

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Análise, via RNAseq, do transcriptoma da cana-de-açúcar e
identificação de genes expressos em resposta a *Sporisorium
scitamineum*, o agente causal do carvão**

Alessandra Carolina Palhares

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora
em Ciências. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2014**

Alessandra Carolina Palhares
Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas

Análise, via RNAseq, do transcritoma da cana-de-açúcar e identificação de genes expressos em resposta a *Sporisorium scitamineum*, o agente causal do carvão

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Prof^a. Dra. MARIA LUCIA CARNEIRO VIEIRA
Coorientadora:
Prof^a. Dra. CLAUDIA BARROS MONTEIRO-VITORELLO

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Palhares, Alessandra Carolina

Análise, via RNAseq, do transcritoma da cana-de-açúcar e identificação de genes expressos em resposta a *Sporisorium scitamineum*, o agente causal do carvão / Alessandra Carolina Palhares. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.

146 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2014.

1. Cana-de-açúcar 2. *Sporisorium scitamineum* 3. RNAseq 4. Transcriptoma
5. Interação planta-patógeno 6. Expressão diferencial de genes I.Título

CDD 633.61
V658a

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte -O autor”

*Ao Deus de bondade sem fim
Aos meus pais Antonio e Antonieta
A Aline, Ana Paula e Alicia
Sentido da minha vida...*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, porque tudo vem Dele e a Ele pertence.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pela valiosa formação, e particularmente ao Departamento de Genética, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro e pelas bolsas concedidas.

À Professora Dra. Maria Lucia Carneiro Vieira pela amizade, orientação, apoio, confiança e paciência.

À Professora Dra. Claudia de Barros Monteiro-Vitorello, da ESALQ/USP, pela amizade, co-orientação, estímulo e dedicação em todas as etapas do trabalho.

À Dra. Silvana Creste, do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), pela colaboração na definição do projeto de pesquisa.

Ao consultor Dr. Alvaro Sanguino e à M^a Juliana Boldini, pelos importantes ensinamentos e pela ajuda na obtenção do material de estudo.

Ao Professor Dr. Luiz Lehmann Coutinho, da ESALQ/USP, pela colaboração na obtenção dos dados de sequenciamento.

Ao Dr. Gustavo Gasparin, da ESALQ/USP, pela amizade e fundamental colaboração na construção das bibliotecas de RNAseq.

Ao técnico Carlos Alberto de Oliveira, da ESALQ/USP, pela amizade e todo o auxílio durante a realização do trabalho.

Ao funcionário João Batista Pires, da ESALQ/USP, pela colaboração com a manutenção das plantas.

Aos colegas do Laboratório de Microrganismos Prof. João Lúcio de Azevedo - Grupo de Genômica, pela troca de conhecimentos, e em especial ao Lucas Taniguti e à Patricia Schaker, pela ajuda e dedicação na análise dos dados.

Aos colegas do Laboratório de Genética Molecular de Plantas Cultivadas, Anselmo Santos, Augusto Diniz, Bruna Factor, Carla Munhoz, Carmelice Boff, Cassia Pinheiro, Guilherme Pereira, Helen Penha, João Paulo Marques, Lourdes Pérez, Luciane Santini, Taislene Moraes e Zirlane Portugal, pela amizade, colaboração e pelo companheirismo.

Agradeço, de coração.

*"Don't only practice your art,
but force your way into its secrets,
for it and knowledge can raise men to the divine"*

Ludwig van Beethoven

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 A cultura da cana-de-açúcar: aspectos econômicos	19
2.2 Origem da cultura e a fitossanidade das lavouras.....	20
2.3 O genoma das cultivares modernas.....	23
2.4 A doença carvão da cana-de-açúcar.....	26
2.5 A interação da cana-de-açúcar com o carvão: aspectos morfológicos	27
2.6 Mecanismos de resistência da cana-de-açúcar a <i>S. scitamineum</i>	29
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Material vegetal	35
3.2 Material fúngico: obtenção dos teliósporos e preparo do inóculo.....	35
3.3 Inoculação de <i>S. scitamineum</i> e condições de crescimento	36
3.4 Coleta das amostras para as análises moleculares	37
3.5 Extração do RNA.....	38
3.5.1 Primeira coleta	38
3.5.2 Segunda coleta	39
3.6 Análise qualitativa e quantitativa do RNA.....	40
3.7 Confirmação da infecção.....	40
3.7.1 Extração do DNA.....	41
3.7.2 Detecção de <i>S. scitamineum</i>	42
3.8 Processamento do RNA	42
3.8.1 Verificação da integridade do RNA	42
3.8.2 Construção das bibliotecas de RNAseq e sequenciamento das amostras.....	43
3.9 Processamento dos dados de RNAseq.....	45
3.9.1 Checagem da qualidade das sequências.....	45
3.9.2 Trimagem dos <i>reads</i>	45
3.9.3 Mapeamento dos <i>reads</i>	46
3.9.4 Medida dos níveis de expressão e análise da expressão diferencial	46
3.10 Análise funcional	48

4 RESULTADOS	51
4.1 A incidência da doença.....	51
4.2 Extração do RNA	52
4.3 Extração do DNA e confirmação da infecção	53
4.4 Integridade dos RNAs e checagem das bibliotecas de RNAseq	54
4.5 Reads obtidos e o seu preparo para o mapeamento no sorgo	56
4.6 Mapeamento dos reads usando o sorgo como referência	57
4.7 Identificação dos genes diferencialmente expressos em resposta à infecção	61
4.8 Genes envolvidos na resposta inicial (120 horas) à infecção pelo patógeno.....	70
4.9 Genes envolvidos na resposta tardia (200 dias) à infecção pelo patógeno.....	73
5 DISCUSSÃO.....	85
5.1 Mapeamento dos reads usando o sorgo como referência	85
5.2 Estratégias computacionais para a identificação dos genes diferencialmente expressos	87
5.3 Genes diferencialmente expressos na interação cana - <i>S. scitamineum</i>.....	88
5.4 Mecanismos de defesa contra <i>S. scitamineum</i>.....	96
6 CONCLUSÕES.....	99
REFERÊNCIAS	101
ANEXOS.....	121

RESUMO

Análise, via RNAseq, do transcritoma da cana-de-açúcar e identificação de genes expressos em resposta a *Sporisorium scitamineum*, o agente causal do carvão

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma importante cultura agrícola, sendo hospedeira de vários patógenos, incluindo o fungo biotrófico *Sporisorium scitamineum*, agente causal do carvão. A doença reduz a produtividade das lavouras de cana e a qualidade de seus produtos, sendo reconhecida pelo desenvolvimento de uma estrutura em forma de chicote, onde os teliosporos são produzidos. O objetivo deste estudo foi analisar o transcritoma da interação cana-de-açúcar - *S. scitamineum*, visando a identificação de genes do hospedeiro diferencialmente expressos em resposta à infecção fúngica. Gemas da variedade tolerante 'RB92-5345' foram inoculadas com *S. scitamineum* e mantidas em casa de vegetação para a coleta das amostras, em dois momentos: 120 h após a inoculação, e no momento da emissão do chicote, aos 200 dias após a inoculação. Foram construídas 12 bibliotecas com base na abordagem RNAseq. Três estratégias computacionais foram utilizadas nas etapas de mapeamento e análise da expressão diferencial de genes da cana: (i) STAR e DESeq, tomando como referência o genoma do sorgo; (ii) Bowtie 2 e DESeq, e (iii) CLC Genomics Workbench, tomando como referência as sequências codificadoras (CDS) do sorgo. Diagramas de Venn foram construídos para identificar genes diferencialmente expressos comuns às três estratégias computacionais, aumentando a acurácia das análises. Para a anotação, foi usada a ferramenta BLAST2GO. Foram obtidos 225 milhões de *reads*; dentre os 185 milhões usados no mapeamento, 66% foram mapeados em genes e 51% nas CDS. Aproximadamente 77% dos genes e 87% das CDS mapeados apresentaram atividade transcrional (pelo menos um *read* mapeado), sob as condições do experimento, em ambos os momentos da interação. Um total de 596 e 2.148 genes diferencialmente expressos foram identificados nas respostas iniciais e tardias à infecção, respectivamente; para 79% deles foi possível atribuir uma função. Pelas intersecções, 41 (resposta inicial) e 206 (resposta tardia) genes foram comuns às três estratégias. Sugere-se que a planta percebe o patógeno no início da interação, porém o fungo é capaz de suprimir a resposta de defesa vegetal. Propõe-se que há uma reprogramação da expressão gênica defesa-orientada, favorecendo o desenvolvimento da planta, mesmo com a doença instalada. A expressão de genes relacionados à resistência, às vias de hormônios e com a formação da parede celular (além de inibidores de proteínas fúngicas) sugerem que a planta se empenha drasticamente para sobreviver após 200 dias de interação. Decifrando os perfis do transcritoma da cana na interação com *S. scitamineum*, este trabalho deve contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos de resistência ao carvão.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; *Sporisorium scitamineum*; RNAseq; Transcritoma; Intereração planta-patógeno; Expressão diferencial de genes

ABSTRACT

RNAseq based transcriptome analysis and identification of sugarcane genes expressed in response to *Sporisorium scitamineum*, the causal agent of smut

Sugarcane (*Saccharum* spp.) is an important crop, and hosts several pathogens, including the biotrophic fungus *Sporisorium scitamineum*, the causal agent of smut. The disease reduces the sugarcane crop yield and the quality of its products, and is recognized by the development of a whip-like structure, where teliospores are produced. The objective of this study was to analyze the transcriptome of sugarcane - *S. scitamineum* interaction and to identify differentially expressed genes from the host in response to fungal infection. Buds of the tolerant variety 'RB92-5345' were inoculated with *S. scitamineum* and maintained in a greenhouse for two sampling interaction moments: 120 h after inoculation, and at the moment of the whip emission, 200 days after inoculation. Twelve libraries were constructed based on RNAseq approach. Three computational strategies were used in the mapping step and differential expression analysis of sugarcane genes: (i) STAR and DESeq, using as reference the sorghum genome; (ii) Bowtie 2 and DESeq, and (iii) CLC Genomics Workbench, using as reference the coding sequences (CDS) from sorghum. Venn diagrams were created to identify differential expressed genes that were common to the three computational strategies, thus increasing the analysis accuracy. For annotation, the BLAST2GO tool was used. We have obtained 225 million reads; out of the 185 million reads used for mapping, 66% were mapped to genes and 51% to CDS. Approximately 77% and 87% of the mapped genes and CDS respectively showed transcriptional activity (at least one read was mapped) under the experimental conditions at both interaction moments. A total of 596 and 2,148 differentially expressed genes were identified at early and late responses to the infection, respectively; it was possible to attribute function to 79% of them. Through intersectioning, 41 (early response) and 206 (late response) genes were found to be common to the three strategies. It is suggested that the plant recognizes the pathogen at the beginning of interaction period, though the fungal is able to suppress the host defense response. It is also proposed that a defense-oriented transcriptional reprogramming takes place, supporting plant development even with the disease setting. The expression of genes related to resistance, hormone pathways, and cell wall formation (as well as inhibitors of fungal proteins) suggests that the plant makes exceptional efforts to survive after 200 days of interaction. Deciphering the sugarcane transcriptome profile during the interaction with *S. scitamineum*, this study should contribute to a better understanding of the resistance mechanisms to the smut.

Keywords: Sugarcane; *Sporisorium scitamineum*; RNAseq; Transcriptome; Plant-pathogen interaction; Differential gene expression

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma das principais culturas agrícolas, ocupando 26 milhões de hectares em regiões tropicais e subtropicais do mundo (FAO, 2014). O Brasil é o maior produtor, sendo referência na produção de seus principais derivados: o açúcar e o etanol. No país, o setor sucroenergético mostrou um crescimento de 44,2% no PIB das últimas cinco safras, atingindo 43,4 bilhões de dólares na safra 2013/2014 (UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2014). Esse crescimento foi impulsionado, principalmente, pelo aumento na demanda de etanol, tanto no mercado interno, em função do avanço da tecnologia dos veículos *flex-fuel*, como pelo interesse mundial no uso desse biocombustível em mistura à gasolina (NÓBREGA; DORNELAS, 2006).

Algumas doenças limitam a produtividade das lavouras e a qualidade de seus produtos. O carvão da cana-de-açúcar, causado pelo fungo *Sporisorium scitamineum* é um importante exemplo, uma vez que a doença já foi registrada em todos os países com cultivos comerciais de cana, excetuando-se apenas Papua Nova Guiné e as ilhas Fiji (COMSTOCK; LENTINI, 2005). No Brasil, a doença tem ocorrência generalizada desde a sua primeira constatação no país, há seis décadas atrás (CARVALHO, 1948).

A disseminação e o desenvolvimento do fungo são altamente favorecidos por fatores climáticos, tais como temperatura e umidade elevadas (COMSTOCK; LENTINI, 2005). A existência de condições ótimas para a disseminação fez com que se registrasse a ocorrência da doença nos últimos anos, sob baixos índices, mesmo com o plantio de variedades comerciais consideradas resistentes. Isso tem ocorrido tanto no Brasil como em outros países (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; JINJU et al., 2013; BHUIYAN; CROFT; COX, 2013).

A doença é facilmente identificada pelo seu principal sintoma, denominado "chicote", devido à facilidade de visualização (ANTOINE, 1960). O chicote é uma estrutura composta por tecidos da cana e do fungo, que serve como fonte de teliósporos, emitida a partir do primeiro mês após a infecção, de acordo com o grau de resistência das variedades (SUNDAR, 2012). O nome "carvão" refere-se à intensa massa negra de teliósporos liberados a partir do chicote (ANTOINE, 1960). Devido à formação dessa estrutura, a doença inutiliza os colmos da cana-de-açúcar,

deixando-os em condições inadequadas para o processo de industrialização, porque reduz a biomassa e a qualidade do caldo para a produção de açúcar e etanol.

Pouco se sabe a respeito dos mecanismos moleculares da interação cana - *S. scitamineum* durante o estabelecimento, desenvolvimento e a rápida disseminação do carvão. No ciclo de vida do fungo, a interação com a planta é essencial para o seu desenvolvimento. Do ponto de vista da planta, pressupõe-se que ocorram alterações na expressão gênica, desencadeadas devido à presença do patógeno.

Estudos moleculares sobre a interação patógeno-hospedeiro são importantes porque revelam os mecanismos adotados por ambos os organismos para lidarem um com o outro, seja no estabelecimento da doença ou no seu controle. A respeito da interação cana-de-açúcar - *S. scitamineum*, alguns trabalhos já identificaram genes envolvidos nos mecanismos de defesa desencadeados após o estabelecimento da infecção, comparando-se perfis de cDNA-AFLP e MALDI-TOF-TOF/MS de plantas infectadas e controles, em diferentes variedades e momentos de análise (THOKOANE; RUTHERDORD, 2001; BORRÁS-HIDALGO et al., 2005; LAO et al., 2008, QUE et al., 2011a, 2011b). Entre os genes de resposta à infecção, incluem-se genes de resistência, genes envolvidos em estresse oxidativo, nas vias dos hormônios etileno e auxina, e genes relacionados à transdução de sinais e desenvolvimento, entre outros.

Entretanto, devido às limitações dessas técnicas, são necessários estudos visando à identificação de todo o repertório gênico envolvido em resposta à doença, durante o processo de infecção e estabelecimento da doença. Isso tem sido possível usando as técnicas de sequenciamento de nova geração, como o RNAseq, que tem o potencial de monitorar a expressão gênica com um alto nível de acurácia e profundidade, inclusive em ambos os organismos da interação (WESTERMANN; GORSKI; VOGEL, 2012). Análises baseadas em RNAseq sobre a interação de plantas e fungos patogênicos têm sido realizadas para diversas culturas, como o arroz (*Oryza sativa* x *Magnaporthe oryzae*), banana Cavendish (*Musa cavendishii* x *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*), algodão (*Gossypium barbadense* x *Verticillium dahliae*), soja (*Glicine max* x *Phakopsora pachyrhizi*), pepino (*Cucumis sativus* x *Pseudoperonospora cubensis*), tabaco (*Nicotiana benthamiana* x *Verticillium* spp.) e também para o sorgo (*Sorghum bicolor* x *Bipolaris sorghicola*) (KAWAHARA et al.,

2012; LI, C-Y et al., 2012; XU et al., 2011; TREMBLAY et al., 2011; ADHIKARI et al., 2012; FAINO; JONGE; THOMMA, 2012; YAZAWA et al., 2013).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar o transcritoma do hospedeiro durante a interação cana-de-açúcar - *S. scitamineum*, identificando genes diferencialmente expressos, com base na técnica RNAseq, em dois momentos, quais sejam: o da infecção (120 horas após a inoculação) e o da emissão do chicote, de modo a caracterizar as respostas iniciais e tardias da cana-de-açúcar à infecção fúngica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da cana-de-açúcar: aspectos econômicos

A cana-de-açúcar é a 5^a principal cultura agrícola produzida mundialmente. Em 2012, sua produção atingiu 1,8 bilhões de toneladas colhidas de uma área de 26 milhões de hectares. Cerca de 90 países cultivam a cana-de-açúcar, sendo o Brasil o maior produtor, com produção equivalente a 40% da produção mundial, seguido pela Índia, China e Tailândia (FAO, 2014).

A cultura é utilizada principalmente como fonte de açúcar e etanol, mas com a busca por produtos limpos e renováveis em substituição aos derivados do petróleo, a cana-de-açúcar tem se destacado também como uma importante fonte de bioeletrecidade, bioplásticos e hidrocarbonos (SUGARCANE.ORG, 2014). Isto tem aumentado o interesse de produtores de vários países pelo uso da cana-de-açúcar como matéria-prima (LAM et al., 2009).

Na safra de 2012/2013 o Brasil atingiu a produção de 588 milhões de toneladas colhidas em 9,8 milhões de hectares, o que gerou um total de 38 milhões de toneladas de açúcar e 23 bilhões de litros de etanol (UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2014). O país é referência no desenvolvimento e uso comercial da cana-de-açúcar, e também na geração de energia elétrica a partir da sua biomassa.

Dentre as culturas com potencial energético, é a que mais apresenta atributos favoráveis à sua produção, tais como elevada produtividade, produção em estações curtas de crescimento, e sobrevivência sob condições adversas, como a seca, as baixas temperaturas e a baixa disponibilidade de nutrientes (WACLAWOVSKY et al., 2010). Em comparação com o etanol produzido a partir do milho, nos Estados Unidos, o etanol da cana-de-açúcar é mais barato porque os açúcares são diretamente extraídos do suco obtido dos colmos, em contraste com o milho, já que o amido do grão deve ser liquefeito e hidrolisado antes da fermentação. Ambas as culturas constituem os maiores sistemas de produção de etanol, sendo que o Brasil e os Estados Unidos foram responsáveis por 88% da produção desse combustível em 2009 (CHEN et al., 2013; MUÑOZ et al., 2014).

Muito tem sido investido em ciência e tecnologia na tentativa de aumentar os valores de produção das lavouras. Os principais focos das pesquisas estão relacionados ao melhoramento genético tradicional, visando à geração de novas variedades, melhor entendimento sobre a biologia da cana-de-açúcar, desenvolvimento de tecnologias para a produção de etanol celulósico (etanol de segunda geração), e no estabelecimento de medidas que visem minimizar os impactos da sua indústria na biodiversidade e no ambiente. É esperado que o melhoramento genético conduza a uma maior produção em campo, minimizando a expansão do uso de terra pela cana (BUCKERIDGE et al., 2012). Até 2020, é previsto que a cana-de-açúcar venha a ocupar 14 milhões de hectares no Brasil (MATSUOKA; FERRO; ARRUDA, 2009).

2.2 Origem da cultura e a fitossanidade das lavouras

A cana-de-açúcar pertence ao gênero *Saccharum*, tribo Andropogoneae, subtribo Saccharininae e à família Poaceae, na qual se incluem importantes cereais como o milho, o trigo, o arroz e o sorgo (TZVELEV, 1989).

Muitos autores consideram a existência de seis espécies no gênero *Saccharum*, sendo quatro encontradas apenas em cultivo: *S. officinarum* L., *S. barberi* Jesw., *S. sinense* Roxb., e *S. edule* Hassk.; e duas silvestres, encontradas no sudeste asiático e na Nova Guiné: *S. spontaneum* L. e *S. robustum* Brandes & Jeswiet ex Grassl (IRVINE, 1999; SCARPARI; BEAUCLAIR, 2008). Entretanto, a definição da taxonomia e da nomenclatura do gênero sempre foi desafiante aos pesquisadores. Em 1957, Mukherjee criou o termo "Complexo *Saccharum*" para relacionar gêneros envolvidos na formação das espécies cultivadas de cana-de-açúcar. Tal complexo inclui, além de *Saccharum*, os gêneros *Erianthus* (seção *Rhipidium*), *Misanthus* (seção *Diandra*), *Sclerostachya* e *Narenga*. As relações filogenéticas entre esses gêneros têm sido debatidas por muitos anos (DANIELS; ROACH, 1987; IRVINE, 1999). *Erianthus* sempre foi considerado intimamente relacionado com *Saccharum*, e a classificação mais atual de *Saccharum* comprehende todas as espécies anteriormente descritas como pertencentes a *Erianthus*, tais como *S. villosum* e *S. asperum*, entre outras (veja CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011).

S. officinarum é a espécie da qual surgiram as primeiras canas cultivadas comercialmente (BREMER, 1961a). Conhecidas como "cana nobre", essas canas apresentam alto teor de açúcar, baixo conteúdo de fibras, e talo grande e espesso. Entretanto, são suscetíveis a várias doenças. Foi com o aparecimento da doença do *sereh* (*Sugarcane sereh disease*), em 1880, que se iniciaram as primeiras iniciativas de melhoramento com base em hibridações interespecíficas que visavam à obtenção de clones resistentes (BREMER, 1961a). A espécie *S. spontaneum* foi a principal envolvida nas hibridações, porque, apesar de apresentar baixo conteúdo de açúcar, mostra alto vigor vegetativo e resistência a estresses bióticos e abióticos (MUKHERJEE, 1957).

Como resultado dos primeiros cruzamentos, foram obtidos clones resistentes ao *sereh*, no entanto, altamente suscetíveis ao vírus do mosaico (*Sugarcane mosaic virus*), o que levou os melhoristas a realizarem sucessivos retrocruzamentos desses clones com *S. officinarum*, num processo conhecido como "nobilização" (BREMER, 1961a). Desse processo, associado à seleção, foi possível obter, além de resistência, alterações no perfil varietal, bem como na capacidade de perfilhamento e habilidade de brotação após o corte, que são características ideais para o cultivo (LANDELL et al., 2005).

Impulsionados, inicialmente, pelo aparecimento das doenças, os programas de melhoramento da cana-de-açúcar desde então têm se baseado em cruzamentos entre genótipos contrastantes, seguidos por etapas de seleção e clonagem dos genótipos superiores, na busca de aliar alto teor de açúcar com adaptabilidade e resistência (LANDELL; SILVA, 2004). Todavia, o histórico dos cultivos revela que as doenças foram as principais causas pelas perdas no campo, dado que as cultivares geralmente são suscetíveis a vários patógenos. Na revisão de Matsuoka; Ferro; Arruda (2009) são ilustradas as variedades de cana-de-açúcar plantadas no Brasil entre os anos de 1975 a 2007, evidenciando-se o plantio de poucas variedades nos primeiros 15 anos, que devido à incidência de doenças como o carvão (*S. scitamineum*) e a ferrugem (*Puccinia melanocephala*) foram rapidamente substituídas. O plantio de um número crescente de novas variedades ao longo dos anos reduziu o risco de perdas por doenças epidêmicas repentinas. Isso também contribuiu para o aumento de 50% na produtividade média da cultura nesse período.

As doenças causadas por vírus geralmente reduzem o conteúdo de sacarose da planta, resultando em reduções no rendimento da cultura. O mosaico (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV), relatado no início do século XIX, e o amarelecimento foliar (*Sugarcane yellow leaf virus*, SCYLV) na década de 90, foram responsáveis pelo declínio na produção de cana em todos os países produtores. A doença de Fiji (*Fiji disease virus*, FDV) e a doença do sereh (*Sugarcane sereh disease*) também são de grande importância, porém por ocorrerem apenas em regiões da Ásia, África e Oceania, são consideradas quarentenárias no Brasil (GONÇALVES, 2008).

Das doenças causadas por bactérias, a gomose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *vasculorum* foi a primeira doença bacteriana de vegetais descrita no mundo, detectada no Brasil em 1863. Outras doenças importantes são o raquitismo da soqueira, causada por *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, observada primeiramente na Austrália em 1944, a escaldadura das folhas, sendo *X. albilineans* o seu agente causal, detectada na Austrália e em Java, na década de 20, e a estria vermelha, causada por *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*. Essas doenças apresentam distribuição generalizada nos países produtores (ALMEIDA, 2008).

Até o ano 2000, cerca de 160 espécies de fungos foram registradas como patógenos de cana-de-açúcar (veja COMSTOCK, 2000). No Brasil, as doenças mais comuns são a ferrugem (*Puccinia melanocephala*), o carvão (*S. scitamineum*), a mancha amarela (*Mycovellosiella koepkei*), a mancha ocular (*Bipolaris sacchari*), a mancha parda (*Cercospora longipes*), a podridão vermelha (*Glomerella tucumanensis*), a podridão de *Fusarium* (*Gibberella fujikuroi*), Pokkah-boeng (*Gibberella subglutinans*), e a podridão abacaxi (*Ceratocystis paradoxa*) (revisado por CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). As doenças de maior destaque são: a ferrugem, que ocorre em 64 países produtores, que causou perdas de até 50% nas variedades suscetíveis da Flórida, em 1979; e o carvão, que ocorre na maioria dos países produtores, e sua ocorrência tem ocasionado epidemias em várias partes do mundo (SANTOS, 2008).

De modo geral, as doenças são controladas integrando-se medidas de prevenção, que incluem o plantio de material livre de doenças, uso de apropriadas práticas de manejo, e estritas medidas de quarentena.

2.3 O genoma das cultivares modernas

Apesar da importância econômica da cana-de-açúcar, os estudos sobre a sua constituição genética iniciaram-se tardiamente, em comparação às outras culturas, devido à elevada complexidade do seu genoma (GRIVET; ARRUDA, 2002).

Todas as espécies apresentam alto nível de ploidia, com diferenças nos números básicos de cromossomos, exemplificando: *S. officinarum* ($2n = 80$), *S. spontaneum* ($2n = 40 - 128$), *S. barberi* ($2n = 81 - 124$), *S. sinense* ($2n = 111 - 120$), *S. edule* ($2n = 60, 70, 80$) e *S. robustum* ($2n = 60, 80$) (BREMER, 1961b; D'HONT et al., 1998).

Dos cruzamentos que envolveram as espécies *S. officinarum* ($x = 10$) e *S. spontaneum* ($x = 8$), obtiveram-se híbridos com número de cromossomos superior ao previsto. Posteriormente, investigações citogenéticas constataram a ocorrência de transmissão desigual de cromossomos: foi notado que o complemento ' $2n$ ' era transmitido por *S. officinarum* (genitor feminino), e o complemento ' n ' por *S. spontaneum* (genitor masculino), dando origem a canas ' $2n + n$ '. Quando esses híbridos foram retrocruzados com *S. officinarum*, esta espécie também produziu gametas não reduzidos ' $2n$ ', porém isto deixou de ocorrer a partir do segundo retrocruzamento (BREMER, 1961b). Baseados em estudos de citogenética molecular, alguns autores recentemente confirmaram a ocorrência dessa transmissão nos cruzamentos e no primeiro retrocruzamento entre essas espécies, inclusive em cruzamentos entre *S. officinarum* e cultivares modernas (PIPERIDIS; PIPERIDIS; D'HONT, 2010).

Como consequência, o genoma das cultivares modernas é extremamente grande, com conteúdo 2C de aproximadamente 10 Gb, conforme estimado por citometria de fluxo para a cultivar R570 ($2n = 115$), por D'Hont e Glaszmann (2001). Usando a técnica de hibridização genômica *in situ* (GISH), D' Hont e colaboradores (1996) demonstraram que nessa cultivar cerca de 80% dos cromossomos são provenientes de *S. officinarum*, 10% provenientes de *S. spontaneum*, e 10% constituem cromossomos recombinantes, como mostrado na Figura 1. Nesta ilustração, fica clara a complexidade do genoma da cana: poliploide, aneuploide e com elevado e variado número de cromossomos ($2n = 100 - 130$). Além dessa

complexidade, o nível de heterozigosidade nas cultivares é alto, devido ao intercruzamento entre híbridos e seus derivados (LU et al., 1994), embora no campo se utilizem clones propagados vegetativamente.

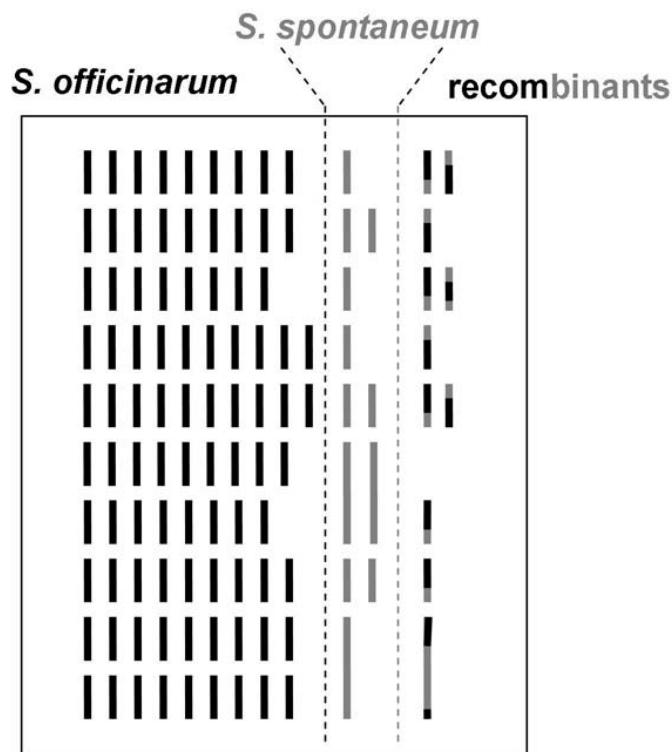


Figura 1 - Representação esquemática do genoma das cultivares modernas. Retirado de D'Hont et al. (2005)

Essa complexa organização genômica faz com que cada cruzamento seja um evento ‘imprevisível’, por causa da existência de múltiplos e distintos alelos para cada loco que, por sua vez, podem ocorrer em diferentes doses. Exemplificando, Garcia et al. (2013) deduziram que há locos cuja ploidia é 6, enquanto outros tem ploidia iguais a 8, 10 ou 12. Usando uma sofisticada análise envolvendo SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), os autores evidenciaram as diferentes doses de cada um dos alelos de determinados locos. No caso de um loco de ploidia octaploide, por exemplo, a partir do cruzamento AAAAAAAA X AAAAAAGG, esperam-se as seguintes doses na população segregante: AAAAAAAA (8:0), AAAAAAAG (7:1), e AAAAAAGG (6:2).

Na tentativa de contribuir para a elucidação da organização genética e genômica da cana-de-açúcar, mapas de ligação foram construídos para as espécies *S. officinarum* (AITKEN; JACKSON; McINTYRE, 2007) e *S. spontaneum* (da SILVA

et al., 1995), para cultivares (GRIVET et al., 1996; ANDRU et al., 2011; AITKEN; JACKSON; McINTYRE, 2005) e também para populações segregantes (F_1) (OLIVEIRA et al., 2007; PALHARES et al., 2012), empregando-se diferentes marcadores moleculares. Estes mapas têm mostrado que os grupos de homologia (identificados por locos comuns de microssatélites nos grupos de ligação) são compostos por diferentes números de grupos de ligação, o que dá suporte aos estudos de D'Hont et al. (2005) e representam mais uma evidência da complexidade genética das canas cultivadas.

Do ponto de vista molecular, a construção de uma biblioteca de BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) para a cultivar R570 (TOMKINS et al., 1999) forneceu os primeiros *insights* sobre a composição genômica da cana-de-açúcar. Posteriormente, sequências expressas (ESTs) foram obtidas por grupos de pesquisa da Austrália, África do Sul, Brasil e Estados Unidos, totalizando 282.683 sequências, sendo o Brasil o responsável por 80% da informação gerada (VETTORE et al., 2003). Outras técnicas foram utilizadas para a obtenção de sequências expressas e o reconhecimento de genes candidatos, podendo ser consultadas na revisão de Manners e Casu (2011).

Com o advento das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS), foi estudado o transcriptoma de seis cultivares brasileiras que apresentam alto conteúdo de açúcar e características específicas de adaptação e resistência. Usando a estratégia ‘*de novo*’ assembly, obtiveram-se 119.768 transcritos representando um total de 72.269 genes, dos quais foram identificados 5.272 genes não descritos previamente nas bases de dados de ESTs (CARDOSO-SILVA et al., 2014). Todos esses dados são essenciais para a anotação de genes no processo de sequenciamento do genoma funcional da cana-de-açúcar (MANNERS; CASU, 2011; CARDOSO-SILVA et al., 2014), que se encontra em andamento. Embora a natureza complexa e polimórfica das populações de cana-de-açúcar torne desafiante a obtenção de uma referência monoplóide, acredita-se que a associação de diferentes ferramentas e estratégias irá auxiliar na obtenção de um genoma de referência (SOUZA et al., 2011).

2.4 A doença carvão da cana-de-açúcar

Como dito, o carvão da cana-de-açúcar é causado pelo fungo *S. scitamineum*, e tem importância desde a sua primeira aparição reportada por Luthra, Suttar e Sandhu (1940) em Natal, uma região da África do Sul, em 1877. A doença já foi constatada em todos os países com cultivos comerciais de cana, com exceção apenas de Papua Nova Guiné e das ilhas Fiji, que compõem o centro de origem de *S. officinarum* (COMSTOCK; LENTINI, 2005).

No Brasil, o carvão tem ocorrência generalizada, desde a sua primeira constatação no Estado de São Paulo, em 1946. Com o estabelecimento do programa Proálcool, criado pelo governo federal, a partir de 1975, o fungo teve condições ótimas de disseminação, o que causou altos índices de infecção e perdas de produção. Nesse período, a variedade 'NA56-79' chegou a ocupar 50% da área plantada, mas foi substituída rapidamente por causa da sua suscetibilidade à doença (BERGAMIN FILHO et al., 1987). Desde então, tanto na seleção de genitores quanto no comportamento das progênies, leva-se em conta a reação das plantas de cana ao carvão.

A disseminação do carvão pode ocorrer pelo transporte aéreo de teliosporos, transporte por insetos, e através de mudas ou solo contaminado (COMSTOCK; LENTINI, 2005). Fatores climáticos como a temperatura (entre 23 a 30°C) e umidade elevada (acima de 65%) favorecem a disseminação e o desenvolvimento do patógeno. Assim, a existência de condições ótimas para a disseminação fez com que se registrasse novamente a ocorrência do carvão no Brasil, nos anos de 2010 a 2013, coincidindo com a primeira detecção da ferrugem alaranjada (*P. kuehnii*) no país. É importante considerar que alterações na agressividade do patógeno podem provocar mudanças na reação das variedades ao carvão e que, sob condições de estresse hídrico e calor, as variedades tornam-se mais suscetíveis ao patógeno, tornando difícil o controle da doença (veja CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; RAGO; CASAGRANDE; MASSOLA JÚNIOR, 2009).

A doença inutiliza os colmos, deixando-os em condições inadequadas para o processo de industrialização, reduzindo a biomassa e a produção de açúcar e etanol. Desse modo, pode causar a perda total da safra. As estimativas de perda

calculadas para uma série de variedades revelou que a cada 1% de aumento no número de plantas infectadas, há um aumento de 0,6% na perda de produção (SUGAR RESEARCH AUSTRALIA - SRA, 2013).

2.5 A interação da cana-de-açúcar com o carvão

S. scitamineum é um fungo biotrófico pertencente ao filo Basidiomycota, classe Ustilaginomycetes, ordem Ustaginales, e família Ustilaginaceae (HAUKSWORTH et al., 1995). Conhecido previamente como *Ustilago scitaminea*, o fungo foi alocado no gênero *Sporisorium* por Piepenbring et al. (2002), devido às características morfológicas dos teliósporos e também por análises de sequências de LSU rDNA.

O ciclo de vida de *S. scitamineum* inicia-se com a germinação dos teliósporos, que ocorre nas escamas das gemas e também na região basal de folhas novas, seguido pela formação do apressório. Segundo Waller (1970), a máxima formação de apressórios ocorre entre 12 e 24 h, em gemas jovens incubadas a 31 °C. Paralelamente, Alexander e Ramakrishnan (1980) reportaram que os teliósporos levam entre 6 a 36 h para penetrarem nos tecidos meristemáticos, e observaram hifas crescendo intercelularmente após três dias (72 h).

Assim como em todos os fungos causadores de carvão, *S. scitamineum* apresenta duas fases distintas: uma fase monocariótica na qual as hifas crescem saprofiticamente e de forma não patogênica, e uma fase dicariótica, na qual as hifas são infectivas. A infecção da planta é iniciada pela ocorrência de reação sexual compatível (*mating type*) entre as hifas haplóides; entretanto, a germinação dos teliósporos também pode originar diretamente células dicarióticas (infectivas) (DAY; ANAGNOSTAKIS, 1971).

O sistema de *mating type* de *S. scitamineum* é bipolar e controlado por dois loci *a* e *b*. O *locus a* apresenta dois alelos os quais codificam um lipopeptídeo com função de feromônio. O *locus b* é multialélico e codifica fatores de transcrição da família *homeodomain*, que controlam a patogenicidade e o desenvolvimento sexual (KRONSTAD; LEONG, 1990; ALBERT; SCHENCK, 1996).

A infecção da planta é essencial para o fungo completar o estágio sexual de seu ciclo de vida, uma vez que os teliósporos são formados apenas quando o fungo está em associação com tecidos vivos da planta. De acordo com Trione (1980), o fungo cresce lentamente em todos os tecidos da planta, acumulando-se no meristema apical, aonde as hifas se modificam fisiologicamente e citologicamente para a fase reprodutiva. Nessa fase, as hifas fragmentam-se, produzindo células irregulares em forma e comprimento, inseridas numa matriz gelatinosa que as mantém hidratadas. Gradualmente o citoplasma e a parede celular tornam-se definidos, resultando em teliósporos maduros.

Ao mesmo tempo, a planta alonga o internó e o meristema apical, formando uma estrutura conhecida como “chicote”, composta pelo tecido do hospedeiro e por tecido do fungo, que serve como fonte de teliósporos (Figura 2). Inicialmente, o chicote é recoberto por uma película prateada que, posteriormente, se rompe expondo os teliósporos de coloração preta ou marrom aveludada (BOCK, 1964; MARQUES et al., 2014). Essa estrutura, que emerge no topo das plantas infectadas, é um sintoma claramente distinguível, o que faz a doença ser diagnosticada com facilidade (ANTOINE, 1960). Outros sintomas também são evidentes antes do aparecimento do chicote, como superbrotamento das touceiras, redução do diâmetro e desenvolvimento dos colmos, folhas mais curtas e eretas, proliferação das gemas laterais e alteração da cor dos tecidos internos do colmo próximo ao meristema apical (COMSTOCK; LENTINI, 2005; BERGAMIN FILHO et al., 1987).

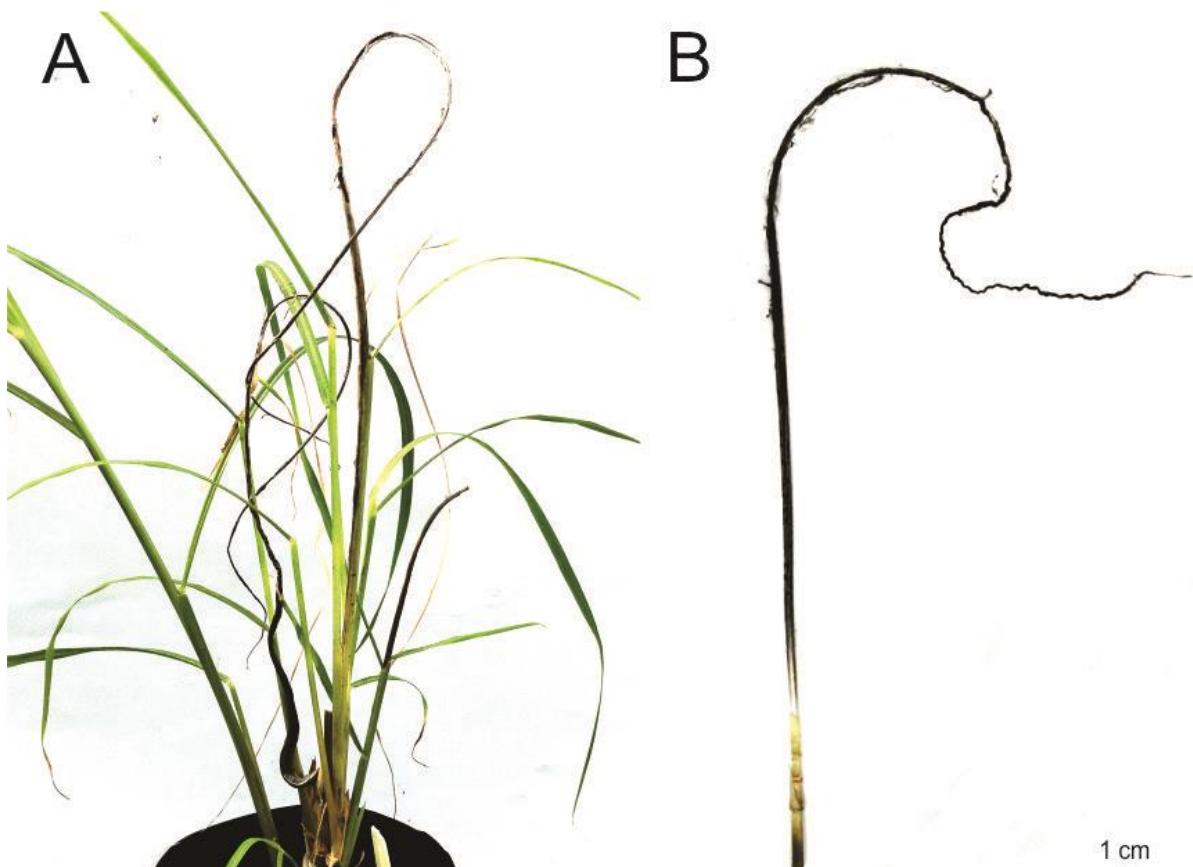


Figura 2 - Ilustração do chicote de *Sporisorium scitamineum*. Em A: planta infectada apresentando dois chicotes, em B: estrutura do chicote após removido da planta. O material foi fotografado no Laboratório de Genética Molecular de Plantas Cultivadas, em Piracicaba - SP, no ano de 2012

A disseminação do carvão ocorre principalmente pelo transporte aéreo de teliósporos, e também pelo transporte por insetos, e através de mudas ou solo contaminado (COMSTOCK; LENTINI, 2005).

2.6 Mecanismos de resistência da cana-de-açúcar a *S. scitamineum*

A resistência das variedades ao carvão é avaliada pela inoculação de teliósporos, seguida pela contagem de chicotes emitidos pelas plantas durante meses de avaliação. Baseado nesses resultados, as variedades são classificadas como resistentes, intermediárias (tolerantes) ou suscetíveis à doença; porém, existem variações para tal classificação. Recentemente, Bueno (2010) estudou diversas condições pré- (idade das gemas, concentração de inóculo e tipo de inoculação) e pós-inoculação (temperatura e umidade de incubação), o que possibilitou a padronização dos sistemas de avaliação. Entretanto, cabe lembrar que

os resultados da inoculação artificial muitas vezes diferem da infecção natural, porque deve ser levada em consideração a agressividade do carvão e a natureza da resistência (LLYOD; PILLAY, 1980).

Alguns mecanismos de resistência ao carvão são propostos para a cana-de-açúcar, e a combinação entre estes é que irá determinar o grau de resistência das variedades. O primeiro deles é um mecanismo pré-formado, referente às características morfológicas e de crescimento das gemas, que impede ou dificulta a entrada do patógeno (WALLER, 1970). A caracterização estrutural de gemas de uma variedade resistente ('SP70-1143') e uma suscetível ('NA56-79') ao carvão confirmou que existem diferenças na quantidade de escamas, tricomas e de tecidos significados, que foram sempre superiores na variedade resistente (APPEZZATO-DA-GLORIA; ALBERNAS; AMORIM, 1995).

No mesmo sentido, Bueno (2010) observou que a incidência do carvão difere com a idade fisiológica das gemas; geralmente, as gemas mais novas (localizadas na ponta do colmo) são mais suscetíveis e apresentam resultados homogêneos com relação ao índice de infecção. Também, foi verificado que a infecção ocorre nos primeiros dias de brotação. Isto condiz com as observações de Waller (1970), que afirmou que a suscibilidade das gemas em brotação é devida ao aumento da área na qual o apressório pode ser formado, o que permite ao fungo um fácil acesso entre os tecidos da planta. Segundo o autor, a velocidade de crescimento das gemas também pode afetar o acesso das hifas infectivas nas regiões meristemáticas das gemas, sendo esta mais uma característica que influencia na resistência.

O segundo mecanismo refere-se à resistência interna da gema, no qual várias moléculas estão envolvidas na defesa vegetal. Em 1980, Lloyd e Pillay notaram que a germinação dos teliósporos nas gemas é inibida com o status de resistência de cada variedade, devido a substâncias identificadas como flavonóides. Posteriormente, vários autores verificaram haver uma correlação positiva entre a presença de substâncias glicosídicas, glicoproteínas e a resistência ao carvão (LLOYD; NAIDOO, 1983; FONTAINELLA et al., 2002; MILLANES et al., 2004).

Poliaminas são moléculas essenciais para a divisão celular e o crescimento de hifas, e a sua conjugação foi descrita como um mecanismo de defesa de várias plantas contra a infecção por fungos (RAJAM et al., 1985). Assim, estudando os diferentes níveis de poliaminas e a formação de conjugados fenólicos em cana-de-

açúcar, após a infecção com o carvão, Legaz et al. (1998) identificaram moléculas de spermidina e spermina presentes apenas em plantas doentes, bem como um aumento do teor de cadaverina e de fenóis após a infecção. As poliaminas apareceram como uma resposta constante à infecção, com padrões diferentes de conjugação a fenóis em plantas suscetíveis e resistentes.

Uma cascata de mecanismos de defesa também é induzida após o estabelecimento da infecção, na qual se incluem os genes de resistência. Os primeiros estudos visando à identificação de genes diferencialmente expressos em resposta à infecção iniciaram-se com a técnica cDNA-AFLP, desenvolvida por Bachem et al. (1996). Estudando a variedade resistente 'N52/219' e a suscetível 'Co301', Thokoane e Rutherford (2001) encontraram dois padrões de polimorfismos aos sete dias após a inoculação: (i) marcas presentes apenas na variedade resistente quando infectada com carvão, o que indica a ativação ou super expressão de genes em resposta à infecção e (ii) marcas presentes na variedade resistente (infectada ou não) e na suscetível, o que pode estar relacionado à existência de mecanismos pré-formados de resistência em 'N52/219', ou ser resultado de indução de uma resposta tardia de resistência em 'Co301'. Um total de 13 marcas de cDNA-AFLP, denominadas TDFs (do inglês: *Transcript Derived Fragment*) foram sequenciadas, e apresentaram homologia com proteínas quinases e seu receptor (RLK), sendo envolvidas na transdução de sinais. A Pto quinase e o S-RLK, também identificados constituem, respectivamente, um gene de resistência e um elicitador de quitina, que induz mecanismos de defesa. Homologia também foi encontrada com o LTR retrotransponson *Typ3/gypsy*.

No trabalho de Borrás-Hidalgo et al. (2005), os clones 'Ja S-44' (resistente) e 'Ja 60-5' (suscetível) foram avaliados 2 meses após a inoculação com o carvão, obtendo-se 62 TDFs em resposta à infecção. Cinquenta e dois TDFs foram sequenciados, dos quais 19 apresentaram função conhecida, sendo a maioria associada com processos de defesa ou transdução de sinais. Como exemplo, foi encontrado um homólogo à uma proteína com estrutura típica de resistência (NBS-LRR-like), e também genes codificando enzimas da via de fenilpropanóides, que envolve muitas respostas de defesa incluindo a produção de fitoalexinas e ácido salicílico. Os TDFs não associados a esses processos corresponderam a transportadores, processos metabólicos, síntese proteica e energia.

No mesmo contexto, Lao et al. (2008) encontraram 92 TDFs, avaliando os genótipos 'M31/45' e 'Ja 60-5', resistente e suscetível ao carvão, respectivamente. Com base no sequenciamento de 64 desses transcritos, foram identificados genes envolvidos em estresse oxidativo, defesa, e em vias do etileno e da auxina, como resposta à infecção. Como as amostras foram coletadas nos momentos iniciais da infecção (72 horas após a inoculação), os autores propuseram que esses genes possuem papel fundamental na defesa inicial das plantas contra *S. scitamineum*. Igualmente, o estudo sobre expressão diferencial realizado por Que et al. (2011a) avaliou a variedade resistente 'NCo376' e identificou 136 TDFs. Quarenta desses TDFs foram sequenciados e validados, obtendo-se 28 genes relacionados diretamente com a presença do patógeno. A expressão de 37 destes TDFs foi confirmada por RT-PCR.

Diferenças na abundância de proteínas em plantas infectadas com o carvão foram estudadas por Que et al. (2011b), usando as variedades 'NCo376' e 'Ya71-374', resistente e suscetível ao carvão, respectivamente. As proteínas identificadas por eletroforese bidirecional (2-DE) e MALDI-TOF-TOF/MS foram relacionadas à fotossíntese, resistência a doenças e transdução de sinais, o que corrobora com os trabalhos previamente descritos.

Com base na técnica RNAseq, Wu et al. (2013) identificaram uma elevada quantidade de genes diferencialmente expressos na variedade 'Yacheng 05-179', resistente ao carvão. De um total de 2.015 genes, 55% foram *up* regulados e 45% *down* regulados. Através de anotação funcional, a análise da categoria "processos biológicos" mostrou que a maioria desses genes se relaciona a processos celulares e metabólicos; e da categoria "função molecular", atividade catalítica e ligação são as mais representadas. Pela análise das vias do metabolismo, as vias metabólicas e ribossomais destacam-se em relação às demais, com o número de genes *up* regulados sendo significativamente maior que o número de *down* regulados.

Apesar de muitos genes e proteínas já terem sido identificados, estudos mais detalhados são necessários visando identificar o papel de cada um deles na interação cana - *Sporisorium*, bem como para agregar mais evidências da sua participação na resposta de defesa. A resistência ao carvão é quantitativa, herdável e consideravelmente influenciada pelo ambiente (veja CHAO; HOY; SAXTON, 1990).

Nosso grupo de pesquisa construiu um mapa de ligação para uma população F₁ segregante de cana-de-açúcar, com base em marcadores AFLPs, EST-SSRs, e ancorados no retrotranspon *sclvana_1* (PALHARES et al., 2012). Os genitores da população foram a variedade ‘TUC 71-7’ e o clone ‘IAC 66-6’, resistente e suscetível ao carvão, respectivamente. Posteriormente, marcadores TRAP (*Target Region Amplification Polymorphism*) e mais loci EST-SSRs foram adicionados, para aumentar a cobertura e a densidade do mapa prévio, e avaliações fenotípicas dos indivíduos dessa população foram conduzidas, o que permitiu o mapeamento de oito locos quantitativos associados à resposta a *S. scitamineum*, em dois anos de avaliação (RODRIGUES-MORAIS, 2013). Os resultados do presente trabalho permitirão mapear as sequências dos genes identificados como diferencialmente expressos e, consequentemente, conhecer os possíveis candidatos dos locos quantitativos mapeados.

Também, o estudo do transcriptoma expresso pelo hospedeiro na interação cana - *Sporisorium* é inédito no Brasil, e sua análise deve fornecer resultados importantes sobre a base molecular da interação, bem como a respeito do tratamento de dados das sequências oriundas de RNAseq.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

A variedade 'RB92-5345', que apresenta resistência intermediária ao carvão (RIDES, 2010), constitui o material vegetal utilizado neste trabalho. Os colmos foram coletados na empresa CanaVialis S.A., localizada em Conchal, SP, a partir de plantas com 7 meses de idade. Mini toletes (240) localizados acima do terço médio das plantas foram selecionados para os ensaios de inoculação.

Primeiramente, os 240 mini toletes foram submetidos a um tratamento de desinfecção, que se constituiu em banho térmico por 30 min. a 52 °C, realizado no Centro de Cana do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), localizado em Ribeirão Preto, SP. Em seguida, o material foi tratado com hipoclorito de sódio (NaOCl) na concentração de 0,01% de cloro por 10 min., e lavado com água ultrapura por 3 vezes. O material foi deixado secar para a evaporação dos resíduos de cloro. Subsequentemente, foi montada uma câmara úmida para estimular o brotamento das gemas antes da inoculação com o fungo. Foram usadas bandejas contendo papel umedecido em água ultrapura, nas quais os mini toletes foram dispostos com as gemas voltadas para cima, sendo posteriormente cobertos por duas camadas de papel úmido. As bandejas foram incubadas (BOD) a 28 °C durante 16 h.

3.2 Material fúngico: obtenção dos teliósporos e preparo do inóculo

Chicotes induzidos por *S. scitamineum* emitidos pelo clone 'IACSP98-2053', que é suscetível ao carvão, foram coletados em janeiro de 2012 no Centro de Cana do IAC. Para a obtenção dos teliósporos, os chicotes foram secos sob uma fonte de luz, peneirados e, então, os teliósporos foram guardados em tubos falcon, sendo posteriormente acondicionados a 4 °C.

A viabilidade dos teliósporos foi avaliada através de um teste de germinação em meio de cultura ágar-água, de modo similar ao descrito por Bueno (2010). Primeiramente, foi preparada uma diluição dos teliósporos a 10^{-4} e uma alíquota de

100 µL foi aplicada no meio de cultura e espalhada usando uma alça de Drigalsky. As placas foram seladas e incubadas a 28 °C durante 8 h e, em seguida, acondicionadas a 4 °C para inviabilizar a germinação.

Após o resfriamento, foi realizada a contagem de aproximadamente 100 teliósporos em 4 placas diferentes, anotando-se a quantidade de germinados e a de não germinados. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de germinação, calculada como $\frac{\text{Quantidade de teliósporos germinados}}{\text{Total de teliósporos}} \times 100$.

Para o preparo do inóculo, utilizaram-se amostras de teliósporos cuja viabilidade foi igual ou superior a 80%. Para isso, os teliósporos foram misturados com água ultrapura, formando uma “pasta de teliósporos”, que se consistiu no inóculo.

3.3 Inoculação de *S. scitamineum* e condições de crescimento

Após passagem pela câmara, os mini toletes foram transferidos para duas bandejas contendo vermiculita umedecida, sendo que a inoculação se deu em local sombreado e sob temperatura controlada (28 a 30 °C). Dois tratamentos foram estabelecidos: o tratamento ‘infectado’ e o tratamento ‘controle’. Com o auxílio de uma agulha fina, foi feito delicadamente um furo ao lado direito de cada uma das gemas, visando quebrar a sua resistência mecânica para facilitar a entrada do patógeno, mas de modo a evitar danos no pólo germinativo da planta. Em seguida, um pincel com cerdas macias foi molhado na “pasta de teliósporos” e passado imediatamente sobre as gemas do tratamento ‘infectado’ (Figura 3). Para as gemas do tratamento ‘controle’, foi realizado o mesmo procedimento, porém outro pincel foi molhado em água ultrapura. Por fim, o material foi coberto com vermiculita umedecida e incubado em uma casa de vegetação sob temperatura controlada (26 a 30 °C) e irrigação diária. Após 5 dias, as gemas foram transferidas para vasos contendo igual proporção de terra vegetal e substrato Tropstrato®, em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

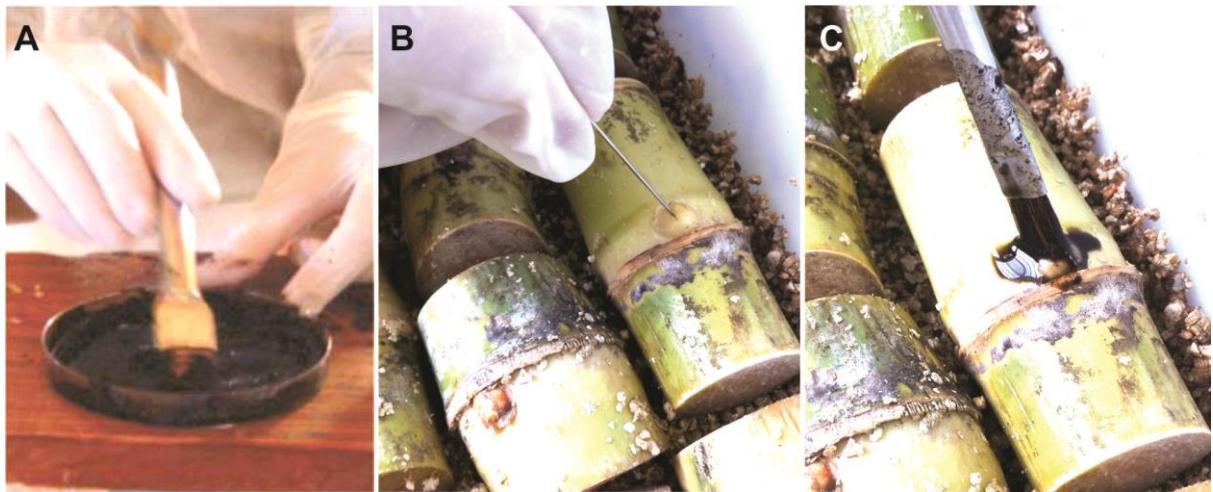


Figura 3 - Procedimento de inoculação. A: Preparo da "pasta de teliósporos"; B: Quebra da resistência mecânica; C: Pincelamento com a "pasta de teliósporos"

3.4 Coleta das amostras para as análises moleculares

Dois momentos de amostragem foram definidos para a realização das análises moleculares, visando caracterizar as respostas iniciais e tardias à infecção fúngica. A primeira coleta foi realizada às 120 h após a inoculação (HAI), quando a infecção já estava estabelecida, em seus estágios iniciais. Tal coleta consistiu na remoção de 30 gemas de cada um dos tratamentos, para a formação de três *pools*, contendo 10 gemas cada. A segunda coleta foi realizada no momento da emissão dos chicotes. Do tratamento ‘infectado’, foram coletados a parte basal do chicote e 2 cm do colmo localizado imediatamente embaixo. Do tratamento ‘controle’, foi coletada parte do colmo localizado na altura correspondente à região coletada das plantas com chicote. Três plantas foram coletadas de cada um dos tratamentos (Figura 4).

Após a coleta, o material foi armazenado em tubos falcon, devidamente identificados e mantidos em nitrogênio líquido até serem incubados em freezer -80 °C para a posterior extração dos ácidos nucleicos.

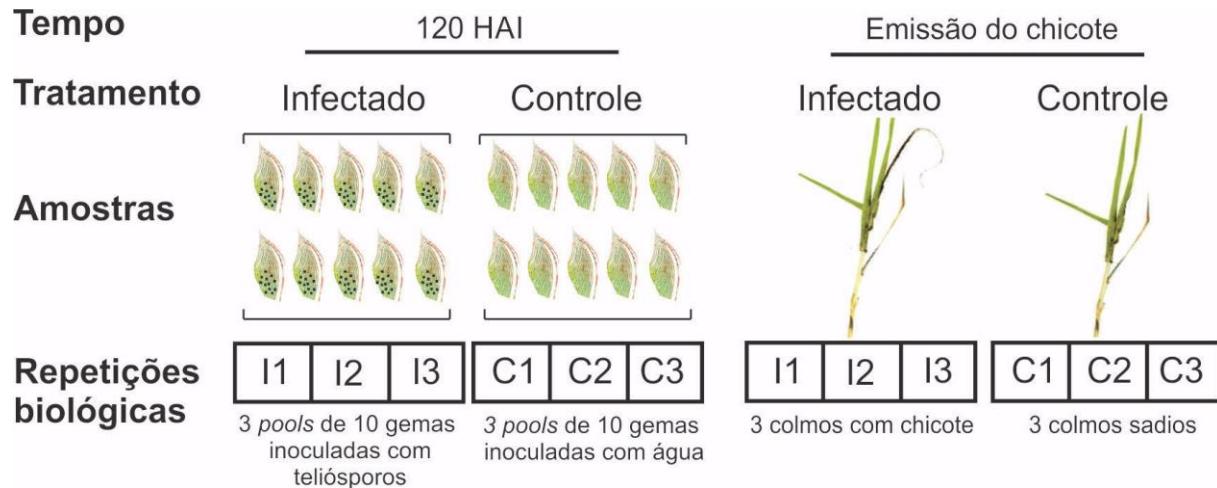


Figura 4 - Amostras coletadas para as análises moleculares

3.5 Extração do RNA

Devido às diferenças na consistência dos tecidos das gemas e dos colmos e na quantidade de material obtido em cada um dos momentos de amostragem, métodos distintos de extração do RNA foram adotados, e estão descritos a seguir.

3.5.1 Primeira coleta

O RNA total foi extraído separadamente para cada um dos *pools* de gemas, usando-se o método que utiliza cloreto de lítio (LiCl), adaptado de Gasic et al. (2004) e Oliveira (2012). Primeiramente, as gemas foram maceradas em nitrogênio líquido, e 2 g de tecido foram transferidos para um tubo *falcon* de 15 mL, ao qual foram adicionados 4 mL de tampão de extração, contendo: 2% de brometo de cetiltrimetilâmônio (CTAB), 100 mM Tris-HCl (pH 8,0), 25 mM de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 2 mM de cloreto de sódio, 2% de polivinilpirrolidona 40.000 (PVP) e 2% de β-mercaptopropano. Este tampão foi pré-aquecido durante 5 min. em banho-maria a 65 °C. As amostras foram agitadas em vórtex e incubadas a 65 °C por 10 min., e levadas ao gelo por 1 min. Após esse processo, foi realizada a primeira extração orgânica. Para isso, foram adicionados 4 mL de clorofórmio:álcool isoamílico (CIA; 24:1 v/v), e as amostras foram homogeneizadas por inversão e centrifugadas a 8.000 rpm por 10 min., a 4 °C. A

fase superior aquosa foi coletada, e a esta foram adicionados 4 mL de CIA (24:1 v/v), para a segunda extração orgânica. Após homogeneizadas, as amostras foram centrifugadas nas mesmas condições anteriores e a fase superior aquosa foi coletada. Para garantir a remoção de qualquer eventual contaminante, as amostras foram novamente centrifugadas e tiveram seu sobrenadante coletado. Para a precipitação do RNA, foi adicionada a solução de LiCl (8 M), num volume equivalente a ¼ do volume do sobrenadante coletado previamente. As amostras foram incubadas a -20 °C *overnight* e centrifugadas a 8.000 rpm por 30 min., a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o pellet lavado por duas vezes com 0,5 mL de etanol 75%, centrifugado a 8.000 rpm por 10 min. a 4 °C, e seco à temperatura ambiente por 20 min., antes de ser ressuspensionado em 61 µL de água 0,001% DEPC autoclavada. Para a remoção de DNA contaminante, as amostras foram tratadas com DNase, adicionando-se 3 U da enzima RQ1 RNase-Free DNase (Promega) e 6 µL do seu respectivo tampão de reação 10 X, sendo incubadas a 37 °C por 30 min. e, em seguida, a 65 °C por 10 min. para a inativação da enzima.

3.5.2 Segunda coleta

Para as amostras de colmos, o RNA total foi extraído usando o reagente TRIzol® (Invitrogen), e seguindo o protocolo do fabricante. Os colmos foram macerados em nitrogênio líquido, e 300 mg de tecido macerado foram transferidos para um tubo de 2 mL. Foi adicionado 1 mL de TRIzol®, e as amostras foram agitadas em vórtex sendo, em seguida, incubadas por 5 min. sob temperatura ambiente (20 a 25 °C). Para a extração orgânica, foram adicionados 200 µL de clorofórmio, e as amostras foram agitadas vigorosamente e incubadas novamente sob temperatura ambiente por 2 min. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm por 15 min., a 4 °C. A fase superior aquosa foi coletada, e a esta foram adicionados 500 µL de isopropanol gelado, para a precipitação do RNA. As amostras foram agitadas por inversão e incubadas sob temperatura ambiente por 10 min., e depois centrifugadas a 12.000 rpm por 10 min., a 4 °C. Removeu-se o sobrenadante e o pellet foi lavado com 1 mL de etanol 75%, agitando-se as amostras no vórtex, centrifugando-as por 5 min. a 7.500 rpm, a 4 °C. O pellet foi deixado secar sob temperatura ambiente por 10 min. e, então,

ressuspendido em 60 µL de água ultra pura. Para a remoção de DNA contaminante, foi feito o tratamento com DNase, adicionando-se 3 U da enzima RQ1 RNase-Free DNase (Promega) e 6 µL do seu tampão de reação 10 X, e incubando-se as amostras a 37 °C por 20 min. Finalmente, o volume de cada amostra foi completado para 100 µL com água ultrapura. A partir desta etapa, uma segunda extração foi realizada, para a remoção da DNase e de impurezas remanescentes. Assim, foram repetidos os passos anteriores, alterando-se apenas os volumes de reagentes para 400 µL de TRIzol® e 100 µL de clorofórmio. Igual volume de isopropanol foi utilizado, e após a precipitação do RNA, o pellet foi lavado com 800 µL de etanol 75%. Finalmente, o pellet foi deixado secar sob temperatura ambiente por 10 min. e, o RNA foi ressuspendido em 50 µL de água 0,001% DEPC autoclavada.

3.6 Análise qualitativa e quantitativa do RNA

Para verificar a integridade do RNA obtido, uma alíquota foi adicionada a um tampão de carregamento na proporção 2:1 e esta mistura foi desnaturada a 65 °C por 5 min. Em seguida, a mistura foi aplicada num gel de agarose 1,5% (p/v) contendo 2% de formaldeído e SYBR® Safe 0,5 X (Invitrogen). A eletroforese ocorreu a 3 V/cm durante 45 min., em tampão TAE 1 x, e o gel foi fotografado sob luz ultravioleta no fotodocumentador MultiDoc- It Digital Imaging System® (UVP).

A concentração do RNA foi estimada no espectrofotômetro NanoDrop (2009 Thermo Scientific Fisher Inc®), e a razão de absorbância $A_{260/280}$ foi calculada para verificar se as amostras apresentavam contaminação com proteínas.

3.7 Confirmação da infecção

As gemas de cana-de-açúcar são assintomáticas quando infectadas com *S. scitamineum*. Desse modo, para garantir que a infecção foi bem sucedida nas amostras coletadas, foi realizada a extração do DNA e a subsequente detecção do fungo via PCR, conforme descrito a seguir.

3.7.1 Extração do DNA

A partir do mesmo macerado obtido para a extração do RNA das gemas coletadas às 120 HAI, foi separada uma alíquota para a extração do DNA. Assim, 2 g de tecido macerado foram colocados sobre um almofariz contendo 6 mL de solução de lise (60 mM de etilenodiaminotetracético (EDTA, pH 8,0), 400 mM de Tris-HCl (pH 8,0), 150 mM de cloreto de sódio, 1% de dodecil sulfato de sódio (SDS) e 10% de β-mercaptoetanol) e o material foi homogeneizado com a ajuda de um pistilo e daí transferido para um tubo. A primeira extração orgânica foi realizada adicionando-se 6 mL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e o material foi homogeneizado por inversão, durante 1 min., e então centrifugado a 8.000 rpm por 45 min. A fração superior foi coletada, e a segunda extração orgânica foi realizada adicionando-se igual volume de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1). Homogeneizou-se por inversão, e o material foi centrifugado a 8.000 rpm por 30 min. A fração superior foi coletada, e o DNA foi precipitado acrescentando-se igual volume de etanol refrigerado. A solução foi agitada lentamente, por inversão, durante 1 min., e centrifugada a 8.000 rpm por 2 min. Descartou-se o sobrenadante, e o DNA foi lavado com 500 µL de etanol 70% gelado, e então centrifugado a 5.000 rpm por 2 min. Descartou-se o sobrenadante, e o pellet foi seco a 50 °C por 10 min., e ressuspendido em 100 µL de TE 10:1. O tratamento com RNase foi realizado adicionando-se 10 µL dessa enzima (1mg/mL) e incubando-se por 30 min. a 37 °C. Após esse período, para a limpeza da RNase, o DNA foi precipitado com igual volume de etanol refrigerado, homogeneizado por inversão durante 1 min., e centrifugado a 5.000 rpm por 2 min. Finalmente, o pellet foi lavado com etanol 70% refrigerado, centrifugado a 5.000 rpm por 2 min., deixado secar sob temperatura ambiente por 30 min., e então ressuspendido em 100 µL de TE 10:1.

A concentração do DNA obtido foi estimada pelo espectrofotômetro NanoDrop (2009 Thermo Scientific Fisher Inc®). Para verificar a integridade do DNA, 5 µL de DNA foram misturados com 3 µL de tampão de carregamento, e a mistura foi aplicada em gel de agarose 0,8% (p/v) com SYBR® Safe 0,5 X (Invitrogen). A eletroforese ocorreu a 3 V/cm durante 1 h, em tampão TBE 1x. O resultado foi fotografado sob luz ultravioleta no fotodocumentador MultiDoc- It Digital Imaging System® (UVP).

3.7.2 Detecção de *S. scitamineum*

A detecção do fungo foi realizada via PCR utilizando-se os *primers* denominados ‘Hs’ e ‘Ha’, descritos por Bueno (2010). Esses *primers* foram desenvolvidos com o intuito de se verificar a presença do fungo nas plantas antes da emissão do chicote e, também, em plantas assintomáticas.

As amostras constituíram-se do DNA extraído de cada um dos três *pools* dos tratamentos ‘infectado’ e ‘controle’. Como controles da reação de amplificação, utilizou-se o DNA do isolado ‘SSC39’ de *S. scitamineum*, obtido por Reis (2012) ou água ultra pura, sem *template*. Preparou-se um mix contendo 20 ng de DNA, 3,76 mM de MgCl₂, 0,1 mM de dNTPs, 2 µM de cada um dos *primers* ‘Hs’ (5’ –AAC ACG GTT GCA TCG GTT GGG TC– 3’) e ‘Ha’ (5’ –G CTT CTT GCT CAT CCT CAC CAC CAA– 3’) 1 X de tampão de *Taq* DNA Polimerase, 3 U de *Taq* DNA Polimerase (Promega®), e água ultra pura para completar o volume final (25 µL). A PCR ocorreu nas seguintes condições: desnaturação a 95 °C por 2 min., seguida de 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por 45 s, e uma extensão final de 72 °C por 5 min.

As amplificações foram misturadas em tampão de carregamento e aplicadas em gel de agarose 1% (p/v) com SYBR® Safe 0,5 X (Invitrogen). A eletroforese ocorreu a 3 V/cm durante 1h:30 min., e o resultado foi registrado pelo fotodocumentador MultiDoc- It Digital Imaging System® (UVP).

3.8 Processamento do RNA

3.8.1 Verificação da integridade do RNA

Previamente à construção das bibliotecas de RNAseq, o RNA total de cada uma das amostras foi diluído para 500 ng/µL para a visualização da sua integridade no equipamento 2100 Bioanalyser (Agilent). Para isso, foi seguido o protocolo Agilent RNA 6000 Nano Assay, de acordo com os procedimentos recomendados com relação à utilização do equipamento e à corrida das amostras, que foi efetuada usando um *chip* específico de RNA. Como resultado, foram fornecidos os valores de

RIN (*RNA integrity number*) de cada uma das amostras, juntamente com o eletroferograma dos rRNAs 28S, 18S e 5S, cuja integridade é essencial para a construção da biblioteca de RNAseq.

3.8.2 Construção das bibliotecas de RNAseq e sequenciamento das amostras

Para a construção das bibliotecas de RNAseq *paired-end* foi utilizado o kit “TruSeq RNA Sample Prep v2 Low Throughput (LT)” (Illumina). Um total de 4 µg de RNA foi necessário para esta etapa. Foram seguidos rigidamente os procedimentos descritos no protocolo que, resumidamente, consiste das seguintes etapas (Figura 5):

- (i) Purificação e fragmentação do mRNA, que é o processo de purificação das moléculas de mRNA através da cauda poli-A, utilizando-se *beads* magnéticas ligadas a *oligos* poli-T. Dois ciclos de purificação são necessários, sendo que durante a segunda eluição do RNA, este também foi fragmentado e preparado para a síntese de cDNA;
- (ii) Síntese da primeira fita de cDNA, realizada através da transcrição reversa dos fragmentos de RNA clivados anteriormente, utilizando-se *primers* randômicos (hexâmeros);
- (iii) Síntese da segunda fita de cDNA, processo que gera cDNAs de dupla-fita e remove o RNA *template*;
- (iv) Reação de reparo das pontas, que converte as saliências resultantes da fragmentação em extremidades abruptas (*blunts*), através da atividade da exonuclease que remove as bases não pareadas das extremidades 3', juntamente com a atividade da polimerase que preenche as saliências 5';
- (v) Adenilação da extremidade 3', etapa em que um único nucleotídeo A é adicionado na extremidade 3' dos fragmentos abruptos para prevenir que eles se liguem entre si durante a reação de ligação dos adaptadores;

- (vi) Ligação de adaptadores: neste passo, os adaptadores são ligados nas extremidades dos cDNAs de dupla fita adenilados, através de um correspondente nucleotídeo T ligado na extremidade 3' do adaptador, o que garante a

complementariedade das saliências. Essa estratégia assegura uma baixa taxa de formação de templates concatenados, e prepara os cDNAs para a hibridização dentro de uma *flow cell*;

(vii) Enriquecimento dos fragmentos de cDNAs, processo que consiste numa PCR para seletivamente obter mais fragmentos de cDNAs que contêm moléculas de adaptadores em ambas as suas extremidades, e para aumentar a quantidade de *template* da biblioteca. A PCR foi realizada com um coquetel de *primers* complementares às bases das extremidades dos adaptadores;

(viii) Validação da biblioteca, etapa realizada para verificar a qualidade da biblioteca e quantificar a população de transcritos.

A qualidade da biblioteca foi avaliada pelo equipamento 2100 Bioanalyser (Agilent), usando *chip* específico de DNA, observando-se a pureza e o tamanho das amostras (~260 pb). A quantificação da biblioteca foi realizada no fluorômetro Qubit® 2.0 (Invitrogen) e por qPCR no termociclador StepOne (Applied Biosystems®), seguindo-se as orientações da Illumina descritas no protocolo ‘Sequencing Library qPCR Quantification Guide’. O sequenciamento das amostras foi realizado no sequenciador HiScanSQ da Illumina.

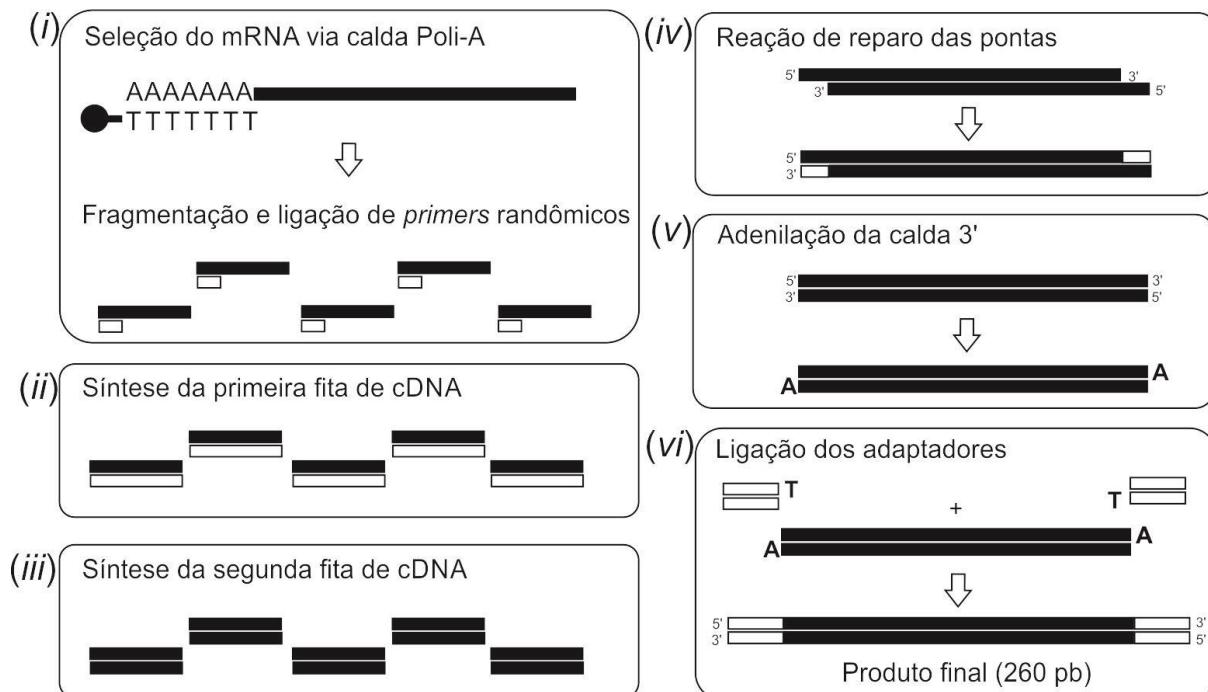


Figura 5 - Etapas para a preparação dos *reads* de RNAseq. O produto final é constituído por cDNA (200 pb) ligado por adaptadores (30 pb) em ambas as suas extremidades

3.9 Processamento dos dados de RNAseq

Os passos para a análise dos dados de RNAseq são descritos a seguir e estão ilustrados na Figura 6.

3.9.1 Checagem da qualidade das sequências

Os *reads* obtidos tiveram sua qualidade analisada pela ferramenta FastQC versão 0.10.1 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>), que fornece um conjunto de análises (*reports*) para cada biblioteca, no qual diagnostica qualquer tipo de problema originado na etapa da sua construção, ou mesmo na etapa de sequenciamento. Tais problemas devem ser corrigidos antes de prosseguir as análises. Primeiramente, a ferramenta libera a quantidade total de sequências e, em seguida, diagnósticos sobre a qualidade das bases, a porcentagem de GC (deve corresponder ao conteúdo GC do genoma do organismo em estudo), a quantidade de bases não nomeadas (N) no processo de *base calling*, o comprimento das sequências, identificando sequências duplicadas ou superexpressas, bem como motivos superexpressos, que podem revelar um resultado significativo do ponto de vista biológico ou indicar que a biblioteca está contaminada.

3.9.2 Trimagem dos *reads*

Após a verificação da qualidade dos *reads*, estes foram *trimados* para a eliminação dos problemas identificados. Para isso, utilizou-se o pacote SeqyClean versão 1.8.10 (https://bytebucket.org/izhbannikov/seqyclean/raw/350a65df6d5390133addf59e2b0e8013ef10fed2/man/SeqyClean_UserManual.pdf). A *trimagem* utilizou como critérios: remoção de bases de baixa qualidade (Phred < 20); eliminação de sequências contaminantes, oriundas de adaptadores do sistema Illumina; eliminação de bases da cauda Poli-A. Finalizado esse processo, *reads* com comprimento final < 50 pb foram descartados. A última etapa foi a eliminação de *reads* provenientes de sequências de RNA ribossomais (rRNAs), utilizando-se como referências para

rRNAs do fungo as seguintes sequências: JN367321 e AY550243 que são números de acesso do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>); e para rRNAs da cana-de-açúcar, a sequência completa de um BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) que contém apenas sequências de ribossomais de cana-de-açúcar (dados não publicados). Desse modo, os *reads* remanescentes desse processo de limpeza formaram o conjunto de dados utilizados na etapa de mapeamento, descrita a seguir.

3.9.3 Mapeamento dos *reads*

Dado que o conjunto de *reads* é proveniente de ambos os organismos envolvidos na interação planta x patógeno, utilizou-se uma referência para o mapeamento e filtragem dos *reads* do fungo, que foi uma versão prévia do genoma de *S. scitamineum* (MONTEIRO-VITORELLO et al., 2013). Foram utilizados como referência para o mapeamento dos *reads* da cana-de-açúcar o genoma de *Sorghum bicolor* e, também, a versão anotada de suas sequências codantes (CDS), disponíveis na plataforma Phytozome, versão 1.4 (<http://www.phytozome.net/sorghum.php>).

Assim, o software *Spliced Transcripts Alignment to a Reference* (STAR) (DOBIN et al., 2013) foi usado para o mapeamento dos *reads* nos genomas de referência, enquanto o software Bowtie 2 versão 2.1.0 (LANGMEAD; SALZBERG, 2012) e a plataforma computacional CLC Genomics Workbench versão 6.0.4 (<http://www.clcbio.com/>) foram usados para o mapeamento dos *reads* nas sequências codantes. Para todos os mapeamentos foram utilizados os parâmetros padrões de cada software.

3.9.4 Medida dos níveis de expressão e análise da expressão diferencial

Baseando-se nos resultados de mapeamento, três estratégias foram adotadas para a identificação dos genes diferencialmente expressos:

(i) Pacote DESeq (ANDERS; HUBER, 2010), usando os resultados de mapeamento dos *reads* no genoma do sorgo, empregando-se o software STAR;

(ii) Pacote DESeq (ANDERS; HUBER, 2010), usando os resultados de mapeamento dos *reads* nas sequências codantes do sorgo (CDS), empregando-se o software Bowtie 2;

(iii) Pacote computacional CLC Genomics Workbench (<http://www.clcbio.com/>), usando o resultado de mapeamento dos *reads* nas sequências codantes do sorgo (CDS), realizado na sua própria plataforma.

Basicamente, esses pacotes realizam a normalização dos dados para comparar as amostras com maior acurácia, calculam os níveis de expressão e, finalmente, realizam o teste para verificar as diferenças de expressão.

Uma vez obtidos os p-valores, foi aplicada a correção *False Discovery Rate* (FDR) visando corrigir os erros associados com os múltiplos testes (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995). Para a seleção dos genes diferencialmente expressos, foram aceitos valores com FDR $\leq 5\%$.

Por fim, os genes diferencialmente expressos identificados nas três estratégias foram usados para a construção de diagramas de Venn, no software R versão 3.0.2 (<http://www.r-project.org/>), visando verificar as intersecções dos resultados e aumentar a acurácia das análises.

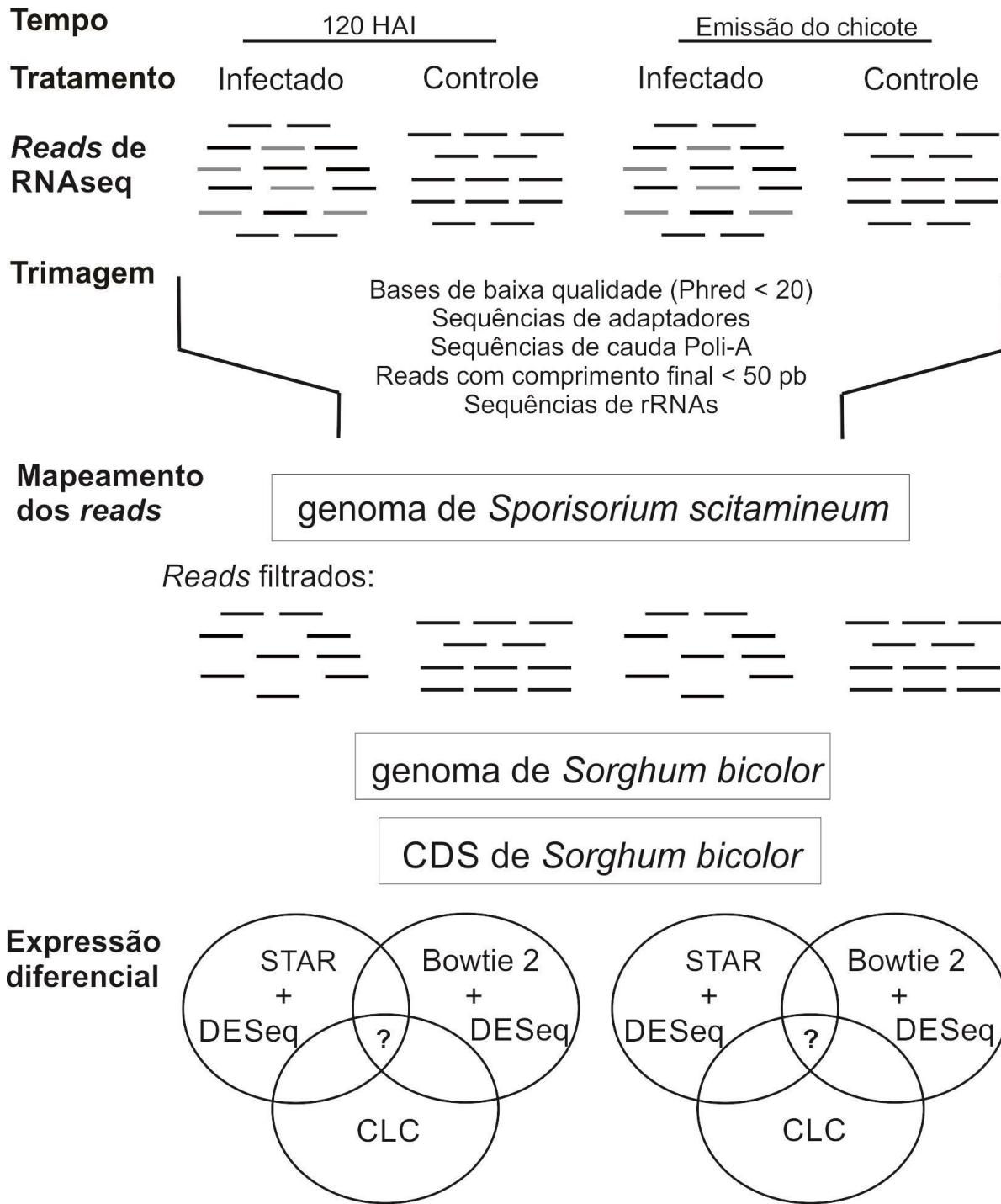


Figura 6 - Representação esquemática do processamento dos dados de RNAseq

3.10 Análise funcional

Paralelamente às análises de mapeamento e expressão diferencial, os genes identificados foram analisados do ponto de vista funcional, usando a ferramenta

Blast2GO (<http://www.blast2go.de>). Esta ferramenta realiza a anotação funcional das sequências, permitindo a identificação das funções gênicas por similaridade, pela associação com os termos oriundos do Gene Ontology (<http://www.geneontology.org/>). Assim, foi possível visualizar a distribuição das anotações em diferentes categorias funcionais.

As categorias dos genes diferencialmente expressos foram visualizadas em diagramas de vias metabólicas, metabolismos secundários e processos celulares, usando a ferramenta MAPMAN versão 3.6.0 (THIMM et al., 2004).

4 RESULTADOS

4.1 A incidência da doença

Após 5 dias da inoculação, as gemas foram transferidas para uma estufa, e a partir do 60º dia foi feita a verificação semanal da presença de chicotes. O experimento foi avaliado durante 11 meses, e as plantas que apresentavam chicotes foram contadas e removidas para evitar que ocorresse a contaminação das plantas que ainda estavam sob avaliação. De um total de 120 gemas infectadas e 120 controles, houve 32,5% e 40,0% de mortalidade, respectivamente. A proximidade entre esses valores mostra que não houve interferência do fungo na germinação das gemas. Esta taxa de mortalidade pode ser devida ao ferimento feito na gema durante a inoculação. A incidência da doença foi avaliada a partir de 81 plantas infectadas que se desenvolveram, e o primeiro chicote foi emitido no início do quinto mês, aos 127 dias.

Essa demora na emissão dos chicotes é característica de genótipos com resistência intermediária ao carvão, uma vez que genótipos suscetíveis chegam a apresentar chicotes a partir dos 30 dias. Ao final da avaliação, 43 plantas infectadas (53%) apresentaram chicote. Houve maior incidência no 8º e 10º mês (Figura 7), sendo que não houve doença nas plantas controles.

Aos 200 dias após a inoculação (DAI), em 2/11/2013, foram coletadas as amostras para a extração do RNA sendo que, essas amostras serão aqui referidas pela denominação ‘200 DAI’.

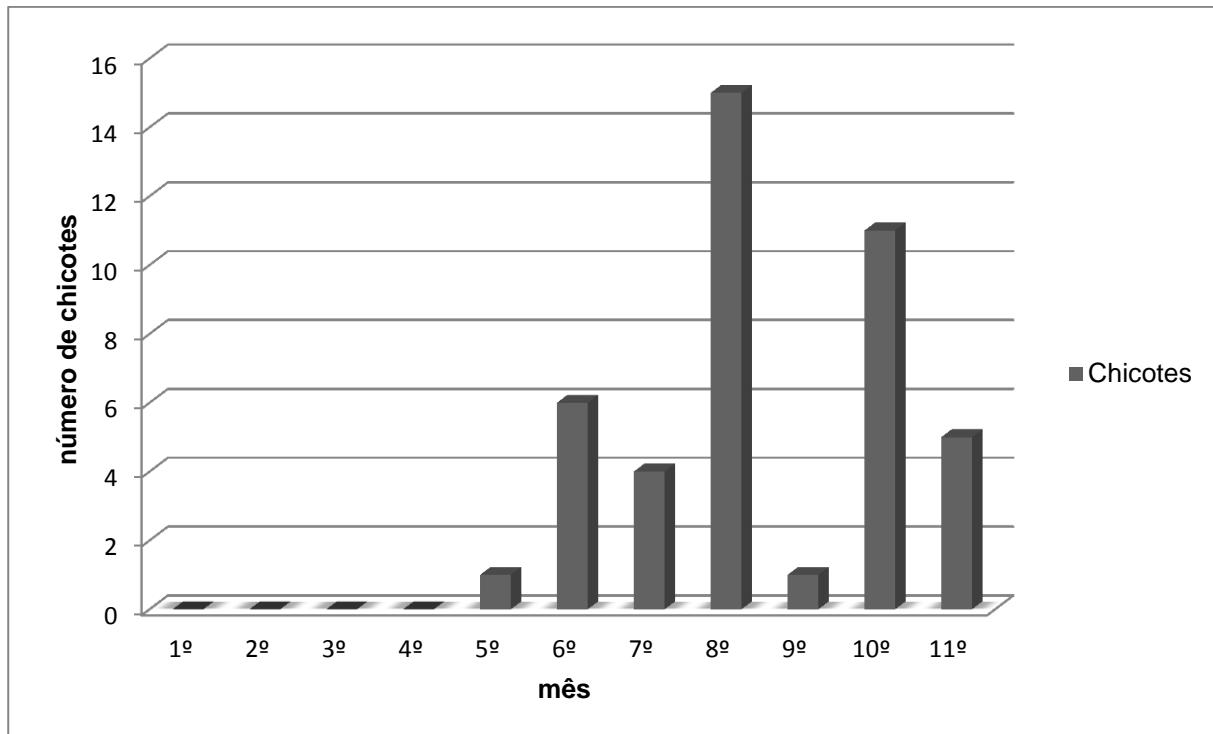


Figura 7 - Incidência de chicotes ao longo dos meses de avaliação

4.2 Extração do RNA

O protocolo baseado em cloreto de lítio resultou em amostras de RNA, com boa qualidade, extraídas das gemas e de colmos sem chicote; entretanto, para as amostras de colmos com chicote, o RNA extraído mostrou-se degradado. Por isso, adotou-se o protocolo baseado no reagente TRIzol® para as amostras do segundo momento de coleta, resultando em RNAs íntegros (Figura 8), com concentração variando de 3.251,9 ng/µL a 6.248,1 ng/µL para as amostras extraídas de gemas, e de 118,3 ng/µL a 1.126,7 ng/µL para as amostras extraídas de colmos. Pode-se notar que as extrações com cloreto de lítio apresentaram concentrações superiores de RNA comparativamente às amostras extraídas com TRIzol®. Houve quantidade de RNA suficiente para a construção das bibliotecas de RNAseq. Com relação as razões de absorbância, estas foram superiores a 1,80, o que indicou ausência de contaminação por proteínas.

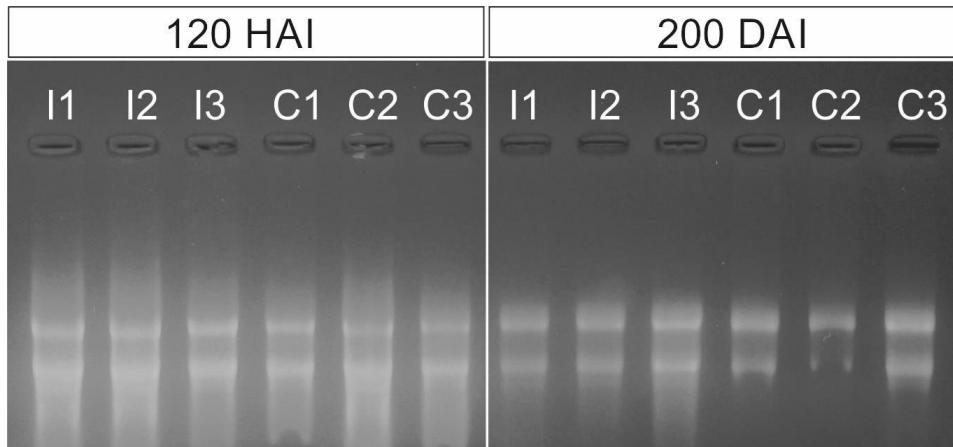


Figura 8 - Perfil do RNA extraído das amostras coletadas nos dois momentos de amostragem (120 HAI e 200 DAI). São mostradas as 3 repetições dos tratamentos ‘infectado’ (I) e ‘controle’ (C)

4.3 Extração do DNA e confirmação da infecção

A Figura 9 mostra o DNA extraído das gemas coletadas as 120 HAI, a partir do mesmo macerado usado para a extração do RNA.

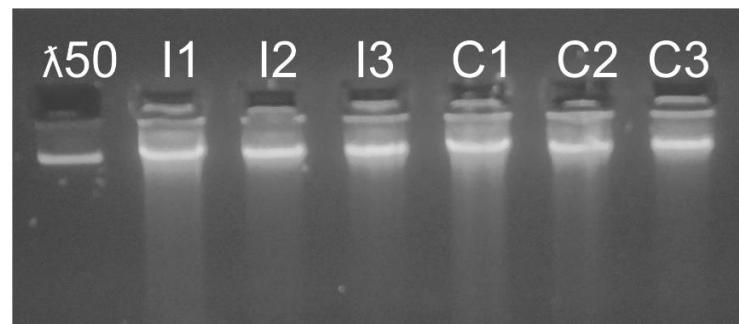


Figura 9 - Perfil do DNA das amostras de gemas infectadas (I) e controles (C), com as três repetições

Esses DNAs foram testados com os primers ‘Hs’ e ‘Ha’ para confirmar a presença do fungo nas amostras do tratamento ‘infectado’, nos estágios iniciais da infecção. O resultado é apresentado na Figura 10.

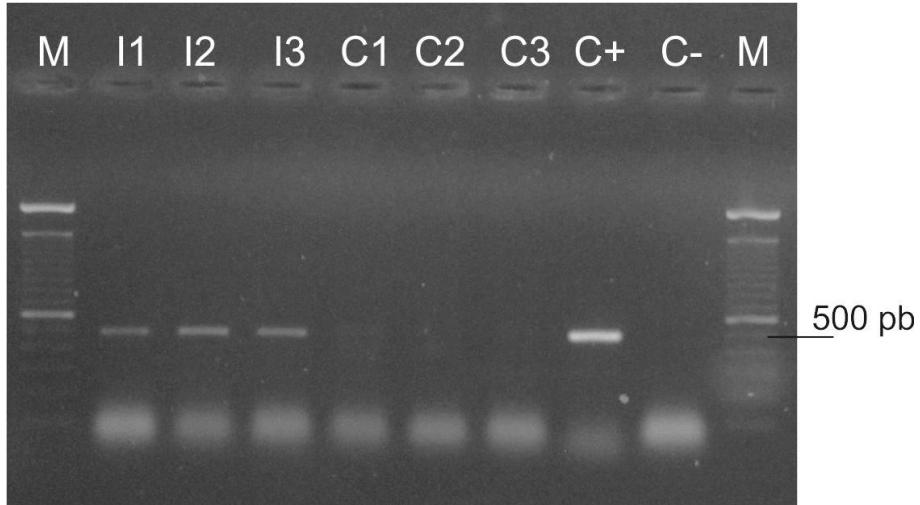


Figura 10 - Amplificação com os primers 'Hs' e 'Ha'. Em I: amostras do tratamento 'infectado' (3 repetições), C: amostras do tratamento 'controle' (3 repetições), C+: controle positivo, C-: controle negativo. M: Marcador de massa molecular de 100 pb (Invitrogen)

O amplicon de tamanho esperado (509 pb) foi amplificado em todas as repetições das amostras infectadas e também no controle positivo, que continha DNA *template* de um isolado de *S. scitamineum*. Sendo assim, confirmou-se a infecção das amostras inoculadas com a “pasta de teliósporos”; então, a construção das bibliotecas de RNAseq pode ter início.

4.4 Integridade dos RNAs e checagem das bibliotecas de RNAseq

A integridade dos RNAs foi analisada pelo equipamento 2100 Bioanalyser. Os resultados foram visualizados em eletroferogramas (Figura 11), nos quais a quantidade de fluorescência das amostras é correlacionada com a quantidade de rRNA de um dado tamanho e, então, representada por picos. Em todas as amostras pode-se visualizar os picos referentes aos rRNAs 28S, 18S e 5S.

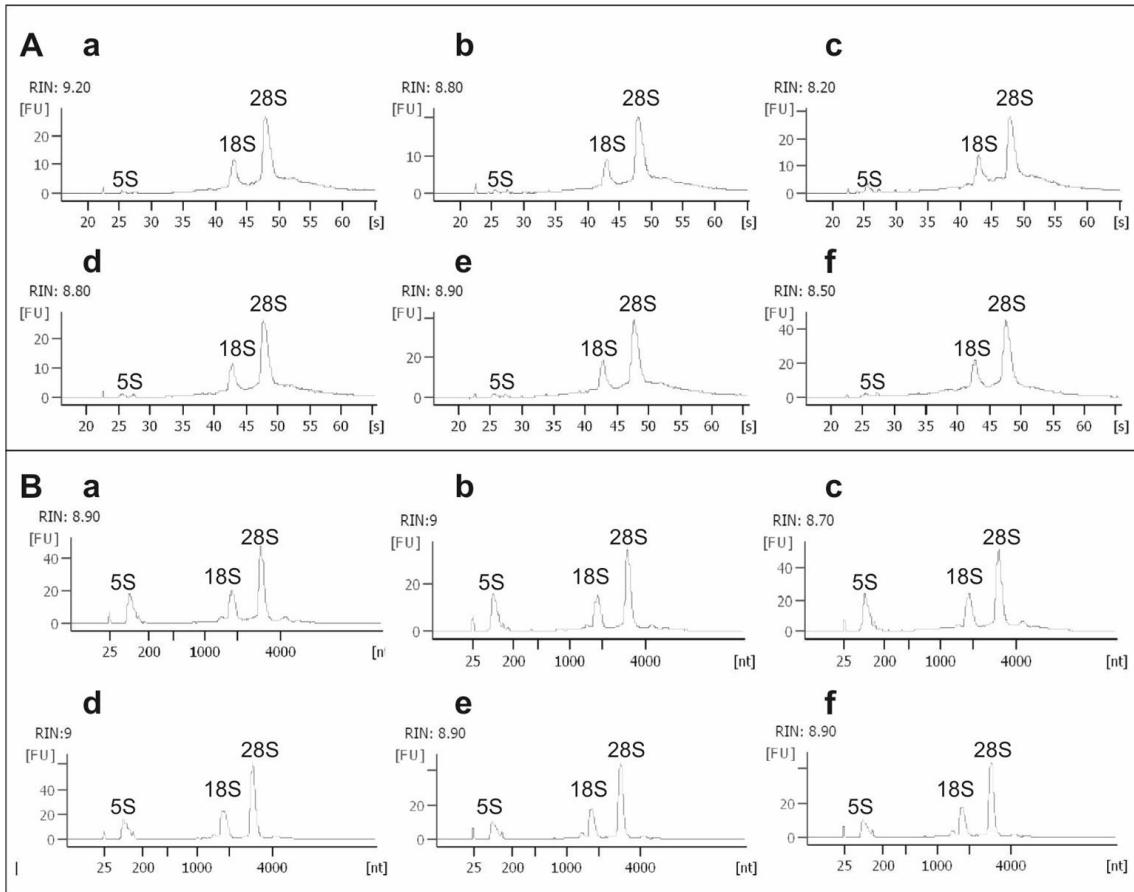


Figura 11 - Eletroferograma dos RNAs. Em A: RNA extraído de gemas infectadas e controles. Em B: RNA extraído de colmos com chicote (amostras infectadas), e colmos sadios (amostras controles). As letras "a", "b" e "c" indicam as três repetições do tratamento 'infectado'; as letras "d", "e" e "f" indicam as do 'controle'. Os picos correspondentes aos rRNAs 28S, 18S e 5S são indicados

Os respectivos valores de RIN (*RNA Integrity Number*) são calculados a partir de um algoritmo que leva em consideração as razões 28S:18S dos rRNAs extraídos. Assim, quanto maior o valor de RIN, maior é a sua integridade, sendo o seu máximo igual a 10 (SCHROEDER et al., 2006). No presente trabalho, o menor valor de RIN obtido foi igual a 8,20 (Figura 11), o que é considerado alto. Ao lado dos perfis dos eletroferogramas estes valores de RIN confirmaram que todas as amostras apresentaram RNA íntegro, adequados à construção das bibliotecas.

Depois de finalizadas, as bibliotecas de RNAseq apresentaram fragmentos de 200 pb de cDNA ligados em ambas as extremidades a adaptadores de 30 pb cada, totalizando fragmentos de 260 pb. Para a checagem da qualidade dessas bibliotecas, utilizou-se o equipamento 2100 Bioanalyser, que mostrou, para todas as amostras, eletroferogramas com picos correspondentes ao tamanho esperado. Assim, as bibliotecas puderam ser quantificadas e sequenciadas.

4.5 Reads obtidos e o seu preparo para o mapeamento no sorgo

Doze bibliotecas de RNAseq foram sequenciadas, correspondentes aos dois momentos de amostragem (120 HAI e 200 DAI), contendo em cada momento três repetições do tratamento ‘infectado’ (I1, I2 e I3), e outras três repetições do ‘controle’ (C1, C2 e C3). Foi obtido um total de 225,2 milhões de *reads* de 100 pb, com uma média de 18 milhões de *reads* por biblioteca (Tabela 1). Esse valor corresponde a 22,5 bilhões de pares de bases. Em ambos os momentos a quantidade de *reads* por tratamento foi bastante homogênea.

A partir do processamento que envolveu a trimagem dos *reads* e o seu mapeamento tomando como referência o genoma do fungo *S. scitamineum* (6.355 ORFs), foram obtidos 185,1 milhões de *reads* alinháveis, prontos para serem utilizados na etapa de mapeamento, tomando como referência o sorgo. Cabe salientar que do processo de trimagem, foram obtidos tanto *reads* pareados (96,8%), referentes as duas pontas (R1 e R2) do cDNA, como também *reads* únicos (3,2%), cujo par correspondente foi removido nessa etapa. A fim de garantir a alta qualidade do mapeamento, apenas os *reads* pareados foram considerados, e estes corresponderam a 82,2% do total de *reads* originalmente obtidos.

A biblioteca do tratamento ‘infectado’ ‘200DAI_I1’ foi a que apresentou a menor quantidade de *reads* alinháveis após a trimagem (51,2%), e a sua análise pela ferramenta FastQC mostrou a existência de sequências superexpressas, indicando que havia contaminação com adaptadores do sistema Illumina.

Além disso, cerca de 2 e 20% dos *reads* das bibliotecas infectadas foram mapeados no genoma do fungo aos 120 HAI e 200 DAI, respectivamente. Esses valores confirmam a ocorrência da infecção nos estágios iniciais, bem como o estabelecimento da doença, com significativo aumento na quantidade de fungo no momento da emissão do chicote. A filtragem dos *reads* do fungo ficou evidente quando observou-se o total de *reads* passível de alinhamento dessas bibliotecas aos 200 DAI, que apresentaram as menores porcentagens (I1-51,2%, I2-73,7% e I3-76,1%) em relação às demais (Tabela 1).

Os *reads* passíveis de alinhamento, resultantes da trimagem e filtragem tomando-se o genoma do fungo como referência, correspondem, portanto, a *reads paired-end* de cana-de-açúcar, com alta qualidade e tamanho entre a 50 a 100 pb.

Tabela 1 - Total de *reads* obtidos em ambos os momentos de análise para cada biblioteca dos tratamentos ‘infectado’ (I) e ‘controle’ (C)

Biblioteca	Total de	Total de <i>reads</i> por	Total de <i>reads</i>
	Reads	tratamento*	alinháveis*
120HAI_I1	16.266.804		14.224.866 (87,4)
120HAI_I2	21.017.222	56.359.504 (50,4)	17.980.574 (85,6)
120HAI_I3	19.075.478		16.518.232 (86,6)
120HAI_C1	17.166.848		14.575.638 (84,9)
120HAI_C2	18.564.444	55.567.454 (49,6)	15.475.708 (83,4)
120HAI_C3	19.836.162		18.160.820 (91,6)
120HAI_ <i>Total</i>	111.926.958		96.935.838 (86,6)
200DAI_I1	17.705.938		9.061.072 (51,2)
200DAI_I2	21.691.820	57.014.970 (50,3)	15.986.054 (73,7)
200DAI_I3	17.617.212		13.412.328 (76,1)
200DAI_C1	19.382.530		16.979.182 (87,6)
200DAI_C2	18.126.950	56.254.256 (49,7)	16.116.462 (88,9)
200DAI_C3	18.744.776		16.665.832 (88,9)
200DAI_ <i>Total</i>	113.269.226		88.210.930 (77,9)
Total	225.196.184		185.146.768 (82,2)

* Os números entre parênteses correspondem às respectivas percentagens

4.6 Mapeamento dos *reads* usando o sorgo como referência

O mapeamento dos *reads* provenientes da cana-de-açúcar foi realizado usando-se como referência o sorgo (*Sorghum bicolor*), que possui cerca de 730 milhões de pares de bases. Conforme descrito em Material e Métodos (ítem 3.9.3), três softwares foram usados para o mapeamento: STAR para o mapeamento dos *reads* usando o genoma do sorgo como referência; Bowtie 2 e CLC Genomics

Workbench para o mapeamento dos *reads* usando sequências codantes como referência (CDS) (Tabela 2). O software STAR foi o que levou à maior porcentagem de *reads* mapeados nos dois momentos de análise (66,5 e 66,3%), seguido pelo Bowtie 2 (53,2 e 54,0%) e CLC (48,4 e 49,3%).

Tabela 2 - Quantidade de *reads* mapeados usando o sorgo como referência. STAR, Bowtie 2 e CLC são softwares de análise de bioinformática

Biblioteca	Genoma	Sequências codantes (CDS)	
	STAR	Bowtie 2	CLC
120HAI_I1	9.440.466	7.546.494	6.860.280
120HAI_I2	11.966.008	9.558.102	8.682.018
120HAI_I3	10.958.216	8.776.334	7.973.838
120HAI_C1	9.656.136	7.685.902	6.977.292
120HAI_C2	10.332.442	8.289.430	7.564.420
120HAI_C3	12.100.726	9.738.680	8.833.600
120HAI_ <i>Total</i> * 120HAI_ <i>Total</i> *	64.453.994 (66,5)	51.594.942 (53,2)	46.891.448 (48,4)
200DAI_I1	5.961.598	4.822.640	4.403.484
200DAI_I2	10.519.730	8.563.360	7.829.556
200DAI_I3	9.009.182	7.349.966	6.740.274
200DAI_C1	11.203.368	9.118.160	8.322.620
200DAI_C2	10.720.898	8.773.946	7.973.378
200DAI_C3	11.059.720	9.030.850	8.223.680
200DAI_ <i>Total</i> * 200DAI_ <i>Total</i> *	58.474.496 (66,3)	47.658.922 (54,0)	43.492.992 (49,3)

* Os números entre os parênteses correspondem às respectivas porcentagens

Considerando-se todo o genoma ou somente as CDS, o total de referências foi idêntico: 29.448. Já o total de referências que tiveram pelo menos 1 *read* mapeado, por software, está apresentado na Tabela 3.

O mapeamento resultou em quantidades muito próximas de referências mapeadas por software, e os valores podem ser considerados altos. O software

STAR revelou a menor taxa de referências mapeadas relativamente aos demais, nos dois momentos.

Tabela 3 - Referências mapeadas nos dois momentos de análise, segundo o *software* usado

Software	Referências mapeadas*	
	120 HAI	200 DAI
STAR	22.719 (77,1)	22.584 (76,7)
Bowtie 2	25.925 (88,0)	25.887 (87,9)
CLC	25.333 (86,0)	25.348 (86,1)

* Os números entre parênteses correspondem às respectivas percentagens

As referências com maior número de *reads* mapeados, comuns aos dois momentos de análise, foram: (i) uma *sucrose synthase* 2 (Sb01g033060.1), importante enzima envolvida no catabolismo da sacarose (COLEMAN; YAN; MANSFIELD, 2009), (ii) *heat shock proteins* (Sb07g028270.1, Sb08g018750.1 e Sb09g022580.1), que são induzidas por estímulos ambientais adversos, principalmente temperatura (TAKAHASHI; NAITO; KOMEDA, 1992), (iii) *chlorophyll a-b binding proteins* (Sb02g032040.1 e Sb09g028720.1), engajadas na captura da energia luminosa e sua transferência para os centros de reação fotoquímicos (GREEN; PICHERSKY; KLOPPSTECH, 1991) e (iv) uma *tubulin alpha-2* (Sb01g009570.1), constituinte dos microtúbulos, que desempenha funções em processos celulares basais, tais como a divisão celular e o transporte intracelular, entre outros (LUDWIG et al., 1987).

Também se observou considerável diferença no número de *reads* mapeados quando comparados os dois momentos da análise. Entre as referências com maior número de *reads* mapeados, destacam-se a *phenylalanine ammonia-lyase* (Sb04g026510.1) e a *s-adenosylmethionine synthetase 1* (Sb09g002840.1) com respectivamente ~2,4 vezes e ~3,0 vezes mais *reads* mapeados aos 200 DAI. A enzima *caffeic acid 3-O-methyltransferase* (Sb07g003860.1) está entre as mais expressas (3,7 vezes) aos 200 DAI, mas não às 120 HAI. A *phenylalanine ammonia-lyase* é uma importante molécula precursora de vários fenilpropanóides, como a lignina, flavonóides e coumarinas (SCHUSTER; RÉTEY, 1995), a *s-*

adenosylmethionine synthetase 1 é uma enzima envolvida na regulação gênica, dada a sua função de doar grupos metil, e também uma precursora do etileno, importante no controle do desenvolvimento e no desencadeamento de respostas de defesa contra patógenos (TAKUSAGAWA; KAMITORI; MARKHAM, 1996; XU et al., 1994). A enzima *caffeic acid 3-O-methyltransferase* é requerida para a síntese de lignina (GUO et al., 2001).

Exemplificando, a Figura 12 ilustra o resultado padrão obtido para as referências preferencialmente expressas acima citadas, baseado no valor médio dos *reads* mapeados pelo software Bowtie 2. A figura mostra algumas diferenças na quantidade de *reads* mapeados, considerando os dois momentos de análise, que ficam bastante evidentes nas três últimas referências (*phenylalanine ammonia-lyase*, *s-adenosylmethionine synthetase 1* e *caffeic acid 3-O-methyltransferase*). Nota-se também que o desvio padrão foi maior nos dados do segundo momento, o que se justifica pela dificuldade inerente ao controle experimental, dado que as plantas já estão com 200 dias de idade.

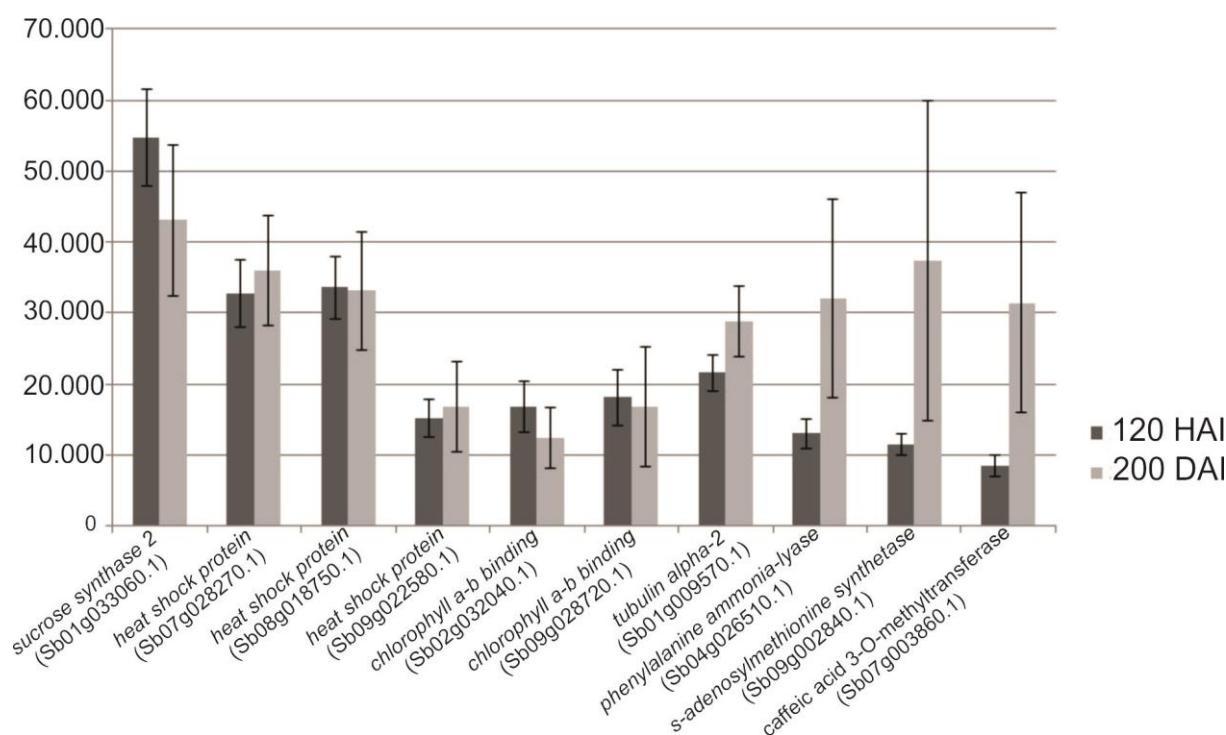


Figura 12 - Perfil de expressão das referências preferencialmente mapeadas, com base no valor médio de *reads* mapeados (eixo y). Dados são referentes ao mapeamento realizado pelo Bowtie 2

4.7 Identificação dos genes diferencialmente expressos em resposta à infecção

Com base nos resultados de mapeamento, foi feita a análise da expressão diferencial usando três estratégias: os resultados obtidos pelo STAR e Bowtie 2 foram combinados pelo pacote DESeq, e os resultados do CLC foram conduzidos pela própria plataforma (Tabela 4, Anexos A e B).

Tabela 4 – Número de genes diferencialmente expressos, segundo três estratégias computacionais, nos dois momentos de análise

Estratégia	Genes diferencialmente expressos	
	120 HAI	200 DAI
(i) STAR e DESeq	260	230
(ii) Bowtie 2 e DESeq	490	341
(iii) CLC	85	2097
(i) + (ii) + (iii)*	41	206

* Número de genes comuns identificado pelas três estratégias

Com base em STAR e DESeq, 260 genes apresentaram expressão diferencial às 120 HAI, e 230 genes aos 200 DAI. Já os resultados de Bowtie 2 e DESeq foram: 490 e 341 genes diferencialmente expressos no primeiro e segundo momento de análise, respectivamente. Interessantemente, quando aplicou-se a correção FDR para a seleção dos genes diferencialmente expressos às 120 HAI, todos os genes apresentaram valor igual a 1, significando que não eram diferencialmente expressos. Por isso, os genes desse momento foram selecionados com base em p-valores, ao nível de 5% de significância.

Com base no algoritmo do software CLC, 85 genes foram diferencialmente expressos às 120 HAI, e 2.097 genes aos 200 DAI. Neste caso, todos os genes puderam ser selecionados com base nos valores de FDR (5%).

A construção de diagramas de Venn permitiu a comparação entre esses resultados (Figura 13). Somando-se o número de genes diferencialmente expressos

e identificados pelos três métodos, obteve-se um total de 596 genes às 120 HAI, e 2.148 aos 200 DAI.

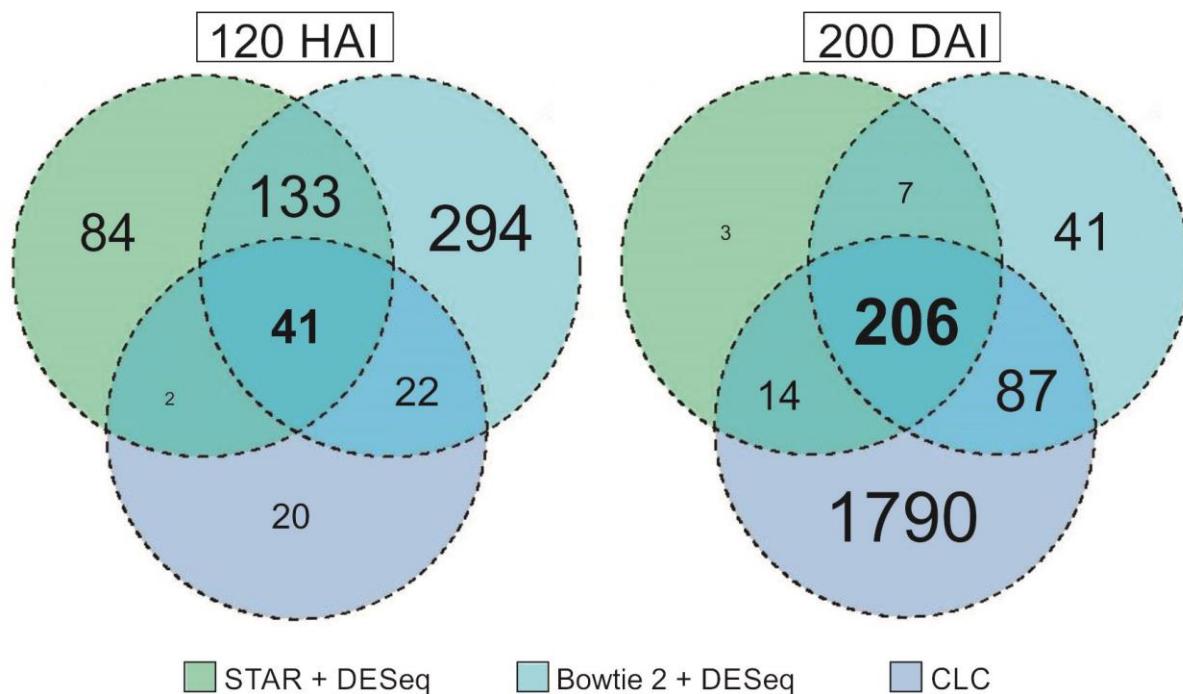


Figura 13 - Diagramas de Venn mostrando a distribuição de genes específicos e comuns segundo as estratégias adotadas, nos dois momentos de análise (120 HAI e 200 DAI)

Subsequentemente, procedeu-se à análise funcional, usando a ferramenta BLAST2GO (Figura 14). Dos genes diferencialmente expressos às 120 HAI, 461 deles (77,3%) tiveram suas sequências anotadas, e estas foram associadas a até 35 termos GO. Aos 200 DAI, 1.707 deles (79,5%) tiveram suas sequências anotadas, associadas a até 34 termos GO. A Figura 14 mostra o número de termos GO atribuído a cada categoria ontológica do nível hierárquico '1', que compreende as categorias basais "processo biológico", "função molecular" e "componente celular".

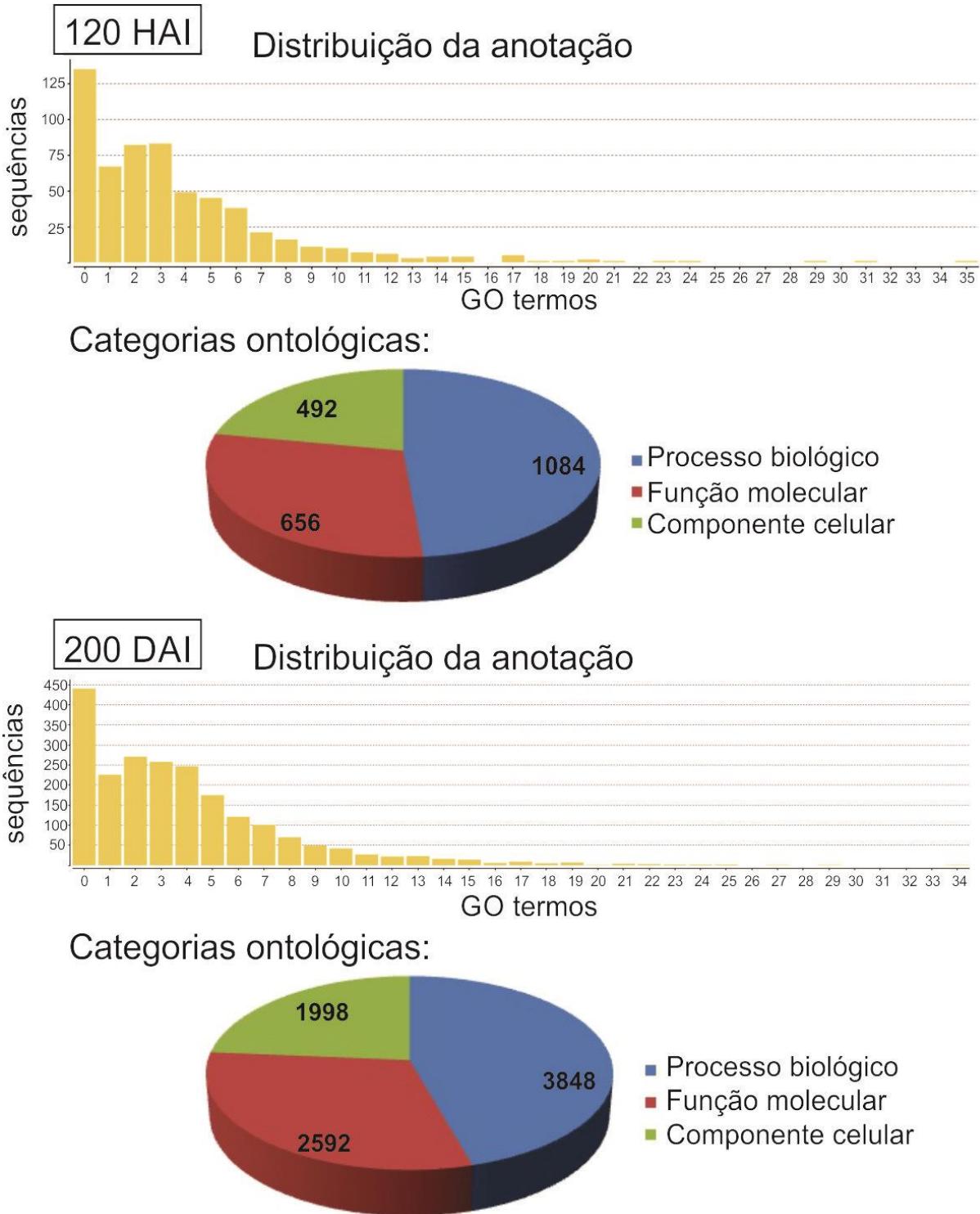


Figura 14 – Atribuição dos genes diferencialmente expressos a termos ontológicos (GO terms) e a sua distribuição nas categorias basais do nível hierárquico ‘1’

Segundo a anotação pelo *Gene Ontology* (GO), uma sequência pode ser associada a mais de um termo GO ou a mais de uma categoria funcional. Exemplificando, a atividade de uma proteína pode estar associada a mais de um

processo metabólico, em locais específicos da célula. Em ambos os momentos (120 HAI e 200 DAI), a categoria "processo biológico" foi a que teve a maior quantidade de sequências atribuídas, seguida por "função molecular", e "componente celular".

O mapeamento nas vias metabólicas disponibilizadas pelo KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*), realizado na própria ferramenta BLAST2GO, permitiu verificar que os genes aqui identificados como diferencialmente expressos participam de 104 vias do metabolismo, sendo 61 vias às 120 HAI, e 97 aos 200 DAI (Tabela 5).

Tabela 5 – Número de referências associadas às vias de interação molecular e de reação da plataforma KEGG, em cada momento da interação cana-de-açúcar - *Sporisorium scitamineum*

(continua)

	Vias metabólicas	120 HAI		200 DAI	
		R*	E**	R*	E**
1	Aflatoxin biosynthesis	-	-	1	1
2	Alanine, aspartate and glutamate metabolism	2	2	7	3
3	Alpha-Linolenic acid metabolism	2	2	3	3
4	Aminoacyl-tRNA biosynthesis	-	-	9	8
5	Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	1	1	9	9
6	Aminobenzoate degradation	5	1	9	2
7	Arginine and proline metabolism	3	3	15	12
8	Arachidonic acid metabolism	-	-	2	2
9	Ascorbate and aldarate metabolism	2	1	1	1
10	Atrazine degradation	-	-	1	1
11	Beta-Alanine metabolism	4	4	6	5
12	Biosynthesis of ansamycins	-	-	3	1
13	Biosynthesis of unsaturated fatty acids	1	1	3	3
14	Biotin metabolism	1	1	-	-
15	Butanoate metabolism	1	1	-	-
16	Butirosin and neomycin biosynthesis	-	-	1	1
17	Carbon fixation in photosynthetic organisms	2	2	18	10
18	Carbon fixation pathways in prokaryotes	-	-	10	8
19	Carotenoid biosynthesis	-	-	4	4
20	Citrate cycle (TCA cycle)	-	-	19	11
21	Cyanoamino acid metabolism	2	2	4	2
22	Cysteine and methionine metabolism	5	7	14	13

* R: Quantidade de referências associadas na via de interação

** E: Quantidade de enzimas codificadas pelas referências, associadas na via de interação

Tabela 5 – Número de referências associadas às vias de interação molecular e de reação da plataforma KEGG, em cada momento da interação cana-de-açúcar - *Sporisorium scitamineum*

(continuação)

Vias metabólicas	120 HAI		200 DAI	
	R*	E**	R*	E**
23 Chloroalkane and chloroalkene degradation	-	-	1	1
24 Diterpenoid biosynthesis	-	-	1	1
25 Drug metabolism - cytochrome P450	1	1	9	3
26 Drug metabolism - other enzymes	2	2	6	4
27 Ether lipid metabolism	-	-	1	1
28 Fatty acid biosynthesis	3	3	4	3
29 Fatty acid degradation	-	-	3	3
30 Fatty acid elongation	-	-	2	1
31 Flavonoid biosynthesis	1	1	4	2
32 Folate biosynthesis	-	-	2	3
33 Fructose and mannose metabolism	1	2	10	7
34 Galactose metabolism	4	4	11	5
35 Glucosinolate biosynthesis	-	-	1	1
36 Glutathione metabolism	4	4	13	6
37 Glycerolipid metabolism	2	1	12	6
38 Glycerophospholipid metabolism	3	3	7	4
39 Glycine, serine and threonine metabolism	1	1	10	7
40 Glycolysis / Gluconeogenesis	3	3	26	16
41 Glycosaminoglycan degradation	1	1	-	-
42 Glycosphingolipid biosynthesis - chondroitin sulfate/Dermatan Sulfate	-	-	1	1
43 Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series	1	1	-	-
44 Glycosphingolipid biosynthesis - heparan sulfate/Heparin	-	-	1	1
45 Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	-	-	13	8
46 Histidine metabolism	1	1	2	1
47 Indole alkaloid bioynthesis	1	1	1	1
48 Inositol phosphate metabolism	5	5	5	4
49 Isoquinoline alkaloid biosynthesis	2	4	3	4
50 Linoleic acid metabolism	1	1	1	1
51 Lipoic acid metabolism	-	-	1	1
52 Lipopolysaccharide biosynthesis	-	-	1	1
53 Lysine biosynthesis	1	1	3	2
54 Lysine degradation	1	1	6	2

* R: Referências associadas na via de interação

** E: Enzimas codificadas pelas referências, associadas na via de interação

Tabela 5 – Número de referências associadas às vias de interação molecular e de reação da plataforma KEGG, em cada momento da interação cana-de-açúcar - *Sporisorium scitamineum*

(continuação)

	Vias metabólicas	120 HAI		200 DAI	
		R*	E**	R*	E**
55	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	1	1	7	2
56	Methane metabolism	1	1	15	8
57	N-Glycan degradation	-	-	2	2
58	Naphthalene degradation	-	-	1	1
59	Nicotinate and nicotinamide metabolism	-	-	4	3
60	Nitrogen metabolism	-	-	7	6
61	Novobiocin biosynthesis	1	4	2	4
62	One carbon pool by folate	-	-	4	2
63	Other glycan degradation	1	1	2	2
64	Other types of O-glycan biosynthesis	-	-	2	2
65	Oxidative phosphorylation	1	1	12	6
66	Pantothenate and CoA biosynthesis	2	2	2	2
67	Pentose and glucoronate interconversions	2	1	5	2
68	Pentose phosphate pathway	2	2	15	8
69	Peptidoglycan biosynthesis	-	-	1	1
70	Phenylalanine metabolism	9	7	18	9
71	Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	2	5	4	8
72	Phenylpropanoid biosynthesis	7	2	14	3
73	Phosphatidylinositol signaling system	3	3	5	3
74	Phosphonate and phosphinate metabolism	1	1	-	-
75	Polyketide sugar unit biosynthesis	-	-	1	1
76	Porphyrin and chlorophyll metabolism	1	1	4	4
77	Propanoate metabolism	-		3	3
78	Purine metabolism	10	6	43	16
79	Pyrimidine metabolism	7	6	16	7
80	Pyruvate metabolism	-	-	18	13
81	Retinol metabolism	-	-	2	2
82	Riboflavin metabolism	5	1	8	1
83	Selenocompound metabolism	1	1	3	2
84	Sphingolipid metabolism	1	1	3	3
85	Starch and sucrose metabolism	6	6	25	16
86	Steroid biosynthesis	-	-	1	1

* R: Referências associadas na via de interação

** E: Enzimas codificadas pelas referências, associadas na via de interação

Tabela 5 – Número de referências associadas às vias de interação molecular e de reação da plataforma KEGG, em cada momento da interação cana-de-açúcar - *Sporisorium scitamineum*

	Vias metabólicas	(conclusão)			
		120 HAI	200 DAI	R*	E*
87	Steroid degradation	-	-	2	2
88	Steroid hormone biosynthesis	-	-	1	1
89	Streptomycin biosynthesis	-	-	2	2
90	Styrene degradation	-	-	2	2
91	Sulfur metabolism	4	4	4	5
92	T cell receptor signaling pathway	1	1	4	1
93	Taurine and hypotaurine metabolism	1	1	-	-
94	Terpenoid backbone synthesis	-	-	2	4
95	Tetracycline biosynthesis	-	-	1	1
96	Thiamine metabolism	1	1	8	2
97	Tryptophan metabolism	-	-	5	3
98	Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	2	5	3	3
99	Tyrosine metabolism	3	6	6	8
100	Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	2	2	5	4
101	Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	-	-	3	3
102	Valine, leucine and isoleucine degradation	-	-	3	3
103	Vitamin B6 metabolism	-	-	2	2
104	Zeatin biosynthesis	1	2	-	-

* R: Referências associadas na via de interação

** E: Enzimas codificadas pelas referências, associadas na via de interação

A identificação dessas vias metabólicas mostra que a infecção da cana-de-açúcar pelo fungo *S. scitamineum* promove alterações complexas no hospedeiro. Dentre essas, encontram-se vias essenciais de desenvolvimento vegetal, tais como: as vias de fixação de carbono, do metabolismo do amido e da sacarose, e do metabolismo da frutose e da manose. A via do metabolismo da glicina, serina e treonina, por sua vez, também podem estar associadas à resistência a doenças.

Outra importante via, exemplificando, é a da biossíntese de fenilpropanóides, na qual foram mapeados genes diferencialmente expressos nos dois momentos. Os fenilpropanóides apresentam diversas funções, de acordo com as suas variações estruturais, sendo constituintes de superfícies e de estruturas de suporte, como a

suberina e a lignina, além de outros componentes da parede celular. Isto requer atenção quando se pretende entender as respostas vegetais à infecção, pois se supõe que a parede celular age como uma barreira à penetração do fungo. Os fenilpropanóides também promovem a proteção contra a luz ultravioleta, defendem as plantas contra herbívoros, pela sua ação repelente, são intermediários na interação de plantas e polinizadores, devido à produção de pigmentos florais e compostos aromáticos, e servem como moléculas sinalizadoras na interação de plantas e microrganismos (HAHLBROCH; SCHEEL, 1989).

Através das intersecções dos diagramas de Venn, foi possível identificar 41 genes comuns no primeiro momento de análise, e 206 genes comuns no segundo momento (Tabela 4). Esses genes foram particularmente estudados visando ao entendimento das respostas iniciais e tardias da cana-de-açúcar à infecção.

A sua análise funcional do nível hierárquico '2' (processos biológicos) revelou que, às 120 HAI, a maior parte dos genes diferencialmente expressos está relacionada a 'processos celulares' (23,8%) e 'metabólicos' (26,3%) (Figura 15). Aos 200 DAI, esses mesmos processos predominaram, porém as porcentagens diminuíram (19% e 19,8%, respectivamente), e a quantidade de genes relacionados à resposta a estímulo aumentou de 5,0 para 11,6%. Além disso, nesse momento, apareceram novas categorias, relacionadas ao 'sistema imune' e a 'processos multi-organismos'. Estas categorias envolvem resposta a ameaças internas ou invasivas, e a interação de organismos, incluindo os termos 'patogênese' e 'resposta a outro organismo'.

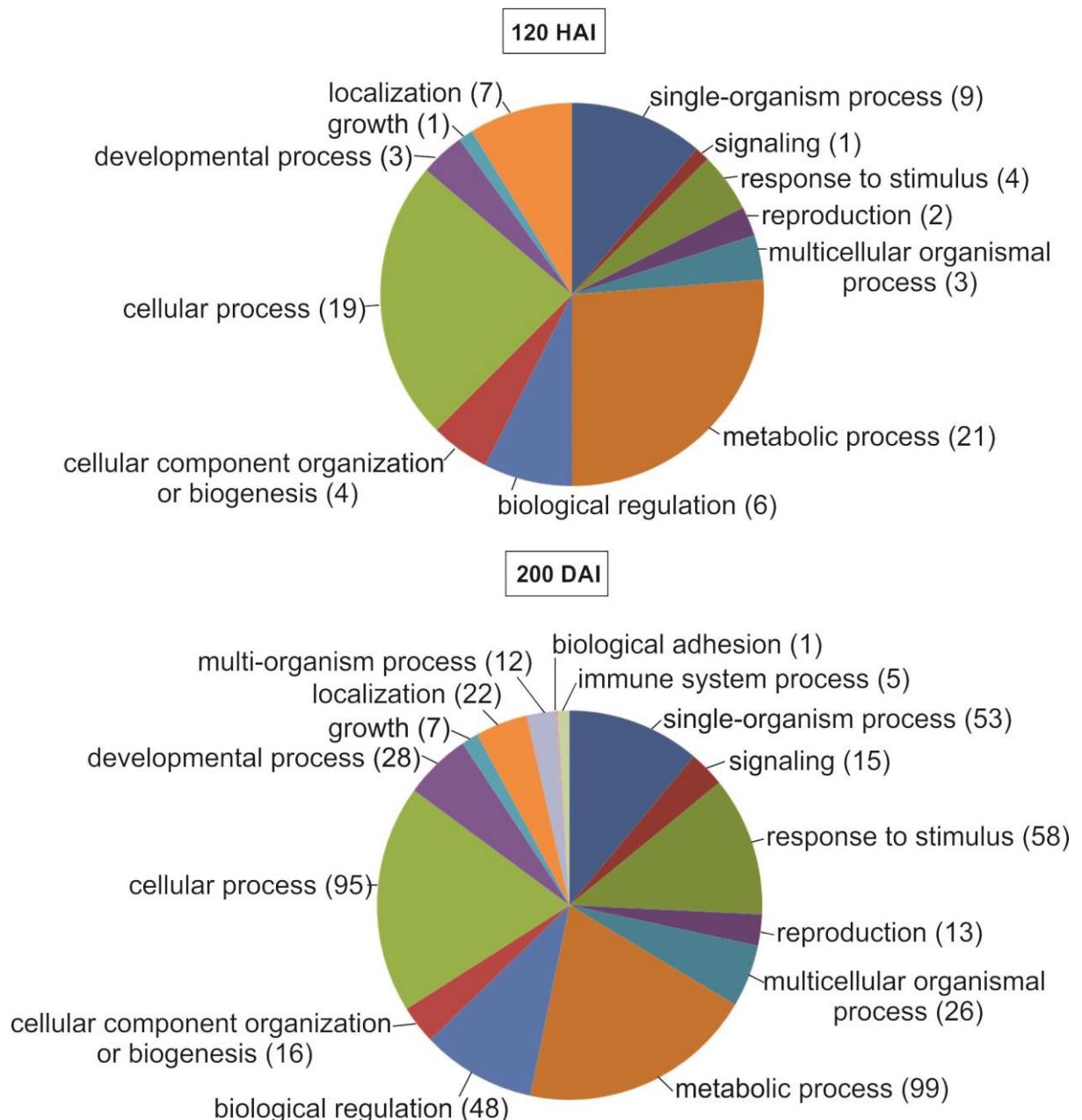


Figura 15 - Atribuição dos genes diferencialmente expressos a "processos biológicos" do nível hierárquico '2'. Entre parênteses são mostradas a quantidade de ocorrências em cada termo ontológico

A seguir, serão descritos os genes diferencialmente expressos que foram identificados pelas três estratégias computacionais adotadas, considerando cada um dos momentos de análise.

4.8 Genes envolvidos na resposta inicial (120 horas) à infecção pelo patógeno

Como citado anteriormente, foram identificados 41 genes diferencialmente expressos às 120 HAI considerando as três estratégias computacionais adotadas. A descrição e a regulação (se *up* ou *down-regulated*) desses genes estão listadas na Tabela 6. Os valores de *Log2 Fold Change* estimados podem ser consultados no Anexo A.

Tabela 6 - Genes diferencialmente expressos às 120 HAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

Referência ID		Gene	S (%) [*]	Regulação	(continua)
1	Sb01g006690.1	Leucine-rich repeat receptor-like serine threonine-protein kinase bam1-like	94,4	<i>up</i>	
2	Sb01g018400.1	Alpha-galactosidase-like isoform x2	94,0	<i>down</i>	
3	Sb01g032690.1	tpa: EF hand family protein	94,4	<i>down</i>	
4	Sb01g036540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g036540	93,4	<i>up</i>	
5	Sb01g039680.1	Catalytic hydrolase	97,6	<i>down</i>	
6	Sb01g041720.1	Peptide transporter ptr2-like	91,2	<i>down</i>	
7	Sb02g004380.1	Early light-induced protein	98,4	<i>down</i>	
8	Sb02g010550.1	KH domain-containing protein at4g18375-like	78,0	<i>down</i>	
9	Sb02g021200.1	Pleiotropic drug resistance protein 2-like isoform x3	88,2	<i>down</i>	
10	Sb02g034873.1	MYB-like protein h-like	62,2	<i>up</i>	
11	Sb02g041244.1	80 kda MCM3-associated isoform x1	90,8	<i>up</i>	
12	Sb03g002660.1	Tpa_inf: class iii hd-zip iii protein hb8	92,2	<i>up</i>	
13	Sb03g002890.1	Prenylated rab acceptor family protein	93,0	<i>down</i>	
14	Sb03g005300.1	Transcription factor tga6-like	85,6	<i>down</i>	
15	Sb03g025490.1	Vesicle transport v-SNARE 13	95,6	<i>up</i>	
16	Sb03g026810.1	Protein casc3-like isoform x1	91,0	<i>up</i>	
17	Sb03g032340.1	F-box kelch-repeat protein at1g23390-like isoform x1	84,6	<i>down</i>	
18	Sb03g034430.1	tpa: plant-specific domain tigr01615 family protein	89,0	<i>down</i>	
19	Sb03g041110.1	tpa: SNRK SAPK family protein kinase	98,0	<i>up</i>	
20	Sb03g041350.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g041350	91,8	<i>up</i>	
21	Sb03g046040.1	2-component response regulator arr8-like isoform x2	84,0	<i>down</i>	
22	Sb04g003700.1	Coiled-coil protein	92,0	<i>up</i>	
23	Sb04g008270.1	Meiosis 5	88,6	<i>down</i>	
24	Sb04g008710.1	Peroxisome biogenesis protein 7-like	97,0	<i>down</i>	
25	Sb04g034590.1	Protein nrde2 homolog	89,8	<i>up</i>	

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 6 - Genes diferencialmente expressos às 120 HAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

Referência ID		Gene	S (%)*	Regulação (conclusão)
26	Sb04g037100.1	Anthranoilate phosphoribosyltransferase	93,0	up
27	Sb06g001610.1	Beta-cyanoalanine synthase	97,8	down
28	Sb06g016730.1	tpa: Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase superfamily protein	93,4	up
29	Sb06g023010.1	Yellow stripe-like transporter 12	94,8	down
30	Sb07g002510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g002510	84,0	up
31	Sb07g021090.1	Cytokinin-o-glucosyltransferase 2	92,8	down
32	Sb07g026270.1	probable Inactive purple acid phosphatase 27-like	94,8	down
33	Sb08g019870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g019870	95,4	up
34	Sb09g002190.1	Lob domain-containing family protein	86,2	down
35	Sb09g018470.1	Transmembrane protein kinase family protein	96,4	up
36	Sb09g020320.1	DNA binding protein	88,6	up
37	Sb09g024890.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024890	83,0	up
38	Sb10g006970.1	Aminoacylase-1 precursor	96,2	down
39	Sb10g023280.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g023280	96,6	down
40	Sb10g025210.1	kda proline-rich	100,0	down
41	Sb10g029175.1	Beta-amyrin synthase	80,2	up

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

A busca por similaridades mostrou que 85,4% (35/41) dos genes diferencialmente expressos tem funções conhecidas, e os demais são proteínas hipotéticas, sendo que ~46% (19/41) deles foram mais expressos (*up regulated*) e ~54% (22/41) tiveram a sua expressão inibida (*down regulated*) nas plantas infectadas relativamente às não infectadas (controles).

A seguir, cabe destacar a função de alguns desses genes. A *leucine-rich repeat receptor-like serine threonine-protein kinase* (Sb01g006690), é um receptor homólogo a *CLAVATA1*, atua no controle das células meristemáticas, sendo um dos genes responsáveis pela diferenciação do meristema, participando da regulação de processos relacionados ao desenvolvimento, como o tamanho das células, taxa de proliferação e a percepção de hormônios, e ainda nos processos de defesa, resposta a ferimentos e à simbiose (DIÉVART; CLARK, 2004; DURBARK; TAX, 2011).

As alfa galactosidases (Sb01g018400) estão envolvidas no metabolismo de açúcares (rafinose), lipídeos e proteínas, com importante papel no metabolismo associado à parede celular, regulando o seu afrouxamento ou expansão (CHROST

et al., 2007). Já a família *EF hand* (Sb01g032690) é formada por genes que codificam proteínas de sinalização e transporte, constituídas por duas alfa hélices ligadas a um *loop* com cerca de 12 aminoácidos, nos quais se ligam íons cálcio (Ca^{2+}), um mensageiro secundário que é mediador da resposta de plantas a hormônios, sinais de desenvolvimento e a estímulos externos (KAWASAKI; NAKAYAMA; KRETSINGER, 1998). O gene *pleiotropic drug resistance* (Sb02g021200) codifica proteínas transportadoras, envolvidas na detoxificação de xenobióticos (ITO; GRAY, 2006), sendo que a sua atividade foi demonstrada na detoxificação de sclareol, um diterpeno antifúngico (STUKKENS et al., 2005).

Continuando, *F-box kelch-repeat proteins* (Sb03g032340) auxiliam na regulação de vários processos celulares como o ciclo celular, controle metabólico e resposta a estresse (JAIN et al., 2007). O gene *anthranilate phosphoribosyltransferase* (Sb04g037100) é bem caracterizado pela sua participação na biossíntese do triptofano, aminoácido que tem função direta na regulação do desenvolvimento vegetal e na resposta de defesa a patógenos (SEARLE et al., 2006). *Transmembrane protein kinase* (Sb09g018470) tem papel central na sinalização celular durante o reconhecimento de patógenos, com subsequente ativação de mecanismos de defesa (XING; HIGGINS; BLUMWALD, 1996). Para a referência Sb10g025210 (*kda proline-rich*) também se detectou similaridade a LTPL128 de arroz, que pertence a uma família gênica altamente conservada, responsável pela transferência de lipídeos em plantas, sendo envolvida na biossíntese de cutina e formação de cera, em reações de defesa a patógenos, e na adaptação a mudanças ambientais (KADER, 1996; SHAH, 2005). Por fim, o gene *beta-amyrin synthase* (Sb10g029175) é envolvido na biossíntese de esteróides, essenciais componentes das membranas celulares (BABIYCHUK et al., 2007).

O perfil de expressão desses genes, bem como suas funções celulares, segundo a plataforma Mapman, está mostrado na Figura 16.

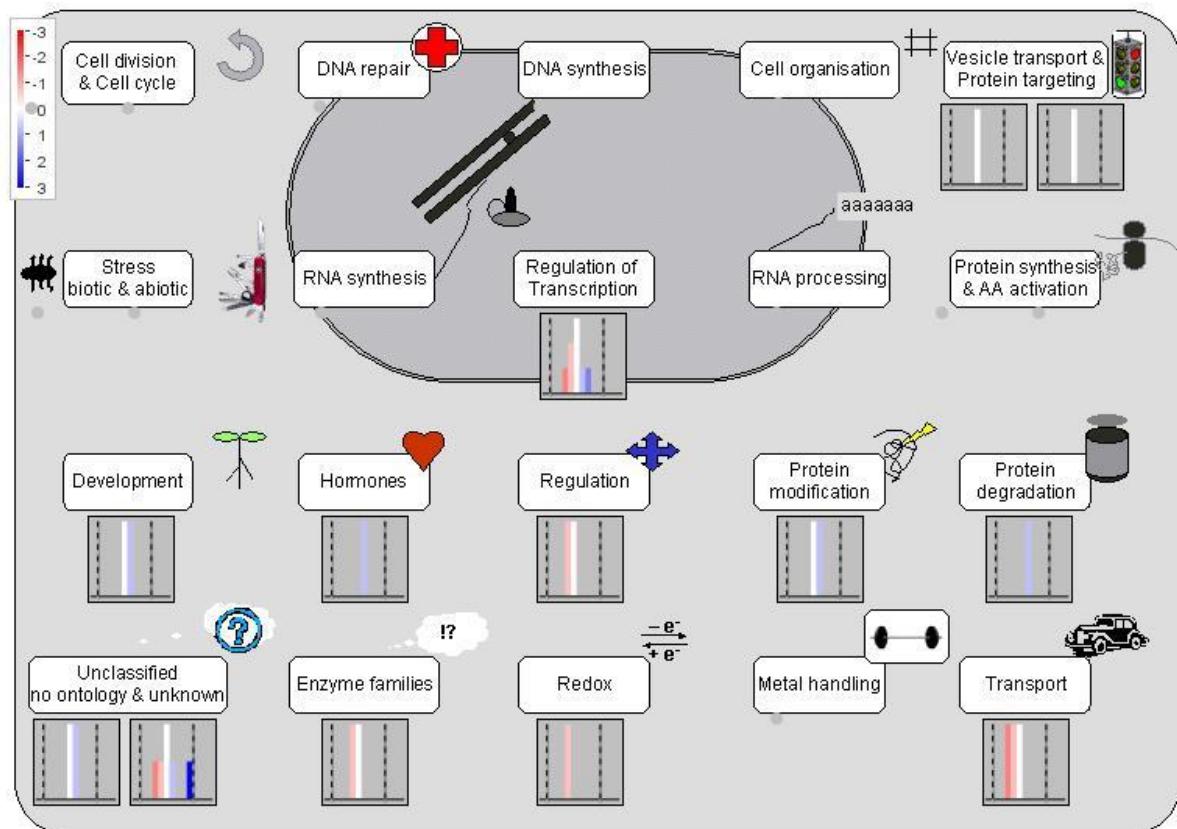


Figura 16 - Perfil de expressão dos 41 genes diferencialmente expressos às 120 HAI em "funções celulares", segundo a plataforma Mapman. Em azul: genes *up regulated*, em vermelho: genes *down regulated*. À esquerda, encima, encontra-se a escala de cores indicativa do razão de expressão

4.9 Genes envolvidos na resposta tardia (200 dias) à infecção pelo patógeno

A lista dos 206 genes envolvidos na resposta tardia à infecção, ou seja, no momento da emissão do chicote, está apresentada na Tabela 7, que informa a sua descrição e regulação (se *up* ou *down-regulated*). Os valores de *Log2 Fold Change* estimados podem ser consultados no Anexo B. Por serem muitos, os genes identificados pelo CLC não foram incluídos no Anexo B.

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

(continua)

Referência ID	Gene	S (%)*	Regulação
1	Cell wall invertase	95,8	<i>up</i>
2	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g000510	63,4	<i>down</i>
3	Cell wall protein dan4-like	79,4	<i>up</i>
4	tpa: Glutathione transferase	92,2	<i>up</i>

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

			(continuação)	
	Referência ID	Gene	S (%)*	Regulação
5	Sb01g008480.1	Auxin-responsive protein iaa13-like isoform x2	92,6	up
6	Sb01g009320.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009320	68,8	up
7	Sb01g009730.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009730	86,0	down
8	Sb01g010440.1	tpa: glycolipid transfer protein family protein	95,2	up
9	Sb01g010700.1	Af466204_5 protein	81,6	up
10	Sb01g011750.1	Defense-related protein	94,6	up
11	Sb01g012000.1	Protein tanc2-like	76,6	up
12	Sb01g013910.1	Major facilitator superfamily protein	93,4	down
13	Sb01g014230.1	Type i inositol -trisphosphate 5-phosphatase 11-like	94,8	down
14	Sb01g014370.1	B3 domain-containing protein os03g0622200-like	75,8	down
15	Sb01g016740.1	Unknown	-	up
16	Sb01g016760.1	tpa: Disease resistance response protein 206	88,2	up
17	Sb01g017380.1	Actin family protein	99,4	up
18	Sb01g017430.1	Actin family protein	99,4	up
19	Sb01g019290.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g019290	91,2	down
20	Sb01g021430.1	tpa: duf231 domain containing family protein	87,2	up
21	Sb01g029030.1	Monosaccharide transport protein 4	93,8	up
22	Sb01g029230.1	Beta-expansin 1a precursor	95,6	up
23	Sb01g029260.1	Beta-expansin 5	95,6	up
24	Sb01g029610.1	Cortical cell-delineating	95,4	up
25	Sb01g030360.1	Phosphate-responsive 1 family protein	88,6	up
26	Sb01g030530.1	Peroxidase 5-like	94,2	up
27	Sb01g032060.1	Protein argonaute 7-like	92,8	up
28	Sb01g033080.1	Protein gos9-like	83,2	down
29	Sb01g035730.1	Udp-glucuronic acid decarboxylase 2-like	88,0	down
30	Sb01g036590.1	Grab2 protein	89,6	up
31	Sb01g036790.1	Late embryogenesis abundant protein 1-like isoform x1	85,2	down
32	Sb01g037630.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g037630	94,4	up
33	Sb01g039100.1	Plant-specific domain tigr01589 family protein	97,2	down
34	Sb01g039840.1	DNA-binding protein escarola-like	87,6	down
35	Sb01g040280.1	Ap2 erebp transcription factor superfamily protein	79,2	up
36	Sb01g043280.1	Cp protein	97,8	up
37	Sb01g044430.1	Pumilio homolog chloroplastic-like	76,6	up
38	Sb01g045740.1	Homeobox-leucine zipper protein hat7	84,2	up
39	Sb01g048340.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g048340	86,6	up
40	Sb01g049020.1	Af112148_1 MADS box protein 1	90,2	down

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

			(continuação)	
	Referência ID	Gene	S (%)*	Regulação
41	Sb01g049080.1	tpa: HLH DNA-binding domain superfamily protein	86,8	down
42	Sb02g000470.1	Peroxidase 1 precursor	96,4	up
43	Sb02g001090.1	MADS-box transcription factor 15	93,2	up
44	Sb02g002260.1	Serine carboxypeptidase 2-like	87,8	up
45	Sb02g003030.1	Cbl-interacting protein kinase 23	98,2	up
46	Sb02g003740.1	Anthranilate phosphoribosyltransferase	94,8	up
47	Sb02g004260.1	Receptor protein kinase clavata1 precursor	93,2	up
48	Sb02g004380.1	Early light-induced protein	98,4	down
49	Sb02g004390.1	Early light-induced protein	95,0	down
50	Sb02g004660.1	Xylanase inhibitor protein 1-like	89,4	up
51	Sb02g008930.1	B12d protein	96,0	up
52	Sb02g009300.1	Pvr3-like protein	97,8	down
53	Sb02g010730.1	Beta-expansin 4 precursor	90,0	up
54	Sb02g024660.1	Gibberellin-regulated protein 6-like	91,4	up
55	Sb02g027210.1	DNA binding protein	81,0	down
56	Sb02g028900.1	Probable sarcosine oxidase-like	85,4	up
57	Sb02g030180.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g030180	81,5	up
58	Sb02g030360.1	tpa: MATE efflux family protein	91,4	up
59	Sb02g031190.1	MYB transcription factor	89,4	up
60	Sb02g031340.1	Delayed flowering1	81,6	down
61	Sb02g031780.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g031780	90,8	up
62	Sb02g033810.1	tpa: Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	93,2	up
63	Sb02g036750.1	Polygalacturonase inhibitor 1 precursor	95,8	up
64	Sb02g037870.1	GDSL esterase lipase at4g10955-like	92,4	up
65	Sb02g038110.1	Loc100284162 precursor	88,4	up
66	Sb02g038740.1	Cobra-like protein 6-like isoform x1	96,2	up
67	Sb02g041610.1	tpa: Serine carboxypeptidase 1	92,8	up
68	Sb03g001500.1	Probable indole-3-acetic acid-amido synthetase - like	89,4	down
69	Sb03g001700.1	Zcn14 protein	99,0	up
70	Sb03g001750.1	4-methyl-5-thiazole monophosphate biosynthesis protein	86,8	down
71	Sb03g003640.1	WRKY DNA-binding domain superfamily protein	99,2	up
72	Sb03g004510.1	Loc100281702 precursor	92,6	up
73	Sb03g007480.1	Spore coat protein	90,4	up
74	Sb03g008460.1	Phosphate transporter pho1-1-like	77,4	up
75	Sb03g012290.1	O-glycosyl hydrolase superfamily protein	94,6	up
76	Sb03g013330.1	tpa: Polygalacturonase	89,0	down
77	Sb03g024870.1	Dynein light chain type 1 family protein	92,0	up

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

			(continuação)	
	Referência ID	Gene	S (%)*	Regulação
78	Sb03g024900.1	Zinc finger protein	92,2	up
79	Sb03g025120.1	Protein abil1	90,2	down
80	Sb03g026000.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1	89,6	up
81	Sb03g027330.1	DNAj-like protein	87,2	down
82	Sb03g028680.1	Secologanin synthase-like	91,2	up
83	Sb03g028880.1	NADPH-dependent reductase a1-a	95,0	down
84	Sb03g029520.1	Potassium channel	95,8	up
85	Sb03g032720.1	tpa: cda1	92,6	up
86	Sb03g034120.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g034120	90,6	up
87	Sb03g034950.1	Bzip transcription factor	81,8	up
88	Sb03g037390.1	Nodulin-like protein	91,0	up
89	Sb03g039520.1	tpa: laccase family protein	96,8	up
90	Sb03g039530.1	L-ascorbate oxidase precursor	96,2	up
91	Sb03g039960.1	tpa: laccase family protein	86,2	up
92	Sb03g040180.1	Hydroxycinnamoyl transferase	96,4	up
93	Sb03g040320.1	Auxin transporter-like protein 1	97,8	up
94	Sb03g040480.1	Sialyltransferase-like protein	90,8	up
95	Sb03g041570.1	Leucine-rich receptor-like protein kinase	94,8	up
96	Sb03g041580.1	Amino acid permease 8-like	95,2	up
97	Sb03g042000.1	Cytochrome c	98,8	up
98	Sb03g042450.1	tpa: lipoxygenase1	94,0	up
99	Sb03g043380.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g043380	89,4	up
100	Sb03g044440.1	Nac domain-containing protein 68	85,4	up
101	Sb03g046040.1	Two-component response regulator arr8-like isoform x2	84,0	up
102	Sb03g047470.1	Probable aquaporin tip1-2-like	94,6	up
103	Sb04g000500.1	MADS-box transcription factor 50-like isoform x2	93,4	down
104	Sb04g002700.1	Ocs element-binding factor 1	90,0	up
105	Sb04g003090.1	Leucine-rich repeat family protein	92,6	up
106	Sb04g007060.1	Transcription factor hy5	90,8	down
107	Sb04g007160.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g007160	95,0	up
108	Sb04g008300.1	Heat shock factor protein 1	85,6	down
109	Sb04g008840.1	Transcription factor rf2a-like	84,6	up
110	Sb04g009170.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g009170	86,0	down
111	Sb04g010100.1	GDSL esterase lipase at5g45910-like	95,8	up
112	Sb04g020530.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g020530	74,2	up
113	Sb04g020540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g020540	69,6	up

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

(continuação)					
	Referência ID	Gene	S (%) [*]	Regulação	
114	Sb04g025120.1	Cytosolic glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase gapc4 isoform 1	99,2	<i>up</i>	
115	Sb04g026450.1	G1I3_orysj ame: full=protein g1-like3	97,0	<i>down</i>	
116	Sb04g026490.1	Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 3	92,2	<i>down</i>	
117	Sb04g026650.1	Plasma membrane intrinsic protein2	98,4	<i>up</i>	
118	Sb04g027650.1	Probable trehalose-phosphate phosphatase 4-like	95,4	<i>up</i>	
119	Sb04g027700.1	Probable beta-d-xylosidase 7-like	94,4	<i>up</i>	
120	Sb04g028360.1	WD repeat-containing protein 86-like	84,8	<i>up</i>	
121	Sb04g029210.1	Ocs element-binding factor 1-like	92,0	<i>up</i>	
122	Sb04g029720.1	Iq calmodulin-binding and bag domain containing family protein	86,8	<i>down</i>	
123	Sb04g032150.1	HLH DNA-binding domain superfamily protein	89,2	<i>up</i>	
124	Sb04g033240.1	Zinc finger transcription factor WRKY12	85,4	<i>up</i>	
125	Sb04g034470.1	Nitrate reductase	95,4	<i>up</i>	
126	Sb04g034520.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	93,0	<i>up</i>	
127	Sb05g001590.1	Nac domain-containing protein 77-like	78,6	<i>up</i>	
128	Sb05g003450.1	B3 domain-containing protein os11g0156000-like	80,8	<i>up</i>	
129	Sb05g003630.1	Vamp protein sec22	93,0	<i>up</i>	
130	Sb05g004250.1	Auxin transporter-like protein 4-like isoform x2	93,0	<i>up</i>	
131	Sb05g005150.1	Disease resistance response protein 206	94,2	<i>up</i>	
132	Sb05g009360.1	Alcohol dehydrogenase 1	98,4	<i>up</i>	
133	Sb05g017980.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g017980	86,2	<i>up</i>	
134	Sb05g024430.1	Patatin t5 precursor	92,4	<i>up</i>	
135	Sb05g026280.1	Cell number regulator 13-like	84,0	<i>down</i>	
136	Sb06g011780.1	Deoxyhypusine synthase 2	94,4	<i>up</i>	
137	Sb06g015930.1	Xyloglucan endotransglycosylase hydrolase protein 8-like	95,4	<i>up</i>	
138	Sb06g015940.1	Xyloglucan endotransglycosylase hydrolase protein 8	95,4	<i>up</i>	
139	Sb06g021340.1	tpa: Dopamine beta-monooxygenase	94,0	<i>up</i>	
140	Sb06g021880.1	Upf0481 protein at3g02645-like	92,2	<i>up</i>	
141	Sb06g022610.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g022610	95,6	<i>down</i>	
142	Sb06g022690.1	tpa: phosphoenolpyruvate carboxylase kinase family protein	93,2	<i>down</i>	
143	Sb06g023170.1	Gem-like protein 4-like	93,0	<i>up</i>	
144	Sb06g024480.1	Homeobox-leucine zipper protein hox17-like	87,4	<i>up</i>	
145	Sb06g025310.1	Lysine histidine transporter-like 8-like	91,0	<i>up</i>	

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

				(continuação)
	Referência ID	Gene	S (%)*	Regulação
146	Sb06g025650.1	HLH DNA-binding domain superfamily protein	91,4	up
147	Sb06g025710.1	Heat stress transcription factor b-2a-like	85,4	down
148	Sb06g026660.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g026660	91,0	up
149	Sb06g027090.1	S-norcoclaurine synthase-like	84,0	up
150	Sb06g029650.1	Glycine-rich protein 2b	88,2	up
151	Sb06g030920.1	D-3-phosphoglycerate chloroplastic-like	97,6	up
152	Sb06g031240.1	Plasma membrane H+-transporting ATPase-like protein	99,2	up
153	Sb06g033850.1	Cationic peroxidase spc4-like isoform x3	90,2	down
154	Sb07g005780.1	Polyamine oxidase	96,8	down
155	Sb07g014860.1	tpa: phototropin family protein kinase	91,0	down
156	Sb07g023730.1	P-glycoprotein 1	96,8	up
157	Sb07g023840.1	MATE efflux family protein	93,6	down
158	Sb07g023970.1	Nodulin-like protein 5ng4	90,6	up
159	Sb07g025980.1	Probable inactive purple acid phosphatase 27-like	93,6	down
160	Sb07g026040.1	tpa: mtn3	93,8	up
161	Sb07g026090.1	tpa: acr4	88,8	down
162	Sb07g027400.1	Probable I-type lectin-domain containing receptor kinase -like	90,0	up
163	Sb07g027810.1	DNA binding protein	75,2	down
164	Sb07g028050.1	Probable glycerophosphoryl diester phosphodiesterase 1-like isoform x1	88,8	down
165	Sb08g015555.1	MADS-box transcription factor 14	83,0	down
166	Sb08g016520.1	Carbohydrate transporter sugar porter	88,4	up
167	Sb08g016620.1	Secondary wall myb46 transcription factor	74,2	up
168	Sb08g019930.1	Y1223_orysj ame: full=b3 domain-containing protein os12g0592300	76,4	down
169	Sb08g020025.1	Unknown	-	down
170	Sb08g021750.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g021750	73,6	down
171	Sb08g021800.1	Zinc finger protein 6-like	59,6	down
172	Sb09g000930.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g000930	84,2	up
173	Sb09g001500.1	Actin-depolymerizing factor 7-like	98,0	up
174	Sb09g001680.1	Legumin-like protein	94,8	up
175	Sb09g006050.1	C3h39 c3h type transcription partial	80,4	down
176	Sb09g007180.1	C4-dicarboxylate transporter-like protein	86,6	up
177	Sb09g013580.1	Cbl-interacting serine threonine-protein kinase	93,6	up
		15		
178	Sb09g015680.1	Wound-induced protein 1-like	75,0	up
179	Sb09g021240.1	Patellin family protein	97,4	up

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

Tabela 7 - Genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, identificados pelas três estratégias computacionais adotadas

						(conclusão)
	Referência ID		Gene		S (%) [*]	Regulação
180	Sb09g022030.1	uncharacterized like	acetyltransferase at3g50280-	89,4		<i>up</i>
181	Sb09g022060.1	MYB transcription factor		83,0		<i>up</i>
182	Sb09g023310.1	Aminotransferase class iii superfamily protein		98,0		<i>up</i>
183	Sb09g023440.1	Expa4_orysj ame: full=expansin-a4 ame: full=alpha-expansin-4 ame: full= 4 ame: full= 4 ame: full= flags: precursor	ame: full=expansin-a4 ame: full= 4 ame: full= 4 ame: full= flags: precursor	97,0		<i>up</i>
184	Sb09g024850.1	Unknown		-		<i>up</i>
185	Sb09g025790.1	Trehalose-6-phosphate synthase		95,0		<i>up</i>
186	Sb09g028600.1	Ferric-chelate reductase 1-like		92,0		<i>up</i>
187	Sb10g001190.1	Ozone-responsive stress related protein		92,8		<i>down</i>
188	Sb10g002030.1	Histone H1		98,4		<i>down</i>
189	Sb10g002070.1	Arginine decarboxylase		94,6		<i>up</i>
190	Sb10g002740.1	Homeobox-leucine zipper protein athb-4		84,2		<i>up</i>
191	Sb10g002750.1	Homeobox-leucine zipper protein hox2-like		85,2		<i>up</i>
192	Sb10g003050.1	Sulfate transporter		93,2		<i>up</i>
193	Sb10g004590.1	Iaa20-auxin-responsive aux iaa family member		81,4		<i>up</i>
194	Sb10g004790.1	Kda proline-rich protein		96,4		<i>down</i>
195	Sb10g008290.1	Auxin efflux carrier		94,0		<i>up</i>
196	Sb10g008820.1	Pyruvate dehydrogenase e1 component alpha subunit		94,8		<i>down</i>
197	Sb10g010640.1	Hydroquinone glucosyltransferase-like		90,0		<i>down</i>
198	Sb10g022780.1	Glutathione S-transferase gst 19		93,8		<i>up</i>
199	Sb10g023060.1	UDP-glycosyltransferase 75b1-like		79,0		<i>up</i>
200	Sb10g023440.1	Dead-box atp-dependent rna helicase family protein		92,2		<i>up</i>
201	Sb10g024640.1	4-mannan synthase family protein		78,2		<i>down</i>
202	Sb10g026210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g026210		78,8		<i>down</i>
203	Sb10g027850.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g027850		95,0		<i>up</i>
204	Sb10g028550.1	Xyloglucan endotransglycosylase		92,8		<i>up</i>
205	Sb10g029090.1	Glutathione transferase gst 23-like		83,6		<i>up</i>
206	Sb10g029740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g029740		80,0		<i>up</i>

* Similaridade segundo a ferramenta BLASTGO

A busca por similaridades mostrou que 87,9% (181/206) dos genes diferencialmente expressos tem funções conhecidas, e os demais são proteínas hipotéticas ou sem anotação, sendo que ~73% (150/206) deles foram mais expressos (*up regulated*) e ~27% (56/206) tiveram a sua expressão inibida (*down regulated*) nas plantas infectadas relativamente às não infectadas (controles). A

maior percentagem de genes *up regulated* permite supor que a planta, ao longo de 200 dias de interação, realizou grandes esforços para conter o fungo, que nesse momento, atingiu o ápice de infecção.

Genes relevantes sabidamente relacionados à interação patógeno-hospedeiro foram identificados. O gene que codifica a proteína *cell wall invertase* (Sb0067s002130.1), que é uma invertase insolúvel ligada ionicamente à parede celular, tem função de quebra da sacarose, essencial para a assimilação de carbono (TANG; LÜSCHER; STURM, 1999). O metabolismo e a assimilação de açúcar são essenciais para o crescimento e desenvolvimento da planta, e a sua regulação está envolvida na defesa contra o ataque de patógenos (ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004). O gene da *glutathione transferase* (Sb01g005990.1, Sb10g022780.1, Sb10g029090.1) tem papel no metabolismo celular e na detoxificação de xenobióticos, e está envolvido nas respostas a estresses, incluindo o ataque de patógenos (MARRS, 1996). Já uma *glycolipid transfer protein* (Sb01g010440.1) foi descrita como produto do gene *ACD11* de *Arabidopsis*, envolvido na ativação da morte celular programada e defesa (BRODERSEN et al., 2002).

A expressão de beta expansinas (Sb01g029230.1, Sb01g029260.1, Sb02g010730.1) têm importantes implicações na estrutura da parede celular (COSGROVE, 2000). Também foi identificado um gene inibidor de xilanase (Sb02g004660.1) e, como o próprio nome diz, tem a função de inibir a xilanase secretada por diversos microrganismos. A xilanase é uma pectinase que degrada a hemicelulose, componente da parede celular vegetal (JUGE, 2006). O gene da *sarcosine oxidase-like* (Sb02g028900.1) tem o papel de converter a sarcosina em glicina e formaldeído, que podem ser oxidados para formato desidrogenase, enzima solúvel e abundante da matriz mitocondrial, sendo fortemente induzida em certos tecidos e em certas condições de estresse (HANSON; GAGE; SHACHAR-HILL, 2000).

O transportador MATE (*MATE efflux family protein*, Sb02g030360.1, Sb07g023840.1) é responsável pela extrusão de compostos tóxicos (LI et al., 2002). Há também um inibidor de poligalacturonases (Sb02g036750.1). Essas são enzimas envolvidas na degradação das pectinas, que por sua vez, são polissacarídeos constituintes da parede celular (LANG; DÖRNENBURG, 2000). Poligalacturonases são sintetizadas por muitos fungos patogênicos, e em vários tecidos vegetais foram

encontrados seus inibidores, tal como relatado por Collmer; Keen (1986). *GDSL esterase lipase* (Sb02g037870.1, Sb04g010100.1) é um gene regulador do desenvolvimento e morfogênese, com papel na defesa contra patógenos, dependente da sinalização por auxinas (LEE et al., 2009). O gene *1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase* (Sb03g026000.1, Sb04g034520.1) catalisa a oxidação de *aminocyclopropane-1-carboxylate* na via de biossíntese de etileno (DONG; FERNÁNDEZ-MACULET; YANG, 1992), fitorregulador envolvido em desenvolvimento e respostas de defesa (TAKUSAGAWA; KAMITORI; MARKHAM, 1996).

Lipoxigenases (Sb03g042450.1) possuem variadas funções e participam de diversas vias metabólicas. Na resposta a estresses, estas enzimas atuam diretamente na produção de agentes tóxicos contra patógenos invasores. Além disso, participam da via do ácido jasmônico, fitorregulador que induz à expressão de diversos genes relacionados à resposta a estresses (SIEDOW, 1991; VICK; ZIMMERMAN, 1983). *Laccase family proteins* (Sb03g039520.1, Sb03g039960.) são oxidases de polifenóis, catalizadoras de flavonóides, moléculas que protegem as plantas contra estresses bióticos e abióticos (POURCEL et al., 2007), também envolvidas no processo de lignificação devido a sua capacidade de polimerizar monolignóis na presença de oxigênio, resultando na formação de lignina (MAYER; STAPLES, 2002). *Hydroxycinnamoyl transferases* (Sb03g040180.1) são enzimas que sintetizam o ácido clorogênico, um fenol que atua como antioxidante (NIGGEWEG; MICHEL; MARTIN, 2004).

Continuando, aquaporinas (Sb03g047470.1) são canais de membrana que facilitam a entrada de água e pequenos solutos neutros ou gases, com numerosas funções no desenvolvimento vegetal e durante a adaptação a diversas condições ambientais (MAUREL et al., 2008). *Beta-d-xylosidase* (Sb04g027700.1) é uma enzima com atividade associada ao enriquecimento da parede celular, envolvida no metabolismo secundário da hemicelulose (GOUJON et al., 2003). Já a nitrato redutase (Sb04g034470.1) cataliza a redução de NAD(P)H do nitrato para a formação de nitrito, controlando o fluxo de nitrogênio para vários mecanismos regulatórios (CAMPBELL, 1999). A enzima também é requerida para a biossíntese de óxido nítrico, molécula sinalizadora, mediadora do fechamento estomatal induzido pelo ácido abscísico (DESIKAN et al., 2002). O gene da *glycerophosphoryl diester*

phosphodiesterase (Sb07g028050.1) codifica uma proteína importante na organização da parede celular (HAYASHI et al., 2008) enquanto o gene da *4-mannan synthase* (Sb10g024640.1) pertence à subfamília da *cellulose synthase* (ASPEBORG et al., 2005). *Dead-box ATP-dependent RNA helicase* (Sb10g023440.1) é uma importante helicase para o desenvolvimento vegetal e a resposta a estresses (GONG et al., 2005) e *xyloglucan endotransglycosylase* (Sb06g015930.1, Sb06g015940.1) possuí variados papéis na diferenciação celular e no desenvolvimento, servindo principalmente como um polímero hemicelulósico que confere flexibilidade à parede celular vegetal (MADSON et al., 2003).

Concluindo, foram identificadas diversas peroxidases (Sb01g030530.1, Sb02g000470.1, Sb06g033850.1), que são induzidas na resposta a fatores externos como ferimento, estresse e ataque por patógenos (VEITCH, 2004), fatores de transcrição (Sb01g040280.1, Sb02g001090.1, Sb02g031190.1, Sb03g034950.1, Sb04g000500.1, Sb04g007060.1, Sb04g008840.1, Sb04g033240.1, Sb06g025710.1, Sb08g015555.1, Sb08g016620.1, Sb09g006050.1, Sb09g022060.1), genes relacionados aos fitorreguladores auxina (Sb01g008480.1, Sb03g040320.1, Sb05g004250.1, Sb10g004590.1, Sb10g008290.1) e giberilina (Sb02g024660.1), a proteínas de defesa e resistência (Sb01g011750.1, Sb01g016760.1, Sb05g005150.1).

Alguns genes identificados aos 200 DAI já foram descritos entre aqueles diferencialmente expressos às 120 HAI, embora não correspondam às mesmas referências. É o caso do receptor quinase homólogo ao *CLAVATA1*, (Sb02g004260.1) e do gene que codifica a *anthranilate phosphoribosyltransferase* (Sb02g003740.1). Além desses genes, outros não descritos aqui, já foram relatados como diferencialmente expressos em trabalhos da literatura, embora as suas funções não foram claramente identificadas.

O perfil de expressão desses genes, bem como suas funções celulares, segundo a plataforma Mapman, está mostrado na Figura 17.

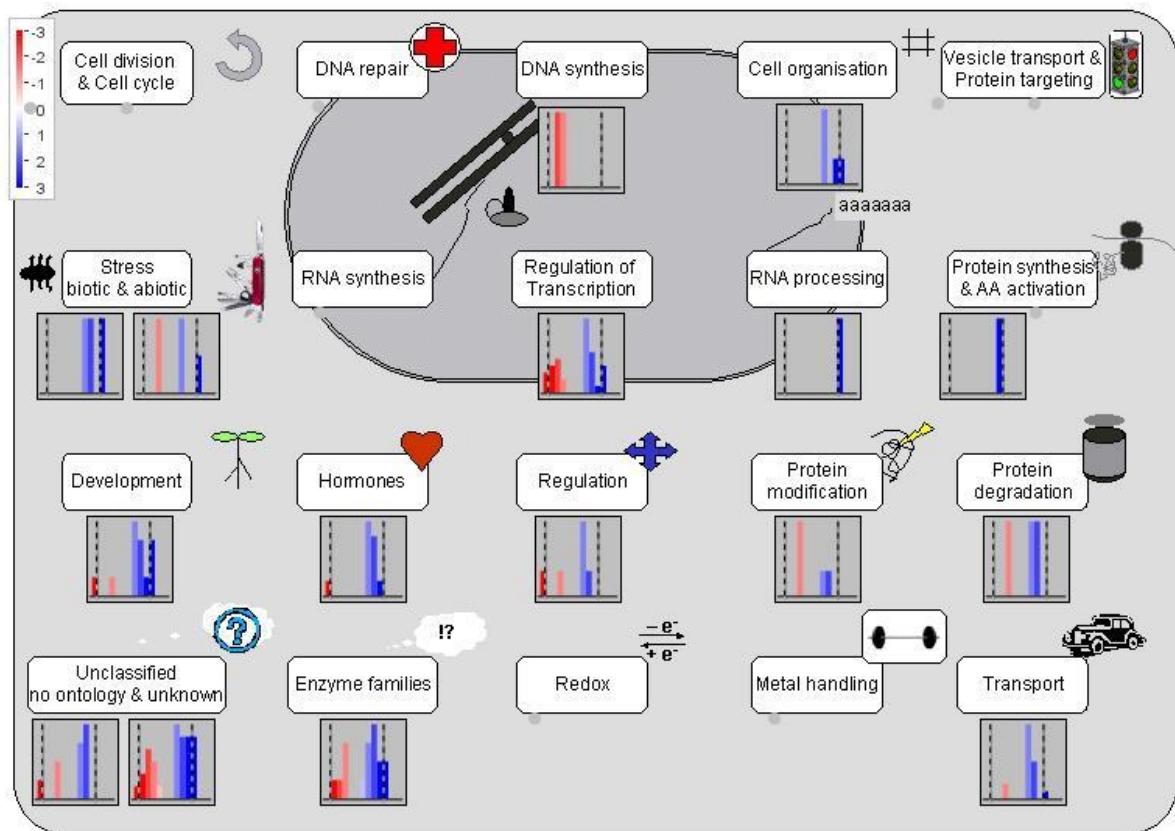


Figura 17 - Perfil de expressão dos 206 genes diferencialmente expressos aos 200 DAI, segundo a plataforma Mapman. Em azul: genes *up regulated*, em vermelho: genes *down regulated*. À esquerda, encima, encontra-se a escala de cores indicativa do razão de expressão

5 DISCUSSÃO

5.1 Mapeamento dos *reads* usando o sorgo como referência

O sorgo e a cana-de-açúcar são membros da família das gramíneas (Poaceae) e pertencem a tribo Andropogonae (veja KELLOGG, 2012). Janoo et al. (2007) compararam regiões gênicas bem caracterizadas dessas espécies e estimaram que a sua disruptão ocorreu há cerca de 8 a 9 milhões de anos atrás. O sorgo é uma espécie diplóide, com $2n = 20$ cromossomos e genoma de 730 MpB (PATERSON et al., 2009). Embora bastante distintas nestes dois aspectos, ao longo dos anos, tem se usado o sorgo como planta modelo em estudos de cana-de-açúcar, que tem $2n = 100 - 130$ cromossomos e genoma de 10 Gb (D'HONT; GLASZMANN, 2001; D'HONT et al., 1998).

Inicialmente, estudos de sintenia por mapeamento comparativo, realizados por Guimarães, Sills e Sobral (1997) e Ming et al. (1998), mostraram que esses genomas compartilham alta colinearidade e há poucos rearranjos cromossômicos. Posteriormente, foram mapeados QTLs em regiões correspondentes das duas espécies, controlando altura da planta e florescimento (MING et al., 2002).

O completo sequenciamento do genoma do sorgo (PATERSON et al., 2009) permitiu o avanço das pesquisas sobre a genômica da cana-de-açúcar. Assim, quando comparadas as sequências de cana-de-açúcar, inseridas em BACs, com o genoma do sorgo, se observou que ~53% delas foram alinhadas, com identidade média de ~95% relativamente às regiões gênicas (WANG et al., 2010). Recentemente, Cardoso-Silva et al. (2014) fizeram o ‘*de novo*’ assembly do transcriptoma da cana-de-açúcar, com base em 445 milhões de *reads paired-end*, oriundos de RNAseq de seis variedades de cana: ‘SP95-3018’, ‘SP81-3250’, ‘RB92-5345’, ‘SP80-3280’, ‘RB83-5486’ e ‘SP93-3046’. A análise dos 72.269 genes identificados (de tamanho ≥ 300 pb) mostrou que 40% deles apresentaram similaridade com o sorgo, correspondendo a 98% das proteínas de sorgo.

No presente trabalho, cerca de 66% dos *reads* da cana foram mapeados no genoma do sorgo (pelo software STAR), enquanto ~54% foram mapeados nas sequências codantes (CDS) pelo Bowtie 2 e ~49% pelo CLC. Os últimos valores

estão próximos ao verificado pelo alinhamento das sequências, inseridas em BACs, com o genoma do sorgo (~53%) realizado por Wang et al. (2010).

Com relação às referências do sorgo utilizadas no presente trabalho (genoma e CDS), aproximadamente 77% dos genes e 87% das CDS tiveram pelo menos 1 *read* mapeado. Esses valores são inferiores a porcentagem de proteínas mapeadas por Cardoso-Silva et al. (2014), dado que se tratam de referências diferentes e de bibliotecas construídas sob diferentes condições: as bibliotecas do presente trabalho são baseadas em apenas um genótipo ('RB92-5345'), submetido às condições de experimentação para a análise da interação com *S. scitamineum*, enquanto as bibliotecas de Cardoso-Silva et al. (2014) são baseadas em seis genótipos, sem qualquer tratamento. Ambos os trabalhos apresentam dados de RNAseq para a cultivar 'RB92-5345', o que deve possibilitar futuras comparações.

Análises transcrpcionais de variedades de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico foram realizados por Oliveira (2012) e Mingossi (2013). Ambos os autores também usaram o sorgo como referência para o mapeamento dos *reads* de RNAseq, através do software CLC. Usando como referência os 34.496 modelos gênicos do sorgo (PATERSON, 2009), Oliveira (2012) obteve percentagens médias de genes mapeados iguais a 70,8% e 71,1% para as variedades 'IACSP94-2094' e 'IACSP97-7065', respectivamente. Por sua vez, Mingossi (2013) usando as CDS do sorgo, que foram as mesmas referências usadas no presente trabalho, obteve 82% de sequências mapeadas para a cultivar australiana 'Q208'.

Apesar de muitos trabalhos adotarem a estratégia '*de novo*' assembly para a análise de transcriptomas de espécies cujos genomas não estão sequenciados (tal como proposto por GRABHERR et al., 2011), esta estratégia não é recomendada para a cana-de-açúcar, pois problemas na etapa de montagem dos transcritos devem ocorrer, já que se trata de um genoma extremamente complexo (híbrido e poliploide). O mapeamento em referências pré-definidas, aqui realizado, visando à análise da expressão diferencial, foi satisfatório. Houve uma grande porcentagem de referências mapeadas (77% dos genes e 86% das CDS), com pelo menos 65% destas com mais de 100 *reads* mapeados, o que sugere uma boa cobertura de mapeamento.

5.2 Estratégias computacionais para a identificação dos genes diferencialmente expressos

Com o advento da técnica RNAseq, têm sido propostas várias formas de análise dos dados, embora ainda não exista um consenso sobre o método mais apropriado. Existem vários softwares disponíveis para realizar o mapeamento dos *reads*, baseados em diferentes algoritmos, que encontram como principal desafio o fato de que parte dos *reads* pode ser mapeada em várias regiões da referência (WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009). Realizado o mapeamento, deve-se escolher um método para a normalização das contagens, visando à comparação entre grupos de amostras e estimar os níveis de expressão. Um método de normalização bastante intuitivo é a divisão da quantidade de referências mapeadas pelo número total de *reads* de cada biblioteca, levando em consideração o tamanho de cada referência. Este método foi proposto por Mortazavi et al. (2008) e é conhecido como RPKM (*Reads Per Kilobase per Million*), implementado no software CLC Genomics Workbench. Outro método, implementado na plataforma DESeq, computa um fator de dispersão por amostra, através de uma razão entre a quantidade de *reads* por gene e a média geométrica das amostras, e usa uma distribuição binomial negativa para associar os valores de probabilidade para os genes comparados (ANDERS; HUBER, 2010).

Relativamente à detecção de expressão diferencial, o CLC usa o teste de Baggerly et al. (2003) para comparar grupos de amostras, quando existem replicatas biológicas; já o DESeq usa uma variação do teste de Fisher, adaptada para distribuição binomial negativa (RAPAPORT et al., 2013).

Dada à dificuldade de escolha do método mais apropriado para a análise dos dados obtidos nesse trabalho, três estratégias foram adotadas, as quais resultaram na detecção de diferentes conjuntos de genes diferencialmente expressos. A construção dos diagramas de Venn foi uma etapa essencial para a visualização dos resultados de expressão, porque permitiu verificar o total de genes candidatos e aqueles comuns, ou seja, identificados pelos três métodos. Assim, decidiu-se que os genes das intersecções seriam o foco deste estudo. Seria difícil concluir qual estratégia levou aos melhores resultados. Tomando-se como base os genes das intersecções, no primeiro momento de análise, o CLC teve a maior proporção de

genes diferencialmente expressos contidos na intersecção (~48%), mas no segundo momento, STAR e DESeq destacaram-se, com 89,5% dos genes diferencialmente expressos posicionados na intersecção. Isto demonstra que a adoção de três estratégias, seguida pela sua comparação visualizada nos diagramas de Venn, foi adequada para a análise dos dados.

A literatura tem disponibilizado uma série de softwares livres, como o STAR e o Bowtie 2, usados no presente trabalho, e também uma série de outros alinhadores tais como o BWA (*Burrows-Wheeler Aligner*) (GRIFFITH et al., 2010), o TopHat (DE BONA et al., 2008), e o SOAP (*Short Oligonucleotide Analysis Package*) (<http://soap.genomics.org.cn/>). Quando se escolhe a estratégia ‘de novo’ assembly do transcriptoma, o Trinity (GRABHERR et al., 2011), o Velvet (LISTER; GREGORY; ECKER, 2009) e o Cufflinks (TRAPNELL et al., 2010) são os mais comuns. Para a análise da expressão diferencial, além do DESeq, pacotes como o Cuffdiff (TRAPNELL et al., 2010), o edgeR (ROBINSON; McCARTHY; SMYTH, 2010), o PoissonSeq (LI, J. et al., 2012), e o baySeq (HARDCASTLE; KELLY, 2010) são comumente utilizados. A plataforma Galaxy (<http://galaxyproject.org/>) é também uma ótima alternativa para a análise de dados, já que disponibiliza softwares livres para executar as análises passo a passo dos dados de RNAseq, que são manipuladas na internet.

5.3 Genes diferencialmente expressos na interação cana - *S. scitamineum*

Genes envolvidos na interação patógeno-hospedeiro foram identificados pelas três estratégias de análise utilizadas, e as funções de alguns mais relevantes foram selecionadas e estão descritas nos itens 4.8 e 4.9. As alterações do perfil transcrional em cada momento de análise refletem a resposta da planta à infecção por *S. scitamineum* e claramente permitiram traçar um panorama em categorias funcionais da biologia da interação.

Genes envolvidos na defesa basal

As respostas de defesa vegetal são ativadas através de sinais genéricos (elicidores) que indicam a presença do patógeno. Os elicidores, também conhecidos por MAMPs (*Microbe Associate Molecular Patterns*) e PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) são peptídeoglicanos, lipopolisacarídeos, fatores de elongação (EF-Tu) e flagelinas (fg22) de bactérias; quitinas, xilanases etileno-induzidas (EIX) e β-glucanos de fungos, entre outros compostos (MAZZOTTA; KEMMERLING, 2011). MAMPs e PAMPs são reconhecidos na superfície dos tecidos por receptores da membrana plasmática, constituídos por proteínas RLKs (*Receptor-Like Kinases*) e RLPs (*Receptor-Like Proteins*) (BENT; MACKEY, 2007).

Na interação cana - *S. scitamineum*, homólogos aos receptores RLKs, que contêm repetições ricas em leucina (LRR-RLKs, *Leucine-Rich Repeat Receptor-Like serine/threonine-protein Kinase*) foram identificados como genes diferencialmente expressos, *up regulated* às 120 HAI (Sb01g006690.1) e aos 200 DAI (Sb02g033810.1, Sb03g041570.1, Sb07g027400.1). Curiosamente, um receptor RLK identificado *up regulated* aos 200 DAI (Sb02g004260.1) tem a função de monitorar a integridade da parede celular (BOUWMEESTER; GOVERS, 2009). Ortólogos aos receptores LRR-RLKs foram previamente identificados na defesa basal do algodão ao fungo *Verticillium dahliae* (XU et al., 2011), e aos receptores RLKs na resposta do sorgo ao fungo *Bipolaris sorghicola* (YAZAWA et al., 2013). Nos trabalhos de Yazawa et al. (2013) e Xu et al. (2011), esses receptores apresentaram regulação variável. Já na interação *Arabidopsis* - *Fusarium oxysporum*, receptores RLKs foram induzidos nos dois momentos analisados (24 e 144 HAI), sugerindo que a indução contínua é devida ao reconhecimento de múltiplos efetores liberados pelo patógeno (ZHU et al., 2012). Os receptores, por sua vez, ativam a via MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) que transmite e amplifica sinais para as proteínas quinases, envolvidas na regulação do crescimento e desenvolvimento, e em respostas a estímulos externos, que incluem o ataque por patógenos (BENT; MACKEY, 2007). Na via MAPK, um importante componente na cascata de transdução de sinais é o cálcio (CHENG, 2002). No presente trabalho, foram encontrados mobilizadores de íons Ca⁺², todos *down regulated*: uma proteína *EF hand* (Sb01g032690.1) às 120 HAI, e os genes *inositol-trisphosphate 5-phosphatase 11-like* (Sb01g014230.1) e *calmodulin-binding* (Sb04g029720.1) aos

200 DAI. Ortólogos ao gene *calmodulin-binding* também foram identificados na interação sorgo - *B. sorghicola*, a maior parte *down regulated* (YAZAWA et al., 2013). Outro gene envolvido na sinalização de resposta a estresse, o *2-component response regulator arr8-like* (Sb03g046040.1), foi identificado nos dois momentos da análise, *down regulated* às 120 HAI, e *up regulated* aos 200 DAI.

Como intermediários entre a via MAPK e as proteínas quinases, encontram-se os fatores de transcrição WRKY (RUSHTON et al., 2010). Dois desses fatores foram identificados *up regulated* aos 200 DAI (Sb03g003640.1, Sb04g00500.1). Interessantemente, ortólogos a esses fatores de transcrição também foram identificados *up regulated* nas interação arroz - *Magnaporthe oryzae*, sorgo - *B. sorghicola*, e *Arabidopsis* - *F. oxysporum* (KAWAHARA et al., 2012; YAZAWA et al., 2013; ZHU et al., 2012). A superexpressão do fator de transcrição WRKY45, em arroz inoculado com o fungo *M. grisea*, sugere que os fatores WRKY têm papel no controle da expressão de genes de defesa (SHIMONO et al., 2007). No trabalho de Kawahara et al. (2012), homólogos aos fatores WRKY também foram altamente *up regulated* (*Fold Change >50*), o que aumentou as evidências de que esses genes possuem importante papel na resposta de defesa de plantas contra a infecção por fungos.

Outros fatores de transcrição (*DNA binding proteins*) foram superexpressos às 120 HAI (Sb09g020320.1), e com regulação variável aos 200 DAI (*down regulated*: Sb01g039840.1, Sb02g027210.1, Sb07g027810.1), incluindo seus homólogos com repetições WD (*up regulated*: Sb04g028360.1), estrutura hélice-loop-hélice (*down regulated*: Sb01g049080.1; *up regulated*: Sb04g032150.1, Sb06g025650.1) e dedos de zinco (*up regulated*: Sb03g024900.1, *down regulated*: Sb08g021800.1). Fatores de transcrição MYB foram identificados *up regulated* nos dois momentos de análise (120 HAI: Sb02g034873.1, 200 DAI: Sb02g031190.1, Sb08g016620.1, Sb09g022060.1), e sua expressão também foi induzida na interação *Arabidopsis* - *F. oxysporum* (ZHU et al., 2012).

Duas proteínas quinases foram *up regulated* às 120 HAI (Sb03g041110.1, Sb09g018470.1) e aos 200 DAI (Sb02g003030.1, Sb09g013580.1). As duas quinases identificadas aos 200 DAI interagem com proteínas CBLs (*Calcineurin B-Like proteins*), que são sensores responsáveis pela modulação das vias, usando o cálcio como mensageiro secundário (LUAN, 2009). Proteínas CBLs foram

diferencialmente expressas na interação banana - *F. oxysporum* (LI, C-Y. et al., 2012). No presente trabalho, três quinases foram *down regulated* aos 200 DAI (Sb04g026490.1, Sb06g022690.1, Sb07g014860.1), e essas são quinases responsáveis pela fosforilação da PEPcase, que é a enzima da carboxilação primária da fotossíntese em plantas C4 (FUKAYAMA et al., 2006). Pela supressão dessas quinases, supõe-se que ocorra a diminuição da taxa fotossintética devido à emissão do chicote.

Genes de resistência

Reconhecida a presença do patógeno, vários genes de resistência (genes R) desencadeiam o estresse oxidativo, a indução da via de sinalização do ácido salicílico, a entrada de íons Ca^{+2} e H^+ nas células, e a morte celular ou resposta hipersensitiva, com o objetivo de limitar a dispersão da doença no tecido infectado (BOLWELL et al., 2001).

Aqui, foi identificado um gene de resistência *down regulated* às 120 HAI, que codifica uma *F-box kelch-repeat protein at1g23390-like* (Sb03g032340.1). Aos 200 DAI, a superexpressão de vários genes R foi verificada, incluindo genes que codificam glutationa S transferases (Sb01g005990.1, Sb10g022780.1, Sb10g029090.1). Isto também foi verificado em banana após a infecção com *F. oxysporum* (LI, C-Y. et al., 2012). A expressão de genes que codificam proteínas dirigentes (*dirigent proteins*) (Sb01g016760.1, Sb05g005150.1) envolvidas na resistência a fungos patogênicos e na formação de lignina (RALPH et al., 2006; PICKEL; SCHALLER, 2013) também foi induzida em sorgo e *Arabidopsis* após a infecção por fungos (YAZAWA et al., 2013; ZHU et al., 2012). Um gene de defesa (Sb01g011750.1) e um gene que codifica uma proteína da família *glycosil hydrolase* (Sb03g012290.1) foram igualmente detectados. Kawahara et al. (2012) encontrou 23 genes da família *glycosil hydrolase* superexpressos na interação arroz - *M. oryzae*.

Genes envolvidos nas vias de sinalização de hormônios vegetais

A ativação da cascata de sinais na membrana plasmática promove também a indução de uma complexa rede de outras moléculas sinais: os fitorreguladores. É sabido que o ácido salicílico, o ácido jasmônico e o etileno têm papel crucial na

resposta a estresses bióticos (KUMAR, 2013). Dentre os genes diferencialmente expressos, nenhum apresentou função diretamente associada à via do ácido salicílico. Para os demais hormônios, todos os genes relacionados foram identificados aos 200 DAI e foram *up regulated*. A lipoxigenase (Sb03g042450.1) participa da via do ácido jasmônico (SIEDOW, 1991), e o gene *1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase* (Sb03g026000.1, Sb04g034520.1) é um precursor na biosíntese de etileno (JOHN, 1997).

A lipoxigenase foi um dos genes superexpressos em arroz infectado com *M. oryzae* (KAWAHARA et al., 2012), e o gene *1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase* também foi identificado na resposta da banana à *F. oxysporum* (LI, C-Y. et al., 2012). Embora se trate da interação planta – bactéria, em maracujá-amarelo, uma lipoxigenase foi altamente expressa (~250 x) em resposta à *Xanthomonas axonopodis* (MUNHOZ, 2013). Em *Arabidopsis*, somente genes envolvidos com a biosíntese de etileno foram superexpressos no início da infecção com *F. oxysporum*, enquanto outros apareceram superexpressos apenas na resposta tardia à infecção, envolvidos no metabolismo do ácido jasmônico, na biosíntese da auxina, e genes responsivos aos ácidos salicílico e abscísico (ZHU et al., 2012). Assim, sugeriu-se que há diferentes momentos para a ativação das vias de sinalização desses hormônios na resposta de defesa. Em algodão infectado com *V. dahliae*, Xu et al. (2011) identificaram genes envolvidos em diferentes vias da biosíntese de hormônios, a maior parte relacionada ao etileno, apresentando distintos padrões de expressão.

No presente trabalho, existem vários genes relacionados também à auxina e seus transportadores (Sb01g008480.1, Sb03g040320.1, Sb05g004250.1, Sb10g004590.1, Sb10g008290.1) e à giberilina (Sb02g024660.1). O único gene cuja expressão aparece inibida aos 200 DAI é o que codifica *indole-3-acetic acid-amido synthetase-like* (Sb03g001500.1), cuja função é a de manter a auxina sob baixas concentrações (BÖTTCHER et al., 2010).

De acordo com Robert-Seilaniantz et al. (2007), as vias de sinalização dos hormônios podem ser envolvidas em uma ampla gama de estresses bióticos e abióticos, e as interações dessas vias, associadas com as estratégias de defesa da planta e com a virulência dos patógenos, podem influenciar no sucesso (ou não) da infecção. Isto porque as interações de hormônios são antagônicas, e podem ser

exploradas pelos patógenos para a indução da doença. Por exemplo, as vias de sinalização do etileno e do ácido jasmônico são antagônicas à via do ácido salicílico, e a indução de uma via atenua a outra. Em termos de resistência e suscetibilidade, a via do ácido salicílico, quando induzida, resulta na resistência biótrofica e na suscetibilidade necrotrófica das plantas, enquanto as vias do etileno e do ácido jasmônico resultam na resistência necrotrófica e na suscetibilidade biotrófica. A indução da auxina favorece os mesmos resultados da ação do etileno e do ácido jasmônico.

Interessantemente, na interação cana - *S. scitamineum* foram encontrados apenas genes que induzem as vias do etileno, ácido jasmônico e auxina, o que resulta na suscetibilidade biotrófica, cujo padrão de expressão é similar ao que acontece na interação patógeno - hospedeiro aqui estudada, que envolve uma variedade tolerante e um fungo biotrófico. Juntos, a agressividade do patógeno e o grau de resistência do hospedeiro, determinam a severidade da doença. Os patógenos desenvolvem sofisticadas estratégias para sobrepor a resistência dos hospedeiros, mascarando a sua entrada, ou suprimindo os genes de resistência dos hospedeiros. Nos casos de suscetibilidade biotrófica, com o sucesso na entrada de um patógeno, se estabelecem interações de longa duração com o hospedeiro, sem causar um dano visível às células invadidas (HÜCKELHOVEN, 2005). É o que acontece na interação cana - *S. scitamineum*.

Genes envolvidos na formação da parede celular

A parede celular vegetal realiza funções essenciais, e devido a sua localização na superfície celular, serve como barreira física de defesa contra os patógenos (KEEGSTRA, 2010). Genes diferencialmente expressos envolvidos na formação e manutenção da parede celular também foram identificados na interação cana - *S. scitamineum*. Entre eles, um gene *down regulated* às 120 HAI, que codifica uma alfa-galactosidase (Sb01g018400.1), e uma série de genes *up regulated* aos 200 DAI, codificando uma invertase (Sb0067s002130.1), uma proteína de parede celular (Sb01g002540.1), e uma proteína com repetição rica em leucina (LRR) e domínio extensina (Sb04g003090.1). Esta última tem a função de reforçar a estrutura da parede, executando a ligação transversal entre os polissacarídeos e

resultando na sua conformação, ao final da fase de expansão (BAUMBERGER et al., 2003).

Também foram identificados genes codificadores de beta-expansinas (Sb01g029230.1, Sb01g029260.1, Sb02g010730.1), que realizam a quebra de ligações não covalentes entre as microfibrilas de celulose e a matriz de glucanos, resultando no afrouxamento e na extensão das paredes (COSGROVE, 2000). Lee e Kende (2001) verificaram que as beta-expansinas estão relacionadas com a elongação internodal de arroz crescidos em condições de alagamento. Sugere-se que as beta-expansinas podem ser induzidas por *S. scitamineum* para a elongação do internó da cana, para a formação do chicote. Ainda, Zhao et al. (2012) supõem que a expressão dessas proteínas é altamente regulada pelos hormônios ácido abscísico e auxina.

Além desses, se identificou um gene codificador da *beta-d-xylosidase* (Sb04g027700.1), e genes que codificam *xyloglucan endotransglycosylases* (Sb06g015930.1, Sb06g015940.1), homólogos ao gene TCH4 de *Arabidopsis*, que participa da construção da parede celular de tecidos em crescimento (XU et al., 1995). Apenas a expressão de dois genes foi inibida: *glycerophosphoryl diester phosphodiesterase* (Sb07g028050.1) e *4-mannan synthase* (Sb10g024640.1).

A significação das paredes celulares tem o potencial de atuar de várias maneiras na defesa das plantas contra patógenos, quais sejam: estabelecer barreiras mecânicas à invasão, aumentar a resistência de paredes celulares para evitar a difusão de toxinas do patógeno, e diminuir a difusão de nutrientes das plantas para o patógeno (NICHOLSON; HAMMERSCHMITT, 1992). Aos 200 DAI, dois genes codificadores de lacase foram identificados *up regulated* (Sb03g039520.1, Sb03g039960.1), e três peroxidases, também envolvidas na biosíntese de lignina, duas *up regulated* (Sb01g030530.1, Sb02g000470.1) e uma *down regulated* (Sb06g033850.1). Uma grande quantidade de genes diferencialmente expressos envolvidos na biosíntese de lignina foram identificados na interação algodão - *V. dahliae* (Xu et al., 2011), e vários genes dessa via foram investigados por PCR quantitativo em tempo real, sendo que a maioria deles foi induzida após a infecção com o fungo. Na interação cana - *S. scitamineum*, a indução de genes envolvidos na biosíntese de lignina pode ser devida à resposta de defesa da planta. Santiago et al. (2010), examinando seções transversais de folhas

de *S. officinarum* cv. 'Barbados 42231' inoculadas com o carvão, observaram o aumento da deposição de lignina nas paredes celulares do esclerênquima e do xilema. Devido ao momento em que esses genes foram identificados no presente trabalho (200 DAI), pode se supor que a sua indução se deu pela presença do fungo, já que a lignina é essencial para a formação do chicote.

Com relação à formação de ceras, foram identificados homólogos ao gene *kda proline-rich, down regulated* às 120 HAI (Sb10g025210.1) e aos 200 DAI (Sb10g004790.1); *proline-rich proteins* (PRPs) são constituintes das paredes celulares (FOWLER; BERNHARDT; TIERNEY, 1999). Além do seu papel na prevenção da dissecação, as ceras podem proteger as plantas da invasão por patógenos (KACHROO; KACHROO, 2009).

Genes diferencialmente expressos relacionados à fotossíntese

Três genes diferencialmente expressos estão relacionados ao processo fotossintético, e codificam *early light-induced proteins*, e foram identificados como *down regulated* nos dois momentos de análise (120 HAI: Sb02g004380; 200 DAI: Sb02g004380.1, Sb02g004390.1). Nota-se que o gene correspondente à referência Sb02g004380 é induzido às 120 HAI e aos 200 DAI. Khalaf et al. (2011) estudando a interação de *Fortunella margarita* - *Xanthomonas citri* subsp. *citri* também identificaram genes envolvidos no processo fotossintético, reprimidos como resposta à infecção. Segundo os autores, a baixa regulação desses genes é resultado de um ajuste no gasto de energia das plantas, que passa a ser direcionado para a resposta de defesa.

Genes envolvidos com a detoxificação

As plantas sintetizam e liberam vários compostos secundários, em grande quantidade, que podem defendê-las da herbivoria e competição com outras plantas, do ataque por patógenos, e de compostos sintéticos, como herbicidas e pesticidas (COLEMAN; BLAKE-KALFF; DAVIES, 1997).

Da série de detoxificadores aqui identificados, o gene *pleiotropic drug resistance* (Sb02g021200.1) foi *up regulated* às 120 HAI. Ortólogos a esse gene

apresentaram importante papel na resistência às ferrugens (*Puccinia triticina* e *P. striiformis*) e ao oídio (*Blumeria graminis*) em trigo (KRATTINGER et al., 2009). Aos 200 DAI, duas proteínas da família *MATE efflux* foram *up* (Sb02g030360.1) e *down regulated* (Sb07g023840.1). Em *Arabidopsis*, foi constatado um aumento da expressão do gene EDS5, homólogo aos membros da família *MATE efflux*, após a infecção com *Pseudomonas syringae* (NAWRATH et al., 2002). No segundo momento, também foram identificados genes inibidores de proteínas fúngicas, *up regulated*, o *xylanase inhibitor protein 1-like* (Sb02g004660.1), e o *polygalacturonase inhibitor 1* (Sb02g036750.1). Além desses, os genes que codificam glutationa S transferases, supracitados, que foram *up regulated*, também apresentam função na detoxificação.

5.4 Mecanismos de defesa contra *S. scitamineum*

Estudos pioneiros sobre o comportamento dos teliósporos de *S. scitamineum* ao atingirem as gemas mostraram que, após a germinação e a formação de apressório, eles levam entre 6 a 36 h para penetrarem nos tecidos meristemáticos, com formação de micélio após 72 h (ALEXANDER; RAMAKRISHNAN, 1980). Como resultado da inoculação artificial de teliósporos após ferimento das gemas, realizada neste trabalho, foi possível constatar que 2% do transcritoma da interação cana - *S. scitamineum* após 120 h, correspondia a transcritos do fungo, o que confirmou a infecção pelo patógeno, em estágio inicial da interação. Segundo Trione (1980), o fungo cresce em todos os tecidos da planta, acumulando-se no meristema apical. A análise do transcritoma da base do chicote e a região do colmo localizada imediatamente embaixo, após 200 dias de interação, revelou um considerável aumento na quantidade de transcritos provenientes do fungo, que corresponderam a 20% do total, confirmando o estabelecimento da doença.

Há relatos sobre as mudanças transcricionais que ocorrem na cana após a infecção por *S. scitamineum* com base nas seguintes abordagens: cDNA-AFLP (THOKOANE; RUTHERDORD, 2001; BORRÁS-HIDALGO et al., 2005; LAO et al., 2008, QUE et al., 2011a), Hibridização Subratrativa por Supressão (SSH) (HEINZE et al., 2001) e RNAseq (WU et al., 2013). Estes trabalhos mostram que os genes são dinamicamente ativados ou reprimidos como estratégia de defesa. Entretanto, os

autores ora analisam genótipos resistentes, ora genótipos suscetíveis ao carvão, dificultando comparações. Isto poderia explicar a variável (*up ou down*) regulação dos genes envolvidos nas respostas de defesa. No presente trabalho, se estudou uma variedade com resistência intermediária ao carvão, que foi confirmada pela emissão tardia dos chicotes (127 dias após a inoculação fúngica). Genótipos suscetíveis chegam a apresentar chicotes a partir dos 30 dias, como verificado para o clone 'IAC66-6' (dados não publicados), e para a cultivar 'Barbados 42231' que apresentou chicotes aos 40 dias após a inoculação (LEGAZ et al., 1998).

Concluindo, receptores de membrana, fatores de transcrição, proteínas quinases e detoxificadores foram induzidos em resposta inicial à infecção (120 HAI), mostrando que a planta percebeu a presença do patógeno. Entretanto, a identificação de genes de resistência, genes envolvidos na formação de parede celular e na produção de cera, todos suprimidos, sugere que o patógeno é capaz de suprimir a resposta de defesa vegetal. Propõe-se que a planta promove uma reprogramação da expressão gênica "defesa-orientada", para que possa se desenvolver mesmo com a doença instalada, e que genes de resistência passam a ser induzidos ao longo da interação, aqui analisada aos 200 dias. Além disso, a expressão de genes relacionados à atividade hormonal (ácido jasmônico, etileno e auxina), genes envolvidos com a lignificação, genes de morte celular e inibidores de proteínas fúngicas foi induzida, sugerindo que a planta se empenha drasticamente para sobreviver à infecção.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho traz informações relevantes sobre o transcritoma expresso durante a interação cana-de-açúcar - *Sporisorium scitamineum*. A opção por usar três estratégias computacionais visando à exploração dos dados de RNAseq, usando o genoma de *Sorghum bicolor* como referência, foi importante para detectar genes do hospedeiro diferencialmente expressos comuns às três estratégias, o que permite atribuir alta acurácia a esta identificação. Os dois momentos de análise foram fundamentais para o estudo das respostas diferenciais à infecção, iniciais (às 120 HAI) e tardias (aos 200 DAI). Ineditamente, este trabalho vem contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos genéticos de resistência da variedade 'RB92-5345' ao carvão.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, B.N.; SAVORY, E.A.; VAILLANCOURT, B.; CHILDS, K.L.; HAMILTON, J.P.; DAY, B.; BUELL, C.R. Expression profiling of *Cucumis sativus* in response to infection by *Pseudoperonospora cubensis*. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 4, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0034954. Disponível em: <<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0034954>>. Acesso em: 20 maio 2014.
- AITKEN, K.S.; JACKSON, P.A.; McINTYRE, C.L. A combination of AFLP and SSR markers provides extensive map coverage and identification of homo(eo)logous linkage groups in a sugarcane cultivar. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 110, p. 789-801, 2005.
- _____. Construction of a genetic linkage map for *Saccharum officinarum* incorporating both simplex and duplex markers to increase genome coverage. **Genome**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 742-756, 2007.
- ALBERT, H.H.; SCHENCK, S. PCR amplification from a homolog of the *bE* mating-type gene as a sensitive assay for the presence of *Ustilago scitaminea* DNA. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, p. 1189-1192, 1996.
- ALEXANDER, K.C.; RAMAKRISHNAN, K. Infection of the bud, establishment in the host and production of whips in sugarcane (*Ustilgo scitaminea*). **Proceedings International Society Sugar Cane Technology**, Kenya, v. 17, p. 1453-1455, 1980.
- ALMEIDA, I.M.G. Doenças causadas por bactérias. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 437-450.
- ANDERS, S.; HUBER, W. Differential expression analysis for sequence count data. **Genome Biology**, London, v. 11, n. 10, R106, 2010. doi:10.1186/gb-2010-11-10-r106. Disponível em: <<http://genomebiology.com/2010/11/10/r106>>. Acesso em: 12 dez. 2013.
- ANDRU, S.; PAN, Y-B.; THONGTHAWEE, S.; BURNER, D.M.; KIMBENG, C.A; Genetic analysis of the sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivar 'LCP 85-384'. I. Linkage mapping using AFLP, SSR, and TRAP markers. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 123, p. 77-93, 2011.
- ANTOINE, R. Smut. In: MARTÍN, J.P.; ABBOTT, E.V.; HUGHES, C.G. (Ed). **Sugarcane diseases of the world**. Amsterdam: Elsevier, 1960. p. 327-354.
- APPEZZATO-DA-GLORIA, B.A.; ALBERNAS, M.C.C.; AMORIM, L. Structural characteristics of sugarcane cultivars with different levels for resistance to smut. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Rostock, v. 102, n. 5, p. 502-508, 1995.

ASPEBORG, H.; SCHRADER, J.; COUTINHO, P.M.; STAM, M.; KALLAS, A.; DJERBI, S.; NILSSON, P.; DENMAN, S.; AMINI, B.; STERKY, F.; MASTER, E. SANDBERG, G.; MELLEROWICZ, E.; SUNDBERG, G.; HENRISSAT, B.; TEERI, T.T. Carbohydrate-active enzymes involved in the secondary cell wall biogenesis in hybrid Aspen. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 137, p. 983–997, 2005.

BABIYCHUK, E.; BOUVIER-NAVÉ, P.; COMPAGNON, V.; SUZUKI, M.; MURANAKA, T.; MONTAGU, M.V.; KUSHNIR, S.; SCHALLER. Allelic mutant series reveal distinct functions for *Arabidopsis* cycloartenol synthase 1 in cell viability and plastid biogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 105, n. 8, p. 3163-3168, 2007.

BACHEM, C.W.B.; HOEVEN, R.S. van der; BRUJIN, S.M.; VREUGDENHIL, D.; ZABEAU, M.; VISSER, R.G.F. Visualization of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprint based on AFLP: analysis of gene expression during potato tuber development. **Plant Journal**, Oxford, v. 9, p. 745-753, 1996.

BAGGERLY, K.; DENG, L.; MORRIS, J.; ALDAZ, C. Differential expression in SAGE: accounting for normal between-library variation. **Bioinformatics**, Oxford, v. 19, n. 12, p. 1477-1483, 2003.

BAUMBERGER, N.; DOESSEGER, B.; GUYOT, R.; DIET, A.; PARSONS, R.L.; CLARK, M.A., SIMMONS, M.P.; BEDINGER, P.; GOFF, S.A.; RINGLI, C.; KELLER, B. Whole-genome comparison of leucine-rich repeat extensins in *Arabidopsis* and rice: a conserved family of cell wall proteins form a vegetative and a reproductive clade. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 131, n. 3, p. 1313-1326, 2003.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B**, London, v. 57, n. 1, p. 289-300, 1995.

BENT, A.F.; MACKEY, D. Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 45, p. 399-436, 2007.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; CARDOSO, C.; SANGUINO, A.; IRVINE, JE; SILVA, WM. **Carvão da cana-de-açúcar e sua epidemiologia**. Piracicaba: COOPERSUCAR, 1987. 23 p. (Boletim Técnico. Edição Especial).

BHUIYAN, S.A.; CROFT, B.J.; COX, M.C. Breeding for sugarcane smut resistance in Australia and industry response: 2006-2011. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technology**, Brisbane, v. 35, p. 1-9, 2013.

BOCK, K.R. Studies on sugar-cane smut (*Ustilago scitaminea*) in Kenya. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 47, p. 403-407, 1964.

BOLWELL, G.P.; BINDSCHEDLER, L.V.; BLEE, K.A.; BUTT, V.S.; DAVIES, D.R.; GARDNER, S.L.; GERRISH, C.; MINIBAYEVA, F. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1367–1376, 2001.

BORRÁS-HIDALGO, O.; THOMMA, B.P.H.J.; CARMONA, E.; BORROTO, C.J.; PUJOL, M.; ARENCIBIA, A.; LOPEZ J. Identification of sugarcane genes induced in disease resistant somaclones upon inoculation with *Ustilago scitaminea* or *Bipolaris sacchari*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 43, p. 1115–1121, 2005.

BÖTTCHER, C.; KEYZERS, R.A.; BOSS, P.K.; DAVIES, C. Sequestration of auxin by the indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3-1 in grape berry (*Vitis vinifera* L.) and the proposed role of auxin conjugation during ripening. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 13, p. 3615-3625, 2010.

BOUWMEESTER, K.; GOVERS, F. Arabidopsis L-type lectin receptor kinases: phylogeny, classification, and expression profiles. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 15, p. 4383–4396, 2009.

BREMER, G. Problems in breeding and cytology of sugar cane. I - A short history of sugar cane breeding the original forms of *Saccharum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 10, p. 59-78, 1961a.

_____. Problems in breeding and cytology of sugar cane. IV - The origin of the increase of chromosome number in species hybrids of *Saccharum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 10, p. 325-342, 1961b.

BRODERSEN, P.; PETERSEN, M.; PIKE, H.M.; OLSZAK, B.; SKOV, S.; ODUM, N.; JORGENSEN, L.B.; BROWN, R.E.; MUNDY, J. Knockout of *Arabidopsis ACCELERATED-CELL-DEATH11* encoding a sphingosine transfer protein causes activation of programmed cell death and defense. **Genes & Development**, New York, v. 16, p. 490-502, 2002.

BUCKERIDGE, M.S.; SOUZA, A.P.; ARUNDALE, R.A.; ANDERSON-TEIXEIRA, K.J.; DeLUCIA, E. Ethanol from sugarcane in Brazil: a 'midway' strategy for increasing ethanol production while maximizing environmental benefits. **Global Change Biology Bioenergy**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 119-126, 2012. doi 10.1111/j.1757-1707.2011.01122.x. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1757-1707.2011.01122.x/full>>. Acesso em: 15 abr. 2014.

BUENO, C.R.N.C. **Infecção por Sporisorium scitamineum em cana-de-açúcar: influência de variáveis ambientais e desenvolvimento de método para diagnose precoce**. 2010. 68 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 277-303, 1999.

CARDOSO-SILVA, C.B.; COSTA, E.A.; MANCINI, M.C.; BALSALOBRE, T.W.A.; CANESIN, L.E.C.; PINTO, L.R.; CARNEIRO, M.S.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A.P.; VICENTINI, R. De Novo Assembly and transcriptome analysis of contrasting sugarcane varieties. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 2, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0088462. Disponível em: <<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0088462>>. Acesso em: 17 abr. 2014.

CARVALHO, R.S. Carvão da cana. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 6, p. 1-12, 1948. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/aesalq/v6/01.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2014.

CHAO, C.P.; HOY, J.W.; SAXTON, A.M.; MARTIN, F.A. Heritability of resistance and repeatability of clone reactions to sugarcane smut in Louisiana. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 80, p. 622–626, 1990.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H.M.C.; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J.C., BURNQUIST, W.L.; CRESTE, S.; DI CIERO, L.; FERRO, J.A.; FIGUEIRA, A.V.O.; FILgueiras, T.S.; GROSSI-DE-SÁ, M.F.; GUZZO, E.C.; HOFFMANN, H.P.; LANDELL, M.G.A.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH, F.C.; ROMANO, E.; DA SILVA, W.J., SILVA FILHO, M.C.; ULIAN, E.C. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology**, Dordrecht, v. 4, p. 62-89, 2011.

CHEN, M-H.; KAUR, P.; DIEN, B.; BELOW, F.; VINCENT, M.L.; SINGH, V. Use of tropical maize for bioethanol production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 29, n. 8, p. 1509-1515, 2013. doi: 10.1007/s11274-013-1317-1. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11274-013-1317-1>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

CHENG, S.-H. Calcium signaling through protein kinases. The *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 129, n. 2, p. 469–485, 2002.

CHROST, B.; KOLUKISAOGLU, U.; SCHULZ, B.; KRUPINSKA, K. An α-galactosidase with an essential function during leaf development. **Planta**, Berlin, v. 225, n. 2, p. 311-320, 2007.

COLEMAN, H.D.; YAN, J.; MANSFIELD, S.D. Sucrose synthase affects carbon partitioning to increase cellulose production and altered cell wall ultrastructure. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 106, n. 31, p. 13118-13123, 2009.

COLEMAN, J.; BLAKE-KALFF, M.; DAVIES, E. Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 144–151, 1997.

COLLMER, A.; KEEN, N.T. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 24, p. 383-409, 1986.

COMSTOCK, J.C. Smut. In: ROTT, P.; BAILEY, R.A.; COMSTOCK, J.C.; CROFT, B.J.; SALEM SAUMTALLY, A. (Ed.). **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: CIRAD; ISSCT, 2000. p. 181–185.

COMSTOCK, J.C.; LENTINI, R.S. **Sugarcane smut disease**. 2005. University of Florida, IFAS Extension. Disponível em:
<http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/SC/SC00800.pdf>. Acesso em: 03 abr. 2014.

COSGROVE, D.J. Loosening of plant cell walls by expansins. **Nature**, London, v. 407, p. 321-326, 2000.

DA SILVA, J.A.G.; HONEYCUTT, R.J.; BURNQUIST, W.; AL-JANABI, S.M.; SORRELLS, M.E.; TANKSLEY, S.D.; SOBRAL, W.S. *Saccharum spontaneum* L. 'SES 208' genetic linkage map combining RFLP and PCR based markers. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 1, p. 165-179, 1995.

DANIELS, J.; ROACH, B.T. Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D.J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**, Amsterdam, v. 11, p. 7-84, 1987.

DAY, P.R.; ANAGNOSTAKIS, S.L. Corn smut dikaryon in culture. **Nature New Biology**, London, v. 231, n. 18, p. 19-20, 1971.

DE BONA, F.; OSSOWSKI, S.; SCHNEEBERGER, K.; RÄTSCH, G. Optimal spliced alignments of short sequence reads. **Bioinformatics**, Oxford, v. 24, n. 16, p. i174-i180, 2008.

DESIKAN, R.; GRIFFITHS, R.; HANCOCK, J.; NEILL, S. A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 99, n. 25, p. 16314-16318, 2002.

D'HONT, A. Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH; examples of sugarcane and banana. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v. 109, p. 27–33, 2005.

D'HONT, A.; GLASZMANN, J.C. Sugarcane genome analysis with molecular markers, a first decade of research. **Proceedings International Society of Sugarcane Technologists**, Mauritius, v. 24, p. 556-559, 2001.

D'HONT, A.; ISON, D.; ALIX, K.; ROOUX, C.; GLASZMANN, J.C. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. **Genome**, Ottawa, v. 41, p. 221-225, 1998.

D'HONT, A.; GRIVET, L.; FELDMANN, P.; RAO, S.; BERDING, N.; GLAUSZMANN, J-C. Characterization of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. **Molecular and General Genetics**, New York, v. 250, p. 405-413, 1996.

DIÉVART, A.; CLARK, S.E. LRR-containing receptors regulating plant development and defense. **Development**, Cambridge, v. 131, p. 251-261, 2004.

DOBIN, A.; DAVIS, C.A.; SCHLESINGER, F.; DRENKOW, J.; ZALESKI, C.; JHA, S.; BATUT, P.; CHAISSON, M.; GINGERAS, T.R. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. **Bioinformatics**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 15-21, 2013.
doi:10.1093/bioinformatics/bts635. Disponível em:
<<http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/29/1/15.long>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

DONG, J.G.; FERNÁNDEZ-MACULET, J.C.; YANG, S.F. Purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase from apple fruit. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 88, n. 20, p. 9789-9793, 1992.

DURBARK, A.; TAX, F.E. CLAVATA signaling pathway receptors of *Arabidopsis* regulate cell proliferation in fruit organ formation as well as in Meristems. **Genetics**, Austin, v. 189, n. 1, p. 177-194, 2011.

FAINO, L.; de JONGE, R.; THOMMA, P.H.J. The transcriptome of *Verticillium dahliae*-infected *Nicotiana benthamiana* determined by deep RNA sequencing. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 7, n. 9, p. 1065-1069, 2012.

FAO. FAOSTAT. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 03 mar. 2014.

FONTANIELLA, B.; MARQUEZ, A.; RODRIGUEZ, C.W.; PINON, D.; SOLAS, M.T.; VICENTE, C.; LEGAZ, M.E. A role for sugarcane glycoproteins in the resistance of sugarcane to *Ustilago scitaminea*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 40, p. 881-889, 2002.

FOWLER, T.J.; BERNHARDT, C.; TIERNEY, M.L. Characterization and expression of four proline-rich cell wall protein genes in *Arabidopsis* encoding two distinct subsets of multiple domain proteins. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 121, n. 4, p. 1081-1091, 1999.

FUKAYAMA, H.; TAMAI, T.; TANIGUCHI, Y.; SULLIVAN, S.; MIYAO, M.; NIMMO, H.G. Characterization and functional analysis of phosphoenolpyruvate carboxylase kinase genes in rice. **The Plant Journal**, Oxford, v. 47, p. 258-268, 2006.

GARCIA, A.A.F.; MOLLINARI, M.; MARCONI, T.G.; SERANG, O.R.; SILVA, R.R.; VIEIRA, M.L.C.; VICENTINI, R.; COSTA, E.A.; MANCINI, M.C.; GARCIA, M.O.S.; PASTINA, M.M.; GAZAFFI, R.; MARTINS, E.R.F.; DAHMER, N.; SFORÇA, D.A.; SILVA, C.B.C.; BUNDOCK, P.; HENRY, R.J.; SOUZA, G.M.; VAN SLUYS, M-A.; LANDELL, M.G.A.; CARNEIRO, M.A.; VINCENTZ, M.A.G.; PINTO, L.R.; VENCOVSKY, R.; SOUZA, A.P. SNP genotyping allows an in-depth characterisation of the genome of sugarcane and other complex autopolyploids. **Scientific Reports**, London, v. 3, n. 3399, p. 1-10, 2013. doi: 10.1038/srep03399. Disponível em:<<http://www.nature.com/srep/2013/131202/srep03399/full/srep03399.html>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

GASIC, K.; HERNANDEZ, A.; KORBAN, S.S. RNA extraction from different apple tissues rich in polyphenols for cDNA library construction. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 22, n. 4, p. 437-438, 2004.

GONÇALVES, M.C. Doenças causadas por vírus. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 47-56.

GONG, Z.; DONG, C-H.; LEE, H.; ZHU, J.; XIONG, L.; GONG, D. STEVENSON, B.; ZHU, J-K. A DEAD box RNA helicase is essential for mRNA export and important for development and stress responses in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, Rockville, v. 17, p. 256–267, 2005.

GOUJON, T.; MINIC, Z.; AMRANI, A.E.; LEROUXEL, O.; ALETTI, E.; LAPIERRE, C.; JOSELEAU, J-P.; JOUANIN, L. *AtBXL1*, a novel higher plant (*Arabidopsis thaliana*) putative beta-xylosidase gene, is involved in secondary cell wall metabolism and plant development. **The Plant Journal**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 677-690, 2003.

GRABHERR, M.G.; HAAS, B.J.; YASSOUR, M.; LEVIN, J.Z.; THOMPSON, D.A.; AMIT, I.; ADICONIS, X.; FAN, L.; RAYCHOWDHURY, R.; ZENG, Q.; CHEN, Z.; MAUCELI, E.; HACOHEN, N.; GNIRKE, A.; RHIND, N.; DI PALMA, F.; BIRREN, B.W.; NUSBAUM, C.; LINDBLAD-TOH, K.; FRIEDMAN, N.; REGEV, A. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. **Nature Biotechnology**, New York, v. 29, p. 644–652, 2011. doi:10.1038/nbt.1883.
Disponível em: <<http://www.nature.com/nbt/journal/v29/n7/full/nbt.1883.html>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

GREEN, B.R.; PICHERSKY, E.; KLOPPSTECH, K. Chlorophyll a/b-binding proteins: an extended family. **Trends in Biochemical Sciences**, Amsterdam, v. 16, n. 5, p. 181-186, 1991.

GRIFFITH, M.; GRIFFITH, O.L.; MWENIFUMBO, J.; GOYA, R.; MORRISSY, A.S.; MORIN, R.D.; CORBETT, R.; TANG, M.J.; HOU, Y-C.; PUGH, T.J.; ROBERTSON, G.; CHITTARANJAN, S.; ALLY, A.; ASANO, J.K.; CHAN, S.Y.; LI, H.I.; McDONALD, H.; TEAGUE, K.; ZHAO, Y.; ZENG, T.; DELANEY, A.; HIRST, M.; MORIN, G.B.; JONES, S.J.M.; TAI, I.T.; MARRA, M.A. Alternative expression analysis by RNA sequencing. **Nature Methods**, London, v. 7, p. 843–847, 2010.

GRIVET, L.; ARRUDA, P. Sugarcane genomics: depicting the complex genome of an important tropical crop. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 122-127, 2002.

GRIVET, L.; D'HONT, A., ROQUES, D.; FELDMANN, P.; LANAUD, C.; GLASZMANN, J.C. RFLP mapping in cultivated sugarcane (*Saccharum* spp.): genome organization in a highly polyploid and aneuploid interspecific hybrid. **Genetics**, Austin, v. 142, p. 987-1000, 1996.

GUIMARÃES, C.T.; SILLS, G.R.; SOBRAL, B.W.S. Comparative mapping of Andropogoneae: *Saccharum* L. (sugarcane) and its relation to sorghum and maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 94, p. 14261-14266, 1997.

GUO, D.; CHEN, F.; INOUE, K.; BLOUNT, J.W.; DIXON, R.A. Down regulation of caffeic acid 3-O-methyltransferase and caffeoyl CoA 3-O-methyltransferase in transgenic alfalfa: impacts on lignin structure and implications for the biosynthesis of G and S lignin. **The Plant Cell**, Rockville, v. 13, n. 1, p.73-88, 2001.

HAHLBROCH, K.; SCHEEL, D. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 347-369, 1989.

HANSON, A.D.; GAGE, D.A.; SHACHAR-HILL, Y. Plant one-carbon metabolism and its engineering. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 5, n. 5, p. 206-213, 2000.

HARDCASTLE, T.J.; KELLY, K.A. baySeq: empirical Bayesian methods for identifying differential expression in sequence count data. **BMC Bioinformatics**, Oxford, v. 11, n. 422, p. 1-14, 2010. doi:10.1186/1471-2105-11-422. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2105/11/422>>. Acesso em: 09 jun. 2014.

HAUKSWORTH, D.L.; KIRK, P.M.; SUTTON, B.C.; PEGLER, D.N. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. 8th ed. Cambridge: CAB International, 1995. 616 p.

HAYASHI, S.; ISHII, ?????; MATSUNAGA, T.; TOMINAGA, R.; KUROMORI, T.; WADA, T.; SHINOZAKI, K.; HIRAYANA. The glycerophosphoryl diester phosphodiesterase-like proteins SHV3 and its homologs play important roles in cell wall organization. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 40, n. 10, p. 1522-1535, 2008.

HEINZE, B.S.; THOKOANE, L.N.; WILLIAMS, N.J.; BARNES, J.M.; RUTHERFORD, R.S. The smut-sugarcane interaction as a model system for the integration of marker discovery and gene isolation. **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 75, p. 88-93, 2001.

HÜCKELHOVEN, R. Powdery mildew susceptibility and biotrophic infection strategies. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 245, p. 9–17, 2005.

IRVINE, J.E. *Saccharum* species as horticultural classes. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 98, p. 186-194, 1999.

ITO, H.; GRAY, W.M. A gain-of-function mutation in the *Arabidopsis* pleiotropic drug resistance transporter PDR9 confers resistance to auxinic herbicides. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 14, n. 1, p. 63-74, 2006.

JAIN, M.; NIJHAWAN, A.; ARORA, R.; AGARWAL, P.; RAY, S.; SHARMA, P.; KAPOOR, S.; TYAGI, A.K.; KHURANA, J.P. F-Box proteins in rice. genome-wide analysis, classification, temporal and spatial gene expression during panicle and seed development, and regulation by light and abiotic stress. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 143, n. 4, p. 1467-1483, 2007.

JANOO, N.; GRIVET, L.; CHANTRET, N.; GARSMEUR, O.; GLASZMANN, J.C.; ARRUDA, P.; D'HONT, A. Orthologous comparison in a gene-rich region among grasses reveals stability in the sugarcane polyploid genome. **The Plant Journal**, Oxford, v. 50, n. 4, p. 574-585, 2007.

JINJU, W.; ZHANYUN, D.; CHENGHUA, H.; WEIHUA, H.; MEIXIN, Y.; HAIBIN, L.; HONGQIN, T. Preliminary investigation on the main fungal diseases of sugarcane in Guangxi Province of China. **Plant Diseases and Pests**, New York, v. 4, n. 1, p. 28-32, 2013.

JOHN, P. Ethylene biosynthesis: the role of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase, and its possible evolutionary origin. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 100, n. 3, p. 583-592, 1997.

JUGE, N. Plant protein inhibitors of cell wall degrading enzymes. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 11, n. 7, p. 359-367, 2006.

KACHROO, A.; KACHROO, P. Fatty acid-derived signals in plant defense. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 47, p. 153-176, 2009.

KADER, J-C. Lipid-transfer proteins in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 627-654, 1996.

KAWAHARA, Y.; OONO, Y.; KANAMORI1, H.; MATSUMOTO, T.; ITOH1, T.; MINAMI, E. Simultaneous RNA-Seq analysis of a mixed transcriptome of rice and blast fungus interaction. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 11, 2012.
doi:10.1371/journal.pone.0049423. Disponível em:
<<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0049423>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

KAWASAKI, H.; NAKAYAMA, S.; KRETSINGER, R.H. Classification and evolution of EF-hand proteins. **BioMetals**, London, v. 11, p. 277-295, 1998.

KEEGSTRA, K. Plant cell walls. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 154, n. 2, p. 483-486, 2010.

KELLOGG, E.A. Phylogenetic relationships of Saccharinae and Sorghinae. In: PATERSON, A.H. (Ed). **Genomics of the Saccharinae**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 3-22.

KHALAF, A.A.; GMITTER, F.G.; CONESA, A.; DOPAZO, J.; MOORE, G.A. *Fortunella margarita* transcriptional reprogramming triggered by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. **BMC Plant Biology**, London, v. 11, n. 159, p. 1-17, 2011.

KRATTINGER, S.G.; LAGUDAH, E.S.; SPIELMEYER, W.; SINGH, R.P.; HUERTA-ESPIÑO, J.; McFADDEN, H.; BOSSOLINI, E.; SELTER, L.L.; KELLER, B. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. **Science**, Washington, v. 323, n. 5919, p. 1360-1363, 2009.

KRONSTAD, J.; LEONG, S.A. The *b* mating type locus of *Ustilago maydis* contains variable and constant regions. **Genes and Development**, New York, v. 4, p. 1384-1395, 1990.

KUMAR, P.P. Regulation of biotic and abiotic stress responses by plant hormones. **Plant Cell Reports**, New York, v. 32, n. 7, p. 943, 2013.

LAM, E.; SHINE J.R.; J.; DA SILVA, J.; LAWTON, M.; BONOS, S.; CALVINO, M.; CARRER, H.; SILVA-FILHO, M.C.; GLYNN, N.; HELSEL, Z.; MA, J.; RICHARD JR, E.; SOUZA, G.M., MING, R. Improving sugarcane for biofuel: engineering for an even better feedstock. **Global Change Newsletter**, Stockholm, v. 1, p. 251-255, 2009.

LANDELL, M.G.A.; SILVA, M.A. As estratégias de seleção da cana em desenvolvimento no Brasil. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, p. 18-23, 2004.

LANDELL. M.G.A.; PINTO, L.R.; CRESTE, S.; XAVIER, M.A.; ANJOS, I.A.; VASCONCELOS, A.C.M.; BIDÓIA, M.A.P.; SILVA, D.N.; SILVA, M.A. Seleção de novas variedades de cana-de-açúcar e seu manejo de produção. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 110, 2005. Disponível em: <[http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/F485DF9D222EDCE183257AA1006BC680/\\$FILE/Enc18-24-110.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/F485DF9D222EDCE183257AA1006BC680/$FILE/Enc18-24-110.pdf)>. Acesso em: 03 abr. 2014.

LANG, C.; DÖRNENBURG, H. Perspectives in the biological function and the technological application of polygalacturonases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 53, p. 366-375, 2000.

LANGENBACH, C.; CAMPE, R.; SCHAFFRATH, U.; GOELLNER, K.; CONRATH, U. UDP-glucosyltransferase UGT84A2/BRT1 is required for *Arabidopsis* nonhost resistance to the Asian soybean rust pathogen *Phakopsora pachyrhizi*. **New Phytologist**, Cambridge, v. 198, n. 2, p. 536-545, 2013.

LANGMEAD, B.; SALZBERG, S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. **Nature Methods**, London, v. 9, p. 357-359, 2012. doi:10.1038/nmeth.1923. Disponível em: <<http://www.nature.com/nmeth/journal/v9/n4/full/nmeth.1923.html>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

LAO, M.; ARENCIBIA, A.D.; CARMONA, E.R.; ACEVEDO, R.; RODRÍGUEZ, E.; LEÓN, O.; SANTANA, I. Differential expression analysis by cDNA-AFLP of *Saccharum* spp. after inoculation with the host pathogen *Sporisorium scitamineum*. **Plant Cell Reports**, New York, v. 27, p. 1103–1111, 2008.

LEE, D.S.; KIM, B.K.; KWON, S.J.; JIN, H.C.; PARK, O.K. *Arabidopsis* GDSL lipase 2 plays a role in pathogen defense via negative regulation of auxin signaling. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 379, n. 4, p. 1038-1042, 2009.

LEE, Y.; KENDE, H. Expression of beta-expansins is correlated with internodal elongation in deepwater rice. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 127, n. 2, p. 645-654, 2001.

LEGAZ, M.E.; ARMAS, R.; PIÑÓN, D.; VICENTE, C. Relationships between phenolics conjugated polyamines and sensitivity of sugarcane to smut (*Ustilago scitaminea*). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 1723-1728, 1998.

LI, C-Y.; DENG, G-M.; YANG, J.; VILJOEN, A; JIN, Y.; KUANG, R-B.; ZUO, C-W.; LV, Z-C.; YANG, Q.S.; SHENG, O.; WEI, Y-R.; HU, C-H.; DONG, T.; YI, G.J. Transcriptome profiling of resistant and susceptible Cavendish banana roots following inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4. **BMC Genomics**, London, v. 13, n. 374, p. 1-11, 2012. doi:10.1186/1471-2164-13-374. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/13/374>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

LI, J.; WITTEN, D.M.; JOHNSTONE, I.M.; TIBSHIRANI, R. Normalization, testing, and false discovery rate estimation for RNA-sequencing data. **Biostatistics**, Oxford, v. 13, n. 3, p. 523-538, 2012.

LI, L.; HE, Z.; PANDEY, G.K.; TSUCHIYA, T.; LUAN, S. Functional cloning and characterization of a plant efflux carrier for multidrug and heavy metal detoxification. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 277, p. 5360–5368, 2002.

LISTER, R.; GREGORY, B.D.; ECKER, J.R. Next is now: new technologies for sequencing of genomes, transcriptomes, and beyond. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, n. 2, p. 107-118, 2009.

LLOYD, H.L.; NAIDOO, G. Chemical assay potentially suitable for determination of smut resistance for sugarcane cultivars. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, p. 1103-1105, 1983.

LLOYD, H.L.; PILLAY, M. The development of an improved method for evaluating sugarcane for resistance to smut. **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, Durban, v. 54, p. 168-172, 1980.

LU, Y.; D'HONT, A.; PAULET, F.; GRIVET, L.; ARNAUD, M.; GLASZMANN, J. C. Molecular diversity and genome structure in modern sugarcane varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 78, p. 217–226, 1994.

LUAN, S. The CBL-CIPK network in plant calcium signaling. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 37-42, 2009. doi: 10.1016/j.tplants.2008.10.005. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/MED/19054707>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

LUDWIG, S.R.; OPPENHEIMER, D.G.; SILFLOW, C.D.; SNUSTAD, D.P. Characterization of the α -tubulin gene family of *Arabidopsis thaliana* (gene structure/protein homologies/transcription). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 84, p. 5833-5837, 1987.

LUTHRA, J.C.; SUTTAR, A.; SANDHU, S.S. Experiments on the control of smut of sugarcane. **Proceedings in Indian Academy of Sciences, Sec. B.**, New Delhi, v. 12, p. 118-128, 1940.

MADSON, M.; DUNAND, C.; LI, X.; VERMA, R.; VANZIN, G.F.; CAPLAN, J.; SHOUE, D.A.; CARPITA, N.C.; REITER, W-D. The *MUR3* gene of *arabidopsis* encodes a xyloglucan galactosyltransferase that is evolutionarily related to animal exostosins. **The Plant Cell**, Rockville, v. 15, p. 1662-1670, 2003.

MANNERS, J.M.; CASU, R.E. Transcriptome analysis and functional genomics of sugarcane. **Tropical Plant Biology**, Dordrecht, v. 9, p. 9-21, 2011. doi 10.1007/s12042-011-9066-5. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12042-011-9066-5>>. Acesso em: 15 abr. 2014.

MARQUES, J.P.R; APPEZZATO-DA-GLORIA, B. MONTEIRO-VITORELLO, C.B.; VIEIRA, M.L.C. Anatomical characterization of the 'smut whip' of sugarcane incited by the fungus *Sporisorium scitamineum*. In: PLANT BIOLOGY EUROPE FESPB/EPSO, 2014, Dublin. **Abstracts...** Dublin: FESPB/EPSO, 2014. Abstract 0680.

MARRS, K.A. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 127-158, 1996.

MATSUOKA, S.; FERRO, J.; ARRUDA, P. The Brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Columbia, v. 5, p. 372-281, 2009.

MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; LUU, D-T.; SANTONI, V. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 59, p. 594-624, 2008.

MAYER, A.M.; STAPLES, R.C. Laccase: new functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, New York, v. 60, n. 6, p. 551-565, 2002.

MAZZOTTA, S.; KEMMERLING, B. Pattern recognition in plant innate immunity. **Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 93, n. 1, p. 7-17, 2011.

MILLANES, A-M.; FONTANIELLA, B.; LEGAZ, M.-E.; VICENTE, C. Glycoproteins from sugarcane plants regulate cell polarity of *Ustilago scitaminea* teliospores. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, p. 253–265, 2004.

MING, R.; DEL MONTE, T.A.; HERNANDEZ, E.; MOORE, P.H.; IRVINE, J.E.; PATERSON, A.H. Comparative analysis of QTLs affecting plant height and flowering among closely-related diploid and polyploid genomes. **Genome**, Ottawa, v. 45, p. 794-803, 2002.

MING, R.; LIU, S.C.; LIN, Y.R.; DA SILVA, J.A.G.; WILSON, W.; BRAGA, D.; VAN DEYNZE, A.; WENSLAFF, T.F.; WU, K.K.; MOORE, P.H.; BURNQUIST, W.; SORRELLS, M.E.; IRVINE, J.E.; PATERSON, A.H. Detailed alignment of *Saccharum* and *Sorghum* chromosomes: comparative organization of closely related diploid and polyploid genomes. **Genetics**, Bethesda, v. 150, p. 1663–1682, 1998.

MINGOSSI, F.B. **Estudo dos perfis transcripcionais em resposta ao estresse biótico e abiótico em cana-de-açúcar**. 2013. 89 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MONTEIRO-VITORELLO, C.B.; QUECINE, M.C.; REIS, G.; PALHARES, A.; CASTELO-BRANCO, L.; KMIT, M.C.P.; CRESTE, S.; VIEIRA, M.L.C. Establishment of a genetic platform to study *Sporisorium scitamineum*. In: ISSCT CONGRESS, 28., 2013, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: ISSCT, 2013. Resumo BM 024.

MORTAZAVI, A.; WILLIAMS, B.A.; McCUE, B.; SCHAEFFER, L.; WOLD, B. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. **Nature Methods**, London, v. 5, p. 621-628, 2008.

MUKHERJEE, S.K. Origin and distribution of *Saccharum*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 119, p. 55–61, 1957.

MUNHOZ, C.F. **Identificação de genes de maracujá azedo diferencialmente expressos durante a interação com *Xanthomonas axonopodis***. 2013. 175 p. 2013. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MUÑOZ, I.; FLURY, K.; JUNGBLUTH, N.; RIGARLSFORD, G.; CANALS, L.M.; KING, H. Life cycle assessment of bio-based ethanol produced from different agricultural feedstocks. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, Cincinnati, v. 19, p. 109-110, 2014. doi: 0.1007/s11367-013-0613-1. Disponível em: <<http://www.esu-services.ch/fileadmin/download/munoz-2013-bio-based-ethanol.pdf>>. Acesso em: 09 jun. 2014.

NAWRATH, C.; HECK, S.; PARINTHAWONG, N.P.; MÉTRAUX, J-P. EDS5, an essential component of salicylic acid-dependent signaling for disease resistance in *Arabidopsis*, is a member of the MATE transporter family. **The Plant Cell**, Rockville, v. 14, p. 275–286, 2002.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMITT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

NIGGEWEG, R.; MICHEL, A.J.; MARTIN, C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. **Nature Biotechnology**, New York, v. 22, p. 746-754, 2004.

NÓBREGA, J.C.M.; DORNELAS, M.C. Biotecnologia e melhoramento da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NOBREGA, J.C.M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Livroceres, 2006. cap. 3, p. 39-56.

OLIVEIRA, J.F.N.C. **Caracterização fisiológica e perfil de expressão gênica de cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) constrastantes para o deficit hídrico**. 2012. 328 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

OLIVEIRA, K.M.; PINTO, L.R.; MARCONI, T.G.; MARGARIDO, G.R.A.; PASTINA, M.M.; TEIXEIRA, L.H.M.; FIGUEIRA, A.V.O.; ULIAN, E.C.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A.P. Funcional integred genetic linkage map base on EST-markers for a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 20, p. 189-208, 2007.

PALHARES, A.C.; RODRIGUES-MORAIS, T.B.; VAN SLUYS, M-A.; DOMINGUES, D.S.; MACCHERONI, JR.W.; JORDÃO JR. H.; MARCONI, T.G.; SOUZA, A.P.; MOLLINARI, M.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A.A.F.; VIEIRA, L.M.C. A novel linkage map of sugarcane with evidence for clustering of retrotransposon-based markers. **BMC Genetics**, London, v. 13, p. 1-16, 2012. doi:10.1186/1471-2156-13-51. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2156/13/51>>. Acesso em: 16 abr. 2014.

PATERSON, A.H.; BOWERS, J.E.; BRUGGMANN, R.; DUBCHAK, I.; GRIMWOOD, J.; GUNDLACH, H.; HABERER, G.; HELLSTEN, U.; MITROS, T.; POLIAKOV, A.; SCHMUTZ, J.; SPANNAGL, M.; TANG, H.; WANG, X.; WICKER, T.; BHARTI, A.K.; CHAPMAN, J.; FELTUS, F.A.; GOWIK, U.; GRIGORIEV, I.V.; LYONS, E.; MAHER, C.A.; MARTIS, M.; NARECHANIA, A.; OTILLAR, R.P.; PENNING, B.W.; SALAMOV, A.A.; WANG, Y.; ZHANG, L.; CARPITA, N.C.; FREELING, M.; GINGLE, A.R.; HASH, C.T.; KELLER, B.; KLEIN, P.; KRESOVICH, S.; MCCANN, M.C.; MING, R.; PETERSON, D.G.; MEHBOOB-UR-RAHMAN, WARE. D.; WESTHOFF, P.; MAYER, K.F.; MESSING, J.; ROKHSAR, D.S. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. **Nature**, London, v. 457, n. 7229, p. 551-556, 2009.

PICKEL, B.; SCHALLER, A. Dirigent proteins: molecular characteristics and potential biotechnological application. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 97, p. 8427–8438, 2013.

PIEPENBRING, M.; STOLL, M.; OBERWINKLER, F. The generic position of *Ustilago maydis*, *Ustilago scitaminea* and *Ustilago esculenta* (Ustilaginales). **Mycological Progress**, München, v. 1, p. 71-80, 2002.

PIPERIDIS, G.; PIPERIDIS, N.; D'HONT, A. Molecular cytogenetic investigation of chromosome composition and transmission in sugarcane. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 284, p. 65–73, 2010.

POURCEL, L.; ROUTABOUL, J-M.; CHEYNIER, L.; LEPINIEC, L.; DEBEAUJON, I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 29-36, 2007.

QUE, Y.X.; LIN, J.W.; SONG, X.X.; XU, L.P.; CHEN, R.K. Differential gene expression in sugarcane in response to challenge by fungal pathogen *Ustilago scitaminea* revealed by cDNA-AFLP. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, New York, v. 2011, p. 1-10, 2011a. doi:10.1155/2011/160934. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2011/160934/>>. Acesso em: 28 maio 2014.

QUE, Y.X.; XU, L.; LIN, J.; RUAN, M.; ZHANG, M.; CHEN, R. Differential protein expression in sugarcane during sugarcane-*Sporisorium scitamineum* interaction revealed by 2-DE and MALDI-TOF-TOF/MS. **Comparative and Functional Genomics**, Chichester, v. 2011, p. 1-10, 2011b. doi:10.1155/2011/989016. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijg/2011/989016/>>. Acesso em: 28 maio 2014.

RAGO, A.M.; CASAGRANDE, M.V.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Variabilidade patogênica de *Ustilago scitaminea* no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 35, n. 2, p. 93-97, 2009.

RAJAM, M.V.; WEINSTEIN, L.H.; GALSTON, A.W. Prevention of a plant disease by specific inhibition of fungal polyamine biosynthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 82, p. 6874-6878, 1985.

RALPH, S.; PARK, J-Y.; BOHLMANN, J.; MANSFIELD, S.D. Dirigent proteins in conifer defense: gene discovery, phylogeny, and differential wound- and insect-induced expression of a family of DIR and DIR-like genes in spruce (*Picea spp.*). **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 60, p. 21–40, 2006.

RAPAPORT, F.; KHANIN, R.; LIANG, Y.; PIRUN, M.; KREK, A.; ZUMBO, P.; MASON, C.E.; SOCCI, N.D.; BETEL, D. Comprehensive evaluation of differential gene expression analysis methods for RNA-seq data. **Genome Biology**, London, v. 14, p. 1-13, 2013. doi:10.1186/gb-2013-14-9-r95. Disponível em: <<http://genomebiology.com/2013/14/9/R95>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

REDE INTERUNIVERSITÁRIA PARA O DESENVOLVIMENTO DO SETOR SUCROENERGÉTICO. **Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar**. Curitiba, 2010. 140 p.

REIS, G.V. **Diversidade genética de isolados do fungo *Sporisorium scitamineum* analisada através de fingerprinting da região telomérica**. 2012. 84 p. Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

ROBERT-SEILANIANTZ, A.; NAVARRO, L.; BARI, R.; JONES, J.D.G. Pathological hormone imbalances. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 10, p. 372–379, 2007.

ROBINSON, M.D.; MCCARTHY, D.J.; SMYTH, G.K. edgeR: a bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 139-140, 2010.

RODRIGUES-MORAIS, T.B. **Mapa de ligação e mapeamento de locos quantitativos de resistência a *Sporisorium scitaminem* em cana-de-açúcar.** 2013. 152 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, M-C. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, n. 12, p. 606-613, 2004.

RUSHTON, P.J.; SOMSSICH, I.E.; RINGLER, P.; SHEN, Q.J. WRKY transcription factors. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 15, n. 5, p.247-258, 2010.

SANTIAGO, R.; QUINTANA, J.; RODRÍGUEZ, S.; DÍAZ, E.M.; LEGAZ, M.E.; VICENTE, C. An elicitor isolated from smut teliospores (*Sporisorium scitamineum*) enhances lignin deposition on the cell wall of both sclerenchyma and xylem in sugarcane leaves. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 42, n. 4, p. 2867-2881, 2010.

SANTOS, A.S. Doenças causadas por fungos. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 423-450.

SCARPARI, M.S.; BEAUCLAIR, E.G.F. Anatomia e botânica. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 47-56.

SCHROEDER, A.; MUELLER, O.; STOCKER, S.; SALOWSKY, R.; LEIBER, M.; GASSMANN, M.; LIGHTFOOT, S.; MENZEL, W.; GRANZOW, M.; RAGG, T. The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. **BMC Molecular Biology**, London, v. 7, n. 3, p. 1-14, 2006. doi:10.1186/1471-2199-7-3. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1186%2F1471-2199-7-3#page-1>>. Acesso em: 16 abr. 2014.

SCHUSTER, B.; RÉTEY, J. The mechanism of action of phenylalanine ammonia-lyase: the role of prosthetic dehydroalanine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 92, p. 8433-9437, 1995.

SEARLE, I.; HE, Y.; TURCK, F.; VINCENT, C.; FORNARA, F.; KRÖBER, S.; AMASINO, R.A.; COUPLAND, G. The transcription factor FLC confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in *Arabidopsis*. **Genes & Development**, New York, v. 20, p. 898-912, 2006.

SHAH, J. Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 229-260, 2005.

SHIMONO, M.; SUGANO, S.; NAKAYAMA, A.; JIANGA, C-J.; ONO, K.; TOKI, S.; TAKATSUJI, H. Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v. 19, n. 6, p. 2064-2076, 2007.

SIEDOW, J.N. Plant lipoxygenase: structure and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 145-188, 1991.

SOUZA, G.M.; BERGES, H.; BOCS, S.; CASU, R.; D'HONT, A.; FERREIRA, J.E.; HENRY, R.; MING, R.; POTIER, B.; VAN SLUYS, M-A.; VINCENTZ, M.; PATERSON, A.H. The sugarcane genome challenge: strategies for sequencing a highly complex genome. **Tropical Plant Biology**, Dordrecht, v. 4, p. 145-156, 2011.

SUGAR RESEARCH AUSTRALIA. **Sugarcane smut**. Disponível em: <http://www.sugarresearch.com.au/icms_docs/164128_ISI3012_Sugarcane_Smut.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2014.

STUKKENS, Y.; BULTREYSM A.; GREC, S.; TROMBIK, T.; VANHAM, D.; BOUTRY, M. NpPDR1, a pleiotropic drug resistance-type ATP-binding cassette transporter from *Nicotiana plumbaginifolia*, plays a major role in plant pathogen defense. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 139, n. 1, p. 341-352, 2005.

SUGARCANE.ORG. Disponível em: <<http://sugarcane.org>>. Acesso em: 03 mar. 2014.

SUNDAR, A.R.; BARNABAS, E.L.; MALATHI, P.; VISWANATHAN, R. A Mini-review on smut disease of sugarcane caused by *Sporisorium scitamineum*. In: **Botany**. Coimbatore, 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/botany/-a-mini-review-on-the-status-of-smut-disease-of-sugarcane-caused-by-sporisorium-scitamineum>>. Acesso em: 02 mar. 2014.

TAKAHASHI, T.; NAITO, S.; KOMEDA, Y. Isolation and analysis of the expression of two genes for the 81-kilodalton heat-shock proteins from *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 99, p. 383-390, 1992.

TAKUSAGAWA, F.; KAMITORI, S.; MARKHAM, G.D. Structure and function of S-adenosylmethionine synthetase: crystal structures of S-adenosylmethionine synthetase with ADP, BrADP, and PPi at 28 angstroms resolution. **Biochemistry**, Washington, v. 35, n. 8, p. 2586-2589, 1996.

TANG, G-Q.; LÜSCHER, M.; STURM, A. Antisense repression of vacuolar and cell wall invertase in transgenic carrot alters early plant development and sucrose partitioning. **The Plant Cell**, Rockville, v. 11, p. 177–189, 1999.

THIMM, O.; BLÄSING, O.; GIBON, Y.; NAGEL, A.; MEYER, S.; KRÜGER, P.; SELBIG, J.; MÜLLER, L.A.; RHEE, S.Y.; STITT, M. MAPMAN: a user-driven tool to display genomics data sets onto diagrams of metabolic pathways and other biological processes. **The Plant Journal**, Oxford, v. 37, p. 914-939, 2004. doi: 10.1111/j.1365-313X.2004.02016.x. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-313X.2004.02016.x/pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

THOKOANE, L.N.; RUTHERFORD, R.S. cDNA-AFLP differential display of sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrids) genes induced by challenge with the fungal pathogen *Ustilago scitaminea* (Sugarcane smut). **Proceedings of the South African Sugar Technologists Association**, Durban, v. 74, p. 104-107, 2001.

TOMKINS, J.P.; YU, Y.; MILLER-SMITH, H.; FRISCH, D.A.; WOO, S.S.; WING, R.A. A bacterial artificial chromosome library for sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 3/4, p. 419–424, 1999.

TRAPNELL, C.; WILLIAMS, B.A.; PERTEA, G.; MORTAZAVI, A.; KWAN, G.; VAN BAREN, M.J.; SALZBERG, S.L.; WOLD, B.J.; PACHTER, L. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. **Nature Biotechnology**, New York, v. 28, n. 5, p. 511–515, 2010.

TREMBLAY, A.; HOSSEINI, P.; ALKHAROUF, N.W.; LI, S.; MATTHEWS, A.F. Gene expression in leaves of susceptible *Glycine max* during infection with *Phakopsora pachyrhizi* using next generation sequencing. **Sequencing**, New York, v. 2011, p. 1-14, 2011. doi: 10.1155/2011/827250. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/archive/2011/827250/>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

TRIONE, E.J. Teliospore formation by *Ustilago scitaminea* in sugarcane. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 50, p. 513-516, 1980.

TZVELEV, N.N. The system of grasses (Poaceae) and their evolution. **The Botanical Review**, Lancaster, v. 55, n. 3, p. 141-204, 1989.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br>>. Acesso em: 05 mar. 2014.

VEITCH, N.C. Structural determinants of plant peroxidase function. **Phytochemistry Reviews**, Amsterdam, v. 3, n. 1/2, p. 3-18, 2004.

VETTORE, A.L.; DA SILVA, F.R.; KEMPER, E.L.; SOUZA, G.M.; FERRO, T.; HENRIQUE-SILVA, F.; GICLIOTI, E.A.; LEMOS, M.V.F.; COUTINHO, L.L.; NOBREGA, M.P.; CARRER, H.; FRANÇA, S.C.; BACCI Jr, M.; GOLDMAN, M.H.S.; GOMES, S.L.; NUNES, L.R.; CAMARGO, L.E.A.; SIQUEIRA, W.J.; VAN SLUYS, M.A.; THIEMANN, O.H.; KURAMAE, E.E.; SANTELLI, R.V.; MARINO, C.L.; TARGON, M.L.P.N.; FERRO, J.A.; SILVEIRA, H.C.S.; MARINI, D.C.; LEMOS, E.G.M.; MONTEIRO VITORELLO, C.B.; TAMBOR, J.H.M.; CARRARO, D.M.; ROBERTO, P.G.; MARTINS, V.G.; GOLDMAN, G.H.; OLIVEIRA, R.C.; TRUFFI, D.; COLOMBO, C.A.; ROSSI, M.; ARAÚJO, P.G.; SCULACCIO, S.A.; ANGELLA, A.; LIMA, M.M.A.; ROSA, V.E.; SIVIERO, F.; COSCRATO, V.E.; MACHADO, M.A.; GRIVET, L.; MAURO, S.M.Z.; NOBREGA, F.G.; MENCK, C.S.F.M.; BRAGA, M.D.V.; TELLES, G.P.; CARA, F.A.A.; PEDROSA, G.; MEIDANIS, J.; ARRUDA, P. Analysis and functional annotation of an expressed sequence tag collection for tropical crop sugarcane. **Genome Research**, Woodbury, v. 13, n. 12, p. 2725-2735, 2003.

VICK, B.A.; ZIMMERMAN, D.C. The biosynthesis of jasmonic acid: A physiological role for plant lipoxygenase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 111, n. 2, p. 470-477, 1983.

WACLAWOVSKY, A.J.; SATO, P.M.; LEMBKE, C.G.; MOORE, P.H.; SOUZA, G.M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 8, p. 263–276, 2010.

WALLER, J.M. Sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*) in Kenia. II. Infection and resistance. **Transactions British Mycological Society**, London, v. 54, p. 405-414, 1970.

WANG, J.; ROE, B.; MACMIL, S.; YU, Q.; MURRAY, J.E.; TANG, H.; CHEN, C.; NAJAR, F.; WILEY, G.; BOWERS, J.; VAN SLUYS, M-A.; ROKHSAR, D.S.; HUDSON, M.E.; MOOSE, S.P.; PATERSON, A.H.; MING, R. Microcollinearity between autopolyploid sugarcane and diploid sorghum genomes. **BMC Genomics**, London, v. 11, n. 261, p. 1-17, 2010.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature Reviews - Genetics**, London, v. 10, p. 57-63, 2009.

WESTERMANN, A.J.; GORSKI, S.A.; VOGEL, J. Dual RNA-seq of pathogen and host. **Nature Reviews - Microbiology**, London, v. 10, p. 618-630, 2012.
doi:10.1038/nrmicro2852. Disponível em:
<http://www.nature.com/nrmicro/journal/v10/n9/full/nrmicro2852.html>. Acesso em: 02 jun. 2014.

WU, Q.; XU, L.; GUO, J.; SU, Y.; QUE, Y. Transcriptome profile analysis of sugarcane responses to *sporisorium scitaminea* infection using solexa sequencing technology. **BioMed Research International**, New York, v. 2013 p. 1-9, 2013.
doi:10.1155/2013/298920. Disponível em:
<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/298920/>. Acesso em: 16 jun. 2014.

XING, T.; HIGGINS, V.J.; BLUMWALD, E. Regulation of plant defense response to fungal pathogens: two types of protein kinases in the reversible phosphorylation of the host plasma membrane H⁺-ATPase. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 3, p. 555-564, 1996.

XU, L.; ZHU, L.; TU, L.; LIU, L.; YUAN, D.; JIN, L.; LONG, L.; ZHANG, X. Lignin metabolism has a central role in the resistance of cotton to the wilt fungus *Verticillium dahliae* as revealed by RNA-Seq-dependent transcriptional analysis and histochemistry. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 15, p. 5607–5621, 2011.

XU, W.; PURUGGANAN, M.M.; POLISENSKY, D.H.; ANTOSIEWICZ, D.M.; FRY, C.S.; BRAAM, J. *Arabidopsis* TCH4, regulated by hormones and the environment, encodes a xyloglucan endotransglycosylase. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 10, p. 1555-1567, 1995.

XU, Y.; CHANG, P-F.L.; LIU, D.; NARASIMHAN, M.L.; RAGHOTHAMA, K.G.; HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A. Plant defense genes are synergistically Induced by ethylene and methyl jasmonate. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, p. 1077-1085, 1994.

YAZAWA, T.; KAWAHIGASHI, H.; MATSUMOTO, T.; MIZUNO, T. Simultaneous transcriptome analysis of sorghum and *Bipolaris sorghicola* by using RNA-seq in combination with *de novo* transcriptome assembly. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 4, p. 1-13, 2013.

ZHAO, M.R.; HAN, Y.Y.; FENG Y.N.; LI, F.; WANG, W. Expansins are involved in cell growth mediated by abscisic acid and indole-3-acetic acid under drought stress in wheat. **Plant Cell Reports**, New York, v. 31, n. 4, p. 671-685, 2012. doi: 10.1007/s00299-011-1185-9. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00299-011-1185-9>>. Acesso em: 16 jun. 2014.

ZHU, Q-H.; STEPHEN, S.; KAZAN, K.; JIN, G.; FAN, L.; TAYLOR, J.; DENNIS, E.S.; HELLIWELL, C.A.; WANG, M-B. Characterization of the defense transcriptome responsive to *Fusarium oxysporum*-infection in *Arabidopsis* using RNA-seq. **Gene**, Amsterdam, v. 512, n. 2, p. 259-266, 2012.

ANEXOS

ANEXO A - Genes de cana-de-açúcar diferencialmente expressos em resposta à infecção por *Sporisorium scitamineum* após 120 horas

Tabela A1.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq

(continua)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change
1	Sb01g002595.1	50s ribosomal protein l18	90.0	0,027
2	Sb01g002780.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g002780	96.6	0,029
3	Sb01g006690.1	leucine-rich repeat receptor-like serine threonine-protein kinase bam1-like	94.4	0,021
4	Sb01g008450.1	atp sulfurylase	94.4	0,047
5	Sb01g008530.1	prenylated rab receptor 2	96.0	0,017
6	Sb01g009120.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009120	96.4	0,027
7	Sb01g009790.1	chromatin complex subunit a 101	94.4	0,049
8	Sb01g011600.1	disease resistance rpp13-like protein 1-like isoform x1	79.8	0,011
9	Sb01g013000.1	---NA---	-	0,042
10	Sb01g013225.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g013225	92.6	0,041
11	Sb01g014270.1	protein far1-related sequence 5-like	81.0	0,041
12	Sb01g014510.1	b3 domain-containing protein	70.6	0,042
13	Sb01g018400.1	alpha-galactosidase-like isoform x2	94.0	0,010
14	Sb01g020430.1	---NA---	-	0,002
15	Sb01g021880.1	plant-specific domain tigr01615 family protein	91.6	0,010
16	Sb01g028330.1	cyclase dehydrase family protein	97.0	0,033
17	Sb01g030800.1	glutathione s-transferase gst 38	91.8	0,021
18	Sb01g032330.1	glucan endo- -beta-glucosidase 4 precursor	97.6	0,008
19	Sb01g032690.1	tpa: ef hand family protein	94.4	0,005
20	Sb01g033080.1	protein gos9-like	83.2	0,043
21	Sb01g035830.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g035830	82.2	0,002
22	Sb01g036200.1	phospholipid-translocating p-type flipase family	95.6	0,041
23	Sb01g036540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g036540	93.4	0,044
24	Sb01g037280.1	probable calcium-binding protein cml10-like	86.6	0,039
25	Sb01g038160.1	malonyl- -acyl carrier protein mitochondrial-like	96.0	0,041
26	Sb01g038370.1	transcription factor bhhlh140-like	90.6	0,047
27	Sb01g039680.1	catalytic hydrolase	97.6	0,043
28	Sb01g041720.1	peptide transporter ptr2-like	91.2	0,026
29	Sb01g042430.1	nuclear pore complex protein nup155-like	95.6	0,023
30	Sb01g042680.1	heat shock 70 kda protein 1	97.4	0,031
31	Sb01g042990.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g042990	81.8	0,046
32	Sb01g043840.1	tetratricopeptide repeat protein 7a-like	94.8	0,039
33	Sb01g050460.1	ccr4-not transcription complex subunit 1-like isoform x2	85.8	0,027
34	Sb02g000280.1	tpa: lachrymatory-factor mrna	92.0	0,032
35	Sb02g000690.1	tpa: disease resistance response protein 206	89.0	0,024
36	Sb02g003330.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g003330	91.8	0,044
37	Sb02g004070.1	bipterin transport-related protein bt1	95.0	0,043
38	Sb02g004210.1	tpa: bifunctional inhibitor ltp seed storage protein family	79.8	0,050
39	Sb02g004380.1	early light-induced protein	98.4	0,039
40	Sb02g006340.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g006340	95.8	0,035
41	Sb02g006800.1	glycerol-3-phosphate dehydrogenase	94.6	0,031
42	Sb02g009800.1	chromosome region maintenance protein	95.4	0,032
43	Sb02g010550.1	kh domain-containing protein at4g18375-like	78.0	0,022
44	Sb02g010760.1	aquaporin pip2-1	99.2	0,014
45	Sb02g020470.1	tpa: subtilase family protein	87.0	0,045
46	Sb02g021200.1	pleiotropic drug resistance protein 2-like isoform x3	88.2	0,002
47	Sb02g022080.1	estradiol 17-beta-dehydrogenase 8	91.2	0,027
48	Sb02g023560.1	cst complex subunit ctc1-like	75.2	0,048
49	Sb02g025320.1	glutamate receptor -like	70.8	0,025
50	Sb02g025575.1	tpa: duf1350 domain containing protein	88.8	0,039
51	Sb02g025980.1	thermospermine synthase acaulis5-like	89.8	0,024
52	Sb02g028400.1	beta-glucosidase 30-like	91.2	0,007
53	Sb02g029130.1	udp-glucuronate 4-epimerase 6-like	93.2	0,032
54	Sb02g029170.1	tpa: ring zinc finger domain superfamily protein	76.0	0,024
55	Sb02g030540.1	ras-related protein raba3-like	94.6	0,048
56	Sb02g031170.1	tpa: s-like rnase	87.4	0,022
57	Sb02g033755.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g033755	90.0	0,041
58	Sb02g034260.1	gck-like kinase mik	95.2	0,037
59	Sb02g034420.1	l-ascorbate oxidase precursor	97.2	0,004
60	Sb02g034873.1	myb-like protein h-like	62.2	0,027
61	Sb02g037000.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g037000	92.8	0,047
62	Sb02g037090.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g037090	85.2	0,045
63	Sb02g038060.1	zinc finger ccch domain-containing protein 18-like	81.0	0,037

Tabela A1.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
64	Sb02g038640.1	protein longifolia 2-like	88.0	0,031	0,30
65	Sb02g041160.1	-	-	0,046	0,20
66	Sb02g041244.1	80 kda mcm3-associated isoform x1	90.8	0,028	1,37
67	Sb02g042330.1	dna polymerase zeta catalytic subunit-like	91.6	0,038	0,31
68	Sb02g042440.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g042440	92.6	0,031	0,31
69	Sb02g042780.1	pectinesterase 3-like	89.6	0,013	-0,27
70	Sb02g043750.1	brct domain-containing protein at4g02110-like isoform x1	82.6	0,042	0,33
71	Sb02g043870.1	snf2 domain-containing protein classy 2-like	84.8	0,049	0,44
72	Sb03g002660.1	tpa_inf: class iii hd-zip iii protein hb8	92.2	0,003	0,48
73	Sb03g002890.1	prenylated rab acceptor family protein	93.0	0,006	-0,33
74	Sb03g003300.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g003300	95.0	0,048	0,20
75	Sb03g003853.1	kinesin 4	86.6	0,040	0,80
76	Sb03g004780.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g004780	74.2	0,015	-0,57
77	Sb03g005056.1	--NA---	-	0,049	1,36
78	Sb03g005100.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g005100	86.8	0,047	0,17
79	Sb03g005120.1	bromodomain and wd repeat-containing protein 3-like	86.6	0,046	0,23
80	Sb03g005300.1	transcription factor tga6-like	85.6	0,020	-0,49
81	Sb03g005340.1	limonoid udp-glucosyltransferase	86.2	0,025	-0,77
82	Sb03g006240.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g006240	89.4	0,036	0,40
83	Sb03g006340.1	mitochondrial glycoprotein	92.8	0,029	-0,27
84	Sb03g007150.1	uncharacterized lipoprotein syc1174_c-like	94.6	0,029	-0,46
85	Sb03g008020.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g008020	82.4	0,032	-0,41
86	Sb03g008670.1	serine threonine-protein kinase atm-like	94.6	0,049	0,38
87	Sb03g010690.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g010690	87.6	0,032	-0,65
88	Sb03g010760.1	probable phosphatidylinositol 4-kinase type 2-beta at1g26270-like	87.8	0,045	-0,85
89	Sb03g011310.1	50s ribosomal protein l40	95.6	0,028	-0,35
90	Sb03g012380.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g012380	89.2	0,043	0,46
91	Sb03g013800.1	serine threonine-protein phosphatase pp1	98.0	0,023	-0,55
92	Sb03g014480.1	plant integral membrane protein tigr01569 containing protein	85.4	0,018	-1,08
93	Sb03g025490.1	vesicle transport v-snare 13	95.6	0,035	0,30
94	Sb03g026810.1	protein casc3-like isoform x1	91.0	0,049	0,20
95	Sb03g031510.1	protein binding protein	72.2	0,019	1,72
96	Sb03g032340.1	f-box kelch-repeat protein at1g23390-like isoform x1	84.6	0,002	-0,54
97	Sb03g032720.1	tpa: cda1	92.6	0,006	-0,35
98	Sb03g033120.1	serine acetyltransferase 3	95.8	0,006	-0,71
99	Sb03g033290.1	abc transporter b family member 8-like	97.4	0,015	0,36
100	Sb03g033970.1	werner syndrome-like exonuclease-like	80.6	0,030	-1,29
101	Sb03g034050.1	clathrin interactor epsin 1-like isoform x3	82.6	0,034	0,99
102	Sb03g034430.1	tpa: plant-specific domain tigr01615 family protein	89.0	0,030	-0,90
103	Sb03g034560.1	anther-specific proline-rich protein apg	95.0	0,008	-0,39
104	Sb03g034870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g034870	96.8	0,012	-0,46
105	Sb03g034990.1	--NA---	-	0,015	-0,30
106	Sb03g036090.1	photosystem ii reaction center w protein	92.8	0,026	-0,31
107	Sb03g041110.1	tpa: snrk sapk family protein kinase	98.0	0,022	0,61
108	Sb03g041350.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g041350	91.8	0,041	0,34
109	Sb03g041700.1	stad1_orysj ame: full=acyl-	97.2	0,047	-0,26
110	Sb03g046040.1	two-component response regulator arr8-like isoform x2	84.0	0,031	-0,29
111	Sb04g000830.1	hydroperoxide lyase1	88.4	0,023	-0,36
112	Sb04g000870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g000870	74.2	0,033	0,36
113	Sb04g003020.1	probable histone acetyltransferase hac-like 1-like	96.2	0,012	0,23
114	Sb04g003470.1	cct motif family protein	86.8	0,003	-0,48
115	Sb04g003700.1	coiled-coil protein	92.0	0,026	0,22
116	Sb04g004560.1	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	95.2	0,042	-0,25
117	Sb04g004710.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at2g35130-like	94.4	0,035	-1,05
118	Sb04g005710.1	vacuolar h+-translocating inorganic pyrophosphatase	98.8	0,044	-0,18
119	Sb04g007560.1	pre-mrna cleavage complex ii protein clp1	98.4	0,040	0,26
120	Sb04g008270.1	meiosis 5	88.6	0,002	-0,31
121	Sb04g008710.1	peroxisome biogenesis protein 7-like	97.0	0,035	-0,29
122	Sb04g008780.1	potassium channel3	95.2	0,012	0,62
123	Sb04g009700.1	kelch motif family protein	94.4	0,041	1,20
124	Sb04g013160.1	low quality protein: guanylate-binding protein 3-like	94.2	0,035	0,21
125	Sb04g017450.1	inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 1-like	81.4	0,046	-1,37
126	Sb04g024660.1	ubiquitin-associated protein	84.4	0,050	0,17
127	Sb04g025120.1	cytosolic glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase gapc4 isoform 1	99.2	0,028	-0,17
128	Sb04g025360.1	cmp-sialic acid transporter 2-like	98.6	0,018	0,52

Tabela A1.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
129	Sb04g025690.1	tab2 protein	91.6	0,025	-0,31
130	Sb04g026590.1	probable cytokinin riboside 5'-monophosphate phosphoribohydrolase logl2-like	94,6	0,028	0,52
131	Sb04g026880.1	atp-dependent clp protease proteolytic subunit	96,8	0,020	-0,22
132	Sb04g027630.1	wound stress protein	91,6	0,042	-0,18
133	Sb04g029010.1	rrna-processing protein fcf2-like	96,0	0,043	-0,30
134	Sb04g029770.1	---NA---	-	0,045	-0,54
135	Sb04g031590.1	myb dna-binding domain superfamily protein	76,0	0,035	-0,97
136	Sb04g031600.1	regulator of chromosome condensation family protein	88,6	0,034	0,39
137	Sb04g032170.1	amino acid transport protein	94,8	0,046	-0,43
138	Sb04g032210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g032210	88,8	0,032	0,35
139	Sb04g032900.1	aquaporin tip2-1	95,8	0,024	-0,39
140	Sb04g033680.1	transcription factor laf1-like	78,8	0,045	0,57
141	Sb04g034133.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g034133	72,8	0,041	0,61
142	Sb04g034580.1	tpa_exp: homeodomain leucine zipper family iv protein	93,8	0,025	0,31
143	Sb04g034590.1	protein nrde2 homolog	89,8	0,012	0,34
144	Sb04g036820.1	phloem-specific lectin	79,0	0,015	..
145	Sb04g037100.1	anthranilate phosphoribosyltransferase	93,0	0,035	0,34
146	Sb04g038500.1	chloroplast channel forming outer membrane protein	91,0	0,045	-0,37
147	Sb05g002050.1	major facilitator superfamily antiporter	84,6	0,010	-0,59
148	Sb05g002250.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g002250	92,0	0,045	2,22
149	Sb05g002400.1	e3 ubiquitin-protein ligase listerin-like	89,4	0,022	0,27
150	Sb05g005340.1	male sterility protein 2	92,4	0,026	0,68
151	Sb05g006550.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g006550	86,2	0,022	0,65
152	Sb05g006880.1	chitinase 1	94,0	0,011	-0,81
153	Sb05g006950.1	tpa: protein kinase kelch repeat:kelch	95,2	0,049	-0,37
154	Sb05g008310.1	disease resistance protein rpp13-like	77,2	0,032	0,52
155	Sb05g018510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g018510	88,6	0,040	0,38
156	Sb05g022250.1	transferring glycosyl groups	95,8	0,036	0,49
157	Sb05g023220.1	harpin binding protein 1	91,4	0,007	-0,67
158	Sb05g024390.1	af061282_23patatin-like protein	97,2	0,040	-0,31
159	Sb05g026100.1	magnesium proton exchanger 1-like isoform x1	92,0	0,003	-0,59
160	Sb05g027171.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g027171	88,0	0,044	0,23
161	Sb05g027340.1	probable o-methyltransferase 2-like	90,4	0,017	-1,04
162	Sb06g001610.1	beta-cyanoalanine synthase	97,8	0,036	-0,21
163	Sb06g001860.1	transposon en spm sub-class	76,4	0,002	2,96
164	Sb06g005640.1	salicylic acid-induced fragment 1 protein	92,8	0,033	-0,27
165	Sb06g014410.1	high chlorophyll fluorescence106c	93,0	0,030	-0,37
166	Sb06g015160.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g015160	100,0	0,047	-0,23
167	Sb06g016180.1	protein fam210b-like	97,2	0,038	-0,39
168	Sb06g016730.1	tpa: ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase superfamily protein	93,4	0,002	1,10
169	Sb06g017030.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g017030	78,2	0,012	0,36
170	Sb06g019660.1	probable amino acid permease 7-like isoform x1	95,4	0,038	-0,51
171	Sb06g020070.1	btb poz domain-containing protein at1g67900-like	82,2	0,041	1,96
172	Sb06g020270.1	hydrolyzing o-glycosyl compound precursor	93,0	0,034	0,35
173	Sb06g020510.1	ribosomal protein s8	94,0	0,009	-0,74
174	Sb06g021740.1	trafficking protein particle complex subunit 9-like isoform x1	96,6	0,037	0,20
175	Sb06g023010.1	yellow stripe-like transporter 12	94,8	0,021	-0,28
176	Sb06g025150.1	plasma membrane intrinsic protein	99,2	0,016	-0,18
177	Sb06g029473.1	f-box fbd lrr-repeat protein at1g16930-like	78,0	0,015	1,47
178	Sb06g029550.1	leucoanthocyanidin reductase	88,4	0,029	-1,37
179	Sb06g031370.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g031370	91,8	0,018	0,40
180	Sb06g032630.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g032630	81,6	0,019	-0,91
181	Sb07g002510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g002510	84,0	0,010	0,76
182	Sb07g002800.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g002800	82,8	0,047	-0,80
183	Sb07g009510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g009510	94,0	0,019	0,37
184	Sb07g009990.1	dna-directed rna polymerase iii subunit rpc5-like	66,0	0,028	0,65
185	Sb07g019430.1	mitochondrial carrier protein cgi-69	96,6	0,043	0,28
186	Sb07g020270.1	probable -trehalose-phosphate synthase	96,0	0,004	-0,58
187	Sb07g021090.1	cytokinin-o-glucosyltransferase 2	92,8	0,011	-0,40
188	Sb07g021700.1	chorismate mutase 2-like isoform x1	90,6	0,014	-2,75
189	Sb07g022110.1	1-phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase zinc ion binding family	92,4	0,025	0,23
190	Sb07g022620.1	tpa: homeobox dna-binding and leucine zipper domain family protein	74,6	0,032	0,58
191	Sb07g022830.1	1-phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase-like protein	94,0	0,033	-0,63
192	Sb07g023150.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g023150	85,7	0,019	0,60
193	Sb07g023950.1	superoxide dismutase	97,2	0,042	-0,18

Tabela A1.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq

(conclusão)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
194	Sb07g025980.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like	93.6	0,002	-0,31
195	Sb07g026270.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like	94.8	0,037	-0,31
196	Sb07g027870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g027870	98.4	0,041	-0,25
197	Sb07g027960.1	thylakoid luminal 19 kda protein	95.0	0,019	-0,33
198	Sb07g029020.1	methyl- binding domain-containing protein 8	80.6	0,019	0,35
199	Sb08g002000.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at4g21190-like	91.8	0,027	0,45
200	Sb08g002660.1	nonspecific lipid-transfer protein 3 precursor	95.4	0,008	-0,24
201	Sb08g003390.1	cytochrome p450 superfamily protein	96.8	0,021	-0,59
202	Sb08g003530.1	cationic amino acid transporter chloroplastic-like	93.0	0,010	-2,49
203	Sb08g005520.1	peroxidase 43-like	95.2	0,033	-0,52
204	Sb08g018160.1	replication licensing factor mcm7 homologue	97.4	0,019	0,21
205	Sb08g019100.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g019100	90.6	0,039	-0,33
206	Sb08g019220.1	tpa: protein kinase superfamily protein	88.6	0,016	0,43
207	Sb08g019800.1	kinesin motor domain containing expressed	82.8	0,037	0,26
208	Sb08g019870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g019870	95.4	0,039	0,25
209	Sb08g020400.1	pectinesterase inhibitor domain containing protein precursor	84.2	0,045	-0,89
210	Sb08g021650.1	origin recognition complex subunit 3-like	90.2	0,046	0,32
211	Sb08g021910.1	nuclear transcription factor y subunit a-2	91.8	0,028	0,58
212	Sb08g022030.1	tpa: yabby domain transcription factor family protein	91.6	0,050	-0,22
213	Sb09g002190.1	lob domain-containing family protein	86.2	0,024	-1,18
214	Sb09g002470.1	gamma-glutamylcysteine synthetase	98.2	0,034	0,20
215	Sb09g004060.1	protein kinase superfamily protein	87.0	0,034	0,19
216	Sb09g004130.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g004130	92.6	0,042	-0,23
217	Sb09g005940.1	stem 28 kda glycoprotein precursor	90.6	0,025	-0,38
218	Sb09g005960.1	stem 28 kda glycoprotein precursor	91.6	0,024	-0,37
219	Sb09g015910.1	protein early responsive to dehydration 15-like	77.8	0,010	-0,47
220	Sb09g017821.1	protein phosphatase 2c family protein	92.0	0,049	-0,31
221	Sb09g017980.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g017980	89.6	0,033	-0,25
222	Sb09g018470.1	transmembrane protein kinase family protein	96.4	0,013	0,36
223	Sb09g020320.1	dna binding protein	88.6	0,049	0,27
224	Sb09g021140.1	beta-galactosidase 7-like isoform x2	88.6	0,036	0,60
225	Sb09g021330.1	peptide transporter ptr2-b	91.4	0,050	-0,28
226	Sb09g022030.1	uncharacterized acetyltransferase at3g50280-like	89.4	0,015	-0,41
227	Sb09g023310.1	aminotransferase class iii superfamily protein	98.0	0,038	-0,22
228	Sb09g024890.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024890	83.0	0,026	0,20
229	Sb09g024920.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024920	92.2	0,048	-0,31
230	Sb09g025470.1	gibberellin 2-beta-dioxygenase	92.2	0,048	0,69
231	Sb09g025880.1	periodic tryptophan protein 2 homolog	96.6	0,041	0,26
232	Sb09g026670.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g026670	76.4	0,035	0,49
233	Sb09g027050.1	---NA---	-	0,030	-0,33
234	Sb09g028790.1	sant myb protein	95.6	0,041	..
235	Sb09g029040.1	what s this factor1	93.6	0,047	-0,38
236	Sb09g029550.1	zf-hd homeobox protein	93.0	0,017	-0,86
237	Sb09g030540.1	cell envelope integrity inner membrane protein	92.0	0,028	0,85
238	Sb09g030650.1	tata-binding protein-associated factor 172-like	90.6	0,008	0,32
239	Sb10g001970.1	Irr receptor-like serine threonine-protein kinase erl2-like	96.0	0,044	0,17
240	Sb10g003390.1	cdt1-like protein chloroplastic-like	85.4	0,008	0,38
241	Sb10g003740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g003740	78.6	0,044	-0,53
242	Sb10g005540.1	apoptosis-related protein pnas-4 like	83.2	0,030	-0,63
243	Sb10g005580.1	two-component response regulator arr12-like	87.0	0,009	0,31
244	Sb10g006440.1	auxin response factor 27	97.6	0,042	0,47
245	Sb10g006970.1	aminoacylase-1 precursor	96.2	0,024	-0,31
246	Sb10g007590.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g007590	80.8	0,021	-0,68
247	Sb10g010080.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g010080	71.4	0,024	..
248	Sb10g021650.1	peroxidase p7- partial	93.8	0,012	-0,76
249	Sb10g022700.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g022700	87.4	0,048	0,24
250	Sb10g023140.1	protein kinase kelch repeat:kelch	86.8	0,047	-0,94
251	Sb10g023280.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g023280	96.6	0,011	-0,49
252	Sb10g025210.1	kda proline-rich	100.0	0,009	-0,21
253	Sb10g026470.1	gdsl esterase lipase exl1-like	92.6	0,016	-0,56
254	Sb10g028500.1	peroxidase 16-like	95.8	0,030	-0,26
255	Sb10g028570.1	probable xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 23-like	94.6	0,040	-0,41
256	Sb10g029150.1	achilleol b synthase-like	92.8	0,034	-3,28
257	Sb10g029175.1	beta-amyrin synthase	80.2	0,002	0,74
258	Sb10g029190.1	squamosa promoter-binding-like protein 11	88.6	0,031	0,28
259	Sb10g029820.1	probable methyltransferase pmt27- partial	85.8	0,039	1,05
260	Sb10g030240.1	heat shock protein 90	96.2	0,042	-0,15

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie2 + DESeq
(continua)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
1	Sb0015s003030.2	g-patch domain containing protein	84.6	0,036	0,42
2	Sb0067s002130.1	cell wall invertase	95.8	0,038	-0,34
3	Sb01g000690.1	f-box domain containing expressed	79.0	0,025	-0,85
4	Sb01g001220.1	hmngt_sorbi ame: full=cyanohydrin beta-glucosyltransferase ame: full=udp-glucose-p-hydroxymandelonitrile glucosyltransferase	78.2	0,013	-0,56
5	Sb01g002430.1	calreticulin precursor	96.0	0,011	-0,22
6	Sb01g002430.3	calreticulin precursor	96.0	0,049	-0,20
7	Sb01g003150.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at4g21065-like isoform x1	94.6	0,047	-0,65
8	Sb01g006250.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g006250	81.4	0,041	-0,81
9	Sb01g006570.1	dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 3-like isoform x1	98.2	0,040	0,45
10	Sb01g006690.1	leucine-rich repeat receptor-like serine threonine-protein kinase bam1-like	94.4	0,014	0,23
11	Sb01g006990.2	thiol disulfide interchange protein txla	86.0	0,021	-0,78
12	Sb01g007490.1	hypothetical protein ZEAMMB73_215876	90.4	0,015	-0,47
13	Sb01g008030.4	tpa: exhydrolase ii	96.8	0,041	-0,21
14	Sb01g008450.1	atp sulfurylase	94.4	0,024	0,40
15	Sb01g008530.1	prenylated rab receptor 2	96.0	0,015	-0,45
16	Sb01g008770.2	magnesium-dependent phosphatase 1-like	94.6	0,034	0,71
17	Sb01g009790.1	chromatin complex subunit a 101	94.4	0,039	0,20
18	Sb01g010100.1	probable transmembrane ascorbate ferrireductase 3-like	93.6	0,046	0,88
19	Sb01g011590.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g011590	75.4	0,035	0,24
20	Sb01g011600.1	disease resistance rpp13-like protein 1-like isoform x1	79.8	0,003	2,41
21	Sb01g012050.1	tpa: thiamine biosynthesis protein thic isoform 1	97.4	0,019	0,42
22	Sb01g013130.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at2g41080-like	92.8	0,025	1,44
23	Sb01g013430.1	nuclear transcription factor y subunit a-10	84.8	0,046	0,56
24	Sb01g013993.1	arginine n-methyltransferase 2	94.8	0,049	0,48
25	Sb01g014120.1	iaa12 - auxin-responsive aux iaa family member	83.0	0,010	0,54
26	Sb01g014270.1	protein far1-related sequence 5-like	81.0	0,002	0,79
27	Sb01g015670.1	endoribonuclease dicer homolog 2a-like isoform x1	82.4	0,041	-0,40
28	Sb01g016100.1	tpa: mate efflux family protein	94.2	0,037	-0,75
29	Sb01g018400.1	alpha-galactosidase-like isoform x2	94.0	0,021	-0,21
30	Sb01g018940.1	pentatricopeptide repeat-containing protein mitochondrial-like	92.8	0,037	0,27
31	Sb01g019050.1	domain found in egl- and pleckstrin family expressed	88.0	0,046	-1,46
32	Sb01g019540.1	cyclin-dependent kinase inhibitor 1c-like isoform x2	76.4	0,027	-0,74
33	Sb01g019630.1	peptide transporter ptr3-a-like isoform x1	92.6	0,009	-0,65
34	Sb01g020430.1	---NA---	-	0,029	0,27
35	Sb01g021880.1	plant-specific domain tigr01615 family protein	91.6	0,010	-0,37
36	Sb01g023240.1	gdsl esterase lipase at1g28600-like	79.8	0,031	-0,78
37	Sb01g027280.1	tpa: low affinity nitrate transporter isoform 1	89.8	0,011	-0,30
38	Sb01g027370.1	protein kinase precursor	82.4	0,012	1,58
39	Sb01g028220.1	dnah homolog subfamily c grp2-like	93.8	0,012	0,23
40	Sb01g028330.1	cyclase dehydrase family protein	97.0	0,002	-0,37
41	Sb01g028400.2	at-hook protein 1	87.2	0,004	0,30
42	Sb01g029020.1	myb dna-binding domain superfamily protein	96.2	0,041	0,24
43	Sb01g029910.1	pentatricopeptide repeat protein ppr566-6	89.4	0,045	-0,65
44	Sb01g030800.1	glutathione s-transferase gst 38	91.8	0,005	-0,59
45	Sb01g031320.1	hit zinc finger family protein	96.8	0,017	0,42
46	Sb01g032330.1	glucan endo- beta-glucosidase 4 precursor	97.6	0,017	-0,23
47	Sb01g032690.1	tpa: ef hand family protein	94.4	0,001	-0,70
48	Sb01g033080.1	protein gos9-like	83.2	0,030	-0,23
49	Sb01g034070.1	kh domain-containing protein at4g18375-like isoform x1	94.4	0,030	0,26
50	Sb01g034070.3	kh domain-containing protein at4g18375-like isoform x1	94.4	0,033	0,25
51	Sb01g034210.1	calmodulin-binding family protein	82.4	0,003	0,99
52	Sb01g035250.3	uncharacterized protein LOC100272662	88.8	0,046	-0,33
53	Sb01g035330.2	hydroxyproline-rich glyco	78.8	0,017	0,39
54	Sb01g035780.1	auxin-repressed protein	95.4	0,039	-0,27
55	Sb01g035830.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g035830	82.2	0,001	-0,57
56	Sb01g036200.1	phospholipid-translocating p-type flippase family expressed	95.6	0,028	0,22
57	Sb01g036540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g036540	93.4	0,013	0,64
58	Sb01g036770.1	chaperone protein dnaj chloroplastic-like	80.2	0,041	-1,11
59	Sb01g036980.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g036980	91.8	0,026	-0,70
60	Sb01g037940.1	pathogenesis-related protein 10a	98.0	0,045	-0,93
61	Sb01g038160.1	malonyl- acyl carrier protein mitochondrial-like	96.0	0,028	-0,22
62	Sb01g038375.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g038375	77.4	0,041	-0,26

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
63	Sb01g038520.1	leucoanthocyanidin dioxygenase-like	92.6	0,017	-0,85
64	Sb01g038560.2	snf1-related protein kinase	97.8	0,010	0,38
65	Sb01g038920.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g038920	88.2	0,045	0,23
66	Sb01g039680.1	catalytic hydrolase	97.6	0,024	-0,20
67	Sb01g040280.1	ap2 erebp transcription factor superfamily protein	79.2	0,031	-1,79
68	Sb01g041720.1	peptide transporter ptr2-like	91.2	0,003	-0,41
69	Sb01g042550.1	tpa: s-locus receptor-like protein kinase family protein	89.2	0,045	0,56
70	Sb01g042680.1	heat shock 70 kda protein 1	97.4	0,010	0,31
71	Sb01g042990.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g042990	81.8	0,037	0,20
72	Sb01g043840.1	tetratricopeptide repeat protein 7a-like	94.8	0,024	0,28
73	Sb01g044040.1	30s ribosomal protein chloroplastic	94.6	0,039	-0,21
74	Sb01g044935.1	protein weak chloroplast movement under blue light 1-like	81.4	0,017	0,90
75	Sb01g047010.1	hypermethylated in cancer 2 isoform x2	83.0	0,045	0,45
76	Sb01g047900.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g047900	96.4	0,022	-1,34
77	Sb01g048560.1	selenium-binding protein	95.0	0,024	-0,83
78	Sb01g049050.1	50s ribosomal protein chloroplastic-like	94.4	0,046	-0,30
79	Sb01g049640.1	mitochondrial import inner membrane translocase subunit tim23	97.2	0,044	-0,37
80	Sb01g050460.1	ccr4-not transcription complex subunit 1-like isoform x2	85.8	0,021	0,21
81	Sb01g050480.1	tpa: glycosyl transferase family protein	91.4	0,028	0,40
82	Sb02g000280.1	tpa: lachrymatory-factor mrna	92.0	0,019	-0,35
83	Sb02g002120.1	heat shock protein binding protein	88.8	0,035	0,29
84	Sb02g002650.1	g1 protein	86.6	0,049	-1,86
85	Sb02g003660.2	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 12-like	93.0	0,040	0,21
86	Sb02g004070.1	biopterin transport-related protein bt1	95.0	0,032	0,28
87	Sb02g004210.1	tpa: bifunctional inhibitor ltp seed storage protein family	79.8	0,011	-0,98
88	Sb02g004250.1	protein tesmin tso1-like cxc 3-like isoform x1	90.4	0,029	0,24
89	Sb02g004380.1	early light-induced protein	98.4	0,008	-0,27
90	Sb02g005800.2	probable beta- β -galactosyltransferase 19-like	83.0	0,016	-2,00
91	Sb02g006800.1	glycerol-3-phosphate dehydrogenase	94.6	0,007	-0,57
92	Sb02g007080.1	udp-glycosyltransferase 76f1-like	86.6	0,046	-1,48
93	Sb02g007220.1	ricin-agglutinin family protein	79.0	0,033	0,18
94	Sb02g009230.1	geraniol 8-hydroxylase-like	87.0	0,008	1,63
95	Sb02g009800.1	chromosome region maintenance protein	95.4	0,040	0,22
96	Sb02g010550.1	kh domain-containing protein at4g18375-like	78.0	0,005	-1,85
97	Sb02g010760.1	aquaporin pip2-1	99.2	0,021	-0,18
98	Sb02g011220.1	anthocyanidin- β -D-glucosyltransferase-like	76.0	0,014	1,56
99	Sb02g020400.1	pyrophosphate-dependent phosphofructokinase alpha subunit	91.6	0,017	0,92
100	Sb02g020470.1	tpa: subtilase family protein	87.0	0,032	-0,37
101	Sb02g020820.1	dna helicase	94.0	0,040	-0,85
102	Sb02g021200.1	pleiotropic drug resistance protein 2-like isoform x3	88.2	0,002	-1,25
103	Sb02g022080.1	estradiol 17-beta-dehydrogenase 8	91.2	0,016	-0,37
104	Sb02g022960.1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC101770635	59.4	0,033	0,63
105	Sb02g024340.1	dna repair protein rad23	87.0	0,015	0,28
106	Sb02g024570.4	tpa: protein binding protein isoform 1	93.8	0,046	-0,38
107	Sb02g025030.1	streptococcal hemagglutinin-like protein	85.0	0,022	0,57
108	Sb02g025710.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g025710	80.8	0,049	0,38
109	Sb02g025980.1	thermospermine synthase acauliss-like	89.8	0,030	-1,63
110	Sb02g026820.2	polyadenylate-binding protein rbp47c-like	98.0	0,048	-0,36
111	Sb02g027270.1	---NA---	-	0,049	-0,39
112	Sb02g027430.1	transcription factor blhl49-like	89.2	0,024	0,47
113	Sb02g028120.1	fasciclin-like arabinogalactan protein 7-like	98.2	0,013	-0,38
114	Sb02g028340.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g028340	89.8	0,033	0,44
115	Sb02g028400.1	beta-glucosidase 30-like	91.2	0,010	-0,21
116	Sb02g029090.1	tpa: alcohol dehydrogenase superfamily protein	90.6	0,009	-1,79
117	Sb02g029130.1	udp-glucuronate 4-epimerase 6-like	93.2	0,032	-0,22
118	Sb02g030490.1	heat stress transcription factor b-2c-like isoform x3	84.4	0,008	-0,45
119	Sb02g031160.1	drought-induced s-like ribonuclease	86.8	0,005	-0,97
120	Sb02g031170.1	tpa: s-like rnase	87.4	0,020	-0,42
121	Sb02g031290.1	uncharacterized abhydrolase domain-containing protein ddb_g0269086-like	81.3	0,012	1,00
122	Sb02g032280.1	prli-interacting factor a	89.4	0,034	-0,37
123	Sb02g033400.1	tpa: nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase	95.2	0,030	-0,28
124	Sb02g034360.1	peptidase l	93.0	0,049	-0,44
125	Sb02g034420.1	l-ascorbate oxidase precursor	97.2	0,001	-0,44
126	Sb02g034736.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g034736	94.0	0,020	0,28
127	Sb02g034873.1	myb-like protein h-like	62.2	0,006	1,05
128	Sb02g034960.1	glutamate receptor -like	93.4	0,004	0,44

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
129	Sb02g036110.1	eukaryotic translation initiation factor 4g-like	91.6	0,049	0,17
130	Sb02g036600.1	dna helicase	95.8	0,004	1,82
131	Sb02g037180.1	---NA---	-	0,013	-0,59
132	Sb02g038030.1	lob domain-containing protein 37-like	81.2	0,042	-0,41
133	Sb02g038640.1	protein longifolia 2-like	88.0	0,026	0,31
134	Sb02g038930.1	acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32-related protein 1-like	83.2	0,030	0,23
135	Sb02g039230.1	tpa: low quality protein: 3-oxoacyl-synthase i	97.6	0,039	-0,18
136	Sb02g039690.1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC101784524	98.4	0,048	-0,49
137	Sb02g039780.1	leucine-rich repeat extensin-like protein 5-like	86.6	0,027	-2,03
138	Sb02g039970.1	phytoene chloroplastic chromoplastic-like	96.4	0,043	-0,46
139	Sb02g041090.1	ubiquitin-like protein	92.8	0,027	0,41
140	Sb02g041244.1	80 kda mcm3-associated isoform x1	90.8	0,003	2,54
141	Sb02g042440.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g042440	92.6	0,033	0,32
142	Sb02g042780.1	pectinesterase 3-like	89.6	0,023	-0,22
143	Sb02g043870.1	snf2 domain-containing protein classy 2-like	84.8	0,017	0,49
144	Sb03g000230.1	receptor-like serine threonine-protein kinase at1g78530-like	88.6	0,030	-2,66
145	Sb03g000470.1	phosphoglycerate mutase -like	93.4	0,035	-1,03
146	Sb03g000600.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g000600	93.2	0,028	0,24
147	Sb03g002660.1	tpa_inf: class iii hd-zip iii protein hb8	92.2	0,001	0,50
148	Sb03g002890.1	prenylated rab acceptor family protein	93.0	0,003	-0,40
149	Sb03g002935.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g002935	81.7	0,040	2,08
150	Sb03g003300.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g003300	95.0	0,028	0,22
151	Sb03g003800.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g003800	89.6	0,041	0,24
152	Sb03g004780.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g004780	74.2	0,005	-0,58
153	Sb03g004830.1	tpa: nuclease	93.8	0,019	-0,34
154	Sb03g005300.1	transcription factor tga6-like	85.6	0,040	-0,40
155	Sb03g005340.1	limonoid udp-glucosyltransferase	86.2	0,050	-0,64
156	Sb03g006340.1	mitochondrial glycoprotein	92.8	0,012	-0,38
157	Sb03g006410.1	udp-glycosyltransferase 84a1-like	85.6	0,049	-2,74
158	Sb03g006890.1	kda class i heat shock protein 3-like	94.4	0,027	-0,58
159	Sb03g007150.1	uncharacterized lipoprotein syc1174_c-like	94.6	0,001	-0,65
160	Sb03g008020.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g008020	82.4	0,023	-0,46
161	Sb03g008330.1	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family protein	91.6	0,018	-0,52
162	Sb03g008900.1	tpa: protein kinase superfamily protein isoform 1	95.6	0,039	0,21
163	Sb03g009080.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g009080	95.2	0,040	-0,31
164	Sb03g009840.2	cinnamoyl- reductase 1-like	90.6	0,017	-1,13
165	Sb03g009900.1	rapid alkalization factor 1 precursor	95.6	0,021	-0,33
166	Sb03g010690.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g010690	87.6	0,026	-0,55
167	Sb03g011310.1	50s ribosomal protein l40	95.6	0,014	-0,33
168	Sb03g012380.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g012380	89.2	0,020	0,63
169	Sb03g013050.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g013050	83.8	0,015	-0,68
170	Sb03g013800.1	serine threonine-protein phosphatase pp1	98.0	0,025	-0,53
171	Sb03g014460.1	protein hasty 1-like	94.2	0,019	0,23
172	Sb03g014480.1	plant integral membrane protein tigr01569 containing protein	85.4	0,023	-1,00
173	Sb03g023131.1	3-ketoacyl- synthase 5-like	95.2	0,005	-0,39
174	Sb03g024900.1	zinc finger protein	92.2	0,029	1,83
175	Sb03g025490.1	vesicle transport v-snare 13	95.6	0,018	0,33
176	Sb03g026680.1	zinc finger-like	90.8	0,037	0,38
177	Sb03g026810.1	protein casc3-like isoform x1	91.0	0,030	0,22
178	Sb03g027375.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g027375	85.2	0,035	-0,33
179	Sb03g027850.1	10-deacetyl baccatin iii 10-o-acetyltransferase	88.6	0,045	-0,24
180	Sb03g029400.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g029400	100.0	0,045	-0,33
181	Sb03g029790.2	ctp synthase	94.6	0,023	0,28
182	Sb03g030350.1	aspartic proteinase oryzasin-1-like	89.6	0,040	0,49
183	Sb03g031370.1	origin recognition complex subunit 4-like isoform x1	97.4	0,049	0,25
184	Sb03g031480.1	65-kda microtubule-associated protein 3-like	95.8	0,046	0,19
185	Sb03g032130.1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase a-like	79.8	0,048	-1,79
186	Sb03g032340.1	f-box kelch-repeat protein at1g23390-like isoform x1	84.6	0,002	-0,51
187	Sb03g032400.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g032400	88.8	0,022	-0,50
188	Sb03g032660.1	phospholipase a1-ii 5-like	90.6	0,040	-0,41
189	Sb03g032720.1	tpa: cda1	92.6	0,006	-0,36
190	Sb03g033120.1	serine acetyltransferase 3	95.8	0,003	-0,75
191	Sb03g033290.1	abc transporter b family member 8-like	97.4	0,005	0,38
192	Sb03g033300.1	pleiotropic drug resistance protein 15-like	93.0	0,033	0,34

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
193	Sb03g033460.1	tpa: anther-specific proline-rich protein apg isoform 1	98.6	0,046	-0,21
194	Sb03g033510.1	uncharacterized conserved membrane protein	92.0	0,028	-0,50
195	Sb03g033833.1	udp-glycosyltransferase 88a1-like	91.2	0,049	-1,22
196	Sb03g034050.1	clathrin interactor epsin 1-like isoform x3	82.6	0,047	0,95
197	Sb03g034430.1	tpa: plant-specific domain tigr01615 family protein	89.0	0,003	-1,17
198	Sb03g034560.1	anther-specific proline-rich protein apg	95.0	0,001	-0,35
199	Sb03g034840.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g034840	88.6	0,019	-0,41
200	Sb03g034870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g034870	96.8	0,018	-0,53
201	Sb03g035260.1	probable peptide transporter at1g52190-like isoform x3	93.2	0,047	2,39
202	Sb03g035340.1	rhomboid protein mitochondrial-like	88.0	0,040	0,35
203	Sb03g035520.1	formamidase -like isoform x1	96.6	0,013	-0,71
204	Sb03g035750.1	-	-	0,038	0,19
205	Sb03g036090.1	photosystem ii reaction center w protein	92.8	0,010	-0,37
206	Sb03g036220.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g036220	97.6	0,050	-0,26
207	Sb03g037870.1	nadh-cytochrome b5 reductase 1-like	98.2	0,046	-0,18
208	Sb03g037880.1	pentatricopeptide repeat-containing	90.8	0,021	-0,89
209	Sb03g038470.1	probable sodium-coupled neutral amino acid transporter 6-like isoform x3	93.2	0,040	-0,28
210	Sb03g041110.1	tpa: snrk sapk family protein kinase	98.0	0,033	0,25
211	Sb03g041150.1	embryogenesis-associated protein emb8	92.0	0,010	-0,32
212	Sb03g041350.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g041350	91.8	0,023	0,37
213	Sb03g041700.1	stad1_orysj ame: full=acyl-	97.2	0,019	-0,29
214	Sb03g042950.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g042950	90.0	0,032	-0,32
215	Sb03g043250.1	btb and taz domain protein	91.8	0,039	-0,55
216	Sb03g043355.1	low quality protein: endoribonuclease dicer homolog 3a-like	87.2	0,050	0,26
217	Sb03g044550.1	glutathione s -like protein	96.0	0,048	-1,10
218	Sb03g044630.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g044630	94.8	0,005	0,25
219	Sb03g045120.1	zinc finger protein	75.0	0,043	0,91
220	Sb03g046040.1	two-component response regulator arr8-like isoform x2	84.0	0,007	-0,37
221	Sb03g046920.1	protein mitoferrinlike chloroplastic-like	94.2	0,032	-0,39
222	Sb04g000830.1	hydroperoxide lyase1	88.4	0,028	-0,35
223	Sb04g000870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g000870	74.2	0,001	0,54
224	Sb04g001910.1	arginine serine-rich splicing factor	95.0	0,015	0,23
225	Sb04g002070.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g002070	92.8	0,048	-0,17
226	Sb04g002170.1	kh domain-containing protein at4g18375-like	71.0	0,043	1,73
227	Sb04g002450.1	beta-amylase 8- partial	94.8	0,018	0,43
228	Sb04g003020.1	probable histone acetyltransferase hac-like 1-like	96.2	0,008	0,25
229	Sb04g003470.1	cct motif family protein	86.8	0,049	-0,39
230	Sb04g003510.1	pyridoxamine 5-phosphate oxidase family protein	91.2	0,034	0,31
231	Sb04g003700.1	coiled-coil protein	92.0	0,024	0,23
232	Sb04g004560.1	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	95.2	0,023	-0,27
233	Sb04g004620.1	fk506 binding protein	98.2	0,025	-0,99
234	Sb04g004710.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at2g35130-like	94.4	0,034	-0,87
235	Sb04g004760.1	cytokinin inducible	72.8	0,049	0,45
236	Sb04g006110.1	protein strubbelg-receptor family 8-like	96.0	0,041	0,22
237	Sb04g006120.1	lycopene beta-cyclase	95.4	0,047	-0,36
238	Sb04g006160.2	amino acid transporter a1	96.0	0,029	-0,52
239	Sb04g006480.1	Lipoxygenase	91.4	0,045	-0,25
240	Sb04g007560.1	pre-mrna cleavage complex ii protein clp1	98.4	0,020	0,28
241	Sb04g008270.1	meiosis 5	88.6	0,003	-0,31
242	Sb04g008600.1	bacterial-induced peroxidase precursor	79.2	0,024	-0,32
243	Sb04g008660.1	probable Irr receptor-like serine threonine-protein kinase at2g24230-like	79.0	0,021	1,22
244	Sb04g008710.1	peroxisome biogenesis protein 7-like	97.0	0,028	-0,30
245	Sb04g008780.1	potassium channel3	95.2	0,018	0,61
246	Sb04g009370.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g009370	86.6	0,024	-2,57
247	Sb04g009590.2	u4 u6 small nuclear ribonucleoprotein prp3-like isoform x1	88.0	0,028	0,29
248	Sb04g010360.2	uncharacterized protein LOC100304071	88.4	0,045	-0,70
249	Sb04g011770.2	f-box domain containing protein	76.8	0,028	-0,63
250	Sb04g016330.1	nucleolin 2-like	80.4	0,040	1,38
251	Sb04g017450.1	inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 1-like	81.4	0,024	-1,27
252	Sb04g017840.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at1g09900-like isoform x1	93.8	0,022	0,60
253	Sb04g019550.1	disease resistance response protein 206 precursor	94.6	0,039	0,64
254	Sb04g020580.1	drought-induced protein 1	96.2	0,020	-0,55
255	Sb04g021850.1	integrin beta-1-binding protein 2	97.6	0,033	0,33
256	Sb04g021990.2	2-cys peroxiredoxin bas1	98.2	0,031	-0,22

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
257	Sb04g022880.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g022880	93.6	0,016	-0,40
258	Sb04g023910.1	mitochondrial transcription termination factor family protein	94.6	0,045	-1,03
259	Sb04g024660.1	ubiquitin-associated protein	84.4	0,024	0,19
260	Sb04g024780.1	nac domain transcription factor superfamily protein	92.8	0,047	0,64
261	Sb04g025120.1	cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gapc4 isoform 1	99.2	0,044	-0,15
262	Sb04g025200.1	pre-mrna-splicing factor isy1	96.2	0,048	0,36
263	Sb04g025690.1	tab2 protein	91.6	0,021	-0,30
264	Sb04g026050.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g026050	96.8	0,044	-0,71
265	Sb04g026200.1	h acb ribonucleoprotein complex subunit 3-like protein	98.2	0,023	0,34
266	Sb04g026260.1	probable Irr receptor-like serine threonine-protein kinase at3g47570-like	63.2	0,005	..
267	Sb04g026590.1	probable cytokinin riboside 5'-monophosphate phosphoribohydrolase logl2-like	94.6	0,000	1,29
268	Sb04g026880.1	atp-dependent clp protease proteolytic subunit	96.8	0,016	-0,26
269	Sb04g027020.1	gem-like protein 4-like	91.2	0,047	-0,88
270	Sb04g027260.1	thioredoxin m-type	96.4	0,026	-0,27
271	Sb04g027630.1	wound stress protein	91.6	0,041	-0,17
272	Sb04g027810.1	atp synthase delta chain	96.0	0,009	-0,38
273	Sb04g029380.2	domain containing expressed	95.4	0,023	-0,45
274	Sb04g029770.1	---NA---	-	0,018	-0,68
275	Sb04g030890.1	60s ribosomal protein l12	99.6	0,034	-0,20
276	Sb04g031590.1	myb dna-binding domain superfamily protein	76.0	0,009	-0,97
277	Sb04g031680.1	tobamovirus multiplication 3	92.6	0,011	0,70
278	Sb04g032210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g032210	88.8	0,038	0,35
279	Sb04g032470.1	mitochondrial substrate carrier	83.8	0,033	0,49
280	Sb04g032560.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g032560	89.8	0,035	0,71
281	Sb04g034580.1	tpa_exp: homeodomain leucine zipper family iv protein	93.8	0,022	0,30
282	Sb04g034590.1	protein nrde2 homolog	89.8	0,006	0,35
283	Sb04g036010.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g036010	87.8	0,038	0,35
284	Sb04g036060.1	aspartate aminotransferase	97.4	0,008	-0,23
285	Sb04g037100.1	anthranilate phosphoribosyltransferase	93.0	0,017	0,36
286	Sb04g037470.1	abc transporter g family member 28-like	94.6	0,009	4,14
287	Sb04g037510.1	hyoscynamine 6-dioxygenase	73.4	0,031	-1,16
288	Sb04g038360.1	protein fury homolog isoform x1	94.4	0,025	0,23
289	Sb05g000680.1	laccase family protein	92.6	0,031	-0,26
290	Sb05g000940.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g000940	91.8	0,032	-0,39
291	Sb05g001050.1	cbl-interacting protein kinase	95.4	0,040	-0,63
292	Sb05g001470.1	ethanolamine-phosphate cytidylyltransferase-like	95.8	0,032	0,26
293	Sb05g002400.1	e3 ubiquitin-protein ligase listerin-like	89.4	0,017	0,27
294	Sb05g003080.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g003080	78.4	0,039	1,37
295	Sb05g004000.1	probable mediator of rna polymerase ii transcription subunit 26c-like	92.2	0,038	0,35
296	Sb05g006880.1	chitinase 1	94.0	0,003	-0,87
297	Sb05g006960.1	tpa: protein kinase kelch repeat:kelch	95.2	0,015	-0,44
298	Sb05g007043.1	omt3_sorbi ame: full=5-pentadecatrienyl resorcinol o-methyltransferase ame: full=o-methyltransferase 3 short= 3	89.4	0,045	2,61
299	Sb05g008040.1	leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	94.4	0,039	0,25
300	Sb05g008270.1	nb-arc domain containing expressed	79.0	0,026	0,72
301	Sb05g008440.1	probable carboxylesterase 17-like	84.2	0,010	-2,51
302	Sb05g008512.1	iaa27 - auxin-responsive aux iaa family member	77.2	0,048	0,72
303	Sb05g018810.2	uncharacterized protein LOC100383322	93.8	0,049	-0,80
304	Sb05g018990.1	acyl carrier protein 2	88.6	0,021	-0,39
305	Sb05g019050.1	fructose- -bisphosphatase	97.6	0,035	0,28
306	Sb05g020770.1	upf0481 protein at3g47200-like	70.0	0,033	-2,28
307	Sb05g021480.2	growth-regulating factor 2	90.8	0,017	0,61
308	Sb05g021980.1	ubiquitin-protein ligase zinc ion binding protein	83.0	0,023	0,27
309	Sb05g022250.1	transferring glycosyl groups	95.8	0,016	0,55
310	Sb05g022370.1	cytochrome p450 superfamily protein	88.2	0,038	-0,39
311	Sb05g023105.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g023105	90.2	0,039	-1,11
312	Sb05g023210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g023210	72.2	0,021	..
313	Sb05g023220.1	harpin binding protein 1	91.4	0,009	-0,61
314	Sb05g024110.1	ricin-agglutinin family protein	77.6	0,029	0,40
315	Sb05g026730.1	o-methyltransferase zrp4-like	88.4	0,005	..
316	Sb05g027420.1	abc transporter g family member 11-like	89.0	0,018	-0,32
317	Sb05g027680.1	maize transposon mudra-like protein	90.8	0,022	0,71

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change
318	Sb05g027785.1	scarecrow-like protein 14-like	75.8	0,007 -1,58
319	Sb06g001610.1	beta-cyanoalanine synthase	97.8	0,045 -0,19
320	Sb06g005640.1	salicylic acid-induced fragment 1 protein	92.8	0,047 -0,24
321	Sb06g013785.1	b3 domain-containing protein os04g0386900-like	91.6	0,042 -0,65
322	Sb06g014410.1	high chlorophyll fluorescence106c	93.0	0,007 -0,46
323	Sb06g015160.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g015160	100.0	0,000 -0,51
324	Sb06g016180.1	protein fam210b-like	97.2	0,024 -0,39
325	Sb06g016420.1	tpa: s-locus receptor-like protein kinase family protein	79.4	0,042 ..
		tpa: ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase superfamily		
326	Sb06g016730.1	protein	93.4	0,005 0,84
327	Sb06g016770.1	cellulose synthase-like protein h1	81.2	0,047 0,79
328	Sb06g017030.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g017030	78.2	0,016 0,32
329	Sb06g017070.1	centromere-associated protein e-like	91.8	0,043 0,24
330	Sb06g017210.1	della protein dwarf8-like	76.4	0,021 ..
331	Sb06g017345.1	ddt domain-containing protein ddb_g0282237-like	77.2	0,022 0,73
332	Sb06g018770.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g018770	93.6	0,042 0,21
333	Sb06g018820.1	aldose 1-epimerase-like	92.8	0,029 -0,26
334	Sb06g019400.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g019400	85.4	0,022 0,32
335	Sb06g020070.1	btb poz domain-containing protein at1g67900-like	82.2	0,006 2,34
336	Sb06g020270.1	hydrolyzing o-glycosyl compound precursor	93.0	0,022 0,35
337	Sb06g020510.1	ribosomal protein s8	94.0	0,037 -0,60
		trafficking protein particle complex subunit 9-like		
338	Sb06g021740.1	isoform x1	96.6	0,020 0,21
339	Sb06g021980.3	aldo-keto reductase oxidoreductase	98.6	0,012 1,56
340	Sb06g022320.1	protein eceriferum 1-like	92.0	0,034 0,39
341	Sb06g022385.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g022385	91.4	0,014 0,45
342	Sb06g022920.1	regulator of nonsense transcripts upf2-like isoform x1	78.2	0,042 1,37
343	Sb06g023010.1	yellow stripe-like transporter 12	94.8	0,014 -0,28
344	Sb06g023150.1	sulfotransferase 17	84.0	0,016 -1,62
		exb18_orysj ame: full=expansin-b18 ame: full=beta-expansin-18 ame: full= 18 ame: full= flags: precursor		
345	Sb06g024650.1		93.0	0,030 ..
346	Sb06g025150.1	plasma membrane intrinsic protein	99.2	0,016 -0,18
347	Sb06g026710.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g026710	94.8	0,034 -0,23
		uncharacterized membrane protein at4g09580-like		
348	Sb06g027060.1	isoform x2	98.4	0,039 -0,28
349	Sb06g027540.1	transcription factor gt-3b	95.0	0,017 -0,72
350	Sb06g028800.1	nac domain-containing protein 21 22	82.0	0,012 -2,31
351	Sb06g029200.2	hypothetical protein	83.2	0,041 -0,68
352	Sb06g030740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g030740	94.2	0,043 -1,90
353	Sb06g031130.1	tpa: protein kinase superfamily protein	97.0	0,026 -0,37
354	Sb06g031370.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g031370	91.8	0,011 0,50
355	Sb06g032510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g032510	94.6	0,044 -0,55
356	Sb06g032630.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g032630	81.6	0,012 -0,98
357	Sb06g032980.1	tpa: translation elongation factor tu family protein	92.8	0,030 0,27
358	Sb06g033430.2	uncharacterized protein LOC100381735	96.4	0,038 0,23
359	Sb07g000420.3	tubby-like f-box protein 12-like	88.6	0,036 0,49
360	Sb07g000730.1	uncharacterized protein LOC100276777	89.4	0,040 -0,46
361	Sb07g001230.1	ribosome recycling factor	96.4	0,028 -0,29
362	Sb07g002510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g002510	84.0	0,005 0,77
363	Sb07g003130.1	lysine-specific histone demethylase 1 homolog 2-like	91.8	0,048 0,24
364	Sb07g008870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g008870	91.8	0,019 -0,49
365	Sb07g009510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g009510	94.0	0,018 0,39
366	Sb07g009530.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g009530	93.2	0,033 -0,27
367	Sb07g019430.1	mitochondrial carrier protein cgl-69	96.6	0,007 0,40
		signal recognition particle receptor subunit beta-like		
368	Sb07g019530.1	isoform x1	97.2	0,047 -0,25
369	Sb07g020270.1	probable -trehalose-phosphate synthase	96.0	0,001 -0,64
370	Sb07g021090.1	cytokinin-o-glucosyltransferase 2	92.8	0,007 -0,40
371	Sb07g021590.1	dephospho- kinase domain-containing	97.2	0,040 0,50
372	Sb07g021700.1	chorismate mutase 2-like isoform x1	90.6	0,025 -2,00
373	Sb07g022110.1	1-phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase zinc ion binding family	92.4	0,017 0,25
374	Sb07g022190.1	saur33 - auxin-responsive saur family member	81.0	0,021 -1,64
375	Sb07g022620.1	tpa: homeobox dna-binding and leucine zipper domain family protein	74.6	0,038 0,55
376	Sb07g022670.3	glutamate decarboxylase	93.0	0,025 -0,23
377	Sb07g022830.1	1-phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase-like protein	94.0	0,026 -0,63
378	Sb07g023150.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g023150	85.7	0,005 0,82

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq
(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
379	Sb07g023480.1	set-domain containing protein family	90.0	0,049	0,22
380	Sb07g023880.1	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme 15-like isoform x3	96.8	0,039	0,28
381	Sb07g024140.1	vesicle-associated membrane protein 727-like	97.4	0,039	-0,36
382	Sb07g024250.1	carotenoid cleavage dioxygenase 8 homolog chloroplastic-like	79.8	0,001	-1,24
383	Sb07g024260.1	curcuminoid synthase-like	83.8	0,023	-0,58
384	Sb07g024270.1	o-methyltransferase zrp4-like	85.2	0,015	-0,30
385	Sb07g025010.1	probable carboxylesterase 8-like	86.2	0,030	-0,46
386	Sb07g025980.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like	93.6	0,001	-0,30
387	Sb07g026270.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like	94.8	0,005	-0,32
388	Sb07g027500.1	psbp domain-containing protein chloroplastic-like	89.0	0,038	-0,48
389	Sb07g027870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g027870	98.4	0,018	-0,34
390	Sb07g027960.1	thylakoid luminal 19 kda protein	95.0	0,020	-0,32
391	Sb07g029020.1	methyl- binding domain-containing protein 8	80.6	0,004	0,37
392	Sb08g000235.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g000235	88.0	0,049	0,39
393	Sb08g001140.1	two-component response regulator arr9-like isoform x2	90.0	0,043	-0,37
394	Sb08g002620.2	chalcone-flavonone isomerase	86.8	0,031	-0,22
395	Sb08g002660.1	nonspecific lipid-transfer protein 3 precursor	95.4	0,019	-0,25
396	Sb08g003380.1	cytochrome p450 superfamily protein	97.2	0,024	-0,27
397	Sb08g003560.1	-	-	0,038	-0,51
398	Sb08g004190.2	---NA---	-	0,045	-0,28
399	Sb08g004960.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g004960	96.4	0,048	-0,49
400	Sb08g005520.1	peroxidase 43-like	95.2	0,039	-0,46
401	Sb08g015360.1	rad51 recombination protein	98.4	0,008	0,63
402	Sb08g017090.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g017090	97.0	0,038	-0,81
403	Sb08g018130.1	dna-directed rna polymerase ii kda polypeptide	98.8	0,023	-0,41
404	Sb08g018350.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g018350	97.2	0,047	-0,20
405	Sb08g019100.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g019100	90.6	0,038	-0,35
406	Sb08g019870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g019870	95.4	0,011	0,29
407	Sb08g020130.1	tpa: ring zinc finger domain superfamily protein	75.4	0,050	-0,54
408	Sb08g020400.1	pectinesterase inhibitor domain containing protein precursor	84.2	0,002	-1,27
409	Sb08g021580.1	37 kda inner envelope membrane chloroplastic-like	95.6	0,050	-0,25
410	Sb08g021610.1	tpa: inner envelope membrane protein	92.4	0,017	-0,22
411	Sb08g021650.1	origin recognition complex subunit 3-like	90.2	0,019	0,35
412	Sb08g021710.1	skip interacting protein 29	75.4	0,012	1,94
413	Sb08g022030.1	tpa: yabby domain transcription factor family protein	91.6	0,038	-0,23
414	Sb08g022200.1	nb-arc domain containing protein	82.0	0,005	1,02
415	Sb08g022530.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g022530	100.0	0,049	-0,60
416	Sb09g002190.1	lob domain-containing family protein	86.2	0,004	-1,55
417	Sb09g002470.1	gamma-glutamylcysteine synthetase	98.2	0,035	0,19
418	Sb09g003380.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g003380	83.6	0,030	0,50
419	Sb09g004060.1	protein kinase superfamily protein	87.0	0,016	0,22
420	Sb09g005940.1	stem 28 kda glycoprotein precursor	90.6	0,046	-0,39
421	Sb09g006140.1	grx_c15-glutaredoxin subgroup iii	88.2	0,014	-0,61
422	Sb09g006490.2	gibberellin 2-beta-dioxygenase	85.0	0,037	2,58
423	Sb09g007920.1	catalytic hydrolase	86.8	0,002	-0,55
424	Sb09g015910.1	protein early responsive to dehydration 15-like	77.8	0,038	-0,53
425	Sb09g017821.1	protein phosphatase 2c family protein	92.0	0,012	-0,35
426	Sb09g017950.1	ethylene-responsive transcription factor rap2-3-like	89.0	0,030	-0,79
427	Sb09g017980.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g017980	89.6	0,040	-0,28
428	Sb09g018470.1	transmembrane protein kinase family protein	96.4	0,002	0,45
429	Sb09g020320.1	dna binding protein	88.6	0,036	0,27
430	Sb09g022030.1	uncharacterized acetyltransferase at3g50280-like	89.4	0,019	-0,42
431	Sb09g022350.1	aldo-keto reductase family 4 member c9	88.8	0,033	3,21
432	Sb09g023030.1	ammonium transporter 2	95.8	0,041	-0,82
433	Sb09g023040.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g023040	90.4	0,038	..
434	Sb09g023200.1	cation h(+) antiporter 15-like	92.6	0,043	..
435	Sb09g023310.1	aminotransferase class iii superfamily protein	98.0	0,033	-0,22
436	Sb09g023620.1	leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	96.2	0,034	-0,43
437	Sb09g024360.1	metacaspase type ii	76.6	0,040	..
438	Sb09g024890.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024890	83.0	0,011	0,23
439	Sb09g024920.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024920	92.2	0,007	-0,43
440	Sb09g025470.1	gibberellin 2-beta-dioxygenase	92.2	0,049	0,63
441	Sb09g025880.1	periodic tryptophan protein 2 homolog	96.6	0,010	0,31
442	Sb09g027110.2	late embryogenesis abundant protein 3	98.2	0,040	-1,01
443	Sb09g027610.1	wak receptor-like protein kinase family protein	82.4	0,036	-1,02

Tabela A1.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(conclusão)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	p-valor	Log2 Fold Change	
444	Sb09g027983.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g027983	87.2	0,017	0,72
445	Sb09g028630.1	uncharacterized protein LOC100191573	92.4	0,026	-0,28
446	Sb09g029040.1	what s this factor1	93.6	0,015	-0,44
447	Sb09g029550.1	zf-hd homeobox protein	93.0	0,010	-0,91
448	Sb09g030650.1	tata-binding protein-associated factor 172-like	90.6	0,005	0,30
449	Sb09g030840.1	nucleoside diphosphate kinase 4	87.4	0,035	-0,26
450	Sb09g030860.2	pleckstrin-like protein domain-containing family protein	92.6	0,033	0,75
451	Sb1058s002010.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_1058s002010	74.0	0,045	-0,42
452	Sb10g003390.1	cdt1-like protein chloroplastic-like	85.4	0,020	0,31
453	Sb10g003550.1	uncharacterized protein LOC100191245 precursor	96.8	0,023	-0,22
454	Sb10g003550.2	uncharacterized protein LOC100191245 precursor	97.4	0,023	-0,29
455	Sb10g003740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g003740	78.6	0,014	-0,72
456	Sb10g004030.1	nucleolar protein	99.6	0,023	0,32
457	Sb10g005540.1	apoptosis-related protein pnas-4 like	83.2	0,026	-0,61
458	Sb10g005800.1	low quality protein: pentatricopeptide repeat-containing protein mitochondrial-like	91.2	0,012	0,84
459	Sb10g006440.1	auxin response factor 27	97.6	0,028	0,46
460	Sb10g006970.1	aminoacylase-1 precursor	96.2	0,005	-0,36
461	Sb10g008206.1	probable mannan synthase 3-like	92.6	0,043	0,40
462	Sb10g008320.1	urea-proton symporter dur3-like	92.8	0,044	-0,75
463	Sb10g008370.1	protease do-like 9-like	97.8	0,026	0,29
464	Sb10g009220.1	nudix hydrolase 4	91.2	0,049	-0,80
465	Sb10g009670.1	nac domain transcription factor superfamily protein	84.0	0,041	0,30
466	Sb10g009770.1	high-affinity potassium transporter	92.8	0,047	0,34
467	Sb10g019740.1	wd repeat-containing protein 7-like isoform x3	86.6	0,037	0,42
468	Sb10g021610.1	peroxidase 52 isoform 1	95.6	0,003	-0,60
469	Sb10g022160.1	probable inositol oxygenase-like	96.0	0,003	-0,40
470	Sb10g022160.2	probable inositol oxygenase-like	95.2	0,016	-0,33
471	Sb10g022700.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g022700	87.4	0,042	0,23
472	Sb10g023140.1	protein kinase kelch repeat:kelch	86.8	0,007	-0,98
473	Sb10g023280.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g023280	96.6	0,003	-0,54
474	Sb10g024100.1	protein gamma response 1-like	85.6	0,042	0,35
475	Sb10g025210.1	kda proline-rich	100.0	0,004	-0,23
476	Sb10g026080.1	f-box protein afr-like	88.6	0,022	-0,34
477	Sb10g026270.1	transmembrane protein 230-like	97.6	0,010	1,38
478	Sb10g026470.1	gdsl esterase lipase exl1-like	92.6	0,018	-0,46
479	Sb10g027260.1	beach domain-containing protein lvsc-like	83.8	0,015	0,45
480	Sb10g027560.3	dihydroflavonol-4-reductase dfr1	83.8	0,029	-3,23
481	Sb10g028010.1	maize insect resistance1 precursor	82.8	0,047	1,20
482	Sb10g028480.1	peroxidase 45 precursor	94.0	0,050	0,86
483	Sb10g028500.1	peroxidase 16-like	95.8	0,025	-0,25
484	Sb10g028570.1	probable xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 23-like	94.6	0,015	-0,44
485	Sb10g029175.1	beta-amyrin synthase	80.2	0,002	0,80
486	Sb10g029190.1	squamosa promoter-binding-like protein 11	88.6	0,022	0,30
487	Sb10g029270.1	delta-aminolevulinic acid dehydratase	96.0	0,013	-0,23
488	Sb10g029820.1	probable methyltransferase pmt27- partial	85.8	0,031	0,94
489	Sb10g029850.1	mitochondrion protein	99.4	0,025	-0,37
490	Sb10g030240.1	heat shock protein 90	96.2	0,048	-0,14

Tabela A1.3 - Genes diferencialmente expressos identificados pelo CLC

(continua)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
1	Sb01g000690.1	f-box domain containing expressed	79.0	0,050
2	Sb01g006690.1	leucine-rich repeat receptor-like protein kinase bam1-like	94.4	0,000
3	Sb01g008920.1	atp-dependent rna helicase a-like	96.8	0,020
4	Sb01g018400.1	alpha-galactosidase-like isoform x2	94.0	0,000
5	Sb01g029020.1	myb dna-binding domain superfamily protein	96.2	0,010
6	Sb01g029230.1	beta-expansin 1a precursor	95.6	0,000
7	Sb01g032170.1	probable ubiquitin conjugation factor e4-like	97.4	0,040
8	Sb01g032450.1	6-phosphogluconolactonase family expressed	91.8	0,030
9	Sb01g032690.1	tpa: ef hand family protein	94.4	0,030
10	Sb01g034210.1	calmodulin-binding family protein	82.4	0,030
11	Sb01g036540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g036540	93.4	0,050
12	Sb01g039680.1	catalytic hydrolase	97.6	0,010
13	Sb01g041720.1	peptide transporter ptr2-like	91.2	0,002
14	Sb01g042400.1	response regulator 8	96.8	0,030
15	Sb02g004380.1	early light-induced protein	98.4	0,040
16	Sb02g006540.1	adp-ribosylation factor 1	99.8	0,000
17	Sb02g007220.1	ricin-agglutinin family protein	79.0	0,030
18	Sb02g010550.1	kh domain-containing protein at4g18375-like	78.0	0,050
19	Sb02g017910.1	poly -binding protein	96.2	0,003
20	Sb02g021200.1	pleiotropic drug resistance protein 2-like isoform x3	88.2	0,009
21	Sb02g034260.1	gck-like kinase mik	95.2	0,020
22	Sb02g034873.1	myb-like protein h-like	62.2	0,020
23	Sb02g034960.1	glutamate receptor -like	93.4	0,001
24	Sb02g041244.1	80 kda mcm3-associated isoform x1	90.8	0,030
25	Sb03g002660.1	tpa_inf: class iii hd-zip iii protein hb8	92.2	0,001
26	Sb03g002890.1	prenylated rab acceptor family protein	93.0	0,008
27	Sb03g004830.1	tpa: nuclease	93.8	0,040
28	Sb03g005300.1	transcription factor tga6-like	85.6	0,010
29	Sb03g008900.1	tpa: protein kinase superfamily protein isoform 1	95.6	0,010
30	Sb03g014460.1	protein hasty 1-like	94.2	0,005
31	Sb03g025490.1	vesicle transport v-snare 13	95.6	0,040
32	Sb03g026810.1	protein casc3-like isoform x1	91.0	0,050
33	Sb03g032340.1	f-box kelch-repeat protein at1g23390-like isoform x1	84.6	0,010
34	Sb03g034430.1	tpa: plant-specific domain tigr01615 family protein	89.0	0,050
35	Sb03g035260.1	probable peptide transporter at1g52190-like isoform x3	93.2	0,050
36	Sb03g041110.1	tpa: snrk sapk family protein kinase	98.0	0,020
37	Sb03g041350.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g041350	91.8	0,030
38	Sb03g046040.1	two-component response regulator arr8-like isoform x2	84.0	0,050
39	Sb04g001910.1	arginine serine-rich splicing factor	95.0	0,000
40	Sb04g002450.1	beta-amylase 8- partial	94.8	0,030
41	Sb04g003700.1	coiled-coil protein	92.0	0,002
42	Sb04g005730.1	cue domain containing protein	93.4	0,050
43	Sb04g006490.1	tbcc domain-containing protein 1-like	95.8	0,020
44	Sb04g008270.1	meiosis 5	88.6	0,000
45	Sb04g008710.1	peroxisome biogenesis protein 7-like	97.0	0,002
46	Sb04g017840.1	pentatricopeptide repeat-containing protein at1g09900-like isoform x1	93.8	0,040
47	Sb04g021130.1	protein mei2-like 4-like	92.4	0,030
48	Sb04g024430.1	cmt3_maize ame: full=dna (cytosine-5)-methyltransferase 3 ame: full=chromomethylase 3 ame: full=dna methyltransferase 105	97.0	0,030
49	Sb04g028610.1	dihydropyrimidine dehydrogenase	96.0	0,050
50	Sb04g031680.1	tobamovirus multiplication 3	92.6	0,009
51	Sb04g034590.1	protein nrde2 homolog	89.8	0,002
52	Sb04g037100.1	anthranilate phosphoribosyltransferase	93.0	0,030
53	Sb04g037470.1	abc transporter g family member 28-like	94.6	0,050
54	Sb05g003010.1	proline-rich protein 4-like	69.8	0,030
55	Sb05g023800.1	dentin sialophospho isoform x1	79.2	0,010
56	Sb06g001610.1	beta-cyanoalanine synthase	97.8	0,010
57	Sb06g016730.1	tpa: ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase superfamily protein	93.4	0,001
58	Sb06g018770.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g018770	93.6	0,008
59	Sb06g019400.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g019400	85.4	0,003
60	Sb06g022840.1	aquaporin pip2-5-like	96.2	0,030
61	Sb06g023010.1	yellow stripe-like transporter 12	94.8	0,009
62	Sb06g028060.1	protein strawberry notch-like isoform x1	88.2	0,030
63	Sb06g030670.1	ap2 erebp transcription factor superfamily protein	78.8	0,030
64	Sb06g031130.1	tpa: protein kinase superfamily protein	97.0	0,020
65	Sb07g002090.1	programmed cell death protein 4-like	93.6	0,020

Tabela A1.3 - Genes diferencialmente expressos identificados pelo CLC

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	(conclusão)	
				Log2 Fold Change	
66	Sb07g002510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g002510	84.0	0,020	1,68
67	Sb07g021090.1	cytokinin-o-glucosyltransferase 2	92.8	0,010	-1,32
68	Sb07g024250.1	carotenoid cleavage dioxygenase 8 homolog chloroplastic-like	79.8	0,030	-2,18
69	Sb07g024260.1	curcuminoid synthase-like	83.8	0,030	-2,23
70	Sb07g026270.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like	94.8	0,030	-1,22
71	Sb08g017670.1	f-box lrr-repeat protein 3-like	97.0	0,040	1,16
72	Sb08g019870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g019870	95.4	0,000	1,23
73	Sb09g002190.1	lob domain-containing family protein	86.2	0,030	-2,97
74	Sb09g018470.1	transmembrane protein kinase family protein	96.4	0,000	1,39
75	Sb09g020320.1	dna binding protein	88.6	0,030	1,20
76	Sb09g024890.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024890	83.0	0,020	1,16
77	Sb09g026670.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g026670	76.4	0,020	1,69
78	Sb09g030840.1	nucleoside diphosphate kinase 4	87.4	0,030	-1,20
79	Sb10g004030.1	nucleolar protein	99.6	0,030	1,27
80	Sb10g006970.1	aminoacylase-1 precursor	96.2	0,003	-1,26
81	Sb10g007760.1	annexin p33	97.4	0,030	-1,08
82	Sb10g021610.1	peroxidase 52 isoform 1	95.6	0,004	-1,64
83	Sb10g023280.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g023280	96.6	0,020	-1,52
84	Sb10g025210.1	kda proline-rich	100.0	0,030	-1,16
85	Sb10g029175.1	beta-amyrin synthase	80.2	0,030	1,93

ANEXO B - Genes de cana-de-açúcar diferencialmente expressos em resposta à infecção por *Sporisorium scitamineum* após 200 dias

Tabela A2.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq

(continua)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
1	Sb0067s002130.1	cell wall invertase	95.8	9,02E-04
2	Sb01g000510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g000510	63.4	4,88E-04
3	Sb01g002170.1	tpa: actin family protein	99.2	3,66E-04
4	Sb01g002540.1	cell wall protein dan4-like	79.4	3,25E+09
5	Sb01g005990.1	tpa: glutathione transferase	92.2	2,23E+05
6	Sb01g008480.1	auxin-responsive protein iaa13-like isoform x2	92.6	5,52E+09
7	Sb01g009320.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009320	68.8	4,28E-04
8	Sb01g009730.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009730	86.0	3,53E+09
9	Sb01g010440.1	tpa: glycolipid transfer protein family protein	95.2	1,94E+08
10	Sb01g010700.1	af466204_5 protein	81.6	6,13E+05
11	Sb01g011750.1	defense-related protein	94.6	2,04E-04
12	Sb01g012000.1	protein tanc2-like	76.6	1,07E+05
13	Sb01g013910.1	major facilitator superfamily protein	93.4	1,59E+09
14	Sb01g014230.1	type i inositol-trisphosphate 5-phosphatase 11-like	94.8	1,82E-04
15	Sb01g014370.1	b3 domain-containing protein os03g0622200-like	75.8	2,00E+08
16	Sb01g016040.1	auxin induced protein	92.4	3,16E+09
17	Sb01g016740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g016740	87.5	1,58E+07
18	Sb01g016760.1	tpa: disease resistance response protein 206	88.2	4,37E+09
19	Sb01g017380.1	actin family protein	99.4	2,90E-04
20	Sb01g017430.1	actin family protein	99.4	3,58E-04
21	Sb01g019290.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g019290	91.2	5,78E+08
22	Sb01g021430.1	tpa: duf231 domain containing family protein	87.2	9,40E+09
23	Sb01g021730.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g021730	64.8	3,23E-04
24	Sb01g029030.1	monosaccharide transport protein 4	93.8	3,65E-04
25	Sb01g029230.1	beta-expansin 1a precursor	95.6	1,63E+04
26	Sb01g029260.1	beta-expansin 5	95.6	4,05E+06
27	Sb01g029610.1	cortical cell-delineating	95.4	2,70E+05
28	Sb01g030360.1	phosphate-responsive 1 family protein	88.6	2,32E-04
29	Sb01g030530.1	peroxidase 5-like	94.2	1,34E+05
30	Sb01g032060.1	protein argonaute 7-like	92.8	2,29E+07
31	Sb01g033080.1	protein gos9-like	83.2	4,45E-04
32	Sb01g033100.1	high light protein	84.4	2,92E-04
33	Sb01g035730.1	udp-glucuronic acid decarboxylase 2-like	88.0	1,14E+08
34	Sb01g036590.1	grab2 protein	89.6	2,13E+09
35	Sb01g036790.1	late embryogenesis abundant protein 1-like isoform x1	85.2	9,24E+07
36	Sb01g037630.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g037630	94.4	3,26E+09
37	Sb01g039100.1	plant-specific domain tigr01589 family protein	97.2	1,65E-04
38	Sb01g039840.1	dna-binding protein escarola-like	87.6	3,10E+09
39	Sb01g040280.1	ap2-erebp transcription partial	79.2	2,58E+09
40	Sb01g043280.1	cp protein	97.8	7,38E+09
41	Sb01g044430.1	pumilio homolog chloroplastic-like	76.6	1,03E-04
42	Sb01g045740.1	homeobox-leucine zipper protein hat7	84.2	2,86E+09
43	Sb01g048340.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g048340	86.6	2,34E+03
44	Sb01g04920.1	af112148_1 mads box protein 1	90.2	6,18E+07
45	Sb01g049080.1	tpa: hlh dna-binding domain superfamily protein	86.8	5,45E+09
46	Sb02g000470.1	peroxidase 1 precursor	96.4	1,02E-04
47	Sb02g001090.1	mads-box transcription factor 15	93.2	8,01E-07
48	Sb02g002260.1	serine carboxypeptidase 2-like	87.8	3,93E+08
49	Sb02g003030.1	cbl-interacting protein kinase 23	98.2	2,14E-04
50	Sb02g003740.1	anthranilate phosphoribosyltransferase	94.8	1,55E+08
51	Sb02g004260.1	receptor protein kinase clavata1 precursor	93.2	5,47E+07
52	Sb02g004380.1	early light-induced protein	98.4	2,05E-04
53	Sb02g004390.1	early light-induced protein	95.0	2,46E+08
54	Sb02g004660.1	xylanase inhibitor protein 1-like	89.4	1,74E+07
55	Sb02g008930.1	b12d protein	96.0	1,62E+07
56	Sb02g009300.1	pvr3-like protein	97.8	3,30E-04
57	Sb02g010730.1	beta-expansin 4 precursor	90.0	7,73E+07
58	Sb02g024660.1	gibberellin-regulated protein 6-like	91.4	4,27E+09
59	Sb02g027210.1	dna binding protein	81.0	2,38E+05
60	Sb02g028900.1	probable sarcosine oxidase-like	85.4	2,74E+09
61	Sb02g030180.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g030180	82.8	2,65E-04
62	Sb02g030360.1	tpa: mate efflux family protein	91.6	7,01E+08
63	Sb02g031190.1	myb domain protein 4	91.0	3,94E+09

Tabela A2.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq

(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
64	Sb02g031340.1	delayed flowering1	81.6	4,43E-04
65	Sb02g031780.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g031780	90.8	4,05E+06
66	Sb02g031830.1	saur55 - auxin-responsive saur family member	82.2	4,86E+09
67	Sb02g033810.1	tpa: leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	93.2	3,05E+09
68	Sb02g034730.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g034730	86.8	1,51E+09
69	Sb02g036750.1	polygalacturonase inhibitor 1 precursor	95.8	3,09E-04
70	Sb02g037180.1	--NA---		1,05E+06
71	Sb02g037870.1	gdsl esterase lipase at4g10955-like	92.4	1,06E-04
72	Sb02g038110.1	loc100284162 precursor	88.4	3,70E-04
73	Sb02g038740.1	cobra-like protein 6-like isoform x1	96.2	1,06E+07
74	Sb02g041610.1	tpa: serine carboxypeptidase 1	92.8	2,13E+05
75	Sb03g001500.1	probable indole-3-acetic acid-amido synthetase -like	89.4	2,67E+09
76	Sb03g001700.1	zcn14 protein 4-methyl-5-thiazole monophosphate biosynthesis protein	99.0	2,02E+08
77	Sb03g001750.1		86.8	1,35E-04
78	Sb03g002620.1	metallothionein-like protein	79.8	1,13E-04
79	Sb03g003640.1	wrky dna-binding domain superfamily protein	99.2	2,54E-04
80	Sb03g004510.1	loc100281702 precursor	92.6	4,67E+09
81	Sb03g007480.1	spore coat protein	90.4	9,26E+08
82	Sb03g008460.1	phosphate transporter pho1-1-like	77.4	6,57E+08
83	Sb03g012290.1	o-glycosyl hydrolase superfamily protein	94.6	1,60E+09
84	Sb03g013330.1	tpa: polygalacturonase	89.0	1,85E-04
85	Sb03g024870.1	dynein light chain type 1 family protein	92.0	5,05E+09
86	Sb03g024900.1	zinc finger protein	92.2	1,13E+07
87	Sb03g025120.1	protein abi1	90.2	1,33E-04
88	Sb03g026000.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1	89.6	5,18E+06
89	Sb03g027330.1	dnaJ-like protein	87.2	4,97E+09
90	Sb03g028680.1	secologanin synthase-like	91.2	2,72E+09
91	Sb03g028880.1	nadph-dependent reductase a1-a	95.6	1,57E-04
92	Sb03g029520.1	potassium channel	95.8	5,72E+09
93	Sb03g032720.1	tpa: cda1	92.6	3,70E+07
94	Sb03g033980.1	werner syndrome atm-dependent helicase	79.6	3,30E-04
95	Sb03g034120.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g034120	90.6	8,03E+06
96	Sb03g034950.1	bzip transcription factor	81.8	8,93E+09
97	Sb03g034980.1	potassium channel kat3-like isoform x1	93.2	3,21E+09
98	Sb03g037390.1	nodulin-like protein	91.0	1,80E+07
99	Sb03g039520.1	tpa: laccase family protein	96.8	2,66E-04
100	Sb03g039530.1	l-ascorbate oxidase precursor	96.2	3,42E+05
101	Sb03g039870.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g039870	88.2	2,14E-04
102	Sb03g039960.1	tpa: laccase family protein	86.2	4,11E+07
103	Sb03g040180.1	hydroxycinnamoyl transferase	96.4	5,30E+08
104	Sb03g040320.1	auxin transporter-like protein 1	97.8	1,18E-04
105	Sb03g040480.1	sialyltransferase-like protein	90.8	9,62E+08
106	Sb03g041570.1	receptor-like protein kinase hsl1-like isoform x2	96.6	1,09E-04
107	Sb03g041580.1	amino acid permease 8-like	95.2	1,15E+04
108	Sb03g042000.1	cytochrome c	98.8	2,33E-04
109	Sb03g042450.1	tpa: lipoxygenase1	94.0	2,82E+09
110	Sb03g043380.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g043380	89.4	1,42E+04
111	Sb03g044300.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g044300	82.4	1,23E-04
112	Sb03g044440.1	nac domain-containing protein 68	85.4	3,06E-04
113	Sb03g045150.1	hap3-like transcriptional-activator two-component response regulator arr8-like isoform x2	96.2	4,24E-04
114	Sb03g046040.1		84.0	1,32E-04
115	Sb03g046190.1	protein aspartic protease in guard cell 2-like	95.0	3,22E-04
116	Sb03g047470.1	probable aquaporin tip1-2-like	94.6	7,42E+09
117	Sb04g000500.1	mads-box transcription factor 50-like isoform x2	93.4	2,79E-02
118	Sb04g002700.1	ocs element-binding factor 1	90.0	2,75E+07
119	Sb04g003090.1	leucine-rich repeat family protein	92.6	3,39E-04
120	Sb04g007060.1	transcription factor hy5	90.8	4,93E-04
121	Sb04g007160.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g007160	95.0	7,99E+07
122	Sb04g008300.1	heat shock factor protein 1	85.6	4,63E+06
123	Sb04g008840.1	transcription factor rf2a-like	84.6	9,70E+08
124	Sb04g009170.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g009170	86.0	8,57E+08
125	Sb04g010100.1	gdsl esterase lipase at5g45910-like	95.8	2,56E+06
126	Sb04g019783.1	ankyrin-like protein	78.6	2,75E-04
127	Sb04g020530.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g020530	74.2	3,61E-04
128	Sb04g020540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g020540 cytosolic glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase gapc4 isoform 1	69.6	3,19E+08
129	Sb04g025120.1		99.2	7,63E+09

Tabela A2.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq

(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change	
130	Sb04g026450.1	g1I3_orysj ame: full=protein g1-like3	97.0	2,07E+02	-2,84
131	Sb04g026490.1	phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 3	92.2	3,81E+09	-1,25
132	Sb04g026650.1	plasma membrane intrinsic protein2	98.4	1,61E+03	2,59
133	Sb04g027650.1	probable trehalose-phosphate phosphatase 4-like	95.4	2,30E+09	1,67
134	Sb04g027700.1	probable beta-d-xylanidase 7-like	94.4	4,62E-04	1,11
135	Sb04g028360.1	wd repeat-containing protein 86-like	84.8	1,35E+09	1,72
136	Sb04g029210.1	ocs element-binding factor 1-like	92.0	2,30E-04	1,52
137	Sb04g029720.1	iq calmodulin-binding and bag domain containing family protein	86.8	4,73E-04	-1,56
138	Sb04g029780.1	---NA---		2,50E+09	1,59
139	Sb04g032150.1	hh dna-binding domain superfamily protein	89.2	6,30E+09	1,51
140	Sb04g033240.1	zinc finger transcription factor wrky12	85.4	6,30E+09	1,51
141	Sb04g034470.1	nitrate reductase	95.4	3,40E+09	2,00
142	Sb04g034520.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1acc	93.0	2,75E+08	1,78
143	Sb05g001590.1	nac domain-containing protein 77-like	78.6	2,62E-04	3,69
144	Sb05g003450.1	b3 domain-containing protein os11g0156000-like	80.8	8,57E+08	1,97
145	Sb05g003630.1	vamp protein sec22	93.0	2,17E+08	1,66
146	Sb05g004250.1	auxin transporter-like protein 4-like isoform x2	93.0	4,13E+08	1,52
147	Sb05g005150.1	disease resistance response protein 206	94.2	9,68E+09	1,24
148	Sb05g009360.1	alcohol dehydrogenase 1	98.4	5,08E-04	0,99
149	Sb05g017980.1	acetylglucosaminyltransferase family protein	89.4	1,62E+09	2,83
150	Sb05g024430.1	patatin t5 precursor	92.4	4,19E+05	2,03
151	Sb05g026280.1	cell number regulator 13-like	84.0	1,23E+08	-1,70
152	Sb06g011780.1	deoxyhypusine synthase 2	94.4	6,62E+08	2,51
153	Sb06g015930.1	xyloglucan endotransglycosylase hydrolase protein 8-like	95.4	3,64E+01	2,41
154	Sb06g015940.1	xyloglucan endotransglycosylase hydrolase protein 8	95.4	2,27E+07	1,65
155	Sb06g021340.1	tpa: dopamine beta-monoxygenase	94.0	2,40E+09	1,39
156	Sb06g021880.1	upf0481 protein at3g02645-like	92.2	1,20E-04	1,56
157	Sb06g022610.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g022610	95.6	4,73E+09	-1,62
158	Sb06g022690.1	tpa: phosphoenolpyruvate carboxylase kinase family protein	93.2	5,86E+08	-1,59
159	Sb06g023170.1	gem-like protein 4-like	93.0	9,12E+09	1,45
160	Sb06g023905.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g023905	77.8	4,84E-04	2,78
161	Sb06g024480.1	homeobox-leucine zipper protein hox17-like	87.4	1,99E-04	1,44
162	Sb06g024545.1	dehydration-responsive element-binding protein 1c	89.8	4,56E-04	-1,67
163	Sb06g025310.1	lysine histidine transporter-like 8-like	91.0	2,46E+09	1,51
164	Sb06g025650.1	hh dna-binding domain superfamily protein	91.4	3,36E-04	1,11
165	Sb06g025710.1	hsf transcription partial	85.4	9,36E+09	-1,41
166	Sb06g026660.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g026660	91.6	4,70E-04	1,27
167	Sb06g027090.1	s-norcoclaurine synthase-like	84.0	1,17E+06	3,30
168	Sb06g029650.1	glycine-rich protein 2b	88.2	4,55E+09	1,29
169	Sb06g030920.1	d-3-phosphoglycerate chloroplastic-like	97.6	2,55E+09	1,20
170	Sb06g031240.1	plasma membrane h+transporting atpase-like protein	99.2	3,45E-04	1,22
171	Sb06g033850.1	cationic peroxidase spc4-like isoform x3	90.2	3,52E+09	-1,79
172	Sb07g005780.1	polyamine oxidase	97.2	2,46E+09	-2,64
173	Sb07g014860.1	tpa: phototropin family protein kinase	91.0	1,54E-04	-1,58
174	Sb07g021900.1	transcription factor upbeat1-like	91.0	1,39E-04	1,47
175	Sb07g023730.1	p-glycoprotein 1	96.8	1,23E-04	1,16
176	Sb07g023840.1	mate efflux family protein	93.6	1,46E+09	-1,23
177	Sb07g023970.1	nodulin-like protein 5ng4	90.6	5,47E+07	2,00
178	Sb07g025980.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like	93.6	1,53E-04	-1,45
179	Sb07g026040.1	tpa: mtn3	93.8	7,30E+07	3,82
180	Sb07g026090.1	tpa: acr4	90.8	1,67E-04	-1,11
181	Sb07g027400.1	probable l-type lectin-domain containing receptor kinase -like	90.0	2,68E-04	1,84
182	Sb07g027810.1	dna binding protein	75.2	4,10E-04	-1,83
183	Sb07g028050.1	probable glycerophosphoryl diester	88.8	9,84E+09	-1,43
184	Sb08g015555.1	mads-box transcription factor 14	83.0	2,85E+08	-2,52
185	Sb08g016520.1	carbohydrate transporter sugar porter	88.4	1,81E+08	1,72
186	Sb08g016620.1	secondary wall myb46 transcription factor	74.2	2,17E+08	2,17
187	Sb08g019930.1	y1223_orysj ame: full=b3 domain-containing protein os12g0592300	76.4	3,08E-04	-2,95
188	Sb08g020025.1			2,27E-04	-1,14
189	Sb08g020133.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g020133	88.8	1,38E+09	4,72
190	Sb08g021750.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g021750	73.6	4,06E+08	-2,40
191	Sb08g021800.1	zinc finger protein 6-like	59.6	1,78E+06	-4,56
192	Sb09g000930.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g000930	84.2	6,19E+09	2,52

Tabela A2.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia STAR + DESeq

(conclusão)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
193	Sb09g001500.1	actin-depolymerizing factor 7-like	98.0	1,76E+09
194	Sb09g001680.1	legumin-like protein	94.8	2,71E-04
195	Sb09g004920.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g004920	81.2	4,98E-04
196	Sb09g006050.1	c3h39 c3h type transcription partial	80.4	5,33E+08
197	Sb09g007180.1	c4-dicarboxylate transporter-like protein	86.6	1,64E+09
198	Sb09g013580.1	cbl-interacting serine threonine-protein kinase 15	93.6	3,21E-04
198	Sb09g013580.1	cbl-interacting serine threonine-protein kinase 15	93.6	3,21E-04
199	Sb09g015680.1	wound-induced protein 1-like	75.0	2,13E+09
200	Sb09g021240.1	patellin family protein	97.2	1,35E-04
201	Sb09g022030.1	uncharacterized acetyltransferase at3g50280-like	89.4	3,03E+08
202	Sb09g022060.1	myb transcription factor	83.0	2,65E-04
203	Sb09g022260.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g022260	94.2	1,77E+09
204	Sb09g023310.1	aminotransferase class iii superfamily protein	98.0	6,73E+08
205	Sb09g023440.1	expa4_orysj ame: full=expansin-a4 ame: full=alpha-expansin-4 ame: full= 4 ame: full= 4 ame: full= flags: precursor	97.0	3,79E+08
206	Sb09g024850.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g024850	92.5	6,47E+06
207	Sb09g025790.1	trehalose-6-phosphate synthase	95.0	2,43E+08
208	Sb09g028600.1	ferric-chelate reductase 1-like	92.0	1,13E-04
209	Sb10g001190.1	ozone-responsive stress related protein	92.8	1,43E-04
210	Sb10g002030.1	histone h1	98.4	3,53E-04
211	Sb10g002070.1	arginine decarboxylase	94.6	4,54E-04
212	Sb10g002740.1	homeobox-leucine zipper protein athb-4	84.2	3,30E+05
213	Sb10g002750.1	homeobox-leucine zipper protein hox2-like	85.2	7,24E+07
214	Sb10g003050.1	sulfate transporter	93.2	1,06E-04
215	Sb10g004590.1	iaa20-auxin-responsive aux iaa family member	81.4	5,87E+08
216	Sb10g004790.1	kda proline-rich protein	97.2	3,49E-03
217	Sb10g007520.1	blue copper protein precursor	97.6	4,90E-04
218	Sb10g008290.1	auxin efflux carrier	94.0	2,33E+04
219	Sb10g008820.1	pyruvate dehydrogenase e1 component alpha subunit	94.8	8,25E+09
220	Sb10g010640.1	hydroquinone glucosyltransferase-like	90.0	1,21E-04
221	Sb10g020920.1	duf231 domain containing family protein	86.6	1,45E-04
222	Sb10g022780.1	glutathione s-transferase gst 19	93.8	1,18E-04
223	Sb10g023060.1	udp-glycosyltransferase 75b1-like	79.0	9,46E+07
224	Sb10g023440.1	dead-box atp-dependent rna helicase family protein	92.2	1,31E+03
225	Sb10g024640.1	4-mannan synthase family protein	78.2	4,89E+08
226	Sb10g026210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g026210	78.8	1,58E+09
227	Sb10g027850.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g027850	95.0	1,02E-04
228	Sb10g028550.1	xyloglucan endotransglycosylase	92.8	1,86E-04
229	Sb10g029090.1	glutathione transferase gst 23-like	83.6	1,90E+09
230	Sb10g029740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g029740	80.0	6,44E+09

Tabela A2.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(continua)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
1	Sb0067s002110.1	cell wall invertase	94.8	4,7E+09 ..
2	Sb0067s002130.1	cell wall invertase	95.8	6,8E-09 4,27
3	Sb01g000340.1	tpa: transferase	86.6	1,2E-04 -4,34
4	Sb01g000510.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g000510	63.4	5,4E+08 -3,46
5	Sb01g000530.1	receptor protein kinase-like protein precursor	88.8	3,7E-04 1,34
6	Sb01g002540.1	cell wall protein dan4-like	79.4	9,6E+08 1,67
7	Sb01g005110.1	iaa14 - auxin-responsive aux iaa family member	86.6	3,5E-04 1,79
8	Sb01g005990.1	tpa: glutathione transferase	92.2	2,6E+03 2,56
9	Sb01g007580.2	udp-glucose 6-dehydrogenase 5-like	99.2	6,5E-04 0,98
10	Sb01g008480.1	auxin-responsive protein iaa13-like isoform x2	92.6	5,5E+09 1,54
11	Sb01g009320.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009320	68.8	1,1E-04 3,59
12	Sb01g009380.1	tpa: hhh dna-binding domain superfamily protein	94.2	5,7E-04 -1,25
13	Sb01g009450.1	acc synthase	91.2	3,6E+09 4,17
14	Sb01g009730.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g009730	86.0	6,5E+07 ..
15	Sb01g010440.1	tpa: glycolipid transfer protein family protein	95.2	4,2E+08 2,29
16	Sb01g010700.1	af466204_5 protein	81.6	2,8E+05 1,91
17	Sb01g011220.1	nuclear transcription factor y subunit a-9-like isoform x1	91.6	5,4E+07 -1,82
18	Sb01g011220.2	nuclear transcription factor y subunit a-9-like isoform x1	91.6	2,4E+08 -1,75
19	Sb01g011220.3	nuclear transcription factor y subunit a-9-like isoform x1	91.6	4,3E+09 -1,49
20	Sb01g011750.1	defense-related protein	94.6	6,5E+09 1,31
21	Sb01g012000.1	protein tanc2-like	76.6	1,7E+04 2,96
22	Sb01g012190.1	uncharacterized membrane isoform x1	88.8	3,5E-04 1,21
23	Sb01g013910.1	major facilitator superfamily protein	93.4	1,7E+09 -1,39
24	Sb01g014130.1	auxin-responsive protein iaa30-like isoform x2	82.2	6,5E-04 -1,13
25	Sb01g014230.1	type i inositol-trisphosphate 5-phosphatase 11-like	94.8	5,4E+09 -2,31
26	Sb01g014370.1	b3 domain-containing protein os03g0622200-like	75.8	1,8E+09 -2,40
27	Sb01g016040.1	auxin induced protein	92.4	4,6E-04 2,49
28	Sb01g016740.1	---NA---	-	1,4E+07 1,98
29	Sb01g016760.1	tpa: disease resistance response protein 206	88.2	8,0E+08 2,11
30	Sb01g017380.1	-	-	1,4E+09 1,42
31	Sb01g017430.1	actin family protein	99.4	2,2E+08 1,40
32	Sb01g019290.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g019290	91.2	4,4E+08 -1,73
33	Sb01g021430.1	tpa: duf231 domain containing family protein	87.2	2,8E-04 1,35
34	Sb01g028810.1	ccp41_orysj ame: full=cyclin-p4-1 short= 4 1	85.6	1,9E-04 1,73
35	Sb01g029030.1	monosaccharide transport protein 4	93.8	4,4E-04 1,42
36	Sb01g029220.1	transcription factor une10-like isoform x2	77.4	4,1E-04 -1,69
37	Sb01g029230.1	beta-expansin 1a precursor	95.6	1,6E+05 1,78
38	Sb01g029260.1	beta-expansin 5	95.6	1,8E+07 1,64
39	Sb01g029610.1	cortical cell-delineating	95.4	5,1E+04 2,92
40	Sb01g030270.1	adipocyte plasma membrane-associated	90.0	5,0E+09 -1,79
41	Sb01g030360.1	phosphate-responsive 1 family protein	88.6	5,4E-04 1,58
42	Sb01g030530.1	peroxidase 5-like	94.2	2,2E+05 1,86
43	Sb01g030570.1	mads-box transcription factor family protein	87.0	4,0E+09 -2,18
44	Sb01g030570.2	mads-box transcription factor family protein	85.8	2,9E-04 -2,35
45	Sb01g030800.1	glutathione s-transferase gst 38	91.8	3,6E-04 1,20
46	Sb01g032020.1	probable indole-3-acetic acid-amido synthetase -like	92.2	5,5E-04 1,66
47	Sb01g032060.1	protein argonaute 7-like	92.8	7,7E+04 2,12
48	Sb01g033080.1	protein gos9-like	83.2	7,4E+09 -1,22
49	Sb01g035730.1	udp-glucuronic acid decarboxylase 2-like	88.0	2,4E+08 -2,75
50	Sb01g035970.1	dna binding protein	94.0	6,2E-04 -1,26
51	Sb01g036590.1	grab2 protein	89.6	9,6E+08 1,62
52	Sb01g036690.1	pyruvate cytosolic isozyme-like	96.4	2,5E-04 3,72
53	Sb01g036790.1	late embryogenesis abundant protein 1-like isoform x1	85.2	3,4E+08 -5,50
54	Sb01g037630.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g037630	91.4	5,1E+09 1,32
55	Sb01g037670.1	myb-like transcription factor	97.6	7,4E+06 -1,96
56	Sb01g038320.1	ethylene-overproduction protein 1-like	93.4	4,8E-04 1,47
57	Sb01g038460.1	asparagine synthetase	97.4	1,0E-04 2,07
58	Sb01g038460.2	asparagine synthetase	96.8	1,6E+07 2,10
59	Sb01g038460.3	asparagine synthetase	97.2	1,2E+05 2,62
60	Sb01g039100.1	plant-specific domain tigr01589 family protein	97.2	3,3E-04 -1,41
61	Sb01g039840.1	dna-binding protein escarola-like	87.6	1,5E-04 -2,07
62	Sb01g040280.1	ap2 erebp transcription factor superfamily protein	79.2	2,2E+08 3,93
63	Sb01g040720.1	phosphoenolpyruvate carboxykinase	97.0	2,4E+09 1,30
64	Sb01g040720.2	phosphoenolpyruvate carboxykinase	97.0	6,9E+09 1,22
65	Sb01g042040.1	branched-chain-amino-acid aminotransferase	93.4	1,3E-04 2,62
66	Sb01g043280.1	cp protein	97.8	1,5E-04 1,11
67	Sb01g043710.1	adenylyl-sulfate kinase	93.2	2,7E-04 1,17
68	Sb01g044210.1	dopamine beta-monoxygenase precursor	98.4	4,1E-04 1,13
69	Sb01g044430.1	pumilio homolog chloroplastic-like	76.6	4,7E-04 ..
70	Sb01g045500.1	nuclear transcription factor y subunit a-6-like isoform x4	93.8	3,3E-04 -1,07

Tabela A2.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
71	Sb01g045740.1	homeobox-leucine zipper protein hat7	84.2	8,0E+08
72	Sb01g048340.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_01g048340	86.6	6,4E+02
73	Sb01g049020.1	af112148_1 mads box protein 1	90.2	8,3E+06
74	Sb01g049080.1	tpa: hlh dna-binding domain superfamily protein	86.8	2,3E-04
75	Sb01g049520.1	membrane protein	92.6	2,9E-04
76	Sb02g000470.1	peroxidase 1 precursor	96.4	2,6E-04
77	Sb02g001090.1	mads-box transcription factor 15	93.2	2,4E-08
78	Sb02g002260.1	serine carboxypeptidase 2-like	87.8	5,8E+09
79	Sb02g003030.1	cbl-interacting protein kinase 23	98.2	2,2E+09
80	Sb02g003050.1	probable inositol transporter 2-like	93.2	2,6E-04
81	Sb02g003710.1	PREDICTED: cylicin-2-like	81.0	6,7E+07
82	Sb02g003710.2	---NA---	-	4,3E+07
83	Sb02g003740.1	anthranilate phosphoribosyltransferase	94.8	4,1E+07
84	Sb02g003800.1	blue copper partial	85.6	2,1E+08
85	Sb02g004260.1	receptor protein kinase clavata1 precursor	93.2	1,4E+08
86	Sb02g004380.1	early light-induced protein	98.4	1,2E-04
87	Sb02g004390.1	early light-induced protein	95.0	3,2E+09
88	Sb02g004660.1	xylanase inhibitor protein 1-like	89.4	4,4E+06
89	Sb02g008930.1	b12d protein	96.0	9,3E+05
90	Sb02g009300.1	pvr3-like protein	97.8	3,1E-04
91	Sb02g010730.1	beta-expansin 4 precursor	90.0	4,1E+06
92	Sb02g020475.1	dna-binding protein smubp-2-like	87.6	9,7E+09
93	Sb02g023150.1	l-ascorbate oxidase-like isoform x1	94.6	9,9E+08
94	Sb02g024140.1	tpa: trehalose phosphatase synthase family protein	93.0	6,2E-04
95	Sb02g024660.1	gibberellin-regulated protein 6-like	91.4	1,9E+09
96	Sb02g025246.1	probable xyloglucan glycosyltransferase 2-like isoform x2	93.2	8,6E+08
97	Sb02g026080.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g026080	89.4	1,6E-04
98	Sb02g027210.1	dna binding protein	81.0	6,0E+04
99	Sb02g028120.1	fasciclin-like arabinogalactan protein 7-like	98.2	1,9E+07
100	Sb02g028120.2	fasciclin-like arabinogalactan protein 7-like	98.2	7,6E+07
101	Sb02g028580.1	tpa: dihydroflavonol-4-reductase	86.8	4,3E-04
102	Sb02g028900.1	probable sarcosine oxidase-like	85.4	6,5E+08
103	Sb02g028910.1	tpa: sarcosine oxidase	91.8	6,1E-04
104	Sb02g030180.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g030180	81.5	5,3E+09
105	Sb02g030360.1	tpa: mate efflux family protein	91.4	9,1E+06
106	Sb02g031140.1	nodulin-like protein	92.6	3,9E-04
107	Sb02g031190.1	myb transcription factor	89.4	1,9E+09
108	Sb02g031310.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g031310	95.6	6,4E-04
109	Sb02g031340.1	delayed flowering1	81.6	1,0E-04
110	Sb02g031710.1	auxin-induced protein 6b-like	87.6	7,9E+09
111	Sb02g031720.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g031720	92.6	2,4E-04
112	Sb02g031780.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_02g031780	90.8	7,3E+05
113	Sb02g031820.1	auxin induced protein	92.2	5,5E+09
114	Sb02g031840.1	saur52 - auxin-responsive saur family member	92.4	2,2E-04
115	Sb02g033810.1	tpa: leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	93.2	1,2E+09
116	Sb02g036750.1	polygalacturonase inhibitor 1 precursor	95.8	3,4E-04
117	Sb02g037210.1	protein chloroplastic-like	82.4	5,5E-04
118	Sb02g037260.1	tubulin alpha 1 chain	100.0	3,4E+09
119	Sb02g037260.2	tpa: alpha tubulin6	96.2	1,0E-04
120	Sb02g037870.1	gdsl esterase lipase at4g10955-like	92.4	6,3E+09
121	Sb02g038110.1	loc100284162 precursor	88.4	7,3E+09
122	Sb02g038740.1	cobra-like protein 6-like isoform x1	96.2	1,7E+08
123	Sb02g038960.1	nuclear transcription factor y subunit a-3	93.2	3,4E-04
124	Sb02g040570.1	disease resistance response protein 206-like	86.4	3,1E-04
125	Sb02g041610.1	tpa: serine carboxypeptidase 1	92.8	1,1E+05
126	Sb02g043270.1	nac domain-containing protein 100-like	77.8	4,1E-04
127	Sb03g001500.1	probable indole-3-acetic acid-amido synthetase -like	89.4	3,5E+07
128	Sb03g001700.1	zcn14 protein	99.0	3,8E+07
129	Sb03g001750.1	4-methyl-5-thiazole monophosphate biosynthesis protein	86.8	5,1E-04
130	Sb03g003640.1	wrky dna-binding domain superfamily protein	99.2	8,2E+09
131	Sb03g004020.1	ga 3-oxidase 1	91.8	2,0E-04
132	Sb03g004510.1	loc100281702 precursor	92.6	2,6E+08
133	Sb03g006680.1	hypothetical protein ZEAMMB73_713834	87.4	2,7E+03
134	Sb03g006680.2	hypothetical protein ZEAMMB73_713834	85.4	1,8E+02
135	Sb03g007480.1	spore coat protein	90.4	4,1E+09
136	Sb03g008460.1	phosphate transporter pho1-1-like	77.4	2,5E+08
137	Sb03g008810.1	tpa: ribokinase	97.0	3,6E-04

Tabela A2.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
138	Sb03g012290.1	o-glycosyl hydrolase superfamily protein	94.6	2,5E+08
139	Sb03g013330.1	tpa: polygalacturonase	89.0	1,4E-04
140	Sb03g024870.1	dynein light chain type 1 family protein	92.0	1,8E+09
141	Sb03g024900.1	zinc finger protein	92.2	6,3E+07
142	Sb03g025120.1	protein abil1	90.2	4,5E+09
143	Sb03g026000.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1	89.6	5,0E+06
144	Sb03g026550.2	aldehyde dehydrogenase family 2 member c4-like isoform x2	96.2	1,3E-04
145	Sb03g027330.1	dnaJ-like protein	87.2	3,4E+09
146	Sb03g028680.1	secologanin synthase-like	91.2	3,3E+07
147	Sb03g028880.1	nadph-dependent reductase a1-a	95.0	6,3E-04
148	Sb03g029070.1	glucosyltransferase is5a-like	92.6	4,7E-04
149	Sb03g029390.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g029390	96.0	1,7E-04
150	Sb03g029520.1	potassium channel	95.8	6,8E+09
151	Sb03g032420.1	dna binding protein	83.2	1,4E-04
152	Sb03g032720.1	tpa: cda1	92.6	9,7E+08
153	Sb03g033980.1	werner syndrome atp-dependent helicase	79.6	2,8E-04
154	Sb03g034120.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g034120	90.6	1,9E+09
155	Sb03g034950.1	bzip transcription factor	81.8	1,5E+09
156	Sb03g034980.1	potassium channel kat3-like isoform x1	93.2	1,4E+09
157	Sb03g037390.1	nodulin-like protein	91.0	4,6E+06
158	Sb03g039520.1	tpa: laccase family protein	96.8	2,7E-04
159	Sb03g039530.1	l-ascorbate oxidase precursor	96.2	8,3E+04
160	Sb03g039960.1	tpa: laccase family protein	86.2	3,3E+08
161	Sb03g040180.1	hydroxycinnamoyl transferase	96.4	3,5E+08
162	Sb03g040320.1	auxin transporter-like protein 1	97.8	1,2E-04
163	Sb03g040480.1	sialytransferase-like protein	90.8	1,5E-04
164	Sb03g041570.1	leucine-rich receptor-like protein kinase	94.8	3,4E+08
165	Sb03g041580.1	amino acid permease 8-like	95.2	6,1E+03
166	Sb03g041700.1	stad1_orysj ame: full=acyl-	97.2	4,4E-04
167	Sb03g042000.1	cytochrome c	98.8	2,4E-04
168	Sb03g042450.1	tpa: lipoxygenase1	94.0	3,7E+09
169	Sb03g043380.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g043380	89.4	4,6E+04
170	Sb03g044300.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g044300	82.4	1,5E-04
171	Sb03g044440.1	nac domain-containing protein 68	85.4	5,1E+08
172	Sb03g046040.1	two-component response regulator arr8-like isoform x2	84.0	1,3E-04
173	Sb03g047470.1	probable aquaporin tip1-2-like	94.6	1,9E+09
174	Sb04g000500.1	mads-box transcription factor 50-like isoform x2	93.4	5,3E-02
175	Sb04g002700.1	ocs element-binding factor 1	90.0	3,7E+09
176	Sb04g003090.1	leucine-rich repeat family protein	92.6	9,8E+09
177	Sb04g007060.1	transcription factor hy5	90.8	6,0E-04
178	Sb04g007160.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g007160	95.0	2,6E+06
179	Sb04g008300.1	heat shock factor protein 1	85.6	9,5E+07
180	Sb04g008840.1	transcription factor rf2a-like	84.6	7,8E+08
181	Sb04g009170.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g009170	86.0	1,3E-04
182	Sb04g010100.1	gdsl esterase lipase at5g45910-like	95.8	1,4E+04
183	Sb04g012700.1	eukaryotic translation initiation factor 1a-like	97.4	6,5E-04
184	Sb04g020530.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g020530	74.2	2,8E+09
185	Sb04g020540.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g020540	69.6	2,3E+06
186	Sb04g024760.1	phototropic-responsive npn3 family protein	91.4	4,8E-04
187	Sb04g025120.1	cytosolic glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase gapc4 isoform 1	99.2	7,0E+09
188	Sb04g026450.1	g1l3_orysj ame: full=protein g1-like3	97.0	1,0E+00
189	Sb04g026490.1	phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 3	92.2	1,4E+09
190	Sb04g026650.1	plasma membrane intrinsic protein2	98.4	6,9E+03
191	Sb04g027390.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_04g027390	87.0	4,5E+09
192	Sb04g027650.1	probable trehalose-phosphate phosphatase 4-like	95.4	9,4E+08
193	Sb04g027700.1	probable beta-d-xylosidase 7-like	94.4	3,4E-04
194	Sb04g027930.1	dna binding protein	98.4	1,8E-04
195	Sb04g028360.1	wd repeat-containing protein 86-like	84.8	2,4E+09
196	Sb04g028415.1	gdsl esterase lipase at1g71250-like	89.4	2,8E-04
197	Sb04g029080.1	homeodomain leucine zipper protein cphb-5	82.0	4,9E+08
198	Sb04g029080.2	homeodomain leucine zipper protein cphb-5	83.4	3,2E+08
199	Sb04g029210.1	ocs element-binding factor 1-like	92.0	1,3E-04
200	Sb04g029720.1	iq calmodulin-binding and bag domain containing family protein	86.8	4,8E-04
201	Sb04g032150.1	lh DNA-binding domain superfamily protein	89.2	2,1E+08
202	Sb04g033240.1	zinc finger transcription factor wrky12	85.4	2,2E+09
203	Sb04g034470.1	nitrate reductase	95.4	1,3E+09

Tabela A2.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold		
				Change		
204	Sb04g034520.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	1acc	93.0	9,4E+08	1,80
205	Sb04g036200.1	heparanase-like protein 3-like		93.2	2,3E-04	1,21
206	Sb05g001590.1	nac domain-containing protein 77-like		78.6	1,1E-04	3,69
207	Sb05g003450.1	b3 domain-containing protein os11g0156000-like		80.8	9,8E+07	2,13
208	Sb05g003630.1	vamp protein sec22		93.0	1,1E+08	1,63
209	Sb05g004250.1	auxin transporter-like protein 4-like isoform x2		93.0	2,4E+08	1,48
210	Sb05g005150.1	disease resistance response protein 206		94.2	6,9E+09	1,20
211	Sb05g009360.1	alcohol dehydrogenase 1		98.4	5,4E-04	0,98
212	Sb05g017190.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g017190		66.4	1,7E+08	3,44
213	Sb05g017980.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g017980		86.2	4,1E+09	2,73
214	Sb05g024430.1	patatin t5 precursor		92.4	1,0E+05	2,02
215	Sb05g025900.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g025900		90.4	8,7E+08	3,02
216	Sb05g025910.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_05g025910		88.6	7,3E+09	3,76
217	Sb05g026280.1	cell number regulator 13-like		84.0	7,6E+08	-1,74
218	Sb05g026400.1	probable beta-d-xylosidase 2-like		87.8	1,7E-04	1,74
219	Sb05g026810.3	beta-glucosidase-like chloroplastic-like isoform x1		93.6	5,8E-04	-1,74
220	Sb06g011780.1	deoxyhypusine synthase 2		94.4	3,4E+08	2,52
221	Sb06g015930.1	xyloglucan endotransglycosylase hydrolase protein 8-like		95.4	9,6E+01	2,24
222	Sb06g015940.1	xyloglucan endotransglycosylase hydrolase protein 8		95.4	6,5E+06	1,67
223	Sb06g021340.1	tpa: dopamine beta-monoxygenase		94.0	1,8E+09	1,37
224	Sb06g021880.1	upf0481 protein at3g02645-like		92.2	5,3E+09	1,56
225	Sb06g021910.1	tpa: leucine-rich repeat receptor protein kinase family protein		92.8	4,9E-04	1,04
226	Sb06g022610.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g022610		95.6	5,5E+09	-1,58
227	Sb06g022690.1	tpa: phosphoenolpyruvate carboxylase kinase family protein		93.2	6,0E+07	-1,66
228	Sb06g023170.1	gem-like protein 4-like		93.0	1,3E+09	1,51
229	Sb06g024480.1	homeobox-leucine zipper protein hox17-like		87.4	1,3E+08	1,64
230	Sb06g024670.1	ccp21_orysj ame: full=cyclin-p2-1 short= 2 1		84.0	2,7E-04	-2,37
231	Sb06g025310.1	lysine histidine transporter-like 8-like		91.0	3,0E+09	1,44
232	Sb06g025550.1	indeterminate-related protein 9		88.0	2,5E-04	-1,17
233	Sb06g025650.1	hlh dna-binding domain superfamily protein		91.4	3,0E-04	1,10
234	Sb06g025710.1	heat stress transcription factor b-2a-like		85.4	2,5E-04	-1,31
235	Sb06g026660.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g026660		91.0	1,4E-04	1,32
236	Sb06g027090.1	s-norcoclaurine synthase-like		84.0	1,9E+07	3,42
237	Sb06g027410.1	alternative oxidase1		96.8	5,2E-02	3,21
238	Sb06g029650.1	glycine-rich protein 2b		88.2	1,2E-04	1,22
239	Sb06g030920.1	d-3-phosphoglycerate chloroplastic-like		97.6	2,1E+09	1,20
240	Sb06g031240.1	plasma membrane h+-transporting atpase-like protein		99.2	3,0E-04	1,22
241	Sb06g031790.1	-oxoglutarate 3-dioxygenase		93.0	4,9E-04	-3,31
242	Sb06g033850.1	cationic peroxidase spc4-like isoform x3		90.2	1,9E-04	-1,73
243	Sb07g000470.1	protein sombrero-like		76.4	3,0E-04	2,84
244	Sb07g000890.1	proline-rich receptor-like protein kinase perk10-like		92.0	1,1E-04	1,73
245	Sb07g005780.1	polyamine oxidase		96.8	3,0E+09	-2,59
246	Sb07g008550.1	constans-like protein co8		74.2	5,3E-04	-1,71
247	Sb07g014860.1	tpa: phototropin family protein kinase		91.0	1,1E-04	-1,56
248	Sb07g015410.1	late embryogenesis abundant protein d-34-like		82.0	9,5E+09	-5,30
249	Sb07g023730.1	p-glycoprotein 1		96.8	2,3E+09	1,23
250	Sb07g023840.1	mate efflux family protein		93.6	8,7E+08	-1,23
251	Sb07g023970.1	nodulin-like protein 5ng4		90.6	5,2E+07	1,99
252	Sb07g024890.1	myb38_maize ame: full=myb-related protein zm38		84.6	5,7E-04	1,41
253	Sb07g025980.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like		93.6	8,0E+09	-1,47
254	Sb07g026040.1	tpa: mtn3		93.8	1,7E+08	3,84
255	Sb07g026090.1	tpa: acr4		88.8	9,7E+09	-1,14
256	Sb07g026270.1	probable inactive purple acid phosphatase 27-like		94.8	2,1E+09	-1,63
257	Sb07g027140.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g027140		71.6	3,4E-04	-3,31
258	Sb07g027400.1	probable l-type lectin-domain containing receptor kinase -like		90.0	5,8E+09	1,81
259	Sb07g027810.1	dna binding protein		75.2	3,5E-04	-1,70
260	Sb07g028050.1	probable glycerophosphoryl diester phosphodiesterase 1-like isoform x1		88.8	7,9E+09	-1,51
261	Sb07g028060.1	---NA---		-	7,7E+06	1,94
262	Sb07g028060.2	---NA---		-	3,1E-04	1,99
263	Sb08g005660.1	amino acid permease 6-like		93.4	4,2E-04	2,16
264	Sb08g006180.1	glycinamide ribonucleotide synthetase		86.6	9,4E+08	1,65
265	Sb08g006180.2	glycinamide ribonucleotide synthetase		86.0	3,2E+09	1,99
266	Sb08g015555.1	mads-box transcription factor 14		83.0	5,5E+09	-2,28
267	Sb08g016520.1	carbohydrate transporter sugar porter		88.4	5,9E+07	1,71

Tabela A2.1 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(continuação)

	Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	Log2 Fold Change
268	Sb08g016620.1	secondary wall myb46 transcription factor	74.2	1,5E+06
269	Sb08g019930.1	y1223_orysj ame: full=b3 domain-containing protein os12g0592300	76.4	5,9E-04
270	Sb08g020025.1	-	-	4,3E-04
271	Sb08g020133.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g020133	88.8	1,4E+09
272	Sb08g021190.1	beta- -mannosyl-glycoprotein 4-beta-n-	94.6	1,4E-04
		acetylglucosaminyltransferase-like isoform x1		
273	Sb08g021750.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g021750	73.6	3,7E+07
274	Sb08g021800.1	zinc finger protein 6-like	59.6	1,4E+02
275	Sb08g022210.1	tpa: methionine synthase family protein isoform 1	98.4	1,3E-04
276	Sb08g022210.2	tpa: methionine synthase family protein isoform 1	98.4	1,7E-04
277	Sb09g000930.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g000930	84.2	1,1E+08
278	Sb09g001500.1	actin-depolymerizing factor 7-like	98.0	4,8E+08
279	Sb09g001680.1	legumin-like protein	94.8	4,4E-04
280	Sb09g002190.1	lob domain-containing family protein	86.2	1,4E-04
281	Sb09g002270.1	tetraspanin-6-like isoform x2	96.4	8,2E+08
282	Sb09g004920.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_09g004920	81.2	6,2E-04
283	Sb09g006050.1	c3h39 c3h type transcription partial	80.4	2,6E+08
284	Sb09g006060.1	transcription factor myb1r1-like	81.8	3,7E-04
285	Sb09g006550.1	gdsl esterase lipase at5g45910-like	95.2	1,8E+09
286	Sb09g006550.2	gdsl esterase lipase at5g45910-like	95.2	2,6E+06
287	Sb09g006550.3	gdsl esterase lipase at5g45910-like	95.2	3,8E+05
288	Sb09g006550.4	gdsl esterase lipase at5g45910-like	95.2	6,9E+07
289	Sb09g006570.1	gdsl esterase lipase at5g45910-like	93.6	3,6E+07
290	Sb09g007180.1	c4-dicarboxylate transporter-like protein	86.6	2,6E+07
291	Sb09g013580.1	cbl-interacting serine threonine-protein kinase 15	93.6	8,8E+08
292	Sb09g015680.1	wound-induced protein 1-like	75.0	3,2E+08
293	Sb09g016180.1	low quality protein: probable peptide nitrate transporter at2g40460-like	86.0	5,1E-04
294	Sb09g018790.1	gast1 protein precursor	83.8	4,6E+09
295	Sb09g018970.1	annexin d4	85.0	6,8E+09
296	Sb09g018970.2	annexin d4-like	84.0	5,9E+09
297	Sb09g018970.3	annexin d4	91.8	6,2E+07
298	Sb09g019710.1	gdsl esterase lipase at1g54790-like	94.6	2,9E-04
299	Sb09g019710.2	gdsl esterase lipase at1g54790-like	96.2	1,1E-04
300	Sb09g020930.1	secondary cell wall glycosyltransferase family 8 isoform 1	95.4	1,1E-04
301	Sb09g021240.1	patellin family protein	97.2	1,2E-04
302	Sb09g0222030.1	uncharacterized acetyltransferase at3g50280-like	89.4	1,3E+08
303	Sb09g022060.1	myb transcription factor	83.0	2,3E-04
304	Sb09g023310.1	aminotransferase class iii superfamily protein	98.0	5,6E+08
305	Sb09g023440.1	expa4_orysj ame: full=expansin-a4 ame: full=alpha-expansin-4 ame: full= 4 ame: full= 4 ame: full= flags: precursor	97.0	6,0E+08
306	Sb09g024850.1	---NA---	-	3,9E+08
307	Sb09g025340.1	tcp family transcription factor containing protein	91.2	1,4E-04
308	Sb09g025790.1	trehalose-6-phosphate synthase	95.0	2,5E+08
309	Sb09g027110.1	late embryogenesis abundant protein 3	99.2	5,0E-04
310	Sb09g028110.1	low quality protein: probable ubiquitin-conjugating enzyme e2 24-like	94.0	3,0E-04
311	Sb09g028600.1	ferric-chelate reductase 1-like	92.0	8,3E+09
312	Sb09g029660.1	tie-dyed 1	77.6	5,6E-04
313	Sb10g001190.1	ozone-responsive stress related protein	92.8	1,6E-04
314	Sb10g002030.1	histone h1	98.4	4,3E-04
315	Sb10g002070.1	arginine decarboxylase	94.6	4,1E-04
316	Sb10g002740.1	homeobox-leucine zipper protein athb-4	84.2	1,1E+05
317	Sb10g002750.1	homeobox-leucine zipper protein hox2-like	85.2	6,5E+09
318	Sb10g003050.1	sulfate transporter	93.2	6,1E+09
319	Sb10g003940.1	flowering locus t	98.0	4,2E-04
320	Sb10g004590.1	iaa20-auxin-responsive aux iaa family member	81.4	3,6E+07
321	Sb10g004790.1	kda proline-rich protein	96.4	2,1E-02
322	Sb10g007165.1	ef hand family partial	90.8	5,1E+07
323	Sb10g007380.1	mads-box transcription factor 22	93.0	5,0E-04
324	Sb10g008290.1	auxin efflux carrier	94.0	5,7E+03
325	Sb10g008320.1	urea-proton symporter dur3-like	92.8	1,3E-04
326	Sb10g008820.1	pyruvate dehydrogenase e1 component alpha subunit	94.8	6,0E+09
327	Sb10g010640.1	hydroquinone glucosyltransferase-like	90.0	1,1E-04
328	Sb10g020920.1	duf231 domain containing family protein	86.6	5,1E+09
329	Sb10g022780.1	glutathione s-transferase gst 19	93.8	3,4E-04
330	Sb10g023060.1	udp-glycosyltransferase 75b1-like	79.0	3,9E+08

Tabela A2.2 - Genes diferencialmente expressos identificados pela estratégia Bowtie 2 + DESeq

(conclusão)

Referência ID	Descrição da sequência e sua similaridade (%)	FDR	<i>Log2 Fold Change</i>		
331	Sb10g023290.1	fatty acid elongase	98.6	1,4E-04	1,25
332	Sb10g023380.1	cytochrome p450 cyp734a7	92.2	5,0E-04	1,86
333	Sb10g023440.1	dead-box atp-dependent rna helicase family protein	92.2	1,1E+02	5,35
334	Sb10g024640.1	4-mannan synthase family protein	78.2	3,4E+08	-1,83
335	Sb10g026210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g026210	78.8	1,7E+09	-2,62
336	Sb10g027260.1	beach domain-containing protein lvsc-like	83.8	6,6E-04	-1,22
337	Sb10g027850.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g027850	95.0	1,4E-04	1,11
338	Sb10g028550.1	xyloglucan endotransglycosylase	92.8	7,2E+08	1,38
339	Sb10g029090.1	-	-	3,2E+08	3,65
340	Sb10g029590.1	benzyl alcohol o-benzoyltransferase-like	94.0	1,0E-04	1,66
341	Sb10g029740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g029740	80.0	1,1E-04	1,82
323	Sb10g007380.1	mads-box transcription factor 22	93.0	5,0E-04	-1,11
324	Sb10g008290.1	auxin efflux carrier	94.0	5,7E+03	1,95
325	Sb10g008320.1	urea-proton symporter dur3-like	92.8	1,3E-04	1,90
326	Sb10g008820.1	pyruvate dehydrogenase e1 component alpha subunit	94.8	6,0E+09	-1,84
327	Sb10g010640.1	hydroquinone glucosyltransferase-like	90.0	1,1E-04	-1,08
328	Sb10g020920.1	duf231 domain containing family protein	86.6	5,1E+09	4,21
329	Sb10g022780.1	glutathione s-transferase gst 19	93.8	3,4E-04	1,31
330	Sb10g023060.1	udp-glycosyltransferase 75b1-like	79.0	3,9E+08	1,57
331	Sb10g023290.1	fatty acid elongase	98.6	1,4E-04	1,25
332	Sb10g023380.1	cytochrome p450 cyp734a7	92.2	5,0E-04	1,86
333	Sb10g023440.1	dead-box atp-dependent rna helicase family protein	92.2	1,1E+02	5,35
334	Sb10g024640.1	4-mannan synthase family protein	78.2	3,4E+08	-1,83
335	Sb10g026210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g026210	78.8	1,7E+09	-2,62
336	Sb10g027260.1	beach domain-containing protein lvsc-like	83.8	6,6E-04	-1,22
337	Sb10g027850.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g027850	95.0	1,4E-04	1,11
338	Sb10g028550.1	xyloglucan endotransglycosylase	92.8	7,2E+08	1,38
339	Sb10g029090.1	-	-	3,2E+08	3,65
340	Sb10g029590.1	benzyl alcohol o-benzoyltransferase-like	94.0	1,0E-04	1,66
341	Sb10g029740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g029740	80.0	1,1E-04	1,82
323	Sb10g007380.1	mads-box transcription factor 22	93.0	5,0E-04	-1,11
324	Sb10g008290.1	auxin efflux carrier	94.0	5,7E+03	1,95
325	Sb10g008320.1	urea-proton symporter dur3-like	92.8	1,3E-04	1,90
326	Sb10g008820.1	pyruvate dehydrogenase e1 component alpha subunit	94.8	6,0E+09	-1,84
327	Sb10g010640.1	hydroquinone glucosyltransferase-like	90.0	1,1E-04	-1,08
328	Sb10g020920.1	duf231 domain containing family protein	86.6	5,1E+09	4,21
329	Sb10g022780.1	glutathione s-transferase gst 19	93.8	3,4E-04	1,31
330	Sb10g023060.1	udp-glycosyltransferase 75b1-like	79.0	3,9E+08	1,57
331	Sb10g023290.1	fatty acid elongase	98.6	1,4E-04	1,25
332	Sb10g023380.1	cytochrome p450 cyp734a7	92.2	5,0E-04	1,86
333	Sb10g023440.1	dead-box atp-dependent rna helicase family protein	92.2	1,1E+02	5,35
334	Sb10g024640.1	4-mannan synthase family protein	78.2	3,4E+08	-1,83
335	Sb10g026210.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g026210	78.8	1,7E+09	-2,62
336	Sb10g027260.1	beach domain-containing protein lvsc-like	83.8	6,6E-04	-1,22
337	Sb10g027850.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g027850	95.0	1,4E-04	1,11
338	Sb10g028550.1	xyloglucan endotransglycosylase	92.8	7,2E+08	1,38
339	Sb10g029090.1	-	-	3,2E+08	3,65
340	Sb10g029590.1	benzyl alcohol o-benzoyltransferase-like	94.0	1,0E-04	1,66
341	Sb10g029740.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_10g029740	80.0	1,1E-04	1,82