon-0501	---NA---	65
Exon-0502	---NA---	110
Exon-0503	---NA---	63
Exon-0504	neurofilament medium polypeptide	840
Exon-0505	PREDICTED: uncharacterized protein	166
Exon-0506	---NA---	57
Exon-0507	---NA---	69
Exon-0508	basic 7S globulin	580
Exon-0509	probable terpene synthase 12	139
Exon-0510	probable terpene synthase 12	249
Exon-0511	B-box domain protein 30	1035
Exon-0512	monoterpene synthase	219
Exon-0513	isoprene synthase, chloroplastic	249
Exon-0514	monoterpene synthase	571
Exon-0515	xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase 3	287

Exon-0516	---NA---	101
Exon-0517	xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase 3	194
Exon-0518	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 9	653
Exon-0519	zinc finger protein HD1-like	925
Exon-0520	zinc finger protein HD1-like	488
Exon-0521	---NA---	48
Exon-0522	---NA---	38
Exon-0523	alcohol dehydrogenase class-3	159
Exon-0524	---NA---	34
Exon-0525	(R,S)-reticuline 7-O-methyltransferase	315
Exon-0526	two pore calcium channel protein 1A	108
Exon-0527	---NA---	101
Exon-0528	---NA---	73
Exon-0529	---NA---	66
Exon-0530	serine/threonine-protein kinase CDL1	239
Exon-0531	serine/threonine-protein kinase CDL1	136
Exon-0532	serine/threonine-protein kinase CDL1	259
Exon-0533	---NA---	75
Exon-0534	---NA---	63
Exon-0535	glutathione S-transferase F9	183
Exon-0536	---NA---	62
Exon-0537	---NA---	433
Exon-0538	regulatory-associated protein of TOR 1-like isoform X2	111
Exon-0539	alanine--glyoxylate aminotransferase 2 homolog 3, mitochondrial	114
Exon-0540	PREDICTED: uncharacterized protein	114
Exon-0541	non-specific lipid-transfer protein 1	429
Exon-0542	---NA---	215
Exon-0543	probable WRKY transcription factor 70	105
Exon-0544	---NA---	45
Exon-0545	---NA---	36
Exon-0546	---NA---	47
Exon-0547	---NA---	49
Exon-0548	---NA---	57
Exon-0549	---NA---	56
Exon-0550	protein NDH-DEPENDENT CYCLIC ELECTRON FLOW 5 isoform X1	204
Exon-0551	---NA---	270
Exon-0552	photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic	329
Exon-0553	---NA---	69
Exon-0554	glucan endo-1,3-beta-glucosidase, basic isoform-like	1064
Exon-0555	two-component response regulator ORR9	107
Exon-0556	---NA---	59
Exon-0557	---NA---	69
Exon-0558	---NA---	43
Exon-0559	---NA---	35
Exon-0560	---NA---	55
Exon-0561	isoflavone reductase-like protein	254
Exon-0562	isoflavone reductase-like protein	135
Exon-0563	isoflavone reductase-like protein	204
Exon-0564	isoflavone reductase-like protein	384
Exon-0565	---NA---	43
Exon-0566	---NA---	92
Exon-0567	classical arabinogalactan protein 25-like	870



Exon-0568	PREDICTED: uncharacterized protein	937
Exon-0569	---NA---	94
Exon-0570	---NA---	40
Exon-0571	---NA---	58
Exon-0572	---NA---	69
Exon-0573	GDSL esterase/lipase	275
Exon-0574	---NA---	97
Exon-0575	---NA---	66
Exon-0576	---NA---	62
Exon-0577	EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-like protein 9	194
Exon-0578	---NA---	72
Exon-0579	putative quinone-oxidoreductase homolog, chloroplastic	796
Exon-0580	endochitinase EP3	618
Exon-0581	---NA---	60
Exon-0582	---NA---	81
Exon-0583	---NA---	78
Exon-0584	---NA---	80
Exon-0585	---NA---	39
Exon-0586	---NA---	41
Exon-0587	---NA---	32
Exon-0588	miraculin	853
Exon-0589	---NA---	96
Exon-0590	---NA---	138
Exon-0591	---NA---	82
Exon-0592	---NA---	72
Exon-0593	---NA---	36
Exon-0594	---NA---	31
Exon-0595	gibberellin-regulated protein 6	525
Exon-0596	---NA---	55
Exon-0597	---NA---	55
Exon-0598	putative inactive tRNA-specific adenosine deaminase-like protein 3-like isoform X1	447
Exon-0599	---NA---	76
Exon-0600	probable aldo-keto reductase 2 isoform X2	324
Exon-0601	probable aldo-keto reductase 2 isoform X2	201
Exon-0602	---NA---	93
Exon-0603	---NA---	39
Exon-0604	---NA---	54
Exon-0605	---NA---	49
Exon-0606	adenylate kinase 4	120
Exon-0607	probable histone-arginine methyltransferase 1.3	104
Exon-0608	heme-binding protein 2	345
Exon-0609	heme-binding protein 2	604
Exon-0610	---NA---	53
Exon-0611	---NA---	33
Exon-0612	ATPase 11, plasma membrane-type	135
Exon-0613	macrophage migration inhibitory factor homolog	401
Exon-0614	pyruvate decarboxylase 1	731
Exon-0615	pyruvate decarboxylase 1	818
Exon-0616	pyruvate decarboxylase 1	118
Exon-0617	pyruvate decarboxylase 1	189
Exon-0618	pyruvate decarboxylase 1	292
Exon-0619	---NA---	35

Exon-0620	putative receptor protein kinase ZmPK1	2660
Exon-0621	high-light-induced protein, chloroplastic	123
Exon-0622	---NA---	327
Exon-0623	high-light-induced protein, chloroplastic	214
Exon-0624	---NA---	48
Exon-0625	---NA---	74
Exon-0626	probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	242
Exon-0627	---NA---	72
Exon-0628	---NA---	100
Exon-0629	---NA---	65
Exon-0630	histone H2A variant 1	611
Exon-0631	tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic	186
Exon-0632	---NA---	50
Exon-0633	---NA---	99
Exon-0634	---NA---	22
Exon-0635	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1 isoform X2	171
Exon-0636	---NA---	66
Exon-0637	---NA---	48
Exon-0638	(-)-germacrene D synthase	249
Exon-0639	(-)-germacrene D synthase	492
Exon-0640	---NA---	54
Exon-0641	GDSL esterase/lipase	128
Exon-0642	GDSL esterase/lipase	256
Exon-0643	GDSL esterase/lipase	512
Exon-0644	omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase	1270
Exon-0645	---NA---	60
Exon-0646	rust resistance kinase Lr10-like	1284
Exon-0647	ABC transporter B family member 19-like	138
Exon-0648	---NA---	10
Exon-0649	---NA---	93
Exon-0650	---NA---	72
Exon-0651	transcription factor TGA2.2	275
Exon-0652	---NA---	97
Exon-0653	probable inactive purple acid phosphatase 27	126
Exon-0654	pyruvate decarboxylase 1	697
Exon-0655	pyruvate decarboxylase 1	189
Exon-0656	---NA---	50
Exon-0657	---NA---	26
Exon-0658	classical arabinogalactan protein 26	477
Exon-0659	glycine-rich protein 5-like	306
Exon-0660	histidinol-phosphate aminotransferase, chloroplastic isoform X3	158
Exon-0661	BTB/POZ and TAZ domain-containing protein 3	303
Exon-0662	---NA---	14
Exon-0663	---NA---	66
Exon-0664	---NA---	85
Exon-0665	probable inactive serine/threonine-protein kinase fnkC isoform X2	124
Exon-0666	---NA---	56
Exon-0667	---NA---	33
Exon-0668	---NA---	61
Exon-0669	peroxisomal adenine nucleotide carrier 1	150
Exon-0670	---NA---	36
Exon-0671	---NA---	93

Exon-0672	---NA---	57
Exon-0673	isoeugenol synthase 1	135
Exon-0674	isoflavone reductase-like protein	284
Exon-0675	isoflavone reductase-like protein	135
Exon-0676	isoflavone reductase-like protein	238
Exon-0677	isoflavone reductase-like protein	204
Exon-0678	isoflavone reductase-like protein	410
Exon-0679	---NA---	7
Exon-0680	basic endochitinase	154
Exon-0681	basic endochitinase	536
Exon-0682	tropinone reductase homolog	107
Exon-0683	tropinone reductase homolog	396
Exon-0684	---NA---	62
Exon-0685	---NA---	289
Exon-0686	probable 3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 3	335
Exon-0687	---NA---	84
Exon-0688	---NA---	84
Exon-0689	pyruvate decarboxylase 1	735
Exon-0690	pyruvate decarboxylase 1	818
Exon-0691	pyruvate decarboxylase 1	189
Exon-0692	pyruvate decarboxylase 1	396
Exon-0693	pyruvate decarboxylase 1-like	639
Exon-0694	---NA---	84
Exon-0695	---NA---	90
Exon-0696	ATP-dependent DNA helicase Q-like SIM	449
Exon-0697	glucan 1,3-beta-glucosidase	150
Exon-0698	glucan 1,3-beta-glucosidase	246
Exon-0699	hypothetical protein EUGRSUZ	317
Exon-0700	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	505
Exon-0701	beta-bisabolene synthase-like	262
Exon-0702	beta-bisabolene synthase-like	376
Exon-0703	beta-bisabolene synthase-like	216
Exon-0704	beta-bisabolene synthase-like	139
Exon-0705	beta-bisabolene synthase-like	249
Exon-0706	beta-bisabolene synthase-like	539
Exon-0707	eukaryotic translation initiation factor 1A	243
Exon-0708	---NA---	87
Exon-0709	isoflavone reductase-like protein	406
Exon-0710	---NA---	69
Exon-0711	---NA---	79
Exon-0712	cellulose synthase-like protein E1	213
Exon-0713	cellulose synthase-like protein E1	348
Exon-0714	cellulose synthase-like protein E1	779
Exon-0715	geraniol 8-hydroxylase	933
Exon-0716	flowering locus K homology domain	276
Exon-0717	flowering locus K homology domain	149
Exon-0718	flowering locus K homology domain	166
Exon-0719	putative lactoylglutathione lyase	132
Exon-0720	putative lactoylglutathione lyase	125
Exon-0721	---NA---	65
Exon-0722	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR	2448
Exon-0723	phosphatidylinositol 3-kinase, root isoform	136

Exon-0724 lipase	440
Exon-0725 ---NA---	48
Exon-0726 ---NA---	73
Exon-0727 ---NA---	89
Exon-0728 proteasome subunit beta type-4	342
Exon-0729 proteasome subunit beta type-4	229
Exon-0730 pathogenesis-related protein 1	689
Exon-0731 hypothetical protein EUGRSUZ	840
Exon-0732 PREDICTED: uncharacterized protein	114
Exon-0733 PREDICTED: uncharacterized protein	174
Exon-0734 glycine-rich cell wall structural protein-like	747
Exon-0735 ---NA---	43
Exon-0736 ---NA---	74
Exon-0737 chaperone protein dnaJ 11, chloroplastic-like	572
Exon-0738 ---NA---	344
Exon-0739 ---NA---	42
Exon-0740 sodium/calcium exchanger NCL-like	182
Exon-0741 miraculin	840
Exon-0742 PREDICTED: uncharacterized protein isoform X2	557
Exon-0743 ---NA---	72
Exon-0744 PREDICTED: uncharacterized protein , partial	204
Exon-0745 ---NA---	87
Exon-0746 ---NA---	57
Exon-0747 ---NA---	86
Exon-0748 ---NA---	72
Exon-0749 ---NA---	78
Exon-0750 zeta-carotene desaturase, chloroplastic/chromoplastic	129
Exon-0751 ---NA---	73
Exon-0752 ---NA---	74
Exon-0753 ---NA---	80
Exon-0754 ---NA---	82
Exon-0755 ---NA---	62
Exon-0756 12-oxophytodienoate reductase 3	859
Exon-0757 rhodanese-like domain-containing protein 14, chloroplastic	446
Exon-0758 ---NA---	67
Exon-0759 ---NA---	60
Exon-0760 ---NA---	85
Exon-0761 PREDICTED: uncharacterized protein	225
Exon-0762 Ribosomal_S25 domain-containing protein	285
Exon-0763 DNA ligase 1-like	256
Exon-0764 nucleolin	626
Exon-0765 caffeic acid 3-O-methyltransferase	489
Exon-0766 caffeic acid 3-O-methyltransferase	311
Exon-0767 ---NA---	65
Exon-0768 caffeic acid 3-O-methyltransferase	474
Exon-0769 stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1 isoform X2	171
Exon-0770 caffeic acid 3-O-methyltransferase	595
Exon-0771 caffeic acid 3-O-methyltransferase	311
Exon-0772 cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	151
Exon-0773 probable inactive purple acid phosphatase 27	206
Exon-0774 ---NA---	47
Exon-0775 ---NA---	47

Exon-0776	PREDICTED: uncharacterized protein	106
Exon-0777	---NA---	78
Exon-0778	---NA---	304
Exon-0779	cinnamoyl-CoA reductase 1-like	187
Exon-0780	isoflavone reductase-like protein isoform X1	135
Exon-0781	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1 isoform X1	209
Exon-0782	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1-like	326
Exon-0783	---NA---	302
Exon-0784	---NA---	19
Exon-0785	putative chloroplast J-like domain 1	105
Exon-0786	aquaporin PIP2-1-like	451
Exon-0787	pleiotropic drug resistance protein 3	124
Exon-0788	ras-related protein RABB1c	205
Exon-0789	---NA---	69
Exon-0790	protein STRICTOSIDINE SYNTHASE-LIKE 10-like	343
Exon-0791	---NA---	98
Exon-0792	miraculin-like	853
Exon-0793	---NA---	28
Exon-0794	GDSL esterase/lipase -like	504
Exon-0795	nuclear transport factor 2-like	421
Exon-0796	---NA---	74
Exon-0797	---NA---	54
Exon-0798	---NA---	9
Exon-0799	barwin	312
Exon-0800	barwin-like	324
Exon-0801	---NA---	63
Exon-0802	PREDICTED: uncharacterized protein	457
Exon-0803	PREDICTED: uncharacterized protein	295
Exon-0804	---NA---	81
Exon-0805	peptide-N(4)-(N-acetyl-beta-glucosaminyl)asparagine amidase	135
Exon-0806	CBL-interacting serine/threonine-protein kinase 20-like	1273
Exon-0807	ankyrin repeat-containing protein -like	872
Exon-0808	---NA---	81
Exon-0809	---NA---	79
Exon-0810	---NA---	167
Exon-0811	---NA---	12
Exon-0812	GDSL esterase/lipase -like	876
Exon-0813	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump-like	167
Exon-0814	two-on-two hemoglobin-3-like	145
Exon-0815	---NA---	57
Exon-0816	---NA---	41
Exon-0817	PREDICTED: uncharacterized protein	126
Exon-0818	---NA---	76
Exon-0819	PREDICTED: uncharacterized protein	103
Exon-0820	early light-induced protein 1, chloroplastic isoform X1	266
Exon-0821	---NA---	45
Exon-0822	early light-induced protein 1, chloroplastic isoform X3	533
Exon-0823	---NA---	45
Exon-0824	early light-induced protein 1, chloroplastic isoform X1	429
Exon-0825	bifunctional epoxide hydrolase 2	242
Exon-0826	bifunctional epoxide hydrolase 2	529
Exon-0827	---NA---	76

Exon-0828	---NA---	55
Exon-0829	---NA---	60
Exon-0830	---NA---	62
Exon-0831	non-specific lipid-transfer protein 1-like	480
Exon-0832	---NA---	196
Exon-0833	non-specific lipid-transfer protein 1	507
Exon-0834	---NA---	202
Exon-0835	---NA---	206
Exon-0836	non-specific lipid-transfer protein 1	461
Exon-0837	---NA---	272
Exon-0838	non-specific lipid-transfer protein 1-like	445
Exon-0839	hypothetical protein EUGRSUZ	269
Exon-0840	---NA---	56
Exon-0841	GDSL esterase/lipase LTL1	337
Exon-0842	GDSL esterase/lipase LTL1	128
Exon-0843	GDSL esterase/lipase LTL1	243
Exon-0844	GDSL esterase/lipase LTL1	253
Exon-0845	GDSL esterase/lipase LTL1	489
Exon-0846	GDSL esterase/lipase	260
Exon-0847	GDSL esterase/lipase	365
Exon-0848	---NA---	77
Exon-0849	---NA---	73
Exon-0850	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1	296
Exon-0851	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1	400
Exon-0852	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1	240
Exon-0853	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1	404
Exon-0854	asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 1	135
Exon-0855	---NA---	89
Exon-0856	---NA---	69
Exon-0857	---NA---	41
Exon-0858	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic	317
Exon-0859	ribulose biphosphate	106
Exon-0860	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic	473
Exon-0861	ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic	482
Exon-0862	---NA---	88
Exon-0863	expansin-A4	535
Exon-0864	---NA---	63
Exon-0865	---NA---	18
Exon-0866	---NA---	327
Exon-0867	---NA---	92
Exon-0868	E3 SUMO-protein ligase SIZ1	122
Exon-0869	---NA---	23
Exon-0870	non-functional NADPH-dependent codeinone reductase 2 isoform X1	336
Exon-0871	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	385
Exon-0872	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	388
Exon-0873	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	409
Exon-0874	---NA---	67
Exon-0875	---NA---	52
Exon-0876	probable glutathione S-transferase	365
Exon-0877	probable glutathione S-transferase	504
Exon-0878	---NA---	69
Exon-0879	amino-acid permease BAT1 homolog	130

Exon-0880	---NA---	57
Exon-0881	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	672
Exon-0882	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	629
Exon-0883	endoglucanase 8	162
Exon-0884	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	388
Exon-0885	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	433
Exon-0886	---NA---	64
Exon-0887	---NA---	91
Exon-0888	ribose bisphosphate carboxylase small chain 3B, chloroplastic	244
Exon-0889	ribose bisphosphate carboxylase small chain 3B, chloroplastic	135
Exon-0890	ribose bisphosphate carboxylase small chain 3B, chloroplastic	452
Exon-0891	DNA-directed RNA polymerase 1B, mitochondrial-like	115
Exon-0892	---NA---	37
Exon-0893	cytochrome P450	404
Exon-0894	cytochrome P450	233
Exon-0895	---NA---	60
Exon-0896	---NA---	105
Exon-0897	---NA---	55
Exon-0898	PREDICTED: uncharacterized protein	713
Exon-0899	---NA---	71
Exon-0900	polygalacturonase non-catalytic subunit AroGP2	1267
Exon-0901	probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 33	209
Exon-0902	---NA---	40
Exon-0903	gibberellin-regulated protein 1	351
Exon-0904	---NA---	71
Exon-0905	---NA---	100
Exon-0906	---NA---	45
Exon-0907	65-kDa microtubule-associated protein 8	204
Exon-0908	---NA---	88
Exon-0909	DNA replication licensing factor MCM2	165
Exon-0910	---NA---	96
Exon-0911	---NA---	87
Exon-0912	---NA---	771
Exon-0913	---NA---	70
Exon-0914	beta-glucosidase 13	212
Exon-0915	beta-glucosidase 13	103
Exon-0916	beta-glucosidase 13	109
Exon-0917	beta-glucosidase 13	342
Exon-0918	beta-glucosidase 13	256
Exon-0919	beta-glucosidase 13	116
Exon-0920	beta-glucosidase 13	218
Exon-0921	aldehyde dehydrogenase family 3 member F1	105
Exon-0922	---NA---	66
Exon-0923	---NA---	34
Exon-0924	protein GAST1	441
Exon-0925	---NA---	50
Exon-0926	---NA---	48
Exon-0927	---NA---	41
Exon-0928	---NA---	63
Exon-0929	non-specific lipid transfer protein GPI-anchored 2	283
Exon-0930	nijmegen breakage syndrome 1 protein	103
Exon-0931	---NA---	19

Exon-0932	---NA---	63
Exon-0933	---NA---	12
Exon-0934	---NA---	39
Exon-0935	acetolactate synthase, chloroplastic	1708
Exon-0936	---NA---	61
Exon-0937	---NA---	54
Exon-0938	---NA---	76
Exon-0939	early light-induced protein 1, chloroplastic	283
Exon-0940	---NA---	39
Exon-0941	---NA---	27
Exon-0942	---NA---	69
Exon-0943	aspartic proteinase-like protein 2	248
Exon-0944	aspartic proteinase-like protein 2	225
Exon-0945	---NA---	74
Exon-0946	---NA---	72
Exon-0947	PREDICTED: uncharacterized protein	113
Exon-0948	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1	190
Exon-0949	---NA---	64
Exon-0950	---NA---	99
Exon-0951	---NA---	18
Exon-0952	monoterpene synthase-like	475
Exon-0953	beta-bisabolene synthase-like isoform X1	216
Exon-0954	MLP-like protein 28	405
Exon-0955	polygalacturonase non-catalytic subunit AroGP2-like	1026
Exon-0956	polygalacturonase non-catalytic subunit AroGP2	1294
Exon-0957	protein RETICULATA-RELATED 4, chloroplastic	132
Exon-0958	peroxidase 21	161
Exon-0959	PREDICTED: uncharacterized protein	179
Exon-0960	---NA---	333
Exon-0961	---NA---	51
Exon-0962	---NA---	57
Exon-0963	---NA---	55
Exon-0964	---NA---	87
Exon-0965	---NA---	78
Exon-0966	EG45-like domain containing protein	445
Exon-0967	---NA---	349
Exon-0968	calreticulin-3	259
Exon-0969	---NA---	48
Exon-0970	---NA---	87
Exon-0971	---NA---	96
Exon-0972	isoflavone 3'-hydroxylase-like	946
Exon-0973	DNA replication licensing factor MCM5	130
Exon-0974	---NA---	338
Exon-0975	---NA---	53
Exon-0976	---NA---	81
Exon-0977	ultraviolet-B receptor UVR8	168
Exon-0978	---NA---	42
Exon-0979	---NA---	76
Exon-0980	---NA---	49
Exon-0981	---NA---	57
Exon-0982	PREDICTED: uncharacterized protein	122
Exon-0983	---NA---	84



Exon-0984	transcription factor MYB23	250
Exon-0985	anthocyanin regulatory C1 protein	873
Exon-0986	transcription factor MYB114	350
Exon-0987	transcription factor MYB114	620
Exon-0988	PREDICTED: uncharacterized protein	731
Exon-0989	---NA---	74
Exon-0990	---NA---	72
Exon-0991	---NA---	72
Exon-0992	G-protein coupled receptor 1	170
Exon-0993	DNA topoisomerase 2-binding protein 1	103
Exon-0994	PREDICTED: uncharacterized protein	132
Exon-0995	---NA---	80
Exon-0996	---NA---	75
Exon-0997	thiol protease aleurain	318
Exon-0998	thiol protease aleurain	122
Exon-0999	thiol protease aleurain	116
Exon-1000	---NA---	74
Exon-1001	thiol protease aleurain	265
Exon-1002	thiol protease aleurain	132
Exon-1003	thiol protease aleurain	136
Exon-1004	---NA---	253
Exon-1005	---NA---	93
Exon-1006	---NA---	36
Exon-1007	---NA---	46
Exon-1008	---NA---	44
Exon-1009	---NA---	52
Exon-1010	---NA---	45
Exon-1011	---NA---	59
Exon-1012	protein SRG1	366
Exon-1013	strigolactone esterase D14	635
Exon-1014	---NA---	74
Exon-1015	hypothetical protein EUGRSUZ	570
Exon-1016	---NA---	81
Exon-1017	---NA---	72
Exon-1018	---NA---	36
Exon-1019	TBC1 domain family member 13	105
Exon-1020	---NA---	59
Exon-1021	---NA---	45
Exon-1022	umecyanin	429
Exon-1023	---NA---	60
Exon-1024	---NA---	57
Exon-1025	cytochrome P450	1123
Exon-1026	cytochrome P450	839
Exon-1027	cytochrome P450	953
Exon-1028	cytochrome P450	838
Exon-1029	---NA---	178
Exon-1030	---NA---	54
Exon-1031	---NA---	102
Exon-1032	---NA---	98
Exon-1033	subtilisin-like protease SBT5.3	214
Exon-1034	subtilisin-like protease SBT5.3	645
Exon-1035	subtilisin-like protease SBT5.3 isoform X2	110

Exon-1036	---NA---	98
Exon-1037	subtilisin-like protease SBT5.3	109
Exon-1038	subtilisin-like protease SBT5.3	520
Exon-1039	---NA---	82
Exon-1040	replication protein A 32 kDa subunit A	111
Exon-1041	---NA---	96
Exon-1042	granule-bound starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic-like	168
Exon-1043	granule-bound starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic-like	177
Exon-1044	granule-bound starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic-like	192
Exon-1045	---NA---	87
Exon-1046	granule-bound starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic-like	129
Exon-1047	---NA---	571
Exon-1048	granule-bound starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic-like	384
Exon-1049	---NA---	81
Exon-1050	---NA---	99
Exon-1051	---NA---	90
Exon-1052	---NA---	101
Exon-1053	granule-bound starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic-like	244
Exon-1054	---NA---	38
Exon-1055	probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23	194
Exon-1056	phenylalanine--tRNA ligase, chloroplastic/mitochondrial-like	114
Exon-1057	---NA---	61
Exon-1058	---NA---	55
Exon-1059	---NA---	37
Exon-1060	---NA---	19
Exon-1061	calcium-transporting ATPase 8, plasma membrane-type	117
Exon-1062	PREDICTED: uncharacterized protein	306
Exon-1063	PREDICTED: uncharacterized protein	162
Exon-1064	---NA---	84
Exon-1065	---NA---	45
Exon-1066	---NA---	94
Exon-1067	---NA---	71
Exon-1068	---NA---	96
Exon-1069	---NA---	99
Exon-1070	signal recognition particle receptor subunit alpha	108
Exon-1071	signal recognition particle receptor subunit alpha	120
Exon-1072	---NA---	103
Exon-1073	---NA---	66
Exon-1074	---NA---	66
Exon-1075	---NA---	55
Exon-1076	---NA---	97
Exon-1077	---NA---	446
Exon-1078	plasma membrane ATPase 4-like	174
Exon-1079	---NA---	91
Exon-1080	---NA---	65
Exon-1081	---NA---	83
Exon-1082	---NA---	50
Exon-1083	bark storage protein A	584
Exon-1084	---NA---	21
Exon-1085	---NA---	57
Exon-1086	---NA---	87
Exon-1087	lachrymatory-factor synthase	507

Exon-1088	lachrymatory-factor synthase	905
Exon-1089	---NA---	73
Exon-1090	calcineurin B-like protein 10	178
Exon-1091	---NA---	83
Exon-1092	---NA---	60
Exon-1093	calcineurin B-like protein 10	615
Exon-1094	---NA---	59
Exon-1095	---NA---	76
Exon-1096	---NA---	57
Exon-1097	12-oxophytodienoate reductase 3	131
Exon-1098	12-oxophytodienoate reductase 3	183
Exon-1099	---NA---	51
Exon-1100	---NA---	63
Exon-1101	protein STRICTOSIDINE SYNTHASE-LIKE 4	237
Exon-1102	auxin-binding protein ABP19a	1000
Exon-1103	---NA---	92
Exon-1104	L10-interacting MYB domain-containing protein-like	703
Exon-1105	---NA---	17
Exon-1106	---NA---	15
Exon-1107	---NA---	96
Exon-1108	---NA---	88
Exon-1109	auxin-binding protein ABP19a	572
Exon-1110	auxin-binding protein ABP19a	981
Exon-1111	---NA---	43
Exon-1112	---NA---	72
Exon-1113	lachrymatory-factor synthase	882
Exon-1114	---NA---	65
Exon-1115	aldehyde dehydrogenase family 2 member C4 isoform X2	435
Exon-1116	---NA---	84
Exon-1117	---NA---	239
Exon-1118	secoisolariciresinol dehydrogenase	1027
Exon-1119	hypothetical protein EUGRSUZ, partial	245
Exon-1120	---NA---	94
Exon-1121	---NA---	22
Exon-1122	---NA---	57
Exon-1123	---NA---	76
Exon-1124	---NA---	46
Exon-1125	blue copper protein	369
Exon-1126	umecyanin isoform X1	532
Exon-1127	---NA---	87
Exon-1128	---NA---	41
Exon-1129	---NA---	17
Exon-1130	toll/interleukin-1 receptor-like protein	388
Exon-1131	---NA---	58
Exon-1132	---NA---	36
Exon-1133	protein SRG1	249
Exon-1134	protein SRG1	248
Exon-1135	protein SRG1	816
Exon-1136	transcription repressor OFP8	213
Exon-1137	CBL-interacting serine/threonine-protein kinase 24 isoform X1	126
Exon-1138	---NA---	90
Exon-1139	protein PEROXIN-4-like	120

Exon-1140	ankyrin repeat-containing protein	620
Exon-1141	---NA---	11
Exon-1142	monoterpene synthase-like	249
Exon-1143	---NA---	4
Exon-1144	ankyrin repeat-containing protein ITN1	313
Exon-1145	germin-like protein	407
Exon-1146	aldehyde oxidase GLOX1	805
Exon-1147	(R,S)-reticuline 7-O-methyltransferase	956
Exon-1148	(R,S)-reticuline 7-O-methyltransferase	447
Exon-1149	eukaryotic translation initiation factor 1A-like	624
Exon-1150	bifunctional epoxide hydrolase 2	171
Exon-1151	lanC-like protein GCL2	112
Exon-1152	---NA---	362
Exon-1153	expansin-B3	307
Exon-1154	expansin-B3	740
Exon-1155	---NA---	43
Exon-1156	probable glutathione S-transferase	436
Exon-1157	probable glutathione S-transferase	583
Exon-1158	glutathione transferase GST 23	379
Exon-1159	protein NAP1 isoform X1	126
Exon-1160	hypothetical protein EUGRSUZ	265
Exon-1161	---NA---	329
Exon-1162	---NA---	30
Exon-1163	---NA---	57
Exon-1164	PREDICTED: uncharacterized protein	1086
Exon-1165	hypothetical protein EUGRSUZ	350
Exon-1166	---NA---	66
Exon-1167	---NA---	63
Exon-1168	---NA---	60
Exon-1169	uncharacterized protein ycf23-like	108
Exon-1170	hypothetical protein EUGRSUZ	123
Exon-1171	hypothetical protein EUGRSUZ	294
Exon-1172	DNA replication complex GINS protein SLD5	123
Exon-1173	---NA---	76
Exon-1174	---NA---	15
Exon-1175	subtilisin-like protease SBT5.6	112
Exon-1176	---NA---	6
Exon-1177	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1	114
Exon-1178	E3 ubiquitin-protein ligase BRE1A-like	147
Exon-1179	---NA---	901
Exon-1180	GDSL esterase/lipase	149
Exon-1181	GDSL esterase/lipase	277
Exon-1182	GDSL esterase/lipase	426
Exon-1183	GDSL esterase/lipase	131
Exon-1184	GDSL esterase/lipase	439
Exon-1185	---NA---	96
Exon-1186	abscisic stress-ripening protein 1	365
Exon-1187	protein REVEILLE 6	515
Exon-1188	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase	238
Exon-1189	---NA---	55
Exon-1190	---NA---	51
Exon-1191	---NA---	77

Exon-1192	---NA---	50
Exon-1193	---NA---	367
Exon-1194	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase isoform X2	203
Exon-1195	---NA---	34
Exon-1196	protein PHLOEM PROTEIN 2-LIKE A5	457
Exon-1197	---NA---	67
Exon-1198	---NA---	77
Exon-1199	TATA-binding protein-associated factor BTAF1	120
Exon-1200	premnaspirodiene oxygenase	981
Exon-1201	premnaspirodiene oxygenase	734
Exon-1202	---NA---	95
Exon-1203	---NA---	121
Exon-1204	---NA---	57
Exon-1205	---NA---	45
Exon-1206	L-ascorbate oxidase homolog	360
Exon-1207	L-ascorbate oxidase homolog	110
Exon-1208	L-ascorbate oxidase homolog	271
Exon-1209	L-ascorbate oxidase homolog	346
Exon-1210	L-ascorbate oxidase homolog	366
Exon-1211	---NA---	79
Exon-1212	L-ascorbate oxidase homolog	438
Exon-1213	---NA---	24
Exon-1214	---NA---	63
Exon-1215	---NA---	76
Exon-1216	stress response protein NST1-like	542
Exon-1217	probable inactive serine/threonine-protein kinase fnkC isoform X2	124
Exon-1218	pathogenesis-related protein 1	641
Exon-1219	codeine O-demethylase	299
Exon-1220	codeine O-demethylase	325
Exon-1221	chalcone synthase	226
Exon-1222	predicted protein	740
Exon-1223	---NA---	95
Exon-1224	---NA---	36
Exon-1225	---NA---	30
Exon-1226	---NA---	91
Exon-1227	acetate/butyrate--CoA ligase AAE7, peroxisomal	278
Exon-1228	acetate/butyrate--CoA ligase AAE7, peroxisomal	591
Exon-1229	acetate/butyrate--CoA ligase AAE7, peroxisomal	1128
Exon-1230	reticulon-like protein B1	297
Exon-1231	protodermal factor 1	244
Exon-1232	protodermal factor 1	427
Exon-1233	protodermal factor 1	638
Exon-1234	probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 16	435
Exon-1235	probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 16	194
Exon-1236	probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 16	609
Exon-1237	---NA---	65
Exon-1238	salutaridine reductase	244
Exon-1239	---NA---	66
Exon-1240	---NA---	68
Exon-1241	---NA---	81
Exon-1242	---NA---	68
Exon-1243	---NA---	59

Exon-1244 ---NA---	5
Exon-1245 thylakoid lumenal protein TL20.3, chloroplastic	280
Exon-1246 ---NA---	71
Exon-1247 WAT1-related protein	152
Exon-1248 ---NA---	39
Exon-1249 ---NA---	38
Exon-1250 ---NA---	75
Exon-1251 ent-kaurenoic acid oxidase 2-like	264
Exon-1252 ---NA---	71
Exon-1253 ---NA---	57
Exon-1254 monoterpene synthase-like	262
Exon-1255 monoterpene synthase-like	376
Exon-1256 monoterpene synthase-like	216
Exon-1257 monoterpene synthase-like	139
Exon-1258 monoterpene synthase-like	249
Exon-1259 monoterpene synthase-like	451
Exon-1260 ---NA---	94
Exon-1261 ---NA---	69
Exon-1262 ---NA---	97
Exon-1263 ---NA---	102
Exon-1264 ---NA---	22
Exon-1265 ---NA---	19
Exon-1266 ---NA---	101
Exon-1267 ---NA---	57
Exon-1268 ---NA---	54
Exon-1269 putative lipid-binding protein	578
Exon-1270 ---NA---	72
Exon-1271 ---NA---	96
Exon-1272 ---NA---	89
Exon-1273 ---NA---	83
Exon-1274 anaphase-promoting complex subunit 4-like isoform X5	112
Exon-1275 ---NA---	87
Exon-1276 ---NA---	57
Exon-1277 senescence-specific cysteine protease SAG12	882
Exon-1278 senescence-specific cysteine protease SAG39	578
Exon-1279 nudix hydrolase 15, mitochondrial	355
Exon-1280 nudix hydrolase 15, mitochondrial	120
Exon-1281 alpha-farnesene synthase-like	213
Exon-1282 UDP-glycosyltransferase 13	1341
Exon-1283 glycine-rich cell wall structural protein 1	399
Exon-1284 ---NA---	12
Exon-1285 ---NA---	26
Exon-1286 tubulin beta-1 chain	493
Exon-1287 tubulin beta-1 chain	270
Exon-1288 tubulin beta-1 chain	551
Exon-1289 ATP-dependent helicase BRM	113
Exon-1290 ---NA---	84
Exon-1291 ---NA---	57
Exon-1292 ---NA---	33
Exon-1293 ---NA---	93
Exon-1294 ---NA---	73
Exon-1295 ---NA---	74

Exon-1296	---NA---	84
Exon-1297	isoflavone reductase-like protein isoform X1	386
Exon-1298	---NA---	87
Exon-1299	---NA---	92
Exon-1300	probable polygalacturonase	840
Exon-1301	---NA---	87
Exon-1302	---NA---	150
Exon-1303	---NA---	69
Exon-1304	---NA---	87
Exon-1305	---NA---	29
Exon-1306	---NA---	270
Exon-1307	---NA---	91
Exon-1308	isoflavone reductase-like protein	238
Exon-1309	isoflavone reductase-like protein	245
Exon-1310	NmrA family NAD(P)-binding protein	300
Exon-1311	isoflavone reductase-like protein	135
Exon-1312	isoflavone reductase-like protein	238
Exon-1313	isoflavone reductase-like protein	204
Exon-1314	isoflavone reductase-like protein	480
Exon-1315	---NA---	62
Exon-1316	---NA---	60
Exon-1317	---NA---	62
Exon-1318	---NA---	66
Exon-1319	probable pectinesterase 68	190
Exon-1320	probable pectinesterase 68	239
Exon-1321	36.4 kDa proline-rich protein	1347
Exon-1322	---NA---	79
Exon-1323	monocopper oxidase-like protein SKU5	200
Exon-1324	---NA---	33
Exon-1325	---NA---	39
Exon-1326	Kinesin-like protein KIN-UA	132
Exon-1327	---NA---	33
Exon-1328	---NA---	101
Exon-1329	---NA---	63
Exon-1330	protein HOTHEAD	566
Exon-1331	---NA---	308
Exon-1332	protein P21	969
Exon-1333	---NA---	55
Exon-1334	---NA---	49
Exon-1335	remorin	373
Exon-1336	---NA---	49
Exon-1337	serine carboxypeptidase-like 45	289
Exon-1338	serine carboxypeptidase-like 45	413
Exon-1339	serine carboxypeptidase-like 45	348
Exon-1340	---NA---	99
Exon-1341	serine carboxypeptidase-like 45	121
Exon-1342	---NA---	68
Exon-1343	serine carboxypeptidase-like 45	125
Exon-1344	high mobility group B protein 6	120
Exon-1345	high mobility group B protein 6	168
Exon-1346	---NA---	58
Exon-1347	hypothetical protein EUGRSUZ	208

Exon-1348	---NA---	47
Exon-1349	---NA---	50
Exon-1350	---NA---	99
Exon-1351	---NA---	144
Exon-1352	histone H3-like	560
Exon-1353	---NA---	73
Exon-1354	---NA---	19
Exon-1355	---NA---	157
Exon-1356	---NA---	69
Exon-1357	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: uncharacterized protein	174
Exon-1358	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: uncharacterized protein	146
Exon-1359	---NA---	218
Exon-1360	---NA---	60
Exon-1361	polygalacturonate 4-alpha-galacturonosyltransferase	123
Exon-1362	fasciclin-like arabinogalactan protein 8	1531
Exon-1363	thaumatin-like protein 1	934
Exon-1364	thaumatin-like protein 1	907
Exon-1365	---NA---	89
Exon-1366	---NA---	21
Exon-1367	---NA---	75
Exon-1368	axial regulator YABBY 1	327
Exon-1369	axial regulator YABBY 1	159
Exon-1370	---NA---	49
Exon-1371	---NA---	76
Exon-1372	---NA---	78
Exon-1373	---NA---	479
Exon-1374	---NA---	39
Exon-1375	putative beta-expansin	194
Exon-1376	putative beta-expansin	557
Exon-1377	putative expansin-B2 isoform X2	226
Exon-1378	putative expansin-B2 isoform X2	113
Exon-1379	putative beta-expansin	194
Exon-1380	putative expansin-B2	226
Exon-1381	putative expansin-B2	113
Exon-1382	putative expansin-B2	194
Exon-1383	---NA---	34
Exon-1384	protein GAST1	427
Exon-1385	flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase	533
Exon-1386	flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase	328
Exon-1387	flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase	436
Exon-1388	---NA---	87
Exon-1389	---NA---	85
Exon-1390	---NA---	49
Exon-1391	---NA---	32
Exon-1392	---NA---	44
Exon-1393	---NA---	118
Exon-1394	glucan endo-1,3-beta-glucosidase, basic isoform-like	1085
Exon-1395	---NA---	52
Exon-1396	---NA---	48
Exon-1397	PREDICTED: uncharacterized protein	911
Exon-1398	---NA---	56
Exon-1399	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	560



Exon-1400	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	151
Exon-1401	---NA---	72
Exon-1402	heat stress transcription factor B-3	298
Exon-1403	---NA---	67
Exon-1404	---NA---	47
Exon-1405	---NA---	54
Exon-1406	---NA---	90
Exon-1407	---NA---	70
Exon-1408	GDSL esterase/lipase	149
Exon-1409	GDSL esterase/lipase	277
Exon-1410	GDSL esterase/lipase	584
Exon-1411	---NA---	62
Exon-1412	---NA---	72
Exon-1413	---NA---	78
Exon-1414	GDSL esterase/lipase	441
Exon-1415	GDSL esterase/lipase	125
Exon-1416	GDSL esterase/lipase	246
Exon-1417	GDSL esterase/lipase	256
Exon-1418	GDSL esterase/lipase	565
Exon-1419	codeine O-demethylase	283
Exon-1420	codeine O-demethylase	242
Exon-1421	codeine O-demethylase	325
Exon-1422	codeine O-demethylase	538
Exon-1423	---NA---	386
Exon-1424	---NA---	26
Exon-1425	---NA---	49
Exon-1426	40S ribosomal protein S18	161
Exon-1427	(-)-germacrene D synthase	249
Exon-1428	(-)-germacrene D synthase	536
Exon-1429	---NA---	69
Exon-1430	---NA---	60
Exon-1431	---NA---	72
Exon-1432	---NA---	69
Exon-1433	dormancy-associated protein 1	229
Exon-1434	hypothetical protein EUGRSUZ	246
Exon-1435	---NA---	19
Exon-1436	---NA---	56
Exon-1437	40S ribosomal protein S18	161
Exon-1438	---NA---	70
Exon-1439	---NA---	87
Exon-1440	COP1-interacting protein 7	153
Exon-1441	---NA---	60
Exon-1442	---NA---	515
Exon-1443	---NA---	70
Exon-1444	---NA---	51
Exon-1445	---NA---	66
Exon-1446	---NA---	47
Exon-1447	protein POLYCHOME	760
Exon-1448	farnesyl pyrophosphate synthase 1 isoform X1	117
Exon-1449	---NA---	45
Exon-1450	---NA---	51
Exon-1451	---NA---	35

Exon-1452	caffeic acid 3-O-methyltransferase	491
Exon-1453	caffeic acid 3-O-methyltransferase	314
Exon-1454	---NA---	65
Exon-1455	caffeic acid 3-O-methyltransferase	556
Exon-1456	caffeic acid 3-O-methyltransferase isoform X1	517
Exon-1457	caffeic acid 3-O-methyltransferase isoform X1	314
Exon-1458	---NA---	73
Exon-1459	chaperonin-like RBCX protein 1, chloroplastic isoform X1	222
Exon-1460	---NA---	95
Exon-1461	chaperonin-like RBCX protein 1, chloroplastic	118
Exon-1462	---NA---	17
Exon-1463	---NA---	63
Exon-1464	---NA---	292
Exon-1465	---NA---	42
Exon-1466	---NA---	82
Exon-1467	peroxidase 42	726
Exon-1468	---NA---	34
Exon-1469	---NA---	73
Exon-1470	---NA---	384
Exon-1471	laccase-14	155
Exon-1472	laccase-14	242
Exon-1473	laccase-14	126
Exon-1474	laccase-14	592
Exon-1475	laccase-14	350
Exon-1476	laccase-14	351
Exon-1477	---NA---	40
Exon-1478	---NA---	52
Exon-1479	---NA---	58
Exon-1480	peroxidase A2	166
Exon-1481	---NA---	76
Exon-1482	---NA---	115
Exon-1483	transcription factor MYC2-like	1431
Exon-1484	ankyrin repeat-containing protein	749
Exon-1485	ankyrin repeat-containing protein	960
Exon-1486	anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 7	1392
Exon-1487	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	134
Exon-1488	TMV resistance protein N	204
Exon-1489	UDP-glycosyltransferase 13	1341
Exon-1490	transcription repressor OFP15	1378
Exon-1491	---NA---	67
Exon-1492	---NA---	36
Exon-1493	PREDICTED: uncharacterized protein , partial	117
Exon-1494	secoisolariciresinol dehydrogenase	1023
Exon-1495	(3S,6E)-nerolidol synthase 1	277
Exon-1496	---NA---	45
Exon-1497	cytochrome P450	927
Exon-1498	PREDICTED: uncharacterized protein	381
Exon-1499	hypothetical protein EUGRSUZ	553
Exon-1500	heme-binding-like protein , chloroplastic	263
Exon-1501	LIM domain-containing protein WLIM1	451
Exon-1502	growth-regulating factor 6	759
Exon-1503	growth-regulating factor 6	1105

Exon-1504	---NA---	51
Exon-1505	isoflavone 3'-hydroxylase	1029
Exon-1506	isoflavone 3'-hydroxylase	944
Exon-1507	cyclin-D3-3	752
Exon-1508	cyclin-D3-3	202
Exon-1509	cyclin-D3-3	131
Exon-1510	cyclin-D3-3	341
Exon-1511	---NA---	34
Exon-1512	signal peptidase complex-like protein DTM1	465
Exon-1513	---NA---	35
Exon-1514	protein EXORDIUM	1203
Exon-1515	aspartyl protease AED3	1547
Exon-1516	UDP-glycosyltransferase 88B1	2068
Exon-1517	---NA---	49
Exon-1518	snakin-2	390
Exon-1519	---NA---	39
Exon-1520	---NA---	29
Exon-1521	---NA---	39
Exon-1522	WRKY transcription factor 42	114
Exon-1523	---NA---	56
Exon-1524	---NA---	70
Exon-1525	---NA---	98
Exon-1526	heterodimeric geranylgeranyl pyrophosphate synthase small subunit, chloroplastic	1520
Exon-1527	---NA---	294
Exon-1528	annexin A7	491
Exon-1529	---NA---	93
Exon-1530	---NA---	78
Exon-1531	---NA---	54
Exon-1532	Protein transport protein Sec61 subunit alpha	375
Exon-1533	---NA---	229
Exon-1534	---NA---	100
Exon-1535	cytochrome P450	803
Exon-1536	---NA---	42
Exon-1537	---NA---	54
Exon-1538	---NA---	73
Exon-1539	glutathione S-transferase U25	400
Exon-1540	---NA---	63
Exon-1541	deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase	394
Exon-1542	---NA---	92
Exon-1543	deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase	483
Exon-1544	---NA---	63
Exon-1545	---NA---	68
Exon-1546	tubulin beta-7 chain-like	270
Exon-1547	tubulin beta chain	1001
Exon-1548	---NA---	23
Exon-1549	---NA---	47
Exon-1550	vinorine synthase	651
Exon-1551	vinorine synthase	821
Exon-1552	---NA---	75
Exon-1553	---NA---	54
Exon-1554	---NA---	96
Exon-1555	PREDICTED: uncharacterized protein	368

Exon-1556	---NA---	86
Exon-1557	hypothetical protein EUGRSUZ	648
Exon-1558	---NA---	47
Exon-1559	hypothetical protein EUGRSUZ	220
Exon-1560	GPI-anchored protein LORELEI	442
Exon-1561	---NA---	94
Exon-1562	---NA---	64
Exon-1563	---NA---	75
Exon-1564	---NA---	64
Exon-1565	---NA---	39
Exon-1566	---NA---	51
Exon-1567	---NA---	38
Exon-1568	---NA---	58
Exon-1569	---NA---	49
Exon-1570	AUGMIN subunit 1	133
Exon-1571	---NA---	55
Exon-1572	---NA---	90
Exon-1573	---NA---	323
Exon-1574	---NA---	88
Exon-1575	GPN-loop GTPase 2 isoform X2	104
Exon-1576	---NA---	55
Exon-1577	---NA---	54
Exon-1578	---NA---	55
Exon-1579	---NA---	58
Exon-1580	---NA---	48
Exon-1581	---NA---	94
Exon-1582	---NA---	25
Exon-1583	---NA---	27
Exon-1584	---NA---	69
Exon-1585	---NA---	54
Exon-1586	---NA---	77
Exon-1587	gibberellin-regulated protein 9	417
Exon-1588	---NA---	68
Exon-1589	putative laccase-9	190
Exon-1590	putative laccase-9	129
Exon-1591	putative laccase-9	601
Exon-1592	---NA---	24
Exon-1593	---NA---	35
Exon-1594	pathogen-related protein	431
Exon-1595	---NA---	80
Exon-1596	---NA---	37
Exon-1597	---NA---	88
Exon-1598	---NA---	47
Exon-1599	---NA---	45
Exon-1600	---NA---	75
Exon-1601	tRNA threonylcarbamoyladenosine dehydratase isoform A	135
Exon-1602	---NA---	62
Exon-1603	---NA---	39
Exon-1604	probable sucrose-phosphate synthase 4	132
Exon-1605	---NA---	72
Exon-1606	GDSL esterase/lipase	339
Exon-1607	GDSL esterase/lipase	259

Exon-1608	GDSL esterase/lipase	495
Exon-1609	hypothetical protein EUGRSUZ	527
Exon-1610	---NA---	54
Exon-1611	---NA---	71
Exon-1612	---NA---	72
Exon-1613	---NA---	63
Exon-1614	derlin-1.2	136
Exon-1615	---NA---	64
Exon-1616	ABC transporter G family member 29	210
Exon-1617	histidine-containing phosphotransfer protein 4	131
Exon-1618	GDSL esterase/lipase APG	317
Exon-1619	GDSL esterase/lipase APG	131
Exon-1620	GDSL esterase/lipase APG	234
Exon-1621	GDSL esterase/lipase APG	256
Exon-1622	GDSL esterase/lipase APG	359
Exon-1623	---NA---	63
Exon-1624	---NA---	81
Exon-1625	chaperonin CPN60-like 2, mitochondrial	160
Exon-1626	chaperonin CPN60-like 2, mitochondrial	105
Exon-1627	---NA---	91
Exon-1628	---NA---	76
Exon-1629	---NA---	27
Exon-1630	---NA---	28
Exon-1631	dynein light chain, cytoplasmic	396
Exon-1632	---NA---	52
Exon-1633	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase isoform X1	211
Exon-1634	---NA---	57
Exon-1635	(-)-germacrene D synthase	219
Exon-1636	(-)-germacrene D synthase	289
Exon-1637	(-)-germacrene D synthase	139
Exon-1638	(-)-germacrene D synthase	249
Exon-1639	(-)-germacrene D synthase	458
Exon-1640	---NA---	44
Exon-1641	probable folate-biopterin transporter 4	128
Exon-1642	---NA---	72
Exon-1643	protein ENHANCED DOWNY MILDEW 2	102
Exon-1644	---NA---	97
Exon-1645	---NA---	38
Exon-1646	L-ascorbate oxidase homolog	366
Exon-1647	---NA---	79
Exon-1648	---NA---	80
Exon-1649	---NA---	45
Exon-1650	---NA---	17
Exon-1651	---NA---	68
Exon-1652	probable galactinol--sucrose galactosyltransferase 1	218
Exon-1653	---NA---	91
Exon-1654	---NA---	64
Exon-1655	---NA---	89
Exon-1656	flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase	328
Exon-1657	WAT1-related protein	117
Exon-1658	---NA---	28
Exon-1659	S-norcochlorine synthase 1 isoform X2	443

Exon-1660	S-norcochlorine synthase 1	297
Exon-1661	S-norcochlorine synthase 1	475
Exon-1662	---NA---	94
Exon-1663	---NA---	65
Exon-1664	---NA---	56
Exon-1665	---NA---	64
Exon-1666	---NA---	56
Exon-1667	---NA---	83
Exon-1668	---NA---	46
Exon-1669	---NA---	24
Exon-1670	---NA---	212
Exon-1671	protein SRG1	322
Exon-1672	protein SRG1	248
Exon-1673	protein SRG1	322
Exon-1674	flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase-like	623
Exon-1675	lamin-like protein	363
Exon-1676	lamin-like protein	639
Exon-1677	B-box zinc finger protein 32	1353
Exon-1678	---NA---	72
Exon-1679	---NA---	431
Exon-1680	---NA---	49
Exon-1681	gibberellin-regulated protein 2	438
Exon-1682	laccase-14	126
Exon-1683	peroxidase 12	195
Exon-1684	peroxidase 12	872
Exon-1685	early nodulin-20	116
Exon-1686	exocyst complex component SEC5A	126
Exon-1687	serine decarboxylase	806
Exon-1688	basic blue protein	296
Exon-1689	PREDICTED: uncharacterized protein	606
Exon-1690	PREDICTED: uncharacterized protein	122
Exon-1691	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein	536
Exon-1692	PREDICTED: uncharacterized protein	127
Exon-1693	PREDICTED: uncharacterized protein	152
Exon-1694	PREDICTED: uncharacterized protein	126
Exon-1695	---NA---	72
Exon-1696	---NA---	72
Exon-1697	PREDICTED: uncharacterized protein	155
Exon-1698	---NA---	33
Exon-1699	patatin-like protein 2	300
Exon-1700	isoflavone 3'-hydroxylase	334
Exon-1701	glycine-rich cell wall structural protein 1-like	244
Exon-1702	---NA---	254
Exon-1703	---NA---	72
Exon-1704	---NA---	93
Exon-1705	cytochrome P450	277
Exon-1706	cytochrome P450	364
Exon-1707	cytochrome P450	429
Exon-1708	---NA---	56
Exon-1709	---NA---	50
Exon-1710	---NA---	67
Exon-1711	---NA---	30

Exon-1712	---NA---	50
Exon-1713	protein enabled homolog	468
Exon-1714	---NA---	86
Exon-1715	glycine-rich protein 23-like	486
Exon-1716	---NA---	84
Exon-1717	---NA---	88
Exon-1718	---NA---	54
Exon-1719	beta-bisabolene synthase-like	279
Exon-1720	beta-bisabolene synthase-like	262
Exon-1721	---NA---	51
Exon-1722	---NA---	19
Exon-1723	---NA---	49
Exon-1724	---NA---	37
Exon-1725	---NA---	71
Exon-1726	---NA---	93
Exon-1727	---NA---	58
Exon-1728	---NA---	56
Exon-1729	---NA---	64
Exon-1730	probable WRKY transcription factor 9	114
Exon-1731	beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2	288
Exon-1732	beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2	170
Exon-1733	beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2	351
Exon-1734	beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2	411
Exon-1735	beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2	910
Exon-1736	calmodulin-binding protein 60 D-like	135
Exon-1737	PREDICTED: uncharacterized protein	174
Exon-1738	---NA---	305
Exon-1739	---NA---	81
Exon-1740	---NA---	54
Exon-1741	---NA---	54
Exon-1742	omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase	550
Exon-1743	omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase	1088
Exon-1744	omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase	544
Exon-1745	omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase	1078
Exon-1746	---NA---	55
Exon-1747	serine carboxypeptidase-like 18 isoform X1	119
Exon-1748	---NA---	55
Exon-1749	pathogenesis-related protein 1	690
Exon-1750	pathogenesis-related protein 1	648
Exon-1751	pathogenesis-related protein 1	624
Exon-1752	---NA---	81
Exon-1753	---NA---	70
Exon-1754	hypothetical protein EUGRSUZ	467
Exon-1755	peamaclein	474
Exon-1756	PREDICTED: uncharacterized protein	468
Exon-1757	---NA---	72
Exon-1758	sm-like protein LSM36B isoform X1	149
Exon-1759	sm-like protein LSM36B isoform X1	149
Exon-1760	sm-like protein LSM36B	114
Exon-1761	---NA---	368
Exon-1762	calcium-dependent protein kinase 17	372
Exon-1763	---NA---	30

Exon-1764	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	660
Exon-1765	---NA---	84
Exon-1766	DNA replication licensing factor MCM4	162
Exon-1767	---NA---	403
Exon-1768	endoglucanase 24-like	468
Exon-1769	---NA---	25
Exon-1770	protodermal factor 1	277
Exon-1771	anther-specific proline-rich protein APG isoform X1	478
Exon-1772	anther-specific proline-rich protein APG isoform X1	599
Exon-1773	thaumatin-like protein 1b	340
Exon-1774	thaumatin-like protein 1b	330
Exon-1775	thaumatin-like protein 1b	776
Exon-1776	O-fucosyltransferase 6-like isoform X1	182
Exon-1777	dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	126
Exon-1778	dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	105
Exon-1779	---NA---	66
Exon-1780	---NA---	84
Exon-1781	light-regulated protein	395
Exon-1782	light-regulated protein	159
Exon-1783	---NA---	384
Exon-1784	---NA---	100
Exon-1785	---NA---	50
Exon-1786	probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 28	209
Exon-1787	---NA---	252
Exon-1788	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	660
Exon-1789	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	589
Exon-1790	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	660
Exon-1791	probable S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	643
Exon-1792	cysteine-rich repeat secretory protein 12	120
Exon-1793	---NA---	328
Exon-1794	MLP-like protein 328	248
Exon-1795	---NA---	77
Exon-1796	probable mannitol dehydrogenase	114
Exon-1797	---NA---	60
Exon-1798	---NA---	101
Exon-1799	piriformospora indica-insensitive protein 2	1419
Exon-1800	---NA---	49
Exon-1801	---NA---	89
Exon-1802	putative phospholipid-transporting ATPase 9	126
Exon-1803	---NA---	72
Exon-1804	peroxidase 11	192
Exon-1805	---NA---	93
Exon-1806	---NA---	93
Exon-1807	chaperonin 60 subunit beta 4, chloroplastic	138
Exon-1808	---NA---	96
Exon-1809	ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic isoform X1	235
Exon-1810	---NA---	20
Exon-1811	PLASMODESMATA CALLOSE-BINDING PROTEIN 3	240
Exon-1812	---NA---	72
Exon-1813	---NA---	87
Exon-1814	B3 domain-containing protein -like	495
Exon-1815	probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	244



Exon-1816 ---NA---	32
Exon-1817 PREDICTED: uncharacterized protein	813
Exon-1818 PREDICTED: uncharacterized protein	790
Exon-1819 hypothetical protein EUGRSUZ	813
Exon-1820 ---NA---	50
Exon-1821 ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 12	109
Exon-1822 ---NA---	42
Exon-1823 ---NA---	57
Exon-1824 ---NA---	66
Exon-1825 ---NA---	68
Exon-1826 ---NA---	78
Exon-1827 ---NA---	78
Exon-1828 ---NA---	19
Exon-1829 PREDICTED: uncharacterized protein	1187
Exon-1830 ---NA---	77
Exon-1831 ---NA---	57
Exon-1832 PREDICTED: uncharacterized protein	327
Exon-1833 ---NA---	63
Exon-1834 tropinone reductase homolog -like	217
Exon-1835 ---NA---	87
Exon-1836 ---NA---	57
Exon-1837 ---NA---	63
Exon-1838 ---NA---	61
Exon-1839 ---NA---	64
Exon-1840 peroxidase 2	192
Exon-1841 peroxidase 4-like	166
Exon-1842 peroxidase 4-like	665
Exon-1843 peroxidase 2	439
Exon-1844 peroxidase P7-like	192
Exon-1845 peroxidase P7-like	163
Exon-1846 peroxidase P7-like	565
Exon-1847 ---NA---	35
Exon-1848 aspartyl protease AED3	548
Exon-1849 aspartyl protease AED3	475
Exon-1850 aspartyl protease AED3	689
Exon-1851 ---NA---	99
Exon-1852 annexin D4	173
Exon-1853 annexin D4	219
Exon-1854 ---NA---	72
Exon-1855 annexin D4	436
Exon-1856 ---NA---	93
Exon-1857 cytochrome P450	131
Exon-1858 ---NA---	49
Exon-1859 cinnamoyl-CoA reductase 1	170
Exon-1860 cinnamoyl-CoA reductase 1	318
Exon-1861 hypothetical protein EUGRSUZ	230
Exon-1862 cinnamoyl-CoA reductase 1	170
Exon-1863 cinnamoyl-CoA reductase 1	192
Exon-1864 cinnamoyl-CoA reductase 1	163
Exon-1865 cinnamoyl-CoA reductase 1	187
Exon-1866 cinnamoyl-CoA reductase 1	328
Exon-1867 cinnamoyl-CoA reductase 1	192

Exon-1868	---NA---	50
Exon-1869	---NA---	46
Exon-1870	---NA---	49
Exon-1871	hypersensitive-induced response protein 1	207
Exon-1872	---NA---	60
Exon-1873	---NA---	167
Exon-1874	aspartyl protease family protein	119
Exon-1875	aspartyl protease family protein	901
Exon-1876	---NA---	232
Exon-1877	probable glycosyltransferase	679
Exon-1878	---NA---	92
Exon-1879	probable glycosyltransferase	352
Exon-1880	probable glycosyltransferase	994
Exon-1881	---NA---	65
Exon-1882	---NA---	53
Exon-1883	---NA---	19
Exon-1884	---NA---	57
Exon-1885	---NA---	81
Exon-1886	crocetin glucosyltransferase, chloroplastic	1636
Exon-1887	probable pectate lyase 8	139
Exon-1888	---NA---	10
Exon-1889	---NA---	72
Exon-1890	---NA---	28
Exon-1891	glutathione transferase GST 23	443
Exon-1892	protein SIEVE ELEMENT OCCLUSION B	344
Exon-1893	protein SIEVE ELEMENT OCCLUSION B	440
Exon-1894	protein SIEVE ELEMENT OCCLUSION B	474
Exon-1895	protein SIEVE ELEMENT OCCLUSION B	828
Exon-1896	photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 5, chloroplastic	263
Exon-1897	polygalacturonase	229
Exon-1898	---NA---	58
Exon-1899	hypothetical protein EUGRSUZ	108
Exon-1900	caffeic acid 3-O-methyltransferase	463
Exon-1901	caffeic acid 3-O-methyltransferase	314
Exon-1902	---NA---	65
Exon-1903	anthranilate N-methyltransferase-like	440
Exon-1904	---NA---	68
Exon-1905	---NA---	61
Exon-1906	CMP-sialic acid transporter 3	120
Exon-1907	---NA---	52
Exon-1908	probable aldo-keto reductase 2	533
Exon-1909	---NA---	5
Exon-1910	crocetin glucosyltransferase, chloroplastic	1464
Exon-1911	---NA---	31
Exon-1912	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: uncharacterized protein	121
Exon-1913	zinc-finger homeodomain protein 9	915
Exon-1914	methylecgonone reductase	180
Exon-1915	methylecgonone reductase	244
Exon-1916	methylecgonone reductase	385
Exon-1917	probable cyclic nucleotide-gated ion channel 20, chloroplastic	163
Exon-1918	probable cyclic nucleotide-gated ion channel 20, chloroplastic	252
Exon-1919	---NA---	87

Exon-1920	---NA---	55
Exon-1921	---NA---	15
Exon-1922	PREDICTED: uncharacterized protein	473
Exon-1923	---NA---	48
Exon-1924	---NA---	64
Exon-1925	GDSL esterase/lipase	339
Exon-1926	GDSL esterase/lipase	128
Exon-1927	GDSL esterase/lipase	243
Exon-1928	GDSL esterase/lipase	256
Exon-1929	GDSL esterase/lipase	530
Exon-1930	---NA---	101
Exon-1931	---NA---	35
Exon-1932	prostaglandin E synthase 2	415
Exon-1933	proline-rich receptor-like protein kinase PERK9	1600
Exon-1934	DNA replication licensing factor MCM7	192
Exon-1935	major allergen Pru ar 1	429
Exon-1936	---NA---	63
Exon-1937	putative cell wall protein	333
Exon-1938	endoglucanase 17	671
Exon-1939	---NA---	93
Exon-1940	---NA---	34
Exon-1941	21 kDa protein	1361
Exon-1942	---NA---	79
Exon-1943	---NA---	78
Exon-1944	---NA---	62
Exon-1945	---NA---	66
Exon-1946	serine carboxypeptidase 1	122
Exon-1947	serine carboxypeptidase 1	149
Exon-1948	---NA---	77
Exon-1949	serine carboxypeptidase-like 20	123
Exon-1950	serine carboxypeptidase 1	103
Exon-1951	---NA---	38
Exon-1952	serine carboxypeptidase 1	102
Exon-1953	---NA---	81
Exon-1954	serine carboxypeptidase 1	234
Exon-1955	---NA---	27
Exon-1956	---NA---	15
Exon-1957	---NA---	43
Exon-1958	---NA---	17
Exon-1959	---NA---	66
Exon-1960	---NA---	46
Exon-1961	---NA---	63
Exon-1962	---NA---	32
Exon-1963	---NA---	43
Exon-1964	disease resistance-like protein CSA1	129
Exon-1965	CBS domain-containing protein CBSX1, chloroplastic	408
Exon-1966	---NA---	57
Exon-1967	probable esterase PIR7A	512
Exon-1968	probable esterase PIR7A	132
Exon-1969	peroxidase 10-like	636
Exon-1970	protein RALF-like 34	820
Exon-1971	---NA---	19

Exon-1972	ABC transporter C family member 10	240
Exon-1973	---NA---	355
Exon-1974	ABC transporter C family member 10	165
Exon-1975	ABC transporter C family member 10	295
Exon-1976	ABC transporter C family member 10	215
Exon-1977	alcohol-forming fatty acyl-CoA reductase	325
Exon-1978	---NA---	11
Exon-1979	caffeic acid 3-O-methyltransferase	443
Exon-1980	TMV resistance protein N-like	521
Exon-1981	TMV resistance protein N-like	1051
Exon-1982	hypothetical protein EUGRSUZ	231
Exon-1983	---NA---	93
Exon-1984	---NA---	5
Exon-1985	pleiotropic drug resistance protein 1	161
Exon-1986	ABC transporter G family member 40	291
Exon-1987	ABC transporter G family member 40 isoform X1	134
Exon-1988	---NA---	94
Exon-1989	protein SIEVE ELEMENT OCCLUSION B	455
Exon-1990	---NA---	4
Exon-1991	protein SIEVE ELEMENT OCCLUSION B	134
Exon-1992	---NA---	87
Exon-1993	---NA---	88
Exon-1994	---NA---	27
Exon-1995	---NA---	72
Exon-1996	probable aldo-keto reductase 2	488
Exon-1997	---NA---	75
Exon-1998	PREDICTED: uncharacterized protein	473
Exon-1999	---NA---	35
Exon-2000	F-box protein PP2-B11-like	119
Exon-2001	---NA---	6
Exon-2002	---NA---	15
Exon-2003	---NA---	28
Exon-2004	---NA---	51
Exon-2005	cell cycle checkpoint control protein RAD9A	147
Exon-2006	---NA---	75
Exon-2007	---NA---	52
Exon-2008	---NA---	89
Exon-2009	PREDICTED: uncharacterized protein isoform X1	362
Exon-2010	hypothetical protein EUGRSUZ	455
Exon-2011	---NA---	13
Exon-2012	---NA---	82
Exon-2013	---NA---	62
Exon-2014	---NA---	77
Exon-2015	---NA---	65
Exon-2016	---NA---	59
Exon-2017	---NA---	35
Exon-2018	kelch domain-containing protein 4	162
Exon-2019	---NA---	8
Exon-2020	nuclear transport factor 2-like isoform X3	435
Exon-2021	cytochrome P450 isoform X2	277
Exon-2022	---NA---	63
Exon-2023	---NA---	54

Exon-2024	---NA---	56
Exon-2025	fasciclin-like arabinogalactan protein 8	353
Exon-2026	---NA---	56
Exon-2027	NADPH-dependent 1-acyldihydroxyacetone phosphate reductase	286
Exon-2028	---NA---	17
Exon-2029	---NA---	33
Exon-2030	---NA---	31
Exon-2031	PREDICTED: uncharacterized protein	250
Exon-2032	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein 27C	128
Exon-2033	plastid division protein PDV2	124
Exon-2034	---NA---	38
Exon-2035	---NA---	66
Exon-2036	---NA---	8
Exon-2037	---NA---	48
Exon-2038	---NA---	34
Exon-2039	caffeic acid 3-O-methyltransferase	530
Exon-2040	---NA---	18
Exon-2041	---NA---	38
Exon-2042	PREDICTED: uncharacterized protein isoform X2	258
Exon-2043	---NA---	18
Exon-2044	---NA---	96
Exon-2045	---NA---	168
Exon-2046	---NA---	65
Exon-2047	---NA---	77
Exon-2048	beta-galactosidase 10-like	162
Exon-2049	---NA---	46
Exon-2050	---NA---	69
Exon-2051	---NA---	3
Exon-2052	---NA---	4
Exon-2053	YKR070W	205
Exon-2054	---NA---	74
Exon-2055	---NA---	68
Exon-2056	PREDICTED: uncharacterized protein	178
Exon-2057	aldehyde dehydrogenase family 3 member F1	365
Exon-2058	putative leucine-rich repeat receptor-like protein kinase	190
Exon-2059	---NA---	12
Exon-2060	---NA---	83
Exon-2061	putative leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	535
Exon-2062	putative leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	476
Exon-2063	putative leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	136
Exon-2064	putative leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	161
Exon-2065	---NA---	66
Exon-2066	calcium-transporting ATPase 9, plasma membrane-type	111
Exon-2067	---NA---	90
Exon-2068	---NA---	48
Exon-2069	---NA---	66
Exon-2070	---NA---	60
Exon-2071	---NA---	72
Exon-2072	---NA---	93
Exon-2073	---NA---	72
Exon-2074	---NA---	49
Exon-2075	---NA---	8

Exon-2076	---NA---	27
Exon-2077	---NA---	87
Exon-2078	protein EARLY FLOWERING 4	533
Exon-2079	protein EARLY FLOWERING 4	783
Exon-2080	---NA---	12
Exon-2081	bifunctional protein FoLD 2	320
Exon-2082	bifunctional protein FoLD 2	237
Exon-2083	bifunctional protein FoLD 2	210
Exon-2084	bifunctional protein FoLD 2	492
Exon-2085	lysosomal Pro-X carboxypeptidase isoform X1	257
Exon-2086	lysosomal Pro-X carboxypeptidase isoform X1	373
Exon-2087	---NA---	11
Exon-2088	---NA---	19
Exon-2089	---NA---	69
Exon-2090	---NA---	92
Exon-2091	---NA---	79
Exon-2092	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	125
Exon-2093	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	262
Exon-2094	---NA---	97
Exon-2095	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	150
Exon-2096	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	141
Exon-2097	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	105
Exon-2098	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	401
Exon-2099	---NA---	67
Exon-2100	protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3-like	103
Exon-2101	---NA---	48
Exon-2102	---NA---	63
Exon-2103	---NA---	84
Exon-2104	---NA---	29
Exon-2105	uncharacterized protein	807
Exon-2106	---NA---	94
Exon-2107	probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase isoform X1	198
Exon-2108	---NA---	101
Exon-2109	---NA---	37
Exon-2110	PREDICTED: uncharacterized protein	109
Exon-2111	---NA---	19
Exon-2112	---NA---	77
Exon-2113	---NA---	72
Exon-2114	---NA---	57
Exon-2115	---NA---	62
Exon-2116	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	374
Exon-2117	---NA---	38
Exon-2118	probable glutathione S-transferase	319
Exon-2119	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	196
Exon-2120	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	238
Exon-2121	---NA---	72
Exon-2122	auxin-induced in root cultures protein 12-like	849
Exon-2123	---NA---	55
Exon-2124	---NA---	48
Exon-2125	rust resistance kinase Lr10	353
Exon-2126	---NA---	51
Exon-2127	---NA---	71

Exon-2128	---NA---	72
Exon-2129	---NA---	12
Exon-2130	isoprene synthase, chloroplastic	281
Exon-2131	isoprene synthase, chloroplastic	265
Exon-2132	isoprene synthase, chloroplastic	373
Exon-2133	isoprene synthase, chloroplastic	219
Exon-2134	isoprene synthase, chloroplastic-like	139
Exon-2135	isoprene synthase, chloroplastic	528
Exon-2136	isoprene synthase, chloroplastic-like	219
Exon-2137	isoprene synthase, chloroplastic-like	139
Exon-2138	eugenol synthase 1-like	235
Exon-2139	eugenol synthase 1-like	135
Exon-2140	eugenol synthase 1-like	419
Exon-2141	---NA---	4
Exon-2142	MDIS1-interacting receptor like kinase 2	533
Exon-2143	photosystem I reaction center subunit XI, chloroplastic	331
Exon-2144	CDPK-related kinase 1	135
Exon-2145	---NA---	66
Exon-2146	---NA---	70
Exon-2147	---NA---	67
Exon-2148	---NA---	15
Exon-2149	---NA---	21
Exon-2150	---NA---	71
Exon-2151	---NA---	84
Exon-2152	---NA---	508
Exon-2153	calcium-transporting ATPase 9, plasma membrane-type	165
Exon-2154	calcium-transporting ATPase 9, plasma membrane-type isoform X1	117
Exon-2155	---NA---	100
Exon-2156	---NA---	88
Exon-2157	hypothetical protein EUGRSUZ	241
Exon-2158	---NA---	13
Exon-2159	anthranilate N-methyltransferase-like	440
Exon-2160	putative protease Do-like 14	121
Exon-2161	putative protease Do-like 14	294
Exon-2162	putative protease Do-like 14	187
Exon-2163	---NA---	159
Exon-2164	putative protease Do-like 14	149
Exon-2165	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase LECRK3	301
Exon-2166	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	162
Exon-2167	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	151
Exon-2168	---NA---	96
Exon-2169	probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	582
Exon-2170	---NA---	102
Exon-2171	---NA---	64
Exon-2172	probable E3 ubiquitin-protein ligase ARI7	109
Exon-2173	N-alpha-acetyltransferase 15, NatA auxiliary subunit	132
Exon-2174	---NA---	98
Exon-2175	---NA---	59
Exon-2176	---NA---	17
Exon-2177	putative cysteine-rich receptor-like protein kinase 30	995
Exon-2178	putative receptor-like protein kinase isoform X1	173
Exon-2179	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	230

Exon-2180	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	238
Exon-2181	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	558
Exon-2182	---NA---	452
Exon-2183	calmodulin-binding protein 60 D-like	135
Exon-2184	---NA---	69
Exon-2185	lysine histidine transporter 1	422
Exon-2186	---NA---	75
Exon-2187	PREDICTED: uncharacterized protein	156
Exon-2188	thaumatin-like protein 1	526
Exon-2189	PREDICTED: uncharacterized protein isoform X1	323
Exon-2190	ankyrin repeat-containing protein ITN1-like	1003
Exon-2191	cullin-1-like	162
Exon-2192	cullin-1-like	144
Exon-2193	cullin-1-like	219
Exon-2194	cullin-1-like	168
Exon-2195	---NA---	412
Exon-2196	---NA---	90
Exon-2197	---NA---	23
Exon-2198	(-)-germacrene D synthase-like	429
Exon-2199	---NA---	54
Exon-2200	4-coumarate--CoA ligase-like 7	103
Exon-2201	(-)-germacrene D synthase-like	373
Exon-2202	(-)-germacrene D synthase-like	513
Exon-2203	---NA---	15
Exon-2204	---NA---	73
Exon-2205	PREDICTED: uncharacterized protein , partial	365
Exon-2206	---NA---	24
Exon-2207	---NA---	5
Exon-2208	---NA---	19
Exon-2209	---NA---	43
Exon-2210	---NA---	66
Exon-2211	---NA---	46
Exon-2212	---NA---	41
Exon-2213	---NA---	45
Exon-2214	---NA---	8
Exon-2215	---NA---	75
Exon-2216	---NA---	84
Exon-2217	early light-induced protein 1, chloroplastic isoform X2	287
Exon-2218	---NA---	28
Exon-2219	---NA---	50
Exon-2220	protein PLASTID REDOX INSENSITIVE 2, chloroplastic	367
Exon-2221	---NA---	96
Exon-2222	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 1-like	388
Exon-2223	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	516
Exon-2224	---NA---	53
Exon-2225	---NA---	20
Exon-2226	---NA---	19
Exon-2227	protein NRT1/ PTR FAMILY 7.1	560
Exon-2228	protein NRT1/ PTR FAMILY 7.1	1043
Exon-2229	---NA---	48
Exon-2230	4-coumarate--CoA ligase-like 7	146
Exon-2231	isoflavone reductase homolog	339



Exon-2232	---NA---	34
Exon-2233	---NA---	22
Exon-2234	---NA---	14
Exon-2235	---NA---	109
Exon-2236	---NA---	70
Exon-2237	---NA---	76
Exon-2238	thiol protease aleurain	138
Exon-2239	---NA---	5
Exon-2240	TMV resistance protein N	137
Exon-2241	TMV resistance protein N-like	140
Exon-2242	---NA---	27
Exon-2243	---NA---	74
Exon-2244	---NA---	337
Exon-2245	glutamate receptor 2.1	577
Exon-2246	glutamate receptor 2.7	340
Exon-2247	glutamate receptor 2.1	161
Exon-2248	---NA---	40
Exon-2249	---NA---	38
Exon-2250	---NA---	66
Exon-2251	---NA---	105
Exon-2252	---NA---	21
Exon-2253	MLO-like protein 15	201
Exon-2254	---NA---	64
Exon-2255	---NA---	88
Exon-2256	---NA---	50
Exon-2257	---NA---	67
Exon-2258	---NA---	57
Exon-2259	---NA---	75
Exon-2260	---NA---	34
Exon-2261	fe-S cluster assembly factor HCF101, chloroplastic isoform X2	143
Exon-2262	---NA---	74
Exon-2263	36.4 kDa proline-rich protein	882
Exon-2264	---NA---	36
Exon-2265	---NA---	73
Exon-2266	---NA---	61
Exon-2267	---NA---	89
Exon-2268	---NA---	99
Exon-2269	---NA---	52
Exon-2270	PREDICTED: uncharacterized protein	222
Exon-2271	glutamate receptor 2.7	1340
Exon-2272	glutamate receptor 2.7	313
Exon-2273	glutamate receptor 2.7	522
Exon-2274	glutamate receptor 2.7	579
Exon-2275	glutamate receptor 2.7	495
Exon-2276	glutamate receptor 2.1	577
Exon-2277	glutamate receptor 2.1	285
Exon-2278	---NA---	57
Exon-2279	---NA---	19
Exon-2280	---NA---	55
Exon-2281	TMV resistance protein N-like isoform X3	353
Exon-2282	---NA---	72
Exon-2283	---NA---	72

Exon-2284	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump 1	578
Exon-2285	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump 1	380
Exon-2286	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump 1	286
Exon-2287	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump 1	387
Exon-2288	---NA---	60
Exon-2289	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump 1	410
Exon-2290	auxin-binding protein ABP19a	658
Exon-2291	---NA---	33
Exon-2292	ankyrin repeat-containing protein ITN1	641
Exon-2293	---NA---	99
Exon-2294	---NA---	50
Exon-2295	---NA---	74
Exon-2296	proline-rich receptor-like protein kinase PERK3	148
Exon-2297	proline-rich receptor-like protein kinase PERK3	162
Exon-2298	proline-rich receptor-like protein kinase PERK3	523
Exon-2299	---NA---	94
Exon-2300	probable sulfate transporter 3.5	199
Exon-2301	---NA---	83
Exon-2302	probable 3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 3	102
Exon-2303	---NA---	42
Exon-2304	---NA---	107
Exon-2305	histone H3.2	651
Exon-2306	---NA---	65
Exon-2307	alpha-farnesene synthase	219
Exon-2308	---NA---	69
Exon-2309	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase RKS1 isoform X2	149
Exon-2310	ankyrin repeat-containing protein isoform X1	891
Exon-2311	---NA---	85
Exon-2312	---NA---	10
Exon-2313	probable prefoldin subunit 3	102
Exon-2314	---NA---	51
Exon-2315	leucine-rich repeat protein soc-2 homolog	120
Exon-2316	thaumatin-like protein	932
Exon-2317	(+)-neomenthol dehydrogenase-like	250
Exon-2318	---NA---	69
Exon-2319	(+)-neomenthol dehydrogenase-like	673
Exon-2320	U-box domain-containing protein 33 isoform X3	105
Exon-2321	---NA---	64
Exon-2322	---NA---	28
Exon-2323	---NA---	43
Exon-2324	probable terpene synthase 2	141
Exon-2325	---NA---	24
Exon-2326	---NA---	99
Exon-2327	protein ECERIFERUM 1	261
Exon-2328	protein ACCELERATED CELL DEATH 6-like	684
Exon-2329	---NA---	383
Exon-2330	---NA---	85
Exon-2331	thaumatin-like protein	828
Exon-2332	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-1	107
Exon-2333	---NA---	81
Exon-2334	---NA---	51
Exon-2335	---NA---	4

Exon-2336	TMV resistance protein N-like isoform X1	1117
Exon-2337	beta-bisabolene synthase-like	376
Exon-2338	TMV resistance protein N-like	122
Exon-2339	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	209
Exon-2340	---NA---	90
Exon-2341	---NA---	86
Exon-2342	---NA---	69
Exon-2343	---NA---	19
Exon-2344	putative cysteine-rich receptor-like protein kinase 35	222
Exon-2345	---NA---	4
Exon-2346	---NA---	36
Exon-2347	---NA---	65
Exon-2348	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase	208
Exon-2349	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase isoform X1	151
Exon-2350	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10 isoform X2	122
Exon-2351	PREDICTED: uncharacterized protein	351
Exon-2352	probable prefoldin subunit 3	269
Exon-2353	---NA---	58
Exon-2354	probable prefoldin subunit 3	102
Exon-2355	---NA---	2
Exon-2356	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1	114
Exon-2357	PREDICTED: uncharacterized protein	272
Exon-2358	---NA---	24
Exon-2359	---NA---	138
Exon-2360	---NA---	27
Exon-2361	receptor-like protein 12	1125
Exon-2362	receptor-like protein 12	1946
Exon-2363	---NA---	28
Exon-2364	---NA---	79
Exon-2365	pentatricopeptide repeat-containing protein , mitochondrial-like	340
Exon-2366	---NA---	85
Exon-2367	cellulose synthase A catalytic subunit 4 [UDP-forming]-like	182
Exon-2368	---NA---	17
Exon-2369	---NA---	94
Exon-2370	---NA---	101
Exon-2371	ankyrin repeat-containing protein NPR4	744
Exon-2372	---NA---	81
Exon-2373	---NA---	76
Exon-2374	anaphase-promoting complex subunit 4-like	521
Exon-2375	protein enabled homolog	278
Exon-2376	---NA---	19
Exon-2377	---NA---	26
Exon-2378	---NA---	68
Exon-2379	---NA---	17
Exon-2380	geraniol 8-hydroxylase	729
Exon-2381	---NA---	71
Exon-2382	---NA---	83
Exon-2383	isoflavone reductase-like protein	284
Exon-2384	---NA---	19
Exon-2385	flavone 3'-O-methyltransferase 1 isoform X2	446
Exon-2386	PREDICTED: uncharacterized protein	112
Exon-2387	(-)-germacrene D synthase-like	206

Exon-2388 (-)-germacrene D synthase-like	277
Exon-2389 (-)-germacrene D synthase-like	219
Exon-2390 (-)-germacrene D synthase-like	139
Exon-2391 (-)-germacrene D synthase-like	249
Exon-2392 (-)-germacrene D synthase-like	350
Exon-2393 ---NA---	66
Exon-2394 probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	151
Exon-2395 probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	308
Exon-2396 ---NA---	67
Exon-2397 MDIS1-interacting receptor like kinase 2	386
Exon-2398 annexin D1	192
Exon-2399 annexin D1	571
Exon-2400 probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	135
Exon-2401 beta-amyrin synthase	178
Exon-2402 ---NA---	166
Exon-2403 PREDICTED: uncharacterized protein	431
Exon-2404 ---NA---	72
Exon-2405 ---NA---	62
Exon-2406 tryptophan aminotransferase-related protein 4	295
Exon-2407 ---NA---	91
Exon-2408 ---NA---	72
Exon-2409 PREDICTED: uncharacterized protein isoform X4	298
Exon-2410 isoflavone 3'-hydroxylase	629
Exon-2411 isoflavone 3'-hydroxylase	945
Exon-2412 peamaclein-like	496
Exon-2413 ---NA---	17
Exon-2414 ---NA---	95
Exon-2415 G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase	135
Exon-2416 ---NA---	36
Exon-2417 expansin-A8-like	274
Exon-2418 ---NA---	68
Exon-2419 ---NA---	153
Exon-2420 ---NA---	23
Exon-2421 ---NA---	30
Exon-2422 omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase-like	728
Exon-2423 serine carboxypeptidase-like 20	114
Exon-2424 2-carboxy-1,4-naphthoquinone phytyltransferase, chloroplastic-like	107
Exon-2425 ---NA---	69
Exon-2426 ---NA---	45
Exon-2427 ---NA---	78
Exon-2428 ---NA---	81
Exon-2429 ---NA---	97
Exon-2430 protein EXORDIUM-like 5	346
Exon-2431 protein EXORDIUM-like 5	786
Exon-2432 ---NA---	24
Exon-2433 ---NA---	15
Exon-2434 pentatricopeptide repeat-containing protein , mitochondrial-like	184
Exon-2435 E3 ubiquitin-protein ligase KEG	158
Exon-2436 40S ribosomal protein S6-2-like	112
Exon-2437 disease resistance protein -like	126
Exon-2438 ---NA---	53
Exon-2439 cinnamoyl-CoA reductase 1-like isoform X3	111

Exon-2440	---NA---	19
Exon-2441	serine carboxypeptidase-like 13	102
Exon-2442	---NA---	18
Exon-2443	---NA---	33
Exon-2444	---NA---	85
Exon-2445	geranylgeranyl transferase type-2 subunit beta 1-like	150
Exon-2446	---NA---	88
Exon-2447	---NA---	100
Exon-2448	---NA---	96
Exon-2449	---NA---	97
Exon-2450	---NA---	56
Exon-2451	---NA---	580
Exon-2452	probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase	165
Exon-2453	---NA---	5
Exon-2454	putative lipid-transfer protein DIR1	764
Exon-2455	---NA---	263
Exon-2456	hypothetical protein EUGRSUZ	820
Exon-2457	phytosulfokines-like	158
Exon-2458	phytosulfokines 3-like	452
Exon-2459	---NA---	17
Exon-2460	PREDICTED: uncharacterized protein	501
Exon-2461	hypothetical protein EUGRSUZ	259
Exon-2462	---NA---	12
Exon-2463	---NA---	36
Exon-2464	---NA---	45
Exon-2465	---NA---	11
Exon-2466	---NA---	41
Exon-2467	---NA---	301
Exon-2468	---NA---	12
Exon-2469	---NA---	50
Exon-2470	---NA---	56
Exon-2471	---NA---	465
Exon-2472	---NA---	55
Exon-2473	---NA---	22
Exon-2474	---NA---	59
Exon-2475	---NA---	19
Exon-2476	---NA---	3
Exon-2477	---NA---	11
Exon-2478	---NA---	4
Exon-2479	---NA---	8
Exon-2480	---NA---	52
Exon-2481	---NA---	3
Exon-2482	---NA---	4
Exon-2483	glutamyl-tRNA reductase 1, chloroplastic-like	245
Exon-2484	---NA---	93
Exon-2485	PREDICTED: uncharacterized protein isoform X2	173
Exon-2486	---NA---	5
Exon-2487	---NA---	12
Exon-2488	---NA---	40
Exon-2489	hypothetical protein EUGRSUZ	265
Exon-2490	---NA---	6
Exon-2491	---NA---	163

Exon-2492	---NA---	122
Exon-2493	serine/threonine-protein kinase EDR1-like isoform X2	132
Exon-2494	PREDICTED: uncharacterized protein	147
Exon-2495	---NA---	113
Exon-2496	---NA---	19
Exon-2497	probable pathogenesis-related protein isoform X2	488
Exon-2498	---NA---	42
Exon-2499	---NA---	409
Exon-2500	---NA---	65
Exon-2501	Cullin-2 -like protein	321
Exon-2502	---NA---	55
Exon-2503	---NA---	31
Exon-2504	---NA---	46
Exon-2505	---NA---	121
Exon-2506	PREDICTED: uncharacterized protein	179
Exon-2507	---NA---	3
Exon-2508	---NA---	15
Exon-2509	stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1	366
Exon-2510	---NA---	51
Exon-2511	---NA---	196
Exon-2512	isoflavone reductase-like protein	387
Exon-2513	---NA---	76
Exon-2514	---NA---	70
Exon-2515	---NA---	23
Exon-2516	---NA---	22
Exon-2517	---NA---	13
Exon-2518	isoflavone reductase-like protein	362
Exon-2519	---NA---	12
Exon-2520	---NA---	36
Exon-2521	---NA---	91
Exon-2522	---NA---	456
Exon-2523	---NA---	4
Exon-2524	---NA---	10
Exon-2525	---NA---	13
Exon-2526	---NA---	55
Exon-2527	---NA---	72
Exon-2528	---NA---	10
Exon-2529	---NA---	71
Exon-2530	---NA---	7
Exon-2531	---NA---	508
Exon-2532	PREDICTED: uncharacterized protein isoform X1	278
Exon-2533	---NA---	42
Exon-2534	---NA---	18
Exon-2535	---NA---	3
Exon-2536	---NA---	7
Exon-2537	---NA---	74
Exon-2538	---NA---	11
Exon-2539	---NA---	45
Exon-2540	---NA---	11
Exon-2541	---NA---	38
Exon-2542	---NA---	35
Exon-2543	---NA---	13

Exon-2544	---NA---	11
Exon-2545	---NA---	6
Exon-2546	---NA---	89
Exon-2547	---NA---	80
Exon-2548	---NA---	12
Exon-2549	---NA---	15
Exon-2550	---NA---	336
Exon-2551	---NA---	87
Exon-2552	---NA---	14
Exon-2553	hypothetical protein EUGRSUZ	217
Exon-2554	probable prefoldin subunit 3 isoform X2	120
Exon-2555	---NA---	58
Exon-2556	---NA---	83
Exon-2557	---NA---	292
Exon-2558	---NA---	56
Exon-2559	---NA---	67
Exon-2560	PREDICTED: uncharacterized protein	212
Exon-2561	---NA---	20
Exon-2562	---NA---	101
Exon-2563	cell cycle checkpoint protein RAD17 isoform X2	312
Exon-2564	---NA---	102
Exon-2565	---NA---	69
Exon-2566	hypothetical protein EUGRSUZ	354
Exon-2567	---NA---	187
Exon-2568	PREDICTED: uncharacterized protein	286
Exon-2569	---NA---	11
Exon-2570	hypothetical protein EUGRSUZ	756
Exon-2571	Dephospho-CoA kinase	648
Exon-2572	---NA---	89
Exon-2573	phytosulfokine receptor 1-like	275
Exon-2574	---NA---	11
Exon-2575	hypothetical protein EUGRSUZ	439
Exon-2576	---NA---	19
Exon-2577	probable amino-acid acetyltransferase NAGS1, chloroplastic isoform X1	206
Exon-2578	---NA---	6
Exon-2579	---NA---	96
Exon-2580	---NA---	16
Exon-2581	---NA---	82
Exon-2582	---NA---	35
Exon-2583	---NA---	60
Exon-2584	---NA---	84
Exon-2585	---NA---	2
Exon-2586	---NA---	18
Exon-2587	---NA---	10
Exon-2588	---NA---	49
Exon-2589	hypothetical protein EUGRSUZ	269
Exon-2590	---NA---	14
Exon-2591	---NA---	4
Exon-2592	---NA---	188
Exon-2593	---NA---	5
Exon-2594	---NA---	142
Exon-2595	---NA---	22

Exon-2596 ---NA---	22
Exon-2597 ---NA---	4
Exon-2598 ---NA---	82
Exon-2599 ---NA---	37
Exon-2600 ---NA---	15
Exon-2601 ---NA---	141
Exon-2602 ---NA---	132
Exon-2603 ---NA---	64
Exon-2604 ---NA---	14
Exon-2605 ---NA---	44
Exon-2606 ---NA---	71
Exon-2607 ---NA---	402
Exon-2608 ---NA---	428
Exon-2609 ---NA---	13
Exon-2610 hypothetical protein EUGRSUZ, partial	150
Exon-2611 ---NA---	122
Exon-2612 ---NA---	191
Exon-2613 ---NA---	331
Exon-2614 ---NA---	93
Exon-2615 ---NA---	491
Exon-2616 ---NA---	165
Exon-2617 ---NA---	42
Exon-2618 ---NA---	146
Exon-2619 ---NA---	222
Exon-2620 ---NA---	42
Exon-2621 endo-1,3;1,4-beta-D-glucanase	246
Exon-2622 stress-response A/B barrel domain-containing protein HS1-like isoform X1	316
Exon-2623 ---NA---	78
Exon-2624 ---NA---	45
Exon-2625 ---NA---	22
Exon-2626 ---NA---	495
Exon-2627 ---NA---	245
Exon-2628 ---NA---	77
Exon-2629 ---NA---	81
Exon-2630 thionin-like protein 2	338
Exon-2631 ---NA---	337
Exon-2632 ---NA---	94
Exon-2633 ---NA---	349
Exon-2634 ---NA---	47
Exon-2635 anaphase-promoting complex subunit 4-like	116
Exon-2636 anaphase-promoting complex subunit 4-like	307
Exon-2637 hypothetical protein EUGRSUZ	409
Exon-2638 uncharacterized protein	151
Exon-2639 PREDICTED: uncharacterized protein	137
Exon-2640 ---NA---	497
Exon-2641 hypothetical protein EUGRSUZ	365
Exon-2642 ---NA---	306
Exon-2643 ---NA---	42
Exon-2644 hypothetical protein EUGRSUZ	461
Exon-2645 ---NA---	236
Exon-2646 ---NA---	331
Exon-2647 ---NA---	374



Exon-2648	hypothetical protein EUGRSUZ	155
Exon-2649	---NA---	89
Exon-2650	---NA---	104
Exon-2651	---NA---	254
Exon-2652	---NA---	352
Exon-2653	---NA---	41
Exon-2654	---NA---	94
Exon-2655	---NA---	82
Exon-2656	---NA---	45
Exon-2657	---NA---	66
Exon-2658	G2/mitotic-specific cyclin S13-7-like isoform X2	128
Exon-2659	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPCP2, chloroplastic-like	314
Exon-2660	---NA---	36
Exon-2661	hypothetical protein RchiOBHm	246
Exon-2662	---NA---	266
Exon-2663	---NA---	306
Exon-2664	hypothetical protein EUGRSUZ	327
Exon-2665	---NA---	383
Exon-2666	PREDICTED: uncharacterized protein	211
Exon-2667	PREDICTED: uncharacterized protein	336
Exon-2668	PREDICTED: uncharacterized protein	607
Exon-2669	---NA---	40
Exon-2670	---NA---	22
Exon-2671	chalcone synthase	340
Exon-2672	chalcone synthase	1249
Exon-2673	DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 3, chloroplastic	227
Exon-2674	---NA---	69
Exon-2675	salicylate carboxymethyltransferase	432
Exon-2676	PREDICTED: uncharacterized protein isoform X1	157
Exon-2677	---NA---	15
Exon-2678	ER membrane protein complex subunit 10	382
Exon-2679	OTU domain-containing protein 3 isoform X1	139
Exon-2680	probable nucleoredoxin 1	692
Exon-2681	---NA---	48
Exon-2682	---NA---	66
Exon-2683	very-long-chain 3-oxoacyl-CoA reductase 1	335
Exon-2684	---NA---	72
Exon-2685	hypothetical protein EUGRSUZ	377
Exon-2686	2-methylene-furan-3-one reductase-like isoform X6	134
Exon-2687	---NA---	36
Exon-2688	---NA---	70
Exon-2689	---NA---	76
Exon-2690	---NA---	96
Exon-2691	---NA---	12
Exon-2692	---NA---	97
Exon-2693	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase DAO	309
Exon-2694	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase DAO isoform X2	378
Exon-2695	oligouridylate-binding protein 1B-like isoform X3	103
Exon-2696	---NA---	76
Exon-2697	---NA---	69
Exon-2698	putative ripening-related protein 1	758
Exon-2699	histone-lysine N-methyltransferase ATXR2-like isoform X2	118

Exon-2700	histone-lysine N-methyltransferase ATXR2 isoform X1	239
Exon-2701	---NA---	57
Exon-2702	---NA---	38
Exon-2703	---NA---	48
Exon-2704	---NA---	162
Exon-2705	---NA---	38
Exon-2706	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	151
Exon-2707	---NA---	69
Exon-2708	probable acyl-activating enzyme 18, peroxisomal isoform X3	208
Exon-2709	cytochrome P450	656
Exon-2710	---NA---	98
Exon-2711	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1	114
Exon-2712	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1	228
Exon-2713	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1 isoform X2	286
Exon-2714	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1 isoform X3	151
Exon-2715	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1	458
Exon-2716	hypothetical protein EUGRSUZ, partial	163
Exon-2717	phosphomannomutase/phosphoglucomutase isoform X1	126
Exon-2718	---NA---	7
Exon-2719	probable metal-nicotianamine transporter YSL7 isoform X2	1276
Exon-2720	probable metal-nicotianamine transporter YSL7 isoform X2	164
Exon-2721	pyruvate decarboxylase 1	820
Exon-2722	pyruvate decarboxylase 1-like	723
Exon-2723	---NA---	90
Exon-2724	protein STRICTOSIDINE SYNTHASE-LIKE 4 isoform X2	213
Exon-2725	protein STRICTOSIDINE SYNTHASE-LIKE 4 isoform X2	133
Exon-2726	---NA---	40
Exon-2727	---NA---	72
Exon-2728	---NA---	76
Exon-2729	---NA---	41
Exon-2730	---NA---	85
Exon-2731	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 4-like	388
Exon-2732	anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 2	1261
Exon-2733	---NA---	44
Exon-2734	---NA---	23
Exon-2735	exonuclease mut-7 homolog	133
Exon-2736	beta-bisabolene synthase-like	291
Exon-2737	beta-bisabolene synthase-like	376
Exon-2738	beta-bisabolene synthase-like	344
Exon-2739	---NA---	162
Exon-2740	---NA---	87
Exon-2741	---NA---	61
Exon-2742	---NA---	54
Exon-2743	deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase-like	120
Exon-2744	(DL)-glycerol-3-phosphatase 2	148
Exon-2745	auxin-binding protein ABP19a	976
Exon-2746	auxin-binding protein ABP19a	1002
Exon-2747	---NA---	53
Exon-2748	glutamate receptor 2.1	404
Exon-2749	auxin-binding protein ABP19a	1028
Exon-2750	auxin-binding protein ABP19a	821
Exon-2751	---NA---	54

Exon-2752	ABC transporter C family member 2 isoform X2	430
Exon-2753	ABC transporter C family member 2 isoform X2	246
Exon-2754	---NA---	84
Exon-2755	---NA---	67
Exon-2756	probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	187
Exon-2757	---NA---	72
Exon-2758	---NA---	40
Exon-2759	---NA---	369
Exon-2760	NmrA family NAD(P)-binding protein	282
Exon-2761	isoflavone reductase-like protein	135
Exon-2762	cytochrome P450	822
Exon-2763	cytochrome P450	395
Exon-2764	4-coumarate 3-hydroxylase	584
Exon-2765	probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1	228
Exon-2766	---NA---	87
Exon-2767	eukaryotic initiation factor 4A-3-like	282
Exon-2768	hypothetical protein EUGRSUZ	102
Exon-2769	---NA---	26
Exon-2770	---NA---	45
Exon-2771	(3S,6E)-nerolidol synthase 1-like	166
Exon-2772	---NA---	69
Exon-2773	---NA---	72
Exon-2774	S-type anion channel SLAH1	488
Exon-2775	---NA---	54
Exon-2776	---NA---	67
Exon-2777	---NA---	61
Exon-2778	putative cysteine-rich receptor-like protein kinase 35	524
Exon-2779	---NA---	75
Exon-2780	---NA---	251
Exon-2781	uncharacterized protein isoform X9	141
Exon-2782	mitogen-activated protein kinase kinase kinase YODA-like	134
Exon-2783	---NA---	67
Exon-2784	---NA---	80
Exon-2785	---NA---	40
Exon-2786	---NA---	56
Exon-2787	---NA---	20
Exon-2788	---NA---	69
Exon-2789	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	196
Exon-2790	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	144
Exon-2791	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	119
Exon-2792	probable leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase	477
Exon-2793	---NA---	72
Exon-2794	60S ribosomal protein L18a-like protein	115
Exon-2795	neutral ceramidase	170
Exon-2796	---NA---	5
Exon-2797	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase isoform X1	120
Exon-2798	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase isoform X2	151
Exon-2799	kinesin-like protein KIN-14L isoform X2	251
Exon-2800	nucleolar complex protein 3 homolog	139
Exon-2801	cinnamoyl-CoA reductase 1	170
Exon-2802	---NA---	83
Exon-2803	isoflavone reductase-like protein isoform X1	204

Exon-2804	---NA---	10
Exon-2805	---NA---	42
Exon-2806	annexin D7	213
Exon-2807	annexin D1-like isoform X1	506
Exon-2808	---NA---	33
Exon-2809	probable pectate lyase 12	555
Exon-2810	cysteine-rich receptor-like protein kinase 10	339
Exon-2811	---NA---	60
Exon-2812	---NA---	86
Exon-2813	sugar transporter ERD6-like 7	115
Exon-2814	---NA---	75
Exon-2815	---NA---	19
Exon-2816	---NA---	59
Exon-2817	putative receptor-like protein kinase isoform X2	245
Exon-2818	---NA---	6
Exon-2819	---NA---	9