

REGULAÇÃO TECIDO-ESPECÍFICA DA RESPOSTA DE DEFESA
DESENCADEADA POR FLAGELINA EM *Arabidopsis thaliana*

PATRÍCIA LOUZADA RANGEL TERRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
NOVEMBRO – 2016

REGULAÇÃO TECIDO-ESPECÍFICA DA RESPOSTA DE DEFESA
DESENCADEADA POR FLAGELINA EM *Arabidopsis thaliana*

PATRÍCIA LOUZADA RANGEL TERRA

“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Biociências e Biotecnologia.”

Orientador: Prof. Gonçalo Apolinário de Souza Filho

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
NOVEMBRO – 2016

REGULAÇÃO TECIDO-ESPECÍFICA DA RESPOSTA DE DEFESA
DESENCADEADA POR FLAGELINA EM *Arabidopsis thaliana*

PATRÍCIA LOUZADA RANGEL TERRA

“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Biociências e Biotecnologia.”

Aprovada em 28 de novembro de 2016.

Comissão examinadora:

Prof. Alan Trindade Branco (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) - UFES

Prof^a. Clícia Grativol Gaspar de Matos (D.Sc., Química Biológica) - UENF

Prof. Vanildo Silveira (D.Sc., Biotecnologia) - UENF

Prof. Gonçalo A. de Souza Filho (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) - UENF
(Orientador)

*Ao meu pequeno guerreiro Arthur, que me ensinou
o verdadeiro significado da palavra amor.*

Dedico e ofereço

AGRADECIMENTOS

A **Deus** pelo dom da vida e por ter me concedido forças e sabedoria ao longo destes anos.

Ao meu filho **Arthur Rangel Terra** pelo amor incondicional e por minha força e felicidade de todos os dias. Ao meu marido **Pedro Paulo Ferreira Terra** pelo amor, companheirismo, incentivo e pela paciência na finalização deste trabalho.

Aos meus pais **Paulo de Carvalho Rangel** e **Dilce Louzada Rangel** por todo amor, apoio e incentivo. Obrigada por acreditarem e investirem em mim. Aos meus irmãos **Maurício Louzada Rangel** e **Kamila Louzada Rangel** pela cumplicidade, amizade e amor entre nós.

A todos da família Terra que me receberam de braços abertos, em especial **Maria Cristina Ferreira Terra** pela amizade, ajuda e por ser mais que uma sogra para mim. À pequena **Laura Guedes de Oliveira Terra** por todo amor e alegria que traz para nossa família.

À **Suzane Ariádina de Souza** pela amizade, cumplicidade, apoio e por ser fazer muito presente em minha vida, mesmo estando fisicamente tão distante.

Ao **Luciano de Souza Vespoli** pela amizade e por toda a ajuda no término deste trabalho.

Às amigas **Hérika Chagas Madureira**, **Juliana Ferreira da Silva** e **Ana Lídia Soares Rangel** pela amizade de tantos anos no laboratório, pelo companheirismo nos bons e maus momentos e por todo o incentivo.

A todos os amigos de laboratório, **Ana Márcia Escocard**, **Leandro Fernandes**, **Mariana Ramos**, **Nathália Duarte**, **Tamíres Cruz** e tantos outros que passaram pela equipe do Prof. Gonçalo. Obrigada pela prazerosa convivência, pelas sugestões, ajuda, apoio e incentivo.

Ao **Lucas Zanchetta Passamani** pela colaboração nos ensaios de proteômica.

Ao meu orientador, professor **Gonçalo Apolinário de Souza Filho**, pelo conhecimento transmitido, incentivo, paciência e amizade durante todo este tempo.

Aos professores **Alan Trindade Branco**, **Clícia Grativol Gaspar de Matos** e **Vanildo Silveira** por aceitarem meu convite para fazer parte da banca examinadora desta tese.

À Dr^a **Roberta Ribeiro Barbosa**, não apenas pela revisão deste trabalho e pelas contribuições a ele prestadas, mas também pela amizade de tantos anos.

À **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro** e ao **Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia** pela oportunidade da realização do Curso.

À **CAPES** pela bolsa de estudos a mim concedida.

A todos os professores de pós-graduação que me transmitiram seus conhecimentos e contribuíram desta forma para o meu crescimento profissional.

Aos professores e colegas do **Laboratório de Biotecnologia** e a todos que de alguma forma, me auxiliaram, me incentivaram ou me proporcionaram bons momentos para a continuação e finalização desta tese.

SUMÁRIO

Índice de figuras.....	IX
Índice de tabelas.....	X
Resumo.....	XI
Abstract	XIII
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Interações entre plantas e micro-organismos.....	4
2.2. O sistema imune vegetal.....	6
2.2.1. Flagelina.....	8
2.2.2. Imunidade inata.....	10
2.2.3. Imunidade sistêmica.....	12
2.2.4. Fitormônios e a regulação do sistema imune vegetal.....	14
2.3. Estudo da imunidade em raízes.....	16
2.4. <i>Arabidopsis thaliana</i> : planta modelo para estudo do sistema imune vegetal.....	18
2.5. Proteômica.....	19
3 - OBJETIVOS.....	22
Objetivo geral.....	22
Objetivos específicos.....	22
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1. Material vegetal e condições de crescimento.....	23
4.2. Tratamento das plântulas de <i>A.thaliana</i> com Flg22.....	24
4.3. Ensaio histoquímico da atividade GUS.....	24
4.4. Detecção do acúmulo de calose.....	24
4.5. Análise proteômica.....	25
4.5.1. Extração de proteínas.....	25
4.5.2. Digestão de proteínas.....	26

4.5.3. Análise de espectrometria de massas.....	26
4.5.4. Análises de bioinformática.....	28
5 – RESULTADOS.....	29
5.1. Flg22 regula a defesa de maneira tecido-específica em <i>A. thaliana</i>	29
5.2. Análises de dados proteômicos revelam perfis específicos de proteínas em resposta à Flg22 em folhas, raízes e pontas de raízes.....	31
5.3. Classificação funcional das DAPs.....	34
5.4. Proteínas relacionadas à defesa reguladas por Flg22 nos diferentes tecidos.....	36
5.5. Proteínas não descritas como relacionadas à defesa reguladas por Flg22 em raízes.....	42
6 – DISCUSSÃO.....	49
7 – CONCLUSÕES.....	54
8 – APÊNDICES.....	56
9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Visão geral das interações entre plantas e micro-organismos.....	5
Figura 2 – Estrutura da flagelina e reconhecimento de diferentes epítomos da molécula por PRRs.....	9
Figura 3 – Modelo da associação do complexo FLS2 / BAK1 após a ligação de Flg22.....	10
Figura 4 – Representação esquemática simplificada da resposta imune vegetal.....	11
Figura 5 – Interação entre as vias de sinalização de fitormônios durante a regulação da defesa vegetal.....	15
Figura 6 – Flg22 induz expressão tecido-específica de genes marcadores da defesa em <i>A. thaliana</i>	30
Figura 7 – Indução tecido-específica da deposição de calose por Flg22 em <i>A. thaliana</i>	31
Figura 8 – Número total de proteínas identificadas e variação no perfil proteico em folhas, raízes e pontas de raízes tratadas com Flg22.....	33
Figura 9 – Classificação funcional das proteínas diferencialmente reguladas nos diferentes tecidos de <i>A. thaliana</i> após tratamento com Flg22.....	35
Figura 10 – Análise do software Mapman das proteínas reguladas por Flg22 envolvidas na resposta a estresses bióticos em <i>A. thaliana</i>	37
Figura 11 – Heatmaps representando o perfil de proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) em diferentes tecidos de <i>Arabidopsis thaliana</i> após tratamento com Flg22, envolvidas com estresses bióticos.....	40
Figura 12 – Análise de enriquecimento funcional de proteínas induzidas em raízes em resposta ao tratamento com Flg22.....	46
Figura 13 – Análise das redes de interação proteína-proteína das DAPs em raízes usando o algoritmo STRING.....	47

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do meio MS.....	23
Tabela 2 - Proteínas induzidas e reprimidas em raízes não classificadas pelo Mapman como envolvidas com estresses bióticos.....	43
Apêndice A – Tabela das proteínas diferencialmente acumuladas em folhas de <i>Arabidopsis thaliana</i> expostas à Flg22.....	56
Apêndice B - Tabela das proteínas diferencialmente acumuladas em raízes de <i>Arabidopsis thaliana</i> expostas à Flg22.....	63
Apêndice C - Tabela das proteínas diferencialmente acumuladas em pontas de raízes de <i>Arabidopsis thaliana</i> expostas à Flg22.....	67

RESUMO

A capacidade das plantas de se defenderem contra patógenos depende da habilidade em reconhecer padrões moleculares associados a micro-organismos (MAMPs) e desencadear a resposta de defesa apropriada. O MAMP mais bem caracterizado é a flagelina, o principal componente proteico do flagelo bacteriano. A maior parte dos dados disponíveis sobre a resposta de defesa vegetal desencadeada por MAMPs, incluindo flagelina, foi obtida em tecidos foliares. No entanto, as raízes são os órgãos vegetais com o maior nível de interação com os micro-organismos do solo. Paradoxalmente, pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares da resposta imune nas raízes das plantas. Nosso estudo teve como objetivo caracterizar as vias especificamente reguladas durante a resposta desencadeada por flagelina em diferentes tecidos de *Arabidopsis thaliana*, com ênfase às raízes e às pontas de raízes. O monitoramento da ativação transcricional dos genes marcadores da defesa *CYP71A12* e *WRKY11* e a análise de deposição de calose mostraram que Flg22 desencadeia respostas tecido-específicas em plântulas de *A. thaliana*. Análises de proteômica comparativa em larga escala permitiram identificar 1131, 798 e 1042 proteínas em folhas, raízes e pontas de raízes, respectivamente. Dentre estas, 191, 109 e 146 proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) foram observadas em cada tecido, respectivamente. As análises de heat map e de diagrama de Venn demonstraram que os perfis de DAPs são marcadamente diferentes entre os tecidos. Além disso, uma porcentagem muito baixa de DAPs foi encontrada simultaneamente em mais de um tecido, e não foi encontrada nenhuma DAP sendo regulada de forma semelhante por Flg22 em todas as três regiões da planta. A anotação funcional das DAPs das folhas expostas à Flg22 mostrou a ativação de várias vias envolvidas na resposta imune desencadeada por MAMP, incluindo estado redox, peroxidases, glutathione S-transferases, sinalização e metabólitos secundários. Interessantemente, a maioria destas vias foram reprimidas nas raízes, revelando uma regulação oposta das vias de defesa quando folhas e raízes são comparadas. As pontas de raízes também mostraram uma regulação de DAPs diferente da observada em folhas e raízes. A maioria das proteínas reguladas pelo tratamento com Flg22 nas raízes não são classificadas nas categorias de "resposta ao estresse biótico" por softwares de caracterização funcional, sugerindo que novos mecanismos de resposta / defesa podem ocorrer nestes tecidos. Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que vários mecanismos de resposta/defesa conhecidos nas folhas não são ativados nas

raízes, enquanto outros mecanismos não caracterizados parecem ser ativados nestes tecidos.

Palavras-chave: flagelina, MAMPs, estresse biótico, imunidade vegetal, proteômica label-free, *A. thaliana*.

ABSTRACT

The ability of plants to defend themselves against pathogens depends on the ability to recognize microorganisms-associated molecular patterns (MAMPs) and trigger the appropriate defense response. The best-characterized MAMP is flagellin, the main protein component of bacterial flagella. Most of the available data on MAMP-triggered plant defense response, including flagellin, has been obtained in leaf tissues. However, roots are the plant organ with the highest level of interaction with soil microorganisms. Paradoxically, little is known about the molecular mechanisms of immune response in plant roots. Our study aimed to characterize the pathways specifically regulated during the response triggered by flagellin in different *Arabidopsis thaliana* tissues, with emphasis to roots and root tips. Monitoring the transcriptional activation of the *CYP71A12* and *WRKY11* defense marker genes and callose deposition analysis showed that Flg22 triggers tissue-specific responses in *Arabidopsis* seedlings. Comparative shotgun proteomics analysis allowed to identify 1131, 798 and 1042 proteins in leaves, roots and root tips, respectively. Among which 191, 109 and 146 differentially accumulated proteins (DAPs) were observed in each tissue, respectively. Heatmap and Venn diagram analysis demonstrated that DAPs profiles are markedly different between the tissues. Furthermore, a very low percentage of DAPs were found simultaneously in more than one tissue, and no DAP was found being similarly regulated by Flg22 in all three plant regions. Functional annotation of the DAPs from leaves exposed to Flg22 shown the activation of several pathways involved in MAMP-triggered immune response, including redox state, peroxidases, glutathione S-transferases, signaling and secondary metabolites. Interestingly, most of these pathways were repressed in roots, revealing opposite regulation of defense pathways when leaves and roots are compared. Root tips also showed different DAPs regulation in comparison to leaves and roots. Most proteins regulated by Flg22 treatment in roots were not classified as “response to biotic stress” categories by functional characterization softwares, suggesting that new response/defense mechanisms may occur in this tissue. The results obtained in this work demonstrated that various response/defense mechanisms known in leaves are not activated in roots, while other uncharacterized mechanisms seems to be activated in these tissues.

Keywords: flagellin, MAMPs, biotic stress, plant immunity, label-free proteomics, *A. thaliana*.

1 - INTRODUÇÃO

A capacidade dos organismos eucariotos superiores de se defenderem do ataque de micro-organismos reside na sua eficiência em reconhecer sinais específicos desses micro-organismos e desencadear uma resposta de defesa apropriada. Diferente do que ocorre em animais, onde dois sistemas (imunidade inata e adaptativa) atuam na defesa do organismo, as plantas dependem unicamente da imunidade inata para sobreviverem ao constante ataque de patógenos em seu ambiente natural (Nürnberg et al., 2004; Ausubel, 2005; Jones e Dangl, 2006).

A percepção do micro-organismo pelo hospedeiro vegetal ocorre através do reconhecimento de padrões moleculares associados a micro-organismos (MAMPs) ou patógenos (PAMPs) por receptores de reconhecimento padrão (PRRs) localizados na membrana plasmática das células vegetais (Boller e Felix, 2009; Schwessinger e Ronald, 2012; Dangl et al., 2013; Zipfel, 2014). Após este reconhecimento, sinais específicos são disparados através de cascatas de sinalização, resultando em reações de defesa da planta, caracterizadas como PTI (PAMP-triggered immunity / imunidade desencadeada por PAMP) que levam ao aumento da resistência contra patógenos invasores (McDowell e Dangl, 2000; Zipfel et al., 2004; Chisholm et al., 2006).

Entre os MAMPs mais estudados estão a flagelina (Felix et al., 1999), o fator de alongamento EF-Tu (Kunze et al., 2004), lipopolissacarídeos (Newman et al., 1995; Meyer et al., 2001) e quitina (Felix et al., 1993; Miya et al., 2007). Flagelina é o MAMP melhor caracterizado até o momento (Felix et al., 1999; Gómez-Gómez et al., 1999; Gómez-Gómez e Boller, 2000; Hayashi et al., 2001; Asai et al., 2002; Smith et al., 2003; Zipfel et al., 2004) e sua interação com receptores presentes em *Arabidopsis thaliana* tem sido foco de vários trabalhos dedicados a elucidar os complexos mecanismos associados à ativação da resposta imune vegetal (Gómez-Gómez e Boller, 2000; Gómez-Gómez et al., 2001; Zipfel et al., 2004; Chinchilla et al., 2006).

A flagelina é um componente protéico do flagelo bacteriano. A região central da molécula de flagelina é variável, mas suas extremidades N- e C- terminais são altamente conservadas (Felix et al., 1999). Apenas um epítipo de 22 aminoácidos

da região N-terminal da flagelina, conhecido como Flg22, é reconhecido pelo receptor FLS2 (Flagellin Sensing 2), presente nas membranas plasmáticas das células de *A. thaliana* (Gómez-Gómez e Boller, 2000). Após o reconhecimento de Flg22 por FLS2, múltiplas respostas de defesa são ativadas, incluindo a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), síntese e acúmulo de hormônios, acúmulo de calose e outros reforços da parede celular (Göhre e Robatzek, 2008; Dangl et al., 2013).

A indução de respostas de defesa tem sido amplamente demonstradas em plantas de *A. thaliana* expostas à Flg22. Entre as principais abordagens utilizadas para caracterizar essas respostas estão as análises de transcriptomas, por microarray e RNA-Seq (Navarro et al., 2004; Zipfel et al., 2004; Rosli et al., 2013). Nos últimos anos, a análise proteômica tornou-se uma ferramenta promissora para o estudo de sistemas biológicos, incluindo os mecanismos de defesa de plantas (Quirino et al., 2010). A caracterização do perfil de proteínas reguladas durante a resposta imune, somada às análises transcriptômicas, permitem uma maior compreensão da complexa resposta de defesa vegetal. O advento das tecnologias proteômicas “shotgun label-free” tem impulsionado fortemente este campo de pesquisa nos últimos anos, permitindo um alto rendimento na caracterização de perfis proteômicos de amostras complexas (Heringer et al., 2015; Song et al., 2016; Reis et al., 2016).

Embora os mecanismos de reconhecimento de flagelina por FLS2 e a subsequente ativação da resposta de defesa vegetal serem extensivamente estudados em folhas de *A. thaliana* e outras espécies vegetais (Gómez-Gómez e Boller, 2000; Robatzek et al., 2007; Takai et al., 2008; Boller e Felix, 2009; Schwessinger e Ronald, 2012; Rosli et al., 2013), mecanismos semelhantes são mal compreendidos e pouco estudados em raízes (Wyrsh et al., 2015). Controversamente, a raiz é o órgão da planta que interage com a maior quantidade de micro-organismos presentes no solo, necessitando de uma resposta rápida e eficaz para prevenir a infecção dos seus tecidos (Berendsen et al., 2012).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta à Flg22 nas raízes de *A. thaliana* e comparar com as respostas observadas nas folhas. O monitoramento da ativação de genes marcadores da defesa e as análises de deposição de calose mostraram que Flg22 desencadeia respostas tecido-específicas em plântulas de *A. thaliana*. Análises do perfil de proteínas, por meio

de técnicas “label-free shotgun”, permitiram identificar conjuntos marcadamente distintos de proteínas diferencialmente acumuladas em cada um dos tecidos analisados, indicando que raízes possuem vias e mecanismos de resposta distintos daqueles amplamente caracterizados em folhas.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Interações entre plantas e micro-organismos

As plantas, em seus habitats naturais, são cercadas por um grande número de micro-organismos, com os quais interagem (Schenk et al., 2012). Estas interações entre plantas e micro-organismos datam de milhões de anos na história evolutiva. Tem sido proposto que o estabelecimento das primeiras plantas terrestres, há cerca de 480 milhões de anos atrás, só foi possível por meio de associações simbióticas com fungos, sugerindo que as plantas interagem com micro-organismos desde sua primeira aparição na Terra (Heckman et al., 2001).

Desde então, a evolução das plantas tem sido moldada por interações com diversos micro-organismos que apresentam diferentes estratégias de infecção e variados estilos de vida (Dodds e Rathjen, 2010). Grande parte destas interações são incompatíveis, corroborando com o fato de que as plantas são resistentes a maioria dos ataques em seu ambiente (Bari e Jones, 2009). Porém, alguns micro-organismos são capazes de colonizar a superfície ou o interior das plantas (Newman e Banfield 2002), estabelecendo interações compatíveis (Fig. 1) que podem ser patogênicas, benéficas ou neutras (Mithöfer, 2002; Schenk et al., 2012). Entre estas, as interações compatíveis neutras são as mais frequentes na natureza. Entretanto, embora o efeito que a maioria destes micro-organismos aparentam ter sobre as plantas seja neutro, muitos são capazes de modificar o ambiente vegetal, por exemplo, através da utilização de compostos orgânicos derivados das plantas como substratos para a produção de energia podendo, assim, desempenhar papel fundamental no ciclo de nutrientes importantes para as plantas (Berg, 2009; Schenk et al., 2012).

Muito mais raras que as interações neutras, porém mais perceptíveis devido aos seus efeitos prejudiciais, são as interações compatíveis com fungos, vírus e bactérias patogênicas que causam doenças em plantas. Neste tipo de interação, os micro-organismos são capazes de subverter a resposta de defesa vegetal, podendo penetrar nos tecidos da planta e causar danos, desde que haja a suscetibilidade da planta hospedeira (Göhre e Robatzek, 2008; Dodds e Rathjen, 2010).

Entre as associações benéficas para as plantas, podemos citar as interações simbióticas e as associações com bactérias endofíticas promotoras do crescimento vegetal (Berg, 2009). As interações simbióticas são caracterizadas pela possibilidade de superação das limitações fisiológicas das espécies envolvidas, pela utilização da capacidade uma da outra (Douglas, 1994). Exemplo clássico de simbiose entre plantas e micro-organismos, é a associação entre bactérias dos gêneros *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Rhizobium* e plantas leguminosas, na qual as bactérias disponibilizam nitrogênio para o hospedeiro vegetal e recebem dele componentes de carbono (de Carvalho Niebel et al., 1998).

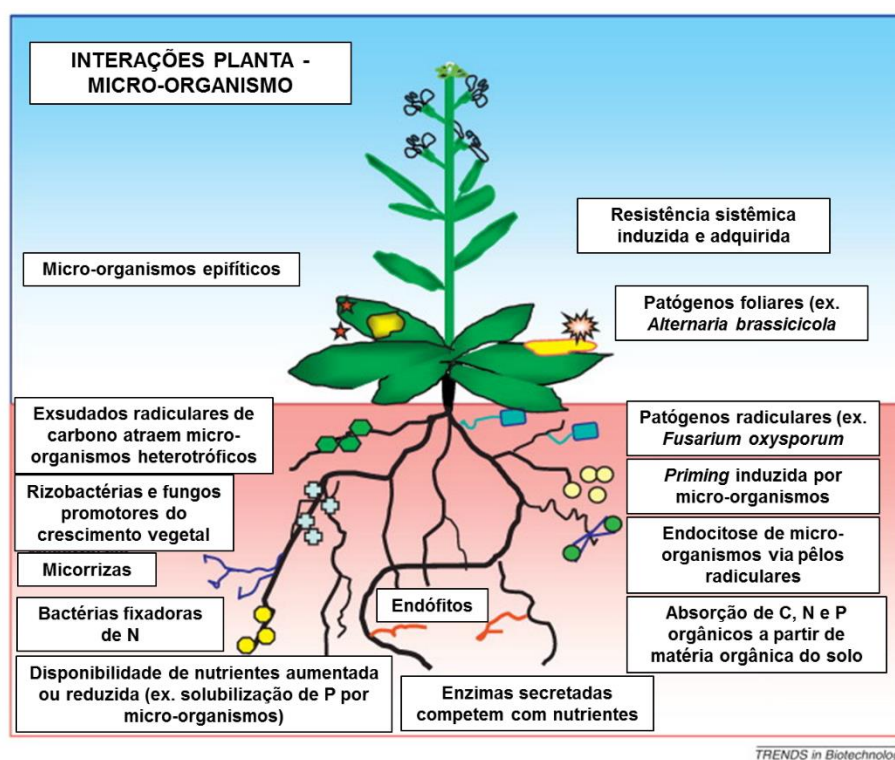


Figura 1 – Visão geral das interações entre plantas e micro-organismos (Adaptado de Schenk et al., 2012).

As associações endofíticas caracterizam-se pela capacidade do micro-organismo em colonizar os espaços intercelulares e tecidos vasculares de diferentes órgãos vegetais, sem causar dano aparente, sintoma de doença ou reações de hipersensibilidade (Kloepper e Beachamp, 1992). O interior vegetal oferece às bactérias endofíticas as vantagens de proteção frente às mudanças ambientais e redução de competição por nutrientes com bactérias da rizosfera (Boddey et al., 1995; Döbereiner et al., 1995; de Bruijn et al., 1997; Reinhold-Hurek e Hurek, 1998; James e Olivares, 1998; Ladha e Reddy, 2003). Além disso, o

interior da planta, com baixa disponibilidade de fontes de oxigênio, provê um ambiente adequado para a fixação biológica de nitrogênio (Sprent e James, 1995; James e Olivares, 1998). Dentre os efeitos positivos destas bactérias endofíticas para o hospedeiro vegetal estão a promoção do crescimento vegetal, o controle biológico de pragas e doenças nas plantas, a fixação biológica de nitrogênio (Dobereiner e Boddey, 1981; Downing et al., 2000; Verma et al., 2001), a indução de resistência sistêmica (Hallmann et al., 1997), a produção de sideróforos (Burd et al., 1998; Wenbo et al., 2001) e a produção de antibióticos (Strobel e Daisy, 2003).

Sabe-se que independente do micro-organismo e do tipo de interação que desenvolverá com a planta, ao entrar em contato com o hospedeiro o sistema imune vegetal é estritamente regulado (Mithöfer, 2002) determinando o sucesso ou o fracasso da colonização (Abramovitch et al., 2006; Jones e Dangl, 2006). Em geral, os eventos de reconhecimento e sinalização que ocorrem nas células vegetais em resposta à interação com um micro-organismo precisam ser extremamente rápidos e específicos, e fazem parte da estratégia desenvolvida pelas plantas para sobreviverem a constantes ataques em seu ambiente (Dangl e Jones, 2001; Jones e Dangl, 2006).

2.2. O sistema imune vegetal

Muitos micro-organismos são capazes de invadir, colonizar e estabelecer infecção em plantas. Para acessar o interior vegetal, estes micro-organismos utilizam diferentes estratégias, podendo penetrar diretamente através da superfície da folha ou raiz ou entrar através de ferimentos ou aberturas naturais como hidatódios, estômatos e poros utilizados para trocas gasosas (Chisholm et al., 2006; Jones e Dangl, 2006).

Baseado em seus estilos de vida, estes patógenos vegetais são geralmente divididos em necrotróficos e biotróficos (Glazebrook, 2005; Schenk et al., 2012). Patógenos necrotróficos destroem as células hospedeiras vegetais, muitas vezes através da produção de fitotoxinas e enzimas que degradam a parede celular, e depois se alimentam de seus conteúdos. Biotróficos se nutrem do hospedeiro vivo, normalmente através de estruturas de alimentação especializadas. Além destes,

muitos patógenos vegetais apresentam ambos os estilos, dependendo do estágio do seu ciclo de vida, e são chamados hemibiotróficos (Pieterse et al., 2012).

Para se defenderem contra todos estes tipos de patógenos, plantas possuem uma série de barreiras físicas e químicas pré-formadas, como espessura e dureza da parede celular, espessura da cutícula, presença de ceras, exsudados, saponinas, fitoalexinas e lectinas (Darvill e Albersheim, 1984; Hüchelhoven, 2007; Dodds e Rathjen, 2010) que dificultam ou impedem a entrada de micro-organismos na planta. Apesar da diversidade destas defesas constitutivas, muitos micro-organismos conseguem acessar o interior do hospedeiro. Neste momento, um amplo espectro de defesas induzidas pode ser recrutado para limitar a entrada de mais agentes patogênicos na planta (Jones e Dangl, 2006; Pieterse et al., 2014).

Diferente do que ocorre em animais, onde células especializadas circulam e percebem a presença de antígenos, as células vegetais possuem uma resposta de defesa autônoma, com o reconhecimento e a resposta ocorrendo em cada célula individualmente (Nürnberger et al., 2004; Ausubel, 2005; Zipfel e Felix, 2005; Dodds e Rathjen, 2010). A percepção da presença do micro-organismo pelo hospedeiro vegetal se dá através do reconhecimento de padrões moleculares associados a micro-organismos (MAMP's) e patógenos (PAMP's) por receptores de reconhecimento padrão (PRRs) presentes na membrana plasmática das células vegetais (Mehta et al., 2008; Boller e Felix, 2009; Bernoux et al., 2011; Dangl et al., 2013; Yi et al., 2014; Kazan e Lyons, 2014). Entre os MAMPs / PAMPs reconhecidos por PRRs vegetais, estão a flagelina (Felix et al., 1999), o fator de alongamento EF-Tu (Kunze et al., 2004), lipopolissacarídeos (Newman et al., 1995; Meyer et al., 2001) e a quitina, o principal componente da parede celular de fungos (Felix et al., 1993; Miya et al., 2007). Destes, flagelina é o MAMP melhor caracterizado até o momento (Felix et al., 1999; Gómez-Gómez et al., 1999; Gómez-Gómez e Boller, 2000; Hayashi et al., 2001; Asai et al., 2002; Smith et al., 2003; Zipfel et al., 2004) e sua interação com receptores presentes na membrana plasmática de células de *A. thaliana* tem sido foco de vários trabalhos dedicados a elucidar os complexos mecanismos associados à ativação da resposta imune vegetal (Gómez-Gómez e Boller, 2000; Gómez-Gómez et al., 2001; Zipfel et al., 2004; Chinchilla et al., 2006).

2.2.1. Flagelina

A motilidade das bactérias é atribuída à presença de flagelo, uma espécie de hélice extracelular constituída por vários protofilamentos protéicos (Fig. 2) (Gómez-Gómez e Boller, 2000). Apesar do flagelo bacteriano ser usualmente caracterizado como uma estrutura exclusiva para locomoção, ele é também um importante fator de virulência bacteriano (Rossez et al., 2015). A flagelina, a principal proteína constituinte do flagelo de bactérias, é percebida por receptores altamente sensíveis nas membranas plasmáticas celulares de animais e vegetais, atuando como um potente eliciador da imunidade (Zipfel et al., 2004).

Codificada pelo gene *fliC*, a molécula de flagelina apresenta uma região central variável entre as diferentes espécies bacterianas, mas as extremidades N- e C- terminais são altamente conservadas (Felix et al., 1999). Ao longo da proteína, apenas um epítipo de 22 aminoácidos (QRLSTGSRINSAKDDAAGLQIA) da região N-terminal, conhecido como Flg22, é responsável pela atividade de virulência da molécula de flagelina na maioria das espécies vegetais (Gómez-Gómez e Boller, 2000; Naito et al., 2008; Schwessinger e Ronald, 2012). Estudos realizados com peptídeos sintéticos de Flg22 demonstraram que esta pequena região atua como eliciadora da imunidade em células de tomate (*Solanum lycopersicum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), *A. thaliana* e outras espécies vegetais, em concentrações subnanomolares (Felix et al., 1999).

Apesar do peptídeo de 22 aminoácidos ser o domínio clássico de percepção pela maioria das plantas, outras regiões da molécula de flagelina podem ser reconhecidas por determinadas espécies vegetais. Por exemplo, plantas de tomate reconhecem, além de Flg22, uma versão reduzida de 15 aminoácidos (Flg15) deste mesmo domínio (Felix et al., 1999; Bauer et al., 2001) e uma terceira região de 28 aminoácidos na porção C-terminal da molécula de flagelina (FlgII-28), recentemente identificada e caracterizada (Cai et al., 2011; Clarke et al., 2013; Veluchamy et al., 2014; Hind et al., 2016). Outras plantas da família Solanaceae, como batata (*Solanum tuberosum*) e pimenta (*Capsicum spp*) também são capazes de reconhecer o epítipo FlgII-28 (Hind et al., 2016). Similarmente, plantas de arroz são capazes de reconhecer o peptídeo Flg22, mas são mais responsivas a uma sequência maior da proteína flagelina, denominada CD2-1 (Takai et al., 2008).

A maioria das plantas detectam flagelina pelo receptor de reconhecimento padrão FLS2 (Flagellin Sensing 2), que reconhece e liga-se ao epítipo Flg22. Recentemente, novos receptores vegetais como o FLS3 que detecta FlgII-28, vem sendo caracterizados, sugerindo uma constante corrida evolutiva, onde os patógenos evadem o reconhecimento e os hospedeiros vegetais desenvolvem novos imunorreceptores para detectá-los (Fig. 2) (Fliegmann e Felix, 2016).

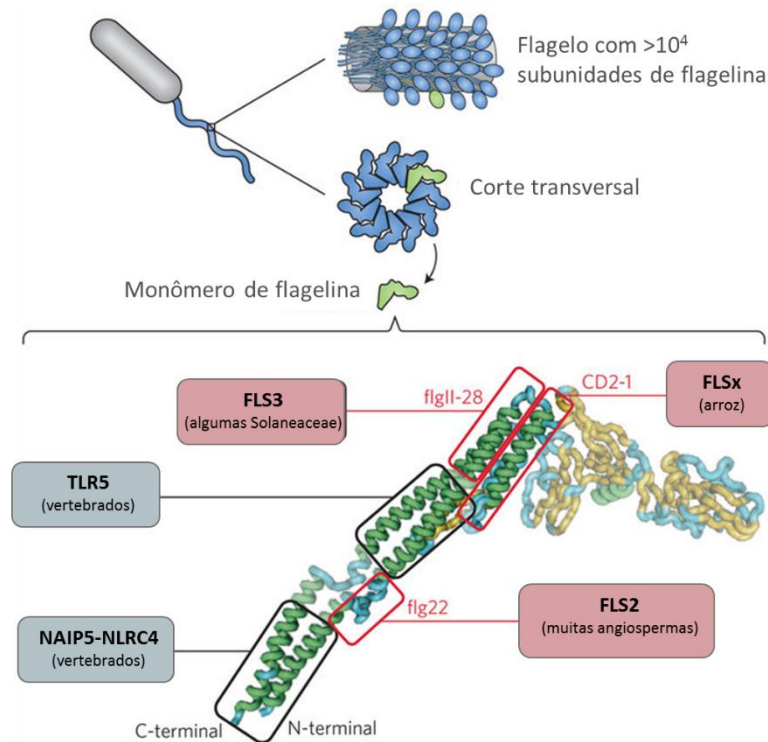


Figura 2 – Estrutura da flagelina e reconhecimento de diferentes epítopos da molécula por PRRs. O flagelo bacteriano é composto por $> 10^4$ unidades monoméricas de flagelina que se unem em uma estrutura em forma de bastonete. O novo receptor FLS3 de tomate liga-se ao epítipo FlgII-28, que é distinto do epítipo Flg22 detectado por FLS2 em muitas angiospermas, e é também diferente do epítipo CD2-1 reconhecido por um receptor ainda não identificado em plantas de arroz (FLSx). Os epítopos reconhecidos por plantas estão delineados em vermelho, sendo indicados pelos seus PRRs correspondentes. Similarmente, PRRs de vertebrados reconhecem epítopos conservados da molécula de flagelina, porém em diferentes regiões (delineados em preto) (Adaptado de Fliegmann e Felix et al., 2016).

A detecção de flagelina por FLS2, um receptor tipo quinase rico em repetições de leucina (LRR Receptor-like Kinase), presente nas membranas plasmáticas das células de várias espécies de plantas, como *A. thaliana*, tomate, tabaco e arroz (Gómez-Gómez e Boller, 2000; Chinchilla et al., 2006; Robatzek et al., 2007; Hann e Rathjen, 2007; Takai et al., 2008) é a mais estudada interação entre MAMP e PRR. Após a ligação de Flg22, FLS2 se associa à BAK1, outra

quinase LRR presente na membrana plasmática (Heese et al., 2007; Chinchilla et al., 2007; Sun et al., 2013), e ambas são fosforiladas ativando o complexo (Fig. 3). BIK 1, um receptor tipo-quinase associado à porção citoplasmática de FLS2 e BAK1, é rapidamente fosforilado por BAK1. Por sua vez, BIK1 transfosforila o complexo FLS2 / BAK1. Em seguida o complexo ativo FLS2 / BAK1 pode fosforilar mais receptores BIK1 e outros substratos. BIK1 ativo é, provavelmente, liberado do complexo para ativar a sinalização MAPK adiante (Asai et al., 2002), que resultará na resposta de defesa vegetal (Lu et al., 2010) (Fig. 3).

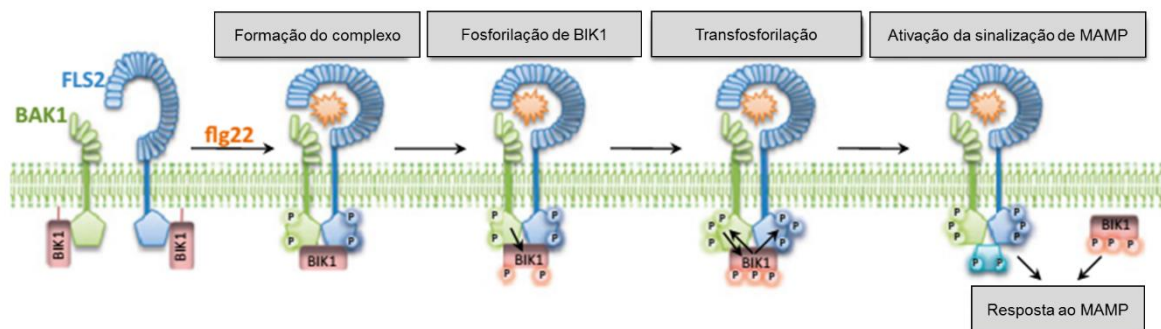


Figura 3 – Modelo da associação do complexo FLS2 / BAK1 após a ligação de Flg22. Na ausência de Flg22 (estado inativo), BIK1 associa-se com o domínio citoplasmático de FLS2 e BAK1. A ligação de Flg22 à FLS2 induz a associação entre BAK1 e FLS2 e a fosforilação destes receptores. BAK1 ativado, fosforila BIK1 que, por sua vez, transfosforila o complexo FLS2 / BAK1. O complexo FLS2 / BAK1 ativado fosforila outros substratos e outros receptores BIK1. BIK1 ativo é liberado do complexo FLS2 / BAK1 para propagar a sinalização intracelular de resposta à Flg22 (Adaptado de Lu et al., 2010).

Posteriormente ao reconhecimento de Flg22 por FLS2, e ativação do complexo FLS2 / BAK1, múltiplas respostas de defesa são ativadas, incluindo a explosão oxidativa pela produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), síntese e acúmulo de hormônios, deposição de calose e outros reforços da parede celular (Göhre e Robatzek, 2008; Dangl et al., 2013). Simultaneamente, ocorre a indução de genes relacionados à defesa, como PR1, PR5 (Gómez-Gómez et al., 1999), PAL1 e GST1 (Asai et al., 2002).

2.2.2. Imunidade inata

Após o reconhecimento de MAMPs / PAMPs por PRRs, sinais específicos são disparados através de cascatas de sinalização, resultando em reações de defesa da planta, caracterizadas como PTI - imunidade desencadeada por PAMP's (Lambais, 2001; McDowell e Dangl, 2000; Jones e Dangl, 2006; Chisholm et al.,

2006; Boller e Felix, 2009; Dangl et al., 2013; Yi et al., 2014; Kazan e Lyons, 2014) (Fig. 4). Essa primeira linha de resposta da planta, baseada no reconhecimento de PAMP's, é conhecida como imunidade inata ou basal e é responsável pela detecção e resposta primárias ao patógeno (Kaufmann et al., 2004; Boller e Felix, 2009; Kazan e Lyons, 2014). A resposta imune inata vegetal se caracteriza pela abertura de canais de íons na membrana plasmática, acidificação do citoplasma, ativação de quinases, produção de espécies reativas de oxigênio, ativação de mensageiros secundários (ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno), produção de fitoalexinas e outras fitotoxinas, lignificação de tecidos, calose e outros reforços da parede celular, ativação de fatores de transcrição e transcrição de genes de defesa (Grant e Lamb, 2006; Göhre e Robatzek, 2008; Dangl et al., 2013).

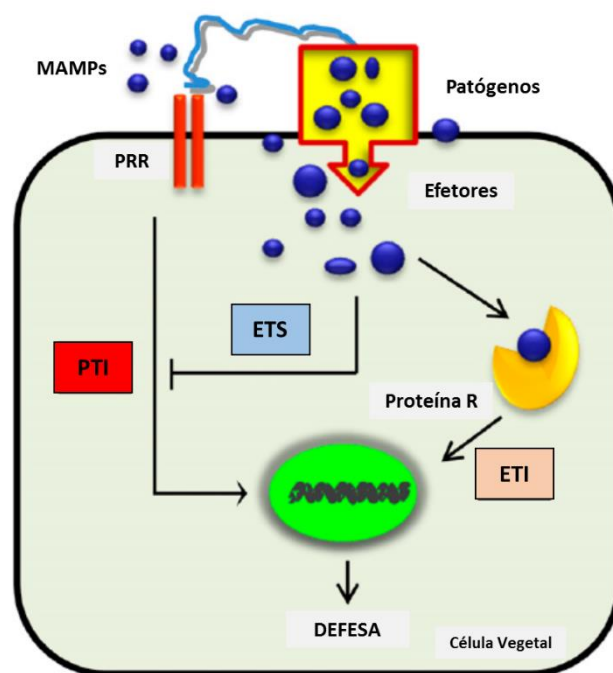


Figura 4 – Representação esquemática simplificada da resposta imune vegetal. Moléculas conservadas de micro-organismos (MAMPs / PAMPs) são detectadas por receptores PRRs localizados na membrana plasmática da célula vegetal e este reconhecimento desencadeia a PTI (imunidade desencadeada por PAMP's). Bactérias patogênicas utilizam o sistema de secreção tipo III para liberar proteínas efectoras que suprimem a resposta imune basal da célula hospedeira, acarretando a suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS). Proteínas de resistência (R) da planta reconhecem as proteínas efectoras liberadas pelo patógeno e restauram a resistência, caracterizando a imunidade desencadeada por efetores (ETI) (Adaptado de Kazan e Lyons, 2014).

Apesar das barreiras da imunidade inata em plantas, alguns micro-organismos conseguem acessar o interior do hospedeiro, subverter a defesa vegetal, estabelecer fortes níveis de colonização e causar sintomas de doença

(Chisholm et al., 2006; Göhre e Robatzek, 2008; Dodds e Rathjen, 2010). Durante a coevolução entre patógenos e suas plantas hospedeiras, estes micro-organismos desenvolveram moléculas efetoras que são injetadas dentro da célula hospedeira para suprimir a PTI e promover a virulência do patógeno, resultando em ETS - susceptibilidade desencadeada por efetores (Jones e Dangl, 2006; Chisholm et al., 2006; Xin e He, 2013; Dangl et al., 2013; Kazan e Lyons, 2014) (Fig. 4).

As proteínas efetoras são liberadas no interior da célula vegetal hospedeira pelo sistema de secreção do tipo III (T3SS) presente em algumas bactérias, como a bactéria patogênica *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 que é capaz de secretar cerca de trinta efetores durante sua infecção (Chang et al., 2005; Büttner e Bonas, 2006). Alguns destes efetores funcionam como enzimas que manipulam diversas atividades da célula hospedeira, essenciais para eficiência da resposta imune (Shan et al., 2007). Estes padrões moleculares garantem a multiplicação bacteriana e o desenvolvimento de sintomas de doença devido à sua capacidade de inibir a resposta imune vegetal (Hauck et al., 2003; Kim et al., 2005; Xin e He, 2013).

Por sua vez, as plantas adquiriram proteínas de resistência (R) que reconhecem moléculas efetoras específicas, resultando em uma resposta imune secundária, denominada imunidade desencadeada por efetores (ETI) (Chisholm et al., 2006; Bernoux et al., 2011; Kazan e Lyons, 2014; Chae et al., 2016) (Fig. 4). O reconhecimento entre estas proteínas geralmente ativa uma resposta de hipersensibilidade (HR), caracterizada pela rápida morte celular apoptótica e necrose local (Cohn et al., 2001; Pedley e Martin, 2003; Nimchuk et al., 2003; Dodds e Rathjen, 2010; Chae et al., 2016).

Em última análise, o resultado final da batalha depende do equilíbrio entre a capacidade do patógeno em suprimir o sistema imune vegetal e a capacidade da planta de reconhecer o patógeno para ativar as respostas de defesa eficazes e específicas (Pieterse et al., 2009; Pieterse et al., 2012; Dangl et al., 2013).

2.2.3. Imunidade sistêmica

Uma vez que as respostas de defesa vegetais são ativadas no local da infecção, uma resposta de defesa sistêmica é frequentemente desencadeada nas partes distais da planta para proteger os demais tecidos da invasão subsequente

pelo patógeno (Fu e Dong, 2013; Pieterse et al., 2014). Esta resistência induzida de longa duração e amplo espectro é conhecida como resistência sistêmica adquirida (SAR) e é caracterizada pela ativação coordenada de um conjunto específico de genes relacionados à patogênese (PR), muitos dos quais codificantes de proteínas com atividade antimicrobiana (Durrant e Dong, 2004; Fu e Dong, 2013). A SAR pode ser desencadeada pela PTI ou ETI e está associada ao aumento nos níveis de ácido salicílico (SA) (Mishina e Zeier, 2007; Tsuda et al., 2008; Alcázar et al., 2011). Plantas mutantes, deficientes na sinalização de SA, são incapazes de desenvolver SAR e não apresentam a ativação de genes PR após a infecção por patógenos, indicando que SA é um intermediário necessário na via de sinalização de SAR (Durrant e Dong, 2004; Luna et al., 2012).

Micro-organismos benéficos do solo, como fungos micorrízicos e rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, podem desencadear uma forma fenotipicamente similar à imunidade sistêmica adquirida, chamada imunidade sistêmica induzida (ISR) (Van Loon et al., 1998; Pozo e Azcón-Aguilar, 2007; Alcázar et al., 2011; Pieterse et al., 2014). A indução de resistência sistêmica (ISR) por micro-organismos benéficos presentes no solo aumenta a capacidade de defesa da planta. A ISR prepara o sistema imunológico vegetal para uma ativação acelerada da defesa, caso seja necessária. Por exemplo, a indução de ISR em *A. thaliana* pela rizobactéria promotora do crescimento vegetal *Pseudomonas fluorescens* WCS417 confere resistência contra um amplo espectro de patógenos (Van der Ent et al., 2009) e insetos (Pineda et al., 2010). Quando em contato com as raízes, WCS417 é capaz de suprimir a resposta imune desencadeada por flagelina através da secreção de moléculas de baixo peso molecular (Millet et al., 2010). Embora a imunidade vegetal seja suprimida localmente, uma cascata de sinalização é iniciada sistematicamente, conferindo resistência sistêmica à planta (Van der Ent et al., 2009). Em contraste com a SAR dependente de SA, a ISR desencadeada por micro-organismos benéficos é normalmente regulada por vias de sinalização dependentes de ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) (Conrath et al., 2006; Pozo et al., 2008; Van Wees et al., 2008; Pieterse et al., 2012).

2.2.4. Fitormônios e a regulação do sistema imune vegetal

Fitormônios são pequenas moléculas que ocorrem em baixas concentrações nas plantas e atuam como moléculas sinalizadoras, sendo essenciais para o metabolismo vegetal (Taiz e Zeiger, 2009). Embora os fitormônios clássicos sejam ácido abscísico (ABA), auxinas, citocininas, giberelinas e ET, pequenas moléculas sinalizadoras como brassinosteróides, JA, SA e estrigolactonas também são reconhecidos como hormônios vegetais (Taiz e Zeiger, 2009; Pieterse et al., 2012).

Além de exercerem um papel central no metabolismo vegetal, os hormônios desempenham funções chaves na regulação das respostas a estresses bióticos e abióticos. Em resposta à interação com patógenos, insetos herbívoros e microorganismos benéficos, ocorrem alterações na síntese, concentração ou sensibilidade hormonais, acionando uma série de respostas adaptativas nas plantas (Grant e Jones, 2009; Verhage et al., 2010; Pieterse et al., 2012).

Patógenos com estilo de vida biotrófico são geralmente sensíveis a respostas de defesa reguladas por SA, enquanto patógenos necrotróficos são controlados por respostas de defesa desencadeadas por JA e ET (Thomma et al., 2001; Glazebrook, 2005). A resposta de defesa contra insetos herbívoros é, em analogia com patógenos necrotróficos, geralmente regulada por JA (Howe, 2004; Pieterse et al., 2012). A importância de SA, JA e ET como sinais primários dominantes, formando o eixo principal na sinalização da resposta de defesa vegetal, já está bem descrita na literatura (Pozo et al., 2004; Howe, 2004; Van Loon et al., 2006; Loake e Grant, 2007; Von Dahl e Baldwin, 2007; Bari e Jones, 2009; Verhage et al., 2010; Pieterse et al., 2012; Pieterse et al., 2014; Kazan e Lyons, 2014; Yan e Dong, 2014). Trabalhos realizados com tomate e *A. thaliana* demonstraram que as vias de SA e JA são fortemente antagônicas e que as vias de sinalização de JAs e ET atuam de forma sinérgica (Penninckx et al., 1998; Denancé et al., 2013).

Entretanto, nos últimos anos descobriu-se que ABA (Asselbergh et al., 2008; Ton et al., 2009; Cao et al., 2011), auxinas (Wang et al., 2007; Kazan e Manners, 2009; Lee et al., 2011), giberelinas (Navarro et al., 2008; De Vleeschauwer et al., 2012), citocininas (Walters e McRoberts, 2006; Siemens et al., 2006; Choi et al., 2011) e brassinosteróides (Shan et al., 2007; De Vleeschauwer et al., 2012)

também atuam regulando a resposta imune (Bari e Jones 2009; Verhage et al., 2010) (Fig. 5).

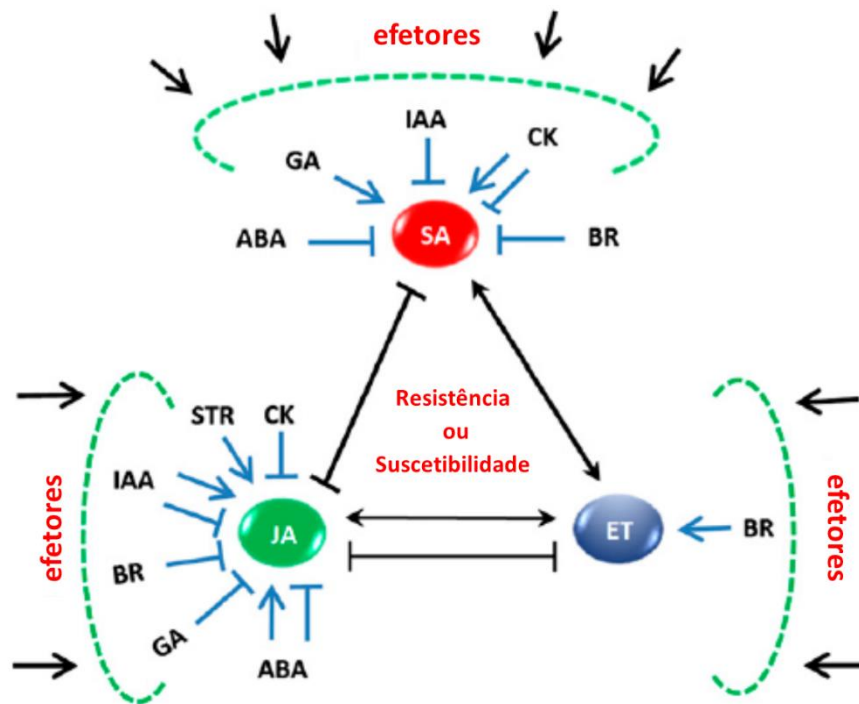


Figura 5 – Interação entre as vias de sinalização de fitormônios durante a regulação da defesa vegetal. As vias de sinalização de ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) representam o eixo principal da defesa vegetal e os outros hormônios (auxina-IAA, citocinina-CK, brassinosteróide-BR, giberelina-GA, ácido abscísico-ABA, estrigolactona-STR) integram essa sinalização. Patógenos têm desenvolvido estratégias, através de seu repertório de moléculas efetoras, para interferir em vias de sinalização hormonal tornando as plantas suscetíveis ao seu ataque (Adaptado de Kazan e Lyons, 2014).

Estudos atribuem diversos papéis a estes hormônios durante a regulação da resposta imune vegetal. Por exemplo, utilizando *A. thaliana* como modelo de estudo demonstrou-se que: (1) ABA pode ser um antagonista da defesa dependente de SA; (2) as auxinas estão envolvidas com a suscetibilidade a *P. syringae* e afetam a síntese de JA; (3) as giberelinas regulam a degradação de proteínas *DELLA*, responsáveis pela susceptibilidade a patógenos biotróficos e resistência a patógenos necrotróficos, por meio da modulação entre a sinalização de SA e JA. Citocininas e brassinoesteróides também estariam envolvidos nos mecanismos de defesa vegetal embora tais processos ainda não estejam totalmente esclarecidos (Navarro et al., 2008; Pieterse et al., 2009; Pieterse et al., 2012; Denancé et al., 2013; Kazan e Lyons, 2014).

O envolvimento de tantos reguladores de crescimento na imunidade vegetal demonstra que o controle do desenvolvimento e da defesa vegetal está

interconectado em uma complexa rede de sinalização hormonal. O grande potencial de regulação desta rede permite que as plantas se adaptem rapidamente a mudanças em seu meio ambiente e utilizem seus recursos de maneira mais eficiente (Pieterse et al., 2009). Após o ataque de um patógeno, por exemplo, a composição e concentração de fitormônios produzidos por uma planta variam de acordo com o estilo de vida e a estratégia de infecção do micro-organismo (Bari e Jones, 2009; Kazan e Lyons, 2014). Esta especificidade resulta na ativação de um conjunto específico de genes relacionados com a defesa que irão determinar a natureza e a eficácia da resposta imunológica desencadeada pelo micro-organismo invasor (De Vos et al., 2005).

Por outro lado, muitos micro-organismos também produzem fitormônios ou substâncias análogas para gerar um desbalanço hormonal e conseqüentemente manipular o sistema de defesa vegetal. Esse é um dos mecanismos usados por alguns patógenos para conferir virulência e causar doença (Pieterse et al., 2009). Um exemplo dessa estratégia é a infecção de *A. thaliana* por *P. syringae* que, ao injetar seus fatores de virulência, suprime a defesa vegetal principalmente por alterar a regulação hormonal de ABA e auxinas, permitindo assim o desenvolvimento da doença (de Torres-Zabala et al., 2007). Adicionalmente, muitas bactérias desenvolveram moléculas efetoras capazes de interferir em vias de sinalização hormonal dos vegetais, gerando um desbalanço hormonal que propicia a suscetibilidade do hospedeiro (Kazan e Lyons, 2014).

2.3. Estudo da imunidade em raízes

A microbiota vegetal se associa, predominantemente, ao sistema radicular, onde se deposita mais de 40% do carbono fixado fotossinteticamente pela planta, tornando a zona em torno das raízes um dos habitats mais ricos em energia da Terra (Bais et al., 2006; Pieterse et al., 2014). A quantidade e a diversidade de micro-organismos que interagem com as raízes vegetais é imensa. Estima-se que dezenas de milhares de espécies de micro-organismos associam-se às raízes das plantas, representando o maior reservatório de diversidade de espécies conhecidas até o momento (Berendsen et al., 2012). No entanto, apesar do fato de que as raízes são os órgãos mais sujeitos a interações microbianas, muito pouco se sabe

sobre a resposta imune de raízes durante tais interações (Singh et al., 2004; Millet et al., 2010; De Coninck et al., 2015).

Embora os mecanismos de reconhecimento de MAMPs por PRRs e a subsequente ativação da resposta de defesa vegetal sejam extensivamente estudados em folhas de diferentes espécies vegetais (Gómez-Gómez e Boller, 2000; Boller e Felix, 2009; Schwessinger e Ronald, 2012; Rosli et al., 2013; Robatzek et al., 2007; Takai et al., 2008), mecanismos equivalentes são mal compreendidos e pouco estudados em raízes (Millet et al., 2010; Wyrsh et al., 2015; De Coninck et al., 2015). Controversamente, a raiz é o órgão da planta que interage com a maior quantidade de micro-organismos presentes no solo, necessitando de uma resposta rápida e eficaz para prevenir a infecção dos seus tecidos (Berendsen et al., 2012).

Entre os poucos trabalhos utilizando raízes como objeto de estudo, Badri e colaboradores (2008) analisaram o efeito da aplicação exógena de SA e metil-jasmonato (MeJA) sobre a resposta de defesa de raízes de *A. thaliana* utilizando uma combinação de abordagens bioquímicas e moleculares. Os autores observaram alterações na expressão de genes envolvidos na sinalização de defesa em raízes e encontraram diferenças significativas entre os perfis de expressão de genes em raízes e folhas. Os autores sugerem que estas diferenças possivelmente estão correlacionadas com a natureza subterrânea das raízes e sua exposição substancialmente maior a micro-organismos (Badri et al., 2008).

Millet e colaboradores (2010) mostraram que a via de ET, mas não SA ou JA, desempenha um papel crucial na resposta desencadeada por Flg22 em raízes de *A. thaliana*, enquanto que, em folhas, SA é conhecido por desempenhar esse papel (Millet et al., 2010). Similarmente, estudos realizados em milho demonstraram que os mecanismos de defesa variam entre os diferentes órgãos da planta e que a resposta imune vegetal é tecido-específica nesta espécie. Nestes estudos, as raízes responderam mais rapidamente e acumularam níveis mais altos de hormônios relacionados com a defesa que folhas. Adicionalmente, perfis metabolômicos revelaram significativas diferenças na composição de metabólitos secundários em folhas e raízes, além de níveis radiculares mais elevados de flavonoides antimicrobianos, sugerindo um estado defensivo mais aprimorado em raízes (Balmer et al., 2013).

Juntos, tais trabalhos sugerem que a resposta de defesa nas raízes não pode ser extrapolada a partir dos dados caracterizados em folhas. Visto que as raízes são órgãos fundamentais para a interação entre plantas e micro-organismos e diante da lacuna de conhecimento sobre a imunidade desencadeada por patógenos e eliciadores especificamente nestes órgãos, torna-se crucial elucidar os seus mecanismos de defesa a fim de compreender toda a complexidade do sistema imune vegetal.

2.4. *Arabidopsis thaliana*: planta modelo para estudo do sistema imune vegetal

A. thaliana tem sido utilizada como sistema modelo para esclarecimento de aspectos fundamentais concernentes ao desenvolvimento vegetal (Meinke et al., 1998). Ao longo dos anos, a maior parte das pesquisas realizadas com o objetivo de esclarecer os mecanismos envolvidos na interação entre moléculas associadas a micro-organismos e seus receptores presentes na superfície celular têm utilizado *A. thaliana* como modelo de estudo (Meyerowitz e Somerville, 1994; Ryan et al., 2007).

A disponibilidade de uma ampla base de conhecimento sobre *A. thaliana* e as ferramentas de pesquisa desenvolvidas permitem sua utilização em estudos de bioquímica, fisiologia, genética, entre outros, sendo de fundamental importância para a compreensão das bases moleculares que governam a resposta de defesa vegetal.

A. thaliana é um membro da família da mostarda (*Cruciferae* ou *Brassicaceae*), cuja distribuição natural ocorre na Europa, Ásia e América do Norte. Muitos ecótipos diferentes têm sido coletados a partir de populações naturais e bem avaliados para fins de análise experimental. O ecótipo Columbia (COL-0) é amplamente empregado para estudos genéticos e moleculares. *A. thaliana* é atualmente a planta vascular mais bem estudada, possuindo o genoma inteiramente sequenciado possibilitando o uso de muitas ferramentas moleculares sendo, portanto, considerada uma planta modelo para estudos genéticos. Além do rápido ciclo de vida, apresenta pequeno porte, genoma pequeno com poucas sequências repetitivas de DNA, fácil manuseio e alta susceptibilidade a

Agrobacterium tumefaciens, propiciando bons índices de transformação e inserção de transgenes (Estelle e Somerville, 1986).

Diversas linhagens transgênicas de *A. thaliana* estão disponíveis para estudos e investigações dos processos metabólicos, bioquímicos e moleculares vegetais. Adicionalmente, genes repórteres, como GUS e GFP, podem ser inseridos em construções de transgenes e, posteriormente sua atividade detectada no interior celular. A atividade GUS é uma ferramenta importante para a análise de transformação de plantas, bem como para a detecção e compreensão da regulação gênica (Jefferson et al., 1987).

Além das linhagens transgênicas, estão disponíveis centenas de mutantes de *A. thaliana*, possibilitando o estudo da função de diferentes genes e a compreensão da integração de seus produtos protéicos ao metabolismo celular. Mutações em genes relacionados às vias de produção e percepção de hormônios e em genes que codificam receptores de reconhecimento de MAMPs têm auxiliado na compreensão da participação destas moléculas na ativação e regulação da resposta imune vegetal.

2.5. Proteômica

Os constantes avanços da área genômica estrutural e funcional nas últimas décadas permitiram a análise transcriptômica em larga escala de diversos organismos, em variadas situações. No âmbito da caracterização da resposta de defesa vegetal, as análises de transcriptomas por microarray e RNA-Seq (Navarro et al., 2004; Zipfel et al., 2004; Rosli et al., 2013) são as abordagens moleculares mais utilizadas. Recentemente, a análise proteômica vem despontando como uma ferramenta promissora para o estudo de sistemas biológicos, incluindo os mecanismos de defesa de plantas contra micro-organismos (Quirino et al., 2010). As análises proteômicas fornecem informações adicionais às análises transcriptômicas, visto que os perfis de transcritos nem sempre se refletem no correspondente acúmulo de proteínas, devido aos mecanismos celulares regulatórios pós-transcricionais (Jones et al., 2004; Mehta et al., 2008; Song et al., 2016). Somado a isto, trabalhos recentes têm demonstrado a existência de mRNAs móveis em plantas (Calderwood et al., 2016; Thieme et al., 2015), indicando que os produtos da transcrição de um tecido podem impactar no proteoma de outros

órgãos vegetais. Neste sentido, a caracterização do perfil de proteínas reguladas durante a resposta imune, somada às análises transcriptômicas, tem permitido uma maior compreensão da complexa resposta de defesa vegetal.

A proteômica pode ser definida como a caracterização do conjunto de proteínas presentes em uma unidade biológica (organismo, órgão, tecido, célula ou organela) em um determinado momento específico. Diferente do genoma, o proteoma é dinâmico, pois ele depende do estágio de desenvolvimento vegetal e da influência de condições ambientais, como estresses bióticos e abióticos (Jorrín et al., 2006).

Nos últimos anos, as análises proteômicas em larga escala vindo sendo utilizadas na caracterização da resposta de plantas e/ou tecidos vegetais a diversas condições experimentais (Jorrín-Novo et al., 2015). Esse aumento significativo de estudos na área proteômica deve-se principalmente à evolução das técnicas de espectrometria de massas (MS) e ao surgimento de novas tecnologias proteômicas que tornaram possível a identificação de centenas de proteínas em um único experimento, abrindo novas perspectivas na biologia vegetal, com ênfase aos estudos de variabilidade genética e estresses ambientais.

No âmbito da resposta de plantas a estresses, diversas proteínas tem sido identificadas durante a interação de plantas e patógenos utilizando abordagens proteômicas baseadas na análise de proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs), assim como em suas anotações funcionais (Mathesius et al., 2003; Canovas et al., 2004; Mehta et al., 2008; Quirino et al., 2010; Song et al., 2016).

Antes mesmo do aprimoramento das novas técnicas de proteômica, análises das proteínas reguladas durante a interação de plantas e patógenos através de eletroforese em gel bidimensional (2-DE) forneceram importantes contribuições nos estudos da resposta de defesa vegetal. As alterações no proteoma de folhas de *A. thaliana* durante a infecção por *P. syringae* DC3000, detectadas por análises em 2-DE, permitiram diferenciar os proteomas característicos da resistência basal e da resistência mediada por proteínas R (Jones et al., 2004).

Os estudos na área proteômica também permitiram elucidar aspectos concernentes às diferentes etapas da resposta de defesa vegetal. Em geral, a primeira etapa após o reconhecimento de eliciadores, como a flagelina, pelas células vegetais é o desencadeamento de uma cascata de transdução de sinais, regulada pela fosforilação de proteínas. Uma importante contribuição para a

compreensão desta primeira fase de resposta, é oriundo de análises proteômicas, que permitiram identificar proteínas diferencialmente fosforiladas na via de sinalização e resposta em células de *A. thaliana* tratadas com Flg22 (Xing et al., 2002; Benschop et al., 2007). Outra etapa importante da defesa vegetal, é a liberação de proteínas efetoras bacterianas através do sistema de secreção tipo III, almejando a supressão da resposta imune basal da célula hospedeira. Análises proteômicas demonstraram um dos modos de ação de proteínas efetoras da bactéria patogênica *P. syringae*, através da alteração do proteoma extracelular da planta hospedeira *A. thaliana* (Kaffarnik et al., 2009).

A análise proteômica da resposta de *A. thaliana* à infecção com o fungo patogênico *Alternaria brassicicola*, identificou diversas proteínas cuja abundância foi alterada nas folhas infectadas, incluindo proteínas relacionadas à patogênese, como a PR4 e membros da família GST (Mukherjee et al., 2010). Similarmente, análises proteômicas sugeriram alterações funcionais amplas em folhas de plantas de batata infectadas com *Phytophthora infestans* (Lim et al., 2013). Também em folhas de plantas de batata, estudos proteômicos forneceram informações sobre as alterações do conjunto de proteínas entre um genótipo resistente e um suscetível à *P. syringae* DC3000, além de informações sobre as mudanças proteômicas iniciais e tardias durante a infecção patogênica (Parker et al., 2013).

Baseado no crescente número de trabalhos e na grande contribuição das análises proteômicas, pode-se afirmar que esta técnica é de fundamental importância na expansão da gama de informações biológicas, permitindo compreender mais claramente aspectos fundamentais da biologia vegetal, como a interação entre plantas e micro-organismos.

3 - OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar e comparar a regulação da resposta imune desencadeada por flagelina em folhas, raízes e pontas de raízes de *Arabidopsis thaliana*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a expressão de genes marcadores da resposta imune em folhas, raízes e pontas de raízes de plântulas transgênicas de *A. thaliana*, em resposta ao tratamento com o eliciador da resposta imune flagelina (Flg22);
- Analisar a deposição de calose induzida pelo tratamento com Flg22 em folhas, raízes e pontas de raízes de plântulas de *A. thaliana* do ecótipo selvagem COL-0;
- Identificar e quantificar através de análises proteômicas “shotgun”, as proteínas diferencialmente acumuladas em folhas, raízes e pontas de raízes após o tratamento com Flg22;
- Identificar as principais vias reguladas por flagelina em folhas, raízes e pontas de raízes de plantas de *A. thaliana*.

4 – MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal e condições de crescimento

Sementes de *Arabidopsis thaliana* do ecótipo selvagem Columbia (COL-0) e das linhagens transgênicas *CYP71A12*_{pro:GUS} e *WRKY11*_{pro:GUS} (contendo o gene repórter GUS) foram submetidas à desinfestação superficial mediante imersão em etanol 95% por 2 min e em hipoclorito de sódio 2,5% por 10 min, seguida de 6 lavagens em água ultra-pura estéril. As sementes permaneceram imersas em água durante 48h, sob temperatura de 4°C, no escuro. Após este período, as sementes germinaram em placas de 6 poços, contendo 6-8 sementes por poço (para os ensaios de GUS e calose) ou em placas de Petri contendo 30 sementes por placa (para os ensaios de proteômica), em meio líquido basal Murashige e Skoog (MS) (Phytotechnology Lab, Overland Park, KS, USA) meia força, contendo 1 g.L⁻¹ de MES e 10 g.L⁻¹ de sacarose, com pH 5.7 (Tabela 1). As plântulas germinaram e foram mantidas durante 12 dias em câmara de crescimento, sob temperatura de 22°C, irradiância de 120 μmol fótons m⁻².s⁻¹ durante 12 h por dia. O meio de cultura foi substituído no sexto dia para evitar acúmulo de sais nas placas.

Tabela 1 – Composição do meio MS (Murashige e Skoog 1962).

MEIO	COMPOSIÇÃO	
MS (Murashige e Skoog, 1962)	Macronutrientes KNO ₃ 18,80 mM NH ₄ NO ₃ 41,20 mM MgSO ₄ .7H ₂ O 1,5 mM KH ₂ PO ₄ 1,25 mM CaCl ₂ .2H ₂ O 3 mM FeSO ₄ .7H ₂ O 0,1 mM Na ₂ .EDTA 0,2 mM	Micronutrientes MnSO ₄ .H ₂ O 100 μM ZnSO ₄ .7H ₂ O 30 μM H ₃ BO ₃ 100 μM KI 5 μM Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O 1 μM CoCl ₂ .6H ₂ O 0,1 μM CuSO ₄ .5H ₂ O 0,1 μM
	Vitaminas Ácido nicotínico 0,5 mg.L ⁻¹ Piridoxina 0,5 mg.L ⁻¹ Tiamina 0,1 mg.L ⁻¹ Glicina 2 mg.L ⁻¹	Sacarose 10 g.L ⁻¹ MES 1 g.L ⁻¹

4.2. Tratamento das plântulas de *A.thaliana* com Flg22

Após 12 dias de crescimento das plântulas nas condições descritas acima, o meio MS foi retirado das placas e substituído por meio MS fresco suplementado com o peptídeo Flg22, o qual foi sintetizado de acordo com a sequência publicada (Felix et al., 1999). As plântulas inteiras permaneceram completamente imersas neste meio contendo Flg22, nas concentrações de 0,1 μ M (para os ensaios de GUS e proteômica) ou 1 μ M (para os ensaios de calose) (Millet et al., 2010). O tratamento com Flg22 foi mantido por 24h para todas as análises, exceto para o ensaio de GUS com o transgênico *WRKY11*, cujo tempo de tratamento foi de 3h. As plântulas controles foram mantidas em meio MS durante o mesmo período de tempo.

4.3. Ensaio histoquímico da atividade GUS

As plântulas das linhagens transgênicas, após o tratamento com Flg22, foram imersas em solução de substrato GUS contendo 100 mM de tampão fosfato de sódio pH 7, 10 mM de EDTA, 0,1% de Triton X-100, 1 mM de $K_3Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ e 2 mM de X-GLUC, e mantidas a 37 °C overnight. Após este período, os tecidos foram fixados com uma solução de etanol:ácido acético (3:1) a 4°C overnight e, posteriormente, transferidos para etanol 95%. Os tecidos foram clareados em ácido láctico 50% e observados em um microscópio óptico invertido (Axio Observer A1, Zeiss), em aumento de 10X.

4.4. Detecção do acúmulo de calose

As plântulas previamente tratadas com Flg22, foram clareadas em solução de hipoclorito de sódio 2% durante 60 min, lavadas três vezes em solução tampão de K_2HPO_4 150 mM (pH 9,5) e coradas com solução de Azul de Anilina 0,05% por 1h (Benitez-Alfonso et al., 2009). As amostras foram montadas em lâminas e a calose foi observada utilizando um microscópio de fluorescência (Axiovert 135, Zeiss) com filtro LP (excitação, 450-480 nm, emissão, 510-550 nm).

4.5. Análise proteômica

4.5.1. Extração de proteínas

Para a análise proteômica, foram utilizadas 300 plântulas de *A. thaliana* COL-0 por amostra (controles e tratadas com Flg22). Parte aérea, região intermediária das raízes (doravante denominada como “raiz”) e a ponta da raiz principal (aproximadamente 0,3 cm) foram seccionadas com o auxílio de uma lâmina de bisturi e coletadas separadamente. As amostras de folhas e raízes foram maceradas separadamente em nitrogênio líquido utilizando almofariz e pistilo e alíquotas de 300 mg de cada tecido pulverizado foram utilizadas para a extração. As pontas das raízes de cada amostra (total de 300 plântulas), totalizando aproximadamente 150 mg de tecido, foram maceradas em tubos de 1,5 mL usando pistilo e usadas para extração de proteínas. Notavelmente, a ponta da raiz é um tecido pouco abundante, justificando o uso de 300 plântulas por amostra para obter uma quantidade suficiente de tecido para realizar a extração de proteínas.

As proteínas totais foram extraídas seguindo a metodologia descrita por (Damerval et al., 1986). O tampão de extração consistiu em TCA 10% em acetona com 20mM de Dithiothreitol (DTT). Em microtubos, 1 mL do tampão de extração foi adicionado às amostras de folhas, raízes e pontas de raízes. As amostras foram vortexadas e incubadas a -20°C por 60 min, seguidas por uma etapa de centrifugação a 20.000 g por 30 min a 4°C. Os sobrenadantes foram descartados e os pellets foram lavados três vezes em acetona com 20 mM de DTT. Em seguida, os pellets foram ressuspensos em 500µL de tampão contendo 7 M Uréia, 2 M Tiouréia, 2% Triton X-100, 1% DTT, 1 mM Fluoreto de fenilmetanossulfonilo (PMSF) e 5 µM Pepstatina. As amostras foram vortexadas e incubadas em gelo por 30 min, seguidas por uma etapa de centrifugação a 16.000 g por 20 min a 4°C. Os sobrenadantes foram coletados e a concentração de proteínas foi mensurada utilizando o 2-D Quant Kit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA). Após definidas as concentrações das amostras, alíquotas contendo o equivalente a 100µg de proteínas foram utilizadas nas etapas seguintes (Luge et al., 2014; Heringer et al., 2015).

4.5.2. Digestão de proteínas

As alíquotas das amostras foram dessalinizadas em membranas 5000 MWCO Vivaspin 500 (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) utilizando bicarbonato de amônio (Sigma-Aldrich) 50 mM pH 8.5 como tampão. As membranas contendo as amostras foram preenchidas até a capacidade máxima com bicarbonato de amônio e centrifugadas a 15.000 g por 20 min a 8°C. Este procedimento foi repetido ao menos três vezes, resultando em aproximadamente 50 µL por amostra.

A metodologia utilizada para digestão das proteínas foi a descrita anteriormente por Calderan-Rodrigues et al., 2014. Deste modo, foram adicionados 25 µL de RapiGest® (Waters, Milford, CT, EUA) 0,2% (v/v) às amostras, que foram então brevemente vortexadas e incubadas em um Eppendorf Thermomixer® a 80°C durante 15 min. Em seguida, adicionou-se 2,5 µL de DTT 100 mM (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA) e os tubos foram vortexados e incubados a 60°C durante 30 min sob agitação. Posteriormente, foi adicionado 2,5 µL de iodoacetamida (GE Healthcare) 300 mM, e as amostras foram vortexadas e depois incubadas no escuro durante 30 min à temperatura ambiente. A digestão foi realizada pela adição de 20 µL de solução de tripsina (50 ng/µL, V5111, Promega, Madison, WI, EUA), preparada em bicarbonato de amônio 50 mM, e as amostras foram incubadas a 37°C overnight. Em seguida, para a precipitação do RapiGest®, adicionou-se 10 µL de ácido trifluoroacético (TFA) (Sigma-Aldrich) 5% (v/v) e incubou-se as amostras a 37°C por 90 min, seguida por uma etapa de centrifugação de 30 min a 16.000 g. As amostras foram transferidas para tubos "Total Recovery Vials" (Waters).

4.5.3. Análise de espectrometria de massas

Um UPLC (ultraperformance liquid chromatograph) nanoAcquity conectado a um espectrômetro de massas Synapt G2-Si HDMS (Waters, Manchester, UK) foi utilizado para análise de ESI-LC-MS/MS (electrospray ionization-liquid chromatography-tandem mass spectrometry). A etapa de cromatografia foi realizada pela injeção de 1 µL das amostras digeridas para normalizá-las antes da quantificação relativa de proteínas. A normalização entre as amostras foi baseada em medições estequiométricas da contagem total de íons (TIC) da corrida gerada,

a fim de assegurar valores molares padronizados para todas as condições, utilizando o ProteinLynx Global SERVER (PLGS) (Waters) contra o banco de dados do TAIR10 (<http://www.arabidopsis.org>), que contém 35.386 acessos (TAIR10_per_20101214; tamanho do arquivo: 20.006 KB). Após a normalização, os volumes de injeção foram ajustados para assegurar que quantidades iguais de proteínas fossem injetadas para cada amostra. Subsequentemente, as corridas consistiram de três repetições de cada *pool* de amostra.

Para a separação, as amostras foram carregadas no UPLC nanoAcquity 5 μm através da coluna trap C18 (180 μm x 20 mm) a 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ durante 3 minutos e, em seguida, no nanoAcquity por uma coluna analítica de fase reversa HSS T3 1,8 μm (75 μm x 150 mm), a 350 nL/min, com a temperatura da coluna a 60°C. Para a eluição dos peptídeos, utilizou-se um gradiente binário que consistiu na fase móvel A composta de água (Tedia, Fairfield, Ohio, EUA) e ácido fórmico 0,1% (Sigma-Aldrich), e a fase móvel B composta de acetonitrila (Sigma-Aldrich) e ácido fórmico 0,1 %. O gradiente de eluição iniciou-se com 7% de B durante 3 min, depois aumentou gradualmente de 7% a 40% de B até 90,09 minutos e entre 40% e 85% de B até 94,09 min, mantendo-se a 85% até 98,09 min, diminuindo depois para 7% de B até 100,09 min e mantidos a 7% de B constantemente até o fim em 108,09 min. A espectrometria de massas foi realizada em modo positivo e de resolução (modo V), 35.000 FWHM (full width at half maximum), com mobilidade iônica e em modo de aquisição independente de dados (DIA). A velocidade de onda IMS (ion-mobility spectrometry) foi ajustada para 600 m/s; a energia de colisão de transferência aumentou de 19v para 45v em modo de alta energia; as voltagens de cone e de capilares foram de 30v e 2.800v, respectivamente; e a temperatura da fonte foi de 70°C. Em parâmetros TOF (time-of-flight), o tempo de varredura foi ajustado para 0,5 s em modo contínuo, com um intervalo de massa de 50 a 2.000 Da. [Glu1]-fibrinopeptide B (Sigma-Aldrich) humano a 100 fmol/ μL foi utilizado como um calibrador externo (Reis et al., 2016). Em todas as corridas a contagem total de íons (TIC) não foi adquirida durante os 10 minutos iniciais e 18 minutos finais para limpar os contaminantes e estabilizar o sistema.

4.5.4. Análises de bioinformática

O processamento de espectros e as condições de pesquisa em bases de dados foram estabelecidas utilizando o *Progenesis QI for Proteomics Software V.2.0* (Nonlinear Dynamics, Newcastle, UK). As plataformas do software Progenesis usaram o algoritmo Apex3D (Waters Corporation), no qual os dados foram processados usando um limiar de baixa energia de 150 contagens, um limiar de elevada energia de 50 contagens e um limiar de intensidade de 750 contagens. As análises utilizaram os seguintes parâmetros: uma clivagem dispensada, 2 fragmentos mínimos de íons por peptídeo, 5 fragmentos mínimos de íons por proteína, 2 peptídeos mínimos por proteína, modificações fixadas de carbamidomethyl (C) e modificações variáveis de oxidação (M) e de fosforilo (STY), máxima taxa de detecção falsa (FDR) padrão de 4%, e erros de massa máxima de 10 ppm. Para todos os fragmentos identificados, foi realizada uma análise de *peptide score*. Os valores de *peptide score* variaram entre 0,1 e 10 e apenas foram considerados peptídeos com uma pontuação superior a 5. As análises utilizaram a base de dados do TAIR10. As análises quantitativas relativas *label-free* foram realizadas pela razão da contagem de íons das proteínas entre amostras contrastantes. As proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) foram selecionadas com base no max fold de pelo menos 1,5 e $p < 0,05$ (teste ANOVA). A anotação funcional foi realizada utilizando os programas Blast2Go v3.0 PRO (Conesa et al., 2005) e MapMan v3.6.0RC1 (Thimm et al., 2004). A análise de agrupamento hierárquico e a visualização de heatmaps foram realizadas usando o programa R versão 3.3.1 (<http://www.r-project.org/>) na função heatmap2. Os valores de fold change transformados em \log_2 , das proteínas selecionadas apenas com base em $p < 0,05$ (ANOVA) foram utilizados nas análises de MapMan e agrupamento hierárquico e na visualização dos heatmaps. As análises de enriquecimento GO foram realizadas utilizando o programa AgriGO, e as análises de redes de interação foram realizadas usando o algoritmo STRING v.10.0. Para ambas as análises, apenas as proteínas que foram reguladas em raízes (ANOVA $p < 0,05$) foram consideradas.

5 – RESULTADOS

5.1. Flg22 regula a defesa de maneira tecido-específica em *A. thaliana*

Para confirmar a ativação da defesa vegetal pelo tratamento com Flg22 e a especificidade da resposta nos diferentes tecidos, foram conduzidos ensaios histoquímicos da atividade GUS e de detecção do acúmulo de calose em folhas, raízes e pontas de raízes de *A. thaliana*.

Linhagens transgênicas de *A. thaliana* contendo construções *promoter:GUS* para dois genes (*CYP71A12* e *WRKY11*), identificados como induzidos por Flg22 (Denoux et al., 2008) foram utilizadas nos ensaios histoquímicos. O gene *CYP71A12* codifica um citocromo P450 que participa da via de biossíntese da camalexina, a principal fitoalexina de *A. thaliana* envolvida na defesa contra uma vasta gama de patógenos (Møldrup et al., 2013). *WRKY11* é um fator de transcrição que atua como um regulador negativo da resistência basal em *A. thaliana* (Journot-Catalino et al., 2006).

A expressão dos genes repórteres GUS foi avaliada nas folhas, nas raízes e nas pontas das raízes principais de pelo menos 20 plantas de 12 dias, após tratamento com 0.1 μ M de Flg22. O gene *CYP71A12* foi induzido apenas na região das pontas das raízes, não sendo observada sua expressão nas folhas e nas demais regiões das raízes (Fig. 6). Nas plantas contendo a construção *WRKY11_{pro}:GUS* detectou-se que Flg22 induz o aumento da expressão do gene marcador nas folhas, quando comparada ao controle. O mesmo ocorre nas pontas das raízes, onde pode ser observada a indução do gene *WRKY11* após o tratamento com Flg22. Em contrapartida, não foi observado aumento da expressão deste gene nas demais partes das raízes (Fig. 6). Portanto, Flg22 regula genes marcadores da defesa de maneira distinta nos diferentes tecidos vegetais.

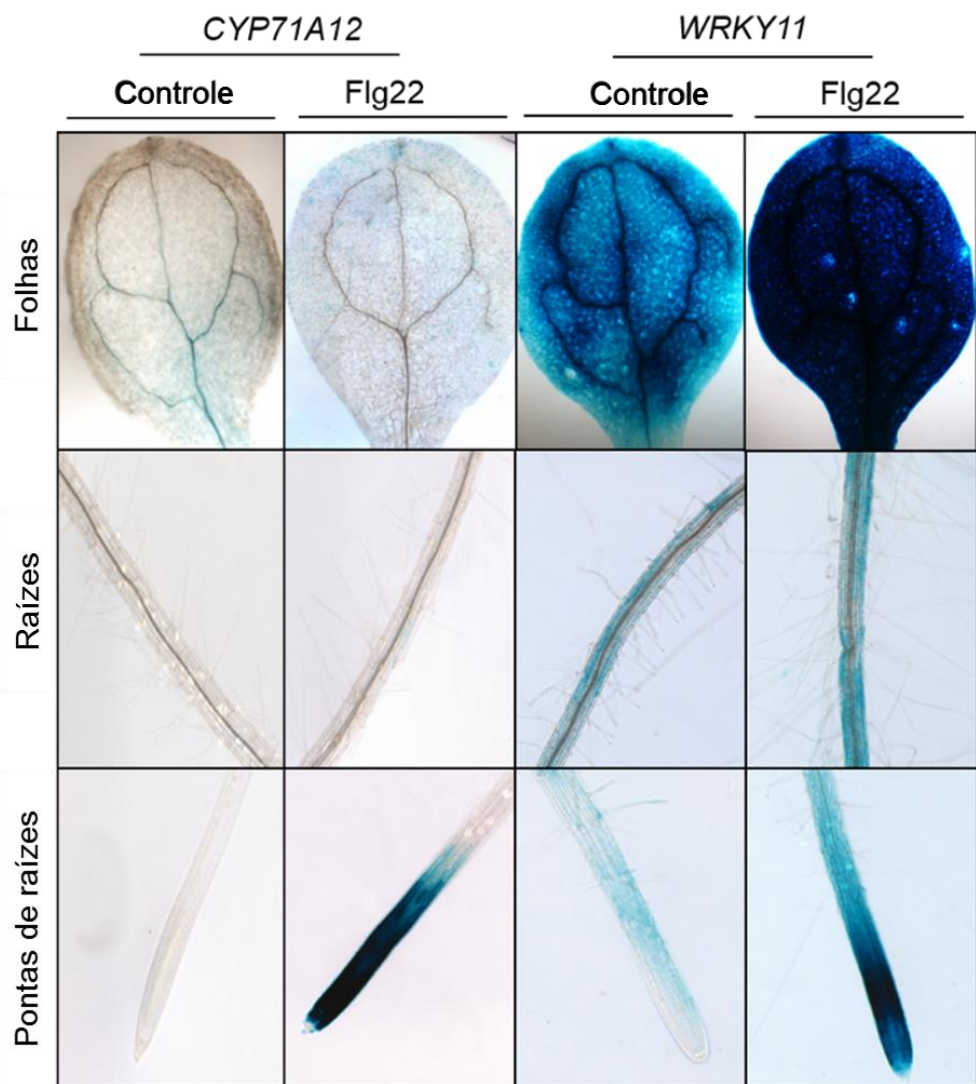


Figura 6 – Flg22 induz expressão tecido-específica de genes marcadores da defesa em *A. thaliana*. Plântulas transgênicas de *A.thaliana* contendo as construções *CYP71A12*_{pro}:GUS e *WRKY11*_{pro}:GUS controles e tratadas com 0.1 μ M de Flg22 por 3h (*WRKY11*) ou 24h (*CYP71A12*). As plantas foram coradas para GUS e fotografadas em microscópio óptico (aumento de 10x).

Plântulas do ecótipo COL-0 de *A.thaliana* cultivadas em meio líquido por 12 dias foram tratadas com 1 μ M de Flg22 por um período de 24h e, em seguida, coradas com solução de azul de anilina para serem observadas ao microscópio de fluorescência. Como esperado, um forte acúmulo de calose foi observado nas folhas (Fig. 7B). Nas pontas das raízes, a calose acumulou-se especificamente na zona de alongamento (Fig. 7F). Ao longo das outras regiões de raiz, nenhuma deposição de calose foi ativada pelo tratamento com Flg22 (Fig. 7D). Logo, a deposição de calose é induzida diferencialmente em *A. thaliana*, dependendo do órgão/tecido da planta.

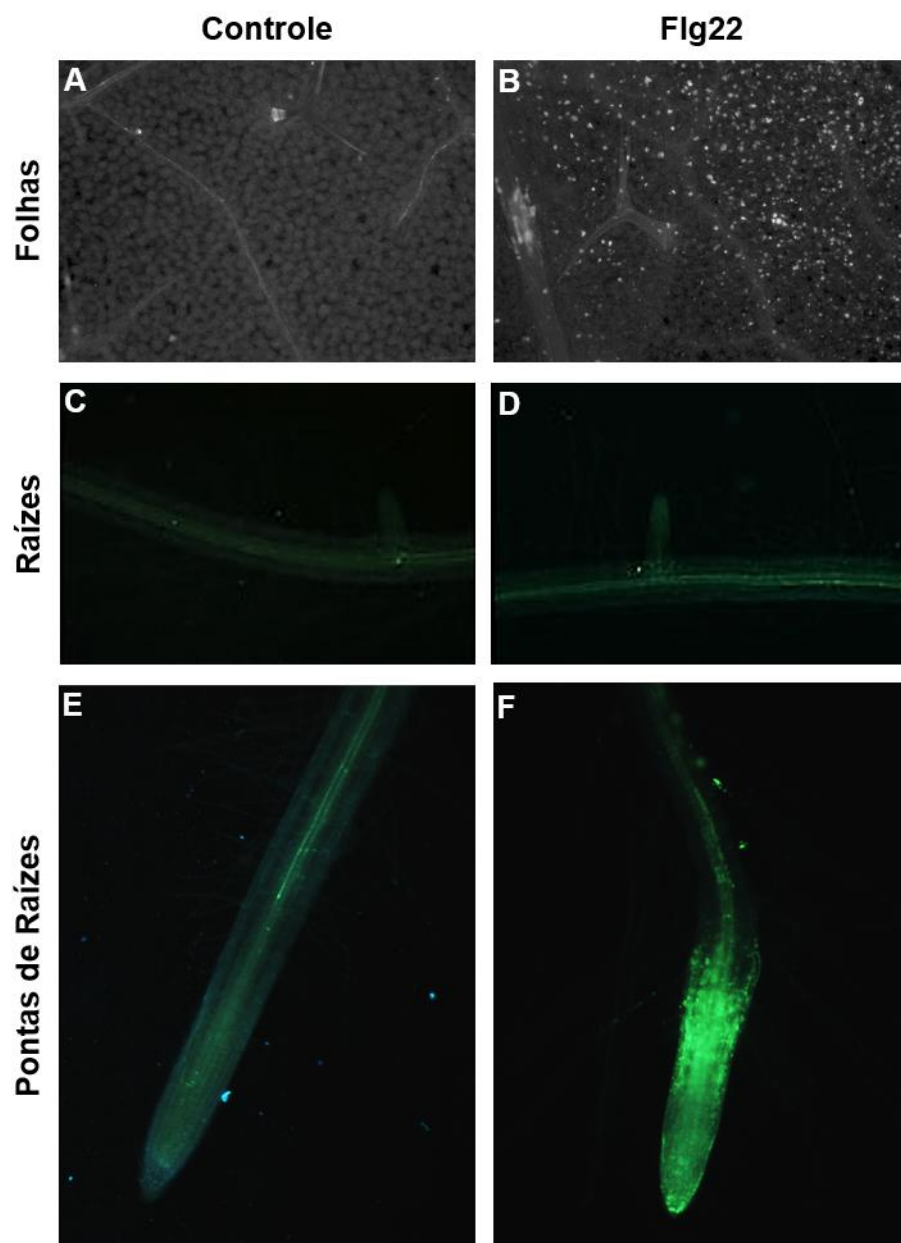


Figura 7 – Indução tecido-específica da deposição de calose por Flg22 em *A. thaliana*. Folhas (A, B), raízes (C, D) e pontas de raízes (E, F) de plântulas de *A. thaliana* controles e tratadas com 1 μ M de Flg22 durante 24h. As plântulas foram coradas com azul de anilina e fotografadas em microscópio de fluorescência (aumento de 10x).

5.2. Análises de dados proteômicos revelam perfis específicos de proteínas em resposta à Flg22 em folhas, raízes e pontas de raízes

Para avaliar as proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) em resposta à Flg22 em *A. thaliana*, foram realizadas análises proteômicas quantitativas *label-*

free em folhas, raízes e pontas de raízes. Amostras de plântulas tratadas com 0,1 μ M de Flg22 durante 24 h, foram comparadas com amostras de plântulas controles.

Com base nas sequências peptídicas de referência de *A. thaliana* na base de dados do TAIR10, um total de 1131, 798 e 1042 proteínas foram identificadas, respectivamente, nas amostras de folhas, raízes e pontas de raízes.

A análise dos dados de folhas revelou que do total de 1131 proteínas, a ANOVA ($p \leq 0,05$) identificou 191 DAPs em resposta ao tratamento com Flg22, sendo 131 induzidas e 60 reprimidas (Fig. 8A, Apêndice A) em relação à respectiva amostra controle. Em raízes, entre as 798 proteínas totais, 109 DAPs foram identificadas em resposta ao tratamento com Flg22, entre as quais 64 foram induzidas e 45 reprimidas (Figura 8A; Apêndice B). Nas pontas de raízes, entre as 1042 proteínas totais, 146 DAPs foram identificadas em resposta ao tratamento com Flg22, sendo 96 induzidas e 50 reprimidas em relação ao respectivo controle (Figura 8A; Apêndice C).

Os perfis de proteínas em resposta à Flg22 em folhas, raízes e pontas de raízes, foram comparados por análise de heatmap. A Figura 8B mostra que perfis de grupos protéicos diferentes são afetados por Flg22 em cada região da planta, indicando a tecido-especificidade da resposta. Os conjuntos de DAPs dos 3 tecidos foram também analisados pelo diagrama de Venn (Fig. 8C e D). Entre as 291 proteínas induzidas nos 3 tecidos, apenas 6 proteínas foram induzidas simultaneamente em folhas e raízes, 10 em folhas e pontas de raízes e 2 em raízes e pontas de raízes (Fig. 8C). Quando foi analisado o conjunto de proteínas reprimidas em resposta à Flg22 em relação às suas respectivas amostras controles, observou-se também uma baixa sobreposição entre os tecidos, sendo apenas 3 proteínas simultaneamente reprimidas entre folhas e raízes, 1 proteína entre folhas e pontas das raízes e nenhuma proteína simultaneamente reprimida entre raízes e pontas de raízes (Fig. 8D). Não foi observada nenhuma proteína diferencialmente acumulada simultaneamente nos três tecidos após tratamento com Flg22 (Fig. 8C e D).

Nossas análises permitiram observar diferenças nos perfis protéicos de folhas, raízes e pontas de raízes em resposta à Flg22, destacando-se a tecido-especificidade da resposta.

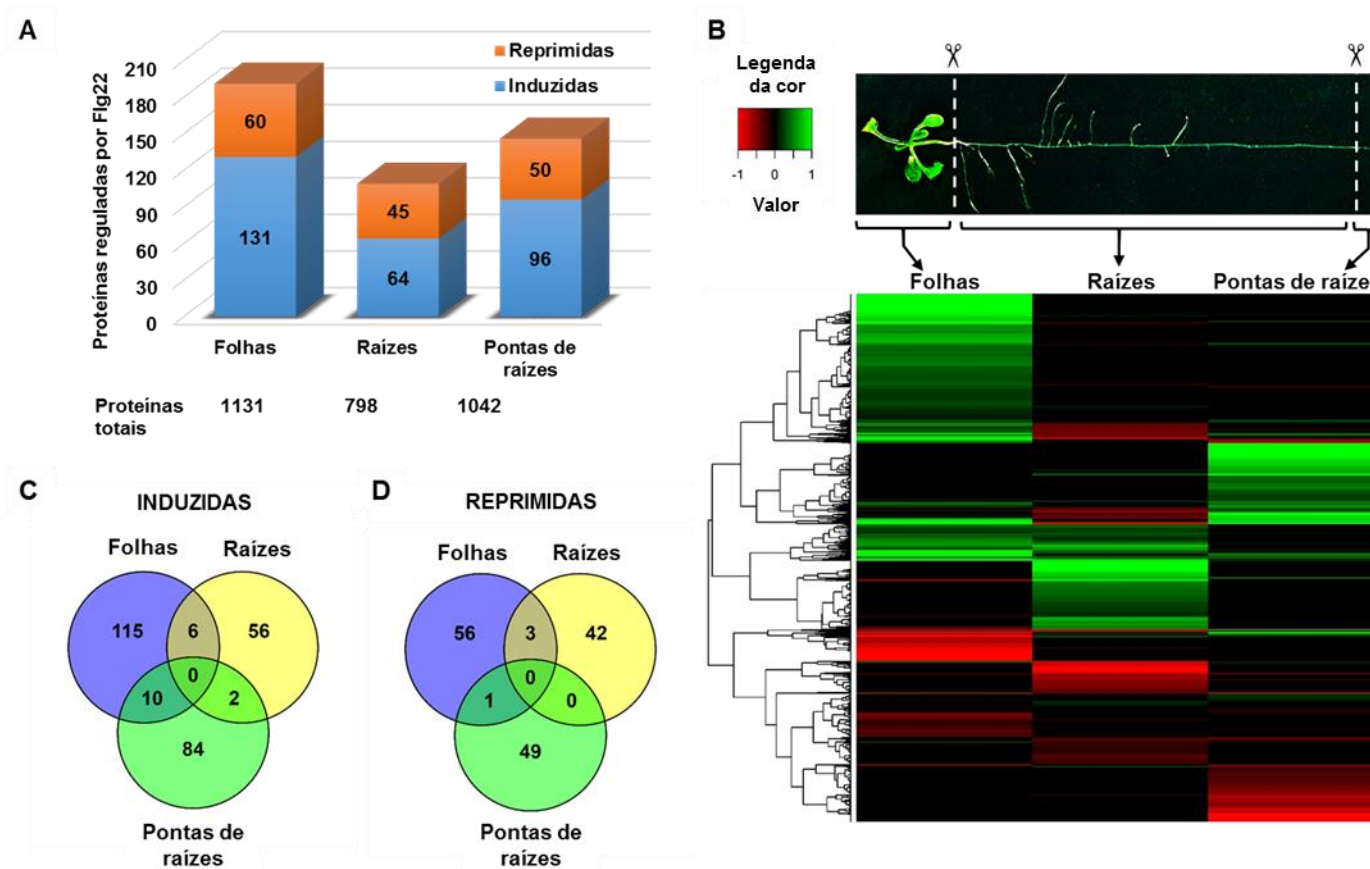


Figura 8 – Número total de proteínas identificadas e variação no perfil proteico em folhas, raízes e pontas de raízes tratadas com Flg22. Proteínas identificadas em diferentes tecidos de plântulas de 12 dias de *A.thaliana* COL-0 tratadas com 0.1 μ M de Flg22 por 24h. **(A)** Número de DAPs induzidas (azul) e reprimidas (laranja) em folhas, raízes e pontas de raízes de *A. thaliana*. Número total de proteínas identificadas em cada amostra é apresentado na parte inferior do gráfico. **(B)** Agrupamento hierárquico e heat map das proteínas identificadas em folhas, raízes e pontas de raízes após tratamento com Flg22. DAPs induzidas são indicadas em verde e reprimidas em vermelho. **(C)** e **(D)** Diagramas de Venn representando o número de DAPs únicas e co-expressas entre as classificadas como induzidas **(C)** e reprimidas **(D)** em folhas, raízes e pontas de raízes após tratamento com Flg22.

5.3. Classificação funcional das DAPs

Com a finalidade de identificar os principais processos biológicos regulados pelo tratamento com Flg22 em cada tecido, as DAPs identificadas foram submetidas a classificação funcional baseada em ontologia de genes utilizando o software Blast2GO (Fig. 9). A anotação funcional das proteínas foi realizada dividindo-se as DAPs de cada tecido em dois grupos (DAPs induzidas e reprimidas).

As proteínas foram agrupadas em vários processos biológicos, como processos celulares, processos metabólicos, regulação biológica, resposta à estímulos, processos de sistema imune, localização e biogênese. Entre estes, processos de sistema imune e resposta à estímulos merecem atenção especial no âmbito deste trabalho. Nas folhas, 3% das DAPs induzidas foram classificadas como envolvidas em processos de sistema imune. Curiosamente, esta categoria de processo biológico foi identificada apenas nas folhas. Neste tecido, 17% das DAPs induzidas estão envolvidas na resposta à estímulos, em contraste com 12% de DAPs reprimidas nesta mesma categoria (Fig. 9A). As análises das pontas das raízes seguem o mesmo padrão observado nas folhas, com uma taxa maior de DAPs induzidas classificadas na categoria de resposta à estímulos (17%) do que as DAPs reprimidas (7%) (Fig. 9C). Em contraste, nos tecidos de raízes, 13% das DAPs induzidas foram classificadas na categoria de resposta à estímulos, em comparação com 16% de DAPs reprimidas nesta categoria (Fig. 9B).

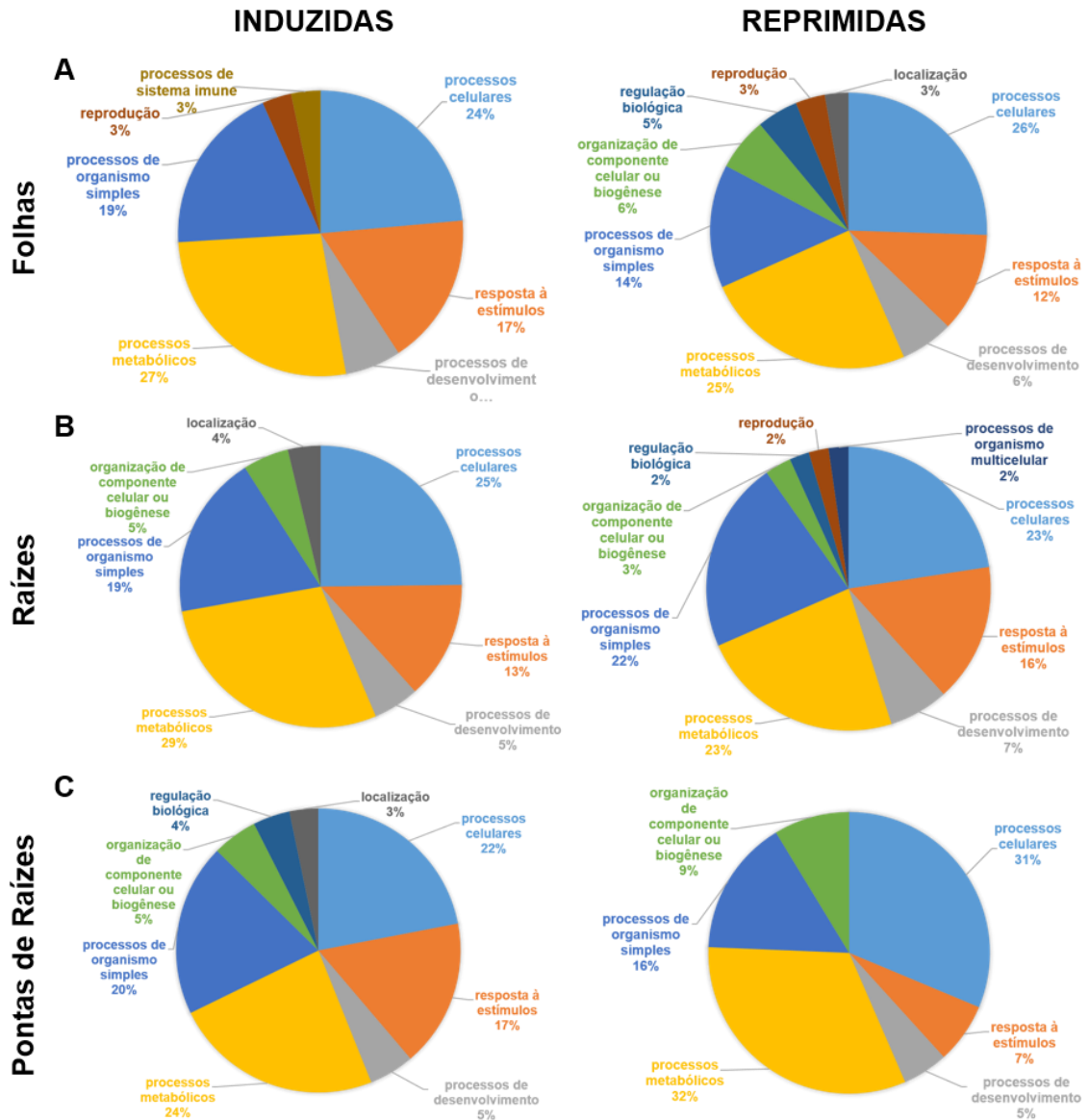


Figura 9 – Classificação funcional das proteínas diferencialmente reguladas nos diferentes tecidos de *A. thaliana* após tratamento com Flg22. Anotação funcional das DAPs classificadas como induzidas e reprimidas em folhas (A), raízes(B) e pontas de raízes (C) de plântulas de 12 dias de *A. thaliana* COL-0 tratadas com 0.1 μM de Flg22 durante 24 h.

5.4. Proteínas relacionadas à defesa reguladas por Flg22 nos diferentes tecidos

O padrão de expressão das proteínas identificadas nos diferentes tecidos foi analisado utilizando o programa Mapman na categoria “biotic stress” para mapear as proteínas envolvidas na resposta de defesa vegetal (Fig. 10).

Um total de 169, 156 e 123 proteínas foram atribuídas a estresses bióticos em folhas, raízes e pontas de raízes, respectivamente, estando associadas principalmente à sinalização hormonal, parede celular, proteólise, estado redox, sinalização, metabólitos secundários e proteínas de choque térmico.

A comparação geral entre as análises obtidas pelo MapMan de folhas (Fig. 10A), raízes (Fig. 10B) e pontas de raízes (Fig. 10C) permite observar os perfis de proteínas relacionadas à defesa em cada órgão. Nas folhas, várias peroxidases e glutathione-S-transferases (GSTs) foram induzidas, bem como proteínas relacionadas à sinalização, estado redox, metabólitos secundários, proteólise, proteínas de choque térmico e estresse abiótico. Em contraste, as raízes mostraram repressão para a maioria das proteínas pertencentes a estas mesmas classes, destacando as fortes diferenças na resposta de defesa entre folhas e raízes. Em pontas de raízes, proteínas relacionadas à sinalização, GSTs, estado redox e estresse abiótico foram induzidas, enquanto peroxidases e proteínas relacionadas à parede celular foram reprimidas.

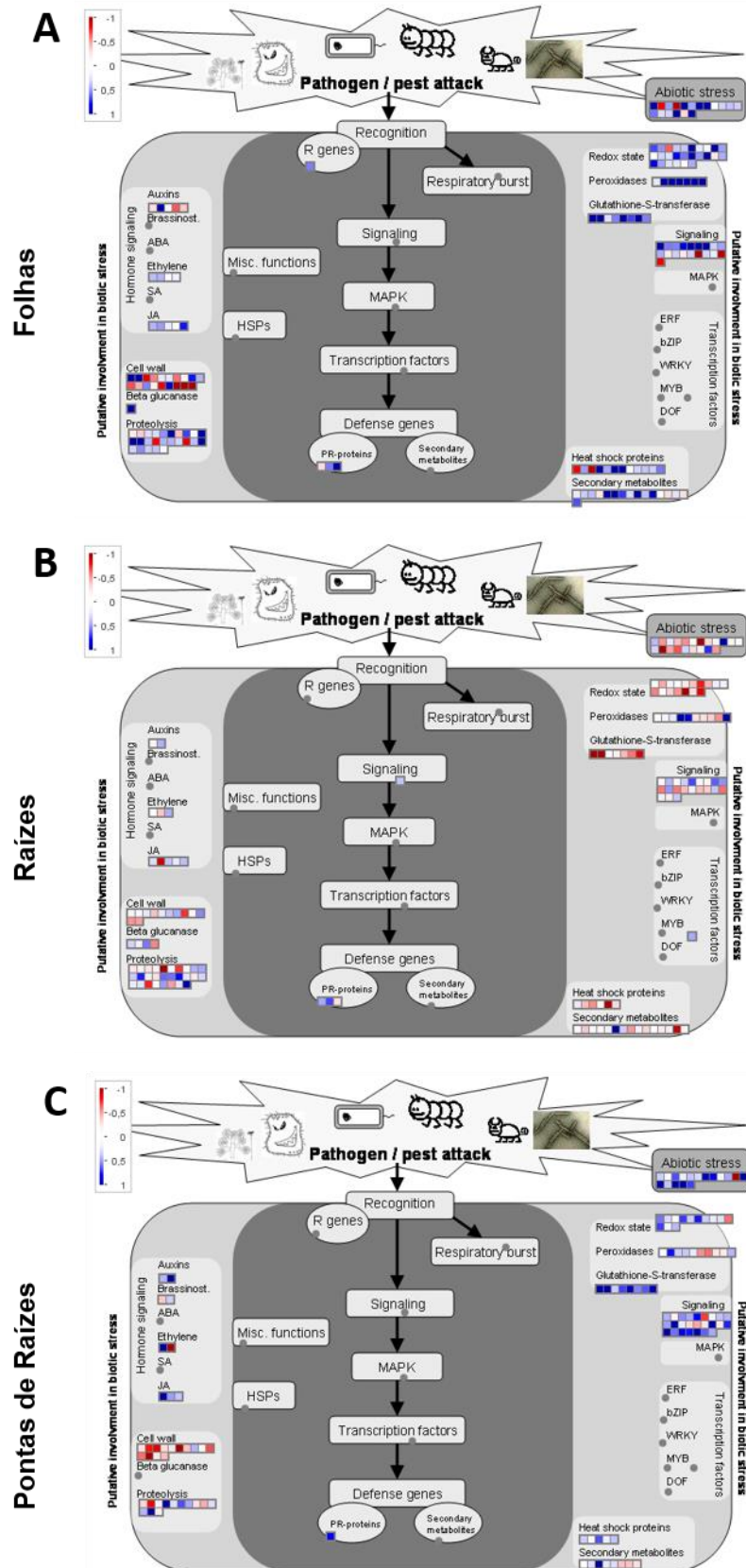


Figura 10 – Análise do software Mapman das proteínas reguladas por Flg22 envolvidas na resposta a estresses bióticos em *A. thaliana*. Identificação de proteínas relacionadas à estresses bióticos em folhas (A), raízes (B) e pontas de raízes (C) de plântulas de *A. thaliana* Col-0 de 12 dias tratadas com 0,1 μ M de Flg22 durante 24h. Proteínas induzidas são indicadas em azul e reprimidas em vermelho. Círculos cinzas indicam ausência de proteínas anotadas nestas categorias.

O comportamento contrastante das vias que mantêm o equilíbrio redox, revelado pelas análises de MapMan, foi avaliado em detalhe utilizando a visualização por heatmaps destas DAPs. Conforme ilustrado na Fig. 11A, o grupo de proteínas GSTs mostrou respostas à Flg22 contrastantes em folhas e raízes. Entre as 10 GSTs identificadas em resposta à Flg22 em folhas, raízes e pontas de raízes, 8 foram induzidas em folhas. Em contraste, a maioria destas proteínas foram reprimidas em raízes, com ênfase em GST1 (AT1G02930), GSTF2 (AT4G02520), GSTF3 (AT2G02930), GSTF7 (AT1G02920), GSTF9 (AT2G30860) e GSTF10 (AT2G30870). Em pontas de raízes, as respostas destas GSTs à Flg22 foram semelhantes às observadas em folhas, com a maioria destas proteínas induzidas na presença de Flg22.

De modo semelhante, várias classes de proteínas envolvidas na manutenção do balanço redox, tais como o fator de nucleação de microtúbulos (TPX2; AT1G65970), ascorbato peroxidase 1 (APX1; AT1G07890), tioredoxina 3 (TRX3; AT5G42980), peroxiredoxina IIE (PRXIIIE; AT3G52960), fator de ancoramento de microtúbulo 1 (MSD1; AT3G10920), monodeidroascorbato-reductase 6 (MDAR6; AT1G63940), proteína dissulfureto-isomerase-1-2 (PDIL1-2; AT1G77510), glutaciona peroxidase 6 (GPX6; AT4G11600), glutaciona sintase 2 (GSH2; AT5G27380) e MDAR2 (AT5G03630) foram induzidas por Flg22 em folhas, mas reprimidas ou não reguladas em raízes.

A classe das peroxidases também se comportou de maneira diferente entre os tecidos, onde proteínas distintas dentro desta classe foram reguladas por Flg22 em cada tecido (Fig. 11A). Entre as 18 peroxidases identificadas como DAPs, apenas PRX71 (AT5G64120) e PRX34 (AT3G49120) foram reguladas de forma semelhante por Flg22 em folhas e raízes. Os níveis de outras peroxidases variaram entre os tecidos. Nas folhas, Flg22 induziu várias peroxidases, com ênfase em PRX37 (AT4G08770), PRX71 (AT5G64120), PRX34 (AT3G49120), PRX52 (AT5G05340) e peroxidases putativas (AT5G39580 e AT4G36430). Nas raízes, os níveis de PRX71 (AT5G64120), PRX34 (AT3G49120), PRX33 (AT3G49110), precursor de peroxidase 27 (PER27; AT3G01190), PER22 (AT2G38380) aumentaram, enquanto que os níveis de PRX37 (AT4G08770), PER57 (AT5G17820) e peroxidases putativas (AT4G30170 e AT5G64100) foram reduzidos. Em conjunto, os resultados mostrando a acumulação diferencial de GSTs, peroxidases e outras proteínas envolvidas em vias que mantêm o equilíbrio

redox, indicam que tais vias são reprimidas em raízes em resposta à Flg22, em contraste com a ativação destas vias em folhas.

Várias outras proteínas associadas aos mecanismos de defesa vegetal também foram reguladas de forma contrastante entre folhas e raízes tratadas com Flg22, como mostrado na Fig. 11B. Entre estas proteínas destacam-se a subunidade 26S reguladora da protease (RPT5A; AT3G05530), a β -1,3-endoglucanase (AT4G16260), a proteína de choque térmico 70 (HSP70; AT3G12580), a HSP70-1 (AT5G02500) e a xiloglucano endotransglucosilase/hidrolase 18 (XTH18; AT4G30280), que foram induzidas em folhas em resposta ao tratamento com Flg22, mas foram reprimidas em raízes. Inversamente, os níveis de fator de regulação do crescimento 8 (GRF8; AT5G65430), o receptor HDEL (ERD2; AT1G56410) e a proteína 14-3-3-like (GF14PHI; AT1G35160) diminuíram em folhas, mas aumentaram ou foram semelhantes aos níveis do controle em raízes. Estes dados destacam que embora a resposta à Flg22 seja forte em raízes, esta resposta é claramente diferente da observada em folhas. Além disso, a análise global dos dados de heatmap (Fig. 11A e 11B) mostra que a maioria das proteínas conhecidas por serem induzidas por Flg22 em folhas, foram reprimidas ou não reguladas em raízes.

A

Grupo	Proteína	Acesso TAIR	Folhas	Raízes	Pontas de Raízes
Estado Redox	TPX2	AT1G65970	High	High	Low
	APX1, CS1, MEE6	AT1G07890	High	High	Low
	TRX3, TH3, TRXH3	AT5G42980	High	High	Low
	PRXIIIE	AT3G52960	High	High	Low
	MSD1, MEE33	AT3G10920	High	High	Low
	MDAR6	AT1G63940	High	High	Low
	CAT2	AT4G35090	High	High	Low
	PDIL1-2, PDI6	AT1G77510	High	High	Low
	NTRA, NTR2	AT2G17420	High	High	Low
	GRXC2	AT5G40370	High	High	Low
	DHAR2	AT1G75270	High	High	Low
	GPX6, PHGPX, LSC803	AT4G11600	High	High	Low
	MP2, MAPR3, MSBP2	AT3G48890	High	High	Low
	GPX2	AT2G31570	High	High	Low
	RML1, PAD2, GSH1, CAD2, ECS1, GSHA	AT4G23100	High	High	Low
	B5-A, B5 #2, CB5-E	AT5G53560	High	High	Low
	PRXIIIF	AT3G06050	High	High	Low
	GSH2, GSHB	AT5G27380	High	High	Low
	MDAR2	AT5G03630	High	High	Low
	Ferredoxin thioredoxin reductase family protein	AT2G04700	High	High	Low
	TPX1	AT1G65980	High	High	Low
	PDIL1-1, PDI5	AT1G21750	High	High	Low
	SAPX	AT4G08390	High	High	Low
	PDIL2-1, UNE5, MEE30, PDH1	AT2G47470	High	High	Low
	MAPR2	AT2G24940	High	High	Low
	NTRB, NTR1	AT4G35460	High	High	Low
	GRX4	AT3G15660	High	High	Low
	PDIL1-4, PDI2	AT5G60640	High	High	Low
	FSD1	AT4G25100	High	High	Low
	PDIL5-1	AT1G07960	High	High	Low
	ZOG-Fe(II) oxygenase Family protein	AT3G19010	High	High	Low
	2CPA	AT3G11630	High	High	Low
	CAT3, SEN2	AT1G20620	High	High	Low
	GME	AT5G28840	High	High	Low
CAT1	AT1G20630	High	High	Low	
TRX5, H5, LIV1	AT1G45145	High	High	Low	
MDHAR, MDAR3	AT3G09940	High	High	Low	
PDIL1-3, PDI1	AT3G54960	High	High	Low	
Glutathione S-transferases	GSTF7, GSTF8, GSTI1	AT1G02920	High	High	Low
	GST1, ERD11, GSTF3, GSTF6	AT1G02930	High	High	Low
	GSTF2, PM24 1, PM24, GST2	AT4G02520	High	High	Low
	GSTF10, ERD13, GSTF4	AT2G30870	High	High	Low
	GSTF9, GLUTTR, GSTF7	AT2G30860	High	High	Low
	GSTF3, GSTI6	AT2G02930	High	High	Low
	GSTU19, GST8	AT1G78380	High	High	Low
	GSTF5, GSTF8, GSTI6	AT2G47730	High	High	Low
	In2-1 protein putative	AT5G02790	High	High	Low
	GSTU13, GSTI2	AT1G27130	High	High	Low
Peroxidases	PRX37	AT4G08770	High	High	Low
	PRX71	AT5G64120	High	High	Low
	PRX34, PERX34, PRXCB, PCB	AT3G49120	High	High	Low
	PER22, P22, PRXEA	AT2G38380	High	High	Low
	Peroxidase putative	AT5G64100	High	High	Low
	PER57, P57, PRXR10	AT5G17820	High	High	Low
	Peroxidase putative	AT4G30170	High	High	Low
	PRX52	AT5G05340	High	High	Low
	Peroxidase putative	AT5G39580	High	High	Low
	Peroxidase putative	AT4G36430	High	High	Low
	PER12, P12, PRXR6	AT1G71695	High	High	Low
	PRX33, PRXCA, PCA	AT3G49110	High	High	Low
	PER27, P27, PRX7	AT3G01190	High	High	Low
	Peroxidase putative	AT2G38390	High	High	Low
	PER32, P32, PRXR3	AT3G32980	High	High	Low
	Peroxidase putative	AT4G11290	High	High	Low
Peroxidase putative	AT1G05240	High	High	Low	
Peroxidase putative	AT4G26010	High	High	Low	

B

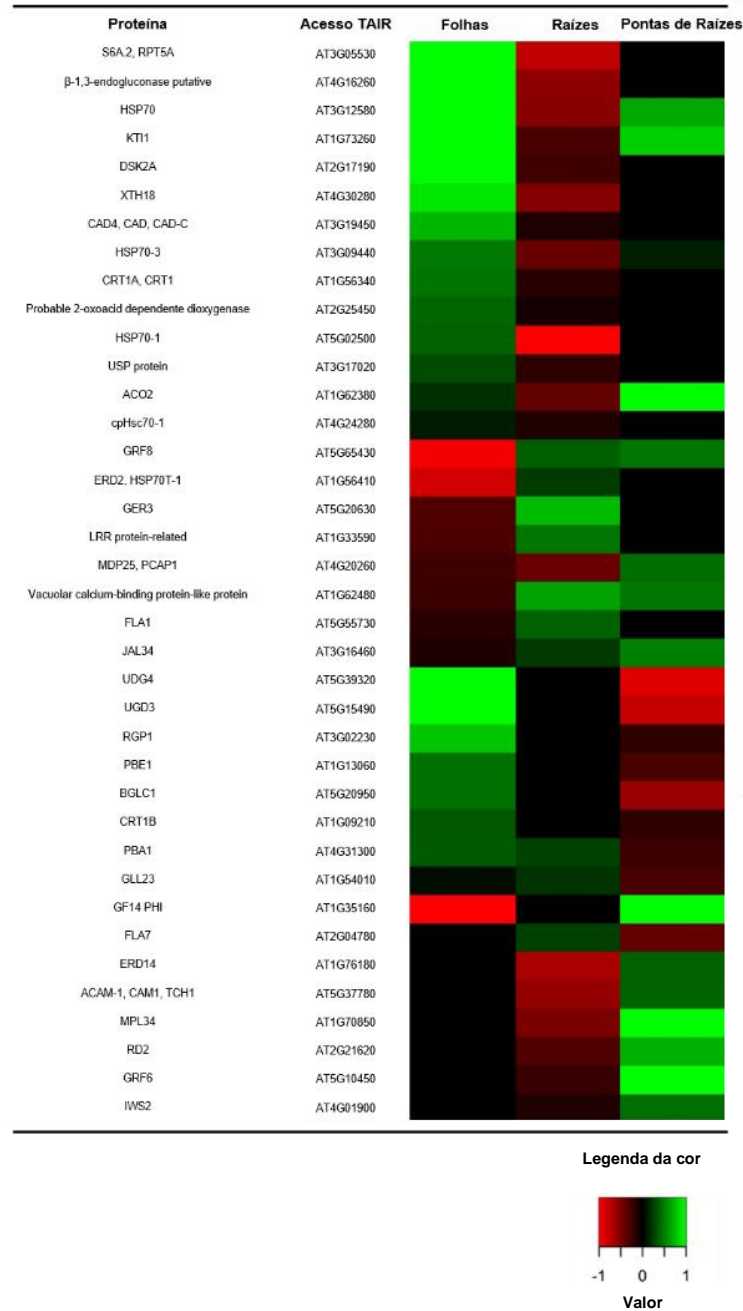


Figura 11 – Heatmaps representando o perfil de proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) em diferentes tecidos de *Arabidopsis thaliana* após tratamento com Flg22, envolvidas com estresses bióticos. (A) DAPs (ANOVA $p < 0,05$) envolvidas nas vias relacionadas à manutenção do balanço redox. (B) DAPs contrastantes (ANOVA $p < 0,05$) entre folhas e raízes associadas a outros mecanismos de defesa vegetal. Proteínas induzidas são indicadas em verde e proteínas reprimidas são indicadas em vermelho.

5.5. Proteínas não descritas como relacionadas à defesa reguladas por Flg22 em raízes

A maioria das proteínas relacionadas à defesa de plantas induzidas por Flg22 em folhas, foram reprimidas ou não reguladas em raízes. No entanto, várias outras proteínas que foram reguladas por Flg22 em raízes não foram associadas com a resposta a estresses bióticos de acordo com o software MapMan, sugerindo a existência de várias vias não caracterizadas que regulam a resposta à Flg22 em raízes. A Tabela 2 mostra as 10 DAPs mais induzidas e as 10 DAPs mais reprimidas nas raízes em resposta ao tratamento com Flg22, não caracterizadas como proteínas relacionadas à defesa.

Tabela 2 - Proteínas induzidas e reprimidas em raízes não classificadas pelo Mapman como envolvidas com estresses bióticos.

Acesso	Max Fold Change	Nome da Proteína	Descrição
INDUZIDAS			
AT4G20020	3,2267	MORF1, Multiple Organellar RNA Editing Factor 1	Codifica uma proteína necessária para o processamento de numerosos locais de edição de RNA em mitocôndrias.
AT5G61030	2,9849	Glycine-rich RNA-binding protein 3, GR-RBP3, ORRM3, RBGA7, RNA-binding glycine-rich protein A7	Codifica uma proteína de ligação à RNA rica em glicina que está envolvida na modificação de RNAm mitocondrial.
AT5G09530	2,5981	PELPK1, PRO-GLU-LEU ILE VAL-PRO-LYS 1, Proline-rich protein 10, PRP10	Codifica uma proteína única que contém 36 repetições de um único pentapeptídeo (Pro-Glu-Leu Ile Val-Pro-Lys). Está envolvida no crescimento e desenvolvimento (desenvolvimento pós-embrionário). Reguladora positiva da germinação em <i>Arabidopsis thaliana</i> .
AT3G25850	2,5064	Cysteine/Histidine-rich C1 domain family protein	Proteína desconhecida.
AT2G35120	2,3869	Glycine cleavage system H protein 2, mitochondrial	Superfamília de proteínas de motivo único híbrido. Envolvida no processo catabólico da glicina.
AT1G64200	2,3668	Vacuolar H ⁺ -ATPase subunit E isoform 3, VHA-E3	Funções na atividade de ATPase transportadora de prótons, mecanismo rotacional. Envolvida na síntese de ATP acoplada ao transporte de prótons.
AT4G13180	2,3354		Superfamília de proteínas NAD(P)-binding Rossmann-fold. Funções na atividade oxido-redutase, ligação e atividade catalítica. Envolvido na resposta ao arsênico.

AT3G55620	2,3278	EIF6A, EMB1624, Embryo defective 1624, Eukaryotic initiation factor 6A	Envolvido na iniciação da tradução e desenvolvimento do embrião terminando na dormência de sementes. Liga-se à subunidade ribossomal 60S e impede sua associação com a subunidade 40S para formar o complexo de iniciação 80S no citoplasma. Também pode estar envolvido na biogênese ribossômica.
AT3G23830	2,2905	ATGRP4, Glycine-rich RNA-binding protein 4, GR-RBP4, GRP4, RBGA4, RNA-binding glycine-rich protein A4	Codifica uma proteína de ligação à RNA rica em glicina. A expressão gênica é induzida pelo frio e reduzida pelos estresses osmóticos iônico (sal) e não iônico (manitol). Linhagens superexpressando o gene são ligeiramente mais tolerantes ao estresse osmótico durante a germinação.
AT5G10070	2,2903	Probable ribosome biogenesis protein At5g10070	Proteína relatada como inibidora da RNase L. Provável proteína de processamento pré-RNA envolvida na biogênese do ribossomo.

REPRIMIDAS

AT1G47200	-2,9209	WPP Domain Protein, WPP2	Membros da família WPP contêm um domínio de alvo nuclear (NE). A supressão por RNAi de WPP2 reduziu a atividade mitótica.
AT4G27000	-2,9129	Polyadenylate-binding protein RBP45C; ATRBP45C	Proteína de ligação a ribonucleoproteína nuclear heterogênea (hnRNP) que se liga à cauda poli-A de RNAm e está provavelmente envolvida em algumas etapas de maturação pré-RNAm.
AT3G15640	-2,5467	Cytochrome c oxidase subunit 5b-1, mitochondrial	Possui funções na atividade da citocromo-c oxidase e na ligação a cobalto, zinco e íons metálicos.
AT4G28520	-2,5056	CRC, CRU3, Cruciferin 3, Cruciferin C	Codifica uma proteína de armazenamento de sementes 12S que é tirosina-fosforilada, e seu estado de fosforilação é modulado em resposta ao ácido abscísico (ABA) em sementes de <i>A. thaliana</i> .
AT3G09260	-2,188	Beta-glucosidase 23, BGLU23, LEB, LONG ER BODY, PSR3.1, PYK10	Codifica uma β -glucosidase, constituinte importante de corpos ER e uma das proteínas mais abundantes em plântulas de <i>Arabidopsis</i> . Está envolvida na interação mutualística entre <i>Arabidopsis</i> e o fungo endofítico <i>Piriformospora indica</i> .

AT1G12900	-2,1157	GAPA-2, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase A subunit 2	Funções na ligação de NAD ou NADH e atividade de gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase. Envolvida em processos metabólicos de oxidação, redução e glicólise.
AT4G21200	-2,096	<i>A. thaliana</i> gibberellin 2-oxidase 8, ATGA2OX8, GA2OX8, Gibberellin 2-oxidase 8	Codifica uma proteína com atividade de giberelina 2-oxidase que atua especificamente sobre giberelinas C-20.
AT1G35580	-2,0948	A/N-INVG, Alkaline/neutral invertase G, CINV1, Cytosolic invertase 1	CINV1 é uma invertase alcalina/neutra que degrada a sacarose em frutose e glicose (GH100). Os mutantes exibem crescimento reduzido das raízes, atividade invertase reduzida e aumento da expressão de genes antioxidantes, sob condições basais.
AT1G48030	-2,0771	Mitochondrial lipoamide dehydrogenase 1, MTLPD1	Codifica uma lipoamida desidrogenase mitocondrial cuja expressão é induzida pela luz.
AT3G01290	-1,9889	ATHIR2, HIR2, HYPERSENSITIVEINDUCED REACTION 2	Membro da família de proteínas associadas à membrana contendo o domínio SPFH/Band 7/PHB. Envolvidas na miristoilação N-terminal de proteínas.

Em seguida, uma análise de enriquecimento funcional baseada em ontologia gênica (GO) foi realizada usando o programa AgriGO, para examinar a importância biológica das DAPs induzidas em raízes. Proteínas relacionadas a genes que possuem funções biológicas semelhantes foram agrupadas. Como esperado, não foi observado enriquecimento de proteínas associadas com processos de sistema imune. Os principais grupos funcionais enriquecidos foram: "organização de componentes celulares", "biogênese de componentes celulares", "processos celulares", "processos metabólicos" e "resposta a estímulos" (Fig. 12).

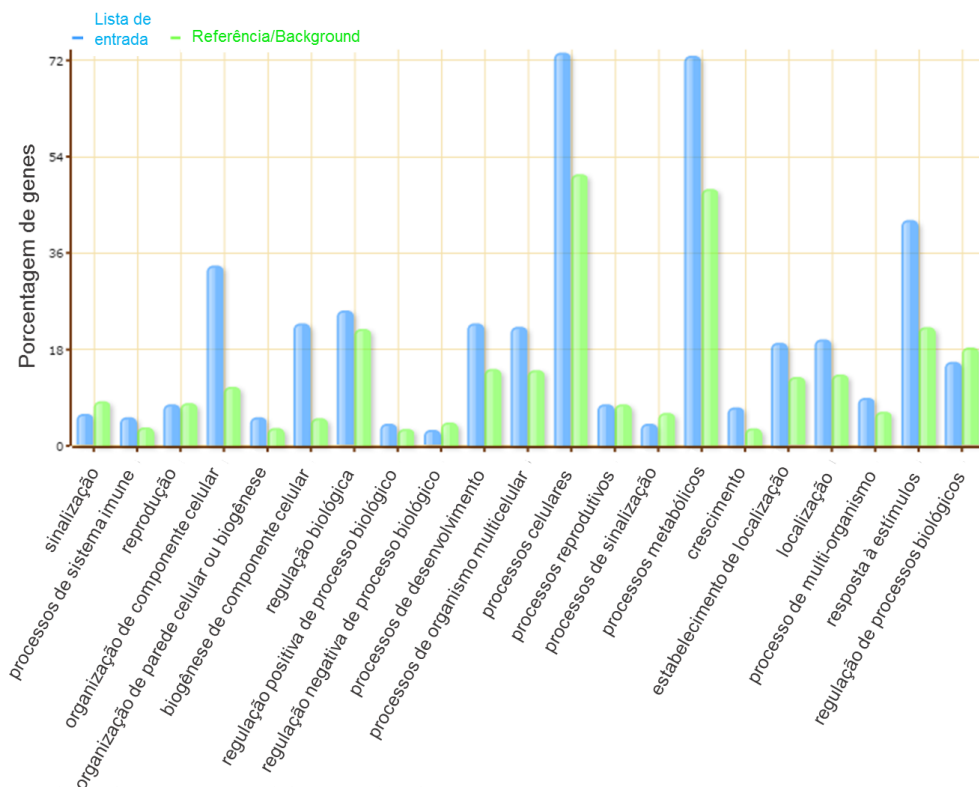


Figura 12 – Análise de enriquecimento funcional de proteínas induzidas em raízes em resposta ao tratamento com Flg22. O programa AgriGO foi utilizado para analisar as categorias de GO enriquecidas. O eixo X mostra os termos das categorias de GO. O eixo Y mostra a porcentagem de proteínas mapeadas para cada categoria. As barras azuis indicam o enriquecimento das proteínas induzidas (ANOVA $p < 0,05$) nas raízes. As barras verdes indicam a porcentagem do total anotado de acessos de genes de *A. thaliana* mapeados para cada um dos termos GO.

Com o objetivo de identificar novas vias reguladas por Flg22 em raízes, o algoritmo STRING foi utilizado para analisar as DAPs que foram induzidas nestes tecidos. Conforme ilustrado na Figura 13, destacam-se 7 redes de proteínas associadas a "Ligação a RNA", "Síntese de Proteínas", "Citoesqueleto", "V-ATPase", "Glicólise/Gliconeogênese", "Proteínas Plastidiais" e "Metabolismo de

Açúcar". Entre estas, a rede de proteínas de "Ligação a RNA " inclui a proteína de ligação ao RNA rica em glicina 3 (GR-RBP3; AT5G61030), a proteína de ligação ao RNA rica em glicina 4 (GRP4; AT3G23830), a proteína de ligação ao RNA 47B (RBP47B AT3G19130), a proteína de ligação ao RNA 45A (RBP45A; AT5G54900) e a proteína de ligação ao RNA rica em glicina 7 (GRP7; AT2G21660). A rede de proteínas envolvidas em "Metabolismo de Açúcar" inclui a frutoquinase (AT1G06030), a β -fructofuranosidase (AT1G62660), a aldose 1-epimerase (AT3G17940), a α -galactosidase (AT3G56310) e a L-ídito 2-desidrogenase (AT5G51970). A rede "Glicólise/Gliconeogênese" inclui a fructose-bisfosfato aldolase 1 (FBA1; AT2G21330), a fructose-bisfosfato aldolase 2 (AT4G38970), a triosefosfato isomerase (TPI; AT3G55440), a enolase 2 (LOS2; AT2G36530), a enolase 1 (ENO1; AT1G74030), a aldose 1-epimerase (AT5G66530), a fosfoglucomutase (PMG2; AT1G70730) e a fructose-bisfosfato aldolase 3 (FBA3; AT2G01140).

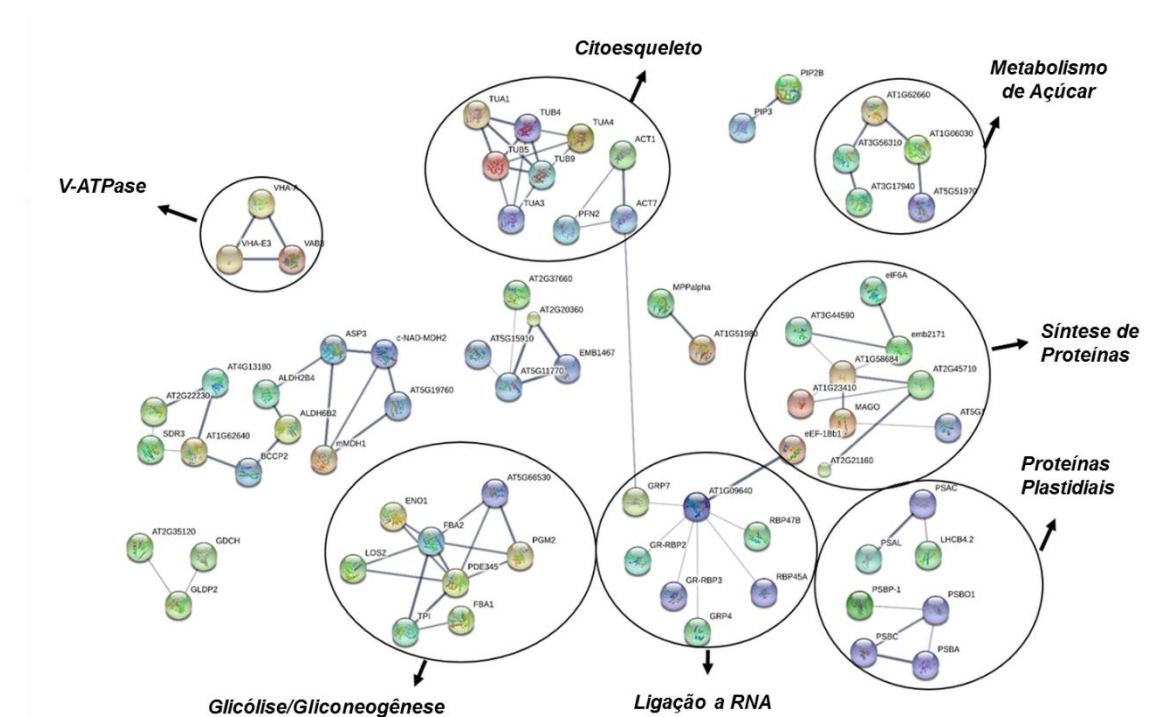


Figura 13 – Análise das redes de interação proteína-proteína das DAPs em raízes usando o algoritmo STRING. As proteínas induzidas (ANOVA $p < 0,05$) que não foram mapeadas no MapMan na categoria "biótico stress" foram agrupadas pelo software STRING com um elevado nível de confiança (0,7). Os círculos pretos indicam as redes relacionadas com "V-ATPase", "Citoesqueleto", "Metabolismo de Açúcar", "Síntese de Proteínas", "Proteínas Plastidiais", "Ligação a RNA" e "Glicólise/Gliconeogênese".

As proteínas induzidas em raízes que não agrupam em redes de proteínas foram também analisadas individualmente. Algumas destas proteínas estão potencialmente envolvidas em interações entre plantas e micro-organismos, tais como a proteína de resposta de hipersensibilidade induzida 1 (HIR1, AT5G62740), a proteína induzida por alumínio (AIP1, AT5G19140), a proteína responsiva à resistência a doenças (AT4G11190), a desidrogenase/reductase de cadeia curta (SDR3; AT2G47130), a esterase/lipase GDSL (MVP1; AT1G54030) e a proteína rica em repetições de leucina 1 (LRR1; AT5G16590).

6 – DISCUSSÃO

Em seu ambiente natural, as plantas estão constantemente sujeitas a interações com uma ampla gama de micro-organismos que possuem os mais variados estilos de vida e estratégias de infecção. Para se proteger de infecções, plantas evoluíram um elaborado sistema imune para prevenir a colonização de seus tecidos. Assim como observado em sistemas animais, as plantas são capazes de perceber a presença de micro-organismos e desencadear uma resposta de defesa eficaz (Dodds e Rathjen, 2010; Bernoux et al., 2011; Spoel e Dong, 2012). Essa percepção é realizada por PRRs presentes na superfície da célula vegetal, capazes de reconhecer PAMPs/MAMPs (Zipfel, 2008; Segonzac e Zipfel, 2011; Zipfel, 2014). Entre os MAMPs conhecidos, flagelina se destaca como o eliciador melhor caracterizado e sua interação com FLS2 representa um sistema modelo para a compreensão da base molecular da ativação da imunidade em plantas (Felix et al., 1999; Gómez-Gómez e Boller, 2000; Navarro et al., 2004; Chinchilla et al., 2006).

Nos últimos anos, tem sido gerado um grande volume de conhecimento sobre os mecanismos de percepção de PAMPs/MAMPs em plantas e a subsequente ativação da resposta de defesa (Bernoux et al., 2011; Dangl et al., 2013). No entanto, a maioria dos mecanismos de resposta molecular tem sido caracterizada em folhas (Schwessinger e Ronald, 2012; Rosli et al., 2013), enquanto tais mecanismos permanecem pouco compreendidos nos tecidos radiculares (Wyrsh et al., 2015). Da mesma forma, os dados sobre as respostas desencadeadas por flagelina em raízes são escassos. Entretanto, raízes são os tecidos vegetais que interagem com o maior número de micro-organismos presentes no solo. Esta lacuna de conhecimento é contraditória, uma vez que sistemas específicos e altamente eficazes de defesa vegetal provavelmente ocorrem nas raízes.

Neste sentido, esse trabalho teve como objetivo caracterizar as vias especificamente reguladas durante a resposta desencadeada por Flg22 em diferentes tecidos de *A. thaliana*, com ênfase nas raízes e nas pontas das raízes. O monitoramento da ativação transcricional dos genes marcadores da defesa *CYP71A12* e *WRKY11* em resposta à Flg22 mostrou padrões de expressão distintos entre folhas, raízes e pontas de raízes (Fig. 6), confirmando a correta ativação do sistema imune vegetal demonstrada por Millet et al., 2010.

Similarmente, a análise da deposição de calose, que é uma resposta característica da ativação do sistema imune vegetal, mostrou que Flg22 desencadeia respostas tecido-específicas em plântulas de *A. thaliana*, acumulando-se em folhas e pontas de raízes, mas não nas regiões intermediárias das raízes (Fig. 7). Mais uma vez, estes ensaios confirmaram a ativação adequada da resposta imune, uma vez que o acúmulo de calose ativado por Flg22 é amplamente caracterizado em folhas de *A. thaliana* (Gómez-Gómez et al., 1999; Gómez-Gómez e Boller, 2000; Denoux et al., 2008). Da mesma forma, a deposição de calose em raízes, especificamente na zona de alongamento, já foi demonstrada (Millet et al., 2010). A zona de alongamento radicular representa um importante local de entrada de bactérias patogênicas no solo, devido à ausência de parede secundária nessas células. Além disso, é uma região importante para a exsudação de metabólitos, que podem atrair micro-organismos. Assim, o aumento da proteção física nesta região radicular, através da deposição de calose induzida por MAMPs, pode representar uma estratégia desenvolvida pelas plantas para evitar a colonização por micro-organismos.

As análises proteômicas de folhas, raízes e pontas de raízes revelaram que Flg22 ativa fortes respostas em cada região da planta. Essas respostas são distintas em cada tecido/órgão analisado, ativando conjuntos específicos de proteínas, com uma baixa porcentagem de DAPs reguladas simultaneamente em mais de um tecido (Fig. 8C e D). A regulação de diferentes conjuntos de proteínas em folhas, raízes e pontas de raízes, sugere que mecanismos de defesa específicos são ativados por Flg22 em cada uma dessas regiões.

A indução de vários grupos de proteínas nas pontas das raízes e nas regiões maduras das raízes contradiz a hipótese de que as raízes respondem fracamente a MAMPs. De fato, o receptor FLS2 é expresso em toda a raiz (Robatzek et al., 2006), sugerindo que as células localizadas em zonas maduras de raízes têm a capacidade de perceber Flg22 e desencadear uma resposta de defesa.

O estudo funcional das proteínas reguladas por Flg22 nas folhas, raízes e pontas de raízes foi realizada utilizando Blast2GO, MapMan e heatmaps. Diferentes perfis de proteínas relacionadas à defesa foram observados em cada tecido analisado. Enquanto as DAPs associadas à manutenção do estado redox, peroxidases, glutathione S-transferases, sinalização e metabólitos secundários foram induzidas em folhas, os níveis de DAPs na maioria destas classes de

proteínas foram reprimidas nas regiões maduras das raízes. Tais resultados encontrados em tecidos radiculares foram inesperados, uma vez que a ativação dos mecanismos de produção e detoxificação de ROS tem sido amplamente descrita como um componente essencial da defesa de plantas contra patógenos (Edwards et al., 2000; Kawano, 2003; Torres et al., 2006).

Em comparação com as regiões maduras de raízes, as pontas de raízes apresentaram um padrão diferente de regulação de DAPs, com ênfase em GSTs e proteínas envolvidas na manutenção do estado redox. A regulação destas vias em pontas de raízes foi semelhante à regulação observada nas folhas, e é consistente com os dados obtidos por Millet et al., (2010) em ensaios de calose e expressão gênica. Com base nestes dados, é possível sugerir que folhas e pontas de raízes compartilham alguns mecanismos de defesa semelhantes em resposta à Flg22 (deposição de calose, acúmulo de GSTs e proteínas envolvidas na manutenção do estado redox), enquanto as regiões maduras de raízes apresentam mecanismos específicos de resposta, que incluem a repressão de vias de detoxificação de ROS. A exposição constante a uma elevada diversidade de micro-organismos possivelmente levou as raízes a evoluírem respostas de defesa diferenciadas das respostas observadas nas folhas e nas pontas das raízes.

Além dos mecanismos de produção/detoxificação de ROS, várias outras proteínas que também foram mapeadas na categoria “biotic stress” do MapMan, foram diferencialmente reguladas em folhas e raízes. Entre estas proteínas, destacam-se membros da família HSP70, β -1,3-endoglucanases, proteínas *germin-like* e fatores gerais de regulação. As proteínas HSP70s possuem variadas funções na resposta contra patógenos, incluindo a resposta hipersensível (HR) mediada por INF1 a *Phytophthora infestans* e a resistência *non-host* a *Pseudomonas cichorii* em *Nicotiana benthamiana* (Kanzaki et al., 2003). Em *Capsicum annum*, quantidades significativas de HSP70 (CaHSP70) acumulam-se em folhas de pimenta, induzindo a HR em resposta a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Kim e Hwang, 2015). Grande parte dos estudos sobre a participação de membros da família HSP70 nas respostas de defesa foram realizados em tecidos foliares. Aparentemente, a regulação de membros da família HSP70 em raízes não é relevante para a resposta destes tecidos à Flg22.

A análise geral dos dados através de MapMan e heatmap demonstram que a maioria das proteínas descritas como induzidas por Flg22 em folhas, foram

reprimidas ou não reguladas em raízes. No entanto, várias outras proteínas foram reguladas nas raízes, sugerindo que existam vias de resposta à Flg22 ainda não caracterizadas nestes tecidos. A análise das DAPs que foram induzidas em raízes através do algoritmo STRING identificou 7 redes de proteínas envolvidas em "Ligação a RNA", "Síntese de Proteínas", "Citoesqueleto", "V-ATPase", "Glicólise/Gliconeogênese", "Proteínas Plastidiais" e "Metabolismo de Açúcar" (Fig. 13). Entre estas, as proteínas de ligação a RNA (RBPs) desempenham um papel importante nas interações entre plantas e micro-organismos (Lyons et al., 2013). A expressão diferencial de proteínas de ligação a RNA tem sido relatada em plantas expostas a micro-organismos (Naqvi et al., 1998). Plantas superexpressando a proteína de ligação a RNA rica em glicina 7 de *A. thaliana* (*AtGRP7*) expressam constitutivamente os genes *PR-1* (Pathogenesis-Related-1), *PR-2* e *PR-5* e apresentam maior resistência a *P. syringae* DC3000 (Hackmann et al., 2014).

Entre as DAPs induzidas agrupadas na rede "Metabolismo de Açúcar", o gene que codifica a frutoquinase (AT1G06030) mostrou-se induzido em resposta a *Agrobacterium tumefaciens* (Ditt et al., 2006). De forma semelhante, o gene da β -fructofuranosidase (AT1G62660) é induzido após a aplicação de ácido abscísico e H_2O_2 . Os papéis dessas redes protéicas na resposta de raízes à Flg22 ainda precisam ser investigados e elucidados. Estes achados fornecem novas perspectivas para a identificação de proteínas de defesa específicas de tecidos radiculares.

Entre as proteínas induzidas em raízes que não agruparam nas redes descritas acima, encontram-se proteínas potencialmente envolvidas na interação entre plantas e micro-organismos, tais como HIR1 (AT5G62740), a proteína responsiva à resistência a doenças (AT4G11190), SDR3 (AT2G47130) e LRR1 (AT5G16590). HIR1 foi descrita como um componente do complexo RPS2, uma proteína de resistência que está envolvida na ETI em *A. thaliana* (Qi et al., 2011). A SDR3 desempenha um importante papel nas respostas de defesa das plantas através da regulação da expressão do gene relacionado a patogênese-1 (*AtPR-1*) em *A. thaliana* (Hwang et al., 2012). LRR1 é um receptor tipo quinase associado à membrana plasmática e a sua expressão é induzida em resposta à colonização fúngica (Shahollari et al., 2005). Os papéis destas proteínas nos mecanismos de resposta/defesa induzidos por micro-organismos permanecem por serem elucidados.

Os resultados obtidos neste trabalho revelam que a maioria dos estudos sobre a imunidade em plantas, restrita à parte aérea, não incluem toda a complexidade e especificidade de respostas. Especialmente, estes dados apontam que vários mecanismos de defesa caracterizados nas folhas não são induzidos nas raízes, particularmente mecanismos relacionados com sistemas de produção/detoxificação de ROS. Considerando que as raízes são a principal região da planta que interage com o solo e sua microbiota, torna-se essencial elucidar as vias de defesa especificamente induzidas em raízes.

7 – CONCLUSÕES

- Os genes marcadores da defesa *CYP71A12* e *WRKY11* apresentam padrões de expressão diferentes em folhas, raízes e pontas de raízes em resposta à Flg22, indicando a regulação diferencial dos genes relacionados à resposta imune em cada tecido;
- Flg22 desencadeia a deposição de calose de forma distinta em folhas, raízes e pontas de raízes, demonstrando a especificidade de cada tecido na resposta de reforço da parede celular;
- Diferentes conjuntos de proteínas são regulados em folhas, raízes e pontas de raízes após tratamento com Flg22, indicando que cada tecido utiliza vias específicas de resposta ao eliciador;
- Em resposta à Flg22, folhas induzem principalmente as vias de proteínas envolvidas na manutenção do estado redox, peroxidases, glutathione S-transferases, sinalização e metabólitos secundários, enquanto raízes reprimem a maioria destas classes de proteínas. Além disso, muitas outras proteínas envolvidas na resposta a estresses bióticos apresentam regulação oposta em folhas e raízes, evidenciando as diferenças de resposta de defesa em cada tecido.
- Vários mecanismos de defesa caracterizados em folhas não são induzidos em raízes, particularmente mecanismos relacionados com sistemas de produção/detoxificação de ROS.
- A baixa identificação de proteínas relacionadas à resposta imune em raízes, sugere que o perfil protéico relativo à defesa nestes tecidos é consideravelmente diferente do observado em folhas. Considerando que o conhecimento sobre a imunidade vegetal foi, em geral, obtido através de estudos na parte aérea, esta observação indica a possibilidade da existência de vias de resposta inexploradas em raízes.
- As DAPs induzidas por Flg22 em raízes não caracterizadas como proteínas relacionadas à defesa agrupam-se em redes relacionadas à "Ligação a

RNA", "Síntese de Proteínas", "Citoesqueleto", "V-ATPase", "Glicólise/Gliconeogênese", "Proteínas Plastidiais" e "Metabolismo de Açúcar". Entretanto, os papéis dessas redes protéicas na resposta de raízes à Flg22 ainda precisam ser investigados e elucidados. Estes achados fornecem perspectivas para a identificação de proteínas de defesa específicas de raízes e abrem novos caminhos de investigação sobre a defesa neste órgão essencial à interação entre plantas e micro-organismos.

8 – APÊNDICES

Apêndice A – Tabela das proteínas diferencialmente acumuladas em folhas de *Arabidopsis thaliana* expostas à Flg22

Accession	Peptide count	Confidence score	Anova (p)	Max fold change	Highest mean Cond.	Lowest mean Cond.	MEDIA_ CONTROLE (Cond. 1)	DESVPAD_ CONTROLE (Cond. 1)	CV_ CONTROLE (Cond. 1)	MEDIA_ FLG (Cond. 2)	DESVPAD_ FLG (Cond. 2)	CV_ FLG (Cond. 2)	RATIO_ FLGXCONTROLE	LOG2_ RATIO
AT3G04120.1	37	308,0827	0,020783	51,32159	Cond. 1	Cond. 2	1189,636	557,8634	0,468936	23,18003	39,28731	1,694877	0,019485	-5,68149
AT5G51460.2	2	17,2322	0,007673	38,58664	Cond. 1	Cond. 2	121,5316	46,03421	0,378784	3,149577	2,990368	0,949451	0,025916	-5,27003
AT3G06850.1	2	17,1311	0,04973	17,16153	Cond. 1	Cond. 2	57831,36	46436,47	0,802964	3369,826	3193,893	0,947792	0,05827	-4,10111
AT5G64140.1	2	18,8153	0,035541	10,60027	Cond. 1	Cond. 2	387,0297	217,4212	0,561769	36,51132	35,80836	0,980747	0,094337	-3,40603
AT1G54270.1	16	101,3187	4,23E-07	5,969519	Cond. 1	Cond. 2	29264,86	544,7809	0,018616	4902,383	231,9905	0,047322	0,167518	-2,57761
AT3G12930.1	2	11,8887	0,033015	4,037608	Cond. 1	Cond. 2	777,3314	104,7344	0,134736	192,5228	173,3235	0,900275	0,247671	-2,0135
AT5G65730.1	2	13,1933	0,000109	4,001582	Cond. 1	Cond. 2	5076,45	247,0529	0,048666	1268,611	193,7457	0,152723	0,249901	-2,00057
AT5G11450.1	2	11,4679	0,012163	3,949122	Cond. 1	Cond. 2	2916,219	727,2848	0,249393	738,4474	398,6737	0,539881	0,253221	-1,98153
AT3G61470.1	5	47,2167	0,002293	3,59322	Cond. 1	Cond. 2	11098,62	2130,419	0,191954	3088,766	713,8733	0,231119	0,278302	-1,84528
AT4G02770.1	23	199,0402	0,001377	3,380319	Cond. 1	Cond. 2	840,7398	34,11415	0,040576	248,7161	62,76264	0,252347	0,29583	-1,75716
AT3G44590.1	9	55,5109	0,019498	3,06598	Cond. 1	Cond. 2	7221,282	773,6144	0,10713	2355,293	1409,812	0,598572	0,32616	-1,61635
AT1G18800.1	3	17,064	0,020172	2,632373	Cond. 1	Cond. 2	614,5955	145,1806	0,236221	233,4759	95,24354	0,407937	0,379885	-1,39636
AT2G17390.1	7	35,2421	0,002057	2,614134	Cond. 1	Cond. 2	9220,613	1465,305	0,158916	3527,215	646,3368	0,183243	0,382536	-1,38633
AT1G35160.1	10	85,095	0,018176	2,438661	Cond. 1	Cond. 2	1437,668	188,1206	0,130851	589,5318	211,5615	0,358864	0,410061	-1,28609
AT1G35680.1	3	23,4735	0,006113	2,415394	Cond. 1	Cond. 2	15076,06	433,6128	0,028762	6241,659	1799,79	0,288351	0,414011	-1,27226

AT5G03690.2	16	158,4277	0,043011	2,409024	Cond. 1	Cond. 2	16905,11	3168,221	0,187412	7017,411	4029,816	0,57426	0,415106	-1,26845
AT5G05880.1	2	10,3439	0,004751	2,292868	Cond. 1	Cond. 2	1490,18	331,6258	0,222541	649,9197	48,89586	0,075234	0,436135	-1,19715
AT5G61800.1	5	27,1565	0,022465	2,274253	Cond. 1	Cond. 2	2813,368	283,3711	0,100723	1237,051	504,1069	0,407507	0,439705	-1,18539
AT2G45290.1	33	202,8056	0,000712	2,263644	Cond. 1	Cond. 2	465462,4	29156,71	0,06264	205625,3	29402,76	0,142992	0,441766	-1,17865
AT3G03270.2	3	25,8038	0,010595	2,225904	Cond. 1	Cond. 2	12563,17	1833,043	0,145906	5644,076	1439,151	0,254984	0,449256	-1,15439
AT1G68010.1	21	130,1152	0,008532	2,149498	Cond. 1	Cond. 2	218090	13191,55	0,060487	101460,9	29721,67	0,292937	0,465225	-1,104
AT2G44040.1	4	24,9916	0,011765	2,105085	Cond. 1	Cond. 2	4433,805	214,6633	0,048415	2106,235	679,2163	0,322479	0,47504	-1,07388
AT5G48070.1	4	30,1831	0,008398	2,083461	Cond. 1	Cond. 2	7458,524	341,2103	0,045748	3579,871	871,5549	0,24346	0,479971	-1,05898
AT3G53750.1	20	164,8823	0,000437	2,071137	Cond. 1	Cond. 2	9341,511	324,0614	0,03469	4510,329	528,4864	0,117172	0,482827	-1,05042
AT3G27240.1	4	21,2552	0,016124	2,044073	Cond. 1	Cond. 2	16128,42	1038,866	0,064412	7890,334	2253,977	0,285663	0,489219	-1,03145
AT2G19770.1	2	12,3776	0,046612	2,037505	Cond. 1	Cond. 2	1573,443	70,02357	0,044503	772,24	307,5656	0,398277	0,490796	-1,0268
AT4G37800.1	15	151,2849	0,006515	2,037012	Cond. 1	Cond. 2	384447,7	17958,17	0,046712	188731,2	42531,99	0,225357	0,490915	-1,02645
AT1G01620.1	3	22,3899	0,0213	2,028803	Cond. 1	Cond. 2	2526,398	296,4247	0,117331	1245,265	414,0624	0,332509	0,492901	-1,02063
AT3G09260.1	5	28,7387	0,003823	2,002729	Cond. 1	Cond. 2	35617,48	2969,586	0,083374	17784,47	3423,935	0,192524	0,499319	-1,00197
AT2G05380.1	4	27,5574	0,003581	1,95701	Cond. 1	Cond. 2	85072,18	6369,637	0,074873	43470,5	7570,593	0,174155	0,510984	-0,96865
AT1G79930.1	15	100,0282	0,048156	1,953911	Cond. 1	Cond. 2	5830,368	1693,076	0,290389	2983,948	757,3533	0,253809	0,511794	-0,96636
AT2G42100.1	10	89,8144	0,00182	1,95223	Cond. 1	Cond. 2	8287,702	972,6096	0,117356	4245,25	469,105	0,110501	0,512235	-0,96512
AT5G65430.1	8	54,9601	0,000899	1,944913	Cond. 1	Cond. 2	2595,336	54,60482	0,02104	1334,423	166,0448	0,124432	0,514162	-0,95971
AT5G09620.1	3	16,1734	0,000233	1,943817	Cond. 1	Cond. 2	31701,62	858,0628	0,027067	16308,96	1399,88	0,085835	0,514452	-0,95889
AT5G43890.1	3	17,2025	0,019996	1,918819	Cond. 1	Cond. 2	2110,679	260,7496	0,123538	1099,989	287,7525	0,261596	0,521154	-0,94022
AT3G46440.1	5	28,8021	0,000727	1,817509	Cond. 1	Cond. 2	7796,051	763,5178	0,097936	4289,415	220,6422	0,051439	0,550204	-0,86196
AT2G27020.1	3	17,1397	0,00774	1,813629	Cond. 1	Cond. 2	1566,818	242,2287	0,154599	863,9136	108,577	0,12568	0,551381	-0,85888
AT3G26740.1	6	47,2317	0,010708	1,788962	Cond. 1	Cond. 2	56409,29	1048,666	0,01859	31531,85	7372,061	0,233797	0,558983	-0,83912
AT2G06850.1	4	28,667	0,035274	1,781249	Cond. 1	Cond. 2	30289,83	1487,059	0,049094	17004,82	5191,286	0,305283	0,561404	-0,83289
AT1G56410.1	21	160,8524	0,007063	1,775869	Cond. 1	Cond. 2	4842,626	532,8879	0,110041	2726,904	457,0355	0,167602	0,563104	-0,82853
AT1G71170.1	4	21,0957	0,001412	1,774886	Cond. 1	Cond. 2	9461,443	359,5065	0,037997	5330,733	626,1432	0,117459	0,563417	-0,82773
AT2G40010.1	12	107,9236	0,01489	1,766278	Cond. 1	Cond. 2	10398,86	1053,441	0,101304	5887,441	1385,504	0,235332	0,566162	-0,82071
AT5G37250.1	3	16,243	0,007761	1,747993	Cond. 1	Cond. 2	435,9085	36,92956	0,084719	249,3766	44,65372	0,179061	0,572085	-0,8057

AT5G20980.1	21	160,1462	0,006667	1,693984	Cond. 1	Cond. 2	11702,17	286,4024	0,024474	6908,078	1287,292	0,186346	0,590324	-0,76042
AT5G13410.1	4	26,7222	0,010243	1,684304	Cond. 1	Cond. 2	34246,77	2463,92	0,071946	20332,89	3711,917	0,182557	0,593717	-0,75215
AT4G00430.1	4	23,0593	0,037397	1,649573	Cond. 1	Cond. 2	3720,424	687,8464	0,184884	2255,385	479,4148	0,212564	0,606217	-0,72209
AT5G49800.1	2	16,2672	0,000581	1,639372	Cond. 1	Cond. 2	140947,3	7192,35	0,051029	85976,4	5870,151	0,068276	0,60999	-0,71314
AT3G19508.1	2	11,1923	0,000111	1,610068	Cond. 1	Cond. 2	4035,731	84,941	0,021047	2506,559	128,1537	0,051127	0,621092	-0,68712
AT4G20020.1	3	22,0202	0,04751	1,607857	Cond. 1	Cond. 2	9211,257	533,9043	0,057962	5728,904	1688,576	0,294747	0,621946	-0,68514
AT4G05390.1	4	22,3554	0,000625	1,601984	Cond. 1	Cond. 2	15231,64	742,6243	0,048755	9507,988	650,7499	0,068442	0,624226	-0,67986
AT4G30270.1	13	75,0443	6,39E-05	1,592182	Cond. 1	Cond. 2	43124,63	1661,068	0,038518	27085,23	690,7806	0,025504	0,628069	-0,67101
AT4G10720.2	6	31,5348	0,000126	1,589976	Cond. 1	Cond. 2	170345	6748,602	0,039617	107136,8	4106,141	0,038326	0,62894	-0,66901
AT5G44300.1	2	11,5962	0,019639	1,573064	Cond. 1	Cond. 2	3314,908	353,4091	0,106612	2107,293	386,2664	0,1833	0,635702	-0,65358
AT4G35450.3	10	74,4386	0,01925	1,570619	Cond. 1	Cond. 2	79245,66	4100,526	0,051744	50455,05	9695,845	0,192168	0,636692	-0,65133
AT4G35460.1	5	25,4217	0,003142	1,562886	Cond. 1	Cond. 2	18901,76	1219,215	0,064503	12094,14	1208,617	0,099934	0,639842	-0,64421
AT5G01600.1	3	16,1263	0,022431	1,551716	Cond. 1	Cond. 2	3157,177	169,7414	0,053764	2034,636	399,4107	0,196306	0,644448	-0,63386
AT1G48030.1	11	78,8436	0,005193	1,541138	Cond. 1	Cond. 2	125560,1	9832,471	0,078309	81472,33	8646,815	0,106132	0,648871	-0,624
AT5G47930.1	3	20,2342	0,00402	1,53863	Cond. 1	Cond. 2	27980,9	390,8669	0,013969	18185,59	2352,786	0,129376	0,649929	-0,62165
AT5G44130.1	16	99,6715	0,000402	1,521937	Cond. 1	Cond. 2	144990,8	8521,393	0,058772	95267,3	3155,502	0,033123	0,657057	-0,60591
AT4G09040.1	7	41,2502	0,029359	1,51408	Cond. 1	Cond. 2	13552,72	551,0109	0,040657	8951,127	1966,601	0,219704	0,660467	-0,59844
AT1G80030.2	2	11,7001	0,004065	681,861	Cond. 2	Cond. 1	10,46283	18,12215	1,732051	7134,194	684,0087	0,095878	681,861	9,413334
AT2G47110.2	6	48,7691	0,002987	29,66876	Cond. 2	Cond. 1	80,23661	38,61465	0,48126	2380,521	1394,525	0,585807	29,66876	4,890873
AT1G30120.1	10	73,1441	0,001232	21,99082	Cond. 2	Cond. 1	117,2736	39,37711	0,335771	2578,943	1350,182	0,523541	21,99082	4,45883
AT1G52030.2	2	10,5076	3,82E-05	17,82898	Cond. 2	Cond. 1	52,41761	10,04372	0,19161	934,5523	164,9531	0,176505	17,82898	4,156152
AT5G05340.1	4	28,8023	0,000146	15,74701	Cond. 2	Cond. 1	735,8616	228,7948	0,310921	11587,62	289,9916	0,025026	15,74701	3,977006
AT5G38940.1	3	14,861	0,009252	8,417047	Cond. 2	Cond. 1	1477,689	911,5786	0,616895	12437,78	737,6844	0,05931	8,417047	3,073314
AT1G02920.1	13	110,5856	5,87E-07	8,214054	Cond. 2	Cond. 1	14755,78	678,7422	0,045998	121204,8	5401,175	0,044562	8,214054	3,038094
AT4G16260.1	3	20,3827	3,30E-05	8,197135	Cond. 2	Cond. 1	3892,767	58,66195	0,015069	31909,54	5650,741	0,177086	8,197135	3,03512
AT1G02930.2	19	156,229	3,93E-07	8,024234	Cond. 2	Cond. 1	90403,53	4447,179	0,049193	725419,1	21514,32	0,029658	8,024234	3,004364
AT4G36430.1	2	13,0212	2,44E-05	6,886588	Cond. 2	Cond. 1	3533,463	285,3379	0,080753	24333,5	3038,998	0,124889	6,886588	2,783789
AT2G43590.1	6	47,1479	2,25E-06	6,822551	Cond. 2	Cond. 1	13896,14	729,1724	0,052473	94807,13	5917,016	0,062411	6,822551	2,770311

AT1G73260.1	2	18,065	0,000211	6,407598	Cond. 2	Cond. 1	1536,701	48,29842	0,03143	9846,562	2313,656	0,234971	6,407598	2,679784
AT4G08770.1	12	115,6346	9,60E-07	6,018785	Cond. 2	Cond. 1	12423,23	199,5996	0,016067	74772,75	4515,508	0,06039	6,018785	2,589472
AT1G21130.2	3	16,4024	9,62E-05	5,777435	Cond. 2	Cond. 1	548,1865	38,52388	0,070275	3167,112	560,9273	0,17711	5,777435	2,530429
AT3G46280.1	10	75,454	2,62E-05	5,54546	Cond. 2	Cond. 1	21856,11	1738,97	0,079564	121202,2	12926,25	0,10665	5,54546	2,471307
AT5G29560.1	2	10,4246	0,00504	5,406562	Cond. 2	Cond. 1	47,113	20,46225	0,434323	254,7193	64,47791	0,253133	5,406562	2,434711
AT5G64120.1	20	207,4247	1,89E-07	5,022881	Cond. 2	Cond. 1	293485,6	4097,008	0,01396	1474143	51051,09	0,034631	5,022881	2,328515
AT2G17190.1	6	41,8524	0,000313	4,855923	Cond. 2	Cond. 1	3400,695	344,4451	0,101287	16513,51	3289,213	0,199183	4,855923	2,279745
AT1G18590.1	6	39,5751	0,001927	4,709932	Cond. 2	Cond. 1	16838,21	4664,969	0,277047	79306,84	17636,82	0,222387	4,709932	2,235706
AT1G52200.1	2	20,1074	2,15E-05	4,377397	Cond. 2	Cond. 1	7529,208	542,4642	0,072048	32958,34	2793,893	0,08477	4,377397	2,130073
AT3G49120.1	21	160,5792	2,50E-06	4,276115	Cond. 2	Cond. 1	120459	7032,301	0,058379	515096,7	14292,67	0,027748	4,276115	2,096301
AT4G16550.1	4	18,2114	0,025616	4,143578	Cond. 2	Cond. 1	784,6019	481,4459	0,613618	3251,059	1544,102	0,474953	4,143578	2,050877
AT2G43620.1	5	34,3846	7,03E-07	4,122493	Cond. 2	Cond. 1	8523,091	188,6309	0,022132	35136,38	1401,112	0,039876	4,122493	2,043517
AT4G08910.1	2	11,0469	4,11E-05	3,866862	Cond. 2	Cond. 1	1094,117	106,2045	0,097069	4230,798	313,1698	0,074021	3,866862	1,951163
AT3G07390.1	7	35,5329	5,38E-06	3,582252	Cond. 2	Cond. 1	63652,58	4269,517	0,067075	228019,6	3603,171	0,015802	3,582252	1,840867
AT4G37020.1	2	9,8471	0,001355	3,55349	Cond. 2	Cond. 1	461,152	47,37785	0,102738	1638,699	407,7561	0,248829	3,55349	1,829237
AT3G54640.1	13	117,8111	0,015751	3,449719	Cond. 2	Cond. 1	22910,35	2550,728	0,111335	79034,26	32366,92	0,40953	3,449719	1,786479
AT2G44790.1	8	53,9309	2,46E-06	3,428703	Cond. 2	Cond. 1	72414,09	1198,046	0,016544	248286,4	12596,23	0,050733	3,428703	1,777663
AT5G39580.1	7	52,1617	1,65E-05	3,301877	Cond. 2	Cond. 1	10327,07	185,7307	0,017985	34098,72	2867,042	0,084081	3,301877	1,723286
AT3G48890.1	2	11,8761	0,000142	3,260987	Cond. 2	Cond. 1	3858,062	324,5591	0,084125	12581,09	1415,927	0,112544	3,260987	1,705309
AT2G01780.1	2	11,0057	0,032989	3,255002	Cond. 2	Cond. 1	293,2974	148,2817	0,505568	954,6838	365,838	0,383203	3,255002	1,702659
AT1G24040.1	5	28,8088	0,000786	3,209093	Cond. 2	Cond. 1	1162,601	179,3991	0,154308	3730,894	575,5089	0,154255	3,209093	1,682165
AT3G04720.1	7	52,9927	1,85E-06	3,202082	Cond. 2	Cond. 1	21140,51	342,5737	0,016205	67693,64	3054,626	0,045124	3,202082	1,67901
AT4G22470.1	2	11,8565	0,013944	3,087725	Cond. 2	Cond. 1	10189,42	1710,292	0,16785	31462,14	13946,45	0,443277	3,087725	1,626544
AT5G15490.1	8	44,8257	0,002644	3,047148	Cond. 2	Cond. 1	1152,822	299,7349	0,260001	3512,819	329,8443	0,093897	3,047148	1,60746
AT5G54160.1	23	214,8519	6,72E-08	3,038163	Cond. 2	Cond. 1	154650,6	2488,47	0,016091	469853,6	5426,343	0,011549	3,038163	1,603199
AT3G46270.1	3	16,872	1,61E-05	3,011416	Cond. 2	Cond. 1	13925,88	814,5012	0,058488	41936,6	2195,169	0,052345	3,011416	1,590442
AT3G45920.1	4	22,4266	0,038722	2,953681	Cond. 2	Cond. 1	3950,987	1723,442	0,436205	11669,96	5752,008	0,49289	2,953681	1,562514
AT3G05530.1	6	33,3006	0,000978	2,943558	Cond. 2	Cond. 1	6238,768	1019,196	0,163365	18364,18	2377,175	0,129446	2,943558	1,557561

AT2G44770.1	2	17,5206	7,76E-05	2,881987	Cond. 2	Cond. 1	6301,944	629,4872	0,099888	18162,12	973,4164	0,053596	2,881987	1,527064
AT5G59340.1	4	27,3384	0,009978	2,872167	Cond. 2	Cond. 1	1280,578	104,2986	0,081446	3678,034	1329,243	0,3614	2,872167	1,52214
AT5G11670.1	23	189,1258	6,85E-05	2,807639	Cond. 2	Cond. 1	150895,5	1269,305	0,008412	423660	45123,47	0,106509	2,807639	1,489357
AT5G37600.1	15	121,2929	7,88E-07	2,706965	Cond. 2	Cond. 1	19971,95	590,0932	0,029546	54063,37	761,6427	0,014088	2,706965	1,436676
AT5G63980.1	3	16,5128	5,05E-05	2,702514	Cond. 2	Cond. 1	10119,49	486,0731	0,048033	27348,06	2189,219	0,08005	2,702514	1,434302
AT2G07732.1	10	72,7716	0,004402	2,672418	Cond. 2	Cond. 1	170,2537	17,60655	0,103414	454,9892	124,5604	0,273766	2,672418	1,418146
AT5G54810.1	11	69,6347	0,000267	2,64729	Cond. 2	Cond. 1	44610,98	1361,609	0,030522	118098,2	16428,33	0,139107	2,64729	1,404516
AT5G19140.1	4	24,291	0,000131	2,627246	Cond. 2	Cond. 1	1561,931	75,17216	0,048128	4103,577	427,5832	0,104198	2,627246	1,393551
AT1G03220.1	15	106,2989	1,52E-05	2,524802	Cond. 2	Cond. 1	29564,12	500,0386	0,016914	74643,56	4538,165	0,060798	2,524802	1,336171
AT4G34050.1	17	131,0199	7,35E-05	2,476047	Cond. 2	Cond. 1	152481,6	2531,075	0,016599	377551,5	35321,17	0,093553	2,476047	1,308039
AT3G06483.1	2	10,2564	0,000409	2,443313	Cond. 2	Cond. 1	1200,648	96,23865	0,080156	2933,559	337,7594	0,115136	2,443313	1,288839
AT5G06320.1	2	12,6453	1,26E-05	2,395457	Cond. 2	Cond. 1	12132,48	605,8264	0,049934	29062,84	802,3558	0,027608	2,395457	1,260301
AT4G37870.1	5	27,2039	0,030325	2,363183	Cond. 2	Cond. 1	4337,514	389,9992	0,089913	10250,34	4036,861	0,393827	2,363183	1,240731
AT4G34960.1	4	30,9404	0,005204	2,343787	Cond. 2	Cond. 1	1941,604	58,53937	0,03015	4550,706	1214,85	0,266959	2,343787	1,228842
AT4G38630.1	4	23,6632	0,001351	2,284111	Cond. 2	Cond. 1	2033,945	216,2796	0,106335	4645,757	670,9422	0,14442	2,284111	1,191633
AT2G26660.1	2	10,7601	0,000159	2,260278	Cond. 2	Cond. 1	7330,787	271,8892	0,037089	16569,62	1531,49	0,092428	2,260278	1,1765
AT5G63860.1	7	45,2922	4,99E-05	2,26018	Cond. 2	Cond. 1	20556,22	974,3567	0,0474	46460,76	2765,807	0,05953	2,26018	1,176438
AT3G17940.1	5	30,2767	1,13E-05	2,249258	Cond. 2	Cond. 1	22284,24	937,4924	0,04207	50123	1588,795	0,031698	2,249258	1,169449
AT2G23930.1	4	22,1548	2,07E-05	2,244412	Cond. 2	Cond. 1	43827,41	2296,553	0,0524	98366,77	3021,43	0,030716	2,244412	1,166338
AT2G30870.1	14	116,3848	0,000185	2,243352	Cond. 2	Cond. 1	207722,7	14686,67	0,070703	465995,1	35925,28	0,077094	2,243352	1,165656
AT3G12580.1	26	195,3906	0,01939	2,197248	Cond. 2	Cond. 1	25077,1	241,6424	0,009636	55100,61	20180,45	0,366247	2,197248	1,135698
AT4G11600.1	4	22,6859	5,84E-05	2,189646	Cond. 2	Cond. 1	5559,09	88,10879	0,015849	12172,44	908,9892	0,074676	2,189646	1,130698
AT5G17310.2	18	111,66	0,00031	2,166027	Cond. 2	Cond. 1	17979,8	995,1383	0,055348	38944,73	3836,632	0,098515	2,166027	1,115051
AT1G09640.1	7	47,7648	0,001414	2,132828	Cond. 2	Cond. 1	5156,824	69,63883	0,013504	10998,62	1882,969	0,1712	2,132828	1,092768
AT5G39320.1	6	40,1173	0,005035	2,114685	Cond. 2	Cond. 1	549,1566	115,2416	0,209852	1161,293	82,55468	0,071089	2,114685	1,080443
AT4G02520.1	21	150,9005	1,46E-05	2,111313	Cond. 2	Cond. 1	256225,1	7342,08	0,028655	540971,4	22820,05	0,042183	2,111313	1,078141
AT1G77510.1	18	127,9888	0,000136	2,1034	Cond. 2	Cond. 1	61416,77	1195,958	0,019473	129184,1	10995,75	0,085117	2,1034	1,072724
AT5G27380.1	3	17,2041	0,000176	2,089445	Cond. 2	Cond. 1	12917,11	362,7756	0,028085	26989,59	2453,935	0,090922	2,089445	1,06312

AT1G11870.2	4	21,3748	0,009897	2,070589	Cond. 2	Cond. 1	11335,35	1105,294	0,097509	23470,85	6147,224	0,261909	2,070589	1,050041
AT5G11420.1	8	59,6746	0,005594	2,068686	Cond. 2	Cond. 1	400,1814	62,5647	0,156341	827,8496	134,0994	0,161985	2,068686	1,048715
AT5G17000.1	7	42,9371	0,001114	2,051939	Cond. 2	Cond. 1	7820,868	674,8471	0,086288	16047,94	1891,345	0,117856	2,051939	1,036988
AT5G16970.1	9	60,6039	0,000246	1,923559	Cond. 2	Cond. 1	29438,97	1650,186	0,056054	56627,61	4053,837	0,071588	1,923559	0,943778
AT4G34200.1	15	112,324	0,000522	1,921114	Cond. 2	Cond. 1	95481,81	2247,169	0,023535	183431,5	20250,5	0,110398	1,921114	0,941943
AT3G16530.1	14	141,6226	0,001769	1,910811	Cond. 2	Cond. 1	34995,52	1725,352	0,049302	66869,82	9531,621	0,14254	1,910811	0,934185
AT4G35630.1	17	118,8723	3,06E-05	1,9096	Cond. 2	Cond. 1	48734,9	1398,785	0,028702	93064,16	4204,634	0,04518	1,9096	0,933271
AT2G45300.1	3	17,5538	0,00049	1,909373	Cond. 2	Cond. 1	7236,512	330,4563	0,045665	13817,2	1352,502	0,097885	1,909373	0,933099
AT1G74100.1	7	44,6317	0,004111	1,908032	Cond. 2	Cond. 1	12499,06	1066,083	0,085293	23848,61	4047,085	0,169699	1,908032	0,932085
AT5G20230.1	2	11,2325	0,002166	1,906559	Cond. 2	Cond. 1	7388,285	321,5604	0,043523	14086,21	2108,384	0,149677	1,906559	0,930972
AT4G30280.1	5	30,1877	1,83E-05	1,877607	Cond. 2	Cond. 1	13244,58	542,3252	0,040947	24868,11	486,588	0,019567	1,877607	0,908895
AT5G38900.1	2	17,2858	3,24E-05	1,857697	Cond. 2	Cond. 1	7130,186	231,7358	0,032501	13245,72	542,8317	0,040982	1,857697	0,893515
AT2G25970.1	2	12,6642	0,000941	1,84114	Cond. 2	Cond. 1	2854,121	274,9731	0,096342	5254,837	371,6326	0,070722	1,84114	0,8806
AT4G08850.1	18	96,5361	0,000712	1,833757	Cond. 2	Cond. 1	36655,69	2563,081	0,069923	67217,64	5908,52	0,087901	1,833757	0,874803
AT1G48850.1	12	81,3948	8,94E-05	1,822744	Cond. 2	Cond. 1	89945,67	3726,314	0,041429	163947,9	8111,149	0,049474	1,822744	0,866112
AT1G65970.1	6	49,1371	0,020246	1,820003	Cond. 2	Cond. 1	5102,637	710,7613	0,139293	9286,816	2025,061	0,218058	1,820003	0,863941
AT5G48840.1	3	16,8058	0,024231	1,806201	Cond. 2	Cond. 1	1411,255	173,4506	0,122905	2549,009	637,539	0,250113	1,806201	0,852958
AT5G19220.1	13	71,717	0,026464	1,805553	Cond. 2	Cond. 1	13123,38	287,3638	0,021897	23694,95	6955,978	0,293564	1,805553	0,852441
AT1G52540.1	2	10,7217	0,00561	1,797608	Cond. 2	Cond. 1	4533,455	532,5662	0,117475	8149,376	1243,348	0,15257	1,797608	0,846079
AT4G35260.1	3	16,404	0,047557	1,794743	Cond. 2	Cond. 1	5321,082	129,8547	0,024404	9549,974	3169,402	0,331875	1,794743	0,843777
AT2G37790.1	2	11,0685	0,007926	1,763071	Cond. 2	Cond. 1	770,2206	120,5909	0,156567	1357,953	170,9437	0,125883	1,763071	0,81809
AT4G27000.1	6	36,0849	0,000305	1,760915	Cond. 2	Cond. 1	19862,45	681,0936	0,034291	34976,08	2663,751	0,076159	1,760915	0,816325
AT4G30530.1	3	16,8585	0,001486	1,75025	Cond. 2	Cond. 1	10543,82	429,4585	0,040731	18454,31	2186,173	0,118464	1,75025	0,807561
AT4G09940.1	3	15,5016	0,035543	1,746589	Cond. 2	Cond. 1	4013,569	1116,796	0,278255	7010,054	1110,664	0,158439	1,746589	0,80454
AT5G03630.1	9	60,8644	0,000513	1,744025	Cond. 2	Cond. 1	15267,25	1011,263	0,066237	26626,47	1819,007	0,068316	1,744025	0,80242
AT3G02230.1	24	188,8222	9,86E-05	1,717373	Cond. 2	Cond. 1	67978,94	1055,823	0,015532	116745,2	6857,828	0,058742	1,717373	0,780203
AT3G16470.1	16	123,5235	0,000758	1,716021	Cond. 2	Cond. 1	55960,3	3237,882	0,05786	96029,06	7762,454	0,080834	1,716021	0,779067
AT3G43570.1	4	21,9149	0,000919	1,715145	Cond. 2	Cond. 1	3883,329	214,3117	0,055188	6660,475	587,9674	0,088277	1,715145	0,778331

AT1G80460.2	3	16,7907	0,004526	1,679913	Cond. 2	Cond. 1	7254,655	463,8863	0,063943	12187,19	1762,102	0,144586	1,679913	0,748386
AT3G18490.1	6	35,2373	0,030695	1,657689	Cond. 2	Cond. 1	5768,87	1011,443	0,175328	9562,993	1790,692	0,187252	1,657689	0,729173
AT5G26667.1	2	18,8612	0,000313	1,650075	Cond. 2	Cond. 1	6513,933	483,5204	0,074229	10748,48	50,36332	0,004686	1,650075	0,722532
AT3G19450.1	5	34,0949	0,002128	1,644598	Cond. 2	Cond. 1	14052,14	1543,682	0,109854	23110,13	1114,536	0,048227	1,644598	0,717735
AT1G19580.1	4	30,3527	0,013099	1,642923	Cond. 2	Cond. 1	2853,335	209,5235	0,073431	4687,81	895,6957	0,191069	1,642923	0,716265
AT4G00290.1	3	16,5532	0,0087	1,634025	Cond. 2	Cond. 1	7421,536	620,3141	0,083583	12126,98	1942,716	0,160198	1,634025	0,70843
AT3G63540.1	5	38,4304	0,001346	1,625868	Cond. 2	Cond. 1	15819,91	1059,798	0,066991	25721,09	2065,654	0,08031	1,625868	0,70121
AT1G11910.1	20	142,535	0,000322	1,624069	Cond. 2	Cond. 1	140123,8	5195,735	0,03708	227570,7	14456,47	0,063525	1,624069	0,699613
AT3G46940.1	3	17,7586	0,045881	1,622683	Cond. 2	Cond. 1	3626,531	530,1849	0,146196	5884,708	1448,473	0,246142	1,622683	0,698381
AT2G47730.1	23	195,1389	6,78E-05	1,614848	Cond. 2	Cond. 1	196272	8059,786	0,041064	316949,4	7960,312	0,025115	1,614848	0,691398
AT3G48690.1	6	41,3979	6,28E-06	1,609177	Cond. 2	Cond. 1	37978,53	564,0066	0,014851	61114,17	1340,101	0,021928	1,609177	0,686323
AT2G04700.1	2	16,8531	0,008899	1,607114	Cond. 2	Cond. 1	4649,125	444,4726	0,095603	7471,675	1006,982	0,134773	1,607114	0,684472
AT2G47400.1	4	33,1954	0,000242	1,601617	Cond. 2	Cond. 1	69172,57	2802,449	0,040514	110788	5699,65	0,051446	1,601617	0,679529
AT5G11680.1	2	17,8015	0,000831	1,593225	Cond. 2	Cond. 1	6363,561	229,8478	0,036119	10138,58	826,8662	0,081556	1,593225	0,67195
AT4G01070.1	3	16,8162	0,00737	1,587757	Cond. 2	Cond. 1	2833,46	174,352	0,061533	4498,845	632,27	0,140541	1,587757	0,66699
AT5G14740.5	30	249,612	0,006477	1,586809	Cond. 2	Cond. 1	4257,131	26,40374	0,006202	6755,254	1048,606	0,155228	1,586809	0,666129
AT2G19570.1	3	17,6156	0,004332	1,579058	Cond. 2	Cond. 1	4265,51	341,7727	0,080125	6735,487	743,484	0,110383	1,579058	0,659064
AT3G49860.1	6	31,1786	0,002084	1,555231	Cond. 2	Cond. 1	2894,14	228,5663	0,078976	4501,058	345,0988	0,076671	1,555231	0,637129
AT2G36880.1	25	242,7666	0,000167	1,554144	Cond. 2	Cond. 1	350458	14104,94	0,040247	544662,3	21353,3	0,039205	1,554144	0,63612
AT3G48000.1	21	169,6314	0,001625	1,552418	Cond. 2	Cond. 1	157983,2	11602,84	0,073443	245256,1	16658,27	0,067922	1,552418	0,634517
AT3G15356.1	17	137,6268	0,00793	1,544735	Cond. 2	Cond. 1	120925,8	4205,901	0,034781	186798,3	26239,05	0,140467	1,544735	0,627359
AT1G51420.1	2	10,1897	0,010442	1,541979	Cond. 2	Cond. 1	10613,63	981,0195	0,09243	16365,99	2303,254	0,140734	1,541979	0,624783
AT2G27510.1	4	36,3434	0,000533	1,539936	Cond. 2	Cond. 1	52010,42	3824,931	0,073542	80092,73	1330,737	0,016615	1,539936	0,622871
AT1G54000.1	8	46,1763	0,006953	1,534209	Cond. 2	Cond. 1	4849,988	315,7544	0,065104	7440,894	975,2869	0,131071	1,534209	0,617495
AT2G21660.1	11	108,9864	0,000508	1,533449	Cond. 2	Cond. 1	245943,9	4086,861	0,016617	377142,3	26370,52	0,069922	1,533449	0,61678
AT3G11830.1	2	11,1815	0,002815	1,53219	Cond. 2	Cond. 1	1898,184	169,3779	0,089232	2908,379	210,4455	0,072358	1,53219	0,615595
AT2G14170.1	19	103,3036	0,000412	1,528154	Cond. 2	Cond. 1	108473	4966,795	0,045788	165763,4	8294,033	0,050035	1,528154	0,61179
AT1G02500.1	28	243,5038	0,003073	1,525509	Cond. 2	Cond. 1	91139,49	824,2803	0,009044	139034,1	15908,04	0,114418	1,525509	0,609291

ATCG01060.1	12	94,6407	0,000386	1,517614	Cond. 2	Cond. 1	354407,5	9842,638	0,027772	537853,6	31588,42	0,058731	1,517614	0,601804
AT1G23820.2	4	28,9196	0,000685	1,513123	Cond. 2	Cond. 1	14333,13	753,119	0,052544	21687,78	1164,971	0,053716	1,513123	0,597529
AT1G17290.1	15	118,7834	0,000651	1,510804	Cond. 2	Cond. 1	104189	3341,239	0,032069	157409,2	10526,72	0,066875	1,510804	0,595317
AT2G43560.1	11	82,8759	0,003773	1,510059	Cond. 2	Cond. 1	111680,7	9795,774	0,087712	168644,5	13623,07	0,08078	1,510059	0,594605
AT2G31570.1	4	15,8259	0,002879	1,507223	Cond. 2	Cond. 1	176888,9	16217,17	0,09168	266610,9	16064,64	0,060255	1,507223	0,591892
AT5G42020.1	13	105,776	0,00761	1,506305	Cond. 2	Cond. 1	59484,02	6347,097	0,106703	89601,05	8140,639	0,090854	1,506305	0,591014
AT5G11520.1	16	96,369	0,000385	1,503681	Cond. 2	Cond. 1	27349,74	1483,525	0,054243	41125,28	1411,44	0,03432	1,503681	0,588499
AT1G49240.1	23	224,1875	0,01102	1,500341	Cond. 2	Cond. 1	29454,61	2914,278	0,098941	44191,96	5285,546	0,119604	1,500341	0,585291

Apêndice B - Tabela das proteínas diferencialmente acumuladas em raízes de *Arabidopsis thaliana* expostas à Flg22.

Accession	Peptide count	Confidence score	Anova (p)	Max fold change	Highest mean Cond.	Lowest mean Cond.	MEDIA_ CONTROLE (Cond. 1)	DESPAD_ CONTROLE (Cond. 1)	CV_ CONTROLE (Cond. 1)	MEDIA_ FLG (Cond. 2)	DESPAD_ FLG (Cond. 2)	CV_ FLG (Cond. 2)	RATIO_ FLGXCONTROLE	LOG2_ RATIO
AT5G65760.1	2	9,4601	0,011463	32,29667	Cond. 1	Cond. 2	155,0701	19,60388	0,126419	4,801426	4,318316	0,899382	0,030963	-5,01331
AT5G02500.1	24	176,1743	0,000267	3,464971	Cond. 1	Cond. 2	1672,647	79,44592	0,047497	482,7304	81,45725	0,168743	0,288603	-1,79284
AT1G47200.1	3	22,2039	0,037744	2,92086	Cond. 1	Cond. 2	206,7857	59,5418	0,28794	70,79618	32,35964	0,457082	0,342365	-1,54639
AT4G27000.1	2	11,3	8,73E-06	2,912915	Cond. 1	Cond. 2	14998,32	861,3385	0,057429	5148,903	152,9238	0,0297	0,343299	-1,54246
AT1G02930.1	7	39,8103	1,14E-06	2,828702	Cond. 1	Cond. 2	3874,57	59,89592	0,015459	1369,734	47,06863	0,034363	0,353519	-1,50014
AT3G15640.2	4	24,4267	0,021537	2,546748	Cond. 1	Cond. 2	169,5797	43,91973	0,258992	66,58676	22,27085	0,334464	0,392658	-1,34866
AT4G28520.1	14	120,6365	5,09E-06	2,505566	Cond. 1	Cond. 2	14996,32	376,9837	0,025138	5985,203	249,6555	0,041712	0,399111	-1,32514
AT1G20620.1	10	66,6397	2,27E-05	2,474561	Cond. 1	Cond. 2	21917	1252,515	0,057148	8856,923	352,3314	0,03978	0,404112	-1,30717
AT1G02920.1	10	55,5767	7,52E-05	2,294761	Cond. 1	Cond. 2	7950,559	293,6118	0,03693	3464,656	275,3034	0,079461	0,435775	-1,19834

AT3G09260.1	25	225,0674	2,81E-06	2,187954	Cond. 1	Cond. 2	343539,8	9508,577	0,027678	157014,2	3531,619	0,022492	0,457048	-1,12958
AT1G18970.1	2	13,5659	9,53E-05	2,136518	Cond. 1	Cond. 2	21917,52	1291,847	0,058941	10258,52	603,3923	0,058819	0,468051	-1,09526
AT1G12900.1	8	46,2637	0,0001	2,115744	Cond. 1	Cond. 2	3935,717	77,44529	0,019678	1860,205	152,243	0,081842	0,472647	-1,08117
AT4G21200.1	3	13,5336	0,00648	2,095956	Cond. 1	Cond. 2	1779,388	378,342	0,212625	848,9626	90,70858	0,106846	0,477109	-1,06761
AT1G35580.2	4	19,1741	0,02739	2,094772	Cond. 1	Cond. 2	156,1288	44,79914	0,286937	74,53258	18,20005	0,244189	0,477379	-1,06679
AT1G48030.1	4	24,7119	3,82E-05	2,077116	Cond. 1	Cond. 2	5625,142	264,9244	0,047096	2708,151	117,2486	0,043295	0,481437	-1,05458
AT3G01290.1	13	98,9077	1,29E-05	1,988866	Cond. 1	Cond. 2	80217,86	3473,194	0,043297	40333,46	536,1614	0,013293	0,502799	-0,99195
AT3G16390.1	10	56,0604	7,69E-05	1,898563	Cond. 1	Cond. 2	72075,11	4483,431	0,062205	37962,98	1018,142	0,026819	0,526714	-0,92491
AT1G61820.1	2	10,6056	6,17E-05	1,89078	Cond. 1	Cond. 2	1004,279	49,11879	0,04891	531,1451	20,56234	0,038713	0,528882	-0,91898
AT5G14780.1	15	98,1251	3,85E-06	1,866266	Cond. 1	Cond. 2	35804,53	459,1156	0,012823	19185,11	533,7152	0,027819	0,535829	-0,90015
AT4G02520.1	12	78,9803	2,33E-05	1,846986	Cond. 1	Cond. 2	56975,83	2404,27	0,042198	30848,01	691,8561	0,022428	0,541423	-0,88517
AT4G11150.1	10	54,7629	0,001182	1,841432	Cond. 1	Cond. 2	3492,377	394,5565	0,112977	1896,555	122,396	0,064536	0,543056	-0,88083
AT5G44610.1	3	15,5607	0,002937	1,829314	Cond. 1	Cond. 2	1614,864	175,9587	0,108962	882,7702	103,6183	0,117379	0,546653	-0,8713
AT2G42210.1	3	14,1559	3,50E-05	1,822041	Cond. 1	Cond. 2	1753,715	74,88056	0,042698	962,5005	26,90072	0,027949	0,548835	-0,86556
AT4G35090.1	7	35,6248	0,0032	1,810851	Cond. 1	Cond. 2	3382,483	361,5699	0,106895	1867,897	223,5606	0,119686	0,552227	-0,85667
ATCG00490.1	31	271,8041	2,35E-05	1,773918	Cond. 1	Cond. 2	356173,1	14095,5	0,039575	200783,3	4123,589	0,020538	0,563724	-0,82694
AT1G07920.1	10	56,8892	4,12E-05	1,747062	Cond. 1	Cond. 2	50958,75	2494,164	0,048945	29168,26	267,7117	0,009178	0,57239	-0,80493
AT1G65930.1	20	121,7103	7,54E-05	1,730967	Cond. 1	Cond. 2	38234,34	1786,9	0,046735	22088,43	734,2804	0,033243	0,577712	-0,79158
AT5G26280.2	13	81,8692	1,10E-05	1,712241	Cond. 1	Cond. 2	37111,77	736,1106	0,019835	21674,38	613,7573	0,028317	0,58403	-0,77589
AT4G20360.1	8	59,906	0,001453	1,711281	Cond. 1	Cond. 2	17275,18	1941,243	0,112372	10094,88	426,7194	0,042271	0,584358	-0,77508
AT1G07890.7	11	85,4284	3,33E-05	1,704128	Cond. 1	Cond. 2	48523,47	1999,749	0,041212	28474,08	513,45	0,018032	0,58681	-0,76903
AT3G05530.1	4	20,9791	0,000488	1,68415	Cond. 1	Cond. 2	3370,172	251,1127	0,07451	2001,111	91,6065	0,045778	0,593771	-0,75202
AT4G30270.1	3	15,3563	0,000923	1,655866	Cond. 1	Cond. 2	3900,646	337,1368	0,086431	2355,653	104,4727	0,04435	0,603914	-0,72759
AT5G59090.1	18	103,7683	9,19E-05	1,651972	Cond. 1	Cond. 2	59269,36	3112,506	0,052515	35877,95	599,4403	0,016708	0,605337	-0,72419
AT3G53430.1	6	40,2179	0,004012	1,645074	Cond. 1	Cond. 2	991,7638	84,91977	0,085625	602,8686	73,91515	0,122606	0,607875	-0,71815
AT5G27410.2	10	54,1728	2,04E-05	1,616138	Cond. 1	Cond. 2	20809,65	179,8604	0,008643	12876,16	448,6641	0,034845	0,618759	-0,69255
AT1G76180.1	4	22,014	0,002562	1,588676	Cond. 1	Cond. 2	2485,643	179,7632	0,072321	1564,6	153,4903	0,098102	0,629455	-0,66782
AT2G20420.1	14	80,2355	6,99E-06	1,576521	Cond. 1	Cond. 2	44287,42	1039,642	0,023475	28091,86	302,0129	0,010751	0,634308	-0,65674
AT1G50480.1	7	41,9016	0,000984	1,567062	Cond. 1	Cond. 2	4467,382	348,8408	0,078086	2850,801	121,4687	0,042609	0,638137	-0,64806
AT5G07440.1	22	155,7948	0,0006	1,555924	Cond. 1	Cond. 2	76701,31	5216,769	0,068014	49296,32	1758,804	0,035678	0,642705	-0,63777
AT2G33500.2	2	10,3438	0,005423	1,54156	Cond. 1	Cond. 2	3644,73	183,9585	0,050472	2364,312	310,4326	0,131299	0,648693	-0,62439
AT5G14200.1	13	85,4178	0,000141	1,538546	Cond. 1	Cond. 2	8020,81	243,4616	0,030354	5213,242	220,9274	0,042378	0,649964	-0,62157
AT1G22530.1	49	295,0848	0,000101	1,527314	Cond. 1	Cond. 2	104680,4	4775,617	0,045621	68538,85	956,9122	0,013962	0,654744	-0,611

AT1G78300.1	10	75,9406	0,002127	1,527236	Cond. 1	Cond. 2	1699,504	107,6125	0,06332	1112,797	90,6043	0,08142	0,654778	-0,61092
AT2G30870.1	9	65,8161	0,004059	1,510745	Cond. 1	Cond. 2	63173,69	7112,383	0,112585	41816,24	1381,452	0,033036	0,661925	-0,59526
AT5G37780.1	9	66,9916	0,000141	1,502537	Cond. 1	Cond. 2	9587,556	245,1119	0,025566	6380,912	274,2193	0,042975	0,665541	-0,5874
AT5G35590.1	7	36,6749	0,00825	4,017726	Cond. 2	Cond. 1	298,0834	98,63614	0,330901	1197,617	438,8029	0,366397	4,017726	2,006379
AT4G20020.2	2	17,2157	0,012216	3,226692	Cond. 2	Cond. 1	76,87019	32,59616	0,424042	248,0364	51,88973	0,209202	3,226692	1,690056
AT5G61030.1	3	24,2056	0,00054	2,984854	Cond. 2	Cond. 1	312,8881	45,91062	0,146732	933,9253	110,8213	0,118662	2,984854	1,57766
AT5G09530.1	4	20,8566	2,24E-05	2,598063	Cond. 2	Cond. 1	4138,874	305,2958	0,073763	10753,05	11,008	0,001024	2,598063	1,377436
AT3G25850.1	2	10,7282	5,96E-05	2,506392	Cond. 2	Cond. 1	2050,983	133,5421	0,065111	5140,567	312,5501	0,060801	2,506392	1,325612
AT2G35120.1	3	18,0403	0,02045	2,386923	Cond. 2	Cond. 1	110,3768	28,24303	0,255878	263,4609	81,69603	0,310088	2,386923	1,255152
AT1G64200.1	8	42,5922	0,000863	2,366755	Cond. 2	Cond. 1	1258,467	175,0417	0,139091	2978,483	255,4608	0,085769	2,366755	1,24291
AT4G13180.1	4	28,002	4,62E-05	2,335382	Cond. 2	Cond. 1	931,1422	65,93568	0,070812	2174,572	63,28451	0,029102	2,335382	1,223658
AT3G55620.1	5	26,0686	2,59E-05	2,327791	Cond. 2	Cond. 1	711,6878	42,78333	0,060115	1656,661	50,55951	0,030519	2,327791	1,218962
AT1G50570.1	3	16,8593	0,001818	2,292943	Cond. 2	Cond. 1	87,31776	2,049909	0,023476	200,2147	35,96711	0,179643	2,292943	1,197201
AT3G23830.1	5	32,3031	0,002645	2,290502	Cond. 2	Cond. 1	901,3138	166,6383	0,184884	2064,461	231,2136	0,111997	2,290502	1,195664
AT5G10070.1	2	10,9586	0,004312	2,290257	Cond. 2	Cond. 1	1528,373	366,5768	0,239848	3500,368	307,4686	0,087839	2,290257	1,19551
AT3G48170.1	4	24,4441	0,000702	2,27346	Cond. 2	Cond. 1	148,1011	17,22272	0,11629	336,7018	30,41767	0,09034	2,27346	1,184889
AT1G29350.1	2	10,4259	0,012645	2,251938	Cond. 2	Cond. 1	139,6424	42,03922	0,301049	314,466	19,30382	0,061386	2,251938	1,171167
AT3G19130.1	3	17,0257	0,005127	2,081131	Cond. 2	Cond. 1	302,2469	37,96208	0,1256	629,0153	124,6112	0,198105	2,081131	1,057368
AT3G08030.1	4	22,3333	0,001061	2,047553	Cond. 2	Cond. 1	417,9792	58,54823	0,140074	855,8346	35,94877	0,042004	2,047553	1,033901
AT3G49110.1	14	90,1771	0,012328	2,039579	Cond. 2	Cond. 1	588,9124	126,7593	0,215243	1201,133	249,6133	0,207815	2,039579	1,028271
AT5G64120.1	22	225,1111	1,58E-07	2,030173	Cond. 2	Cond. 1	117707	304,1018	0,002584	238965,6	3693,441	0,015456	2,030173	1,021603
AT4G02800.1	3	12,2744	0,00081	2,026417	Cond. 2	Cond. 1	1086,724	121,466	0,111773	2202,156	159,9419	0,07263	2,026417	1,018931
AT1G01770.1	4	18,0524	0,001933	2,01825	Cond. 2	Cond. 1	347,2216	57,69945	0,166175	700,7801	37,04782	0,052867	2,01825	1,013105
AT3G23810.1	10	50,2717	9,12E-05	2,013331	Cond. 2	Cond. 1	16165,16	1091,936	0,067549	32545,82	1209,358	0,037159	2,013331	1,009584
AT1G58983.1	4	19,1992	0,000217	1,978717	Cond. 2	Cond. 1	1468,028	119,7149	0,081548	2904,812	117,949	0,040605	1,978717	0,984565
AT1G06030.1	11	64,0402	0,003121	1,932476	Cond. 2	Cond. 1	572,3065	66,34252	0,115921	1105,969	145,9599	0,131975	1,932476	0,95045
AT2G14740.1	3	13,435	0,009861	1,868331	Cond. 2	Cond. 1	447,0299	101,0456	0,226038	835,1998	84,49315	0,101165	1,868331	0,90175
AT5G19960.1	3	21,8717	0,012145	1,860378	Cond. 2	Cond. 1	426,3569	98,65391	0,231388	793,185	41,06321	0,05177	1,860378	0,895596
AT5G47870.1	3	17,2769	0,000211	1,847586	Cond. 2	Cond. 1	655,392	49,97253	0,076248	1210,893	34,44883	0,028449	1,847586	0,885642
AT3G49120.1	22	199,3659	7,31E-05	1,81885	Cond. 2	Cond. 1	38447,37	1787,734	0,046498	69930	2795,367	0,039974	1,81885	0,863026
AT5G23820.1	2	10,5597	0,000477	1,813446	Cond. 2	Cond. 1	2173,21	218,4441	0,100517	3940,998	62,99614	0,015985	1,813446	0,858734
AT1G72230.1	2	12,5878	0,000516	1,812449	Cond. 2	Cond. 1	4272,67	421,3144	0,098607	7743,996	218,4732	0,028212	1,812449	0,85794
AT2G31670.1	4	20,3081	0,013072	1,79644	Cond. 2	Cond. 1	700,1534	133,1979	0,190241	1257,783	182,1302	0,144803	1,79644	0,84514

AT3G16410.1	13	97,2254	0,004051	1,778057	Cond. 2	Cond. 1	11797,38	653,3278	0,055379	20976,41	3219,125	0,153464	1,778057	0,830301
AT3G60340.1	2	10,8825	0,020015	1,769771	Cond. 2	Cond. 1	88,78993	12,95997	0,145962	157,1379	32,82308	0,208881	1,769771	0,823563
AT5G19140.2	2	10,4211	0,021352	1,761039	Cond. 2	Cond. 1	657,9278	100,6412	0,152967	1158,636	248,5936	0,214557	1,761039	0,816426
AT2G10940.1	4	34,4676	0,011133	1,759015	Cond. 2	Cond. 1	4186,659	964,0549	0,230268	7364,396	347,4536	0,04718	1,759015	0,814768
AT5G54900.1	2	11,7149	0,000275	1,752303	Cond. 2	Cond. 1	2348,974	151,0105	0,064288	4116,115	205,2627	0,049868	1,752303	0,809252
AT4G31840.1	7	37,2968	7,46E-05	1,746277	Cond. 2	Cond. 1	4853,498	249,8112	0,05147	8475,551	216,2072	0,02551	1,746277	0,804282
AT1G10960.1	2	11,693	0,000122	1,742339	Cond. 2	Cond. 1	2539,195	126,0914	0,049658	4424,138	186,3079	0,042112	1,742339	0,801025
AT2G17200.1	8	43,9556	0,002209	1,736977	Cond. 2	Cond. 1	1118,456	135,5451	0,121189	1942,731	107,0453	0,0551	1,736977	0,796579
AT1G64740.1	19	132,8176	0,011016	1,711817	Cond. 2	Cond. 1	988,1347	146,2797	0,148036	1691,505	261,8143	0,154782	1,711817	0,775528
AT4G16190.1	7	41,7959	0,001975	1,691069	Cond. 2	Cond. 1	5032,923	290,8191	0,057783	8511,02	971,1815	0,114109	1,691069	0,757935
AT3G44100.1	3	25,9546	0,017062	1,676566	Cond. 2	Cond. 1	1522,193	292,152	0,191928	2552,058	352,5123	0,138129	1,676566	0,745509
AT5G20630.1	6	56,4653	7,4E-07	1,668561	Cond. 2	Cond. 1	21694,25	278,1691	0,012822	36198,17	385,8204	0,010659	1,668561	0,738604
AT1G16220.1	4	20,1839	0,024281	1,664479	Cond. 2	Cond. 1	712,5782	174,9743	0,245551	1186,071	133,4794	0,112539	1,664479	0,735071
AT5G54770.1	8	52,598	1,46E-06	1,623547	Cond. 2	Cond. 1	9617,175	142,1925	0,014785	15613,93	177,2133	0,01135	1,623547	0,699149
ATCG00020.1	4	27,9616	8,2E-05	1,622515	Cond. 2	Cond. 1	16654,49	766,1675	0,046004	27022,15	598,7349	0,022157	1,622515	0,698231
AT4G11190.1	3	15,9506	0,002085	1,612655	Cond. 2	Cond. 1	902,6598	82,52251	0,091421	1455,678	102,6236	0,070499	1,612655	0,689437
AT1G54860.1	6	38,69	2,94E-05	1,610914	Cond. 2	Cond. 1	26310,49	1003,934	0,038157	42383,95	360,1751	0,008498	1,610914	0,687888
AT2G21660.1	11	83,9977	0,000126	1,607708	Cond. 2	Cond. 1	64281,36	3295,493	0,051267	103345,7	2543,918	0,024616	1,607708	0,685006
AT5G16590.1	8	42,9901	0,002646	1,606189	Cond. 2	Cond. 1	4174,422	413,4187	0,099036	6704,909	491,3795	0,073287	1,606189	0,683641
AT2G47130.1	6	38,0706	0,000607	1,602236	Cond. 2	Cond. 1	5368,894	412,5489	0,076841	8602,237	306,5573	0,035637	1,602236	0,680087
AT5G44340.1	29	217,939	0,000116	1,595799	Cond. 2	Cond. 1	12718,02	576,264	0,045311	20295,41	600,1094	0,029569	1,595799	0,674279
AT1G09750.1	2	11,0494	0,000753	1,59371	Cond. 2	Cond. 1	3434,589	161,0769	0,046898	5473,738	391,0336	0,071438	1,59371	0,672389
ATCG01060.1	3	23,0657	4,95E-05	1,575278	Cond. 2	Cond. 1	3480,36	125,1154	0,035949	5482,535	121,2703	0,022119	1,575278	0,655607
AT3G04400.2	3	16,8587	0,037612	1,573477	Cond. 2	Cond. 1	171,0426	32,99514	0,192906	269,1315	44,52717	0,165448	1,573477	0,653956
AT5G62740.1	6	32,6862	0,002739	1,569771	Cond. 2	Cond. 1	909,5793	101,2935	0,111363	1427,832	65,24942	0,045698	1,569771	0,650554
AT1G62480.1	5	48,5036	0,00443	1,558465	Cond. 2	Cond. 1	848,1504	110,1836	0,12991	1321,813	29,64569	0,022428	1,558465	0,640126
AT5G09810.1	23	225,1583	0,000607	1,551213	Cond. 2	Cond. 1	17302,96	1317,872	0,076165	26840,58	526,144	0,019603	1,551213	0,633397
AT1G62290.2	8	43,7447	0,001598	1,542711	Cond. 2	Cond. 1	553,6983	20,24282	0,036559	854,1967	78,06216	0,091387	1,542711	0,625468
AT3G16530.1	12	110,1298	8,34E-05	1,530483	Cond. 2	Cond. 1	21157,01	103,8639	0,004909	32380,45	1456,544	0,044982	1,530483	0,613987
AT1G54030.1	3	16,0719	0,02387	1,522109	Cond. 2	Cond. 1	554,3652	52,83947	0,095315	843,804	157,072	0,186148	1,522109	0,606071
AT5G11770.1	3	17,0394	0,000317	1,515469	Cond. 2	Cond. 1	10354,85	581,7081	0,056177	15692,45	385,2239	0,024548	1,515469	0,599764
AT2G22990.2	2	10,254	0,007155	1,515358	Cond. 2	Cond. 1	1351,001	144,4257	0,106903	2047,249	191,6882	0,093632	1,515358	0,599658
AT1G02140.1	3	15,4047	0,000636	1,5083	Cond. 2	Cond. 1	793,4735	28,14263	0,035468	1196,796	75,75191	0,063296	1,5083	0,592923

AT3G07320.1	4	27,0453	0,001134	1,501015	Cond. 2	Cond. 1	1120,986	45,43291	0,040529	1682,617	123,5415	0,073422	1,501015	0,585938
-------------	---	---------	----------	----------	---------	---------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

Apêndice C – Tabela das proteínas diferencialmente acumuladas em pontas de raízes de *Arabidopsis thaliana* expostas à Flg22.

Accession	Peptide count	Confidence score	Anova (p)	Max fold change	Highest mean Cond.	Lowest mean Cond.	MEDIA_ CONTROLE (Cond. 1)	DESVPAD_ CONTROLE (Cond. 1)	CV_ CONTROLE (Cond. 1)	MEDIA_ FLG (Cond. 2)	DESVPAD_ FLG (Cond. 2)	CV_ FLG (Cond. 2)	RATIO_ FLGXCONTROLE	LOG2_ RATIO
AT5G02260.1	4	22,5691	0,04618	54,81947	Cond. 1	Cond. 2	155,4527	127,2138	0,818344	2,83572	4,911611	1,732051	0,018242	-5,77662
AT1G69660.1	3	15,6963	0,001789	11,61798	Cond. 1	Cond. 2	1476,686	566,6887	0,383757	127,1035	41,61291	0,327394	0,086073	-3,53829
AT4G39200.1	5	28,2481	0,026191	10,61661	Cond. 1	Cond. 2	21,24419	7,36546	0,346705	2,001034	3,289525	1,643913	0,094192	-3,40825
AT2G19590.1	3	16,5258	0,002442	4,447322	Cond. 1	Cond. 2	5690,386	177,8594	0,031256	1279,508	511,5797	0,399825	0,224854	-2,15294
AT5G48630.1	2	8,8277	0,010042	3,268272	Cond. 1	Cond. 2	509,1188	74,3996	0,146134	155,7762	68,21675	0,437915	0,305972	-1,70853
AT1G03870.1	3	17,4882	0,001709	3,216611	Cond. 1	Cond. 2	36351,69	5444,794	0,149781	11301,24	2723,546	0,240995	0,310886	-1,68554
AT3G22460.1	4	32,2734	0,034993	2,734493	Cond. 1	Cond. 2	8364,08	3520,869	0,420951	3058,732	706,9438	0,231123	0,365699	-1,45127
AT5G44320.1	3	15,7141	0,024211	2,427746	Cond. 1	Cond. 2	1772,743	223,6038	0,126134	730,2011	324,7794	0,444781	0,411905	-1,27962
AT1G28290.2	6	63,365	0,000434	2,409281	Cond. 1	Cond. 2	124769,9	16140,16	0,129359	51787,17	3372,39	0,06512	0,415062	-1,2686
AT1G77120.1	12	78,2302	0,000558	2,294202	Cond. 1	Cond. 2	37323,31	2434,563	0,065229	16268,54	2163,339	0,132977	0,435881	-1,19799
AT4G00100.1	10	51,9887	0,001759	2,256094	Cond. 1	Cond. 2	5613,537	615,1713	0,109587	2488,167	387,7803	0,15585	0,443244	-1,17383
AT1G78150.1	2	17,0528	0,001225	2,188071	Cond. 1	Cond. 2	66921,59	4713,256	0,07043	30584,75	4412,013	0,144255	0,457024	-1,12966
AT2G20530.2	4	28,9671	0,030479	2,144757	Cond. 1	Cond. 2	4358,93	689,7118	0,15823	2032,365	809,1837	0,398149	0,466253	-1,10081
AT3G60770.1	11	58,7682	0,001706	2,100203	Cond. 1	Cond. 2	8376,646	152,777	0,018238	3988,494	665,8685	0,166947	0,476145	-1,07053
AT3G09680.1	4	27,7087	0,000116	2,079807	Cond. 1	Cond. 2	34267,09	2622,971	0,076545	16476,09	630,9742	0,038296	0,480814	-1,05645
AT1G41880.1	3	18,6079	0,002517	2,029399	Cond. 1	Cond. 2	8547,239	548,0037	0,064115	4211,71	688,0381	0,163363	0,492757	-1,02105
AT3G10950.1	2	12,3378	0,000455	2,000886	Cond. 1	Cond. 2	26740,77	1792,117	0,067018	13364,47	1196,733	0,089546	0,499779	-1,00064

AT5G02870.1	21	151,8025	0,005007	1,995699	Cond. 1	Cond. 2	14831,27	1911,326	0,128871	7431,617	1333,524	0,179439	0,501078	-0,99689
AT5G55940.1	3	16,5207	0,044527	1,910359	Cond. 1	Cond. 2	3467,198	356,0725	0,102697	1814,946	770,4818	0,424521	0,523462	-0,93384
AT5G39320.1	13	84,237	0,000538	1,83297	Cond. 1	Cond. 2	33716,22	2329,802	0,0691	18394,31	1428,87	0,07768	0,545563	-0,87418
AT3G04050.1	3	17,5249	0,003038	1,825842	Cond. 1	Cond. 2	1952,002	52,40526	0,026847	1069,097	173,6567	0,162433	0,547692	-0,86856
AT5G56720.1	8	54,2601	0,000372	1,824133	Cond. 1	Cond. 2	71277,75	5955,41	0,083552	39074,86	1644,951	0,042097	0,548206	-0,86721
AT2G18020.1	6	53,5314	0,007131	1,800495	Cond. 1	Cond. 2	15945,02	2253,35	0,14132	8855,909	1360,374	0,153612	0,555403	-0,84839
AT3G48340.1	3	16,7873	0,001629	1,774293	Cond. 1	Cond. 2	6293,117	441,7991	0,070204	3546,831	396,7313	0,111855	0,563605	-0,82724
AT3G04120.1	44	314,4448	0,026905	1,751033	Cond. 1	Cond. 2	211433,5	48579,8	0,229764	120747,8	19757,46	0,163626	0,571091	-0,80821
AT3G58500.1	2	10,6091	0,030601	1,715998	Cond. 1	Cond. 2	10245,63	1885,974	0,184076	5970,65	1374,481	0,230206	0,582751	-0,77905
AT5G15490.1	15	89,5377	0,001846	1,715647	Cond. 1	Cond. 2	12149,13	1303,181	0,107265	7081,365	491,1234	0,069354	0,58287	-0,77875
AT1G20010.1	25	182,7179	0,008867	1,713856	Cond. 1	Cond. 2	30784,5	4076,242	0,132412	17962,12	2609,341	0,145269	0,583479	-0,77725
AT3G04840.1	17	128,5246	0,000735	1,711611	Cond. 1	Cond. 2	109686,9	8447,318	0,077013	64084,03	4079,099	0,063652	0,584245	-0,77535
AT4G26530.2	8	75,2558	0,001472	1,711161	Cond. 1	Cond. 2	41159,23	3104,252	0,075421	24053,4	2252,633	0,093651	0,584399	-0,77498
AT4G36130.1	4	33,493	0,020365	1,705826	Cond. 1	Cond. 2	1961,536	214,1205	0,10916	1149,904	263,0752	0,22878	0,586226	-0,77047
AT5G19550.1	15	109,2482	0,000165	1,69824	Cond. 1	Cond. 2	117812,5	3889,573	0,033015	69373,29	4020,971	0,057961	0,588845	-0,76404
AT2G38040.1	6	37,7245	0,001123	1,68373	Cond. 1	Cond. 2	22051,08	1430,121	0,064855	13096,57	1126,78	0,086036	0,59392	-0,75166
AT1G65960.2	17	105,5614	0,002996	1,676002	Cond. 1	Cond. 2	18851,75	1137,143	0,06032	11248,04	1470,067	0,130695	0,596658	-0,74502
AT3G63380.1	6	31,8605	0,001323	1,63551	Cond. 1	Cond. 2	7333,391	249,2474	0,033988	4483,856	443,2619	0,098857	0,61143	-0,70974
AT1G33290.1	2	10,4057	8,51E-05	1,629364	Cond. 1	Cond. 2	37800,14	1012,566	0,026787	23199,32	1038,562	0,044767	0,613736	-0,70431
AT3G53890.1	2	18,3137	0,012967	1,619844	Cond. 1	Cond. 2	5957,372	1099,686	0,184592	3677,744	276,9616	0,075307	0,617343	-0,69585
AT5G15650.1	29	273,3872	0,004494	1,59961	Cond. 1	Cond. 2	267308,6	18609,47	0,069618	167108,6	21394,61	0,128028	0,625152	-0,67772
AT1G43170.2	11	81,0064	0,001074	1,580301	Cond. 1	Cond. 2	17876,24	1633,423	0,091374	11311,92	306,786	0,027121	0,632791	-0,6602
AT1G58380.1	17	129,8376	0,0027	1,567929	Cond. 1	Cond. 2	79741,87	5539,339	0,069466	50858,09	4755,409	0,093503	0,637784	-0,64886
AT2G34480.1	5	28,1424	0,007153	1,565107	Cond. 1	Cond. 2	36288,2	4896,317	0,134929	23185,77	1743,228	0,075185	0,638934	-0,64626
AT3G09630.1	16	122,0034	0,008945	1,561944	Cond. 1	Cond. 2	47002,1	6788,022	0,14442	30092,05	2224,377	0,073919	0,640228	-0,64334
AT5G20290.1	9	85,7254	0,000863	1,557235	Cond. 1	Cond. 2	91338,43	3722,651	0,040757	58654,23	4546,873	0,07752	0,642164	-0,63899
AT1G14320.1	10	62,817	0,000141	1,534238	Cond. 1	Cond. 2	55649,08	2704,393	0,048597	36271,47	688,4303	0,01898	0,651789	-0,61752
AT1G52760.1	8	45,4343	0,043122	1,527936	Cond. 1	Cond. 2	33200,35	7906,755	0,238153	21728,89	1679,497	0,077293	0,654478	-0,61158
AT4G24830.1	8	51,9638	0,001203	1,524486	Cond. 1	Cond. 2	44431,11	3743,325	0,08425	29144,97	956,2536	0,03281	0,655959	-0,60832
AT4G30170.1	23	174,2124	0,000304	1,523536	Cond. 1	Cond. 2	332877,2	15092,98	0,045341	218489,8	9518,019	0,043563	0,656368	-0,60742
AT5G20950.1	22	136,451	0,006645	1,522639	Cond. 1	Cond. 2	144222,7	10394,08	0,07207	94718,93	11926,94	0,125919	0,656755	-0,60657
AT3G03920.1	2	11,3566	0,000312	1,521207	Cond. 1	Cond. 2	15573,61	693,1637	0,044509	10237,67	448,3206	0,043791	0,657373	-0,60522
AT3G06050.1	4	28,5129	0,015049	1,516032	Cond. 1	Cond. 2	13378,93	950,8254	0,071069	8824,965	1511,177	0,171239	0,659617	-0,6003

AT1G62800.2	3	23,8425	0,01724	81,10478	Cond. 2	Cond. 1	8,506505	14,7337	1,732051	689,9182	470,049	0,681311	81,10478	6,341715
AT5G04680.1	4	28,477	0,008351	8,851443	Cond. 2	Cond. 1	26698,31	21823,34	0,817405	236318,6	39247,55	0,166079	8,851443	3,145913
AT2G44120.2	8	52,5143	0,004007	5,49505	Cond. 2	Cond. 1	18552,42	9057,955	0,488236	101946,5	24873,84	0,243989	5,49505	2,458133
AT3G05327.1	2	11,1263	0,01819	5,459494	Cond. 2	Cond. 1	171,92	98,50284	0,572957	938,5963	438,9872	0,467706	5,459494	2,448767
AT1G02930.2	14	110,4887	3,28E-05	5,426251	Cond. 2	Cond. 1	39857,41	5154,471	0,129323	216276,3	10568,35	0,048865	5,426251	2,439956
AT4G28470.1	5	28,9341	0,001716	5,204697	Cond. 2	Cond. 1	1263,312	405,894	0,321293	6575,158	913,2063	0,138887	5,204697	2,379814
AT1G70850.3	4	24,3959	1,14E-06	4,99003	Cond. 2	Cond. 1	16865,03	538,4621	0,031928	84156,99	4046,976	0,048088	4,99003	2,319048
AT2G01520.1	6	66,0588	4,04E-05	4,838957	Cond. 2	Cond. 1	6815,795	416,9597	0,061176	32981,34	4235,45	0,12842	4,838957	2,274696
AT1G52315.1	2	11,7335	0,005428	4,550393	Cond. 2	Cond. 1	1012,056	484,4663	0,478695	4605,253	366,4443	0,079571	4,550393	2,185991
AT5G23830.1	5	29,6236	0,001909	4,414539	Cond. 2	Cond. 1	3030,594	829,093	0,273574	13378,67	2752,168	0,205713	4,414539	2,142263
AT3G16450.2	6	36,5192	7,78E-06	4,11289	Cond. 2	Cond. 1	9338,808	651,0152	0,069711	38409,49	1686,222	0,043901	4,11289	2,040153
AT5G39850.1	6	25,4175	0,018173	3,660652	Cond. 2	Cond. 1	2229,922	706,879	0,316997	8162,97	3244,893	0,397514	3,660652	1,872101
AT2G35040.1	2	10,4158	0,007535	3,305437	Cond. 2	Cond. 1	1004,799	410,9236	0,408961	3321,3	620,5568	0,186842	3,305437	1,724841
AT2G17720.1	5	27,2965	3,74E-06	3,095872	Cond. 2	Cond. 1	21829,02	603,5499	0,027649	67579,85	3205,299	0,04743	3,095872	1,630346
AT1G78970.2	3	16,8463	0,006418	3,069968	Cond. 2	Cond. 1	649,6125	262,8856	0,404681	1994,29	165,7919	0,083133	3,069968	1,618224
AT1G02920.1	17	115,2489	0,000369	3,024207	Cond. 2	Cond. 1	38118,77	552,971	0,014507	115279	18899,58	0,163946	3,024207	1,596557
AT1G50480.1	2	9,4232	0,030599	3,023602	Cond. 2	Cond. 1	842,0993	59,62207	0,070802	2546,173	1134,005	0,445376	3,023602	1,596268
AT4G34180.1	7	47,843	1E-05	2,980203	Cond. 2	Cond. 1	130264,6	2914,596	0,022374	388215	24465,79	0,063021	2,980203	1,575411
AT3G57250.1	3	21,3369	0,013765	2,941932	Cond. 2	Cond. 1	13053,49	2338,157	0,179121	38402,49	12962,19	0,337535	2,941932	1,556764
AT1G23070.1	3	26,2975	0,000742	2,897153	Cond. 2	Cond. 1	8029,201	1114,281	0,138779	23261,82	3090,057	0,132838	2,897153	1,534636
AT5G46630.1	2	10,5648	0,007501	2,868635	Cond. 2	Cond. 1	875,4911	292,2287	0,333788	2511,464	210,2378	0,083711	2,868635	1,520364
AT2G38860.1	2	10,3116	0,014917	2,850278	Cond. 2	Cond. 1	350,985	38,69452	0,110246	1000,405	392,4923	0,392334	2,850278	1,511102
AT3G29250.2	9	54,3816	0,009671	2,64289	Cond. 2	Cond. 1	8440,729	1095,425	0,129778	22307,92	7488,294	0,335679	2,64289	1,402117
AT1G35160.1	19	159,0217	0,001169	2,527784	Cond. 2	Cond. 1	12414,11	1807,565	0,145606	31380,2	3711,886	0,118288	2,527784	1,337873
AT5G47700.1	4	29,9608	6,74E-05	2,502038	Cond. 2	Cond. 1	31084,51	623,7329	0,020066	77774,62	6933,871	0,089153	2,502038	1,323104
AT5G10450.1	14	127,2541	6,77E-06	2,451467	Cond. 2	Cond. 1	27482,59	841,2537	0,03061	67372,67	2732,807	0,040563	2,451467	1,293645
AT1G66200.1	17	140,574	0,000508	2,433916	Cond. 2	Cond. 1	94533,73	3173,645	0,033572	230087,2	32743,15	0,142308	2,433916	1,28328
AT1G62380.1	11	71,1943	0,000806	2,370332	Cond. 2	Cond. 1	87602,46	2736,646	0,031239	207646,9	31649,86	0,152422	2,370332	1,245089
AT5G23860.1	29	217,2166	0,028197	2,205884	Cond. 2	Cond. 1	2871,711	852,7125	0,296935	6334,662	1512,237	0,238724	2,205884	1,141357
AT4G00810.1	3	25,7637	0,011355	2,172482	Cond. 2	Cond. 1	13343,01	1899,24	0,14234	28987,45	8029,268	0,276991	2,172482	1,119344
AT1G62290.2	8	42,674	0,001252	2,158425	Cond. 2	Cond. 1	4164,493	499,5461	0,119954	8988,746	971,7284	0,108105	2,158425	1,109979
AT1G01100.1	3	41,2256	0,001341	2,152862	Cond. 2	Cond. 1	42481,15	6606,387	0,155513	91456,06	6965,109	0,076158	2,152862	1,106256
AT1G48960.1	2	11,3465	0,022983	2,149521	Cond. 2	Cond. 1	831,4651	269,907	0,324616	1787,252	282,5842	0,158111	2,149521	1,104015

AT5G08330.1	3	14,3229	0,043778	2,134545	Cond. 2	Cond. 1	1284,531	527,7775	0,410872	2741,889	544,8566	0,198716	2,134545	1,093929
AT3G45940.1	5	26,4079	0,00312	2,129461	Cond. 2	Cond. 1	1795,615	376,3623	0,209601	3823,692	239,8885	0,062737	2,129461	1,090488
AT3G51840.1	4	22,3284	0,020305	2,11169	Cond. 2	Cond. 1	3309,791	657,6189	0,198689	6989,254	1797,013	0,257111	2,11169	1,078398
AT2G01530.1	9	83,6754	0,001369	2,076122	Cond. 2	Cond. 1	21986,88	1113,229	0,050632	45647,45	6708,941	0,146973	2,076122	1,053891
AT4G12600.2	3	24,4017	0,000415	1,988744	Cond. 2	Cond. 1	2015,118	78,01353	0,038714	4007,553	423,0302	0,105558	1,988744	0,991857
AT4G02080.1	6	48,9937	0,000754	1,986852	Cond. 2	Cond. 1	3802,645	321,2383	0,084478	7555,295	728,6271	0,096439	1,986852	0,990485
AT3G57290.1	10	62,9056	0,003464	1,97929	Cond. 2	Cond. 1	18013,73	806,0902	0,044749	35654,4	6153,599	0,17259	1,97929	0,984983
AT5G39730.1	3	16,2412	0,001122	1,978165	Cond. 2	Cond. 1	829,6188	66,8117	0,080533	1641,123	185,267	0,11289	1,978165	0,984163
AT5G04740.1	5	29,8919	0,024938	1,974298	Cond. 2	Cond. 1	6425,417	1945,873	0,30284	12685,69	1481,416	0,116779	1,974298	0,98134
AT1G06400.1	4	29,8999	0,003664	1,964332	Cond. 2	Cond. 1	1261,331	197,6945	0,156735	2477,672	297,2089	0,119955	1,964332	0,974039
AT5G54810.1	7	39,9276	0,000226	1,951638	Cond. 2	Cond. 1	20783,02	590,4722	0,028411	40560,92	3582,41	0,088322	1,951638	0,964685
AT2G19940.1	6	46,3504	0,003892	1,951213	Cond. 2	Cond. 1	11845,6	1970,657	0,166362	23113,28	2587,7	0,111957	1,951213	0,964371
AT2G02930.1	11	95,1918	0,016696	1,939368	Cond. 2	Cond. 1	1135,437	214,0917	0,188554	2202,03	474,4629	0,215466	1,939368	0,955587
AT4G02520.1	18	176,6865	0,000173	1,934571	Cond. 2	Cond. 1	95373,66	6438,112	0,067504	184507,2	9433,099	0,051126	1,934571	0,952014
AT1G13930.1	3	23,6285	0,000281	1,933983	Cond. 2	Cond. 1	34387,71	1713,131	0,049818	66505,24	5386,277	0,08099	1,933983	0,951575
AT3G54640.1	7	48,9578	0,001461	1,898329	Cond. 2	Cond. 1	12563,88	499,1074	0,039726	23850,37	3209,313	0,13456	1,898329	0,92473
AT3G59760.1	9	57,4773	0,009128	1,8813	Cond. 2	Cond. 1	13622,85	1392,047	0,102185	25628,66	5151,463	0,201004	1,8813	0,91173
AT3G06850.1	3	21,0318	0,006031	1,88063	Cond. 2	Cond. 1	1973,811	383,2206	0,194153	3712,009	354,1515	0,095407	1,88063	0,911216
AT5G26290.1	12	81,5647	0,000585	1,877947	Cond. 2	Cond. 1	3682,295	227,5844	0,061805	6915,153	632,5395	0,091472	1,877947	0,909156
AT3G09260.1	36	277,2988	5,39E-05	1,865472	Cond. 2	Cond. 1	781935	36159,6	0,046244	1458678	53236,82	0,036497	1,865472	0,899541
AT1G16300.1	12	73,3329	0,034684	1,854443	Cond. 2	Cond. 1	24943,9	8676,55	0,347843	46257,04	2429,932	0,052531	1,854443	0,890986
AT3G02520.1	19	154,7404	0,000424	1,837972	Cond. 2	Cond. 1	8988,038	810,8022	0,090209	16519,76	569,2276	0,034457	1,837972	0,878115
AT1G30730.1	3	15,9186	0,006406	1,816949	Cond. 2	Cond. 1	5615,579	884,5104	0,15751	10203,22	1247,522	0,122268	1,816949	0,861518
AT1G09560.1	3	24,5403	0,02076	1,816262	Cond. 2	Cond. 1	13451,78	3054,244	0,227051	24431,96	3407,312	0,139461	1,816262	0,860973
AT5G41650.1	2	10,6153	0,013189	1,815749	Cond. 2	Cond. 1	3583,563	617,1778	0,172225	6506,849	1165,653	0,179142	1,815749	0,860564
AT2G27530.1	8	44,9363	0,025592	1,79197	Cond. 2	Cond. 1	2670,162	595,2273	0,222918	4784,851	915,5926	0,191352	1,79197	0,841547
AT2G01250.1	8	61,1933	0,00193	1,780806	Cond. 2	Cond. 1	25880,44	476,9325	0,018428	46088,04	5981,411	0,129782	1,780806	0,83253
AT1G71250.1	4	20,8985	0,036475	1,776091	Cond. 2	Cond. 1	7664,889	1682,254	0,219475	13613,54	2794,707	0,205289	1,776091	0,828706
AT3G24830.1	4	17,499	0,041515	1,76316	Cond. 2	Cond. 1	3263,235	272,7544	0,083584	5753,605	1804,827	0,313686	1,76316	0,818163
AT1G73260.1	4	40,4336	0,014644	1,756666	Cond. 2	Cond. 1	50073,57	10735,3	0,214391	87962,55	7968,457	0,090589	1,756666	0,81284
AT1G62820.1	7	46,1258	0,001093	1,753094	Cond. 2	Cond. 1	4249,17	454,0949	0,106867	7449,195	299,0315	0,040143	1,753094	0,809903
AT3G12260.1	2	19,2124	0,020662	1,732937	Cond. 2	Cond. 1	2770,244	332,6358	0,120075	4800,658	1088,477	0,226735	1,732937	0,793219
AT3G46700.1	3	15,0652	0,035877	1,730548	Cond. 2	Cond. 1	1393,83	409,919	0,294095	2412,09	375,6118	0,15572	1,730548	0,791229

AT2G38380.1	8	58,6913	0,040764	1,724038	Cond. 2	Cond. 1	6896,607	1556,193	0,225646	11890,01	2555,013	0,214887	1,724038	0,785792
AT4G09000.1	23	186,7026	0,000219	1,713267	Cond. 2	Cond. 1	44107,38	3091,384	0,070088	75567,7	1907,266	0,025239	1,713267	0,77675
AT4G30530.1	4	23,9529	0,012176	1,707954	Cond. 2	Cond. 1	9257,716	2138,03	0,230946	15811,75	146,9909	0,009296	1,707954	0,772269
AT4G37070.4	6	34,7369	0,0044	1,706306	Cond. 2	Cond. 1	10721,14	1545,928	0,144194	18293,55	1361,45	0,074422	1,706306	0,770876
AT5G28840.1	4	27,1354	0,012344	1,706191	Cond. 2	Cond. 1	9798,572	1891,726	0,193061	16718,23	1211,002	0,072436	1,706191	0,770779
AT1G72730.1	18	147,553	0,001463	1,703982	Cond. 2	Cond. 1	3753,775	376,2624	0,100236	6396,365	425,8116	0,066571	1,703982	0,76891
AT2G43910.2	7	63,05	0,006484	1,692316	Cond. 2	Cond. 1	29464,32	4020,752	0,136462	49862,94	5760,212	0,115521	1,692316	0,758999
AT1G22300.2	9	69,9922	0,002172	1,684193	Cond. 2	Cond. 1	52194,93	6169,434	0,1182	87906,31	5059,514	0,057556	1,684193	0,752057
AT2G37170.1	9	76,0625	0,006789	1,672022	Cond. 2	Cond. 1	15742,17	1583,798	0,100609	26321,26	3567,778	0,135547	1,672022	0,741594
AT2G21870.2	8	45,9014	0,000156	1,661597	Cond. 2	Cond. 1	29386,27	905,8702	0,030826	48828,14	2661,112	0,0545	1,661597	0,73257
AT3G48890.1	2	11,8298	0,00276	1,634942	Cond. 2	Cond. 1	6449,7	133,4457	0,02069	10544,88	1355,704	0,128565	1,634942	0,709239
AT5G54500.1	9	84,5299	0,000249	1,630325	Cond. 2	Cond. 1	128197,3	8953,516	0,069842	209003,2	1069,147	0,005115	1,630325	0,705159
AT1G20630.1	8	45,782	0,008767	1,626212	Cond. 2	Cond. 1	6575,028	769,5663	0,117044	10692,39	1384,454	0,12948	1,626212	0,701515
AT2G21620.1	9	60,4052	4,13E-05	1,623474	Cond. 2	Cond. 1	24830,64	815,6883	0,03285	40311,9	1127,15	0,027961	1,623474	0,699084
AT1G78380.1	9	80,9855	1,42E-05	1,615358	Cond. 2	Cond. 1	87209,71	2837,697	0,032539	140874,9	675,3502	0,004794	1,615358	0,691854
AT3G11710.1	7	42,2532	0,028871	1,592381	Cond. 2	Cond. 1	5875,781	1203,307	0,204791	9356,481	1314,133	0,140452	1,592381	0,671185
AT1G23030.1	2	11,8712	0,001682	1,59019	Cond. 2	Cond. 1	18442,42	1002,427	0,054354	29326,95	2626,266	0,089551	1,59019	0,669199
AT3G12580.1	30	233,7569	0,00138	1,587334	Cond. 2	Cond. 1	5146,762	504,7105	0,098064	8169,633	273,7473	0,033508	1,587334	0,666606
AT2G47730.1	19	158,444	0,000174	1,576848	Cond. 2	Cond. 1	138641,2	7502,019	0,054111	218616,2	4588,497	0,020989	1,576848	0,657044
AT3G15950.1	23	158,0837	0,000334	1,562561	Cond. 2	Cond. 1	160139,9	7653,413	0,047792	250228,4	11695,58	0,04674	1,562561	0,643912
AT3G16420.1	19	176,8092	9,52E-05	1,561704	Cond. 2	Cond. 1	134770,5	5428,412	0,040279	210471,7	5728,276	0,027216	1,561704	0,643121
AT3G20390.1	7	51,2839	1,06E-05	1,556292	Cond. 2	Cond. 1	56037,19	706,53	0,012608	87210,23	2187,363	0,025081	1,556292	0,638113
AT5G16050.1	18	151,9243	0,000124	1,553805	Cond. 2	Cond. 1	55850,36	2412,753	0,0432	86780,59	2439,046	0,028106	1,553805	0,635806
AT5G04590.1	14	83,0247	0,002204	1,547619	Cond. 2	Cond. 1	104094,1	10220,06	0,098181	161097,9	6446,887	0,040018	1,547619	0,63005
AT4G15920.1	2	11,213	0,009546	1,542384	Cond. 2	Cond. 1	2327,587	367,7616	0,158001	3590,031	168,5627	0,046953	1,542384	0,625162
AT2G42590.1	8	51,1848	0,002411	1,521192	Cond. 2	Cond. 1	1997,759	87,75773	0,043928	3038,974	295,123	0,097113	1,521192	0,605202
AT1G12080.2	6	44,3995	0,019551	1,520139	Cond. 2	Cond. 1	22153,29	2557,073	0,115426	33676,08	5236,355	0,155492	1,520139	0,604203
AT5G41520.1	6	44,3817	0,015599	1,517396	Cond. 2	Cond. 1	20234,67	3546,599	0,175273	30704	2123,416	0,069158	1,517396	0,601598
AT1G45145.1	11	76,7226	0,000106	1,510756	Cond. 2	Cond. 1	51812,58	1578,451	0,030465	78276,16	2772,29	0,035417	1,510756	0,59527
AT2G47130.1	7	62,5685	0,00044	1,500247	Cond. 2	Cond. 1	33113,17	1273,112	0,038447	49677,95	2605,765	0,052453	1,500247	0,5852

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramovitch RB, Anderson JC, Martin GB (2006) Bacterial elicitation and evasion of plant innate immunity. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7 (8):601-611
- Alcázar R, Reymond M, Schmitz G, De Meaux J (2011) Genetic and evolutionary perspectives on the interplay between plant immunity and development. *Current opinion in plant biology* 14 (4):378-384
- Asai T, Tena G, Plotnikova J, Willmann MR, Chiu W-L, Gomez-Gomez L, Boller T, Ausubel FM, Sheen J (2002) MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* 415 (6875):977-983
- Asselbergh B, De Vleeschauwer D, Höfte M (2008) Global switches and fine-tuning-ABA modulates plant pathogen defense. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21 (6):709-719
- Ausubel FM (2005) Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nature immunology* 6 (10):973-979
- Badri DV, Loyola-Vargas VM, Du J, Stermitz FR, Broeckling CD, Iglesias-Andreu L, Vivanco JM (2008) Transcriptome analysis of *Arabidopsis* roots treated with signaling compounds: a focus on signal transduction, metabolic regulation and secretion. *New Phytologist* 179 (1):209-223
- Bais HP, Weir TL, Perry LG, Gilroy S, Vivanco JM (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol* 57:233-266
- Balmer D, Papajewski DV, Planchamp C, Glauser G, Mauch-Mani B (2013) Induced resistance in maize is based on organ-specific defence responses. *The Plant Journal* 74 (2):213-225
- Bari R, Jones JD (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant molecular biology* 69 (4):473-488
- Bauer Z, Gómez-Gómez L, Boller T, Felix G (2001) Sensitivity of different ecotypes and mutants of *Arabidopsis thaliana* toward the bacterial elicitor flagellin correlates with the presence of receptor-binding sites. *Journal of Biological Chemistry* 276 (49):45669-45676

- Baxter A, Mittler R, Suzuki N (2014) ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of experimental botany* 65 (5):1229-1240
- Benitez-Alfonso Y, Cilia M, San Roman A, Thomas C, Maule A, Hearn S, Jackson D (2009) Control of *Arabidopsis* meristem development by thioredoxin-dependent regulation of intercellular transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (9):3615-3620
- Benschop JJ, Mohammed S, O'Flaherty M, Heck AJ, Slijper M, Menke FL (2007) Quantitative phosphoproteomics of early elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Molecular & Cellular Proteomics* 6 (7):1198-1214
- Berendsen RL, Pieterse CM, Bakker PA (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science* 17 (8):478-486
- Berg G (2009) Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology* 84 (1):11-18
- Bernoux M, Ellis JG, Dodds PN (2011) New insights in plant immunity signaling activation. *Current opinion in plant biology* 14 (5):512-518
- Bionda T, Gross LE, Becker T, Papatotiriou DG, Leisegang MS, Karas M, Schleiff E (2016) Eukaryotic Hsp70 chaperones in the intermembrane space of chloroplasts. *Planta* 243 (3):733-747
- Boddey RM, De Oliveira O, Urquiaga S, Reis V, De Olivares F, Baldani V, Döbereiner J (1995) Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: contributions and prospects for improvement. *Plant and Soil* 174 (1-2):195-209
- Boller T, Felix G (2009) A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual review of plant biology* 60:379-406
- Burd GI, Dixon DG, Glick BR (1998) A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (10):3663-3668
- Büttner D, Bonas U (2006) Who comes first? How plant pathogenic bacteria orchestrate type III secretion. *Current opinion in microbiology* 9 (2):193-200
- Cai R, Lewis J, Yan S, Liu H, Clarke CR, Campanile F, Almeida NF, Studholme DJ, Lindeberg M, Schneider D (2011) The plant pathogen *Pseudomonas*

- syringae* pv. tomato is genetically monomorphic and under strong selection to evade tomato immunity. *PLoS Pathog* 7 (8):e1002130
- Calderwood A, Kopriva S, Morris RJ (2016) Transcript abundance explains mRNA mobility data in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 28 (3):610-615
- Canovas FM, Dumas-Gaudot E, Recorbet G, Jorin J, Mock HP, Rossignol M (2004) Plant proteome analysis. *Proteomics* 4 (2):285-298
- Cao FY, Yoshioka K, Desveaux D (2011) The roles of ABA in plant–pathogen interactions. *Journal of plant research* 124 (4):489-499
- Chae E, Tran DT, Weigel D (2016) Cooperation and Conflict in the Plant Immune System. *PLoS Pathog* 12 (3):e1005452
- Chang JH, Urbach JM, Law TF, Arnold LW, Hu A, Gombar S, Grant SR, Ausubel FM, Dangl JL (2005) A high-throughput, near-saturating screen for type III effector genes from *Pseudomonas syringae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (7):2549-2554
- Chinchilla D, Bauer Z, Regenass M, Boller T, Felix G (2006) The *Arabidopsis* receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *The Plant Cell* 18 (2):465-476
- Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, Kemmerling B, Nürnberger T, Jones JD, Felix G, Boller T (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 448 (7152):497-500
- Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ (2006) Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124 (4):803-814
- Choi J, Choi D, Lee S, Ryu C-M, Hwang I (2011) Cytokinins and plant immunity: old foes or new friends? *Trends in plant science* 16 (7):388-394
- Clarke CR, Chinchilla D, Hind SR, Taguchi F, Miki R, Ichinose Y, Martin GB, Felix G, Vinatzer BA (2013) Allelic variation in two distinct *Pseudomonas syringae* flagellin epitopes modulates the strength of plant immune responses but not bacterial motility. *New Phytologist* 200 (3):847-860
- Cohn J, Sessa G, Martin GB (2001) Innate immunity in plants. *Current opinion in immunology* 13 (1):55-62
- Conesa A, Götz S, García-Gómez JM, Terol J, Talón M, Robles M (2005) Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics* 21 (18):3674-3676

- Conrath U, Beckers GJ, Flors V, García-Agustín P, Jakab G, Mauch F, Newman M-A, Pieterse CM, Poinssot B, Pozo MJ (2006) Priming: getting ready for battle. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19 (10):1062-1071
- Damerval C, De Vienne D, Zivy M, Thiellement H (1986) Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis* 7 (1):52-54
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* 341 (6147):746-751
- Dangl JL, Jones JD (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *nature* 411 (6839):826-833
- Darvill AG, Albersheim P (1984) Phytoalexins and their elicitors-a defense against microbial infection in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35 (1):243-275
- Daudi A, Cheng Z, O'Brien JA, Mammarella N, Khan S, Ausubel FM, Bolwell GP (2012) The apoplastic oxidative burst peroxidase in *Arabidopsis* is a major component of pattern-triggered immunity. *The Plant Cell* 24 (1):275-287
- de Bruijn F, Stoltzfus J, So R, Malarvithi P, Ladha J (1997) Isolation of endophytic bacteria from rice and assessment of their potential for supplying rice with biologically fixed nitrogen. In: *Opportunities for Biological Nitrogen Fixation in Rice and Other Non-Legumes*. Springer, pp 25-36
- de Carvalho Niebel F, Lescure N, Cullimore JV, Gamas P (1998) The *Medicago truncatula MtAnn1* gene encoding an annexin is induced by Nod factors and during the symbiotic interaction with *Rhizobium meliloti*. *Molecular plant-microbe interactions* 11 (6):504-513
- De Coninck B, Timmermans P, Vos C, Cammue BP, Kazan K (2015) What lies beneath: belowground defense strategies in plants. *Trends in plant science* 20 (2):91-101
- de Torres-Zabala M, Truman W, Bennett MH, Lafforgue G, Mansfield JW, Egea PR, Bögre L, Grant M (2007) *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* hijacks the *Arabidopsis* abscisic acid signalling pathway to cause disease. *The EMBO journal* 26 (5):1434-1443
- De Vleeschauwer D, Van Buyten E, Satoh K, Balidion J, Mauleon R, Choi I-R, Vera-Cruz C, Kikuchi S, Höfte M (2012) Brassinosteroids antagonize

- gibberellin-and salicylate-mediated root immunity in rice. *Plant physiology* 158 (4):1833-1846
- De Vos M, Van Oosten VR, Van Poecke RM, Van Pelt JA, Pozo MJ, Mueller MJ, Buchala AJ, Métraux J-P, Van Loon L, Dicke M (2005) Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. *Molecular plant-microbe interactions* 18 (9):923-937
- Denancé N, Sánchez-Vallet A, Goffner D, Molina A (2013) Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Frontiers in plant science* 4:155
- Denoux C, Galletti R, Mammarella N, Gopalan S, Werck D, De Lorenzo G, Ferrari S, Ausubel FM, Dewdney J (2008) Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in *Arabidopsis* seedlings. *Molecular plant* 1 (3):423-445
- Ditt RF, Kerr KF, de Figueiredo P, Delrow J, Comai L, Nester EW (2006) The *Arabidopsis thaliana* transcriptome in response to *Agrobacterium tumefaciens*. *Molecular plant-microbe interactions* 19(6): 665-681
- Döbereiner J, Baldani VL, Reis VM (1995) Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops. In: *Azospirillum VI and related microorganisms*. Springer, pp 3-14
- Dobereiner J, Boddey R (1981) Nitrogen fixation in association with Gramineae. *Current perspectives in nitrogen fixation*:305-312
- Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11 (8):539-548
- Douglas AE (1994) *Symbiotic interactions*. vol 577.85 D733s. Oxon, GB: Oxford University Press, 1994,
- Downing KJ, Leslie G, Thomson JA (2000) Biocontrol of the Sugarcane Borer *Eldana saccharina* by Expression of the *Bacillus thuringiensis cry1Ac7* and *Serratia marcescens chiA* Genes in Sugarcane-Associated Bacteria. *Applied and environmental microbiology* 66 (7):2804-2810
- Durrant W, Dong X (2004) Systemic acquired resistance. *Annu Rev Phytopathol* 42:185-209
- Edwards R, Dixon DP, Walbot V (2000) Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. *Trends in plant science* 5(5): 193-198

- Estelle M, Somerville CR (1986) The mutants of *Arabidopsis*. Trends in Genetics 2:89-93
- Felix G, Duran JD, Volko S, Boller T (1999) Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. The Plant Journal 18 (3):265-276
- Felix G, Regenass M, Boller T (1993) Specific perception of subnanomolar concentrations of chitin fragments by tomato cells: induction of extracellular alkalization, changes in protein phosphorylation, and establishment of a refractory state. The Plant Journal 4 (2):307-316
- Fliegmann J, Felix G (2016) Immunity: Flagellin seen from all sides. Nature Plants 2:16136
- Frendo P, Baldacci-Cresp F, Benyamina SM, Puppo A (2013) Glutathione and plant response to the biotic environment. Free Radical Biology and Medicine 65:724-730
- Fu ZQ, Dong X (2013) Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. Annual review of plant biology 64:839-863
- Glazebrook J (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. Annu Rev Phytopathol 43:205-227
- Göhre V, Robatzek S (2008) Breaking the barriers: microbial effector molecules subvert plant immunity. Annu Rev Phytopathol 46:189-215
- Gómez-Gómez L, Bauer Z, Boller T (2001) Both the extracellular leucine-rich repeat domain and the kinase activity of FLS2 are required for flagellin binding and signaling in *Arabidopsis*. The Plant Cell 13 (5):1155-1163
- Gómez-Gómez L, Boller T (2000) FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. Molecular cell 5 (6):1003-1011
- Gómez-Gómez L, Felix G, Boller T (1999) A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal 18 (3):277-284
- Grant M, Lamb C (2006) Systemic immunity. Current opinion in plant biology 9 (4):414-420
- Grant MR, Jones JD (2009) Hormone (dis) harmony moulds plant health and disease. Science 324 (5928):750-752

- Hackmann C, Korneli C, Kutyniok M, Köster T, WiedenlÜbbert M, Müller C (2014) Salicylic acid-dependent and-independent impact of an RNA-binding protein on plant immunity. *Plant, cell & environment* 37(3): 696-706
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee W, Kloepper J (1997) Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43 (10):895-914
- Hann DR, Rathjen JP (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *The Plant Journal* 49 (4):607-618
- Hauck P, Thilmony R, He SY (2003) A *Pseudomonas syringae* type III effector suppresses cell wall-based extracellular defense in susceptible *Arabidopsis* plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (14):8577-8582
- Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Eugene CY, Goodlett DR, Eng JK, Akira S, Underhill DM, Aderem A (2001) The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 410 (6832):1099-1103
- Heckman DS, Geiser DM, Eidell BR, Stauffer RL, Kardos NL, Hedges SB (2001) Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science* 293 (5532):1129-1133
- Heese A, Hann DR, Gimenez-Ibanez S, Jones AM, He K, Li J, Schroeder JI, Peck SC, Rathjen JP (2007) The receptor-like kinase SERK3/BAK1 is a central regulator of innate immunity in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (29):12217-12222
- Heringer AS, Barroso T, Macedo AF, Santa-Catarina C, Souza GHMF, Floh EIS, de Souza-Filho GA, Silveira V (2015) Label-free quantitative proteomics of embryogenic and non-embryogenic callus during sugarcane somatic embryogenesis. *PloS one* 10 (6):e0127803
- Hind SR, Strickler SR, Boyle PC, Dunham DM, Bao Z, O'Doherty IM, Baccile JA, Hoki JS, Viox EG, Clarke CR (2016) Tomato receptor FLAGELLIN-SENSING 3 binds flgII-28 and activates the plant immune system. *Nature Plants* 2:16128
- Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response. *Journal of Plant Growth Regulation* 23 (3):223-237
- Hückelhoven R (2007) Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annu Rev Phytopathol* 45:101-127

- Hwang SG, Lin NC, Hsiao YY, Kuo CH, Chang PF, Deng WL (2012) The *Arabidopsis* short-chain dehydrogenase/reductase 3, an ABSCISIC ACID DEFICIENT 2 homolog, is involved in plant defense responses but not in ABA biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry* 51: 63-73
- James EK, Olivares FL (1998) Infection and colonization of sugar cane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences* 17 (1):77-119
- Jefferson RA, Kavanagh TA, Bevan MW (1987) GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *The EMBO journal* 6 (13):3901
- Jones AM, Thomas V, Truman B, Lilley K, Mansfield J, Grant M (2004) Specific changes in the *Arabidopsis* proteome in response to bacterial challenge: differentiating basal and R-gene mediated resistance. *Phytochemistry* 65 (12):1805-1816
- Jones JD, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444 (7117):323-329
- Jorrín-Novo JV, Pascual J, Sánchez-Lucas R, Romero-Rodríguez MC, Rodríguez-Ortega MJ, Lenz C, Valledor L (2015) Fourteen years of plant proteomics reflected in Proteomics: Moving from model species and 2DE-based approaches to orphan species and gel-free platforms. *Proteomics* 15 (5-6):1089-1112
- Jorrín J, Rubiales D, Dumas-Gaudot E, Recorbet G, Maldonado A, Castillejo M, Curto M (2006) Proteomics: a promising approach to study biotic interaction in legumes. A review. *Euphytica* 147 (1-2):37-47
- Journot-Catalino N, Somssich IE, Roby D, Kroj T (2006) The transcription factors WRKY11 and WRKY17 act as negative regulators of basal resistance in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 18 (11):3289-3302
- Kaffarnik FA, Jones AM, Rathjen JP, Peck SC (2009) Effector proteins of the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* alter the extracellular proteome of the host plant, *Arabidopsis thaliana*. *Molecular & cellular proteomics* 8 (1):145-156
- Kanzaki H, Saitoh H, Ito A, Fujisawa S, Kamoun S, Katou S, Yoshioka H, Terauchi R (2003). Cytosolic HSP90 and HSP70 are essential components of INF1-mediated hypersensitive response and non-host resistance to *Pseudomonas cichorii* in *Nicotiana benthamiana*. *Molecular Plant Pathology* 4(5): 383-391

- Kaufmann SH, Medzhitov R, Gordon S (2004) The innate immune response to infection. ASM Press,
- Kawano T. (2003). Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant cell reports* 21(9): 829-837
- Kazan K, Lyons R (2014) Intervention of phytohormone pathways by pathogen effectors. *The Plant Cell* 26 (6):2285-2309
- Kazan K, Manners JM (2009) Linking development to defense: auxin in plant-pathogen interactions. *Trends in plant science* 14 (7):373-382
- Kim MG, Da Cunha L, McFall AJ, Belkhadir Y, DebRoy S, Dangl JL, Mackey D (2005) Two *Pseudomonas syringae* type III effectors inhibit RIN4-regulated basal defense in *Arabidopsis*. *Cell* 121 (5):749-759
- Kim NH, Hwang BK (2015) Pepper heat shock protein 70a interacts with the type III effector AvrBsT and triggers plant cell death and immunity. *Plant physiology* 167: 307-322
- Kiyosue T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1994) Cloning of cDNAs for genes that are early-responsive to dehydration stress (ERDs) in *Arabidopsis thaliana* L.: identification of three ERDs as HSP cognate genes. *Plant molecular biology* 25 (5):791-798
- Kloepper JW, Beauchamp CJ (1992) A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 38 (12):1219-1232
- Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, Niehaus K, Boller T, Felix G (2004) The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *The Plant Cell* 16 (12):3496-3507
- Ladha J, Reddy P (2003) Nitrogen fixation in rice systems: state of knowledge and future prospects. *Plant and Soil* 252 (1):151-167
- Lambais MR (2001) In silico differential display of defense-related expressed sequence tags from sugarcane tissues infected with diazotrophic endophytes. *Genetics and Molecular Biology* 24 (1-4):103-111
- Lee C, Chronis D, Kenning C, Peret B, Hwezi T, Davis EL, Baum TJ, Hussey R, Bennett M, Mitchum MG (2011) The novel cyst nematode effector protein 19C07 interacts with the *Arabidopsis* auxin influx transporter LAX3 to control feeding site development. *Plant Physiology* 155 (2):866-880

- Lim S, Borza T, Peters RD, Coffin RH, Al-Mughrabi KI, Pinto DM, Wang-Pruski G (2013) Proteomics analysis suggests broad functional changes in potato leaves triggered by phosphites and a complex indirect mode of action against *Phytophthora infestans*. *Journal of proteomics* 93:207-223
- Loake G, Grant M (2007) Salicylic acid in plant defence—the players and protagonists. *Current opinion in plant biology* 10 (5):466-472
- Lu D, Wu S, Gao X, Zhang Y, Shan L, He P (2010) A receptor-like cytoplasmic kinase, BIK1, associates with a flagellin receptor complex to initiate plant innate immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (1):496-501
- Luge T, Kube M, Freiwald A, Meierhofer D, Seemüller E, Sauer S (2014) Transcriptomics assisted proteomic analysis of *Nicotiana occidentalis* infected by *Candidatus Phytoplasma mali* strain AT. *Proteomics* 14 (16):1882-1889
- Luna E, Bruce TJ, Roberts MR, Flors V, Ton J (2012) Next-generation systemic acquired resistance. *Plant Physiology* 158 (2):844-853
- Lyons R, Iwase A, Gänsewig T, Sherstnev A, Duc C, Barton GJ, Hanada K, Higuchi-Takeuchi M, Matsui M, Sugimoto K, Kazan K, Simpson GG, Shirasu K (2013) The RNA-binding protein FPA regulates flg22-triggered defense responses and transcription factor activity by alternative polyadenylation. *Scientific reports* 3(2866):1-10
- Mammarella ND, Cheng Z, Fu ZQ, Daudi A, Bolwell GP, Dong X, Ausubel FM (2015) Apoplastic peroxidases are required for salicylic acid-mediated defense against *Pseudomonas syringae*. *Phytochemistry* 112:110-121
- Marrs KA (1996) The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants. *Annual review of plant biology* 47 (1):127-158
- Mathesius U, Imin N, Natera SH, Rolfe BG (2003) Proteomics as a functional genomics tool. *Plant Functional Genomics*:395-413
- McDowell JM, Dangl JL (2000) Signal transduction in the plant immune response. *Trends in biochemical sciences* 25 (2):79-82
- Mehta A, Brasileiro A, Souza DS, Romano E, Campos MA, Grossi-de-Sá MF, Silva MS, Franco OL, Fragoso RR, Bevitori R (2008) Plant–pathogen interactions: what is proteomics telling us? *FEBS journal* 275 (15):3731-3746

- Meinke DW, Cherry JM, Dean C, Rounsley SD, Koornneef M (1998) *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science* 282 (5389):662-682
- Meyer A, Pühler A, Niehaus K (2001) The lipopolysaccharides of the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* induce an oxidative burst reaction in cell cultures of *Nicotiana tabacum*. *Planta* 213 (2):214-222
- Meyerowitz EM, Somerville CR (1994) *Arabidopsis*. Cold Spring Harbor Laboratory Press,
- Millet YA, Danna CH, Clay NK, Songnuan W, Simon MD, Werck-Reichhart D, Ausubel FM (2010) Innate immune responses activated in *Arabidopsis* roots by microbe-associated molecular patterns. *The Plant Cell* 22 (3):973-990
- Mishina TE, Zeier J (2007) Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 50 (3):500-513
- Mithöfer A (2002) Suppression of plant defence in rhizobia–legume symbiosis. *Trends in plant science* 7 (10):440-444
- Miya A, Albert P, Shinya T, Desaki Y, Ichimura K, Shirasu K, Narusaka Y, Kawakami N, Kaku H, Shibuya N (2007) CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (49):19613-19618
- Møldrup ME, Geu-Flores F, Halkier BA (2013) Assigning gene function in biosynthetic pathways: camalexin and beyond. *The Plant Cell* 25 (2):360-367
- Mukherjee AK, Carp M-J, Zuchman R, Ziv T, Horwitz BA, Gepstein S (2010) Proteomics of the response of *Arabidopsis thaliana* to infection with *Alternaria brassicicola*. *Journal of proteomics* 73 (4):709-720
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15 (3):473-497
- Naito K, Taguchi F, Suzuki T, Inagaki Y, Toyoda K, Shiraishi T, Ichinose Y (2008) Amino acid sequence of bacterial microbe-associated molecular pattern flg22 is required for virulence. *Molecular plant-microbe interactions* 21 (9):1165-1174
- Naqvi SS, Park KS, Yi SY, Lee HW, Bok SH, Choi D (1998) A glycine-rich RNA-binding protein gene is differentially expressed during acute hypersensitive

- response following tobacco mosaic virus infection in tobacco. *Plant molecular biology* 37(3): 571-576
- Navarro L, Bari R, Achard P, Lisón P, Nemri A, Harberd NP, Jones JD (2008) DELLAs control plant immune responses by modulating the balance of jasmonic acid and salicylic acid signaling. *Current Biology* 18 (9):650-655
- Navarro L, Zipfel C, Rowland O, Keller I, Robatzek S, Boller T, Jones JD (2004) The transcriptional innate immune response to flg22. Interplay and overlap with Avr gene-dependent defense responses and bacterial pathogenesis. *Plant physiology* 135 (2):1113-1128
- Newman DK, Banfield JF (2002) Geomicrobiology: how molecular-scale interactions underpin biogeochemical systems. *Science* 296 (5570):1071-1077
- Newman M-A, Daniels MJ, Dow JM (1995) Lipopolysaccharide from *Xanthomonas campestris* induces defense-related gene expression in *Brassica campestris*. *MPMI-Molecular Plant Microbe Interactions* 8 (5):778-780
- Nimchuk Z, Eulgem T, Holt Iii BF, Dangl JL (2003) Recognition and response in the plant immune system. *Annual review of genetics* 37 (1):579-609
- Noctor G, Mhamdi A, Chaouch S, Han Y, Neukermans J, MARQUEZ-GARCIA B, Queval G, Foyer CH (2012) Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant, Cell & Environment* 35 (2):454-484
- Nürnberg T, Brunner F, Kemmerling B, Piater L (2004) Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunological reviews* 198 (1):249-266
- O'Brien JA, Daudi A, Finch P, Butt VS, Whitelegge JP, Souda P, Ausubel FM, Bolwell GP (2012) A peroxidase-dependent apoplastic oxidative burst in cultured *Arabidopsis* cells functions in MAMP-elicited defense. *Plant Physiology* 158 (4):2013-2027
- Palmlad M, Mills DJ, Bindschedler LV (2008) Heat-shock response in *Arabidopsis thaliana* explored by multiplexed quantitative proteomics using differential metabolic labeling. *Journal of proteome research* 7 (2):780-785
- Parker J, Koh J, Yoo MJ, Zhu N, Feole M, Yi S, Chen S (2013) Quantitative proteomics of tomato defense against *Pseudomonas syringae* infection. *Proteomics* 13 (12-13):1934-1946

- Pedley KF, Martin GB (2003) Molecular basis of Pto-mediated resistance to bacterial speck disease in tomato. *Annual review of phytopathology* 41 (1):215-243
- Penninckx IA, Thomma BP, Buchala A, Métraux J-P, Broekaert WF (1998) Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 10 (12):2103-2113
- Pieterse CM, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SC (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature chemical biology* 5 (5):308-316
- Pieterse CM, Van der Does D, Zamioudis C, Leon-Reyes A, Van Wees SC (2012) Hormonal modulation of plant immunity. *Annual review of cell and developmental biology* 28:489-521
- Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SC, Bakker PA (2014) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology* 52:347-375
- Pineda A, Zheng S-J, van Loon JJ, Pieterse CM, Dicke M (2010) Helping plants to deal with insects: the role of beneficial soil-borne microbes. *Trends in plant science* 15 (9):507-514
- Pozo MJ, Azcón-Aguilar C (2007) Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current opinion in plant biology* 10 (4):393-398
- Pozo MJ, Van Der Ent S, Van Loon L, Pieterse CM (2008) Transcription factor MYC2 is involved in priming for enhanced defense during rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* 180 (2):511-523
- Pozo MJ, Van Loon L, Pieterse CM (2004) Jasmonates-signals in plant-microbe interactions. *Journal of Plant Growth Regulation* 23 (3):211-222
- Qi Y, Tsuda K, Nguyen LV, Wang X, Lin J, Murphy AS, Glazebrook J, Thordal-Christensen H, Katagiri, F (2011) Physical association of *Arabidopsis* hypersensitive induced reaction proteins (HIRs) with the immune receptor RPS2. *Journal of Biological Chemistry* 286(36): 31297-31307
- Quirino B, Candido E, Campos P, Franco O, Krüger R (2010) Proteomic approaches to study plant–pathogen interactions. *Phytochemistry* 71 (4):351-362

- Rashid A, Deyholos MK (2011) PELPK1 (At5g09530) contains a unique pentapeptide repeat and is a positive regulator of germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant cell reports* 30 (9):1735-1745
- Reinhold-Hurek B, Hurek T (1998) Life in grasses: diazotrophic endophytes. *Trends in microbiology* 6 (4):139-144
- Reis RS, de Moura Vale E, Heringer AS, Santa-Catarina C, Silveira V (2016) Putrescine induces somatic embryo development and proteomic changes in embryogenic callus of sugarcane. *Journal of proteomics* 130:170-179
- Robatzek S, Chinchilla D, Boller T (2006) Ligand-induced endocytosis of the pattern recognition receptor FLS2 in *Arabidopsis*. *Genes & development* 20(5): 537-542
- Robatzek S, Bittel P, Chinchilla D, Köchner P, Felix G, Shiu S-H, Boller T (2007) Molecular identification and characterization of the tomato flagellin receptor LeFLS2, an orthologue of *Arabidopsis* FLS2 exhibiting characteristically different perception specificities. *Plant molecular biology* 64 (5):539-547
- Rosli HG, Zheng Y, Pombo MA, Zhong S, Bombarely A, Fei Z, Collmer A, Martin GB (2013) Transcriptomics-based screen for genes induced by flagellin and repressed by pathogen effectors identifies a cell wall-associated kinase involved in plant immunity. *Genome biology* 14 (12):1
- Rossez Y, Wolfson EB, Holmes A, Gally DL, Holden NJ (2015) Bacterial flagella: twist and stick, or dodge across the kingdoms. *PLoS Pathog* 11 (1):e1004483
- Ryan CA, Huffaker A, Yamaguchi Y (2007) New insights into innate immunity in *Arabidopsis*. *Cellular microbiology* 9 (8):1902-1908
- Schenk PM, Carvalhais LC, Kazan K (2012) Unraveling plant–microbe interactions: can multi-species transcriptomics help? *Trends in biotechnology* 30 (3):177-184
- Schwessinger B, Ronald PC (2012) Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Plant Biology* 63
- Segonzac C, Zipfel C (2011) Activation of plant pattern-recognition receptors by bacteria. *Current opinion in microbiology* 14 (1):54-61
- Shahollari B, Varma A, Oelmüller R (2005) Expression of a receptor kinase in *Arabidopsis* roots is stimulated by the basidiomycete *Piriformospora indica* and the protein accumulates in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains. *Journal of plant physiology* 162(8): 945-958

- Shan L, He P, Sheen J (2007) Intercepting host MAPK signaling cascades by bacterial type III effectors. *Cell host & microbe* 1 (3):167-174
- Shi X, Bentolila S, Hanson MR (2016) Organelle RNA recognition motif-containing (ORRM) proteins are plastid and mitochondrial editing factors in *Arabidopsis*. *Plant signaling & behavior* 11 (5):294-309
- Siemens J, Keller I, Sarx J, Kunz S, Schuller A, Nagel W, Schmülling T, Parniske M, Ludwig-Müller J (2006) Transcriptome analysis of *Arabidopsis* clubroots indicate a key role for cytokinins in disease development. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19 (5):480-494
- Singh BK, Millard P, Whiteley AS, Murrell JC (2004) Unravelling rhizosphere-microbial interactions: opportunities and limitations. *Trends in microbiology* 12 (8):386-393
- Smith KD, Andersen-Nissen E, Hayashi F, Strobe K, Bergman MA, Barrett SLR, Cookson BT, Aderem A (2003) Toll-like receptor 5 recognizes a conserved site on flagellin required for protofilament formation and bacterial motility. *Nature immunology* 4 (12):1247-1253
- Song T, Chu M, Lahlali R, Yu F, Peng G (2016) Shotgun label-free proteomic analysis of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) resistance conferred by the gene Rcr1 in *Brassica rapa*. *Frontiers in Plant Science* 7
- Spoel SH, Dong X (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature Reviews Immunology* 12 (2):89-100
- Sprent JI, James EK (1995) N₂-fixation by endophytic bacteria: questions of entry and operation. In: *Azospirillum VI and related microorganisms*. Springer, pp 15-30
- Strobel G, Daisy B (2003) Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and molecular biology reviews* 67 (4):491-502
- Su T, Xu J, Li Y, Lei L, Zhao L, Yang H, Feng J, Liu G, Ren D (2011) Glutathione-indole-3-acetonitrile is required for camalexin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 23 (1):364-380
- Sun Y, Li L, Macho AP, Han Z, Hu Z, Zipfel C, Zhou J-M, Chai J (2013) Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* 342 (6158):624-628

- Sung DY, Vierling E, Guy CL (2001) Comprehensive expression profile analysis of the *Arabidopsis* Hsp70 gene family. *Plant Physiology* 126 (2):789-800
- Taiz L, Zeiger E (2009) Fisiologia vegetal. In: Fisiologia vegetal. Artmed,
- Takai R, Isogai A, Takayama S, Che F-S (2008) Analysis of flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21 (12):1635-1642
- Takenaka M, Zehrmann A, Verbitskiy D, Kugelman M, Härtel B, Brennicke A (2012) Multiple organellar RNA editing factor (MORF) family proteins are required for RNA editing in mitochondria and plastids of plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (13):5104-5109
- Thieme CJ, Rojas-Triana M, Stecyk E, Schudoma C, Zhang W, Yang L, Miñambres M, Walther D, Schulze WX, Paz-Ares J (2015) Endogenous *Arabidopsis* messenger RNAs transported to distant tissues. *Nature Plants* 1 (4)
- Thimm O, Bläsing O, Gibon Y, Nagel A, Meyer S, Krüger P, Selbig J, Müller LA, Rhee SY, Stitt M (2004) Mapman: a user-driven tool to display genomics data sets onto diagrams of metabolic pathways and other biological processes. *The Plant Journal* 37 (6):914-939
- Thomma BP, Penninckx IA, Cammue BP, Broekaert WF (2001) The complexity of disease signaling in *Arabidopsis*. *Current opinion in immunology* 13 (1):63-68
- Timm S, Wittmiß M, Gamlien S, Ewald R, Florian A, Frank M, Wirtz M, Hell R, Fernie AR, Bauwe H (2015) Mitochondrial dihydrolipoyl dehydrogenase activity shapes photosynthesis and photorespiration of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 27 (7):1968-1984
- Ton J, Flors V, Mauch-Mani B (2009) The multifaceted role of ABA in disease resistance. *Trends in plant science* 14 (6):310-317
- Torres MA, Jones JD, Dangl JL (2006) Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant physiology* 141(2): 373-378
- Tsuda K, Sato M, Glazebrook J, Cohen JD, Katagiri F (2008) Interplay between MAMP-triggered and SA-mediated defense responses. *The Plant Journal* 53 (5):763-775
- Van der Ent S, Van Wees SC, Pieterse CM (2009) Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. *Phytochemistry* 70 (13):1581-1588

- Van Loon L (1997) Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology* 103 (9):753-765
- Van Loon L, Bakker P, Pieterse C (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual review of phytopathology* 36 (1):453-483
- Van Loon L, Van Strien E (1999) The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and molecular plant pathology* 55 (2):85-97
- Van Loon LC, Rep M, Pieterse C (2006) Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol* 44:135-162
- Van Wees SC, Van der Ent S, Pieterse CM (2008) Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Current opinion in plant biology* 11 (4):443-448
- Veluchamy S, Hind SR, Dunham DM, Martin GB, Panthee DR (2014) Natural variation for responsiveness to flg22, flgII-28, and csp22 and *Pseudomonas syringae* pv. tomato in heirloom tomatoes. *PLoS one* 9 (9):e106119
- Verhage A, van Wees SC, Pieterse CM (2010) Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiology* 154 (2):536-540
- Verma SC, Ladha JK, Tripathi AK (2001) Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology* 91 (2):127-141
- Von Dahl CC, Baldwin IT (2007) Deciphering the role of ethylene in plant–herbivore interactions. *Journal of Plant Growth Regulation* 26 (2):201-209
- Walters DR, McRoberts N (2006) Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? *Trends in plant science* 11 (12):581-586
- Wang D, Amornsiripanitch N, Dong X (2006) A genomic approach to identify regulatory nodes in the transcriptional network of systemic acquired resistance in plants. *PLoS Pathog* 2 (11):e123
- Wang D, Pajerowska-Mukhtar K, Culler AH, Dong X (2007) Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway. *Current Biology* 17 (20):1784-1790
- Wenbo M, Kelly Z, Glick BR (2001) Biological activity and colonization pattern of the bioluminescence-labeled plant growth-promoting bacterium *Kluyvera ascorbata* SUD165/26. *FEMS microbiology ecology* 35 (2):137-144

- Wyrsh I, Domínguez-Ferreras A, Geldner N, Boller T (2015) Tissue-specific FLAGELLIN-SENSING 2 (FLS2) expression in roots restores immune responses in *Arabidopsis* fls2 mutants. *New Phytologist* 206 (2):774-784
- Xin X-F, He SY (2013) *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000: a model pathogen for probing disease susceptibility and hormone signaling in plants. *Annual review of phytopathology* 51:473-498
- Xing T, Ouellet T, Miki BL (2002) Towards genomic and proteomic studies of protein phosphorylation in plant–pathogen interactions. *Trends in plant science* 7 (5):224-230
- Yan S, Dong X (2014) Perception of the plant immune signal salicylic acid. *Current opinion in plant biology* 20:64-68
- Yang H, Mu J, Chen L, Feng J, Hu J, Li L, Zhou J-M, Zuo J (2015) S-nitrosylation positively regulates ascorbate peroxidase activity during plant stress responses. *Plant physiology* 167 (4):1604-1615
- Yi SY, Shirasu K, Moon JS, Lee S-G, Kwon S-Y (2014) The activated SA and JA signaling pathways have an influence on flg22-triggered oxidative burst and callose deposition. *PLoS One* 9 (2):e88951
- Zipfel C (2008) Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current opinion in immunology* 20 (1):10-16
- Zipfel C (2014) Plant pattern-recognition receptors. *Trends in immunology* 35 (7):345-351
- Zipfel C, Felix G (2005) Plants and animals: a different taste for microbes? *Current opinion in plant biology* 8 (4):353-360
- Zipfel C, Robatzek S, Navarro L, Oakeley EJ, Jones JD, Felix G, Boller T (2004) Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception. *Nature* 428 (6984):764-767