

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**Caracterização de resistência ou susceptibilidade de genótipos de feijões a  
infestação por bruquideos**

**KAYAN E. VENTURY BAPTISTA**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**SETEMBRO 2021**

**Caracterização de resistência ou susceptibilidade de genótipos de feijões a  
infestação por bruquideos**

**KAYAN E. VENTURY BAPTISTA**

Tese apresentada ao Centro de  
Biotecnologia e Biociências da  
Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro – como  
parte dos requisitos para a obtenção  
do título de Doutor em Biociências e  
Biotecnologia

**Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Antônia Elenir Amâncio de Oliveira**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
SETEMBRO 2021**

**KAYAN E. VENTURY BAPTISTA**

**Caracterização de resistência ou susceptibilidade de genótipos de feijões a  
infestação por bruquideos**

Tese apresentada ao Centro de  
Biotecnologia e Biotecnologia da  
Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro – como  
parte dos requisitos para a obtenção  
do título de Doutor em Biotecnologia e  
Biotecnologia

**Aprovada em 28 de Setembro de 2021**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Geraldo de Amaral Gravina – LEAG/CCTA**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Érica Oliveira Mello – LFBM/UENF**

---

**Prof. Dr. José Roberto Silva – UFRJ**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Antônia Elenir Amâncio de Oliveira – LQFPP/UENF  
(Orientadora)**

Eu dedico este trabalho à sociedade brasileira, que financia a pesquisa pública e a formação intelectual nas Universidades públicas do Brasil.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

À minha orientadora pelos anos de orientação, pela paciência, pelos puxões de orelha e o mais importante - pelos ensinamentos, quando crescer eu quero ser igual a você.

À minha família, por toda atenção e incentivo durante todo esse tempo.

À Paula, por me aturar, pela atenção, pela preocupação, pelo carinho e pelo amor, minha mais sincera gratidão. Por estar comigo nessa caminhada, e por ser sempre um incentivo na minha vida, te amo!

Às meninas do laboratório, por todo companheirismo e ajuda ao longo dessa caminhada, eu espero que nossos caminhos de cruzem novamente.

À Sarah e Aline pelas conversas nos momentos de desespero, por toda atenção e por ajudarem sempre que puderam e não puderam, eu nunca mais vou esquecer de vocês.

Ao Eduardo por estar sempre disposto a me explicar todas as coisas que eu não entendi.

A Bia e a Marlene por me salvarem todas as vezes que eu chegava desesperado com alguma duvida na coordenação, muito obrigado.

A banca por tirar um tempo para fazer parte desse momento da minha vida.

A todos que de alguma maneira participaram desse projeto, deixo aqui minha gratidão.

Aos órgãos de financiamento CNPQ, Faperj e CAPES pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	8
LISTA DE TABELAS.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 <i>Vigna unguiculata</i> .....	15
1.2 <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	16
1.3 <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	18
1.4 <i>Zabrotes subfasciatus</i> .....	19
1.5 Mecanismos naturais de defesa de sementes.....	21
1.6 Resistência de sementes à infestação por insetos.....	23
1.6.1 Cultivares e genótipos de <i>Phaseolus vulgaris</i> resistentes à infestação por <i>Zabrotes subfasciatus</i> .....	24
1.7 Cultivares e genótipos de <i>Vigna unguiculata</i> resistentes à infestação de <i>C. maculatus</i> .....	25
2. OBJETIVOS .....	29
2.1 Objetivo Geral.....	29
2.2 Objetivos Específicos.....	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	30
3.1 Sementes .....	30
3.1.1 <i>Vigna unguiculata</i> .....	30
3.1.2 <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	30
3.2 Insetos.....	32
3.3 Desempenho e sobrevivência de <i>C. maculatus</i> infestando os genótipos de <i>V. unguiculata</i> .....	32
3.4 Determinação da massa das sementes consumida após a infestação de <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	33
3.5 Determinação da viabilidade germinativa das sementes de <i>Vigna unguiculata</i> após a infestação .....	33
3.6 Identificação das proteínas por espectrometria de massa .....	34
3.7 Isolamento das proteínas com afinidade à quitina.....	35
3.8 Ensaios de toxicidade para <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	35
3.9 Modelagem molecular e <i>docking in silico</i> .....	36
3.10 Desempenho e sobrevivência de <i>Zabrotes subfasciatus</i> infestando os genótipos de <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	37
3.11 Determinação da viabilidade germinativa das sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i> após a infestação.....	38

3.12 Análise da toxicidade do tegumento do genótipo L-3 para <i>Zabrotes subfasciatus</i> .....	39
3.13 Análise proteômica comparativa .....	39
3.13.1 Extração proteica .....	39
3.13.2 Digestão proteica .....	40
3.13.3 Análise por espectrometria de massas.....	41
3.13.4 Análise dos dados da proteômica .....	42
3.14 Análise estatística .....	42
4. RESULTADOS.....	44
4.1 Desempenho de <i>Callosobruchus maculatus</i> infestando sementes naturais de <i>Vigna unguiculata</i> .....	44
4.2 Análise da massa das sementes consumidas e viabilidade germinativa após infestação por <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	51
4.3 Identificação de proteínas dos genótipos P.O 1-5-4 e MNC06-909-76 .....	52
4.4 Isolamento e toxicidade de proteínas com afinidade à quitina.....	58
4.5 <i>Docking</i> da vicilina com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG) <sub>4</sub> .....	59
4.6 Análise proteômica comparativa dos genótipos de <i>Vigna unguiculata</i> .....	64
4.7 Desempenho de <i>Zabrotes subfasciatus</i> infestando sementes naturais de <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	67
4.8 Análise da viabilidade germinativa das sementes após infestação por <i>Zabrotes subfasciatus</i> .....	69
4.9 Avaliação da toxicidade do tegumento do genótipo L-3 .....	73
5. DISCUSSÃO.....	77
6. CONCLUSÃO.....	91
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	92
ANEXOS.....	101

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	18
Figura 2. <i>Zabrotes subfasciatus</i> .....	20
Figura 3. <b>Variação do número de ovos nos diferentes genótipos de <i>Vigna unguiculata</i></b> .....	44
Figura 4. <b>Eclosão larval de <i>Callosobruchus maculatus</i> 5 DAO</b> .....	45
Figura 5. <b>Sobrevivência larval de <i>Callosobruchus maculatus</i> 20 DAO</b> .....	46
Figura 6. <b>Massa larval de <i>Callosobruchus maculatus</i> 20 DAO</b> .....	47
Figura 7. <b>Emergência dos adultos de <i>Callosobruchus maculatus</i> 40 DAO em <i>Vigna unguiculata</i></b> .....	48
Figura 8. <b>Porcentagem de massa consumida das sementes de <i>Vigna unguiculata</i> após infestação de <i>Callosobruchus maculatus</i> durante 40 DAO</b> .....	51
Figura 9. <b>Visualização por eletroforese em gel de poliacrilamida SDS- PAGE 12% das proteínas dos genótipos de <i>Vigna unguiculata</i> P.O 1-5-4 e MNC06-909-76.</b> .....	52
Figura 10. <b>Alinhamento dos peptídeos da banda-1, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo <i>Vigna unguiculata</i> P.O 1-5-4 com a vicilina de <i>Vigna unguiculata</i> (código de acesso: A8YQH5_VIGUN)</b> .....	55
Figura 11. <b>Alinhamento dos peptídeos da banda-2, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo <i>Vigna unguiculata</i> P.O 1-5-4 com a vicilina <i>Vigna unguiculata</i> (código de acesso: A0A1S3VTQ0_VIGRR)</b> .....	55
Figura 12. <b>Alinhamento dos peptídeos da banda-3, obtidos por análise de espectrometria de massa do genótipo <i>Vigna unguiculata</i> P.O 1-5-4 com a vicilina <i>Vigna unguiculata</i> (código de acesso: A8YQH5_VIGUN)</b> .....	56
Figura 13. <b>Alinhamento dos peptídeos da banda-4, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo <i>Vigna unguiculata</i> P.O 1-5-4 com a vicilina <i>Vigna unguiculata</i> (código de acesso: A8YQH5_VIGUN)</b> .....	56
Figura 14. <b>Alinhamento dos peptídeos da banda-5, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo <i>Vigna unguiculata</i> P.O 1-5-4 com a</b>	



- proteína não caracterizada de *Vigna angularis* (código de acesso: A0A0S3R8L0\_PHAAN)..... 57
- Figura 15. Alinhamento dos peptídeos da banda-6, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a proteína *Vigna unguiculata* CPRD22 (código de acesso: P93701\_VIGUN).... 57
- Figura 16. Alinhamento dos peptídeos da banda-7, obtidos por análise de espectrometria de massas, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a proteína *Vigna unguiculata* CPRD22 (código de acesso: P93701\_VIGUN).... 58
- Figura 17. Alinhamento dos peptídeos da banda-8, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* PO 1-5-4 com a vicilina *Vigna unguiculata* (código de acesso: A8YQH5\_VIGUN)..... 58
- Figura 18. Massa larval de *Callosobruchus maculatus* 20 DAO em sementes artificiais contendo 0 (controle) ou 1% das proteínas com afinidade a quitina isoladas dos genótipos de *Vigna unguiculata* BO 1-5-15, BO 1-5-19, PO 1-5-4, BRS Imponente e MNC06-909-52..... 59
- Figura 19. Alinhamento das sequências dos peptídeos da vicilina do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a vicilina de *V. angularis* (código de acesso PDB: 2EAA)..... 61
- Figura 20. *Docking* da vicilina com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sub>4</sub>.. 62
- Figura 21. *Docking* da vicilina, incluindo o sitio de ligação a quitina descrito por (MIRANDA et al., 2020), com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sub>4</sub> ..... 64
- Figura 22. Classificação funcional das proteínas identificadas nos genótipos P.O. 15-4 e P.O. 1-5-7 de *Vigna unguiculata* ..... 66
- Figura 23. Análise do desempenho do inseto *Zabrotes subfasciatus* infestando genótipos de *Phaseolus vulgaris* ..... 68
- Figura 24. Análise da viabilidade germinativa das sementes após infestação por *Zabrotes subfasciatus*..... 69
- Figura 25. Análise dos comprimentos dos eixos germinativos das sementes germinadas após infestação por *Zabrotes subfasciatus*..... 70
- Figura 26. Fotos das sementes germinadas e dos eixos embrionários provenientes das sementes de *Phaseolus vulgaris* controle ou infestadas por *Zabrotes subfasciatus*..... 72

Figura 27. **Avaliação da toxicidade da farinha do tegumento do cultivar L-3 para as larvas de *Zabrotes subfasciatus*** ..... 73

Figura 28. **Comprimento das larvas de *Zabrotes subfasciatus* desenvolvidas em sementes artificiais com tegumentos artificiais contendo farinha do tegumento do genótipo L-3**..... 74

Figura 29. **Análise proteômica comparativa dos genótipos de *Phaseolus vulgaris* L-3 e L-8**..... 75

Figura 30. **Classificação funcional das proteínas identificadas nos genótipos L-3 e L-8 de *Phaseolus vulgaris***..... 76

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. **Sementes de genótipos de *Phaseolus vulgaris***..... 31

Tabela 2. **Proteínas identificadas a partir dos peptídeos obtidos por análise de espectrometria de massa das bandas protéicas dos genótipos de *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 e MNC06-909-76**..... 54

Tabela 3. **Peptídeos obtidos por análise de espectrometria de massa da banda-4 (50 kDa) do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4**..... 60

## LISTA DE TABELA SUPLEMENTAR

Tabela suplementar 1. **Proteínas identificadas, por espectrometria de massas, nos cotilédones das sementes dos genótipos de *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 (T6) e PO 1-5-7 (T8)**..... 101

Tabela suplementar 2. **Proteínas identificadas, por espectrometria de massas, nos cotilédones das sementes dos genótipos de *Phaseolus vulgaris* L-3 e L-8** 111

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. **Adultos emergidos diariamente de 25 a 40 DAO (Dias após oviposição)** ..... 50

## RESUMO

Os insetos *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus* são as principais pragas das sementes de *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris*, respectivamente. Estes insetos consomem os cotilédones das sementes, diminuindo seus valores nutricionais e comerciais. Nesse trabalho sementes de *V. unguiculata* e *P. vulgaris* foram caracterizadas quanto à resistência ou susceptibilidade aos insetos. Sementes foram infestadas e foi avaliado o desenvolvimento dos insetos. As proteínas majoritárias de dois genótipos de *V. unguiculata* foram identificadas por espectrometria de massas. Proteínas com afinidade à quitina foram isoladas de genótipos de *V. unguiculata* e a toxicidade avaliada para *C. maculatus*. Experimentos *in silico* foram usados para estudar a interação entre essas proteínas e a quitina. Proteômica comparativa foi realizada entre genótipos resistentes e susceptíveis. Nossos resultados mostraram que alguns genótipos apresentaram algum grau de resistência à infestação, interferindo na oviposição, sobrevivência larval ou de adultos. A infestação interferiu na germinação da maioria das sementes. Proteínas como vicilinas, glicinina, e proteínas CPRD22 foram identificadas nos genótipos de *V. unguiculata*. As proteínas com afinidade à quitina foram tóxicas para *C. maculatus*, diminuindo a massa larval. O *docking* da vicilina de *V. unguiculata* com quitina apresentou energia de afinidade negativa, indicando ser uma ligação espontânea. As moléculas interagiram por ligação de hidrogênio, pontes salinas e interações hidrofóbicas. Um total de 267 proteínas foram identificadas na proteômica comparativa de *V. unguiculata*, sendo 259 presentes em níveis similares em ambos, 7 estavam diminuídas no genótipo menos susceptível e 1 aumentada. Genótipos de *P. vulgaris* foram capazes de interferir na oviposição, eclosão larval e emergência de adultos de *Z. subfasciatus*. A infestação por *Z. subfasciatus* interferiu na germinação de alguns genótipos de *P. vulgaris*, interferindo na morfologia e comprimento dos eixos embrionários. O tegumento do genótipo de *P. vulgaris* L-3 interferiu no desenvolvimento larval de *Z. subfasciatus*. Na proteômica comparativa dos genótipos de *P. vulgaris*, foram identificadas 613 proteínas, 455 presentes e expressas nos mesmos níveis em ambos, 86 proteínas estavam diminuídas no genótipo resistente (L-3) e 53 estavam aumentadas. Outras 7 proteínas foram encontradas somente no genótipo L-3 onde destacamos proteínas relacionadas à defesa, como lectinas,

inibidor de tripsina, uma peptidase, proteína com domínio Knot1 e proteínas com domínio cupin. A identificação de genótipos menos susceptíveis à infestação de insetos pode auxiliar na melhoria da produção, rentabilidade e sustentabilidade da agricultura.

**Palavras-chaves:** Mecanismo de defesa, proteínas tóxicas, insetos-praga.

## ABSTRACT

The insects *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* are the main pests of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* seeds, respectively. These insects consume the cotyledons of the seeds, decreasing their nutritional and commercial values. In this work, seeds of *V. unguiculata* and *P. vulgaris* were characterized for resistance or susceptibility to insects. Seeds were infested and insect development was evaluated. The major proteins of two *V. unguiculata* genotypes were identified by mass spectrometry. Chitin-binding proteins were isolated from *V. unguiculata* genotypes and the toxicity evaluated for *C. maculatus*. *In silico* experiments were used to study the interaction between these proteins and chitin. Comparative proteomics was performed between resistant and susceptible genotypes. Our results showed that some genotypes have some degree of resistance to infestation, interfering in oviposition, larval or adult survival. The infestation interfered with the germination in most of the seeds. Proteins such as vicilins, glycinin, and CPRD22 proteins have been identified in *V. unguiculata* genotypes. Chitin-binding proteins were toxic to *C. maculatus*, decreasing the larval mass. Docking of *V. unguiculata* vicilin with chitin showed negative affinity energy, indicating that it was a spontaneous binding. The molecules interacted through hydrogen bonding, salt bridges and hydrophobic interactions. A total of 267 proteins were identified in the comparative proteomics of *V. unguiculata*, 259 being present at similar levels in both genotypes, 7 were decreased in the less susceptible genotype and 1 was increased. The *P. vulgaris* genotypes were able to interfere with oviposition, larval hatching and emergence of adults of *Z. subfasciatus*. The *Z. subfasciatus* infestation interfered with the germination of some *P. vulgaris* genotypes, in the morphology and length of the embryonic axes. The tegument of the *P. vulgaris* L-3 genotype interfered in the larval development of *Z. subfasciatus*. In the comparative proteomics of *P. vulgaris* genotypes, 613 proteins were identified, 455 present and expressed at the same levels in both genotypes, 86 proteins were decreased in the resistant genotype (L-3) and 53 were increased. Another 7 proteins were found only in the L-3 genotype where we highlight proteins related to defense such lectins, trypsin inhibitor, peptidase, protein with Knot1 domain and proteins with cupin domain. The identification of genotypes less susceptible to insect infestation can help to improve the production, profitability and sustainability of agriculture.

**Keywords:** Defense mechanism, toxic proteins, pest insects.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 *Vigna unguiculata*

O feijão de corda ou feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) (L.) Walp é uma planta da família *Fabaceae*, com um destaque na alimentação animal por ser fonte de nutrientes importantes como vitaminas, minerais, proteínas e carboidratos. É uma cultura muito relacionada às práticas de subsistência e de grande importância socioeconômica (FREIRE-FILHO et al., 2011). As sementes de *Vigna unguiculata* são uma importante fonte de alimento tanto para seres humanos quanto para animais, principalmente na América central, América do Sul, África e Ásia (PHILLIPS et al., 2003; SINGH et al., 2003).

Por sua capacidade de se adaptar em regiões mais áridas e quentes, a cultura da *V. unguiculata* é uma ótima candidata para plantios em regiões onde outros feijões não sobrevivem, ou possuem baixa produção. Seus grãos também são tolerantes a outros estresses abióticos (SINGH et al., 2003). Por ter a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, através dos seus nódulos, a *V. unguiculata* consegue crescer bem em regiões com solos pobres em nitrogênio, compostos de até 85% de areia e menos de 0,2% de matéria orgânica (KOLAWOLE; TIAN; SINGH, 2000; SANGINGA; LYASSE; SINGH, 2000). Junto com essas características, a planta ainda apresenta um rápido crescimento, e quando suas raízes morrem, elas ainda fornecem resíduos ricos em nitrogênio ao solo, aumentando a fertilização do mesmo (SINGH et al., 2003).

O feijão-caupi é originário da África e foi introduzido no Brasil no século XVI, pelo Estado da Bahia, por colonizadores portugueses, de onde se expandiu para todo o País. No Brasil seu cultivo encontra-se principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Segundo dados da CONAB, (2012), o cultivo de feijão-caupi no Brasil atingiu uma área de 1,3 milhões de hectares e com a produção anual de 480 mil toneladas. Informações disponíveis na FAO, (2011) mostram que a produção de feijão-caupi se encontra em torno de 5,5 milhões de toneladas de grãos cultivados em 10,5 milhões de hectares. Estão entre os maiores produtores no mundo a Nigéria, o Níger e o Brasil, respectivamente, onde a área plantada representa 84%, o que equivale a 70,9% da produção mundial dessa cultura.

## 1.2 *Phaseolus vulgaris*

O nome "*Phaseolus*" foi introduzido por Lineu, em 1753, e sua validade foi confirmada em 1840 (MORALES, 1995). As subespécies envolvidas por essa família estão espalhadas pelo mundo todo de forma ampla (DEBOUCK, 1999). É um gênero bem diversificado, com cerca de 70 espécies no total, todas nativas das Américas, em que podemos destacar algumas como *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus leptostachyus*, *Phaseolus coccineus* e *Phaseolus vulgaris* (BRÜCHER, 1998; SOTO et al., 2005).

Recomenda-se o consumo diário desta espécie entre 50 e 100g por dia/pessoa, o que representa cerca de 28% das proteínas e 12% das calorias recomendadas (HUNGRIA et al., 2000; MESQUITA et al., 2016). A semente, quando não cozida possui uma baixa digestibilidade por conta de compostos fenólicos e inibidores de proteases (EICHER; SATTERLEE, 1988). Esses compostos fenólicos são responsáveis por formar complexos coloridos com sais de ferro, e também complexos proteicos, responsabilizando-se por parte da inibição de enzimas digestivas. Estes complexos se encontram principalmente no tegumento do grão e em genótipos coloridos (ANTUNES et al., 1995; MESQUITA et al., 2016). A espécie *P. vulgaris* é muito cultivada em regiões tropicais e subtropicais por conta das variações climáticas favoráveis (TOLEDO; CANNIATTI-BRAZACA, 2008).

A espécie é muito incidente nos países da América do Sul e África, dando destaque para o Brasil, como maior produtor. No país, essa importância é observada desde a década de 90, onde os números chegavam a 5,4 milhões de toneladas de feijão, em todos os genótipos, e cerca de 50% dessa colheita era de feijão comum, 29,6% era do tipo carioca, 11% do grupo comercial preto e 9,2% eram os tipos restantes. Atualmente, na safra de 2018/2019, a produção de feijão comum da variedade cores foi de 59,9% do volume total de feijões, seguido pelo caupi (25,4%) e feijão preto (14,7%) (CONAB, 2019).

*P. vulgaris* é uma espécie cultivada em grande parte do território brasileiro, adaptando-se a diversas condições definidas através de fatores do meio tais como o clima, relevo, litologia, temperatura, umidade do ar, radiação, tipo de solo, vento, precipitação pluvial e composição atmosférica, além de diferentes níveis de tecnologia, épocas de plantio e sistema de plantio (ACOSTA-



GALLEGOS et al., 1998; BLUM, 1997). No contexto geral, carne bovina, feijão e arroz são considerados as principais fontes de proteínas, representando 70% da ingestão destas, sendo que no prato “arroz e feijão”, o feijão é uma fonte de aminoácidos como lisina e o arroz é uma fonte de aminoácidos sulfurados, complementando-se (BITOCCHI et al., 2012; MANARINI, 2015). A importância alimentar do feijão comum deve-se ao custo reduzido de sua proteína em relação aos produtos animais, e, por isso, há tanto investimento na produção dessa espécie no Brasil (CONAB, 2010).

Como qualquer semente, o grão de *P. Vulgaris* e a *V. unguiculata* são uma ótima fonte de nutrientes, sendo fundamentais no desenvolvimento de muitos seres vivos. Desse modo, os mesmos tornam-se um alvo promissor para herbívoros, onde podem-se destacar os insetos, mais especificamente os carunchos, considerados os principais incidentes nessas sementes (RIBEIRO-COSTA; PEREIRA; ZUKOVSKI, 2007). O ataque a essas sementes, por mais que seja uma relação natural, acarreta muitos prejuízos aos produtores por desvalorizar a mercadoria e também por reduzir a massa da semente, uma vez que durante o seu desenvolvimento, o inseto consome parte desta, diminuindo o valor nutricional e dando abertura para microorganismos entrarem (BALDIN; PEREIRA, 2010).

Mesmo com toda a rusticidade das culturas de *V. unguiculata* e *P. vulgaris*, existem vários patógenos e pragas que afetam a sua produção, incluindo nematoides, fungos, bactérias e insetos, principalmente na fase de armazenamento pós colheita (SINGH et al., 2003).

Devido ao grande potencial de devastação, injúrias causadas por insetos têm sido um dos principais problemas para a produção das sementes de feijão (DAOUST; ROBERTS; DAS NEVES, 1985). Destaca-se nesse contexto o ataque a sementes por carunchos ou gorgulhos (Coleoptera: Bruchinae), que podem infestar as sementes de feijão ainda no campo ou principalmente em condições de armazenamento (GRAHAM; RANALLI, 1997).

Dentre os carunchos que atacam as sementes de *Vigna*, destaca-se o inseto *Callosobruchus maculatus* como a principal praga de sementes durante o armazenamento. E para sementes de *P. vulgaris* tem-se o *Zabrotes subfasciatus* como principal praga das sementes estocadas (SOUSA et al., 2005)

### 1.3 *Callosobruchus maculatus*

Os insetos representam 60% de todas as espécies conhecidas na terra. Desses, 50% representam os insetos herbívoros, sendo considerados o principal fator de limitação de produção agrícola (FONTES; VALADARES-INGLIS, 2020; HOWE; JANDER, 2008; SCHOONHOVEN; JERMY; LOON, 1998). Aproximadamente dois terços dos insetos herbívoros conhecidos são besouros ou lagartas que atacam folhas, sendo os demais insetos consumidores de sementes e outras partes das plantas (HOWE; JANDER, 2008; SCHOONHOVEN; JERMY; LOON, 1998).

O inseto *Callosobruchus maculatus* faz parte da família Cysomelidae, ordem Coleóptera e destaca-se como a principal praga de feijões do gênero *Vigna* (GALLO et al., 2002) (Figura 1). O *Callosobruchus maculatus* é uma praga primária, infestando e consumindo sementes íntegras, principalmente durante a estocagem (APPLEBY; CREDLAND, 2003).



Figura 1. *Callosobruchus maculatus*. Espécie de inseto praga primária de sementes de feijão, como *Vigna unguiculata*.

O potencial de causar danos devastadores na semente é imenso. Uma vez que se inicia a infestação, o inseto se desenvolve no interior da semente, o que dificulta a identificação da infestação nos estágios iniciais. A fêmea do inseto coloca seus ovos na superfície externa, sobre o tegumento da semente e após 3-5 dias o inseto termina seu desenvolvimento embrionário e a larva eclode. Após a eclosão, a larva atravessa o tegumento e penetra nos cotilédones, onde vai completar seu ciclo de vida (BECK; BLUMER, 2014; CREDLAND, 1987).

Para se desenvolver, a larva do inseto consome as fontes de reserva da semente, proteínas, carboidratos e lipídios depositados no cotilédone. O ciclo de vida do inseto, que se passa praticamente todo no interior da semente, se completa entre 25-30 dias após a oviposição. Durante esse período o poder devastador do inseto sobre o grão é enorme, diminuindo o potencial germinativo ou inviabilizando a germinação, reduzindo o valor nutricional e comercial dos grãos. A emergência do inseto adulto deixa galerias na semente, o que irá abrir caminhos para a penetração de patógenos e outras pragas secundárias (BECK; BLUMER, 2014; DE SÁ et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2009).

O controle de pragas como *C. maculatus* é feito principalmente através do tratamento das sementes durante a estocagem, com compostos químicos como os a base de fosfina, brometo de metil, dissulfeto de carbono e muitos outros compostos químicos (PACHECO; SARTORI; TAYLOR, 1990). Ao longo dos anos foram desenvolvidos diferentes métodos de controle para esses Bruchideos. Os métodos consistem de inseticidas sintéticos usados diretamente nas sementes (CASWELL; AKIBU, 1980) ou óleos extraídos de plantas que repelem o inseto (PEREIRA, 1983; SINGH; VAN EINDEN, 1979). Outros métodos mais alternativos como cinzas, areia, terra de diatomácea e até mesmo folhas de algumas plantas também foram testados para controle da infestação (SINGH; VAN EINDEN, 1979).

Os efeitos adversos do uso indiscriminado desses defensivos agrícolas sintéticos são inúmeros e têm recebido destaque há décadas. O aparecimento de biotipos resistentes vem fazendo com que o agricultor utilize dosagens cada vez maiores sem obter resultado satisfatório (SIQUEIRA; GUEDES; PICANÇO, 2000). O uso intensivo destes produtos acarreta ainda outros problemas como contaminação do ambiente e intoxicação humana (LORINI, 1999). Desta forma, meios alternativos de controle desses insetos são necessários por devido a preocupações ambientais e de saúde, além de prejuízos na sobrevivência de insetos benéficos, como polinizadores e insetívoros (LEWIS, 1997).

#### **1.4 *Zabrotes subfasciatus***

O *Z. subfasciatus* é uma espécie de inseto que teve origem nas regiões tropicais e subtropicais da América Latina, Central e Sul, sendo conhecido por

ser o maior predador de feijão comum (DENDY; CREDLAND, 1991; HAINES, 1991; RIBEIRO-COSTA; PEREIRA; ZUKOVSKI, 2007). Pertence ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Coleoptera e família Bruchidae (BALDIN; PEREIRA, 2010). Esta família é constituída por insetos conhecidos como “carunchos de feijão”, responsáveis por danos à produção e estocagem de grandes e pequenos produtores (BARBOSA et al., 2000; ROSSETTO, 1966; SCHOONHOVEN; CARDONA; VALOR, 1982) (Figura 2).

*Z. Subfasciatus* possuem como características morfológicas o tamanho do adulto ficar entre 1,8 e 2,5 mm de comprimento, cerca de 1,2 e 1,8 mm de largura, com uma coloração marrom, normalmente escura, e uma forma oval e convexa (ALVES, 2019; BALDIN; PEREIRA, 2010; MINNEY et al., 1990; YOKOYAMA et al., 1996). Geralmente as fêmeas possuem o tamanho do corpo maior que o macho, além de apresentarem quatro manchas claras no élitro, que quando se encontra em repouso, mostra o pigído (ALVES, 2019; CARDONA et al., 1989; REGO et al., 1986).



Figura 2. ***Zabrotes subfasciatus***. Inseto da família bruchideo capaz de infestar sementes do gênero *Phaseolus*, principalmente a espécie *Phaseolus vulgaris*.

Além disso, essa espécie é capaz de preda *Vigna unguiculata*, *P. lunatus* e *Phaseolus sp.* embora a espécie principal seja o *P. vulgaris* (HOHMANN; CARVALHO, 1989; RIBEIRO-COSTA; PEREIRA; ZUKOVSKI, 2007). Ao preda a semente, o inseto deixa sinais visuais, como por exemplo os ovos, que podem ser observados sobre o tegumento. Os ovos se aderem ao tegumento da

semente devido a uma secreção gelatinosa liberada pelas fêmeas no momento da oviposição, que em contato com o ar endurecem e permite que os ovos fiquem firmemente colados (MAZZONETTO; VENDRAMIM, 2002; PADGHAM et al., 1992). A fêmea de *Z. subfasciatus* é capaz de colocar em torno de 36 ovos, e após a oviposição, o ciclo dura em torno de 25 dias, em temperatura entre 29°C e 32,5°C. Em temperaturas inferiores, como 20°C, o ciclo de vida aumenta, podendo chegar a 100 dias, com umidade relativa de 70% (ALVES, 2019; CABI, 2019; SCHOONHOVEN; CARDONA; VALOR, 1983).

Após a oviposição, o embrião se desenvolve dentro do ovo e, posteriormente, as larvas penetram o tegumento, para se alimentarem dos cotilédones por cerca de 14 a 16 dias (HOWE; CURRIE, 1964). Podem-se observar 4 estágios da larva, até que cheguem à pupa. Os adultos vivem de 6 ou 7 dias na temperatura ideal (ALVES, 2019) e nessa fase não se alimentam, sendo capazes de ingerir água e néctar. Após a saída da semente, o inseto adulto realiza a cópula, e com as fêmeas fertilizadas, o ciclo se inicia novamente (RILEY; CLARK; SEENO, 2003).

Por conta das galerias formadas pelas larvas e os buracos no tegumento deixados após a emergência dos adultos, essa infestação traz prejuízos para o comércio, uma vez que as sementes perdem massa e o valor nutricional, além do poder de germinação parcial ou total (ORIANI; LARA; BOIÇA JR, 1996; PEREIRA et al., 1995). Além disso, excrementos e animais mortos atrapalham a higiene dos estoques (WANDERLEY; OLIVEIRA; ANDRADE JR, 1997). Os problemas com fungos e bactérias oportunistas também surgem, já que o cotilédone é exposto pelas galerias e buracos feitos pelos insetos (KORNEGAY; CARDONA; POSSO, 1993).

### **1.5 Mecanismos naturais de defesa de sementes**

Plantas e insetos coexistem a mais de 350 milhões de anos, acarretando em uma co-evolução, onde ambos os indivíduos desenvolveram estratégias para evitar os sistemas de defesa um do outro (HARE, 2011; HOWE; JANDER, 2008). Para se defenderem contra o ataque desses herbívoros, as plantas produzem estruturas especializadas ou compostos químicos, como metabólitos secundários e proteínas que são tóxicas ao agressor, servindo de repelente ou

substância antinutricional para herbívoros (RANI; JOYTHSNA, 2010; WAR et al., 2011). As plantas podem se defender de herbívoros tanto através da indução direta da síntese de compostos tóxicos, disparada pela agressão ou ainda através de defesas constitutivas que compreendem compostos e estruturas que já existem na planta, independente da agressão (AGRAWAL, 2000).

As reservas nutricionais das sementes são uma indubitável fonte de alimento para diversos herbívoros, desta forma são os órgãos da planta de preferencial ataque por insetos herbívoros. As sementes quiescentes, por estarem em pausa metabólica são incapazes de disparar defesas induzidas, dependendo apenas das defesas constitutivas para sua proteção. As defesas constitutivas das sementes se baseiam em defesas físicas, relacionadas principalmente com a dureza e espessura dos tegumentos, e a presença de compostos tóxicos que podem se localizar tanto nos tegumentos como nos cotilédones (OLIVEIRA et al., 1999). Dentre os compostos tóxicos, as proteínas de defesa se destacam como o grupo mais estudado em sementes e compreendem proteínas inativadoras de ribossomos RIPs, arcelinas, canatoxina, inibidores de enzimas digestivas, quitinases, vicilinas, lectinas entre outras (CARLINI; GROSSI-DE-SÁ, 2002; OSBORN et al., 1988).

Para as sementes, os tegumentos representam a primeira barreira contra a penetração do inseto, sendo de fundamental importância para a proteção do embrião (SOUZA et al., 2011). Embora os tegumentos tenham sido considerados por anos apenas defesas físicas, na década de 70 estudos começaram a investigar a participação de compostos químicos nessa defesa. JANZEN, (1977) estudou 73 espécies diferentes de sementes em relação à sobrevivência ou morte de larvas de *Callosobruchus maculatus* e demonstrou que na maioria dos casos, os tegumentos eram barreiras químicas de defesa. Posteriormente THIÉRY, (1984) mostrou que as larvas neonatas de *Acanthoscelides obtectus* morriam ao atravessar os finos tegumentos de *Phaseolus vulgaris*. Estudos realizados por nosso grupo mostraram que os tegumentos de *Canavalia ensiformis*, *Phaseolus lunatus* e *Phaseolus vulgaris* possuíam proteínas similares a vicilina, (uma proteína tipicamente de reserva de cotilédones) e que essas proteínas apresentavam alta toxicidade para a larva de *C. maculatus* (MORAES et al., 2000; OLIVEIRA et al., 1999; SILVA et al., 2004; SOUZA et al., 2012). Um carboidrato de massa molecular de 883,0 Da, formado por ramnose

com ramificações de galactoses isolado de tegumentos de *Canavalia ensiformis* também foi tóxico para larvas de *C. maculatus* (OLIVEIRA et al., 2001).

Investigações com sete cultivares de *Glycine max* constataram que os tegumentos dessas sementes exerciam influências negativas na sobrevivência e desenvolvimento das larvas de *C. maculatus*, diminuindo a oviposição em até 100% e aumentando em mais de 100% o tempo para a larva atravessar os tegumentos (OLIVEIRA et al., 2009). Reduções drásticas na oviposição e eclosão larval de *C. maculatus* também foram observados em tegumentos de outras sementes como *P. vulgaris*, *Dioclea altíssima* e *Albizia lebbbeck* (DE SÁ et al., 2014; SILVA et al., 2016; SOUZA et al., 2011). O mecanismo de toxicidade de compostos dos tegumentos para as larvas de *C. maculatus* parecem estar relacionados com a ligação à matriz de quitina que reveste o intestino e ainda à inibição de enzimas digestivas (CRUZ et al., 2016; DE SÁ et al., 2014; SILVA et al., 2016).

### **1.6 Resistência de sementes à infestação por insetos**

Uma planta resistente pode ser definida como aquela que devido a sua constituição genotípica é menos danificada que outra em condições de igualdade frente ao ataque de um agressor, como um inseto (GALLO et al., 2002; ROSSETTO, 1966). A resistência de plantas aos insetos pode ser descrita ou classificada em três classes: tolerância, não-preferência ou antixenose, e antibiose. A tolerância se caracteriza pela planta sofrer menos danos em relação a outras plantas, quando observa-se o mesmo nível de infestação na plantação. A resistência por não-preferência ou antixenose se dá quando a planta é menos utilizada para a alimentação pelo inseto, ou mesmo para oviposição. E por fim, a antibiose se destaca quando ocorre de o inseto se alimentar de maneira normal de uma planta e esta, por sua vez, exerce algum tipo de efeito de caráter adverso sobre o inseto, seja afetando direta ou indiretamente o potencial de reprodução do inseto. Esses efeitos podem causar uma mortalidade na fase imatura, redução na oviposição do inseto, perda de peso, alongamento do período de desenvolvimento da larva ou do adulto, interferência na fecundidade, dentre outros (LARA, 1997).

O uso de cultivares e genótipos resistentes a pragas pode representar uma ferramenta poderosa para melhorar a produção agrícola, minimizando o uso de pesticida, e conseqüentemente diminuindo seus impactos ambientais e na saúde, aumentando a eficiência, a rentabilidade e sustentabilidade dos sistemas agrícolas (HALL; TOPINKA; GOOD, 2002). Estudos sobre os efeitos de cultivares não hospedeiros podem ainda ajudar no manejo integrado de pragas, como já proposto para outras pragas (RAZMJOU; NASERI; HEMATI, 2013).

### **1.6.1 Cultivares e genótipos de *Phaseolus vulgaris* resistentes à infestação por *Zabrotes subfasciatus***

Diversos estudos têm se dedicado a identificação de genótipos resistentes de *P. vulgaris* à infestação por insetos (CARDONA et al., 1989; PADGHAM et al., 1992; SCHOONHOVEN; CARDONA; VALOR, 1983). Estudo realizado por (WALTER, 1992) analisando genótipos selvagem de *P. vulgaris*, demonstraram que uma família de proteínas denominadas arcelinas, conseguia bloquear a digestão do inseto e não apresentavam nenhum efeito deletério para o ser humano. Outros trabalhos que foram conduzidos por ROMERO ANDREAS; et al, (1986) e OSBORNI et al, (1988), constataram que as arcelinas podem ter uma associação com a resistência do feijão ao ataque de insetos bruquideos, fato este que foi constatado após a observação da presença dessa proteína em genótipos selvagens que eram resistentes ao ataque de insetos. WANDERLEY; et al, (1997) avaliando a resistência de seis cultivares de *P. vulgaris* a *Z. subfasciatus* mostraram que os cultivares ricos em arcelina reduziram 90% a sobrevivência do inseto. As proteínas arcelinas são agrupadas na família APA de *P. vulgaris*, que inclui além das arcelinas, as fitohemaglutininas e os inibidores de  $\alpha$ -amilase. Variações na composição das proteínas APA têm sido associadas com a resistência de alguns genótipos de *P. vulgaris* ao ataque de insetos como *Z. subfasciatus* e *Acanthoscelides obtectus* (KUSOLWA et al., 2016; PAES et al., 2000; VELTEN et al., 2007; ZAUGG et al., 2013). Atualmente são conhecidos sete tipos de arcelinas de *P. vulgaris*, em acessos silvestres. Essas arcelinas foram nomeadas de arc 1, arc 2, arc 3, arc 4, arc 5, arc 6 e arc 7 (LIOI et al., 2003; ZAUGG et al., 2013). Segundo descrito por alguns autores a diferença



encontrada entre as arcelinas se dá pela variação nas sequências de aminoácidos ou frações de carboidratos ligados a estas proteínas (CARDONA et al., 1989; HARMSSEN et al., 1988). A arcelina tem a capacidade de causar mortalidade em larvas de *Z. subfasciatus* no primeiro e segundo instar, redução na porcentagem de emergência, redução no peso e um aumento no período de desenvolvimento do ciclo biológico do inseto, o que pode ser descrito como uma resistência por antibiose (PAES et al., 2000; SAKTHIVELKUMAR et al., 2014; SUNDARAM et al., 2012). LOPES et al., (2016) observaram que houve uma variação nas taxas de desenvolvimento populacional de *Z. subfasciatus* e de *C. maculatus* em genótipos de *P. vulgaris*. Foi relatado que nos genótipos que ocorreram uma menor emergência de insetos havia a possível presença de arcelinas e vicilinas, podendo ser os fatores de antagonismo ao desenvolvimento desses bruquídeos. Foi observado atraso da emergência dos insetos adultos, redução da massa e menor emergência dos insetos desenvolvidos em sementes de genótipos resistentes de *P. vulgaris* (ACOSTA-GALLEGOS et al., 1998; CARDONA et al., 1989; KORNEGAY; CARDONA; POSSO, 1993). MAZZONETTO; VENDRAMIM, (2002) observaram que a presença de arcelinas (Arc.1, Arc.2, Arc.3 e Arc.4) prejudicou o desenvolvimento do inseto *Z. subfasciatus*, diminuíram a sua massa e afetaram o tempo de vida do inseto. Em alguns genótipos RAZ 56, Arc.2, RAZ 55, RAZ 49 e RAZ 59, foi verificada resistência aos bruquídeos, em alguns casos por não preferência e em outros casos por antibiose, onde notou-se a menor porcentagem de insetos emergidos, maior tempo para eclosão larval e menor matéria seca consumida pelos insetos (MORAES et al., 2011).

### **1.7 Cultivares e genótipos de *Vigna unguiculata* resistentes à infestação de *C. maculatus***

Muitos estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de analisar a performance de *C. maculatus* infestando diferentes cultivares de *V. unguiculata* (CRUZ et al., 2016; SINGH; SINGH; ADJADI, 1985; SINGH, 1999). O IITA (*International Institute for Tropical Agriculture*, na Nigéria) desenvolveu um estudo com 8000 germoplasmas de *V. unguiculata* e, dentre estes, três foram identificados como apresentando algum grau de resistência à infestação por *C.*

*maculatus*, sendo os cultivares TVu 2027, TVu 11952 e TVu 11953 (SINGH; SINGH; ADJADI, 1985). Subsequentemente outros genótipos foram originados a partir desses, dentre eles os cultivares IT81D-1032 e IT81D-1045 (SINGH, 1999). Nos anos seguintes, inúmeros estudos relataram os possíveis mecanismos de toxicidade desses cultivares contra *C. maculatus*. DICK; CREDLAND, (1986) mostraram que a sobrevivência de *C. maculatus* diminuiu e o tempo de desenvolvimento aumentou durante a infestação de sementes do cultivar TVu 2027. Dois cultivares de *Vigna unguiculata* TV-3236 e IT82D-889 também apresentaram significativa resistência para *C. maculatus*, causando diminuição na oviposição e mortalidade larval (LALE; EFEOVBOKHAN, 1991). Seis genótipos originados no Senegal mostraram altos níveis de resistência à infestação por *C. maculatus*, sendo sugeridas pelos autores como alternativas viáveis para a redução da incidência da infestação de sementes de feijão caupi por esses insetos (SECK, 1993).

Estudos iniciais feitos por GATEHOUSE et al., (1979) e depois por XAVIER-FILHO, (1991) mostraram que a resistência apresentada por alguns desses cultivares não era de caráter físico. A presença de proteínas de defesa nos cotilédones dessas sementes foi então indicada como responsável, pelo menos em parte, por essa resistência (GATEHOUSE et al., 1979; MACEDO et al., 1993; SALES; MACEDO; XAVIER-FILHO, 1992). A resistência de alguns cultivares foi inicialmente associada com os altos níveis de inibidores de protease do tipo tripsina (GATEHOUSE et al., 1979). MACEDO et al., (1993) atribuíram a toxicidade ao inseto à fração de globulinas, ricas em proteínas de reservas do tipo vicilinas. As taxas de digestão dessas vicilinas no intestino de larvas de *C. maculatus* foi muito menor do que de vicilinas isoladas de sementes de cultivares suscetíveis ao ataque (SALES; MACEDO; XAVIER-FILHO, 1992). Resultados obtidos por SALES et al., 2001 demonstraram que as vicilinas do cultivar resistente IT81D 1045 se ligam ao intestino de *C. maculatus*, interagindo de maneira mais intensa com componentes da membrana do intestino. Os autores sugeriram que essa ligação era mediada pela capacidade de ligação à quitina apresentada pelas vicilinas. SALES et al., (2001) ainda demonstraram a presença de quitina revestindo o trato intestinal do inseto, reforçando ainda mais essa evidência. A comparação entre o tamanho das larvas que se desenvolveram em sementes suscetíveis e resistentes mostrou que as larvas que se desenvolveram

em sementes resistentes apresentaram uma massa corporal 3 vezes menor que as larvas controle (MACEDO et al., 1993; SALES et al., 2001).

Essas vicilinas também foram tóxicas para outros insetos como *Diatrea saccharalis* (MOTA et al., 2003) e *Tenebrio molitor* (PAES et al., 2008). Esses autores também relataram a capacidade da ligação das vicilinas às estruturas quitinosas do intestino desses insetos como sendo o mecanismo de ação dessas toxinas. Peptídeos originados da hidrólise de vicilinas do cultivar IT81D 1045 apresentaram toxicidade para a larva do inseto *C. maculatus*, reduzindo em 86% a massa larval. Esses peptídeos também apresentaram capacidade de ligação à quitina (UCHÔA et al., 2009).

CRUZ et al., (2016) estudaram a resistência e susceptibilidade de nove cultivares originados pelo Programa de Melhoramento de Feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte, Brasil (BRS Paraguaçu, BRS Gurgueia, BRS Rouxinol, BRS Potengi, BRS Novaera, BRS Pajeu, BRS Guariba, BRS Tucumaque e BRS Xiquexique) à infestação por *C. maculatus*. Os resultados desse estudo mostraram que alguns cultivares retardaram a penetração das larvas, reduzindo o desenvolvimento larval e a emergência dos adultos.

A sobrevivência larval foi afetada principalmente no cultivar BRS Xiquexique onde observou-se redução de 70%. O peso da larva sobrevivente nos cultivares BRS Pajeu e BRS Xiquexique diminuiu em aproximadamente 50%. O tempo para a larva perfurar o tegumento de alguns cultivares também foi afetado, aumentando em até 40%. Parâmetros fisiológicos de digestão das larvas de *C. maculatus* também foram alterados por alguns cultivares. As atividades das proteases cisteínicas,  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase das larvas desenvolvidas nos cultivares BRS Pajeu, BRS Guariba, BRS Tucumaque e BRS Xiquexique diminuíram consideravelmente. Essas enzimas são relatadas como as principais enzimas digestivas das larvas desse inseto (PEDRA et al., 2003). Os autores ainda observaram nesse trabalho uma direta relação entre a alta susceptibilidade dos cultivares de *Vigna* com o baixo vigor germinativo das sementes (CRUZ et al., 2016). FERREIRA et al., (2021) isolaram proteínas com afinidade à quitina de cotilédones do cultivar BRS Xiquexique e mostraram que essas proteínas foram tóxicas para larvas de *C. maculatus*. Os autores indicam que o uso dos cultivares mais resistentes à infestação de *C. maculatus*, como BRS Pajeu, BRS Guariba, BRS Tucumaque e BRS Xiquexique pode ser uma estratégia para

reduzir a incidência dessa praga nas culturas do país (CRUZ et al., 2016; FERREIRA et al., 2021).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Caracterizar a resistência ou susceptibilidade de genótipos dos feijões *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris* à infestação por suas respectivas pragas os bruquideos *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus*.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o desempenho dos insetos *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus* durante a penetração do tegumento, eclosão, desenvolvimento larval e emergência de adultos em sementes naturais dos genótipos de *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris*, respectivamente;
- Caracterizar os genótipos como suscetíveis ou resistentes à infestação pelas respectivas pragas;
- Estudar os efeitos da infestação no potencial germinativo das sementes;
- Identificar proteínas majoritárias dos genótipos de *Vigna unguiculata* que apresentarem algum grau de resistência à infestação;
- Isolar proteínas com afinidade à quitina de genótipos de *Vigna unguiculata* e avaliar a toxicidade para *C. maculatus*;
- Avaliar as interações moleculares, *in silico*, entre vicilinas e quitina;
- Realizar a proteômica comparativa entre genótipos caracterizados como resistentes e suscetíveis à infestação pelos insetos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Sementes

##### 3.1.1 *Vigna unguiculata*

As sementes de *V. unguiculata* (cv fradinho) foram obtidas comercialmente em mercados locais da Cidade de Campos dos Goytacazes. As sementes dos genótipos de *V. unguiculata* foram desenvolvidas pelo Projeto “Desenvolvimento de cultivares para o agronegócio do feijão-caupi no Brasil” e foram cedidas à UENF pela Embrapa Meio-Norte, Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio-Norte – CPAMN. Essas sementes foram multiplicadas no CCTA pelo professor Geraldo Gravina e cedidas para a realização desse estudo.

Inicialmente foram usados 28 genótipos (sendo 14 do grupo fradinho e 14 do grupo cores):

i) Genótipos do Grupo cores - Código dos genótipos: Bico-de-ouro 1-5-11, Bico-de-ouro 1-5-15, Bico-de-ouro 1-5-19, Bico-de-ouro 1-5-24, Pingo-de-ouro 1-5-26, Pingo-de-ouro 1-5-4, Pingo-de-ouro 1-5-5, Pingo-de-ouro 1-5-7, Pingo-de-ouro 1-5-8, Pingo-de-ouro 1-5-10, Pingo-de-ouro 1-5-11, Pingo-de-ouro 1-5-14, BRS Tumucumaque e BRS Imponente.

ii) Genótipos do Grupo Fradinho - Código dos genótipos: MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-30, MNC06-907-35, MNC06-908-39, MNC06-909-52, MNC06-909-54, MNC06-909-55, MNC06-909-68, MNC06-909-76, BRS ITAIM e CB-27.

##### 3.1.2 *Phaseolus vulgaris*

As sementes de *P. vulgaris* foram obtidas do Programa de Melhoramento do feijão de vagem ou feijão comum da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e cedidas pelo Prof. Geraldo de Amaral Gravina CCTA/UENF. Os genótipos foram denominados de acordo com a tabela 1.

Tabela 1. **Sementes de genótipos de *Phaseolus vulgaris***. Genótipos doados pelo Programa de Melhoramento do feijão de vagem ou feijão comum da UENF. \*\*não informado

<b>Número dos genótipo</b>	<b>Genótipos</b>	<b>Progenitores</b>
L-1	Progenitor 19 (UENF 1445)	**
L-2	Feltrin	**
L-3	Top seed blue line	**
L-4	UENF 7-3-3	UENF 1442 X UENF 1429
L-5	UENF 7-4-4	UENF 1442 X UENF 1429
L-6	UENF 7-5-5	UENF 1442 X UENF 1429
L-7	UENF 7-6-6	UENF 1442 X UENF 1429
L-8	UENF 7-7-7	UENF 1442 X UENF 1429
L-9	UENF 7-9-9	UENF 1442 X UENF 1429
L-11	UENF 7-12-42	UENF 1442 X UENF 1429
L-12	UENF 7-14-44	UENF 1442 X UENF 1429
L-13	UENF 7-20-50	UENF 1442 X UENF 1429
L-14	UENF 7-28-88	UENF 1442 X UENF 1429
L-15	UENF 9-1-11	UENF 1448 X UENF 1429
L-16	UENF 9-3-13	UENF 1448 X UENF 1429
L-17	UENF 9-4-14	UENF 1448 X UENF 1429
L-18	UENF 9-3-23	UENF 1448 X UENF 1429
L-19	UENF 9-24-94	UENF 1448 X UENF 1429
L-20	UENF 9-27-97	UENF 1448 X UENF 1429
L-21	UENF 14-4-24	UENF 1448 X UENF 1442
L-22	UENF 14-6-26	UENF 1448 X UENF 1442
L-23	UENF 14-11-61	UENF 1448 X UENF 1442
L-25	UENF 14-22-102	UENF 1448 X UENF 1442
L-27	UENF 15-6-36	UENF 1448 X UENF 1445
L-28	UENF 15-7-37	UENF 1448 X UENF 1445
L-29	UENF 15-8-38	UENF 1448 X UENF 1445
L-30	UENF 15-22-112	UENF 1448 X UENF 1445
L-31	UENF 15-23-113	UENF 1448 X UENF 1445

### 3.2 Insetos

Os insetos *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus* foram obtidos de colônias mantidas no Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos do Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. O inseto *C. maculatus* foi criado em sementes de *V. unguiculata* (cv fradinho comercial) e o *Z. subfasciatus* em sementes comerciais de *P. vulgaris* (vermelho). As colônias foram mantidas dentro de frascos de vidro, com tampas plásticas perfuradas, a 28°C, no escuro em estufa B.O.D. A cada ciclo de emergência de insetos (de 25-30 dias), novas sementes foram infestadas para a manutenção das colônias.

### 3.3 Desempenho e sobrevivência de *C. maculatus* infestando os genótipos de *V. unguiculata*

Para a caracterização de algum grau de resistência das sementes a infestação do inseto foram estipulados alguns parâmetros:

- Sementes que bloquearem a embriogênese em pelo menos 50% dos ovos postos;
- Sementes onde se observar um bloqueio da penetração de pelo menos 50% das larvas neonatas;
- Sementes onde as larvas com 20 dias de idade apresentarem redução de pelo menos 50% do número ou da massa corporal;

Sementes onde a emergência de insetos adultos for reduzida em pelo menos 50%.

#### Oviposição

As sementes foram infestadas com fêmeas de *C. maculatus* com 2 dias de idade, durante 24 h a 28°C (20 sementes / 15 fêmeas por experimento). Os ovos ovipositados foram contados e o número total de ovos foi dividido pelo número de sementes (20 sementes). O experimento foi feito em triplicata e os resultados expressos como o número médio de ovos por semente. As sementes infestadas foram incubadas a 28°C por até 40 dias após a oviposição (DAO).



#### Eclosão e sobrevivência larval

Os ovos ovipositados foram observados diariamente até o 5° DAO. A porcentagem de larvas eclodidas foi calculada com base no número de larvas que penetraram na semente aos 5 DAO, considerando o número de ovos postos como 100%. A massa larval e a sobrevivência foram calculadas aos 20 DAO. Do total de sementes de cada experimento, 50% foram abertas 20 DAO e as larvas sobreviventes foram contadas e pesadas. A porcentagem de larvas sobreviventes em 20 DAO foi calculada usando o número de larvas eclodidas como 100%.

#### Emergência e sobrevivência de insetos adultos

A emergência dos adultos foi monitorada diariamente do 25° ao 40° DAO. O número de insetos que emergiram durante este período foi usado para calcular a porcentagem total de insetos que emergiram até 40° DAO. As emergências diárias entre 25 a 40 DAO foram calculadas referindo-se ao número total de insetos emergidos até 40° DAO como 100%.

### **3.4 Determinação da massa das sementes consumida após a infestação de *Callosobruchus maculatus***

Para o cálculo do percentual de massa das sementes consumidas pelo inseto, as sementes foram pesadas individualmente antes da oviposição e após a emergência dos adultos no 40° DAO. A diferença entre as massas inicial e final foi usada para calcular a porcentagem de massa consumida.

### **3.5 Determinação da viabilidade germinativa das sementes de *Vigna unguiculata* após a infestação**

O potencial germinativo das sementes foi avaliado após o período de emergência do inseto (40 DAO). Sementes infestadas e não infestadas (sementes controle) foram germinadas em placas de Petri (20 sementes por placa de Petri) contendo algodão estéril umedecido com 30 mL de água destilada, em ambiente controlado (28°C e 60% de umidade relativa). Os

experimentos se desenvolveram por 72 h (ciclo claro / escuro de 12/12 h) e a cada intervalo de 12 h o número de sementes germinadas foi registrado.

### 3.6 Identificação das proteínas por espectrometria de massa

As proteínas majoritárias presentes nos genótipos de *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 e MNC06-909-76 foram visualizadas por SDS-PAGE 12% de acordo com LAEMMLI, (1970). Os cotilédones foram macerados para a obtenção de uma farinha fina que foi diluída com tampão PBS (fosfato de sódio 0,1 M; NaCl 0,15 M, pH 7,2). As amostras foram extraídas por 30 min a 4°C. Os extratos foram centrifugados por 5 min a 3000 x g a 4°C e 20 µL de cada sobrenadante foram misturados com 10 µL de tampão de amostra e aplicados no gel de poliacrilamida 12% contendo SDS. O gel foi corado com azul de *Coomassie* 0,05% e descoradas com ácido acético 10%.

Oito bandas de cada genótipo, com massas moleculares entre 100 e 15 kDa, foram recortadas do gel e digeridas com tripsina segundo SHEVCHENKO *et al.*, (1996). Ponteiros do tipo C18 Zip-Tip foram usadas para dessalinizar os peptídeos obtidos. Os peptídeos foram identificados por espectrometria de massa de alta resolução, usando uma nanocromatografia de fase reversa acoplada a um espectrômetro do tipo eletrospray. Os experimentos foram realizados de acordo com o protocolo descrito por FERREIRA *et al.*, (2021).

Para cada amostra, 4 µL dos peptídeos dessalinizados foram inicialmente aplicados a uma coluna C18 (AQ Reprosil-Pur Dr.Maisch GmbH - Alemanha). A cromatografia foi realizada em no UPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, EUA). A fase móvel A foi constituída de 0,1% (v / v) de ácido fórmico em água e a fase B de 0,1% (v / v) de ácido fórmico em 100% de acetonitrila. Os peptídeos eluídos foram introduzidos diretamente no Q-Exactive HF-X (Thermo, EUA) para análise. Os espectros MS1 foram adquiridos no analisador Orbitrap (300 a 1.500 m/z) em uma resolução de 60.000 (para m/z 445,1200). Os 7 íons mais intensos, para cada espectro, foram submetidos à fragmentação HCD seguida da aquisição do MS2 no Orbitrap. As pesquisas para a identificação das proteínas foram realizadas usando os bancos de dados Uniprot Viridiplantae e Uniprot Fabales. Os perfis de massa dos peptídeos foram analisados usando

Peaks Studio X (Bioinformatics Solutions Inc.) e o alinhamento dos peptídeos foi feito usando o Peaks Studio X e o BLASTp.

### **3.7 Isolamento das proteínas com afinidade à quitina**

As proteínas das farinhas dos cotilédones dos genótipos BO 1-5-15, BO 1-5-19, PO 1-5-4, MNC06-909-52 e BRS Imponente foram extraídas com tampão fosfato de sódio 100 mM, NaCl 500 mM, pH 7,6 (proporção 1:10) durante 3 h a 4°C. Os extratos foram centrifugados a 10.000 x g por 30 min e os sobrenadantes foram precipitados de 0-70% com sulfato de amônio. Os extratos foram deixados overnight a 4°C, centrifugados a 10.000 x g por 30 min e os sobrenadantes foram precipitados de 70-90% de saturação com sulfato de amônio. Os extratos foram deixados overnight a 4°C, centrifugados a 10.000 x g por 30 min, os sobrenadantes foram descartados e os precipitados (as frações 70-90) foram dialisados contra água, liofilizados e fracionados por cromatografia de afinidade à quitina de acordo com MIRANDA et al., (2020).

Uma quantidade de 50 mg de cada fração 70-90 foi dissolvida em 15 mL de tampão acetato de sódio 0,08 M, pH 5,0 e a solução foi incubada com a quitina (Sigma Aldrich) por 30 min. A mistura foi empacotada em uma coluna de vidro, a um fluxo de 1,3 mL por min. A fração não retida foi eluída com tampão acetato de sódio 0,08 M, pH 5,0 e as proteínas retidas foram eluídas com 0,1 M de HCl. Foram coletadas frações de 5 mL e as absorbâncias foram lidas a 280 nm. A fração de proteínas com afinidade à quitina de cada genótipo foi dialisada contra água por 48 h, a 4°C e liofilizadas.

### **3.8 Ensaios de toxicidade para *Callosobruchus maculatus***

A toxicidade das proteínas com afinidade à quitina para *C. maculatus* foi avaliada por um sistema de sementes artificiais de acordo com MACEDO et al., (1993). As proteínas com afinidade a quitina foram incorporadas em concentração de 1,0 % em farinha de cotilédones de *V. unguiculata* (cv. fradinho), fazendo uma massa total de 400 mg para cada semente artificial. As farinhas foram misturadas e foi colocada em um molde cilíndrico de latão e prensada usando uma prensa manual. As sementes artificiais controle foram

confeccionadas utilizando apenas 400 mg de farinha de feijão fradinho. As sementes artificiais foram infestadas por 24 h, com fêmeas com 2 dias de idade. Após esse período, as fêmeas foram retiradas, os ovos contados e o excesso retirado deixando apenas 3 ovos em cada semente artificial. As sementes foram incubadas a 28°C por 20 DAO e após esse período as sementes foram abertas e as larvas foram contadas e pesadas. Os experimentos foram feitos em triplicata, com 3 sementes por experimento (total de nove sementes e 27 ovos).

### **3.9 Modelagem molecular e *docking in silico***

#### Modelagem molecular

As sequências peptídicas, obtidas por espectrometria de massa, a partir da proteína majoritária do genótipo de *V. unguiculata* P.O 1-5-4, com massa molecular de aproximadamente 50 kDa (banda 4), foram alinhadas, usando o BLASTp, com proteínas depositadas no Protein Data Bank (PDB). A sequência de aminoácidos da proteína com maior identidade foi a de uma vicilina. Essa sequência então foi usada para completar a sequência da proteína do genótipo P.O 1-5-4 e como template (modelo) para a modelagem molecular. A modelagem foi feita usando o AutoModel v. 0.10 e o modelo obtido foi validado por meio do programa PROCHECK.

#### Localização do sítio de ligação à quitina

Um sítio de ligação à quitina, previamente identificado por MIRANDA et al., (2020) em vicilina de *Vigna unguiculata* cv. IT81D-1045, foi identificado por buscas manuais nas sequências dos peptídeos obtidos da proteína de 50 kDa (banda 4) do genótipo P.O 1-5-4.

#### *Docking* da vicilina com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sup>4</sup>

O *docking* da vicilina com (NAG)<sub>4</sub> foi feito usando o programa DockThor v.2 (SANTOS et al., 2020). Inicialmente a estratégia de acoplamento cego foi realizada usando um espaço de busca definido por um cubo de 40 Å x 40 Å x 40 Å, cobrindo cerca de 90% da superfície da proteína. Outra estratégia de encaixe usava um espaço definido por um cubo de 40 Å x 40 Å x 40 Å, direcionando o cubo para uma região específica, que incluía o sítio de ligação à quitina

previamente identificado por MIRANDA et al., (2020). O modelo do NAG<sub>4</sub> foi criado a partir do PyMol, com o plug-in Azahar para projetar oligossacarídeos.

Todas as rotações do ligante foram livres para girar enquanto os átomos da proteína foram mantidos rígidos. O algoritmo de busca padrão do *site* foi usado com 1.000.000 de avaliações e 24 execuções por experimento. O melhor complexo vicilina-ligante foi avaliado pelo valor de energia de afinidade e submetido ao programa PLIP Web Tool, (SALENTIN et al., 2015) e ao programa LigPlot + v. 2.2.4, (LASKOWSKI; SWINDELLS, 2011). As interações não covalentes entre vicilina e (NAG)<sub>4</sub> foram identificadas pelos programas.

### **3.10 Desempenho e sobrevivência de *Zabrotes subfasciatus* infestando os genótipos de *Phaseolus vulgaris***

Para a caracterização de algum grau de resistência das sementes de *P. vulgaris* à infestação por *Z. subfasciatus* foram estipulados os mesmos parâmetros descritos no item 3.3.

#### Oviposição

Sementes de 29 genótipos diferentes de *P. vulgaris* descritos na tabela 1 foram infestados com fêmeas de *Z. subfasciatus* com 2 dias de idade, numa proporção de 1 fêmea para cada semente. Foram usadas 10 sementes de cada genótipo para cada experimento. As fêmeas foram deixadas em contato com as sementes por um período de 24 h, em estufa B.O.D a 28°C. Após esse período, o número de ovos ovipositados foi contado, com o auxílio de um estereomicroscópio. O experimento foi feito em triplicata e os resultados expressos como o número médio de ovos por semente.

#### Eclosão larval

O desenvolvimento do embrião e a penetração larval foram monitorados por observação em estereomicroscópio até 5 DAO. O número de larvas que conseguiu penetrar a semente foi determinado e a percentagem de larvas eclodidas foi calculada considerando o número de ovos postos como 100%. Devido ao pouco número de sementes, não foi possível o acompanhamento do desenvolvimento larval e a determinação da massa larval no 20 DAO.

### Emergência e sobrevivência de insetos adultos

O número de adultos que emergiram das sementes foi contado diariamente do 25º ao 40ºDAO. O número de larvas eclodidas foi considerado 100% e a partir desse percentual foi calculado o percentual de insetos que emergiram até 40º DAO.

### **3.11 Determinação da viabilidade germinativa das sementes de *Phaseolus vulgaris* após a infestação**

A avaliação do potencial germinativo das sementes após infestação pelo inseto foi realizada para 17 genótipos após a emergência dos adultos (L-1, L-2, L-3, L-4, L-5, L-6, L-9, L-13, L-14, L-15, L-19, L-20, L-21, L-25, L-27, L-31 e L-33). Os experimentos foram realizados de acordo com CRUZ *et al.*, (2016). Dez sementes de cada genótipo, 5 sementes controle (não infestadas) e 5 sementes após a infestação (40 DAO). As sementes foram germinadas em placas de Petri contendo uma camada de algodão, umedecido com 30 mL de água destilada. Os experimentos foram realizados em estufa a 28°C e 60% de umidade relativa, com fotoperíodo de 12/12 luz/escuro. A cada intervalo de 12 h, até o máximo de 120 h, as sementes foram observadas para a verificação do número de sementes germinadas. As sementes foram fotografadas e o número total de sementes germinadas foi determinado.

Um novo experimento de germinação foi feito, com as mesmas condições descritas acima, porém usando agora apenas 5 genótipos, L-2, L-3, L-16, L-21 e L-31. Esses genótipos foram escolhidos por terem apresentado alta toxicidade para o inseto, tendo apresentado baixa oviposição, baixa eclosão larval e/ou emergência de adultos. Nesse novo experimento as sementes foram fotografadas inteiras e depois somente o eixo germinativo de cada semente foi retirado intacto com o auxílio de uma pinça e o comprimento do eixo embrionário foi determinado usando o ImageJ.

### **3.12 Análise da toxicidade do tegumento do genótipo L-3 para *Zabrotes subfasciatus***

A toxicidade do tegumento L-3 para o inseto foi avaliada através de sementes artificiais recobertas com farinha de tegumentos naturais, segundo metodologia descrita por DE SÁ et al., (2014). As sementes foram separadas em tegumentos e cotilédones e os tegumentos foram triturados e peneirados até a obtenção de uma fina farinha. A farinha foi usada para confecção de sementes artificiais cobertas com tegumentos artificiais nas concentrações de 20, 50 e 100%. Cada semente foi constituída de 400 mg da farinha de cotilédones de sementes de *P. vulgaris*, cv. vermelho, para constituir o cotilédone artificial e 20 mg da farinha do tegumento do genótipo L-3 (tegumento 100%) ou 20 mg da mistura das farinhas de cotilédones do cv. vermelho e da farinha do tegumento de L-3, perfazendo as concentrações de 20 e 50%. Os 20 mg da mistura para confecção do tegumento artificial foram colocados no fundo de um molde cilíndrico e sobre ele colocados os 400 mg da farinha de cotilédones do cv. vermelho. O molde cilíndrico foi prensado com auxílio de uma prensa manual e posteriormente a semente artificial contendo o tegumento artificial foi retirada do molde, as partes da semente que não possuíam o tegumento artificial foram protegidas com parafilme e as sementes foram submetidas à infestação. Fêmeas de 2 dias de idade foram usadas para infestação, 1 fêmea/semente. Após 24 h os ovos foram contados e o excesso retirado, deixando 3 ovos por semente, todos sobre o tegumento artificial. O acompanhamento do desenvolvimento do inseto foi feito até 20DAO, quando as sementes foram abertas e as larvas fotografadas e o comprimento determinado pelo Image J.

### **3.13 Análise proteômica comparativa**

#### **3.13.1 Extração proteica**

As análises de proteômica comparativa foram realizadas com as farinhas dos genótipos de *Vigna unguiculata* (PO 1-5-4 e PO 1-5-7) e dos genótipos de *Phaseolus vulgaris* (L-3 e L-8). As análises foram realizadas em três réplicas

biológicas para cada farinha. As proteínas foram extraídas com tampão Tris-HCl, 20mM, pH 6,8; contendo 1% de ditioneitol (DTT), 0,1% de SDS e 0,1% fluoreto de fenilmetanossulfonil (PMSF). As amostras foram agitadas por 30 min, centrifugadas a 16.000 x g por 10 min a 4°C e os sobrenadantes foram coletados e as concentrações de proteína foram medidas usando um kit Quant 2-D.

### **3.13.2 Digestão proteica**

As proteínas foram precipitadas com metanol/clorofórmio para remover quaisquer artefatos (NANJO et al., 2012). O precipitado de cada amostra foi ressuspenso com solução de ureia 7M/Tiourea 2M. As digestões das proteínas foram realizadas utilizando a metodologia de preparação de amostras auxiliadas por filtro (FASP) de acordo com BURRIEZA et al., (2019). Um teste prévio para checar a integridade dos filtros foi realizado de acordo com HERNANDEZ-VALLADARES et al., (2016). Alíquotas de proteínas foram adicionadas às unidades de filtro Microcon-30 kDa (Millipore) (LIPECKA et al., 2016), lavadas com 200 µL de bicarbonato de amônio 50 mM (solução A), e centrifugadas a 10.000 x g por 15 min a 25°C e adicionados 100 µL de DTT 50 mM refrigerado (solução A). As amostras foram agitadas em vortex, e incubadas por 20 min a 60°C (1 min agitando a 650 RPM e 4 min em repouso). Foram adicionados 200 µL de ureia 8M e bicarbonato de amônio 50 mM e centrifugou-se durante 15 min. As proteínas foram alquiladas com 100 µL de iodoacetamida 50 mM e refrigerada (solução B), agitadas em vortex e incubadas por 20 min a 25°C no escuro (1 min agitando a 650 RPM e 19 min em repouso). Em seguida foram adicionados 200 µL de solução B e centrifugados por 15 min, essa etapa foi repetida mais uma vez. Para a etapa de digestão, a 50 µL da solução das proteínas foram adicionados 25 µL de RapiGest a 0,2% (v/v) (Waters, Milford, CT, EUA) e 25 µL de solução de tripsina (1:100 enzimas: proteína). As misturas foram agitadas suavemente em vortex e incubou-se durante 16 h a 37°C (1 min agitando a 650 RPM e 4 min de repouso). Para a eluição dos peptídeos os filtros foram transferidos para novos microtubos e centrifugados durante 10 min, adicionados 50 µL de solução A e centrifugados por 15 min. A precipitação do RapiGest e a inibição da tripsina, foram feitos com 5 µL de ácido trifluoroacético 15%, sob agitação e incubação por 30 min a 37°C. As amostras foram centrifugadas



durante 15 min, os sobrenadantes foram recolhidos e secos a vácuo. Os peptídeos foram ressuspensos em 100 µL de bicarbonato de amônio 50 mM, acetonitrila 5% e ácido fórmico 0,1%. Os peptídeos foram quantificados utilizando o NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific).

### 3.13.3 Análise por espectrometria de massas

A espectrometria de massas foi realizada utilizando um UPLC de nanoAcquity acoplado a um instrumento Q-TOF SYNAPT G2-Si (Waters, Manchester, UK). Foram feitas três corridas de 1 µg de proteína digerida para cada amostra. As amostras foram separadas no nanoAcquity UPLC M-Class Symmetry em coluna C18 de 5 µm (180 µm × 20 mm) a 5 µL/min durante 3 min e depois na coluna de fase reversa analítica nanoAcquity M-Class HSS T3 1,8 µm (75 µm × 150 mm) a 400 nL/min. Para a eluição dos peptídeos foi utilizado como fase móvel A água (Tedia, Fairfield, Ohio, EUA) e 0,1% de ácido fórmico e fase móvel B acetonitrila e 0,1% de ácido fórmico. A corrida teve duração de 117 min, iniciando a eluição com 5% de B, aumentando para 40% de B para até 91,12 min, 99% de B até 95,12 min, sendo mantidos os 99% de B até 99,12 min. A concentração de B foi diminuindo para 5% até 101,12 min, sendo mantido até o final da corrida. A espectrometria de massa seguiu os seguintes parâmetros: modo positivo e de resolução (modo V), 35.000 FWHM, com mobilidade iônica; (HDMSE) e em modo de aquisição independente de dados (DIA); a separação da mobilidade iônica utilizou uma rampa de velocidade da onda IMS começando com 800 m s<sup>-1</sup> e terminando com 500 ms<sup>-1</sup>; a energia de colisão de transferência aumentou de 25 V para 55 V no modo de alta energia; tensões cone e capilares de 30 V e 3000 V, respectivamente; nano fluxo de gás de 0,5 bar e gás de purga de 150 l h<sup>-1</sup>; e uma temperatura de fonte de 100 °C. Nos parâmetros TOF, o tempo de varredura foi definido em 0,6 seg no modo contínuo com um intervalo de massa de 50 a 2000 Da. Foi utilizado como calibrador externo o [Glu1]-fibrinopeptídeo B humano a 100 fmol µL<sup>-1</sup> e a aquisição de massa de bloqueio foi realizada a cada 30 seg. A aquisição do espectro de massa foi realizada pelo software MassLynx v4.0.

### 3.13.4 Análise dos dados da proteômica

O processamento dos espectros e banco de referência foram realizados utilizando o software ProteinLynx Global SERVER (PLGS) v.3.02 (Waters) e o workflow foi com o software ISOQuant (DISTLER et al., 2014, 2016). Na análise do PLGS foram utilizados os seguintes parâmetros: Apex3D de 150 contagens como limite de baixa energia, 50 contagens como limite de energia elevada e 750 contagens como limite de intensidade; uma clivagem perdida; no mínimo três fragmentos de íon por peptídeos; no mínimo sete fragmentos de íon por proteína; no mínimo dois peptídeos por proteína; modificações fixas como carbamidometil (C) e modificações variáveis como oxidação (M) e fosforil (STY); a taxa de falsas descobertas (FDR) para identificação de peptídeos e proteínas foi ajustada para um máximo de 1%, com um comprimento mínimo de seis aminoácidos. Os dados proteômicos foram processados no banco de dados *Phaseolus vulgaris* L., UNIPROT (<https://www.uniprot.org>).

A quantificação foi realizada usando o software ISOQuant v.1.7 usando configurações e algoritmos descritos anteriormente (DISTLER et al., 2014, 2016). Foi utilizada uma normalização multidimensional que corrige as intensidades de pico com base nos domínios de intensidade e tempo de retenção, resumidamente, a análise incluiu alinhamento no tempo de retenção, e o exato tempo de retenção de massa (EMRT). A quantificação sem marcação foi estimada usando a abordagem de quantificação TOP3. Seguido pelo processo de normalização multidimensional implementado no ISOQuant (DISTLER et al., 2014). Depois da análise dos dados no ISOQuant, para assegurar a qualidade dos resultados, definimos os parâmetros de refinamento: apenas proteínas presentes nas três repetições biológicas foram consideradas para análise. Finalmente, as proteínas foram submetidas à caracterização funcional pelo software OmicsBox ([www.biobam.com/omicsbox/](http://www.biobam.com/omicsbox/)).

### 3.14 Análise estatística

Todos os resultados foram feitos em triplicata e as médias e desvios padrão foram calculados. Os tratamentos estatísticos foram realizados usando GraphPad Prism 5.0. Foi realizada análise de variância (ANOVA) unilateral (P

<0,05) seguida do teste de Tukey ou teste t e diferenças significativas foram determinadas em  $p < 0,05$  de acordo com a (BRIDGE; SAWILOWSKY, 1999).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Desempenho de *Callosobruchus maculatus* infestando sementes naturais de *Vigna unguiculata*

Após análise da oviposição de fêmeas em genótipos de *V. unguiculata*, nossos resultados mostraram que o número de ovos por semente variou amplamente entre os genótipos, com um mínimo de 6 no genótipo PO 1-5-7 (Figura 3A) e um máximo de aproximadamente 13 ovos por semente no MNC06-907-30 (Figura 3B).

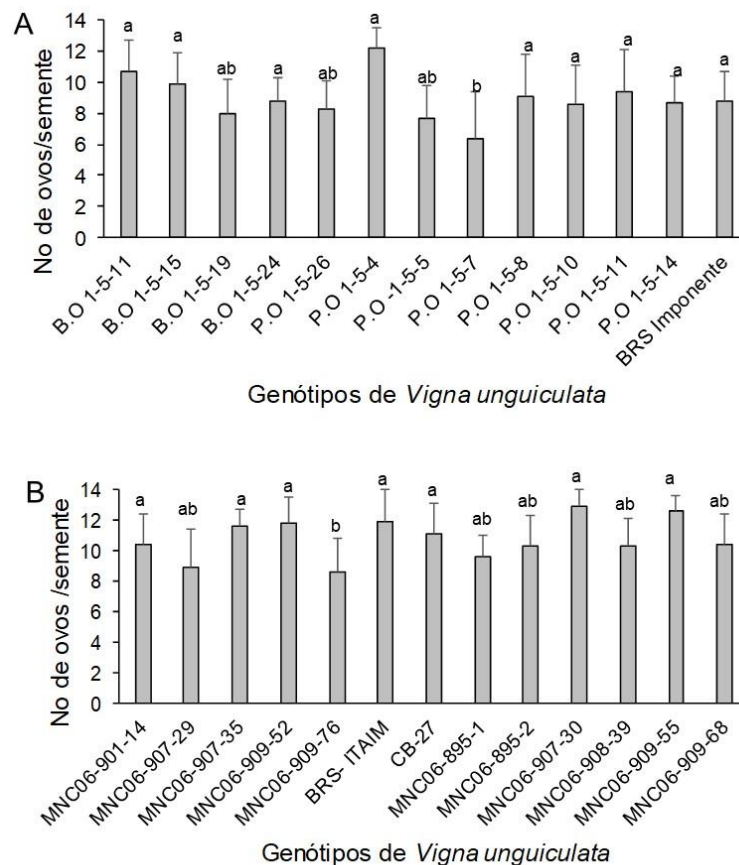


Figura 3. **Varição do número de ovos nos diferentes genótipos de *Vigna unguiculata*.** A) Número de ovos nos genótipos B.O 1-5-11, B.O 1-5-15, B.O 1-5-19, B.O 1-5-24, P.O 1-5-26, P.O 1-5-4, P.O -1-5-5, P.O 1-5-7, P.O 1-5-8, P.O 1-5-10, P.O 1-5-11, P.O 1-5-14 e BRS Imponente após 24h de infestação. B) Número de ovos nos genótipos MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-35, MNC06-909-52, MNC06-909-76, CB-27, MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-907-30, MNC06-908-39, MNC06-909-55, MNC6-909-68 e no cultivar BRS ITAIM após 24h de infestação. Os valores representam médias ( $\pm$ SEM) e os tratamentos estatísticos foram feitos por análise de variância ANOVA (Tukey test). Valores seguidos por letras diferentes foram estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

A percentagem de eclosão larval foi avaliada aos 5 DAO e os resultados mostraram não haver diferenças significativas entre os genótipos estudados. Em todos os genótipos foram observados percentuais superiores a 90% de eclosão 5 DAO (Figura 4A-B).

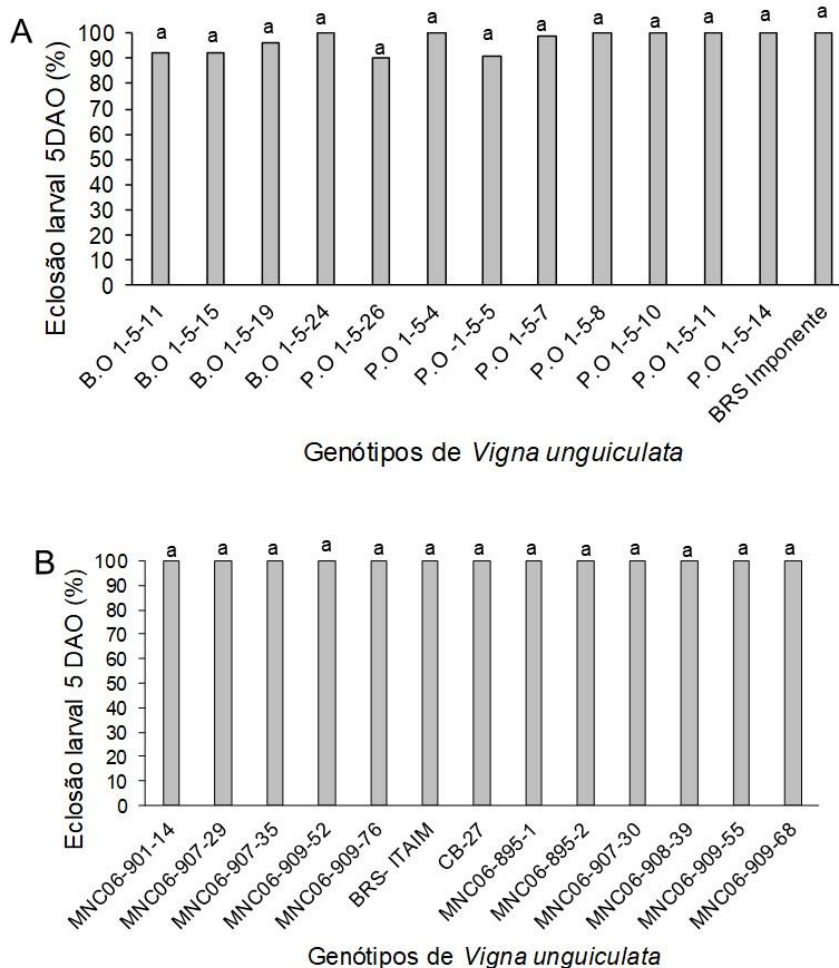


Figura 4. **Eclosão larval de *Callosobruchus maculatus* 5 DAO.** Eclosão larval nos genótipos B.O 1-5-11, B.O 1-5-15, B.O 1-5-19, B.O 1-5-24, P.O 1-5-26, P.O -1-5-5, P.O 1-5-7, P.O 1-5-8, P.O 1-5-10, P.O 1-5-11, P.O 1-5-14 e BRS Imponente. B) MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-35, MNC06-909-52, MNC06-909-76, CB-27, MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-907-30, MNC06-908-39, MNC06-909-55, MNC6-909-68 e BRS ITAIM. Os valores representam médias e os tratamentos estatísticos foram feitos por análise de variância ANOVA (Tukey test). Valores seguidos por letras diferentes foram estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Embora praticamente todas as larvas tenham eclodido em 5 DAO e penetrado nos cotilédones das sementes, a sobrevivência larval em 20 DAO foi reduzida em alguns genótipos (Figura 5). A menor sobrevivência foi observada em larvas desenvolvidas no genótipo P.O 1-5-4, onde apenas aproximadamente

40% das larvas sobreviveram (Figura 5A). No BRS Imponente, a sobrevivência foi de 44%, enquanto nos genótipos B.O 1-5-19 e B.O 1-5-15 a sobrevivência larval foi de 51,25 e 54,50%, respectivamente. Nos genótipos MNC06-909-52 e MNC06-907-35, a sobrevivência larval foi de 58,5% e 59,5%, respectivamente (Figura 5B).

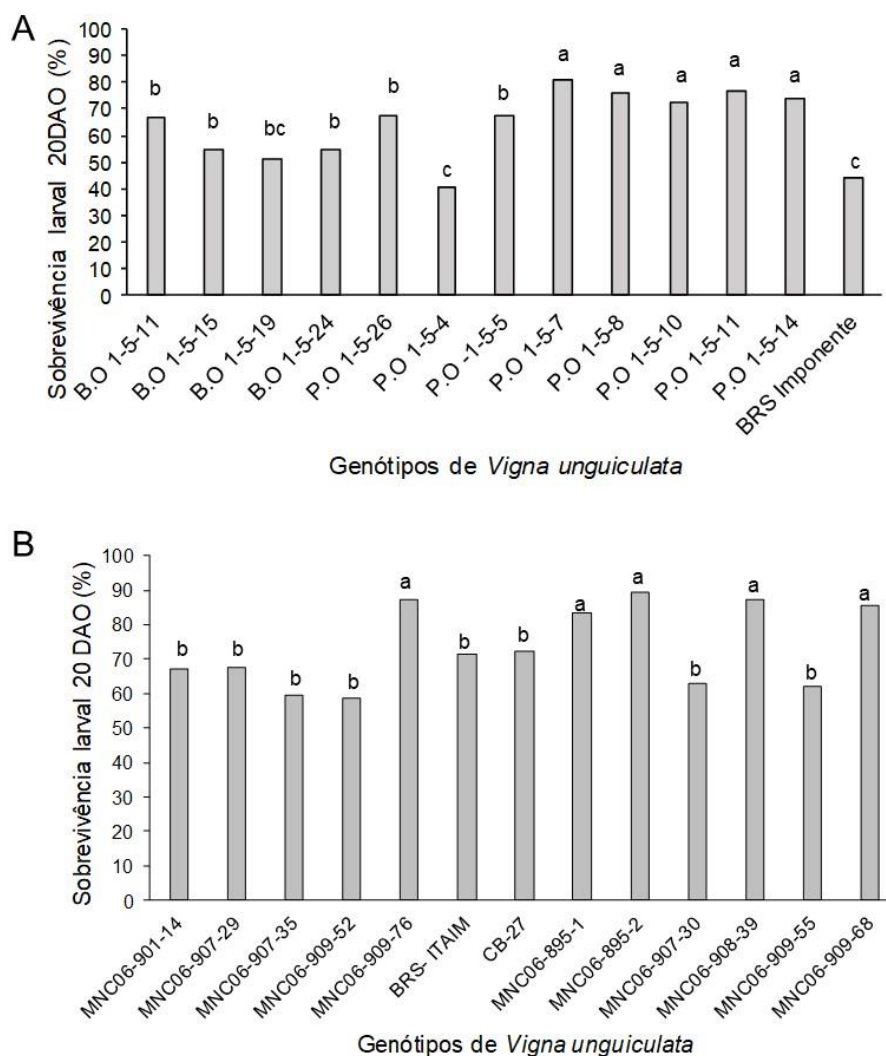


Figura 5. **Sobrevivência larval de *Callosobruchus maculatus* 20 DAO.** A) Sobrevivência larval nos genótipos B.O 1-5-11, B.O 1-5-15, B.O 1-5-19, B.O 1-5-24, P.O 1-5-26, P.O 1-5-4, P.O -1-5-5, P.O 1-5-7, P.O 1-5-8, P.O 1-5-10, P.O 1-5-11, P.O 1-5-14 e BRS Imponente. B) Sobrevivência larval nos genótipos MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-35, MNC06-909-52, MNC06-909-76, CB-27, MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-907-30, MNC06-908-39, MNC06-909-55, MNC6-909-68 e BRS ITAIM. Os valores representam médias e os tratamentos estatísticos foram feitos por análise de variância ANOVA (Tukey test). Valores seguidos por letras diferentes foram estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

A média de massa das larvas 20 DAO variou de 8,8 mg para larvas desenvolvidas no genótipo BO 1-5-19 (Figura 6A) a 6,4 mg no genótipo MNC06-909-76 (Figura 6B).

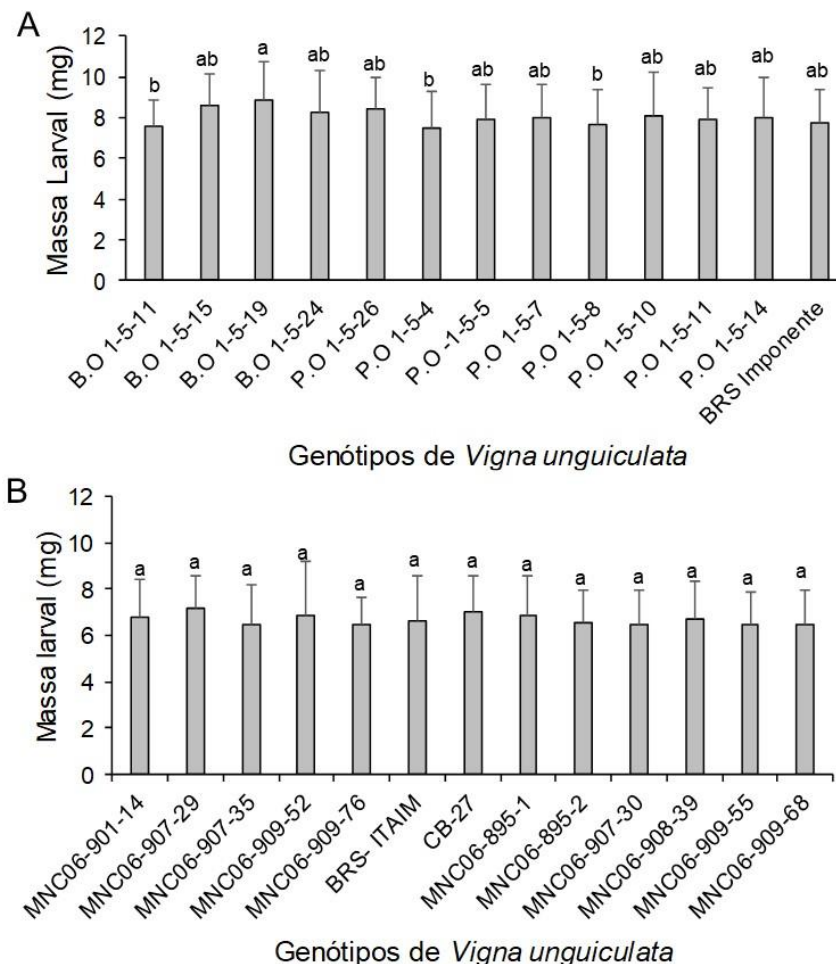


Figura 6. **Massa larval de *Callosobruchus maculatus* 20 DAO.** A) Massa das larvas que se desenvolveram em *V. unguiculata* B.O 1-5-11, B.O 1-5-15, B.O 1-5-19, B.O 1-5-24, P.O 1-5-26, P.O 1-5-4, P.O -1-5-5, P.O 1-5-7, P.O 1-5-8, P.O 1-5-10, P.O 1-5-11, P.O 1-5-14 e BRS Imponente. B) Massa das larvas que se desenvolveram em *V. unguiculata* MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-35, MNC06-909-52, MNC06-909-76, CB-27, MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-907-30, MNC06-908-39, MNC06-909-55, MNC6-909-68 e BRS ITAIM. Os valores representam médias ( $\pm$ SEM) e os tratamentos estatísticos foram feitos por análise de variância ANOVA (Tukey test). Valores seguidos por letras diferentes foram estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

A emergência de adultos foi monitorada entre 25 e 40 DAO e os resultados mostraram que poucos genótipos mostraram redução na emergência de adultos. Embora o genótipo P.O 1-5-4 tenha reduzido a sobrevivência larval em 60%,

todas as larvas sobreviventes emergiram como insetos adultos (Figura 7A). Resultados semelhantes foram observados para outros genótipos, como o BRS Imponente, B.O 1-5-19, B.O 1-5-15, MNC06-909-52 e MNC06-907-35 (Figura 7B). O genótipo que mais afetou a emergência de adultos foi o MNC06-909-76, onde apenas 53,3% das larvas sobreviventes emergiram como insetos adultos.

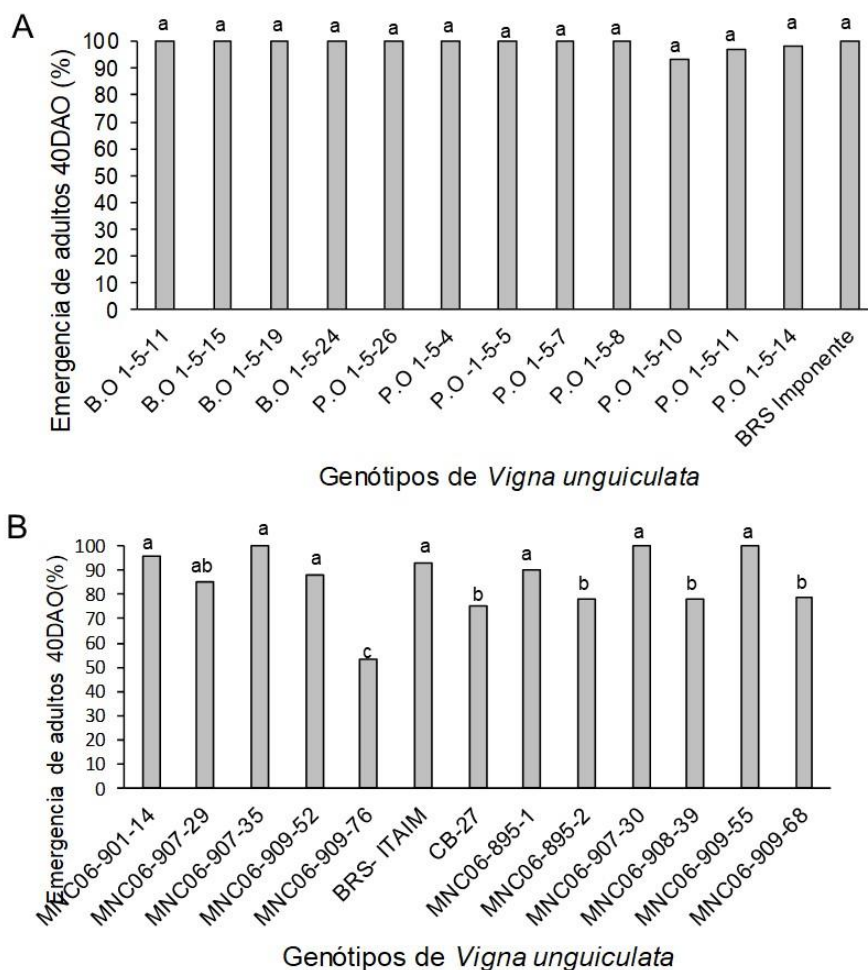
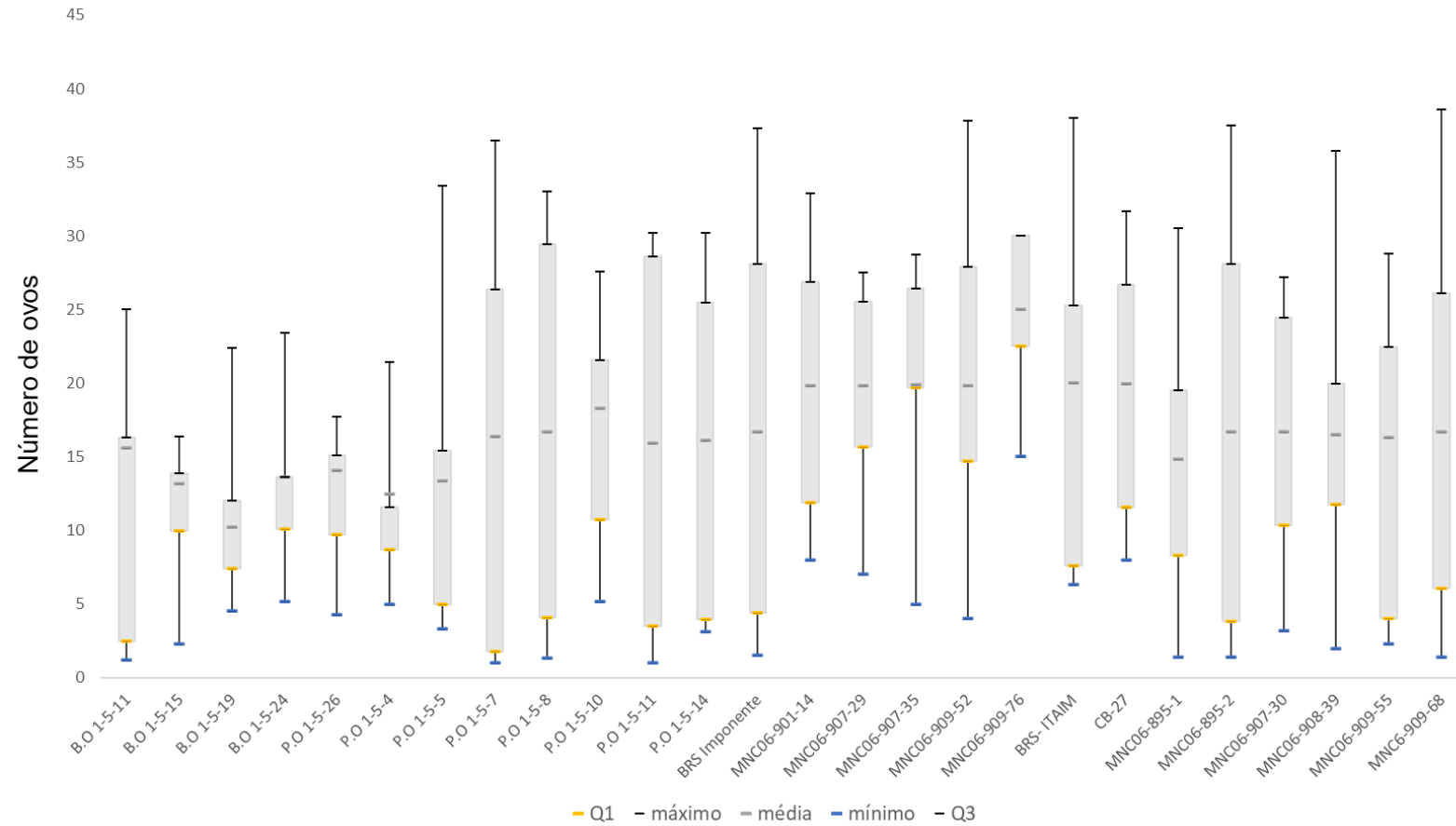


Figura 7. **Emergência dos adultos de *Callosobruchus maculatus* 40 DAO em *Vigna unguiculata*.** A) Emergência de adultos em *V. unguiculata* B.O 1-5-11, B.O 1-5-15, B.O 1-5-19, B.O 1-5-24, P.O 1-5-26, P.O 1-5-4, P.O -1-5-5, P.O 1-5-7, P.O 1-5-8, P.O 1-5-10, P.O 1-5-11, P.O 1-5-14 e BRS Imponente. B) Emergência de adultos em *V. unguiculata* MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-35, MNC06-909-52, MNC06-909-76, CB-27, MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-907-30, MNC06-908-39, MNC06-909-55, MNC6-909-68 e BRS ITAIM cultivar. Os valores representam médias e os tratamentos estatísticos foram feitos por análise de variância ANOVA (Tukey test). Valores seguidos por letras diferentes foram estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.



O gráfico demonstra a emergência dos insetos adultos entre os diferentes genótipos, onde fica visível a variação entre o número máximo de insetos que eclodem e o número mínimo. Também é possível visualizar o 1º e o 3º quartil (representada pela barra cinza), que são indicativos que 25% dos insetos emergiram abaixo (1º quartil) ou acima (3º quartil) do valor demonstrado na média. Nota-se uma variação ao longo da emergência dos adultos entre todos os genótipos analisados, alguns demonstrando uma variação muito ampla como é o caso do P.O 1-5-7 e outros com pouca variação, como é o caso do MNC06-909-76.

Gráfico 1. **Adultos emergidos diariamente de 25 a 40 DAO (Dias após oviposição).** O gráfico destaca o número máximo de insetos emergidos durante o período avaliado, assim como o número mínimo de insetos emergidos, é possível ver no gráfico a média de insetos emergidos, junto com o primeiro e o terceiro quartil.



## 4.2 Análise da massa das sementes consumidas e viabilidade germinativa após infestação por *Callosobruchus maculatus*

Avaliando a massa da semente consumida pelos insetos durante os 40 dias de infestação, observou-se que o percentual variou entre 40 a quase 70%, quando comparada com a massa inicial da semente (Figura 8). As sementes dos genótipos B.O 1-5-15 (Figura 8A), BRS-ITAIM e MNC06-907-30 (Figura 8B) apresentaram os maiores percentuais de massa consumida pelas larvas, com valores acima de 60%.

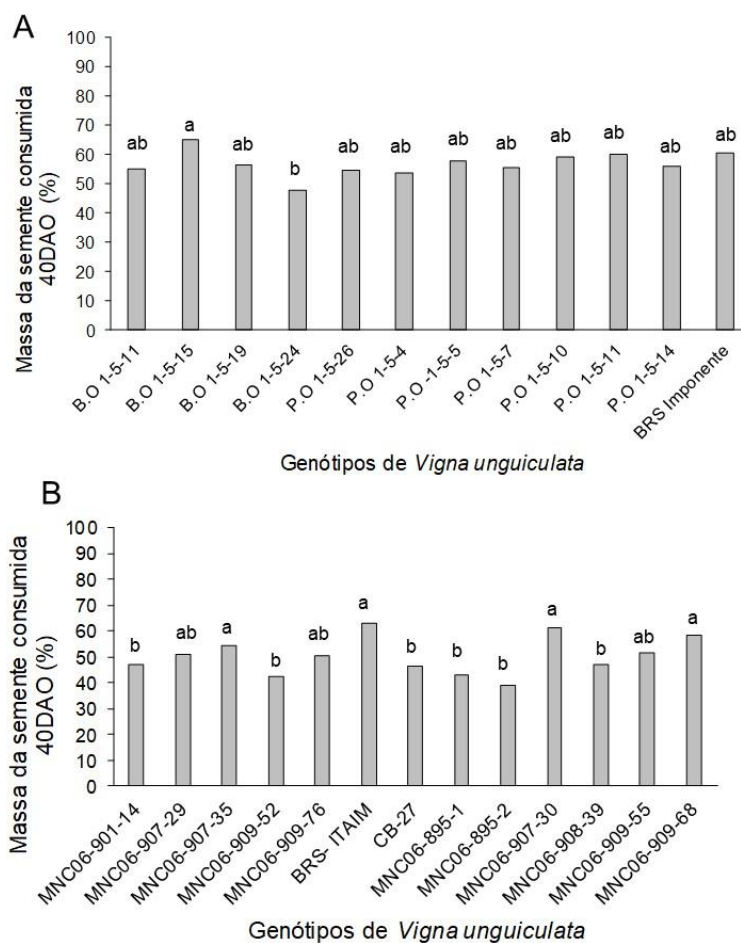


Figura 8. Percentagem de massa consumida das sementes de *Vigna unguiculata* após infestação de *Callosobruchus maculatus* durante 40 DAO. A): Massa consumida de sementes de *V. unguiculata* BO 1-5-11, BO 1-5-15, BO 1-5-19, BO 1-5-24, PO 1-5-26, PO 1-5-4, PO -1-5-5, PO 1-5-7, PO 1-5-8, PO 1-5-10, PO 1-5-11, PO 1-5-14 genótipos e BRS Imponente. B): Massa consumida de sementes de *V. unguiculata* MNC06-901-14, MNC06-907-29, MNC06-907-35, MNC06-909-52, MNC06-909-76, CB-27, MNC06-895-1, MNC06-895-2, MNC06-907-30, MNC06-908-39, MNC06-909-55, MNC6-909-68 e BRS ITAIM. Os valores representam médias e os tratamentos estatísticos foram feitos por análise de variância ANOVA (Tukey test). Valores seguidos por letras diferentes foram estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey.

Embora o consumo da massa das sementes tenha variado entre os genótipos, nenhuma das sementes infestadas foi capaz de germinar, enquanto 100% das sementes não infestadas, utilizadas como controle, germinaram (dados não mostrados).

#### 4.3 Identificação de proteínas dos genótipos P.O 1-5-4 e MNC06-909-76

Para essa etapa do trabalho foram escolhidos os genótipos P.O 1-5-4 e MNC06-909-76 por terem interferido, respectivamente, na sobrevivência das larvas e na emergência dos adultos. As proteínas majoritárias presentes nos cotilédones das sementes dos genótipos P.O 1-5-4 e MNC06-909-76 foram visualizadas por SDS-PAGE 12% e os resultados mostraram a presença de bandas com massas moleculares que variaram de 100 a menos de 10 kDa. As bandas protéicas majoritárias foram identificadas por análise de espectrometria de massa. Oito bandas com massas moleculares de cerca de 100, 70, 60, 50, 40, 30 kDa e duas bandas entre 25 e 15 kDa foram selecionadas de cada genótipo. As bandas foram nomeadas de 1 a 8 em ordem decrescente de massa molecular (Figura 9).

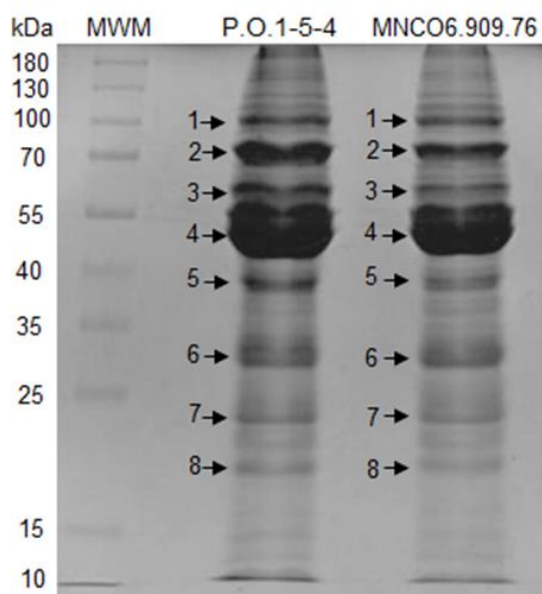


Figura 9. **Visualização por eletroforese em gel de poliacrilamida SDS- PAGE 12% das proteínas dos genótipos de *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 e MNC06-909-76.** MWM: marcador de massa molecular (kDa). Os números seguidos pelas setas indicam as proteínas que seguiram para identificação por análise de espectrometria de massa.

Os melhores resultados foram selecionados de acordo com os seguintes parâmetros: valores  $-\text{LogP}$ , número de peptídeos e as maiores percentagens de cobertura. Os resultados mostraram que as bandas proteicas com as mesmas massas moleculares, dos dois genótipos, mostraram a mesma identificação (Tabela 3). As bandas proteicas 1, 3, 4 e 8 foram identificadas como vicilinas de *V. unguiculata*, código de acesso UniProt: A8YQH5\_VIGUN (Tabela 3). Os alinhamentos dos peptídeos obtidos por espectrometria de massas com a proteína de referência do genótipo P.O 1-5-4 são apresentados nas figuras 10, 12, 13 e 17. Os peptídeos obtidos a partir da banda-2 (70 kDa) foram similares a glicinina de *Vigna radiata* (código de acesso UniProt: A0A1S3VTQ0\_VIGRR) e o alinhamento dos peptídeos do genótipo P.O 1-5-4 com a proteína de referência é mostrado na Figura 11. A banda proteica de cerca de 40 kDa (banda-5) de ambos os genótipos mostrou peptídeos similares a uma proteína não caracterizada de *Vigna angularis* (código de acesso UniProt: A0A0S3R8L0\_PHAAN) os peptídeos e o alinhamento estão mostrados na Figura 14. A banda-6 (Figura 15) e a banda-7 (Figura 16) apresentaram peptídeos similares a proteína de *Vigna unguiculata* CPRD22 (código de acesso UniProt: P93701\_VIGUN).

Tabela 2. Proteínas identificadas a partir dos peptídeos obtidos por análise de espectrometria de massa das bandas protéicas dos genótipos de *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 e MNC06-909-76. Código de acesso, cobertura e descrição de cada banda de proteínas identificadas por espectrometria de massas.

Banda proteica	genótipo P.O 1-5-4					genótipo MNC06-909-76				
	Código de acesso	-10lgP	Coertura (%)	No. Peptídeos	Descrição (Proteínas)	Código de acesso	-10lgP	Coertura (%)	No. Peptídeos	Descrição (Proteínas)
Banda-1	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	227.12	53	54	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	199.03	50	50	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>
Banda-2	A0A1S3VTQ0 A0A1S3VTQ0_VIGRR	212.90	33	49	Glicinina de <i>V. radiata</i>	A0A1S3VTQ0 A0A1S3VTQ0_VIGRR	211.59	30	44	Glicinina de <i>V. radiata</i>
Banda-3	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	215.14	55	47	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	182.93	44	29	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>
Banda-4	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	247.99	59	79	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	236.36	54	57	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>
Banda-5	A0A0S3R8L0 A0A0S3R8L0_PHAAAN	202.53	35	29	Proteína não caracterizada de <i>V. angularis</i>	A0A0S3R8L0 A0A0S3R8L0_PHAAAN	191.69	32	30	Proteína não caracterizada de <i>V. angularis</i>
Banda-6	P93701 P93701_VIGUN	303.08	76	62	CPRD22 de <i>V. unguiculata</i>	P93701 P93701_VIGUN	265.03	72	47	CPRD22 de <i>V. unguiculata</i>
Banda-7	P93701 P93701_VIGUN	187.00	48	8	CPRD22 de <i>V. unguiculata</i>	P93701 P93701_VIGUN	180.39	36	9	CPRD22 de <i>V. unguiculata</i>
Banda-8	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	163.66	30	21	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>	A8YQH5 A8YQH5_VIGUN	191.76	39	33	Vicilina de <i>V. unguiculata</i>

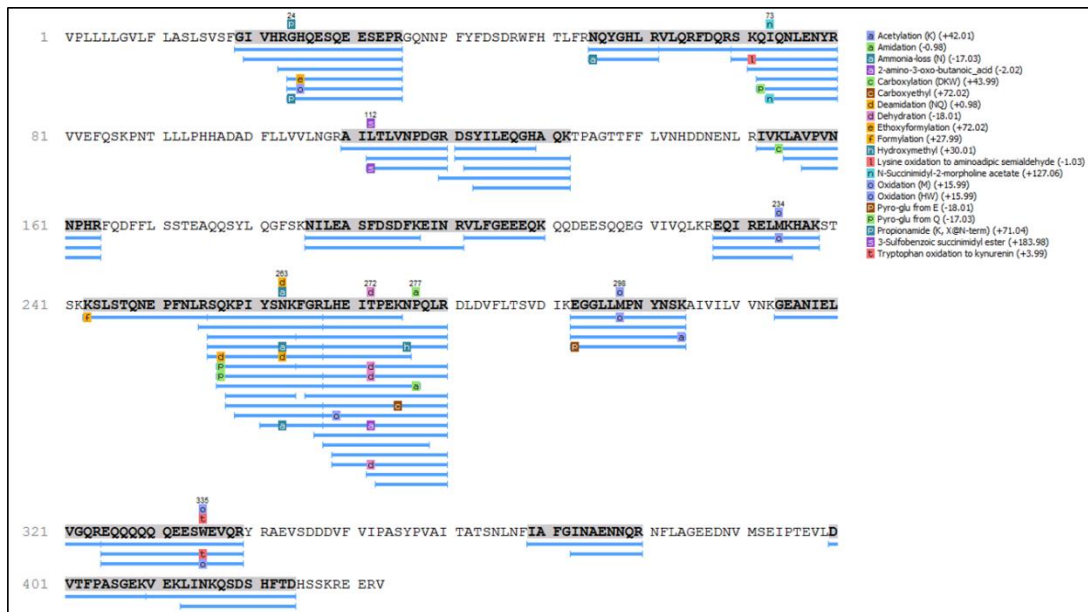


Figura 10. Alinhamento dos peptídeos da banda-1, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a vicilina de *Vigna unguiculata* (código de acesso: A8YQH5\_VIGUN). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.

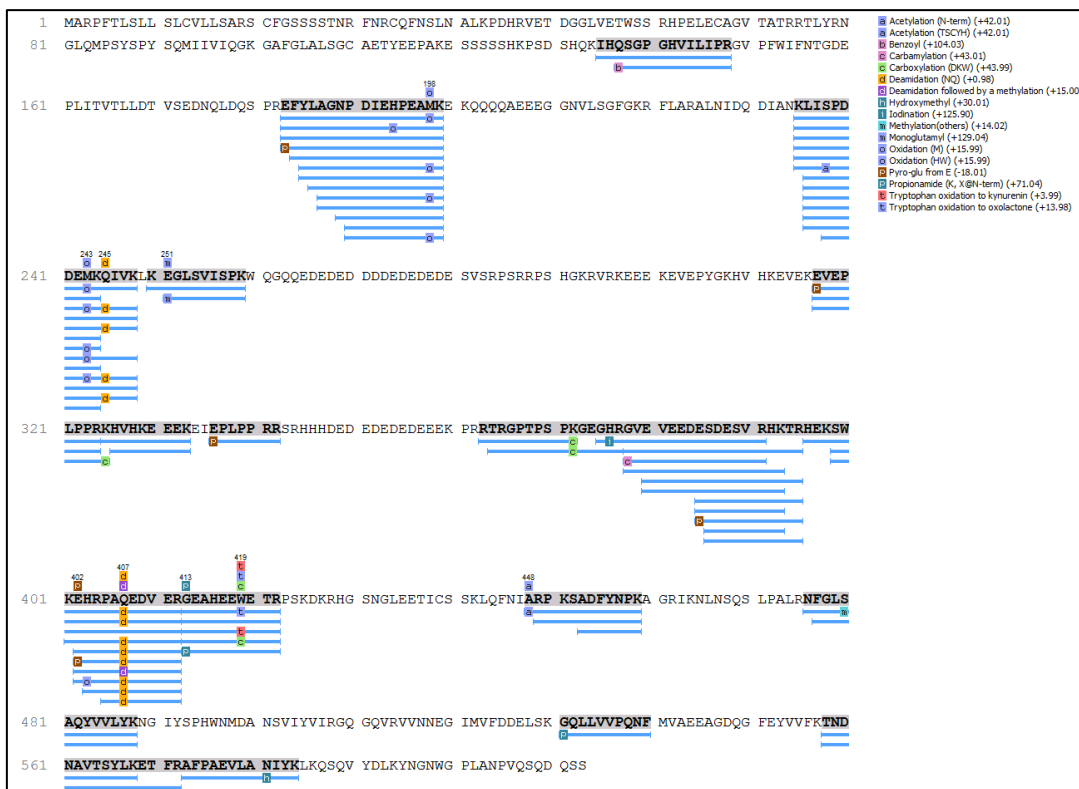


Figura 11. Alinhamento dos peptídeos da banda-2, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a glicinina de *Vigna unguiculata* (código de acesso: A0A1S3VTQ0\_VIGRR). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.

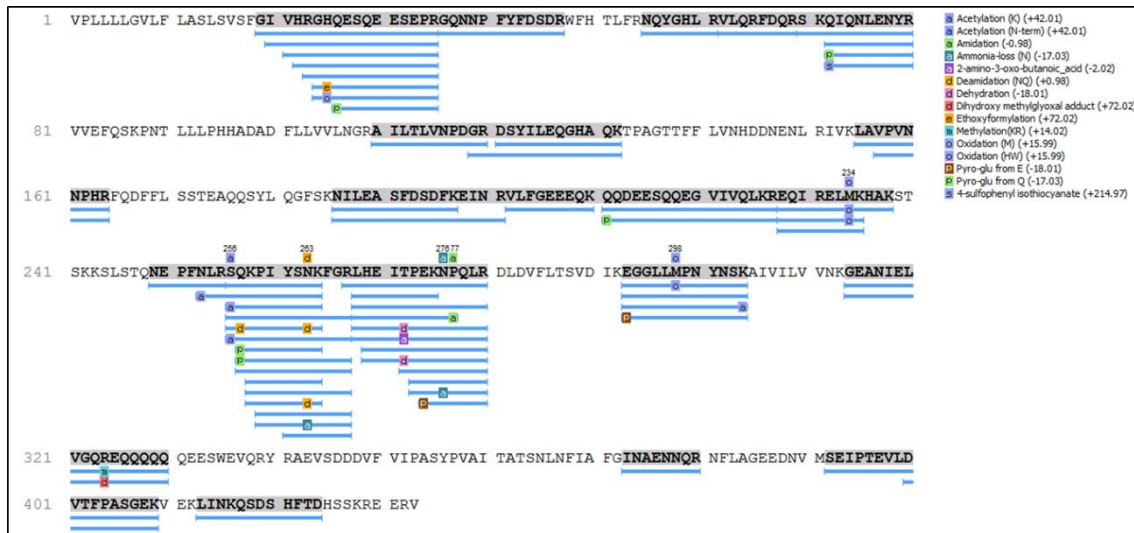


Figura 12. Alinhamento dos peptídeos da banda-3, obtidos por análise de espectrometria de massa do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a vicilina *Vigna unguiculata* (código de acesso: A8YQH5\_VIGUN). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.

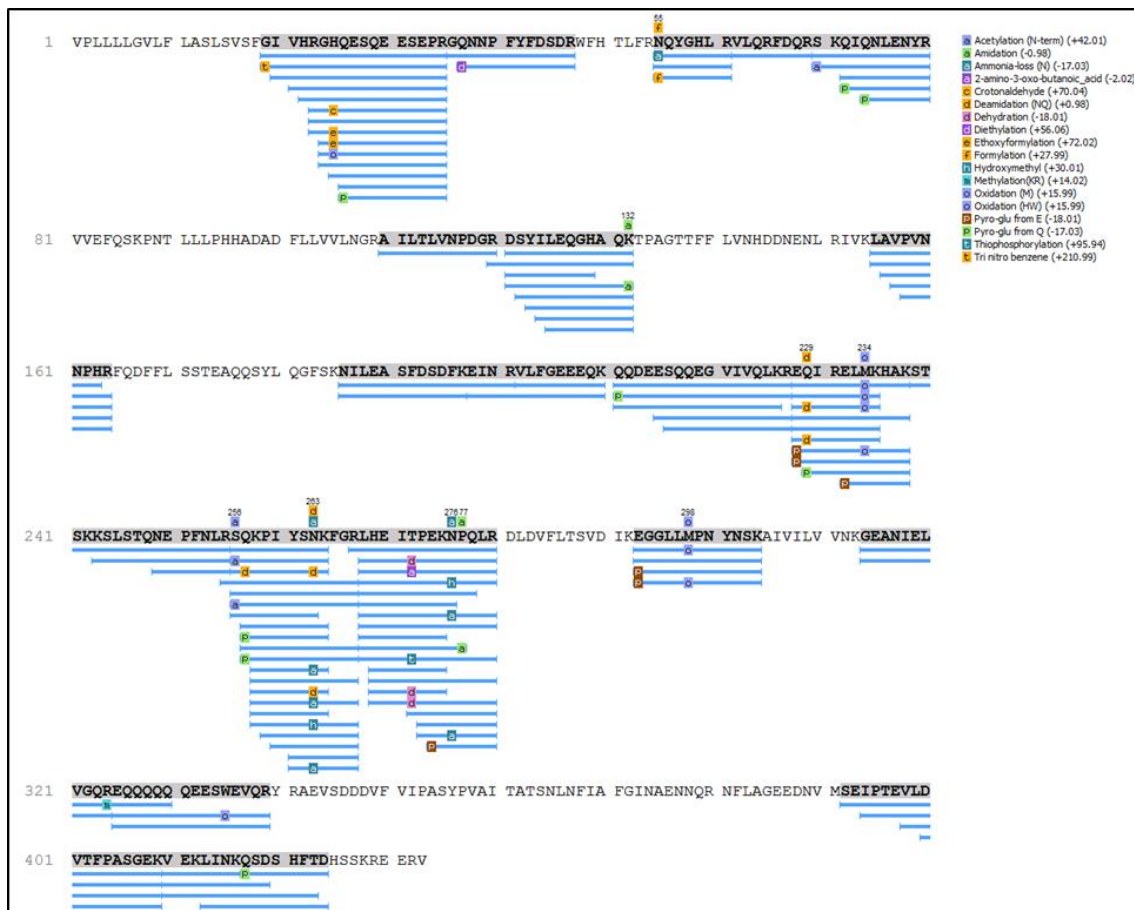


Figura 13. Alinhamento dos peptídeos da banda-4, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a vicilina *Vigna unguiculata* (código de acesso: A8YQH5\_VIGUN). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.





Figura 14. Alinhamento dos peptídeos da banda-5, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a proteína não caracterizada de *Vigna angulares* (código de acesso: A0A0S3R8L0\_PHAAN). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.



Figura 15. Alinhamento dos peptídeos da banda-6, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a proteína *Vigna unguiculata* CPRD22 (código de acesso: P93701\_VIGUN). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.

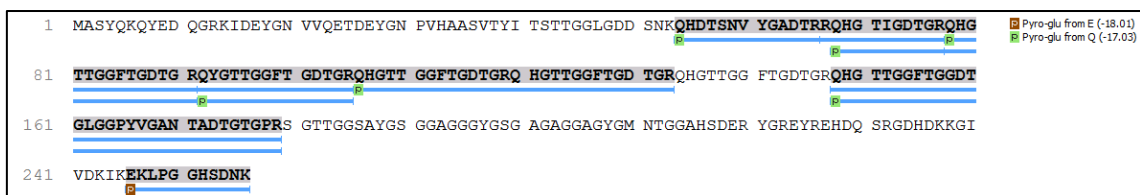


Figura 16. Alinhamento dos peptídeos da banda-7, obtidos por análise de espectrometria de massas, do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a proteína *Vigna unguiculata* CPRD22 (código de acesso: P93701\_VIGUN). O alinhamento foi feito usando o programa Peaks Studio X.

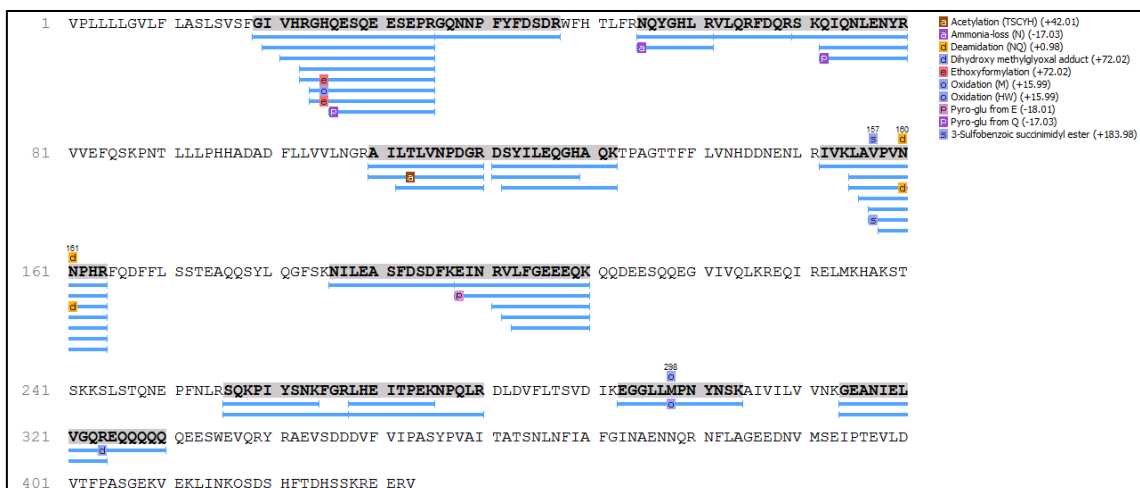


Figura 17. Alinhamento dos peptídeos da banda-8, obtidos por análise de espectrometria de massa, do genótipo *Vigna unguiculata* PO 1-5-4 com a vicilina *Vigna unguiculata* (código de acesso: A8YQH5\_VIGUN). O alinhamento foi feito no programa Peaks Studio X.

#### 4.4 Isolamento e toxicidade de proteínas com afinidade à quitina

As proteínas com afinidade à quitina foram isoladas a partir dos cotilédones dos genótipos BO 1-5-15, BO 1-5-19, PO 1-5-4, MNC06-909-52 e cultivar BRS Imponente. O perfil cromatográfico da afinidade à quitina mostrou a presença de uma fração não retida e de uma fração retida, eluída com HCl 0,1M, para todos os genótipos (dados não mostrados). As frações retidas foram testadas para a toxicidade contra o inseto em concentração de 1% (Figura 18). As frações que apresentaram as maiores toxicidades foram as obtidas dos genótipos B.O 1-5-19 e B.O 1-5-15, que diminuíram a massa larval aos 20 DAO em 81,4 e 76%, respectivamente. As proteínas com afinidade à quitina de P.O 1-5-4, BRS

Imponente e MNC06-909-52 diminuíram a massa larval em 50,7, 60,1 e 52,8%, respectivamente.

Essas frações proteicas foram visualizadas por SDS-PAGE 12% e apresentaram proteínas principais com massas moleculares de cerca de 50 kDa. Bandas menos intensas foram observadas nas regiões acima e principalmente abaixo de 50 kDa (dados não mostrados).

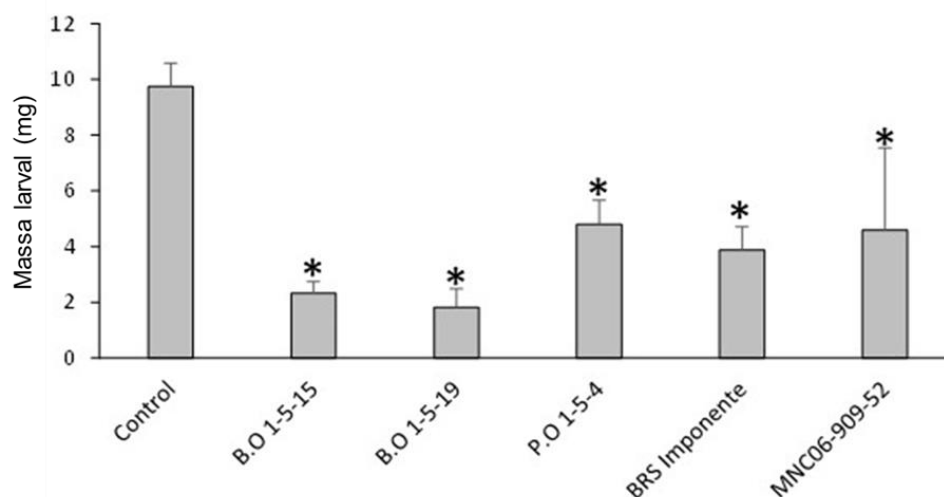


Figura 18. **Massa larval de *Callosobruchus maculatus* 20 DAO em sementes artificiais** contendo 0 (controle) ou 1% das proteínas com afinidade à quitina isoladas dos genótipos de *Vigna unguiculata* BO 1-5-15, BO 1-5-19, PO 1-5-4, BRS Imponente e MNC06-909-52. Os valores representam as médias ( $\pm$  SEM) e os tratamentos estatísticos foram realizados usando o teste t de *Student*. Os valores seguidos por \* foram significativamente diferentes do controle (valor de  $p < 0.05$ ).

#### 4.5 Docking da vicilina com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sub>4</sub>

A banda majoritária observada no genótipo PO 1-5-4 (Figura 9) de cerca de 50 kDa (banda-4) apresentou o maior número de peptídeos, no total 79 (com sobreposição), representando 59% de cobertura (Tabela 3) com a vicilina de *V. unguiculata* (número de acesso UniProt: A8YQH5\_VIGUN). Nove peptídeos (sem sobreposição), com um total de 251 aminoácidos, foram obtidos desta banda (Tabela 4). O sítio de ligação à quitina (REQUIRELMK), previamente identificado na vicilina de *V. unguiculata* do cultivar IT81D-1045 (MIRANDA et al., 2020) foi identificado no peptídeo de 79 aminoácidos (Tabela 4).

Tabela 3. **Peptídeos obtidos por análise de espectrometria de massa da banda-4 (50 kDa) do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4.** A região de sequência destacada representa o sítio de ligação da quitina (**REQUIRELMK**), previamente identificado por (MIRANDA et al., 2020).

Peptídeos	Nº de Resíduos
GIVHRGHQESQEESEPRGQNNPFYFSDSR	29
QYGHLRVLQRFDQRSKQIQNLENYR	25
AILTLVNPDGRDSYILEQGHAQK	23
LAVPVNNPHR	10
NILEASFDSDFKEINRVLFGEQQKQQDEESQQEGVIVQLK <b>REQUIRELMK</b> HAKSTSKKSLSTQNEPFNLRSQKPIYSNK	79
RLHEITPEKNPQLR	14
EGLLMPNYNSK	12
GEANIELVGQREQQQQQEEESWEVQR	26
SEIPTEVLDVTFPASGEKVEKLINKQSDSHFTD	33
Total	251

Esses peptídeos foram alinhados, usando BLASTp, com proteínas contidas no PDB. A proteína que apresentou maior similaridade e cobertura com as sequências peptídicas foi uma vicilina de *Vigna angularis* (PDB: 2EAA). O alinhamento dos peptídeos com a proteína 2EAA mostrou que 194 dos 251 aminoácidos se alinham com a proteína, apresentando cobertura de 44,8% (Figura 19).

2EAA	IVHREHQESQ	EESDSRGENN	PFYFSSDRRF	HTLFTNQYGH	LRILHRFDQR	SKQIQNLENY	60
	IVHRGHQESQ	EESEPRGQNN	PFYFSDSR	NQYGH	LRVLQRFQDR	SKQIQNLENY	
2EAA	RVVEFKSKPN	TLLLPHHADA	DLLVVLNGR	AILTLVNPDS	RDSYILEQGH	AQKIPAGTTF	120
	R			AILTLVNPDG	RDSYILEQGH	AQK	
2EAA	FLVNPDDNEN	LRIIKLAIPV	NNPHRFQDF	LSSTEAQQSY	LRGFSKNILE	ASFDSDFKEI	180
		LAVPV	NNPHR		NILE	ASFDSDFKEI	
2EAA	NRVLFGEERQ	QQQGEEESREE	GVIVELKREQ	IQELMKHAKS	SSRKELSSQD	EPFNLRNSKP	240
	NRVLFGEEEQ	KQQDEESQQE	GVIVQLKREQ	IRELMKHAKS	TSKKSLSQTN	EPFNLRNSQKP	
2EAA	IYSNKFGRWY	EMTPEKNPQL	KDLDFISSV	DMKEGALLP	HYNKAIVIM	VINEGEAKIE	300
	IYSNKFGR LH	EITPEKNPQL	R	EGLLMP	NYNSK	GEANIE	
2EAA	LVGLSDQQQQ	KQQEESLEVQ	RYRAELSEDD	VFVIPAAYPV	AINATSNLNF	FAFGINAENN	360
	LVGQR						
2EAA	QRNFLAGGKD	NVMSEIPTEV	LEVSFPASGK	KVEKLIKKQS	ESHFVDAQPE	QQQREEGHKG	420
		SEIPTEV	LDVTFPASGE	KVEKLINKQS	DSHFTD		
2EAA	RKGSLSILG	S LY					

Figura 19. Alinhamento das seqüências dos peptídeos da vicilina do genótipo *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 com a vicilina de *V. angularis* (código de acesso PDB: 2EAA). Os realces em cinza representam regiões de similaridade. A região destacada com retângulo pontilhado representa o sítio de ligação à quitina previamente descrita em uma vicilina por MIRANDA *et al.*, (2020).

A seqüência de aminoácidos da proteína 2EAA foi usada para deduzir a seqüência completa da vicilina do genótipo P.O 1-5-4. O modelo 3D da proteína 2EAA foi usado como template para a modelagem molecular da vicilina do genótipo P.O 1-5-4. A estrutura da vicilina foi submetida a um *docking* cego com (NAG)<sub>4</sub> e o melhor modelo apresentou valores negativos de energia de afinidade (-7,527 kcal / mol), indicando uma ligação espontânea (Figura 20A). Os aminoácidos da vicilina SER13, ASP14, PHE17, THR19, THR22, GLU315 e ASP317 formam ligações de hidrogênio com (NAG)<sub>4</sub>, enquanto HIS18 interage com (NAG)<sub>4</sub> por ponte salina (Figura 20B). As interações hidrofóbicas dos resíduos da vicilina HIS18, ARG29, SER314 e ASP316 com (NAG)<sub>4</sub> foram identificadas pelo programa LigPlot + v 2.2.4 (Figura 20C).

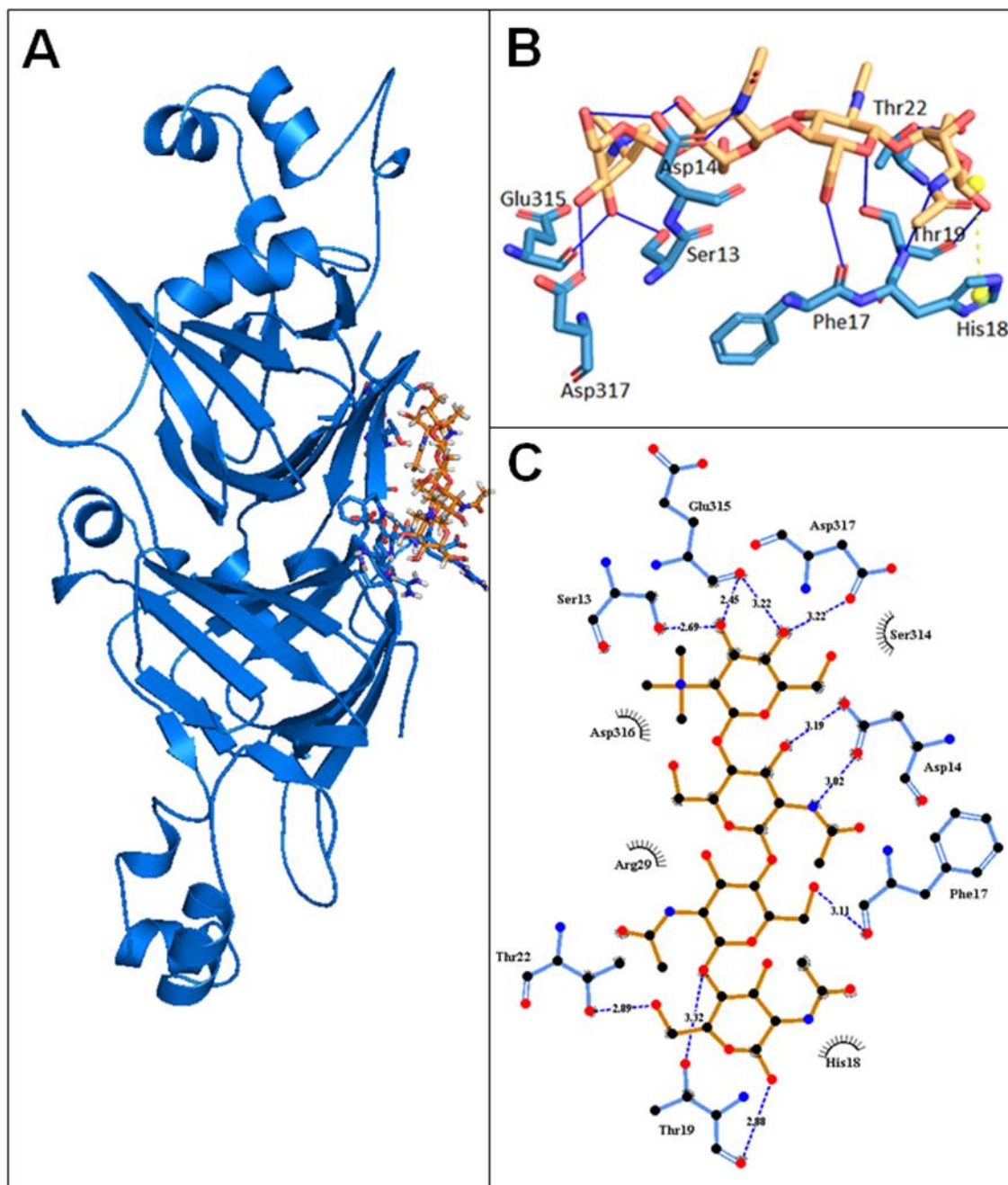


Figura 20. **Docking da vicilina com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sub>4</sub>**: Estrutura tridimensional do monômero da vicilina interagindo com (NAG)<sub>4</sub>. B): Zoom da região de interação vicilina-(NAG)<sub>4</sub>. Linhas azuis = ligações de hidrogênio, linha tracejada amarela = ponte salina, bastões azuis escuros = átomos de nitrogênio; bastões vermelhos = átomos de oxigênio. C): Diagrama 2D representando as interações entre os resíduos de aminoácidos de vicilina com (NAG)<sub>4</sub> (LigPlot + programa v 2.2.4). Arcos pretos tracejados = interações hidrofóbicas; linhas pontilhadas azuis = ligações de hidrogênio; os números expressam a distância (Å) das ligações de hidrogênio; esferas pretas = átomo de carbono e esferas azuis = átomos de nitrogênio.

Na estrutura tridimensional da vicilina, a região 195 REQUIRELMK 203, definida por MIRANDA et al. (2020) como um sítio de ligação à quitina, formou uma  $\alpha$ -hélice exposta na superfície do modelo (Figura 21A). Para averiguar a afinidade dessa região pela quitina, a estrutura da vicilina foi submetida a um novo *docking* com (NAG)<sub>4</sub>, usando um espaço definido por um cubo de 40 Å x 40 Å x 40 Å e direcionando o cubo para incluir a  $\alpha$ -hélice formada por esta região. O resultado do *docking* indicou uma ligação espontânea, com valores negativos de energia (-6,793 kcal / mol). Os resultados mostraram que os aminoácidos ARG77, GLU94, ASP114, ARG195, LYS203 e SER207 formam ligações de hidrogênio com (NAG)<sub>4</sub>, destacando os aminoácidos ARG195 e LYS203 do sítio de ligação da quitina descrito por MIRANDA et al. (2020). ARG77 e ARG195 também interagiram com (NAG)<sub>4</sub> por pontes salinas (Figura 21A e 21B). Alguns aminoácidos também interagiram com (NAG)<sub>4</sub> por interações hidrofóbicas, incluindo ARG195, ARG199, MET202 e LYS203 que fazem parte do sítio de ligação à quitina previamente descrito (Figura 21C).

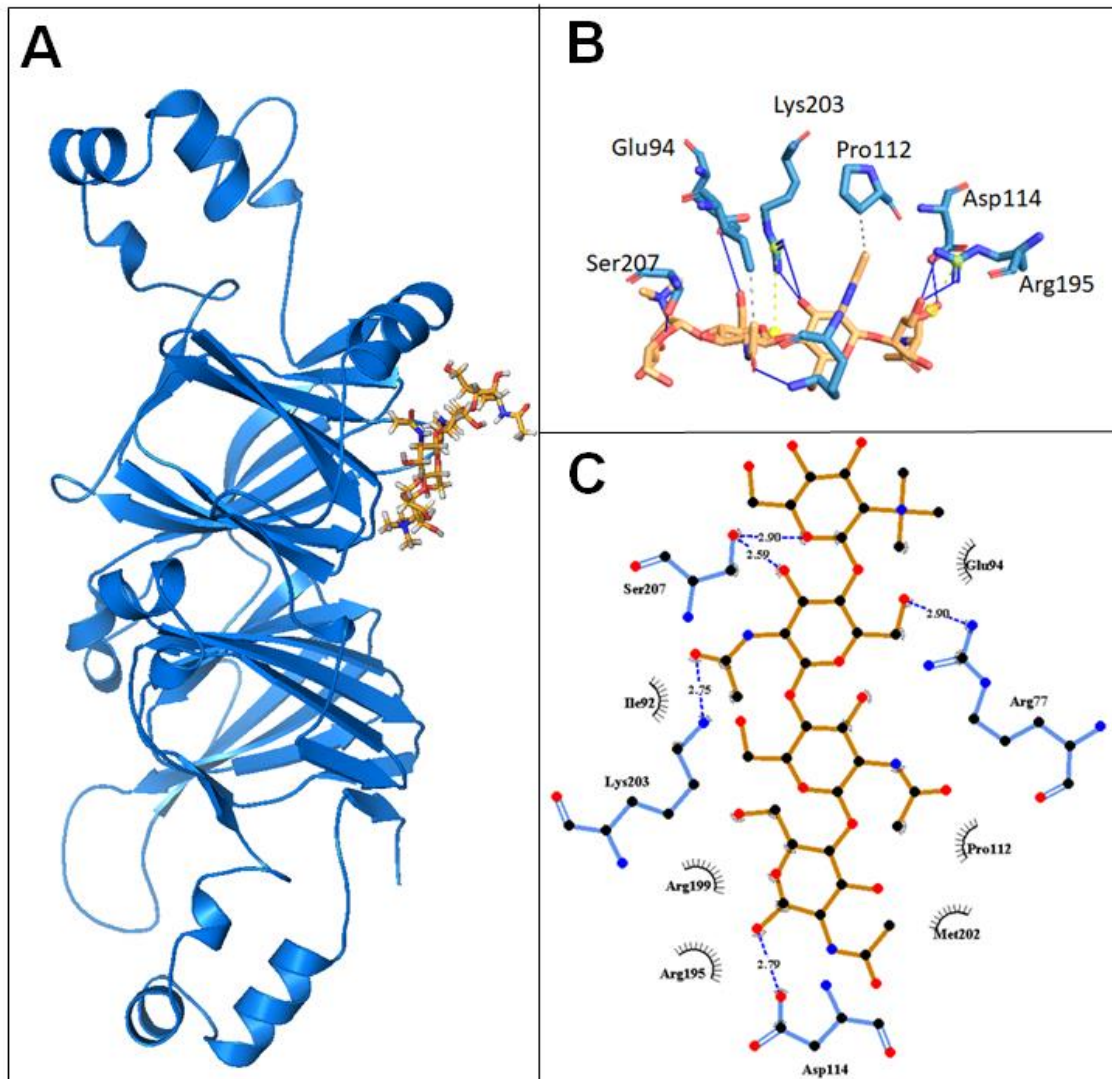


Figura 21. **Docking** da vicilina, incluindo o sitio de ligação a quitina descrito por (MIRANDA et al., 2020), com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sub>4</sub>. A): Estrutura tridimensional do monômero de vicilina interagindo com (NAG)<sub>4</sub>. B): Zoom da região de interação vicilina-(NAG)<sub>4</sub>. Linhas azuis = ligações de hidrogênio; linha tracejada amarela = ponte salina; bastões azuis escuros = átomos de nitrogênio; bastões vermelhos = átomos de oxigênio. C): Diagrama 2D representando as interações entre os resíduos de aminoácidos de vicilina com (NAG)<sub>4</sub> (LigPlot + programa v 2.2.4). Arcos pretos tracejados = interações hidrofóbicas; linhas pontilhadas azuis = ligações de hidrogênio; os números expressam a distância (Å) das ligações de hidrogênio; esferas pretas = átomo de carbono e esferas azuis = átomos de nitrogênio.

#### 4.6 Análise proteômica comparativa dos genótipos de *Vigna unguiculata*

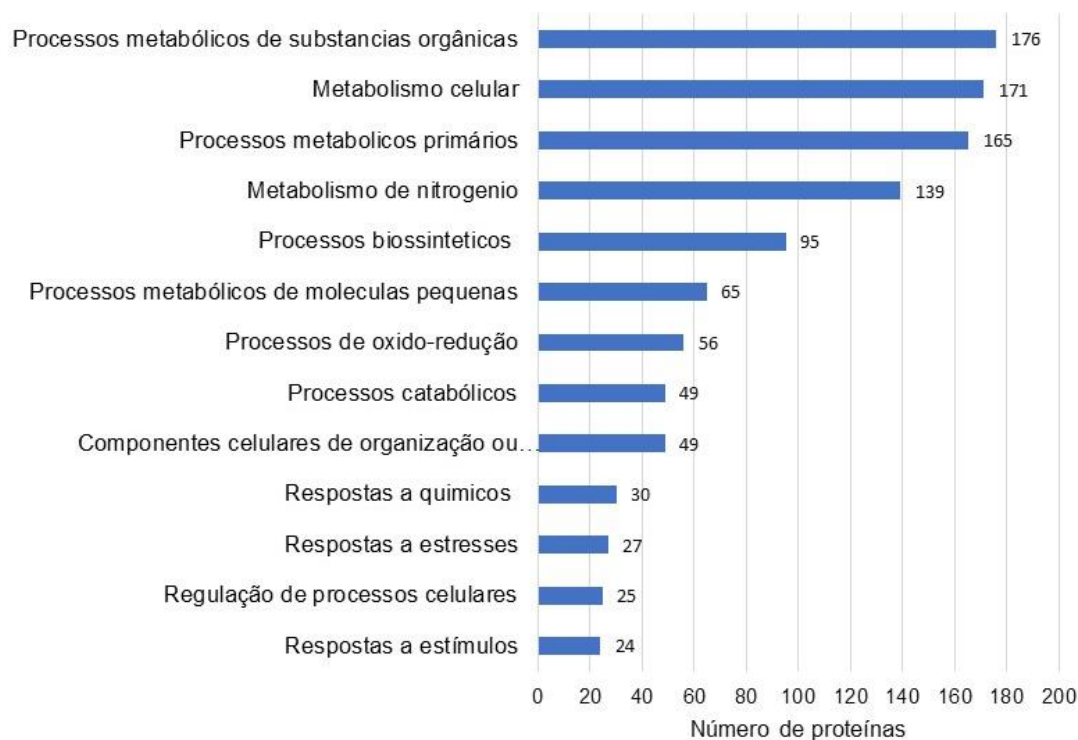
Para a proteômica comparativa foram escolhidos dois genótipos de *V. unguiculata*, o P.O 1-5-4 (T6) que demonstrou uma capacidade de reduzir em 60% a sobrevivência das larvas 20 DAO e genótipo P.O 1-5-7 (T8), que não



apresentou efeito significativo sobre a sobrevivência das larvas 20 DAO ou sobre qualquer outro parâmetro do desenvolvimento do inseto. A acumulação diferencial foi determinada comparando T6/T8, proteínas classificadas como UP estão aumentadas no genótipo T6 e proteínas classificadas como DOWN estão diminuídas em T6. Para proteínas diferentemente expressas foram considerados  $p \leq 0,05$  e diferenças de expressão de pelo menos 1,4 x ( $\text{Log}_2$  do fold change  $\geq 0.5$  UP e  $\text{Log}_2$  do fold change  $\leq -0.5$  DOWN). Foram identificadas 267 proteínas presentes nas sementes de ambos os genótipos (Tabela Suplementar 1). Um total de 259 proteínas não apresentaram diferença de expressão entre os genótipos, 7 proteínas estavam diminuídas no genótipo P.O 1-5-4 (DOWN), enquanto 1 proteína, identificada como uma actina (acesso T2DPN9) estava aumentada nesse genótipo (UP).

A determinação da classificação funcional das proteínas, pelo software OmicsBox, mostrou que houve uma repetição de proteínas entre as diferentes classes funcionais (Figura 22). Muitas das classes funcionais destacadas pelo programa também mostram sobreposições de funções. Proteínas relacionadas com processos metabólicos de substâncias orgânicas foram as mais numerosas, com um total de 176 proteínas o que representa 16,4%, 171 proteínas estão envolvidas com processos metabólicos celulares e representam 15,96% e 165 foram relacionadas com processos metabólicos primários e representam 15,4% (Figura 22A e 22B).

A



B

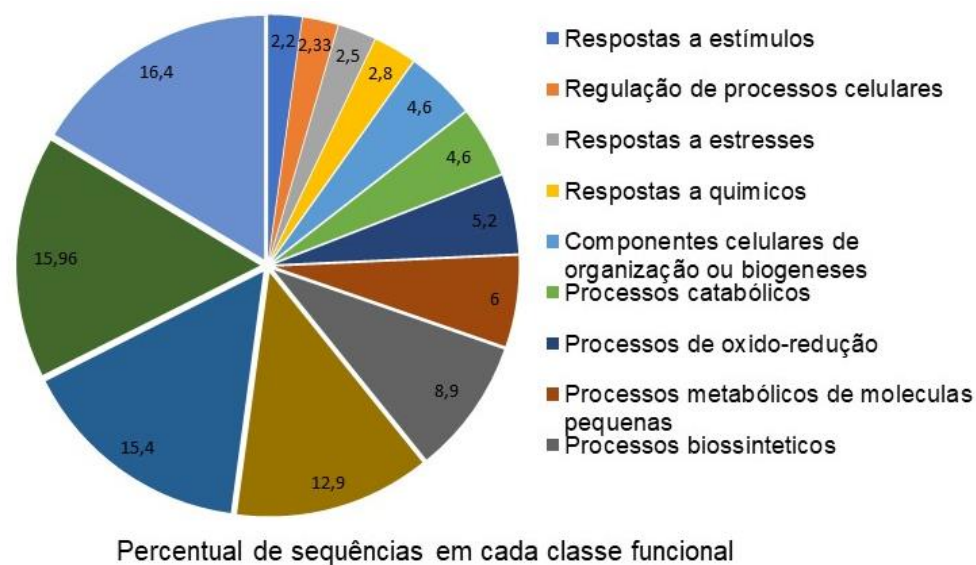


Figura 22. **Classificação funcional das proteínas identificadas nos genótipos P.O. 15-4 e P.O. 1-5-7 de *Vigna unguiculata*.** A classificação foi feita automaticamente pelo programa OmicsBox. A): Número de proteínas agrupado em cada classe funcional. B): Percentual de seqüências em cada classe funcional.

#### **4.7 Desempenho de *Zabrotes subfasciatus* infestando sementes naturais de *Phaseolus vulgaris***

Diferentes etapas do ciclo de vida do inseto, como oviposição (Figura 23A), eclosão larval até 5 DAO (Figura 23B) e emergência de adultos até 40 DAO (Figura 23C) foram avaliadas. De acordo com os dados de oviposição, foi observado uma alta variação no número de ovos/semente que variou de 1 a 7. Alguns genótipos se destacaram por apresentarem um número bem pequeno de ovos, variando de 1 a 3 ovos/semente, como observado nos genótipos L-2, L-3, L-5, L-9, L-11, L-13, L-19 e L-27, (Figura 23A). Analisando a eclosão larval, avaliada 5 DAO, foi observado eclosão inferior a 40% das larvas em 9 genótipos L-3, L-4, L-7 L-14, L-16, L-21, L-22, L-28 e L-29. Destaca-se o genótipo L-3 onde não se observa eclosão larval (Figura 23B). Em 10 genótipos foi observada emergência de adultos inferior a 40%. Além do genótipo L-3 onde nenhuma larval eclodiu, conseqüentemente não sendo observada emergência de adultos, ainda observamos inibição total de emergência nos genótipos L-21 e L-31 (Figura 23C). Nos genótipos L-2, L-13, L- 27 e L-32 quantidade inferior a 20% das larvas eclodidas emergiram como insetos adultos até 40 DAO (Figura 23C).

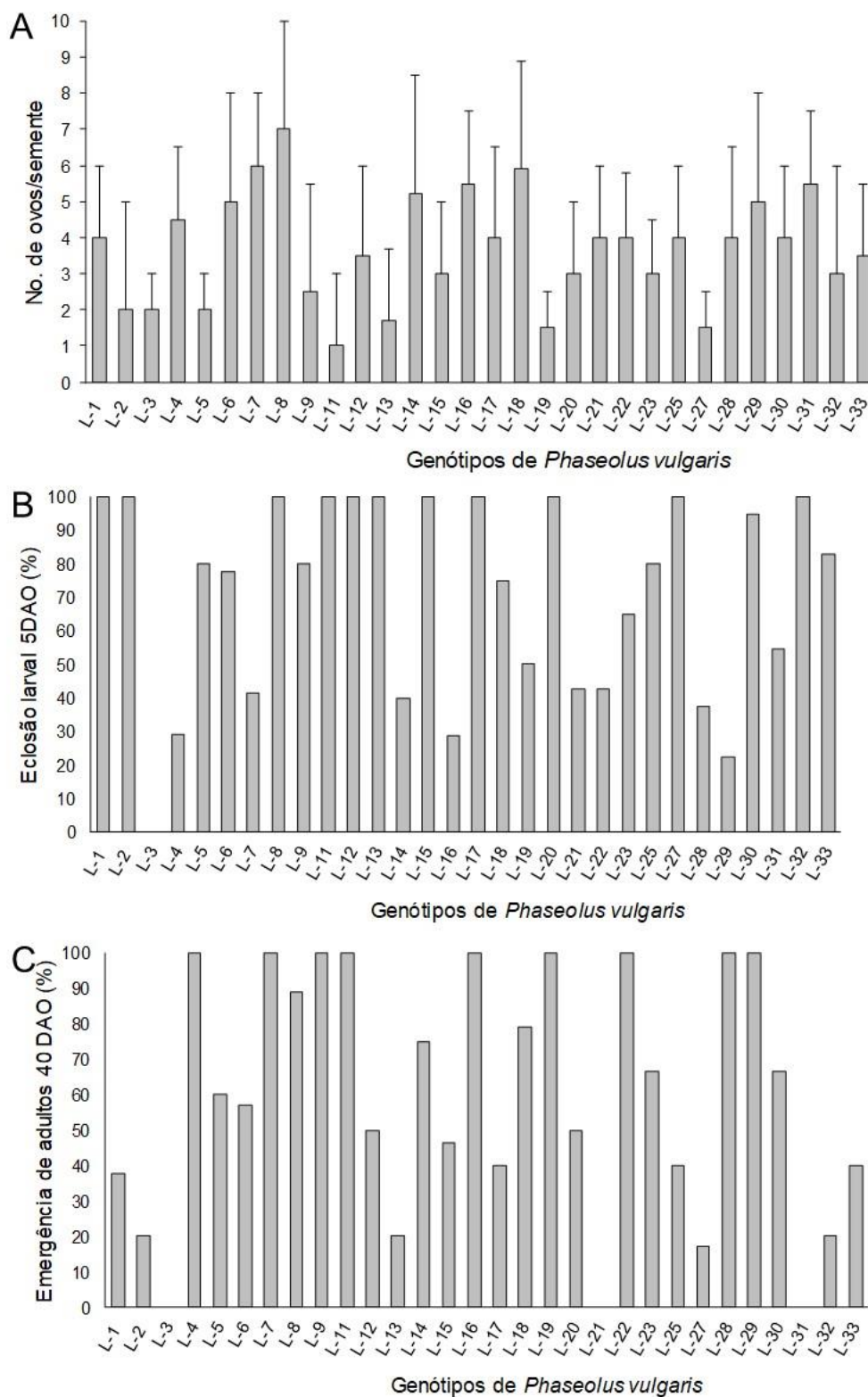


Figura 23. Análise do desempenho do inseto *Zabrotes subfasciatus* infestando genótipos de *Phaseolus vulgaris*. A): Avaliação da oviposição. B): Análise da eclusão larval 5 DAO. C): Emergência de insetos adultos até 40 DAO. Os valores representam médias.

#### 4.8 Análise da viabilidade germinativa das sementes após infestação por *Zabrotes subfasciatus*

Esse experimento foi realizado inicialmente com 17 genótipos e posteriormente apenas 5 genótipos foram selecionados para as análises de comprimento de eixo embrionário após a germinação. Como controle foram usadas sementes não infestadas de cada genótipo. Os resultados mostraram uma grande variação no número de sementes que germinaram, independente da infestação prévia ou não. Alguns genótipos como o L-1, L-5 e L-13 apresentaram uma baixa germinação, inferior a 10%, como observado para o genótipo L-1 (Figura 24). Quando observada a influência da infestação na germinação, observa-se que nos genótipos L-4, L-6, L-9, L-14, L-15, L-20, L-21, L-25 e L-31 a infestação interferiu negativamente no percentual de sementes que germinaram. Nos genótipos L-4, L-15 e L-25 a infestação inibiu 100% a germinação das sementes. O pequeno número de sementes usadas nos experimentos inviabilizou a realização de análises estatísticas.

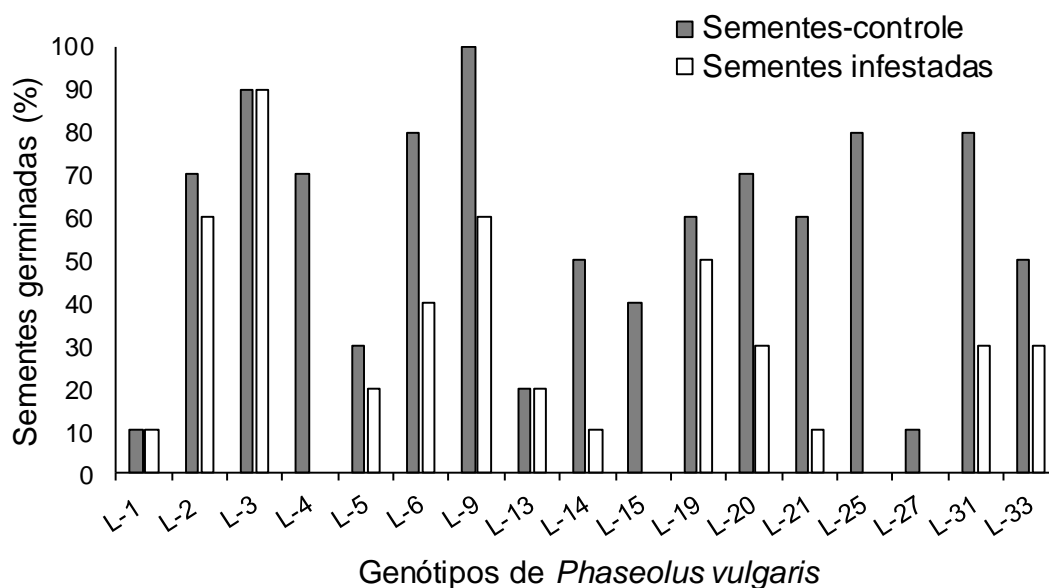


Figura 24. **Análise da viabilidade germinativa das sementes após infestação por *Zabrotes subfasciatus*.** Sementes não infestadas foram usadas como controle. As sementes foram germinadas em algodão umedecido com água a 28°C, com fotoperíodo de 12/12 luz/escuro por 120 h. Os valores representam médias ( $\pm$ SEM).

Analisando o comprimento do eixo embrionário após a germinação (Figura 25) podemos destacar o genótipo L-2 que obteve os maiores tamanhos de eixos germinativos, com média de 4 cm de comprimento nas sementes controle e 3 cm nas sementes infestadas. Os genótipos L-16, L-21 e L-31 tiveram eixos próximos a 2 cm de comprimento. Diferenças estatísticas entre os eixos de sementes controle e infestadas foram observadas apenas nos genótipos L-2 e L-16.

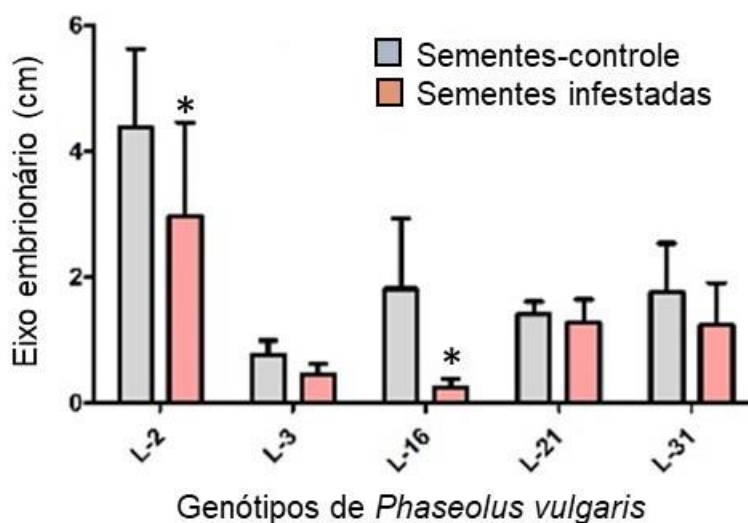


Figura 25. **Análise dos comprimentos dos eixos germinativos das sementes germinadas após infestação por *Zabrotes subfasciatus*.** Sementes não infestadas foram usadas como controle. As sementes foram germinadas em algodão umedecido com água a 28°C, com fotoperíodo de 12/12 luz/escuro por 120 h. Os valores representam médias ( $\pm$ SEM) e os valores seguidos por \* foram significativamente diferentes do controle (valor de  $p < 0.05$ ).

A morfologia dos eixos foi observada e verificou-se uma grande variação no desenvolvimento dos eixos nos diferentes genótipos, dificultando a avaliação dos efeitos da infestação sobre o comprimento dos eixos (Figura 26A-E). O genótipo L-2 apresentou eixos relativamente bem desenvolvidos, com a presença de pêlos radiculares (Figura 26A), sendo observada uma diminuição de tamanho nos eixos de sementes infestadas. O genótipo L-3 foi o que apresentou o pior desempenho de crescimento de eixo, tanto das sementes controle e como infestadas (Figura 26B). No genótipo L-16 houve uma grande variação no crescimento dos eixos, sendo observada diminuição no

desenvolvimento de sementes infestadas (Figura 26C). O genótipo L-21, embora apresente eixos pequenos, mostrou uma relativa homogeneidade no crescimento, quando comparados aos demais cultivares, com comprimentos similares em eixos de sementes controle e infestadas (Figura 26D). O genótipo L-31 apresentou perfil muito variado com apenas uma semente dentro de cada grupo exibindo um eixo relativamente bem desenvolvido (Figura 26E).

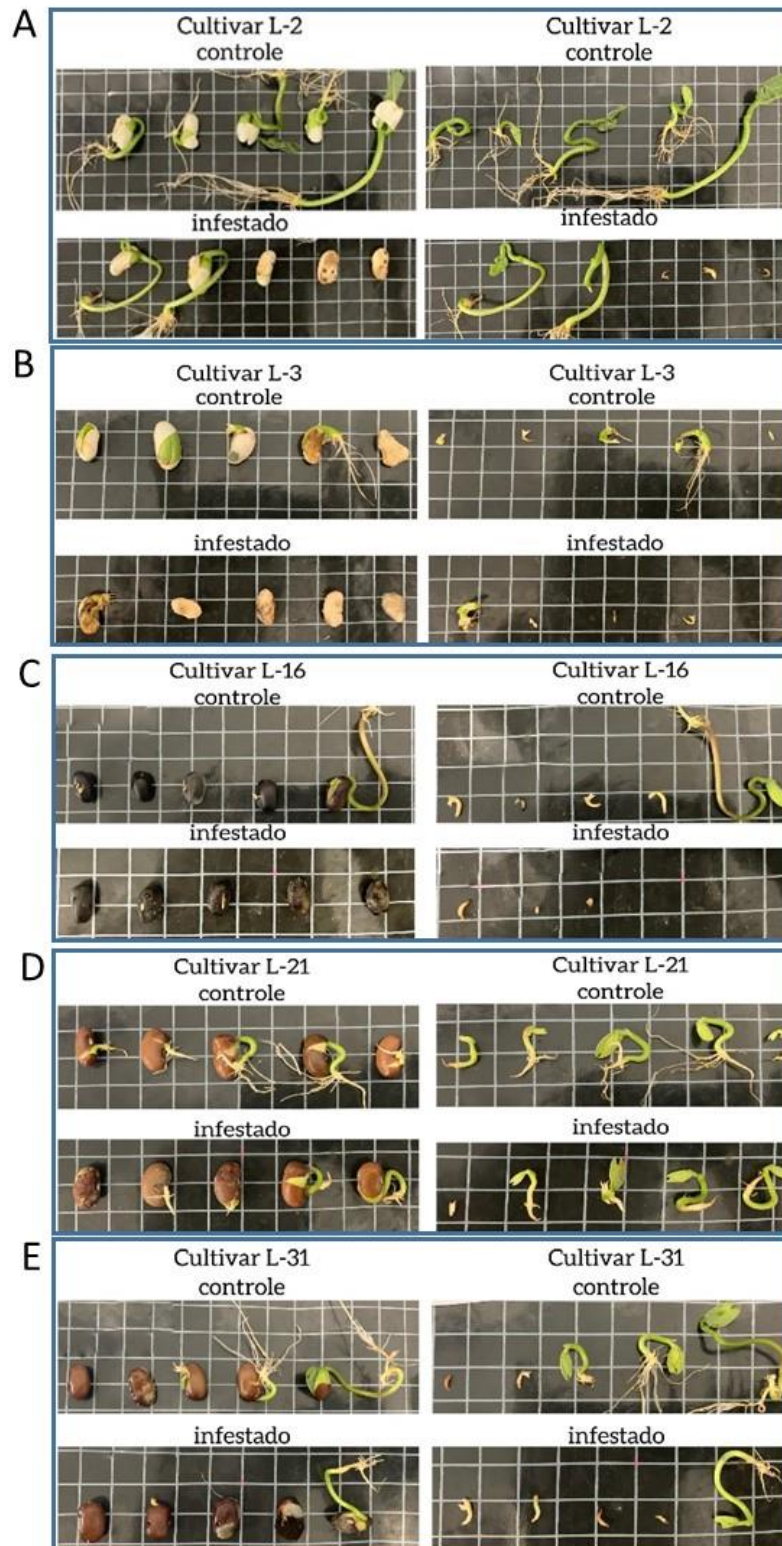


Figura 26. Fotos das sementes germinadas e dos eixos embrionários provenientes das sementes de *Phaseolus vulgaris* controle ou infestadas por *Zabrotes subfasciatus*. A): Genótipo L-2. B): Genótipo L-3. C): Genótipo L-16. D): Genótipo L-21. E): Genótipo L-31.



#### 4.9 Avaliação da toxicidade do tegumento do genótipo L-3

Visto que nenhuma larva eclodiu no genótipo L-3, ou seja foram incapazes de penetrar o tegumento da semente, foi então avaliada a toxicidade da farinha do tegumento para as larvas do inseto. Não foram observadas reduções na oviposição, eclosão e nem sobrevivência larval (dados não mostrados), entretanto nossos resultados mostraram uma diminuição no tamanho das larvas 20 DAO (Figura 27). As larvas-controle possuíam morfologia bem definida e desenvolvimento dentro do descrito como normal para a espécie. Alguns indivíduos apresentavam características morfológicas de pupas (dados não mostrado). Ao comparar as larvas-controle com as desenvolvidas nas sementes contendo os tegumentos é possível observar uma diminuição gradativa no tamanho das larvas e alterações morfológicas, como a coloração escura das larvas (Figura 27).

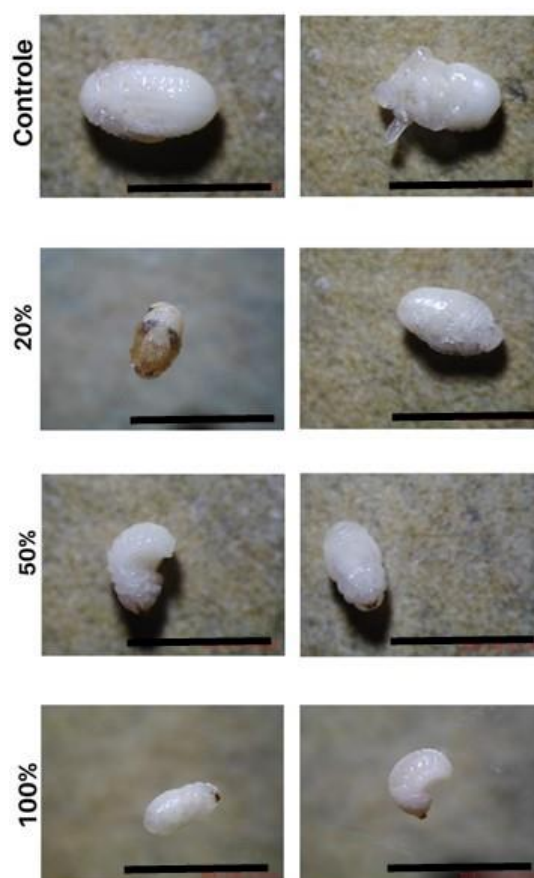


Figura 27. Avaliação da toxicidade da farinha do tegumento do cultivar L-3 para as larvas de *Zabrotes subfasciatus*. Morfologia das larvas e pupas de *Zabrotes subfasciatus* desenvolvidos em sementes artificiais com tegumentos artificiais contendo 20, 50 e 100% de farinha do tegumento. Barra= 0,3 cm.

O tamanho das larvas foi determinado por medições realizadas pelo programa *Image J*. Um total de 9 larvas de cada tratamento foi fotografada e medida e os resultados mostraram uma diferença significativa nos tamanhos das larvas desenvolvidas nos tratamentos 50% e 100% em relação as larvas-controle (Figura 28).

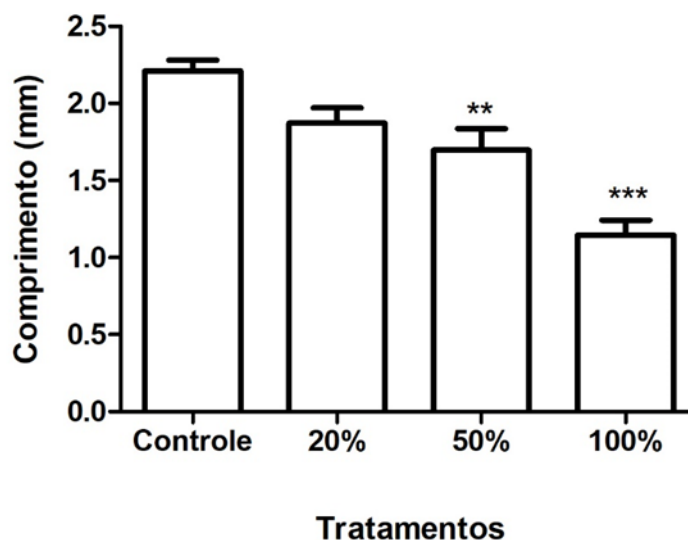


Figura 28. **Comprimento das larvas de *Zabrotes subfasciatus* desenvolvidas em sementes artificiais com tegumentos artificiais contendo farinha do tegumento do genótipo L-3.** Comprimento das larvas (mm) medido pelo programa *Image J*. Os valores representam médias ( $\pm$ SEM) e os valores seguidos por \* foram significativamente diferentes do controle (valor de  $p < 0.05$ ).

#### 4.10 Análise proteômica comparativa dos genótipos de *Phaseolus vulgaris*

Para as análises de proteômica comparativa foram escolhidos os genótipos L-3 e o cultivar L-8, o cultivar L-3 por mostrar grande resistência à infestação pelo inseto e o genótipo L-8 por ser susceptível a infestação. Os resultados mostraram a presença de 613 proteínas (Tabela suplementar 2) das quais 455 estavam presentes em ambos os genótipos e expressas em níveis similares, 86 proteínas estavam diminuídas (DOWN) no genótipo L-3 e 53 estavam aumentadas (UP) no genótipo L-3 (Figura 29). Também foi possível observar a presença de 7 proteínas que foram encontradas unicamente no genótipo L-3 e 12 proteínas que foram encontradas unicamente no genótipo L-8 (Figura 29).

Dentre as proteínas que estão aumentadas em L-3, pode-se destacar algumas relacionadas à defesa como uma proteína contendo o domínio lectina\_legB (V7C787), um inibidor de tripsina/quimotripsina (B3W6M4), uma proteína contendo o domínio Peptidase A1 (V7BPV5), uma proteína contendo o domínio Knot1 (V7BTW4) e duas proteínas contendo o domínio cupin (V7CFI9 e V7BEF1). Dentre as proteínas encontradas unicamente no genótipo L-3 destaca-se a proteína contendo o domínio lectina\_legB (V7BC16) como uma proteína relacionada à defesa (Tabela suplementar 2/destaques em amarelo).

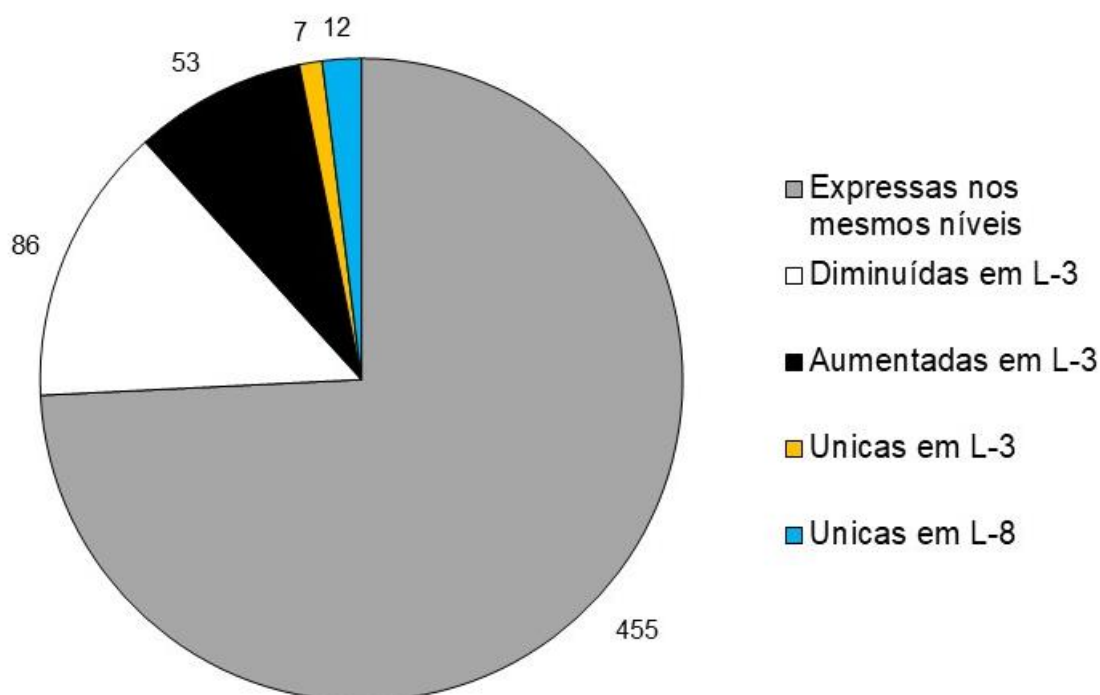


Figura 29. **Análise proteômica comparativa dos genótipos de *Phaseolus vulgaris* L-3 e L-8.** Proteínas identificadas 613, 455 expressas em ambos cultivares nos mesmos níveis, 86 proteínas diminuídas no genótipo L-3, 53 proteínas aumentadas no genótipo L-3; 7 proteínas únicas no genótipo L-3 e 12 proteínas únicas no genótipo L-8.

Com relação a classificação funcional das proteínas, realizada pelo software OmicsBox, novamente foi observada repetição de proteínas entre as diferentes classes funcionais e sobreposições de funções (Figura 30). Uma variação na porcentagem de sequências encontradas nas diferentes classes entre os genótipos L-3 e L-8 (Figura 30), havendo um predomínio tanto no genótipo L-8 como L-3 (57,1 e 32,2 % respectivamente) de proteínas classificadas como tendo função no metabolismo celular no geral (Figura 30).



Figura 30. **Classificação funcional das proteínas identificadas nos genótipos L-3 e L-8 de *Phaseolus vulgaris*.** A classificação foi feita automaticamente pelo programa OmicsBox. Os dados são apresentados em percentual de sequências em cada classe funcional.

## 5. DISCUSSÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de feijões, sendo essas culturas cultivadas em praticamente todos os Estados. A produção anual flutua em números próximos a 3 milhões de toneladas, entretanto essa produção pouco variou nos últimos 10 anos (MAPA, 2018). Estudos da CONAB indicam ainda que a produção nacional de feijão em 2020/2021 deve ficar 3,7% inferior na comparação com a safra anterior (CONAB, 2021). Com o intuito de estimular a produção de feijão no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento lançou no ano de 2018 um Plano Nacional de Desenvolvimento da Cadeia do Feijão e Pulses – PNDCFP que apresenta 12 temas prioritários, onde destacamos a promoção de pesquisa, desenvolvimento e inovação para culturas e o estímulo às boas práticas agrícolas. Dentre os feijões mais produzidos no Brasil destacamos a *Vigna unguiculata* e o *Phaseolus vulgaris*. *Vigna unguiculata* é uma fonte de alimento importante, principalmente na América Central e do Sul, África e Ásia (FREIRE-FILHO et al., 2011). Devido à boa adaptação dessa cultura nas regiões áridas e quentes, no Brasil esse feijão é produzido principalmente nas regiões Norte e Nordeste, com médias de safras 2016/2017 de mais de 500 mil toneladas (MAPA, 2018). O principal feijão produzido no Brasil é o *Phaseolus vulgaris* com média das safras 2016/2017 de mais de 2 milhões de toneladas, o que equivaleu para esses anos em mais de 60% da produção de feijão nacional (MAPA, 2018). Embora a produção de feijão no Brasil seja considerada expressiva, existem vários problemas que impactam a produção, como o ataque dos bruquídeos *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus*, principais pragas das sementes armazenadas de *V. unguiculata* e *P. vulgaris* respectivamente (LORINI et al., 2015).

Nesse trabalho investigamos a resistência ou susceptibilidade de genótipos de feijões *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris* à infestação pelos bruquídeos *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus*, suas principais pragas de sementes armazenadas, respectivamente.

Nossos resultados para os genótipos de *Vigna unguiculata* infestados por *C. maculatus* mostraram que o número de ovos por semente variou entre 6 e 13; todos os ovos mostraram-se viáveis e praticamente todas as larvas eclodiram até 5 DAO. Embora tenha sido observada uma variação no número de ovos, em

todas as sementes houve oviposição e com número considerável de ovos, indicando que nenhum dos genótipos pode ser considerado repelente. A preferência de oviposição por fêmeas de *C. maculatus* tem sido relacionada com algumas características morfológicas das sementes, como forma, cor e textura (CARVALHO; LIMA; ALVES, 2011; MARSARO JÚNIOR; VILARINHO, 2011). Como algumas diferenças morfológicas são observadas nas sementes estudadas (dados não mostrados), como diferenças de cor e tamanho, isso pode explicar a grande variação no número dos ovos ovipositados por semente entre os diferentes genótipos. Estudo prévio com dois cultivares de *V. unguiculata*, cujas sementes tem semelhanças morfológicas em textura e tamanho, mas sendo uma suscetível (EPACE 10) e outro resistente (IT81D-1045) à infestação por *C. maculatus*, mostrou não haver diferenças na oviposição (SALES et al., 2005).

Avaliando a sobrevivência das larvas 20 DAO observa-se redução em alguns genótipos, onde apenas cerca de 40 a 50% das larvas sobreviveram; no entanto, a massa das larvas sobreviventes variou pouco, ficando próximas da normalidade da massa de uma larva desenvolvida em um cultivares susceptíveis como nos cultivares fradinho e EPACE-10 (CRUZ et al., 2016; DE SÁ et al., 2018; SALES et al., 2005). No parâmetro sobrevivência larval destacamos os genótipos P.O 1-5-4 e o BRS Imponente como os que mais reduziram essa sobrevivência. CRUZ et al., (2016) estudaram a sobrevivência larval em diferentes cultivares de *V. unguiculata* e mostraram que em alguns cultivares, como BRS Pajeu, BRS Guariba e BRS Xiquexique, a sobrevivência foi reduzida para cerca de 40%, aos 20 DAO. A influência negativa dessas cultivares na massa larval também foi observada por CRUZ et al., (2016), onde a massa de larvas desenvolvidas nas cultivares BRS Pajeu e BRS Xiquexique foi reduzida em 50%.

A emergência de adultos também é descrita como um dos principais indicadores para a classificação de sementes como resistentes ou suscetíveis à infestação de insetos (JACKAI; ASANTE, 2003). No presente estudo é mostrado que poucos genótipos reduziram a emergência de adultos até 40 DAO, destacamos apenas o genótipo MNC06-909-76, onde apenas cerca de 50% dos insetos emergiu. SALES et al., (2005) estudando um cultivar resistente a *C. maculatus*, mostraram que o período de desenvolvimento total (PDT) de *C.*

*maculatus* aumentou de 28 para 46 dias após a oviposição. Além do aumento do PDT, a redução do número de insetos que emergiram foi de 94% no cultivar resistente SALES et al., (2005). Resultados similares na redução de insetos adultos também foram observados para o cultivar de *V. unguiculata* BRS Xiquexique, classificado por CRUZ et al., (2016) como resistente à infestação por *C. maculatus*.

Um dos principais danos causados às sementes pela infestação de bruquideos como *C. maculatus* e *Z. subfasciatus* é o consumo da massa das sementes, conseqüentemente das reservas armazenadas nos cotilédones, causando uma diminuição nos valores nutricionais, comerciais e inviabilizando a germinação das sementes (CRAWLEY, 2000; CRUZ et al., 2016; VALLEJO-MARÍN; DOMÍNGUEZ; DIRZO, 2006). Assim, a investigação da germinabilidade das sementes após a infestação de insetos torna-se de fundamental importância. A percentagem de massa da semente consumida pelas larvas durante a infestação variou de cerca de 40% a quase 70% e nenhuma das sementes foi capaz de germinar após a infestação, indicando que a infestação inviabilizou 100% a germinação. Mesmo nas sementes dos genótipos P.O 1-5-4 e o BRS Imponente onde apenas 40% das larvas sobreviveram e em MNC06-909-76 onde 50% dos insetos não emergiram não foi observada germinação de sementes. Estudo prévio observou que a infestação de *C. maculatus* também afetou negativamente a germinação das sementes suscetíveis, entretanto as sementes de cultivares resistentes, cujas sementes foram menos consumidas pelas larvas, apresentaram melhores índices germinativos (CRUZ et al., 2016).

Dois genótipos foram selecionados para a identificação de proteínas por espectrometria de massas. O genótipo P.O 1-5-4, onde apenas cerca de 40% das larvas sobreviveram e o genótipo MNC06-909-76, onde apenas cerca de 53% das larvas sobreviventes emergiram como insetos adultos. Oito bandas de proteínas, com massas moleculares entre 100 e 15 kDa, foram identificadas. Quatro proteínas foram identificadas como vicilinas, uma como glicinina, outra banda foi similar a uma proteína não caracterizada e as bandas 6 e 7 foram semelhantes à proteína CPRD22. As bandas com as mesmas massas moleculares dos dois genótipos foram identificadas como proteínas similares.

Vicilinas são proteínas de reserva, do tipo globulinas 7S, que são encontradas em abundância em sementes de leguminosas, como os feijões do

gênero *Vigna*. Estudos têm relacionado a resistência de algumas cultivares de *V. unguiculata* à infestação por *C. maculatus* à presença de proteínas do tipo vicilina que possuem afinidade à quitina (FERREIRA et al., 2021; MACEDO et al., 1995, 1993; MIRANDA et al., 2020; SALES; MACEDO; XAVIER-FILHO, 1992; SALES et al., 2001). As vicilinas com afinidade à quitina, isoladas do cultivar resistente IT81D-1045 foram tóxicas para insetos como *C. maculatus* (MACEDO et al., 1993; MIRANDA et al., 2020), *Tenebrio molitor* (PAES et al., 2008) e *Diatraea saccharalis* (MOTA et al., 2003). A capacidade dessas proteínas de se ligarem à quitina da membrana peritrófica que reveste o intestino médio das larvas, juntamente com a baixa digestibilidade dessas vicilinas pelas enzimas digestivas dos insetos, foram associadas ao seu mecanismo de toxicidade (SALES; MACEDO; XAVIER-FILHO, 1992; SALES et al., 2001). Um trabalho recente também isolou proteínas com afinidade à quitina, como vicilinas e quitinases, de sementes do cultivar BRS Xiquexique, que foram tóxicas para *C. maculatus* (FERREIRA et al., 2021).

As proteínas de 70 kDa de ambos os genótipos P.O 1-5-4 e MNC06-909-76 foram similares à glicinina. A glicinina é uma globulina 11S, um hexâmero que consiste em polipeptídeos ácidos e básicos e que em sua forma nativa tem uma massa molecular que varia de 320 a 360 kDa (WANG et al., 2014). A glicinina foi inicialmente identificada em sementes de soja, mas proteínas similares a glicinina já foram identificadas em outras espécies, como a *Vigna radiata* (TECSON-MENDOZA et al., 2001). Algumas globulinas 11S foram descritas como tendo papel de defesa em sementes contra patógenos e pragas. Uma globulina 11S de *Coffea arábica*, quando adicionada à dieta de *C. maculatus*, interferiu no desenvolvimento do inseto e foi capaz de se ligar à camada de quitina do intestino médio das larvas. Proteases do inseto também não foram capazes de digerir essa globulina, mesmo após 8 h de incubação (COELHO et al., 2010).

Duas bandas proteicas, com 30 kDa e abaixo de 25 kDa (banda-6 e banda-7) foram semelhantes à proteína CPRD22, uma proteína LEA (Late Embryogenesis Abundant). As proteínas LEA são proteínas com massas moleculares entre 10-30 kDa, que estão envolvidas na proteção de plantas a danos causados por tensões ambientais e dessecação durante a maturação da semente (HONG-BO; ZONG-SUO; MING-AN, 2005). As proteínas LEA foram



encontradas pela primeira vez em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum*), acumulando-se tardiamente durante o processo de embriogênese (DURE; GREENWAY; GALAU, 1981) e posteriormente encontradas nas sementes e órgãos vegetativos de muitas outras plantas (HONG-BO; ZONG-SUO; MING-AN, 2005). Embora as proteínas LEA não sejam classicamente descritas como proteínas de defesa, alguns estudos mostraram a indução dessas proteínas em resposta a estresses bióticos. A transcrição do gene ZmLEA3 (*Zea mays* LEA) foi induzida em resposta a *Pseudomonas syringae* (LIU et al., 2013).

Como as proteínas majoritárias foram identificadas como vicilinas, fomos então investigar a presença de proteínas com afinidade à quitina no genótipo PO 1-5-4 e em outros genótipos. Os cinco genótipos fracionados por cromatografia de afinidade à quitina apresentaram frações retidas, indicando a presença de proteínas com afinidade a esse carboidrato. As frações ligantes à quitina foram então adicionadas à dieta de *C. maculatus* a 1% para avaliar a toxicidade. Os resultados mostraram que todas as frações foram capazes de reduzir a massa larval aos 20 DAO.

Um estudo recente realizado pelo nosso grupo mostrou mais claramente, através da associação de estudos *in silico* e *in vitro*, a relação direta entre a afinidade à quitina das vicilinas e a toxicidade para larvas de *C. maculatus*. (MIRANDA et al., 2020) mostraram que modificações químicas de aminoácidos específicos das vicilinas, como triptofano, lisina e tirosina, diminuíram tanto a afinidade à quitina quanto a toxicidade para as larvas. Análises *in silico* indicaram que a região REQUIRELMK que forma uma alfa-hélice exposta na estrutura do monômero 3D da vicilina é o sítio preferencial de ligação da vicilina do cultivar IT81D 1045 com a quitina. Um valor negativo de  $\Delta G$  (-8,3 kcal / mol) foi obtido no *docking* da vicilina com a quitina, indicando que a reação pode ocorrer espontaneamente. Baseados nisso foi feita a modelagem molecular, *in silico*, da vicilina do genótipo P.O 1-5-4 e o *docking* com o tetrâmero de N-acetilglicosamina (NAG)<sub>4</sub>. Os peptídeos obtidos por massas foram usados para fazer um Blastp com proteínas que tivessem estrutura depositadas no PDB. A vicilina de *Vigna angularis* (2EAA) foi a proteína que apresentou maior similaridade com as sequências dos peptídeos e foi então usada como modelo para a modelagem. O *docking* da vicilina com (NAG)<sub>4</sub> apresentou valores negativos de energia de afinidade (-7,527 kcal / mol), indicando que a ligação

ocorre de forma espontânea. As moléculas foram capazes de interagir através de ligação de hidrogênio, pontes salinas e interações hidrofóbicas. O sítio de ligação previamente identificado por (MIRANDA et al., 2020), REQUIRELMK, também estava presente nos peptídeos obtidos da vicilina do genótipo P.O 1-5-4 . O *docking* molecular dessa região da vicilina com (NAG)<sub>4</sub>, também indicou uma ligação espontânea, com valor negativo de energia de ligação (-6,793 kcal / mol). Interações por ligação de hidrogênio, pontes salinas e interações de hidrofóbicas, envolvendo aminoácidos deste sítio e (NAG)<sub>4</sub> também foram observadas. Esses resultados sugerem haver uma relação entre a interferência que o genótipo P.O 1-5-4 apresenta na sobrevivência das larvas, com a presença dessas vicilinas com afinidade à quitina. Efeitos similares foram observados para outros genótipos, sugerindo relação com a presença dessas proteínas ligadoras de quitina.

Para a realização de uma análise proteômica mais completa, na tentativa de se identificarem proteínas relacionadas à capacidade do genótipo P.O 1-5-4 de interferir na sobrevivência das larvas, foi realizada uma abordagem comparativa. O genótipo PO 1-5-7 foi selecionado para a comparação por não apresenta nenhum efeito negativo sobre o desenvolvimento do inseto. Nossas análises de proteômica demonstraram que houve muita similaridade entre os dois genótipos analisados. Um total de 267 proteínas foram identificadas, sendo 259 identificadas em ambos os genótipos e com a mesma intensidade de expressão. Dentre essas proteínas presentes em ambos genótipos, algumas se destacam como proteínas de defesa, como as  $\beta$ -1,3-endoglucanases que são proteínas da família das PR proteínas (relacionadas a patógenos). As  $\beta$ -1,3-endoglucanases são proteínas que se apresentam constitutivamente nos tecidos ou são induzidas e se acumulam em resposta a ataques, como os de patógenos (NOGUEIRA et al., 2007). Apenas 8 proteínas foram diferentemente expressas, sendo 1 aumentada em P.O 1-5-4 e outras 7 diminuídas. A proteína que se apresentou aumentada no genótipo P.O 1-5-4 foi uma actina, proteína classicamente estudada por seus papéis estruturais em células eucariontes. Essa proteína já foi previamente descrita por NOGUEIRA et al., (2007) no proteoma de células embrionária de *V. unguiculata*, entretanto sem nenhum papel relacionado diretamente com defesa.

As sementes de *P. vulgaris* também são ricas em nutrientes, sendo importantes fontes de alimento além de serem atrativas para insetos predadores (RIBEIRO-COSTA; PEREIRA; ZUKOVSKI, 2007). O inseto *Z. subfasciatus* é o principal predador dessas sementes durante o armazenamento (ALVES, 2019), sendo dessa forma de extrema importância a identificação de genótipos resistentes à infestação pelo inseto *Z. subfasciatus*. Nossos resultados sobre a avaliação da performance dos insetos infestando as sementes naturais de genótipos de *P. vulgaris*, mostraram alguns genótipos como apresentando considerável resistência à infestação, com reduções significativas no número de ovos, eclosão larval e emergência de insetos adultos. Dado o pouco número de ovos não foi possível acompanhar o desenvolvimento larval, sendo observado como efeito final a emergência de adultos. O inseto *Z. subfasciatus* normalmente possui um ciclo de vida de cerca de 25 DAO, os insetos adultos vivem cerca de 7 dias após a emergência e em temperatura ideal, em torno de 32°C, a fêmea é capaz de colocar em torno de 36 ovos durante a vida do adulto (ALVES, 2019; CABI, 2019; SCHOONHOVEN; CARDONA; VALOR, 1983). Em nossos experimentos de oviposição, as fêmeas ficaram em contato com as sementes por 24 horas, sendo colocadas 1 fêmea para cada semente. O número de ovos ovipositados foi então considerado muito baixo, variando de 1 a 7 no máximo. Observando a eclosão larval destaca-se o genótipo L-3 por inibir 100% a eclosão, seguido dos genótipos L-4, L-16 e L-29 onde a eclosão foi inferior a 30% dos ovos postos. Avaliando o grupo de genótipos no parâmetro emergência de adultos podemos destacar L-21 e L-31 onde mais de 40% das larvas haviam eclodido e nenhum inseto adulto emergiu, e os genótipos L-13, L-27 e L-32 onde menos de 20% dos insetos adultos emergiram. Visto que no genótipo L-3 não houve eclosão larval, ou seja o desenvolvimento do inseto foi bloqueado antes da penetração, podemos supor algum efeito tóxico relacionado ao tegumento. Vários estudos desenvolvidos pelo nosso grupo vêm mostrando efeito tóxico de tegumentos de sementes sobre o desenvolvimento de bruquídeos (DE SÁ et al., 2014, 2018; SILVA et al., 2016, 2018; SOUZA et al., 2011). Estudos mostraram também que tegumentos escuros são preteridos por fêmeas de bruquídeos para a oviposição, o que pode estar relacionado com a presença de compostos fenólicos (ANTUNES et al., 1995; MESQUITA et al., 2016). Outra possibilidade para a baixa oviposição é a falta de estímulo da fêmea para ovipositar nas

sementes artificiais, visto que já mostrado por TEIXEIRA et al., (2009) que as fêmeas de *Z. subfasciatus* regulam a oviposição e se adaptam de acordo com o substardo e que é necessário um estímulo ambiental, ainda desconhecido.

Já com as sementes L-21 e L-31, parte das larvas eclodiram mas os insetos não emergiram. Nesse caso acredita-se que a toxicidade esteja presente nos cotilédones, visto que é o tecido que a larva se alimenta durante o desenvolvimento. Outras teorias para o pouco desenvolvimento de insetos em uma semente é a relação adaptativa, onde um grande número de larvas gera um nível de competição maior e reflete no número de insetos adultos que emergem TEIXEIRA et al., (2009). Entretanto, essa possibilidade não se justifica para os nossos resultados, visto que o número de ovos e larvas foram baixos nos nossos genótipos.

Quando avaliamos a taxa germinativa, observamos uma variação enorme nos dados, dificultando a interpretação. Para alguns genótipos foi observada uma redução da germinação em sementes infestadas pelo inseto. Entretanto quando avaliamos o desempenho individual de cada semente vimos muita irregularidade no crescimento dos eixos embrionários, dificultando as conclusões. Muitos fatores podem interferir no vigor germinativo das sementes, sendo a infestação apenas um deles. Além dos insetos que causam uma redução total ou parcial do potencial germinativo, uma vez que consomem parte do estoque nutritivo ou até parte do embrião (ORIANI; LARA; BOIÇA JR, 1996; PEREIRA et al., 1995), temos os problemas em relação ao armazenamento do grão. Dados apontados pela CONAB, (2010), indicam a estocagem de grãos de feijão inadequada como um problema que interfere na produtividade destes, que seriam utilizados posteriormente pelos produtores em futuras plantações. Alguns estudos mostram esse fenômeno com outros grãos também submetidos ao armazenamento inadequado, como a soja. Segundo SMANIOTTO et al., (2014), após avaliações do teor de água nas sementes de soja, com a temperatura controlada em 20°C e 27°C, foi possível notar que para o teor de água inicial de 12% observou-se uma pequena redução da germinação. Quando o teor de água inicial foi de 14%, isso acarretou em uma queda significativa na germinação durante os 180 dias de estocagem a 27°C. Já em temperatura de 20°C verificou-se uma influência do teor de água na germinação, todavia de maneira mais sutil do que as do ensaio de temperatura maior (SMANIOTTO et al., 2014). Sendo

assim, a umidade de armazenamento e a temperatura influenciam de forma direta na qualidade da semente e no poder germinativo (FREITAS, 2018; PASCUALI, 2012). O desempenho irregular das nossas sementes no quesito germinação pode ser explicado por meio da qualidade das sementes, uma vez que algumas das sementes usadas nesse estudo se encontravam com o tegumento rompido e o interior de algumas com fungo. De acordo com os estudos de PASCUALI, (2012) e SMANIOTTO et al., (2014), esses fatores interferem na germinação das sementes.

Avaliando a toxicidade do tegumento de L-3 podemos notar uma variação não só no tamanho mas no desenvolvimento larval, mostrando um claro atraso na formação do inseto que com 20 dias já deveria estar como pupa (MAZZONETTO; VENDRAMIM, 2002; PADGHAM et al., 1992) e se encontraram como larva nas sementes contendo tegumentos de L-3. No nosso grupo de pesquisa já existem testes avaliando toxicidade de tegumentos através da performance dos insetos por meio de etapas do ciclo de vida deles, como oviposição, eclosão larval e emergência de adultos. SOUZA et al., (2011), avaliaram a influência do tegumento natural de vários tipos de sementes (hospedeiras ou não de *Callosobruchus maculatus*, cultivadas ou selvagens) sobre a performance do inseto, e mostraram que *P. vulgaris* chegou a reduzir 80% da oviposição, 70% da eclosão e 90% da emergência de adultos. Quando foi realizada uma avaliação com semente artificial revestida com o tegumento das sementes naturais de *P. vulgaris* foi observada uma redução de 60% da oviposição e eclosão larval e 40% da emergência de adultos, mostrando assim, que o tegumento da semente comporta-se como uma barreira tóxica para a larva, sendo a primeira parte da semente a entrar em contato com o inseto (SOUZA et al., 2011).

Em 2014, De Sá e colaboradores avaliaram o efeito de *P. vulgaris* sobre o desenvolvimento larval de *C. maculatus* e observaram uma redução de 48% na oviposição, 83% de aumento no tempo de penetração da larva e 62% de redução na massa das larvas. Além disso, avaliações na digestão larval apresentaram uma redução nas atividades das proteases cisteínicas,  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidade. Esses resultados confirmaram que por ser a primeira barreira encontrada pelos insetos, o tegumento quando se apresentar tóxico para as larvas, pode impedir a continuidade do ciclo de vida do inseto.

Em estudos com cultivares silvestres de *P. vulgaris* considerados resistentes à infestação de *Z. subfasciatus*, foi avaliada a toxicidade da semente para o inseto e os resultados apontam uma relação da toxicidade com a presença de proteínas como arcelinas e lectinas, sendo essas descritas como indigeríveis pelas larvas, conseqüentemente interferindo no seu desenvolvimento (GOOSSENS et al., 2000; MINNEY et al., 1990; PAES et al., 2000).

Investigar e encontrar cultivares que se mostrem resistentes ao ataque dos insetos-praga e, mais ainda, identificar moléculas tóxicas aos mesmos é algo de grande importância para programas de melhoramento genético de plantas, que visam a inserção destes no campo, afim de se minimizarem os problemas enfrentados pelos agricultores atualmente (LARA, 1997; RYAN, 1990; STOTZ; THOMSON; WANG, 2009; ZAUGG et al., 2013). Assim, no intuito de tentarmos identificar proteínas que possam estar relacionadas à toxicidade do genótipo L-3 para *Z. subfasciatus*, foi realizado um estudo de proteômica comparativa entre L-3 e L-8 (que não apresentou efeito tóxico para o inseto). Um total de 613 proteínas foram identificadas sendo 455 presentes em ambos os genótipos e expressas em níveis similares. Dentre essas destacam-se clássicas proteínas de sementes de *Phaseolus*, como as proteínas de reserva do tipo faseolinas. Essas proteínas também foram encontradas em genótipos modificados geneticamente fornecidos pela EMBRAPA, descritos por ROSSI et al., (2017). Um total de 86 proteínas estavam diminuídas no genótipo L-3 e 53 estavam aumentadas. Outras 7 proteínas foram encontradas somente no genótipo L-3 e 12 proteínas únicas no genótipo L-8. Como o genótipo L-3 foi o que se mostrou tóxico, fizemos um detalhamento das proteínas que estão aumentadas ou foram identificadas unicamente em L-3. Dentre as proteínas com níveis aumentados em L-3, observamos algumas relacionadas à defesa como uma proteína contendo o domínio lectina\_legB (V7C787), um inibidor de tripsina/quimotripsina (B3W6M4), uma proteína contendo o domínio peptidase A1 (V7BPV5), uma proteína contendo o domínio Knot1 (V7BTW4) e duas proteínas contendo o domínio cupin (V7CFI9 e V7BEF1).

A proteína contendo o domínio lectin\_legB é uma proteína da família das lectinas, proteínas capazes de se ligarem a moléculas de açúcar e que são encontradas abundantemente nas sementes, onde chegam a constituir até 10% do total de proteínas dos cotilédones (ROOPASHREE et al., 2006). Embora as

lectinas possam ter diferentes funções, dependendo da sua localização intra ou extracelular, sabe-se que essas proteínas participam dos mecanismos de defesa contra patógenos e pragas, como os bruchídeos. Estudos prévios relataram que o acúmulo de lectinas nas sementes pode estar associada com proteção contra *Z. subfasciatus* e *C. maculatus* (ISHIMOTO et al., 1996; LIOI et al., 2003). O mecanismo de ação das lectinas está associado à ligação a glicoproteínas no intestino do inseto, impossibilitando processos como digestão e absorção de nutrientes. Em *P. vulgaris* as lectinas mais predominantes são as PHA (Phytohemagglutinin). Estudo de EKOWATI et al., (2017) demonstraram a ação da lectina PHA contra *Drosophila melanogaster* e contra infecção viral, reforçando a função das lectinas na proteção. Algumas lectinas também podem apresentar atividade LOX (lipoxigenase), sendo associadas com múltiplas atividades catalíticas, contribuindo para o crescimento da planta e desenvolvimento, maturação, senescência, além de disparar resposta metabólica ao ataque do patógeno (SHARON; LIS, 1990). No nosso estudo também foram detectadas lipoxigenases, porém todas se encontravam com expressão similar entre os genótipos L3 e L8 de *P. vulgaris*.

Assim como as lectinas, os inibidores de tripsina também estão relacionados à defesa da planta a estresses bióticos e abióticos (MOJICA; MEJÍA, 2015). Inibidores de tripsina também são proteínas de defesa que se encontraram aumentadas no genótipo L-3. Os inibidores de proteases são fatores antinutricionais com reconhecida ação tóxica contra pragas e patógenos, com mecanismo de toxicidade relacionado à inibição de proteases fundamentais a processos fisiológicos dos agressores. Trabalhos mostraram que a ação de inibidores de proteases na inibição de proteases digestivas interfere na digestão de proteínas, consequentemente causando menores níveis de absorção e utilização biológica dos nutrientes da semente por praga e patógeno (JOURDAN; NOREA; BRANDELLI, 2007). Dentre os inibidores de tripsina, a família Kunitz é uma das mais estudadas com relação à proteção de plantas contra insetos. Um estudo de BHATTACHARYYA; RAI; BABU, (2007) com sementes de *Caesalpinia bonduc* encontrou um inibidor de tripsina da família Kunitz, com efeitos inibitórios sobre proteases do intestino de insetos herbívoros.

Proteínas com o domínio Knot1 também se mostraram aumentadas no genótipo L-3. O domínio Knot1 é um domínio presente em uma ampla gama de

proteínas, como lectinas de plantas, peptídeos anti-microbianos, inibidores de proteases e amilases, gama tioninas e defensinas. Essas proteínas possuem múltiplas funções que incluem inibidores, citotoxinas e antivirais (GRACY et al., 2008). Esse domínio é rico em cisteínas e três pontes dissulfeto que se interconectam fornecendo uma alta estabilidade para a proteína, sendo resistentes a variações de temperaturas, pH e a presença de produtos químicos (HERZIG; KING, 2015).

Proteínas com o domínio cupin também se encontraram aumentadas no genótipo L-3. A superfamília das proteínas cupin incluem proteínas que possuem diversas funções e evoluíram de bactérias e arqueobactérias para eucariotos, compreendendo os animais e as plantas superiores. A sua principal característica estrutural se dá pela conservação da estrutura  $\beta$ -barril, uma estrutura composta por dois *motifs* que são representados por duas folhas beta separadas por uma região que varia de tamanho e que é composta por outras duas folhas beta (DUNWELL, 1998; DUNWELL; GANE, 1998; DUNWELL; KHURI; GANE, 2000; DUNWELL; PURVIS; KHURI, 2004). O domínio cupin foi identificado primeiramente em proteínas germinas em plantas e também em proteínas germin-like (DUNWELL, 1998). Essa superfamília pode ser encontrada em microrganismos termófilos, pequenas enzimas, até em proteínas de plantas que apresentam valor medicinal e também em proteínas de armazenamento de sementes, como algumas vicilinas (DUNWELL; KHURI; GANE, 2000). Dentre as plantas superiores muitas das proteínas de reserva são pertencentes a essa super família (BÄUMLEIN et al., 1995), como S64/SBP, faseolinas (vicilina de *Phaseolus*),  $\beta$ -conglucinas (vicilinas de soja) e canavalinas (vicilinas de *Canavalia*). Proteínas com domínio cupin podem ser encontradas em uma vasta quantidade de tipos celulares e desempenham uma variedade de funções, incluindo reserva de energia e nutrientes, atividades enzimáticas, síntese da parede celular, resposta ao estresse em eucariotos, tolerância à dessecação nas plantas superiores (BÄUMLEIN et al., 1995). Entre as atividades enzimáticas dessa superfamília estão as isomerases, decarboxilases, dioxigenases, hidrolases e epimerases (DUNWELL; KHURI; GANE, 2000; DUNWELL; PURVIS; KHURI, 2004). Diversas dessas proteínas são apoplásticas e podem estar associadas com respostas a diversos estresses, sejam eles bióticos ou abióticos, sendo essas proteínas de interesse primário em estudos de plantas,



visando assim a melhoria das culturas em condições limitantes (LAWRENCE et al., 1994).

Uma proteína contendo o domínio peptidase A1 também foi encontrada com níveis elevados de expressão em L-3. As peptidases são enzimas proteolíticas que catalisam a hidrólise das ligações peptídicas geralmente nas extremidades, sendo então classificadas como amino peptidases ou carboxipeptidases de acordo com a posição da ligação peptídica a ser clivada (BARRETT; RAWLINGS, 2007; BARRETT, 1994; RAWLINGS; TOLLE; BARRETT, 2004). Um grande número de peptidases são descritas como envolvidas em diversos processos fisiológicos e bioquímicos (BARRETT; RAWLINGS, 2007), sendo encontradas em microrganismos, plantas e animais (DINIS; MARTIN, 1999). Além da inativação de proteínas, essas peptidases podem estar associadas à propagação de sinal, reutilização e reciclagem de aminoácidos e modificação do conteúdo proteico. Um descontrole dessas funções pode acarretar no rompimento dos compartimentos celulares. Estudos prévios com *P. vulgaris* e *V. unguiculata* já demonstraram que alterações nas atividades proteolíticas podem acarretar na sensibilidade ao estresse hídrico (HIENG et al., 2004). Proteases, como peptidases, estão relacionadas com os mecanismos de interação entre insetos/patógenos e plantas, participando da hidrólise da parede celular de plantas hospedeiras, facilitando a penetração e infecção (MOSOLOV; VALUEVA, 2008). Alguns estudos também mostram atividades de proteases relacionadas à defesa de plantas (HARRISON; BONNING, 2010; PECHAN et al., 2000) e seus principais alvos nos insetos são tecidos do intestino como a matriz peritrófica e cutícula (MOHAN et al., 2006, 2008). Genótipos de milho quando atacados por larvas dos lepidópteros *Diatraea grandiosella* e *Spodoptera frugiperda* acumularam uma protease cisteínica, denominada Mir1-CP (PECHAN et al., 2000) e o mecanismo de ação foi relacionado a danos causados na matriz peritrófica dos insetos (MOHAN et al., 2006; PECHAN et al., 2000). Mir1-CP também foi tóxica para outros lepidópteros como *Helicoverpa zea* e *Heliothis virescens* (MOHAN et al., 2008). Papaína (uma protease cisteínica do látex de *Carica papaya*) também foi tóxica para os insetos *Samia ricini*, *Mamestra brassicae* e *Spodoptera litura* (KONNO et al., 2004). SILVA et al., (2016) isolaram do tegumento de *Albizia lebeck* uma protease cisteínica com afinidade à quitina e que foi tóxica para larvas de *C. maculatus*. Essa protease se ligou no intestino

das larvas, indicando ser a associação com a matriz peritrófica o mecanismo de toxicidade. Dentre as proteínas encontradas unicamente no genótipo L-3 destaca-se a proteína contendo o domínio lectina\_legB (V7BC16) como uma proteína relacionada à defesa. Nossos dados sugerem que essas proteínas com expressão aumentada e/ou única em L-3 podem estar relacionadas à resistência que esse genótipo apresenta contra a infestação de *Z. subfasciatus*.

Os resultados obtidos nesse projeto apontam para alguns genótipos que apresentam um grau de resistência para a infestação de seus insetos-praga. Ressaltamos que a identificação de genótipos dos feijões *Vigna unguiculata* e *P. vulgaris* mais resistentes ou menos susceptíveis à infestação é de grande relevância para melhorar a produção, aumentando a eficiência, rentabilidade e sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

## 6. CONCLUSÃO

Dentre os genótipos de *V. unguiculata* estudados, o genótipo PO 1-5-4 reduziu aproximadamente 60% da sobrevivência larval e o genótipo MNC06-909-76 reduziu mais de 40% a emergência de insetos adultos de *C. maculatus*.

A massa das sementes de *V. unguiculata* consumida pelas larvas de *C. maculatus* durante a infestação variou entre 40 e 70% e nenhuma das sementes germinou após a infestação.

As proteínas majoritárias dos cotilédones dos genótipos de *V. unguiculata* P.O 1-5-4 e MNC06-909-76 foram identificadas como vicilinas, glicininas, e uma proteína LEA CPRD22;

Proteínas com afinidade à quitina isoladas de genótipos de *V. unguiculata* foram tóxicas para as larvas de *C. maculatus* em concentração de 1%;

Análises *in silico* mostraram que a vicilina do genótipo P.O 1-5-4 interage com quitina por ligações de hidrogênio, pontes salinas e interações hidrofóbicas;

Na proteômica comparativa dos genótipos P.O 1-5-4 e PO 1-5-7 foram identificadas 267 proteínas, sendo 259 presente na mesma intensidade em ambos os genótipos, 8 foram diferentemente expressas, sendo 1 aumentada em P.O 1-5-4 e outras 7 diminuídas;

Genótipos de *P. vulgaris* foram capazes de interferir na oviposição, eclosão larval e emergência de adultos de *Z. subfasciatus*;

A infestação por *Z. subfasciatus* interferiu na germinação de alguns genótipos de *P. vulgaris*, interferindo na morfologia e comprimento dos eixos embrionários.

O tegumento do genótipo de *P. vulgaris* L-3 interferiu no desenvolvimento larval de *Z. subfasciatus*;

Na proteômica comparativa dos genótipos L-3 e L-8 foram identificadas 613 proteínas, sendo 455 presentes em ambos os genótipos em níveis similares. Um total de 86 proteínas estavam diminuídas e 53 aumentadas no genótipo L-3. Outras 7 proteínas foram encontradas somente no genótipo L-3 e 12 únicas no genótipo L-8.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-GALLEGOS, J. . et al. Seed yield of dry bean cultivars under drought stress. **Annual Report - National Agricultural Library Digital Collections**, n. 10, p. 151–152, 1998.
- AGRAWAL, A. A. Specificity of induced resistance in wild radish: Causes and consequences for two specialist and two generalist caterpillars. **Oikos**, v. 89, n. 3, p. 493–500, 2000.
- ALVES, G. **Zabrotes subfasciatus**. Disponível em: <<http://www.defesavegetal.net/zabrsu>>.
- ANTUNES, P. L. et al. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares rico 23, carioca, pirata-1 e rosinha-G2. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 1, p. 12–18, 1995.
- APPLEBY, A. J. H.; CREDLAND, P. F. Variation in Responses to Susceptible and Resistant Cowpeas Among West African Populations of *C. allosobruchus maculatus* ( Coleoptera : Bruchidae ) Variation in Responses to Susceptible and Resistant Cowpeas Among West African Populations of *C. allosobruchu*. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 2, p. 489–502, 2003.
- BALDIN, E. L. L.; PEREIRA, J. M. Resistência de genótipos de feijoeiro a *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: bruchidae). **Ciência Agrônômica**, v. 34, n. 6, p. 1507–1513, 2010.
- BARBOSA, F. R. et al. Stability of the resistance to *Zabrotes subfasciatus* conferred by protein arcelin in common beans plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 895–900, 2000.
- BARRETT, A. J.; RAWLINGS, N. D. “Species” of peptidases. **Biological Chemistry**, v. 388, n. 11, p. 1151–1157, 2007.
- BARRETT, S. Self-Enforcing International Environmental Agreements. **Oxford Economic Papers**, v. 46, p. 878–894, 1994.
- BÄUMLEIN, I. et al. Seed storage proteins of spermatophytes share a conlmon ancestor with desiccation proteins of fungi. **Journal of Molecular Evolution**, v. 41, p. 1070–1075, 1995.
- BECK, C. W.; BLUMER, L. S. A Handbook on Bean Beetles, *Callosobruchus maculatus*. **National Science Foundation**, p. 1–17, 2014.
- BHATTACHARYYA, A.; RAI, S.; BABU, C. R. A trypsin and chymotrypsin inhibitor from *Caesalpinia bonduc* seeds: Isolation , partial characterization and insecticidal properties. v. 45, p. 169–177, 2007.
- BITOCCHI, E. et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 14, p. E788–E796, 2012.
- BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. In: BELHASSEN, E. (Ed.). **Drought Tolerance in Higher Plants: Genetical, Physiological and Molecular Biological Analysis**. [s.l.: s.n.]. p. 51–70.
- BRIDGE, P. D.; SAWILOWSKY, S. S. Increasing physicians’ awareness of the impact of statistics on research outcomes: Comparative power of the t-test and Wilcoxon Rank-Sum test in small samples applied research. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 52, n. 3, p. 229–235, 1999.
- BRÜCHER, H. The Wild Ancestor of *Phaseolus Vulgaris* in South America. In: **Genetic Resources of Phaseolus Beans. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture**. [s.l.] Springer, Dordrecht, 1998.
- BURRIEZA, H. P. et al. Shotgun proteomic analysis of quinoa seeds reveals novel lysine-rich seed storage globulins. **Food Chemistry**, v. 293, p. 299–306, 2019.
- CABI. **Zabrotes subfasciatus: (Mexican bean weevil). Invasive Species Compendium**. Disponível em:

- <<https://www.cabi.org/isc/datasheet/57289#todistributionTable%3E>>.
- CARDONA, C. et al. Antibiosis effects of wild dry bean accessions on the Mexican bean weevil (Coleoptera, Bruchidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 82, n. 1, p. 310–315, 1989.
- CARLINI, C. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. **Toxicon**, v. 40, n. 11, p. 1515–1539, 2002.
- CARVALHO, R. O.; LIMA, A. C. S.; ALVES, J. M. A. Resistência de genótipos de feijão-caupi ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Agro@Mambiente on-Line**, v. 5, n. 1, p. 50–56, 2011.
- CASWELL, G. ; AKIBU, S. The use of pirimiphos-methyl to control bruchids attacking selected varieties of stored cowpea. **Tropical Grain Legume Bulletin**, p. 9–11, 1980.
- COELHO, M. B. et al. Purification of Legumin-Like Proteins from *Coffea arabica* and *Coffea racemosa* Seeds and Their Insecticidal Properties toward Cowpea Weevil (*Callosobruchus maculatus*) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 3050–3055, 2010.
- CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2009/2010 - Décimo Levantamento**.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2011/2012 - Décimo Levantamento. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2012.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos safra 2018/2019, décimo primeiro levantamento. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2019.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2020/2021. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2021.
- CRAWLEY, M. Seed predators and plant population dynamics. In: **Seed: the ecology of regeneration in plant communities**. [s.l.] CAB International, 2000. p. 167–181.
- CREDLAND, P. . Effects of host change on the fecundity and development of an unusual strain of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 23, p. 91–98, 1987.
- CRUZ, L. P. et al. Evaluation of resistance in different cowpea cultivars to *Callosobruchus maculatus* infestation. **Journal of Pest Science**, v. 89, p. 117–128, 2016.
- DAOUST, R. ; ROBERTS, D. ; DAS NEVES, B. . Distribution, biology and control of cowpea pests in Latin America. In: **S.R. Singh and K.O. 73 Rachie, Cowpea Research, Production and Utilization**. [s.l.: s.n.]. p. 249–264.
- DE SÁ, L. F. R. et al. Effects of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) seed coat on the embryonic and larval development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 60, n. 1, p. 50–57, 2014.
- DE SÁ, L. F. R. et al. Toxic effect of *Canavalia ensiformis* seed coat on larval development of *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 313–326, 2018.
- DEBOUCK, D. . Diversity in *Phaseolus* species in relation to the common bean. In: **Common bean improvement in the twenty-first century**. [s.l.: s.n.]. p. 25–52.
- DENDY, J.; CREDLAND, P. F. Development, fecundity and egg dispersion of *Zabrotes subfasciatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 59, p. 9–17, 1991.
- DICK, K.; CREDLAND, P. F. Changes in the response of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) to a resistant variety of cowpea. **Journal of Stored Products Research**, v. 22, p. 221–233, 1986.
- DINIS, F. ; MARTIN, A. . Hidrolisado proteico do pescado. **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 79–89, 1999.
- DISTLER, U. et al. Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. **Nature Methods**, v. 11, n. 2, p. 167–170, 2014.
- DISTLER, U. et al. Label-free quantification in ion mobility-enhanced data-independent acquisition proteomics. **Nature Protocols**, v. 11, n. 4, p. 795–812, 2016.

- DUNWELL, J. M. Cupins: A New Superfamily of Functionally Diverse Proteins that Include Germins and Plant Storage Proteins. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 15, n. 1, p. 1–32, 1998.
- DUNWELL, J. M.; GANE, P. J. Microbial relatives of seed storage proteins: Conservation of motifs in a functionally diverse superfamily of enzymes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 46, n. 2, p. 147–154, 1998.
- DUNWELL, J. M.; KHURI, S.; GANE, P. J. Microbial Relatives of the Seed Storage Proteins of Higher Plants: Conservation of Structure and Diversification of Function during Evolution of the Cupin Superfamily. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 1, p. 153–179, 2000.
- DUNWELL, J. M.; PURVIS, A.; KHURI, S. Cupins: The most functionally diverse protein superfamily? **Phytochemistry**, v. 65, n. 1, p. 7–17, 2004.
- DURE, L.; GREENWAY, S. C.; GALAU, G. A. Developmental Biochemistry of Cottonseed Embryogenesis and Germination: Changing Messenger Ribonucleic Acid Populations As Shown by in Vitro and in Vivo Protein Synthesis. **Biochemistry**, v. 20, n. 14, p. 4162–4168, 1981.
- EICHER, N. ; SATTERLEE, L. . Nutritional Quality of Great Northern Bean Proteins Processed at Varying pH. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 4, p. 1139–1143, 1988.
- EKOWATI, H. et al. Protective effects of *Phaseolus vulgaris* lectin against viral infection in *Drosophila* . **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 11, n. 6, p. 329–335, 2017.
- FAO. **Crops. Cowpeas dry.** Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/desktopdefault.aspx?Pageid=567+ancor.>>.
- FERREIRA, S. R. et al. The resistance of the cowpea cv. BRS Xiquexique to infestation by cowpea weevil is related to the presence of toxic chitin-binding proteins. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 179, p. 104782, 2021.
- FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura.** [s.l.] EMBRAPA, 2020.
- FREIRE-FILHO, R. F. et al. **Feijão-Caupi no Brasil.** [s.l: s.n.].
- FREITAS, M. **A Influência do Armazenamento de Sementes na Qualidade de Plantio.** Disponível em: <<https://www.pioneersementes.com.br/blog/59/a-influencia-do-armazenamento-de-sementes-na-qualidade-de-plantio.>>.
- GALLO, D. et al. **Manual de Entomologia Agrícola.** [s.l.] FEALQ, 2002.
- GATEHOUSE, A. M. R. et al. Biochemical basis of insect resistance in *Vigna unguiculata*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 30, n. 10, p. 948–958, 1979.
- GOOSSENS, A. et al. Analysis of bruchid resistance in the wild common bean accession G02771: No evidence for insecticidal of arcelin 5. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 1229–1236, 2000.
- GRACY, J. et al. KNOTTIN: The knottin or inhibitor cystine knot scaffold in 2007. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. SUPPL. 1, p. 314–319, 2008.
- GRAHAM, P. ; RANALLI, P. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, v. 53, p. 131–146, 1997.
- HAINES, C. P. **Insects and arachnids of tropical stored products: Their biology and identification.** 2° edition ed. [s.l.] Chatham, Natural resources Institute, 1991.
- HALL, L.; TOPINKA, K.; GOOD, A. **Environmental impact of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*) in Canada.** Edmonton: University of Alberta, Alberta Agriculture Food and Rural Development, 2002.
- HARE, J. . Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 56, p. 161–180, 2011.
- HARMSSEN, R. et al. Transferring genes for arcelin protein from wild to cultivated beans: implications for bruchid resistance. **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, v. 31, p. 54–55, 1988.
- HARRISON, R. L.; BONNING, B. C. Proteases as insecticidal agents. **Toxins**, v. 2, p. 935–953, 2010.

- HERNANDEZ-VALLADARES, M. et al. Reliable FASP-based procedures for optimal quantitative proteomic and phosphoproteomic analysis on samples from acute myeloid leukemia patients. **Biological Procedures Online**, v. 18, n. 1, p. 1–10, 2016.
- HERZIG, V.; KING, G. F. The cystine knot is responsible for the exceptional stability of the insecticidal spider toxin  $\omega$ -Hexatoxin-Hv1a. **Toxins**, v. 7, n. 10, p. 4366–4380, 2015.
- HIENG, B. et al. Different classes of proteases are involved in the response to drought of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars differing in sensitivity. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 5, p. 519–530, 2004.
- HOHMANN, C. L.; CARVALHO, S. M. Pragmas e seu controle. In: **O feijão no Paraná**. [s.l.] Fundação Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, 1989. p. 303.
- HONG-BO, S.; ZONG-SUO, L.; MING-AN, S. LEA proteins in higher plants: Structure, function, gene expression and regulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 45, p. 131–135, 2005.
- HOWE, G. A.; JANDER, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 41–66, 2008.
- HOWE, R. W.; CURRIE, J. E. Some laboratory observations on the rates of development, mortality and oviposition of several species of Bruchidae breeding in stored pulses. **Bulletin of Entomological Research**, v. 55, n. 3, p. 437–477, 1964.
- HUNGRIA, M. et al. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 1515–1528, 2000.
- ISHIMOTO, M. et al. Bruchid resistance of transgenic azuki bean expressing seed  $\alpha$ -amylase inhibitor in common bean. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 79, p. 309–315, 1996.
- JACKAI, L. E. N.; ASANTE, S. K. A case for the standardization of protocols used in screening cowpea, *Vigna unguiculata* for resistance to *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 3, p. 251–263, 2003.
- JANZEN, D. . How southern cowpea weevil larvae (*Callosobruchus maculatus*) die on non-host seeds. **Ecology**, v. 58, p. 921–927, 1977.
- JOURDAN, G. A.; NOREA, C. P. Z.; BRANDELLI, A. Inactivation of trypsin inhibitor activity from Brazilian varieties of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology International**, v. 13, n. 3, p. 195–198, 2007.
- KOLAWOLE, G. O.; TIAN, G.; SINGH, B. B. Differential response of cowpea lines to aluminum and phosphorus application. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 731–740, 2000.
- KONNO, K. et al. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: Role of cysteine proteases in latex. **The Plant Journal**, v. 37, n. 3, p. 370–378, 2004.
- KORNEGAY, J.; CARDONA, C.; POSSO, C. E. Inheritance of Resistance to Mexican Bean Weevil in Common Bean, Determined by Bioassay and Biochemical Tests. **Crop Science**, v. 33, p. 589–594, 1993.
- KUSOLWA, P. M. et al. Registration of AO-1012-29-3-3A Red Kidney Bean Germplasm Line with Bean Weevil, BCMV, and BCMNV Resistance. **Journal of Plant Registrations**, v. 10, n. 2, p. 149–153, 2016.
- LAEMMLI, U. . Cleavage of Structural Proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970.
- LALE, N. E. S.; EFEOVBOKHAN, S. O. Resistance status of new cowpea cultivars to a storage insect pest , *Callosobruchus maculatus*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 1, p. 181–186, 1991.
- LARA, F. M. Resistance of wild and near isogenic bean lines with arcelin variants to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman): I - Winter crop. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 3, p. 551–560, 1997.
- LASKOWSKI, R. A.; SWINDELLS, M. B. LigPlot+: Multiple ligand-protein interaction

- diagrams for drug discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 10, p. 2778–2786, 2011.
- LEWIS, V. . Alternative control strategies for termites. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, v. 14, p. 291–307, 1997.
- LIQI, L. et al. Lectin-related resistance factors against bruchids evolved through a number of duplication events. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 107, n. 5, p. 814–822, 2003.
- LIPECKA, J. et al. Sensitivity of mass spectrometry analysis depends on the shape of the filtration unit used for filter aided sample preparation (FASP). **Proteomics**, p. 1–13, 2016.
- LIU, Y. et al. ZmLEA3, a multifunctional group 3 LEA protein from maize (*Zea mays* L.), is involved in biotic and abiotic stresses. **Plant and Cell Physiology**, v. 54, n. 6, p. 944–959, 2013.
- LOPES, L. M. et al. Population development of *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in landrace bean varieties occurring in southwestern Amazonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 1, p. 467–471, 2016.
- LORINI, I. **Pragas de grãos de cereais armazenados**. [s.l.] Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999.
- LORINI, I. et al. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. 1ª Edição ed. Brasília: EMBRAPA, 2015.
- MACEDO, M. L. et al. Purification and properties of storage proteins (vicilins) from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds which are susceptible or resistant to the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 28, n. 2, p. 183–190, 1995.
- MACEDO, M. L. R. et al. Vicilin variants and the resistance of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Comparative**, v. 105C, n. 1, p. 89–94, 1993.
- MANARINI, T. **Compare: feijão-preto e feijão-carioca**. Disponível em: <<https://saude.abril.com.br/alimentacao/compare-feijao-preto-e-feijao-carioca/>>.
- MAPA, M. DA A. P. E A. **Projeções do Agronegócio 2018/2019 a 2028/2029**. [s.l.: s.n.].
- MARSARO JÚNIOR, A. .; VILARINHO, A. . Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em condições de armazenamento. **Revista Acadêmica: Ciência Agrária Ambiental**, v. 9, n. 1, p. 51–55, 2011.
- MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Aspectos biológicos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em genótipos de feijoeiro com e sem arcelina. **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 435–439, 2002.
- MESQUITA, F. R. et al. Thesis Abstract - Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines: Chemical composition and protein digestibility. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 2, p. 1–2, 2016.
- MINNEY, B. H. P. et al. A. Biochemical bases of seed resistance to *Zabrotes subfasciatus* (Bean weevil) in *Phaseolus vulgaris* (common bean); a mechanism for arcelin toxicity. **Insect Physiology**, v. 36, n. 10, p. 757–767, 1990.
- MIRANDA, M. R. A. et al. Chemical Modifications of Vicilins Interfere with Chitin-Binding Affinity and Toxicity to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) Insect: A Combined in Vitro and in Silico Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 20, p. 5596–5605, 2020.
- MOHAN, S. et al. Degradation of the *S. frugiperda* peritrophic matrix by an inducible maize cysteine protease. **Journal of Insect Physiology**, v. 52, p. 21–28, 2006.
- MOHAN, S. et al. A naturally occurring plant cysteine protease possesses remarkable toxicity against insect pests and synergizes *Bacillus thuringiensis* toxin. **PLoS ONE**, v. 3, n. 3, p. 1–7, 2008.
- MOJICA, L.; MEJÍA, E. G. DE. Characterization and Comparison of Protein and Peptide Profiles and their Biological Activities of Improved Common Bean Cultivars (



- Phaseolus vulgaris L.) from Mexico and Brazil. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 70, p. 105–112, 2015.
- MORAES, C. P. B. DE et al. Determinação dos tipos de resistência em genótipos de feijoeiro ao ataque de Zabrotes subfasciatus ( Coleoptera : Bruchidae ) 1. **Revista Ceres de Viçosa**, v. 58, n. 4, p. 419–424, 2011.
- MORAES, R. . et al. Lima bean ( Phaseolus lunatus ) seed coat phaseolin is detrimental to the cowpea weevil ( Callosobruchus maculatus ). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 191–198, 2000.
- MORALES, E. A. . “Genepool” e “core collections” como estratégias para a conservação e uso dos recursos genéticos. **SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**. [s.l.: s.n.].
- MOSOLOV, V. V.; VALUEVA, T. A. Proteinase inhibitors in plant biotechnology: A review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 233–240, 2008.
- MOTA, A. C. et al. Cowpea (Vigna unguiculata) vicilins bind to the peritrophic membrane of larval sugarcane stalk borer (Diatraea saccharalis). **Journal of Insect Physiology**, v. 49, n. 9, p. 873–880, 2003.
- NANJO, Y. et al. Mass Spectrometry-Based Analysis of Proteomic Changes in the Root Tips of Flooded Soybean Seedlings. **Journal of Proteome Research**, v. 11, p. 372–385, 2012.
- NOGUEIRA, F. C. S. et al. Proteome analysis of embryogenic cell suspensions of cowpea (Vigna unguiculata). **Plant Cell Reports**, v. 26, n. 8, p. 1333–1343, 2007.
- OLIVEIRA, A. E. . et al. Influence of the soybean seed coat upon seed infestation and development of Callosobruchus maculatus larvae (in press). In: **Soybean and Wheat Crops: Growth, Fertilization, and Yield: Soybean crops: growth, fertilization and yield**. [s.l.] Nova Science Publishers, 2009.
- OLIVEIRA, A. E. A. et al. The toxicity of jack bean [Canavalia ensiformis (L.) DC.] canatoxin to plant pathogenic fungi. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 1, p. 59–62, 1999.
- OLIVEIRA, A. E. A. et al. Isolation and characterization of a galactorhamnan polysaccharide from the seed coat of Canavalia ensiformis that is toxic to the cowpea weevil (Callosobruchus maculatus). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 101, p. 225–231, 2001.
- ORIANI, M. A. G.; LARA, F. M.; BOIÇA JR, A. L. Resistência de genótipos de feijoeiro a Zabrotes subfasciatus (Boh.) (Coleoptera, Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, p. 213–216, 1996.
- OSBORNI, T. C. et al. Insecticidal Activity and Lectin Homology of Arcelin. **Science**, v. 240, p. 207–210, 1988.
- PACHECO, I. .; SARTORI, M. .; TAYLOR, R. W. . Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina, no estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL**, v. 20, p. 144–154, 1990.
- PADGHAM, J. et al. Resistance of a common bean (Phaseolus vulgaris L.) cultivar to post-harvest infestation by Zabrotes subfasciatus (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae). I. Laboratory tests. **Tropical Pest Management**, v. 38, n. 2, p. 167–172, 1992.
- PAES, N. S. et al. The effect of arcelin-1 on the structure of the midgut of bruchid larvae and imunolocalization of the arcelin protein. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, p. 393–402, 2000.
- PAES, E. V. et al. Binding of Vigna unguiculata vicilins to the peritrophic membrane of Tenebrio molitor affects larval development. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 129, n. 1, p. 11–17, 2008.
- PASCUALI, L. C. **Estimativa do potencial de armazenamento de soja, através do vigor das sementes**. [s.l.] Universidade Federal de Pelotas., 2012.
- PECHAN, T. et al. A unique 33-kD cysteine proteinase accumulates in response to larval feeding in maize genotypes resistant to fall armyworm and other Lepidoptera. **Plant Cell**, v. 12, p. 1031–1040, 2000.

- PEDRA, J. H. . et al. Transcriptome analysis of the cowpea weevil bruchid: identification of putative proteinases and  $\alpha$ -amylases associated with food breakdown. **Insect Molecular Biology**, v. 12, n. 4, p. 405–412, 2003.
- PEREIRA, J. The effectiveness of six vegetable oils as protectants of cowpeas and bambara groundnuts against infestation by *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 19, n. 2, p. 57–62, 1983.
- PEREIRA, P. A. A. et al. Controle do caruncho *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera-Bruchidae) pelo uso de proteína da semente em linhagens quase-isôgenicas do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 30, n. 8, p. 1031–1034, 1995.
- PHILLIPS, R. D. et al. Utilization of cowpeas for human food. **Field Crops Research**, v. 82, n. 2–3, p. 193–213, 2003.
- RANI, P. U.; JOYTHSNA, Y. Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense. **Acta Physiology Plant**, v. 32, p. 695–701, 2010.
- RAWLINGS, N. D.; TOLLE, D. P.; BARRETT, A. J. Evolutionary families of peptidase inhibitors. **Biochemical Journal**, v. 378, p. 705–716, 2004.
- RAZMJOU, J.; NASERI, B.; HEMATI, S. A. Comparative performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. **Journal of Pest Science**, p. 1–9, 2013.
- REGO, A. F. M. et al. Efeito da incidência de *Zabrotes subfasciatus* Boheman, 1833 (Coleoptera: Bruchidae) sobre genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Jaboticabal**, v. 15, p. 5369, 1986.
- RIBEIRO-COSTA, C. S.; PEREIRA, P. R. V. D. S.; ZUKOVSKI, L. Desenvolvimento de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae) em genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) cultivados no estado do Paraná e contendo arcelina. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 4, p. 560–564, 2007.
- RILEY, E.; CLARK, S.; SEENO, T. **Catalog of Leaf Beetles of America North of Mexico**. [s.l.] Coleopterists Society., 2003.
- ROMERO ANDREAS, J.; YANDELL, B. S.; BLISS, F. A. L. Inheritance of a novel seed protein of *Phaseolus vulgaris* L. and its effect on seed composition. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 72, p. 123–128, 1986.
- ROOPASHREE, S. et al. Dual-function protein in plant defence: Seed lectin from *Dolichos biflorus* (horse gram) exhibits lipooxygenase activity. **Biochemical Journal**, v. 395, n. 3, p. 629–639, 2006.
- ROSSETTO, C. J. Sugestões para armazenamento de grãos no Brasil. **O Agrônomo, Campinas**, v. 18, p. 3851, 1966.
- ROSSI, G. B. et al. Comparison of Grain Proteome Profiles of Four Brazilian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. **Journal of Agriculcral and Food Chemistry**, v. 65, p. 7588–7597, 2017.
- RYAN, C. . Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 28, p. 425–449, 1990.
- SAKTHIVELKUMAR, S. et al. Analysis on the arcelin expression in bruchid pest resistant wild pulses using real time RT-qPCR. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 52, p. 1195–1200, 2014.
- SALENTIN, S. et al. PLIP: Fully automated protein-ligand interaction profiler. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. W1, p. 1–5, 2015.
- SALES, M.; MACEDO, M.; XAVIER-FILHO, J. Digestibility of cowpea (*Vigna unguiculata*) vicilins by pepsin, papain and bruchid midgut proteinases. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 103, p. 945–950, 1992.
- SALES, M. P. et al. Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structures of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 1, p. 27–34, 2001.
- SALES, M. P. et al. Performance of bean bruchids *Callosobruchus maculatus* and

- Zabrotes subfasciatus (Coleoptera: Bruchidae) reared on resistant (IT81D-1045) and susceptible (Epace 10) Vigna unguiculata seeds: Relationship with trypsin inhibitor and vicilin excretion. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A**, v. 142, n. 4, p. 422–426, 2005.
- SANGINGA, N.; LYASSE, O.; SINGH, B. . Phosphorus use efficiency and nitrogen balance of cowpea breeding lines in a low P soil of the derived savanna zone in West Africa. **Plant Soil**, v. 220, p. 119–128, 2000.
- SANTOS, K. B. et al. Highly Flexible Ligand Docking: Benchmarking of the DockThor Program on the LEADS-PEP Protein-Peptide Data Set. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 2, p. 667–683, 2020.
- SCHOONHOVEN, A. .; CARDONA, C.; VALOR, J. F. Levels of resistance to the Mexican bean weevil, Zabrotes subfasciatus (Boheman) in cultivated and wild beans. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 7, p. 41–45, 1982.
- SCHOONHOVEN, A. .; CARDONA, C.; VALOR, J. F. Resistance to the bean weevil and the Mexican bean weevil (Coleoptera: Bruchidae) in non-cultivated common bean accessions. **Journal of Economic Entomology, Lanham**, v. 76, p. 1255–1259, 1983.
- SCHOONHOVEN, L. M.; JERMY, T.; LOON, J. J. A. VAN. Insect-plant biology: from physiology to evolution. In: CHAPMAN; HALL (Eds.). . [s.l: s.n.].
- SECK, D. Resistance to Callosobruchus maculatus F. (Col., Bruchidae) in some cowpea varieties from Senegal. **Journal of Stored Products Research**, v. 29, p. 49–52, 1993.
- SHARON, N.; LIS, H. Legume lectins - a large family of homologous proteins. **The FASEB Journal**, v. 4, p. 3198–3208, 1990.
- SHEVCHENKO, A. et al. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver-stained polyacrylamide gels. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 5, p. 850–858, 1996.
- SILVA, L. . et al. The seed coat of Phaseolus vulgaris interferes with the development of the cowpea weevil [ Callosobruchus maculatus ( F . ) ( Coleoptera : Bruchidae ) ]. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 76, p. 57–65, 2004.
- SILVA, N. C. M. et al. Albizia lebeck Seed Coat Proteins Bind to Chitin and Act as a Defense against Cowpea Weevil Callosobruchus maculatus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 1–33, 2016.
- SILVA, N. C. M. et al. Soybean seed coat chitinase as a defense protein against the stored product pest Callosobruchus maculatus. **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1449–1456, 2018.
- SINGH, B. Improved breeding lines with resistance to bruchid. **Annual Report - IITA**, v. 11, p. 29–30, 1999.
- SINGH, B. .; SINGH, S. .; ADJADI, O. Bruchid Resistance in Cowpea. **Crop Science**, p. 736–739, 1985.
- SINGH, B. B. et al. Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. **Field Crops Research**, v. 84, n. 1–2, p. 169–177, 2003.
- SINGH, S. R.; VAN EINDEN, H. . Insect pests of grain legumes. **Annual Review Entomology**, v. 24, p. 255–278, 1979.
- SIQUEIRA, H. A. .; GUEDES, R. N. .; PICANÇO, M. . Insecticide resistance in populations of Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae). **Agricultural and Forest Entomology**, v. 2, p. 147–153, 2000.
- SMANIOTTO, T. A. DE S. et al. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 4, p. 446–453, 2014.
- SOTO, J. L. L. et al. Adaptación climática de 25 especies de frijol silvestre (Phaseolus spp) en la república mexicana. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 28, n. 3, p. 221–230, 2005.
- SOUSA, A. . et al. Bioactivity of vegetal powders against Callosobruchus maculatus (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, p. 1519–5228, 2005.

- SOUZA, A. J. et al. Natural seed coats provide protection against penetration by *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Crop Protection**, v. 30, n. 6, p. 651–657, 2011.
- SOUZA, A. J. et al. Identification of *Albizia lebeck* seed coat chitin-binding vicilins (7S globulins) with high toxicity to the larvae of the bruchid *Callosobruchus maculatus*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 2, p. 118–124, 2012.
- STOTZ, H. U.; THOMSON, J. G.; WANG, Y. Plant defensins: defense, development and application. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, p. 1010–1012, 2009.
- SUNDARAM, J. et al. A new variant of antimetabolic protein, arcelin from an Indian bean, *Lablab purpureus* (Linn.) and its effect on the stored product pest, *Callosobruchus maculatus*. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2839–2844, 2012.
- TECSON-MENDOZA, E. M. et al. Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] globulins: Purification and characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1552–1558, 2001.
- TEIXEIRA, I. R. V. et al. Females of the weevil *Zabrotes subfasciatus* manipulate the size and number of eggs according to the host seed availability. **Physiological Entomology**, v. 34, n. 3, p. 246–250, 2009.
- THIÉRY, D. Hardness of some fabaceous seed coats in relation to larval penetration by *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera:Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 20, p. 177–181, 1984.
- TOLEDO, T. C. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação química e nutricional do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) cozido por diferentes métodos. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 355–360, 2008.
- UCHÔA, A. F. et al. Toxicity of Hydrolyzed Vicilins toward *Callosobruchus maculatus* and Phytopathogenic Fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8056–8061, 2009.
- VALLEJO-MARÍN, M.; DOMÍNGUEZ, C. A.; DIRZO, R. Simulated seed predation reveals a variety of germination responses of neotropical rain forest species. **American Journal of Botany**, v. 93, n. 3, p. 369–376, 2006.
- VELTEN, G. et al. The inhibitory effect of the natural seed storage protein arcelin on the development of *Acanthoscelides obtectus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 4, p. 550–557, 2007.
- WALTER, A. Un frijol silvestre protege los cultivos sin plaguicidas. **CIAT International**, v. 11, p. 3–4, 1992.
- WANDERLEY, V.; OLIVEIRA, J.; ANDRADE JR, L. Resistência de Cultivares e Linhagens de *Phaseolus vulgaris* L. a *Zabrotes subfasciatus* ( Boh. ) ( Coleoptera : Bruchidae ). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 2, p. 315–320, 1997.
- WANG, T. et al. Advances of Research on Glycinin and  $\beta$ -Conglycinin: A Review of Two Major Soybean Allergenic Proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 7, p. 850–862, 2014.
- WAR, A. R. et al. Jasmonic Acid-Mediated-Induced Resistance in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Against *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 4, p. 512–523, 2011.
- XAVIER-FILHO, J. The resistance of seeds of cowpea (*Vigna unguiculata*) to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). **Memorial Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 86, n. Suppl. II, p. 75–77, 1991.
- YOKOYAMA, M. et al. Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: Principais pragas e seu controle. **Potafós**, p. 771–786, 1996.
- ZAUGG, I. et al. QUES, a new *Phaseolus vulgaris* genotype resistant to common bean weevils, contains the Arcelin-8 allele coding for new lectin-related variants. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 3, p. 647–661, 2013.

## ANEXOS

Tabela suplementar 1. **Proteínas identificadas, por espectrometria de massas, nos cotilédones das sementes dos genótipos de *Vigna unguiculata* P.O 1-5-4 (T6) e PO 1-5-7 (T8).** As análises foram realizadas em triplicatas biológicas e os resultados expressam a média dos três experimentos. Para proteínas diferentemente expressas foram considerados  $p \leq 0,05$  e diferenças de expressão de pelo menos 1,4 x (Log2 do fold change  $\geq$  a 0.5 **UP** e Log2 do fold change  $\leq$  -0.5 **DOWN**). A acumulação diferencial foi determinada comparando T6/T 8, proteínas classificadas como UP estão aumentadas no genótipo T6 e proteínas classificadas como DOWN estão diminuídas em T6.

Accession	Description	OmicsBox	IEP	mw	max score	No. pept	Cover- age	AVERAGE T6	AVERAGE T8	t-test	Log2 of Fold Change	accumulation
V7ADL7	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase Gp_dh_C domain-containing protein (Fragment)	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase 1	8,28	18401,83	30822,89	6	54,65	519008,9	541737,3	0,584959	-0,06183	UNCHANGED
V7AZA2		glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	5,57	23539,9	24729,58	9	45,87	222577,8	248246,6	0,362637	-0,15746	UNCHANGED
V7AK23	Malate dehydrogenase	malate dehydrogenase, mitochondrial	8,8	36251,73	17151,58	7	35,07	137721,7	153888,2	0,075911	-0,16013	UNCHANGED
V7B376	TCTP domain-containing protein	translationally-controlled tumor protein homolog	4,38	19017,49	16266,47	5	31,14	131214	142647,1	0,094026	-0,12053	UNCHANGED
V7C659	Glutaredoxin-dependent peroxiredoxin	Peroxiredoxin-2B	5,27	17452,1	15606,54	8	58,64	135217,1	154966,4	0,266669	-0,19668	UNCHANGED
V7BH47	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L23	10,93	15167,88	14484,82	5	42,86	112979,4	116666	0,697778	-0,04632	UNCHANGED
V7B012	Ribosomal_L7Ae domain-containing protein	60S ribosomal protein L30	9,86	12588,66	13871,01	5	52,68	107849	117680,7	0,3017	-0,12586	UNCHANGED
V7BX14	Lipoxygenase	seed linoleate 9S-lipoxygenase-3	5,91	97587,98	13760,83	34	39,07	804874,3	800307,4	0,903887	0,008209	UNCHANGED
V7C335	Elongation factor 1-alpha	elongation factor 1-alpha	9,39	49673,3	12798,85	11	27,07	458727,1	516384	0,073454	-0,17081	UNCHANGED
V7BAC3	SHSP domain-containing protein	18.2 kDa class I heat shock protein	5,96	17782,08	12149,8	6	56,05	163560,9	202657,7	0,179106	-0,30922	UNCHANGED
V7CL08	Uncharacterized protein	basic endochitinase-like	8,6	29655,88	11725,71	7	35,07	382460,4	320835,8	0,125872	0,253476	UNCHANGED
V7D036	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	7,35	37014,32	11427,3	9	25,88	461457,9	491582,3	0,404424	-0,09123	UNCHANGED
V7C329	Alpha-1,4 glucan phosphorylase	alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic	5,08	111703,5	11075,81	33	44,77	258931,6	273017,3	0,643704	-0,07642	UNCHANGED
V7D092	Uncharacterized protein	oil body-associated protein 1A	6,67	27951,72	10828,66	6	22,41	402898,9	332301	0,251435	0,277927	UNCHANGED
V7C9P5	Uncharacterized protein	heat shock 70 kDa protein	5,08	71540,1	10446,79	23	42,68	345263	367712,7	0,47561	-0,09088	UNCHANGED
V7C2C9	Formate dehydrogenase, mitochondrial	formate dehydrogenase 1, mitochondrial-like isoform X2	5,62	44415,26	10404,44	17	56,75	263976,1	475350,8	0,002677	-0,84859	DOWN
V7CMV4	NTF2 domain-containing protein	Nuclear transport factor 2B	5,87	13825,62	9761,76	2	27,64	22020,5	24133	0,404051	-0,13216	UNCHANGED
C8YZ71	RACK1	guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein	7,61	36029,52	9113,267	10	52,16	232797,9	241024,4	0,398524	-0,0501	UNCHANGED
V7BG07	40S ribosomal protein S24	40S ribosomal protein S24-1	11,09	15764,59	8765,713	3	29,93	96437,83	108254,2	0,175733	-0,16675	UNCHANGED
V7BLB9	Malate dehydrogenase	malate dehydrogenase	5,48	35749,83	8318,969	10	33,13	103440	106589,2	0,760123	-0,04327	UNCHANGED
V7C8A5	TENA_THI-4 domain-containing protein	probable bifunctional TENA-E protein	4,92	26503,08	8217,937	8	40,61	193404,4	229674	0,081722	-0,24797	UNCHANGED
V7CFR3	KOW domain-containing protein	40S ribosomal protein S4-1	10,41	22540,97	7907,907	8	45,73	88998,02	95079,67	0,172186	-0,09536	UNCHANGED

V7ART1	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L9	9,83	21885,35	7899,231	5	32,64	126293,1	145097,1	0,534445	-0,20024	UNCHANGED
V7BFT4	Uncharacterized protein	NADPH-dependent aldehyde reductase 1, chloroplastic-like	8,81	39130,68	7887,668	7	24,58	709980,7	896561,6	0,152913	-0,33662	UNCHANGED
V7B7M0	SHSP domain-containing protein	17.3 kDa class I heat shock protein	7,77	17767,2	7803,585	6	35,9	228200	292117	0,093944	-0,35625	UNCHANGED
V7CA00	Uncharacterized protein	Glucose and ribitol dehydrogenase	6,74	32130,31	7787,008	9	30,95	264234,5	258011	0,710374	0,034386	UNCHANGED
V7B8B1	SHSP domain-containing protein	18.2 kDa class I heat shock protein	5,73	17894,24	7241,92	4	33,96	98105,13	95493,75	0,679119	0,038922	UNCHANGED
V7CJZ8	S10_pectin domain-containing protein	40S ribosomal protein S10-1	10,02	19905,48	6926,286	2	8,94	32248,67	65882	0,261387	-1,03064	UNCHANGED
V7CZ55	Uncharacterized protein	heat shock cognate 70 kDa protein 2-like	4,91	71748,17	6664,872	15	24,58	101502,5	112932,2	0,490473	-0,15394	UNCHANGED
V7C111	Uncharacterized protein	SNF1-related protein kinase regulatory subunit gamma-like PV42a	6,75	45081,73	6645,654	8	36,61	140586,2	131957,3	0,570315	0,091384	UNCHANGED
V7AFM3	Uncharacterized protein	heat shock cognate 70 kDa protein 2	4,92	71514,86	6380,884	18	30,97	47882,24	52893,44	0,500024	-0,1436	UNCHANGED
V7BPV5	Peptidase A1 domain-containing protein	basic 7S globulin	7,25	47011,46	6170,838	4	14,82	490162,1	458373,9	0,305061	0,096734	UNCHANGED
V7C7H0	Ribosomal_L6e_N domain-containing protein	60S ribosomal protein L6	10,65	25846,25	6158,498	6	37,93	65867,57	81805,2	0,057914	-0,31262	UNCHANGED
V7B9I8	EF1_GNE domain-containing protein	elongation factor 1-beta 2-like	4,38	24244,34	6069,617	9	48,87	119444,1	100467,3	0,551329	0,24961	UNCHANGED
V7BYN3	2-Hacid_dh_C domain-containing protein (Fragment)	formate dehydrogenase	6,75	27607,61	5818,246	8	55,24	91740,37	173098,5	0,008975	-0,91596	DOWN
V7BV97	Ribosomal_S7 domain-containing protein	40S ribosomal protein S5	9,96	23097,63	5681,648	5	28,02	58670,56	75174,33	0,36565	-0,3576	UNCHANGED
V7BZK0	Lipoxygenase	seed linoleate 9S-lipoxygenase-2	5,82	97830,02	5572,254	21	30,72	264899,9	317063,3	0,121035	-0,25932	UNCHANGED
T2DLR9	Alcohol dehydrogenase 1	alcohol dehydrogenase 1	6,39	42210,09	5527,595	5	11,58	436553,8	413804,7	0,566936	0,077209	UNCHANGED
V7BLB7	Histone H4	histone H4	11,88	11409,4	5477,034	6	48,54	67739,44	69077,56	0,89322	-0,02822	UNCHANGED
V7BSG9	Uncharacterized protein	oil body-associated protein 2B	5,63	27944,93	5460,342	4	30,2	253567,4	289621,8	0,325295	-0,1918	UNCHANGED
V7ANJ8	WHy domain-containing protein	desiccation protectant protein Lea14 homolog	4,95	16742,38	5456,523	6	61,18	71176	82699,11	0,162469	-0,21648	UNCHANGED
V7BGU9	Uncharacterized protein	ADP-ribosylation factor	6,52	20736,79	5429,882	7	50,83	95514	97606,67	0,887834	-0,03127	UNCHANGED
V7BF61	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S18	11	17624,57	5403,172	8	48,68	162945,8	154479,3	0,769046	0,076978	UNCHANGED
V7AP76	40S ribosomal protein SA	40S ribosomal protein SA	4,93	34059,62	5327,023	10	38,31	123971,2	143139,9	0,314476	-0,20742	UNCHANGED
V7AE69	40S ribosomal protein S25	40S ribosomal protein S25-2	11,04	11969,05	5296,397	3	36,11	96244,89	95408	0,908077	0,0126	UNCHANGED
V7CMM8	Alpha-1,4 glucan phosphorylase	alpha-1,4 glucan phosphorylase L-2 isozyme, chloroplastic/amyloplastic isoform X1	5,27	112037,4	5293,22	12	18,03	68449,64	54554,84	0,017352	0,327336	UNCHANGED
V7B9D7	Fructose-bisphosphate aldolase	fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme 1	5,67	38786,1	5242,234	2	7,84	118659,2	132068,8	0,56139	-0,15447	UNCHANGED
T2DM56	GTP-binding nuclear protein	GTP-binding nuclear protein Ran-3	6,41	25447,74	5228,36	5	23,53	159135,2	168100	0,641243	-0,07907	UNCHANGED
V7CR67	60S ribosomal protein L6	60S ribosomal protein L6	10,6	26130,62	5127,799	4	27,9	19515,53	18834,1	0,769237	0,051276	UNCHANGED

V7C8S3	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S15a	10,25	14871,46	5110,109	5	43,08	77835,22	88745,56	0,119105	-0,18925	UNCHANGED
V7BTT2	Uncharacterized protein	actin-101	5,16	41823,85	5063,083	12	40,58	51813,93	73712,74	0,00413	-0,50857	DOWN
T2DPN9	Actin	actin	5,16	41854,83	4971,612	16	49,34	56308,2	34909,87	0,004648	0,68971	UP
V7CP53	SHSP domain-containing protein	17.5 kDa class I heat shock protein	5,16	16532,78	4926,247	2	31,03	96040,25	140824	0,004588	-0,55218	DOWN
V7AWC5	4-alpha-glucanotransferase	4-alpha-glucanotransferase, chloroplastic/amyloplastic	5,97	63609,99	4841,225	12	26,87	290925,6	312159,1	0,190347	-0,10163	UNCHANGED
V7BUJ2	40S ribosomal protein S8	40S ribosomal protein S8	10,79	24806,46	4807,814	4	25,35	3568,416	2615,055	0,105773	0,448443	UNCHANGED
V7BNE8	40S ribosomal protein S8	40S ribosomal protein S8	10,83	24857,64	4793,193	4	25,23	72801,29	86535,57	0,48461	-0,24933	UNCHANGED
V7C2N5	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	7,82	36665,95	4700,222	8	22,85	13707,78	24200,18	0,122312	-0,82002	UNCHANGED
Q43634	Intracellular pathogenesis related protein	pathogenesis-related protein 2-like	4,75	16389,58	4690,005	5	26,45	34462,11	57475,33	0,01896	-0,73793	DOWN
T2DPJ8	40S ribosomal protein S6	40S ribosomal protein S6	11,15	28387,07	4596,599	5	25,91	61612,22	77081,22	0,29168	-0,32316	UNCHANGED
T2DLX0	40S ribosomal protein S3-3-like protein	40S ribosomal protein S3-3	10	26401,86	4583,665	8	34,47	95655,78	106122	0,532946	-0,1498	UNCHANGED
V7C0G7	Uncharacterized protein	actin-1	5,16	41916,97	4563,862	15	47,48	77139,2	77415,7	0,958962	-0,00516	UNCHANGED
V7CJY7	Ribosomal_S10 domain-containing protein	40S ribosomal protein S20-2-like	9,92	13812,07	4466,364	3	28,69	72652,44	62755,67	0,313878	0,211266	UNCHANGED
V7CQ18	Uncharacterized protein	luminal-binding protein	4,89	73649,37	4430,022	12	22,07	122095,6	134818,6	0,243119	-0,14301	UNCHANGED
V7B2L4	14_3_3 domain-containing protein	14-3-3-like protein A	4,49	29093,71	4410,13	6	30,08	121620,3	96832,15	0,135376	0,328826	UNCHANGED
V7BXI7	Tr-type G domain-containing protein	elongation factor 2 isoform X1 outer envelope pore protein 16-2, chloroplastic	5,64	93560,14	4372,809	21	28,64	158853	168184,8	0,559999	-0,08236	UNCHANGED
V7B096	Uncharacterized protein	50S ribosomal protein L23, chloroplastic	5,88	18929,27	4236,067	9	53,89	91949,44	114709,7	0,478476	-0,31907	UNCHANGED
V7B322	Ribosomal_L16 domain-containing protein	60S ribosomal protein L23A	10,74	17523,8	4231,011	2	20,65	103881,3	114896,7	0,136697	-0,1454	UNCHANGED
V7ARW6	Ribosomal_L16 domain-containing protein	60S ribosomal protein L10	10,92	25443,51	4219,661	6	33,03	76864,3	72146,64	0,427026	0,091382	UNCHANGED
V7B5Y7	Ribosomal_L16 domain-containing protein	60S ribosomal protein L10	10,7	25536,57	4192,495	6	30,49	26440,81	28230,74	0,428222	-0,0945	UNCHANGED
V7B8A1	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L7-4	10,35	28341,2	4061,351	5	22,63	105257,6	118907	0,063982	-0,17591	UNCHANGED
V7AWB8	Gp_dh_N domain-containing protein (Fragment)	glyceraldehyde-3-dehydrogenase C subunit	5,65	6398,139	4054,419	2	26,32	4262,368	4782,899	0,663137	-0,16623	UNCHANGED
V7BNN2	EF1_GNE domain-containing protein	elongation factor 1-beta 1	4,35	24292,31	3998,082	7	35,43	82719,29	90782,05	0,48336	-0,13418	UNCHANGED
V7C8K4	S5 DRBM domain-containing protein	40S ribosomal protein S2-4	10,8	30031,81	3948,232	7	26,94	112344,7	116601,9	0,598548	-0,05366	UNCHANGED
V7APJ9	Lipoxygenase	seed linoleate 9S-lipoxygenase	6,13	97123,66	3936,381	6	7,28	35501,66	75620,29	0,164693	-1,09089	UNCHANGED
V7C7F6	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S15-4	10,85	17158,28	3871,619	5	38,16	51090,89	52990,78	0,421887	-0,05268	UNCHANGED
V7BZF7	Lipoxygenase	linoleate 9S-lipoxygenase	6,23	96241,65	3817,388	9	13,9	382336,6	417119,9	0,148879	-0,12562	UNCHANGED
V7CX68	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine S-methyltransferase	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine methyltransferase	5,92	84254,35	3773,689	9	24,9	70957,38	82719,56	0,370292	-0,22128	UNCHANGED

V7BIL6	Uncharacterized protein	cell division cycle protein 48 homolog	4,95	90605,34	3751,378	16	36,5	185560,5	191775,1	0,691061	-0,04753	UNCHANGED
V7BC72	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase	glucose-1-phosphate adenylyltransferase small subunit 2, chloroplasic	6,22	56578,32	3750,661	14	33,2	121445,1	111475,9	0,268937	0,123573	UNCHANGED
V7AV18	Protein disulfide-isomerase	protein disulfide-isomerase	4,89	57742,88	3664,435	11	27,34	156696,7	147943,9	0,34373	0,082924	UNCHANGED
V7AGS2	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L11	10,32	20900,23	3619,723	4	31,49	37626,11	47648,56	0,556771	-0,3407	UNCHANGED
V7CP60	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L17-2	10,83	20748,76	3588,566	3	19,34	96175,44	92246,11	0,863077	0,06018	UNCHANGED
V7AV25	Uncharacterized protein	albumin-2-like	5,11	25681,92	3483,113	7	25,66	473726,4	534598,2	0,241185	-0,1744	UNCHANGED
U5U211	40S ribosomal protein S3a	40S ribosomal protein S3a	10,28	29859,62	3365,74	6	32,57	85576	86943,64	0,894779	-0,02287	UNCHANGED
V7AML9	Ribosomal_S13_N domain-containing protein	40S ribosomal protein S13	10,81	17208,24	3343,567	6	39,07	64533,56	80999	0,183126	-0,32785	UNCHANGED
V7C2G9	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine S-methyltransferase	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine methyltransferase	5,85	84581,65	3333,114	8	15,07	24294,06	37674,56	0,044385	-0,63299	DOWN
V7BLY3	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S19-1	10,6	16037,48	3268,785	3	20,98	36219,89	41517,06	0,713745	-0,19692	UNCHANGED
V7BS67	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S14	11,44	16379,8	3256,912	4	55,33	57097,56	57742	0,866817	-0,01619	UNCHANGED
V7AFT3	Poly [ADP-ribose] polymerase	poly [ADP-ribose] polymerase 3	5,31	92226,13	3195,083	15	27,22	96190,78	87114,44	0,546431	0,142987	UNCHANGED
V7BAZ0	ATP synthase subunit beta	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	5,7	59848,15	3192,087	11	35,13	122317,4	112998,8	0,074596	0,114323	UNCHANGED
V7CSW5	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S16	10,55	16984,87	3137,382	4	28,57	50603,67	48233	0,632412	0,069221	UNCHANGED
V7B803	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	4,87	51849,22	3105,122	5	24,09	108221,1	107918,7	0,977233	0,004038	UNCHANGED
V7CZX7	Uncharacterized protein	Late embryogenesis abundant protein ECP63	6,17	35445,1	3072,814	8	22,96	159851,7	180779,2	0,241591	-0,1775	UNCHANGED
V7AF97	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L12	9,5	17963,79	3052,205	3	22,29	86783,11	94500,33	0,599518	-0,12291	UNCHANGED
V7BIX1	Ribosomal_L18e/L15P domain-containing protein	60S ribosomal protein L18	11,61	20933,7	3037,378	5	31,55	87530,89	85599,44	0,921316	0,032191	UNCHANGED
V7C8F3	Aldedh domain-containing protein	aldehyde dehydrogenase family 2 member B7, mitochondrial	6,88	58802,05	3004,192	4	14,21	67523,17	61752,67	0,517282	0,128881	UNCHANGED
V7BF74	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L35	11,42	12826,51	2976,838	2	20	63338,5	81872,67	0,147924	-0,3703	UNCHANGED
V7BDU7	Proteasome subunit beta	Proteasome subunit beta type-2-A	6,07	22695,91	2885,556	3	18,14	30964,78	34768,56	0,468683	-0,16716	UNCHANGED
V7CDE0	Malate dehydrogenase	malate dehydrogenase, chloroplasic	8,48	43809,04	2821,592	7	32,2	33895,74	40975,35	0,024568	-0,27365	UNCHANGED
V7B774	40S ribosomal protein S4	40S ribosomal protein S4-1	10,73	29905,94	2806,844	8	33,71	41259,63	49461,34	0,211448	-0,26157	UNCHANGED
V7CDF5	Ribosomal_L2_C domain-containing protein	60S ribosomal protein L8-3	11,13	28401,56	2798,585	8	43,85	94444,78	92536,67	0,836185	0,029446	UNCHANGED
V7BL29	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S28	11,58	7511,744	2770,028	2	23,08	45043,17	55496,83	0,205828	-0,3011	UNCHANGED
V7BSM8	Annexin	annexin-like protein RJ4	7,13	36252,15	2731,307	7	23,89	104134,3	107781,9	0,711665	-0,04967	UNCHANGED
V7AM98	PPM-type phosphatase domain-containing protein	probable protein phosphatase 2C 39	5,83	27939,59	2685,183	6	26,77	43850	35485,78	0,27567	0,305336	UNCHANGED



V7CDF1	S4 RNA-binding domain-containing protein	40S ribosomal protein S9-2	10,7	23095,67	2664,007	6	33,5	162079,3	170948,4	0,660932	-0,07686	UNCHANGED
V7BTS9	RNase H domain-containing protein	heat shock 70 kDa protein	7,91	88866,4	2581,597	5	8,83	346995,8	313125,8	0,275612	0,148176	UNCHANGED
V7AE97	Uncharacterized protein	ras-related protein Rab7	4,89	23394,18	2518,983	5	34,47	41934,78	34416,89	0,367867	0,285031	UNCHANGED
V7BLU1	Uncharacterized protein	protein DJ-1 homolog D	5,83	41936,84	2507,271	6	27,58	32392	38149,11	0,26585	-0,23601	UNCHANGED
V7BTM8	Uncharacterized protein	Ubiquitin-NEDD8-like protein RUB2	5,34	14578,85	2463,522	3	16,54	66823,67	70036,44	0,84937	-0,06775	UNCHANGED
V7C961	Uncharacterized protein	elongation factor 1-gamma	5,94	48066	2456,622	9	21,19	66569,3	70665,51	0,569476	-0,08615	UNCHANGED
V7CPK9	Peroxiredoxin	1-Cys peroxiredoxin	9,06	28503,9	2404,915	3	15,35	115809,9	126969,6	0,432172	-0,13272	UNCHANGED
V7D2U5	Ribosomal protein	60S ribosomal protein L10a	10,29	24746,32	2399,82	3	15,74	23991,72	18567,11	0,305064	0,369787	UNCHANGED
V7BLF5	Uncharacterized protein	Hemopexin-like repeat	5,67	46364,59	2378,283	4	9,93	25961,19	22389,89	0,28218	0,213509	UNCHANGED
T2DNF1	60S ribosomal protein L13a	60S ribosomal protein L13a-4	10,62	23976,53	2377,582	2	11,65	92124	101861	0,288753	-0,14495	UNCHANGED
V7BA18	HATPase_c domain-containing protein	heat shock cognate protein 80	4,77	80463,41	2371	16	26,47	97115,48	100921,3	0,606922	-0,05546	UNCHANGED
V7CN34	Guanosine nucleotide diphosphate dissociation inhibitor	guanosine nucleotide diphosphate dissociation inhibitor 2	5,28	50123,09	2338,98	9	29,66	104381,4	97205,22	0,463208	0,10276	UNCHANGED
V7AQB1	Lipoxygenase	linoleate 9S-lipoxygenase	6,24	97958,55	2301,098	8	8,42	267038,6	290415,4	0,160393	-0,12107	UNCHANGED
V7CIN9	UDP-glucose 4-epimerase	UDP-glucose 4-epimerase GEPI48	7,02	43765,79	2289,727	6	23,54	53487	56646,44	0,428714	-0,0828	UNCHANGED
V7B8C8	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L32-1-like	11,03	15776,64	2282,964	4	25,56	35094,33	30108,5	0,568649	0,221067	UNCHANGED
V7BME2	Sucrose-phosphate phosphatase	sucrose-phosphatase 1	5,63	46935,21	2263,063	6	17,07	52046,78	53058	0,929832	-0,02776	UNCHANGED
V7D288	Serine hydroxymethyltransferase	serine hydroxymethyltransferase	7,25	52128,23	2248,774	11	36,09	56414,44	56511,44	0,990561	-0,00248	UNCHANGED
V7D1L4	Methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase	bifunctional protein FoD 2	7,38	31739,66	2204,473	4	17,01	38841,67	38054,67	0,673618	0,029532	UNCHANGED
V7BM98	Nudix hydrolase domain-containing protein	nudix hydrolase 3	4,82	87425,75	2198,93	9	14,17	273875,4	262040,7	0,662194	0,063729	UNCHANGED
V7C0X0	Proteasome subunit alpha type	proteasome subunit alpha type-3	5,48	27522,24	2162,097	3	13,65	29375,11	31977,56	0,064601	-0,12247	UNCHANGED
V7BW77	Proteasome subunit alpha type	proteasome subunit alpha type-2-A	5,59	25548,2	2133,297	3	20,43	23148,44	26581	0,297893	-0,19948	UNCHANGED
V7AHY2	Uncharacterized protein	cold shock protein 2	6,33	19243,04	2073,755	2	19	67926,33	63287,67	0,735219	0,102047	UNCHANGED
T2DPD1	60S acidic ribosomal protein P1-3-like protein	60S acidic ribosomal protein P1-3-like	4,12	11262,63	2033,108	2	64,29	45754,5	42267	0,902937	0,114382	UNCHANGED
V7D3H8	Uncharacterized protein	selenium-binding protein 1	5,71	53115,95	2009,5	11	29,68	45914	43834,22	0,793907	0,066876	UNCHANGED
V7B2J8	Aldehyd domain-containing protein	aldehyde dehydrogenase family 7 member A1	5,1	46023,82	2008,979	6	23,35	44626,33	53796,89	0,067187	-0,26963	UNCHANGED
V7BQX5	Tubulin beta chain	tubulin beta chain	4,55	50933,07	1976,772	10	38,48	179614,7	173756,3	0,57321	0,04784	UNCHANGED
V7CRB8	Proteasome subunit alpha type	proteasome subunit alpha type-1-A	5,08	30912,54	1963,886	5	26,07	26865,33	26245,33	0,782699	0,033685	UNCHANGED
V7CTB5	PKS_ER domain-containing protein	alcohol dehydrogenase 1	6,08	41778,55	1956,093	7	18,68	176633,6	186179,7	0,413482	-0,07594	UNCHANGED
O24320	Lipoxygenase	linoleate 9S-lipoxygenase 1	6,56	96592,86	1954,154	10	10,98	164462,6	199407,5	0,142533	-0,27796	UNCHANGED
V7BWV9	PfkB domain-containing protein	probable fructokinase-4	4,86	35464,57	1953,955	7	26,36	57539,44	66544,56	0,128959	-0,20977	UNCHANGED

V7CD28	Xylose isomerase	xylose isomerase	5,81	54297,59	1938,896	8	19,42	87068,44	98325	0,098803	-0,17541	UNCHANGED
V7AHS3	Proteasome subunit alpha type	proteasome subunit alpha type-6	5,48	27432,13	1920,292	4	23,98	61071,67	62372,22	0,756889	-0,0304	UNCHANGED
V7BVD2	Aconitate hydratase	aconitate hydratase, cytoplasmic	7,55	107666,5	1905,551	9	18,82	47208,03	46386,75	0,853449	0,025319	UNCHANGED
V7CBS6	Uncharacterized protein	GTP-binding protein SAR1A	6,63	22188,57	1879,192	7	43,01	36700,89	45943,78	0,4323	-0,32405	UNCHANGED
V7BIU2	Uncharacterized protein	Hemopexin-like repeat	8,06	24207,38	1878,563	4	12,32	498529,7	628719,2	0,199704	-0,33474	UNCHANGED
V7BM23	Uncharacterized protein	probable linoleate 9S-lipoxygenase 5	5,74	98866,47	1860,163	4	4,06	35605,92	44955,03	0,012072	-0,33637	UNCHANGED
V7CIB7	Aconitate hydratase	aconitate hydratase 1	5,6	98941,48	1847,043	4	8,1	3932,863	4881,492	0,007126	-0,31174	UNCHANGED
V7BP04	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase CYP20-1	9,3	22055,35	1819,243	4	26,96	67972,89	83189,56	0,015348	-0,29144	UNCHANGED
V7BLC9	60S ribosomal protein L7a	60S ribosomal protein L7a-1	10,68	29639,22	1766,659	4	26,25	62063,67	76985,44	0,250662	-0,31084	UNCHANGED
V7BAS7	Formyltetrahydrofolate synthetase	formate--tetrahydrofolate ligase	6,42	68066,97	1744,974	9	21,54	59362,11	73047,56	0,140624	-0,29929	UNCHANGED
T2DP01	14-3-3 protein	14-3-3-like protein	4,47	29273,74	1741,234	5	20,85	9930,191	13734,7	0,010531	-0,46793	UNCHANGED
V7BU45	Uncharacterized protein	elongation factor 1-gamma	5,73	48218,47	1729,708	5	16,71	38453,93	53779,82	0,238907	-0,48393	UNCHANGED
V7CHG7	KOW domain-containing protein	60S ribosomal protein L26-1	11,45	16730,49	1723,34	5	37,67	47660,61	48957,28	0,828734	-0,03873	UNCHANGED
V7BT55	KOW domain-containing protein	60S ribosomal protein L26-1	11,35	16668,44	1723,34	5	37,67	2046,813	3722,548	0,05642	-0,86291	UNCHANGED
V7BFL4	Cupin type-1 domain-containing protein	alpha-phaseolin	4,9	41704,12	1710,041	5	15,57	605819	538191	0,142803	0,170769	UNCHANGED
V7BCX8	Uncharacterized protein	_007G072500g	9,16	27531,99	1693,453	2	7,76	68800,83	80371,83	0,252399	-0,22426	UNCHANGED
V7C2L3	MFS domain-containing protein	plastidic glucose transporter 4	9,84	57463,05	1683,595	3	8,59	47753,94	50890,89	0,759021	-0,09179	UNCHANGED
V7D0I8	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L21-1	10,94	18719,75	1674,383	5	34,76	40806,67	62774,33	0,29716	-0,62137	UNCHANGED
Q94KS2	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I-like	6,96	36047,56	1672,609	3	22,09	27270,89	28743,67	0,660615	-0,07588	UNCHANGED
V7CPQ1	AAA domain-containing protein	uncharacterized AAA domain-containing protein C16E9.10c-like isoform X1	6,26	95544,98	1654,98	5	8,44	23983,44	30175,11	0,16001	-0,33132	UNCHANGED
V7ASA9	Lipoxygenase	Seed linoleate 9S-lipoxygenase late embryogenesis abundant protein D-34	5,99	94810,07	1626,879	5	5,31	109192,5	113401,8	0,446223	-0,05457	UNCHANGED
V7BFL0	Uncharacterized protein	protein D-34	5	27190,41	1615,406	3	18,85	59593,56	53891,78	0,108273	0,145091	UNCHANGED
V7BV85	Usp domain-containing protein	universal stress protein PHOS34	4,76	24806,56	1592,556	2	13,78	85262,5	80806,33	0,706956	0,077443	UNCHANGED
V7C4I2	HATPase_c domain-containing protein	heat shock protein 83	4,73	80867,68	1588,954	9	14	69842,22	82580,83	0,136323	-0,24171	UNCHANGED
V7BEQ4	Histone H2B	probable histone H2B.3	10,52	15059,67	1576,715	2	19,12	36047,33	41222	0,565602	-0,19352	UNCHANGED
V7AV39	Uncharacterized protein	alcohol dehydrogenase 1	5,73	41685,36	1555,985	5	14,47	60949,53	58812,9	0,608677	0,051482	UNCHANGED
V7BFA0	Ribos_L4_asso_C domain-containing protein	60S ribosomal protein L4	10,93	44709,81	1508,249	9	25,19	50071,48	55412,86	0,281283	-0,14623	UNCHANGED
V7C7X4	Uncharacterized protein	alpha-1,4-glucan-protein synthase [UDP-forming]	6,59	50372,75	1484,775	9	25,29	45163,89	49172,33	0,341393	-0,12268	UNCHANGED
V7CMM3	60S ribosomal protein L13	60S ribosomal protein L13-1	11,59	23917,03	1478,768	2	11,59	39547	33817,33	0,773588	0,225805	UNCHANGED

V7AQS4	Catalase	catalase	6,85	56905,03	1477,744	6	13,82	32334,89	45541,67	0,014354	-0,4941	UNCHANGED
V7BW61	Tr-type G domain-containing protein	elongation factor 2	6,15	94406,38	1469,284	8	11,63	7108,592	8345,427	0,191387	-0,23142	UNCHANGED
V7BZK8	Uncharacterized protein	eukaryotic initiation factor 4A-10	5,28	46962,5	1447,774	7	29,3	38398,04	46032,52	0,292155	-0,26162	UNCHANGED
V7B6Z4	Fructose-bisphosphate aldolase	fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme	6,82	38828,94	1444,559	3	10,34	104178,8	174029,9	0,422754	-0,74027	UNCHANGED
V7CMK3	Tubulin alpha chain	tubulin alpha-3 chain	4,82	50299,61	1374,12	8	27,17	34711,15	42183,69	0,143363	-0,28129	UNCHANGED
V7AQB6	Uncharacterized protein	eukaryotic initiation factor 4A-10	5,21	47002,59	1362,472	9	34,14	150865,4	147764,5	0,892353	0,029963	UNCHANGED
V7C7B8	60S acidic ribosomal protein P0	60S acidic ribosomal protein P0	5,05	34240,48	1338,205	3	26,88	51037,44	58569,67	0,128929	-0,1986	UNCHANGED
V7C5G0	Glutamate decarboxylase	glutamate decarboxylase	5,34	56561,64	1333,882	4	20,04	18556,44	20189,47	0,603691	-0,12168	UNCHANGED
V7CJP2	Cysteine synthase	cysteine synthase	5,54	34370,91	1327,894	3	13,85	20283,44	28257,33	0,085138	-0,47832	UNCHANGED
V7B8S3	Uncharacterized protein	CBS domain-containing protein CBSX3, mitochondrial	9,67	22820,34	1303,15	2	12,2	24229,5	21739,83	0,007215	0,156424	UNCHANGED
V7BL53	Ribosomal_S17_N domain-containing protein	40S ribosomal protein S11	11,09	18081,11	1297,313	3	20,75	51707,44	63643,28	0,378633	-0,29964	UNCHANGED
V7BKZ2	Pyruvate kinase	pyruvate kinase 1, cytosolic	6,7	58168,05	1290,403	6	14,61	28693,11	33203	0,07281	-0,21061	UNCHANGED
V7BIM4	Uncharacterized protein	Hemopexin-like repeat	4,12	31464,79	1283,221	3	9,26	8710,8	12731,81	0,301599	-0,54756	UNCHANGED
V7CKR3	Lipoxygenase	lipoxygenase 6, chloroplastic	6,62	103570,9	1274,669	3	1,75	73652,25	88891,55	0,053613	-0,27132	UNCHANGED
V7AR26	Proteasome subunit alpha type	proteasome subunit alpha type-4	5,87	27516,2	1268,432	2	13,6	22859,17	26623,5	0,096521	-0,21993	UNCHANGED
V7CUX0	Uncharacterized protein	DUF639 family protein	5,13	77699,32	1250,651	7	12,32	60538,44	73161,89	0,042566	-0,27324	UNCHANGED
V7CP66	Uncharacterized protein	calnexin homolog	4,64	61647,17	1232,15	4	7,21	73846,11	83708,67	0,044861	-0,18086	UNCHANGED
T2DN03	Proteasome subunit beta	proteasome subunit beta type-4	7,47	26280,05	1218,086	3	21,98	15118,44	16908,33	0,131488	-0,16142	UNCHANGED
V7BGZ2	Protein disulfide-isomerase	probable protein disulfide-isomerase A6	5,29	40583,85	1215,042	2	11,85	76585,67	71163,83	0,506126	0,10593	UNCHANGED
V7BF75	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L3	10,6	44813,16	1209,174	5	19,02	59697,44	67436,89	0,118927	-0,17587	UNCHANGED
H6WQB3	Allantoinase	allantoinase	5,4	56987,78	1184,439	6	15,63	43677,78	47885,33	0,662208	-0,13268	UNCHANGED
V7APB3	Uncharacterized protein	ras-related protein RABD2a	4,9	22709,45	1180,814	3	14,78	89755,94	91643,23	0,810281	-0,03002	UNCHANGED
V7AUT6	40S ribosomal protein S3a	40S ribosomal protein S3a	10,28	29975,77	1174,164	4	15,33	25979,48	29165,69	0,224313	-0,1669	UNCHANGED
V7BFL3	Uncharacterized protein	Sucrose-binding protein	5,6	57559,17	1166,663	4	5,98	211080,2	211012,7	0,998496	0,000462	UNCHANGED
V7B0N8	Uncharacterized protein	cell division cycle protein 48 homolog	4,98	91609,75	1141,837	9	22,21	17900,81	14341,37	0,259405	0,319842	UNCHANGED
V7AUF4	V-ATPase 69 kDa subunit	V-type proton ATPase catalytic subunit A	5,13	69024,72	1130,217	8	19,9	29670,67	27915,44	0,832919	0,087974	UNCHANGED
V7CWQ4	S-(hydroxymethyl)glutathione dehydrogenase	alcohol dehydrogenase class-3	6,07	41229,79	1128,127	4	13,72	48925,83	51332,56	0,834582	-0,06928	UNCHANGED
V7C356	Glutamate decarboxylase	glutamate decarboxylase	5,37	56683,08	1120,87	4	20,04	25612,15	24304,3	0,71305	0,075617	UNCHANGED
V7CEC3	Uncharacterized protein	ras-related protein RABD2c	5,35	22786,66	1104,913	3	14,36	192847,7	241585,1	0,096152	-0,32507	UNCHANGED
V7CFI9	Cupin type-1 domain-containing protein	vicilin-like seed storage protein At2g18540	4,81	85229,95	1104,009	5	10,59	462147,4	429535,4	0,023334	0,105576	UNCHANGED

V7C8C7	Adenosylhomocysteinase	adenosylhomocysteinase	5,5	53787,46	1098,932	12	35,05	38675,1	46772,51	0,016605	-0,27426	UNCHANGED
V7APW9	Lipoxygenase	probable linoleate 9S-lipoxygenase 5	7,96	99362,32	1095,977	2	1,73	159055,8	138689,5	0,590927	0,197674	UNCHANGED
V7CUY9	Tubulin alpha chain	Tubulin alpha-3 chain	4,83	50121,4	1062,5	5	12,95	13055,03	16525,96	0,038705	-0,34013	UNCHANGED
V7CXD6	Glutaredoxin-dependent peroxiredoxin	peroxiredoxin-2E, chloroplastic	7,99	23057,35	1056,04	4	31,02	14851	18745,89	0,22712	-0,33601	UNCHANGED
V7BM10	AB hydrolase-1 domain-containing protein	bifunctional epoxide hydrolase 2-like	6,02	28274,53	1055,813	3	12,96	39266,78	36641,89	0,160933	0,099815	UNCHANGED
V7CH59	M20_dimer domain-containing protein	acetylornithine deacetylase	4,87	48115,7	1053,608	3	9,2	34994,56	41065,94	0,408528	-0,23081	UNCHANGED
V7AJR1	Annexin	annexin-like protein RJ4	6,69	35763,57	1044,624	4	14,7	25931,71	27416,22	0,6629	-0,08031	UNCHANGED
V7BIW3	AAA domain-containing protein	26S proteasome regulatory subunit 6A homolog	4,79	47670,33	1009,869	3	16,55	25063,14	21216,9	0,096025	0,240354	UNCHANGED
T2DNK7	14-3-3 protein	14-3-3-like protein C	4,65	29363,86	992,7465	4	25,19	14553,24	17285,12	0,0208	-0,24819	UNCHANGED
V7ATZ7	Tubulin beta chain	tubulin beta chain	4,6	51200,31	991,5552	9	28,29	25740,67	27083,33	0,760098	-0,07336	UNCHANGED
V7CBI3	Malate synthase	malate synthase, glyoxysomal	5,85	64326,03	984,3261	7	16,31	64940,11	61508,22	0,562115	0,078331	UNCHANGED
V7BTD0	Phosphoglycerate kinase	phosphoglycerate kinase, cytosolic	6,18	42249,85	970,9334	3	15,46	77470,33	68047,22	0,614766	0,187108	UNCHANGED
V7AWZ4	Eukaryotic translation initiation factor 5A	eukaryotic translation initiation factor 5A-2	5,54	17680,75	963,0692	3	34,38	25720,78	26012,56	0,956614	-0,01627	UNCHANGED
V7BB47	Protein disulfide-isomerase	protein disulfide isomerase-like 2-3	5,48	47947,76	952,6193	3	11,24	27057,44	27264,33	0,939438	-0,01099	UNCHANGED
V7D0N1	Uncharacterized protein	stachyose synthase	5,42	96408	949,2062	5	11,79	48432,44	45964,78	0,728339	0,075445	UNCHANGED
Q69F96	UDP-arabinopyranose mutase	UDP-arabinopyranose mutase 1	5,75	40763,76	934,5382	5	21,81	28621,11	23304,67	0,118087	0,296461	UNCHANGED
V7BYQ9	14_3_3 domain-containing protein	14-3-3-like protein D	4,6	29676,27	929,0908	3	23,37	5712,7	5005,129	0,055131	0,190766	UNCHANGED
V7CUB5	Tr-type G domain-containing protein	eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A	5,01	56284,28	906,9651	3	5,77	212736,6	212294,8	0,994862	0,002999	UNCHANGED
V7CZL3	Phosphopyruvate hydratase	enolase	5,24	47946,45	904,6505	3	10,59	40791,33	37674	0,785507	0,114693	UNCHANGED
V7BRF6	Uncharacterized protein	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic	5,39	65279,33	895,7283	2	5	45137,67	47283,83	0,766987	-0,06702	UNCHANGED
V7BET4	Fructose-bisphosphate aldolase	fructose-bisphosphate aldolase 3, chloroplastic	7,8	42048,88	882,4073	5	14,66	27795,89	31047,56	0,522599	-0,15961	UNCHANGED
V7CX13	Uncharacterized protein	40S ribosomal protein S23	10,92	15862,56	879,1121	3	21,83	29889,78	27415,11	0,61727	0,124681	UNCHANGED
T2DNM6	Proteasome subunit beta	proteasome subunit beta type-6	5	25079,29	860,6592	2	19,31	38002	42318	0,392066	-0,1552	UNCHANGED
V7BGE1	Uncharacterized protein	glycinin	5,59	71201,78	857,6182	2	5,13	157958,5	141659,2	0,244544	0,157122	UNCHANGED
V7B5K8	Uncharacterized protein	probable UDP-arabinopyranose mutase 5	5,27	39272,91	856,444	2	6,86	211913,3	198721,8	0,724245	0,092724	UNCHANGED
V7AZ89	Proteasome subunit beta	proteasome subunit beta type-5	5,96	29287,15	847,6957	3	11,4	13404,33	19849,11	0,057007	-0,56637	UNCHANGED
V7D077	Adenosylhomocysteinase	adenosylhomocysteinase	5,79	53859,72	845,6669	7	17,11	38011,92	40505,07	0,658017	-0,09165	UNCHANGED
V7ARR0	Ribosomal_L18_c domain-containing protein	60S ribosomal protein L5-like	9,52	34330,02	836,5139	3	11,04	44286,33	37891,28	0,415414	0,224996	UNCHANGED
V7BHP9	Uncharacterized protein	chaperonin CPN60-2, mitochondrial	5,37	61420,63	832,751	7	16,87	112076,5	109123,8	0,771321	0,038518	UNCHANGED

V7BEC0	Uncharacterized protein	chaperonin CPN60-2, mitochondrial	6,48	61600,85	831,5716	6	19,65	101282	99021,22	0,807127	0,032568	UNCHANGED
V7BHZ3	Uncharacterized protein	Glutathione S-transferase L3	5,31	27168,98	820,283	2	12,66	162679,8	201701,8	0,621167	-0,31019	UNCHANGED
V7B3U0	Diadenosine tetraphosphate synthetase	glycine--tRNA ligase, mitochondrial 1	6,69	81627,05	806,3637	6	12,02	31533,56	47967,56	0,025232	-0,60517	DOWN
V7ATN3	SERPIN domain-containing protein	serpin-ZX	8,41	46867,02	805,7568	2	6,13	27184,83	30969,33	0,027796	-0,18804	UNCHANGED
V7C877	Polyadenylate-binding protein (Fragment)	Polyadenylate-binding protein 8	8,83	61558,16	805,5955	5	15,15	34690,03	33077,26	0,562771	0,068682	UNCHANGED
V7AFC8	Uncharacterized protein	ruBisCO large subunit-binding protein subunit alpha	4,92	61637,4	789,6027	5	9,25	32589,78	34508,56	0,672214	-0,08253	UNCHANGED
V7BJH6	Seryl-tRNA synthetase	Serine--tRNA ligase	5,93	51878,53	779,7584	2	8,5	22147,17	30333,67	0,003632	-0,4538	UNCHANGED
V7AYI0	UDP-arabinopyranose mutase	UDP-arabinopyranose mutase 3	5,91	42585,74	772,2388	2	10,78	34809,64	41739,65	0,353324	-0,26193	UNCHANGED
V7CU10	Phosphoglucumutase (alpha-D-glucose-1,6-bisphosphate-dependent)	phosphoglucumutase, cytoplasmic	5,04	63645,88	763,4003	6	17,53	53792,44	53485,11	0,950698	0,008266	UNCHANGED
V7CL94	PCI domain-containing protein	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 8 homolog A	4,79	31079,33	754,5621	2	11,61	20672	20697,33	0,995419	-0,00177	UNCHANGED
V7BGH4	Calreticulin	calreticulin	4,31	48442,23	747,0868	4	13,57	27402,44	27466,44	0,986563	-0,00337	UNCHANGED
V7AZE6	Superoxide dismutase	superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	8,76	26575,28	727,3983	4	23,43	21947,56	34717,89	0,176125	-0,66162	UNCHANGED
V7BEF1	Cupin type-1 domain-containing protein	beta-conglycinin beta subunit	8,87	65371,71	719,9321	3	3,24	123281,4	121292,7	0,940235	0,023463	UNCHANGED
V7CGA9	EGF-like domain-containing protein	Vacuolar-sorting receptor 1	5,39	71073,66	717,7854	2	6,55	31118,5	25789	0,305298	0,271017	UNCHANGED
V7AFP4	Uncharacterized protein (Fragment)	enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH], chloroplastic	9,66	50892,1	713,3468	5	20,29	19743,56	18943,22	0,791186	0,0597	UNCHANGED
V7CRP8	Polyadenylate-binding protein	polyadenylate-binding protein 2	7,91	71711,44	696,0198	3	9,52	17437,86	18687,24	0,43916	-0,09983	UNCHANGED
T2DN95	UDP-glucuronic acid decarboxylase	UDP-glucuronic acid decarboxylase 6	7,35	38637,37	681,1317	2	7,6	21565,17	23685	0,311592	-0,13527	UNCHANGED
V7CYM1	Elongation factor Tu	elongation factor Tu, mitochondrial	6,42	49274,5	679,6899	4	12,89	28831,44	29292	0,872427	-0,02286	UNCHANGED
V7CZM8	Ribos_L4_asso_C domain-containing protein	60S ribosomal protein L4	11,04	44494,67	671,0837	4	11,19	7280,846	8548,769	0,084327	-0,23161	UNCHANGED
V7BJ41	AMP-binding domain-containing protein	long chain acyl-CoA synthetase 8	7,94	80126,99	663,8215	5	10,79	47254	49375,44	0,568431	-0,06336	UNCHANGED
V7BTD9	Uncharacterized protein	ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic	5,47	63285,24	660,7724	6	14,84	29200	37909,67	0,235109	-0,3766	UNCHANGED
V7D221	Prolyl-tRNA synthetase	proline--tRNA ligase, cytoplasmic	5,99	58533,68	655,4398	3	8,24	16285,78	19732,89	0,132338	-0,27699	UNCHANGED
V7C6K2	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha, mitochondrial	succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha, mitochondrial	9,21	34256,45	648,846	3	11,73	24295,67	23622,56	0,648793	0,040534	UNCHANGED
V7C1L3	Glucose-6-phosphate isomerase	glucose-6-phosphate isomerase, cytosolic	5,5	57434,39	629,0966	3	11,56	26126,39	29266,33	0,550819	-0,16373	UNCHANGED
V7AGN7	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 homolog	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 homolog A	4,91	97935,8	613,8682	8	13,45	24507	24558,56	0,98005	-0,00303	UNCHANGED
V7B053	Uncharacterized protein	chaperone protein ClpB1	5,93	100913,4	595,4025	5	8,53	16846,22	18469,71	0,118357	-0,13274	UNCHANGED
V7CRB4	HATPase_c domain-containing protein	endoplasmin homolog isoform X1	4,68	93897,49	589,3189	5	7,34	30844,78	32303,22	0,486217	-0,06665	UNCHANGED

V7AVK2	AAA domain-containing protein	26S proteasome regulatory subunit 10B homolog A	8,37	44793,58	573,3206	2	8,04	24627,02	30184,19	0,348499	-0,29355	UNCHANGED
V7BMZ5	ATP citrate synthase	ATP-citrate synthase beta chain protein 1	7,79	66403,03	568,3087	5	16,28	26081,22	27203,89	0,480735	-0,0608	UNCHANGED
V7AGN2	Uncharacterized protein	lanC-like protein GCL2	6,64	46377,35	541,5767	3	7,49	34568	41789,56	0,107257	-0,27371	UNCHANGED
V7C1Z8	Uncharacterized protein (Fragment)	chaperone protein ClpB1	6,15	62324,02	533,1879	4	10,18	8283,857	9440,823	0,098449	-0,18861	UNCHANGED
V7BAD5	Glutathione transferase	glutathione S-transferase F9	5,79	24930,74	528,223	2	12,09	24962	31464,5	0,033025	-0,33399	UNCHANGED
V7CD29	Uncharacterized protein	probable serine protease EDA2	4,74	37567,57	517,3325	2	8,68	18576	19023,67	0,7933	-0,03436	UNCHANGED
V7BNL7	Uncharacterized protein	ras-related protein RABB1c	7,21	23359,43	516,0276	2	11,85	12327	12712	0,781628	-0,04437	UNCHANGED
V7BK30	Aldo_ket_red domain-containing protein	probable voltage-gated potassium channel subunit beta	7,71	36827,94	494,2824	2	7,93	22002,67	26014,67	0,428433	-0,24165	UNCHANGED
V7AX90	Aminopeptidase	aminopeptidase M1	5,06	98974,31	485,5797	5	5,84	53001,33	55810,56	0,55656	-0,07451	UNCHANGED
V7BXL6	Ig-like domain-containing protein	heat shock 70 kDa protein 15	4,9	96428,8	479,8763	4	10,52	27901,72	26817,44	0,498732	0,057182	UNCHANGED
V7AUA3	PCI domain-containing protein	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11 homolog	6,03	47211,53	471,1204	2	6,4	25934,83	31087,67	0,272622	-0,26145	UNCHANGED
V7BNU4	Alpha-1,4 glucan phosphorylase	alpha-glucan phosphorylase, H isozyme	5,92	96433,49	467,9073	2	3,43	71221,9	79418,83	0,167212	-0,15716	UNCHANGED
V7BH14	Carboxypeptidase	serine carboxypeptidase-like	4,98	55932,07	444,3104	2	4,85	29415,5	31568,5	0,552074	-0,10191	UNCHANGED
V7CB58	Aldedh domain-containing protein (Fragment)	betaine aldehyde dehydrogenase 1, chloroplastic	5,2	51453,02	408,4902	2	5,5	25437,5	27301,17	0,722664	-0,10201	UNCHANGED
V7CQY1	Tubulin beta chain	Tubulin beta-1 chain	4,57	50310,28	405,0457	4	13,71	8074,957	9043,886	0,606698	-0,16349	UNCHANGED
V7CM38	Peptidase_M3 domain-containing protein	probable cytosolic oligopeptidase A	5,76	88565,87	402,502	2	5,24	32786,67	35199,67	0,810799	-0,10245	UNCHANGED
V7C6Y0	Pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit alpha	pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit alpha	6,38	68253,89	359,1494	2	5,83	27094,17	28419,33	0,564768	-0,06889	UNCHANGED
V7AL80	Acetohydroxy-acid reductoisomerase	ketol-acid reductoisomerase, chloroplastic	6,62	63402,27	338,6099	2	5,72	32893	40490	0,01786	-0,29979	UNCHANGED

Tabela suplementar 2. **Proteínas identificadas, por espectrometria de massas, nos cotilédones das sementes dos genótipos de *Phaseolus vulgaris* L-3 e L-8.** As análises foram realizadas em triplicatas biológicas e os resultados expressam a média dos três experimentos. Para proteínas diferentemente expressas foram considerados  $p \leq 0,05$  e diferenças de expressão de pelo menos 1,4 x (Log2 do fold change  $\geq 0.5$  **UP** e Log2 do fold change  $\leq -0.5$  **DOWN**). A acumulação diferencial foi determinada comparando L-3/L-8, proteínas classificadas como UP estão aumentadas no genótipo L-3 e proteínas classificadas como DOWN estão diminuídas em L-3.

Accession	Description	IEP	mw	max score	No. peptides	Coverage	Average L3	Average L8	t-test	Log2 of Fold Change	Accumulation
V7C0Q5	Lipoxygenase (Fragment)	5,97	50131,22	2797,964	5	15,42	120205,3	139795,9	0,006531	-0,21782	UNCHANGED
V7BLH4	Uncharacterized protein	6,95	25663,11	7785,474	7	36,28	-	604181,5	-	-	UNIQUE L8
V7BC16	Lectin_legB domain-containing protein	5,24	30647,3	6735,208	9	50,18	109339,1	-	-	-	UNIQUE L3
V7C787	Lectin_legB domain-containing protein	4,73	29556,01	32039	12	55,88	1190406	23155,29	6,89E-05	5,683969	UP
V7B0I2	Ribosomal_L7Ae domain-containing protein	9,86	12588,66	7406,838	5	63,39	52223,56	207048,3	1,32E-06	-1,98719	DOWN
V7BXR3	3-isopropylmalate dehydrogenase	5,46	43763,09	631,6926	4	17,98	8942,222	19090	7,57E-05	-1,09411	DOWN
V7AEU9	Purple acid phosphatase	9,67	45306,41	11145,77	15	52,41	216004,6	549916,8	1,98E-08	-1,34815	DOWN
V7C8S3	Uncharacterized protein	10,25	14871,46	4656,816	6	50	64267,33	45967,2	0,002766	0,483481	UNCHANGED
T2DP01	14-3-3 protein	4,47	29273,74	5282,056	17	69,88	58853,05	36656,26	0,072814	0,683058	UNCHANGED
V7AZH3	Uncharacterized protein	6,63	22113,55	3312,65	7	51,81	10337,7	10995,51	0,009752	-0,089	UNCHANGED
V7AUF4	V-ATPase 69 kDa subunit	5,13	69024,72	2011,63	20	56,34	43267	43449,22	0,971361	-0,00606	UNCHANGED
V7BC05	EGF-like domain-containing protein	5,2	71470,9	973,3723	7	16,98	8269,998	12869,51	7,05E-05	-0,638	DOWN
V7AM98	PPM-type phosphatase domain-containing protein	5,83	27939,59	6862,865	13	63,39	97607,67	35570,88	7,91E-06	1,456298	UP
V7BLG9	Uncharacterized protein	7,22	25589,86	31873,25	16	74,01	31725,44	1017218	4,88E-05	-5,00284	DOWN
V7BH66	Uncharacterized protein	8	14728,24	8540,973	7	34,06	147640,9	26523,67	0,003159	2,47674	UP
V7CU10	Phosphoglucomutase (alpha-D-glucose-1,6-bisphosphate-dependent)	5,04	63645,88	2209,143	26	60,82	69618,22	95037,11	0,000609	-0,44903	UNCHANGED
T2DNK7	14-3-3 protein	4,65	29363,86	2012,721	8	52,71	11311,11	18915	0,000334	-0,74179	DOWN
V7ACY7	WD_REPEATS_REGION domain-containing protein	5,03	122431,8	671,4229	5	6,27	18984,56	28753,11	0,000128	-0,59889	UNCHANGED
V7CXU2	Uncharacterized protein (Fragment)	6,11	13145,93	4283,353	6	76,27	14523,56	22833,22	0,001189	-0,65274	DOWN
V7ACX0	Purple acid phosphatase	6,56	53268,85	4380,836	5	18,75	11832,03	81056,96	5,51E-05	-2,77624	DOWN
V7B376	TCTP domain-containing protein	4,38	19017,49	8045,521	9	52,1	69390,79	87170,33	0,017866	-0,32909	UNCHANGED
V7AF97	Uncharacterized protein	9,5	17963,79	4535,909	10	63,86	65945,22	71833,33	0,009208	-0,12339	UNCHANGED
V7C867	Bet_v_1 domain-containing protein	4,64	16528,65	23224,36	12	76,28	94648,11	71882,22	0,043354	0,396939	UNCHANGED
V7BTM5	Uncharacterized protein	5,33	35938,27	1462,577	10	45,54	38259,67	68643,89	6,83E-06	-0,84331	DOWN
V7BFS2	Phosphoglucomutase (alpha-D-glucose-1,6-bisphosphate-dependent)	6,05	68626,75	904,1878	10	22,93	11672,78	23927,11	2,23E-05	-1,0355	DOWN

T2DLW1	40S ribosomal protein S3-3-like protein	10	26895,29	4799,715	17	74,79	98406,22	36686,05	1,25E-05	1,423518	UP
V7BGE1	Uncharacterized protein	5,59	71201,78	38676,94	50	72,76	1092346	704993,1	0,028953	0,631749	UP
V7AUJ5	Uncharacterized protein	4,46	40541,04	2440,22	2	7,53	7667,367	20566,31	7,06E-05	-1,42348	DOWN
T2DLX0	40S ribosomal protein S3-3-like protein	10	26401,86	3986,356	16	74,04	23485,37	21272,84	0,088348	0,14275	UNCHANGED
V7CB58	Aldedh domain-containing protein (Fragment)	5,2	51453,02	3002,39	16	63,21	63174,56	81367,22	0,000249	-0,3651	UNCHANGED
V7CF38	Citrulline--aspartate ligase	8,05	52837,55	1145,908	15	37,87	24184,11	40203,89	0,000217	-0,73328	DOWN
V7B7H6	Uncharacterized protein	9	22923,23	20793,98	9	46,33	524648,2	245221,8	7,87E-05	1,097263	UP
V7BVW3	Aldedh domain-containing protein	9,52	23800,59	6865,512	9	52,13	53917,89	82775,78	0,000171	-0,61844	DOWN
V7BEC0	Uncharacterized protein	6,48	61600,85	1689,037	14	34,09	27337,44	44901,82	0,000847	-0,7159	DOWN
V7BU01	Protein-serine/threonine phosphatase	8	31214,36	1011,815	2	9,19	40334,9	13783,18	0,000383	1,54912	UP
V7BSM8	Annexin	7,13	36252,15	18239,36	22	76,43	341742,3	360811,8	0,041225	-0,07834	UNCHANGED
V7AVK2	AAA domain-containing protein	8,37	44793,58	1100,603	8	28,14	17765,78	21709	0,021145	-0,28919	UNCHANGED
V7AR26	Proteasome subunit alpha type	5,87	27516,2	1146,703	5	37,2	3204,375	5138,614	0,010675	-0,68134	DOWN
V7BP04	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	9,3	22055,35	1397,432	5	33,82	32965,78	45081,67	0,001279	-0,45157	UNCHANGED
V7AV43	Uncharacterized protein (Fragment)	8,57	23477,55	14243	6	34,86	455358,4	100168,7	1,3E-05	2,184571	UP
V7CDG1	Str_synth domain-containing protein	5,08	40788,66	1154,232	9	34,96	39608,67	15852,44	0,000253	1,321111	UP
V7BF09	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	6,37	62693,25	614,8356	6	15,97	12990,22	16624,11	0,003177	-0,35585	UNCHANGED
V7APV2	Uncharacterized protein	5,45	23580,54	2183,495	8	49,76	19433,21	15678,73	0,02184	0,309716	UNCHANGED
V7CZX7	Uncharacterized protein	6,17	35445,1	7883,334	16	47,17	208095,8	381354,6	2,67E-05	-0,87389	DOWN
V7B114	Uncharacterized protein	4,9	71216,48	7892,4	28	60,12	266743,4	258097,5	0,56624	0,047536	UNCHANGED
V7AZT1	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	5,6	39343,93	526,8438	2	7,46	20786,5	24188,17	0,008569	-0,21865	UNCHANGED
V7BP18	Clathrin heavy chain	5,12	195355,2	453,5396	11	10,31	93264,08	17768,58	0,005096	2,391993	UP
V7AL80	Acetohydroxy-acid reductoisomerase	6,62	63402,27	779,725	3	9,53	13325,71	13857,8	0,156594	-0,05649	UNCHANGED
V7CLA3	Tubulin beta chain	4,58	50338,37	1749,647	15	48,53	12391,98	19185,49	0,002102	-0,63061	DOWN
V7CUX0	Uncharacterized protein	5,13	77699,32	4666,56	27	47,07	123558,1	186805,3	7,68E-05	-0,59635	UNCHANGED
V7B0P3	Transaldolase	5,84	48741,93	911,0356	4	29,12	11409	13988,89	0,053208	-0,29411	UNCHANGED
E9NZT0	Ribosomal protein L19	11,86	24528,03	2979,55	6	30,62	33004,81	33002,41	0,999402	0,000105	UNCHANGED
V7CR67	60S ribosomal protein L6	10,6	26130,62	1877,445	7	39,91	19023,27	22528,89	9,36E-05	-0,24401	UNCHANGED
V7C5Y6	Lectin_legB domain-containing protein	4,54	29974,43	10935,49	6	38,99	8668,897	6714,593	0,143215	0,368549	UNCHANGED
V7BHZ3	Uncharacterized protein	5,31	27168,98	1374,898	7	36,29	32937,33	33628,89	0,594306	-0,02998	UNCHANGED
T2DNM6	Proteasome subunit beta	5	25079,29	2683,257	7	49,79	161887,8	113491,4	0,041667	0,512411	UNCHANGED
V7AV84	Uncharacterized protein	9,4	61038,03	637,2419	4	10,77	26899,44	7489,833	0,000134	1,844571	UP



V7CM38	Peptidase_M3 domain-containing protein	5,76	88565,87	2447,431	32	61,89	79513,89	106094,3	0,017961	-0,41607	UNCHANGED
V7CDE0	Malate dehydrogenase	8,48	43809,04	2276,004	14	50,12	28793,67	56175,56	0,000353	-0,96419	DOWN
V7BFR1	Alpha-L-fucosidase	6,58	56385,09	816,9902	5	19,23	38814,11	8213,667	2,13E-05	2,240483	UP
V7BWR2	Dirigent protein	6,66	21129,11	1699,495	3	21,47	21203,78	31677,78	0,004069	-0,57915	UNCHANGED
V7CZL3	Phosphopyruvate hydratase	5,24	47946,45	5821,428	18	66,44	68544,89	89902	0,028403	-0,3913	UNCHANGED
V7BQX5	Tubulin beta chain	4,55	50933,07	2140,131	18	60,85	31522,38	39631,79	0,007503	-0,33028	UNCHANGED
V7B0E4	Uncharacterized protein	5,23	41920,04	2437,917	11	55,23	35304,78	27870,67	0,139227	0,341116	UNCHANGED
T2DNB9	Pyridoxal biosynthesis protein PDX1-like protein	5,7	33690,65	901,5806	5	22,44	35574,78	13796,89	1,09E-05	1,366512	UP
V7BWK1	Uncharacterized protein	5,82	27317,11	21082,6	17	91,7	267436,6	279538,6	0,681544	-0,06385	UNCHANGED
T2DNF1	60S ribosomal protein L13a	10,62	23976,53	1880,519	9	44,17	44707,11	44169,56	0,930179	0,017452	UNCHANGED
V7ARK4	Uncharacterized protein	5,71	36817,09	612,8856	4	21,6	13754,44	13568,89	0,571549	0,019595	UNCHANGED
V7AQS4	Catalase	6,85	56905,03	460,6433	5	13,41	25483,44	21611,56	0,00134	0,237757	UNCHANGED
V7AKA4	Glyco_hydro_18 domain-containing protein	5,81	36893,62	9955,188	11	39,14	273733,8	276495,8	0,890759	-0,01448	UNCHANGED
V7BAI3	Uncharacterized protein	4,92	58716,84	592,6031	7	21,5	19541,67	23788,89	0,00669	-0,28373	UNCHANGED
V7AXG5	S4 RNA-binding domain-containing protein	10,75	23105,64	1946,235	6	25,38	51836,46	82161,12	0,00471	-0,66449	DOWN
V7AMF3	Ferritin	5,46	29309,08	921,2958	5	24,62	19370,31	13969,7	0,04659	0,471546	UNCHANGED
V7C497	Uncharacterized protein	5,11	28395,41	2590,756	4	15,51	18279,11	25818,08	0,011241	-0,49819	UNCHANGED
V7BEL4	Abhydrolase_3 domain-containing protein	8,22	37892,55	675,1255	2	8,88	27176,67	32099,5	0,608705	-0,24018	UNCHANGED
V7C8K4	S5 DRBM domain-containing protein	10,8	30031,81	4488,572	13	56,83	220111,2	169032,2	0,012006	0,380934	UNCHANGED
V7B198	Uncharacterized protein	9,04	35058,93	1081,709	6	32,39	24315,78	37359	0,000388	-0,61956	DOWN
V7AVP7	14_3_3 domain-containing protein	4,74	28311,97	3685,438	9	44,35	22085,12	21805,28	0,838825	0,018397	UNCHANGED
V7BFI2	TYR_PHOSPHATASE_2 domain-containing protein	5,46	39419,15	3515,237	14	54,78	60107,44	68507	0,001028	-0,18871	UNCHANGED
Q41111	Dehydrin	5,16	22973,5	1757,341	5	32,18	14939,11	19415,67	0,329501	-0,37813	UNCHANGED
V7C7H0	Ribosomal_L6e_N domain-containing protein	10,65	25846,25	2103,148	10	50,43	56060,14	34191,66	7,49E-06	0,713331	UP
T2DMS9	SKP1-like protein	4,32	17651,78	2546,831	5	49,03	28192,33	30642,67	0,550296	-0,12024	UNCHANGED
V7B850	14_3_3 domain-containing protein	4,48	29413,84	5238,642	16	70,5	16930,04	24318,5	0,003595	-0,52247	UNCHANGED
V7BLY4	AB hydrolase-1 domain-containing protein	5,65	36393,69	4526,828	9	38,68	17890,27	8884,184	0,000702	1,009864	UP
V7AE97	Uncharacterized protein	4,89	23394,18	6031,886	13	85,44	54568,31	53094,82	0,513046	0,039492	UNCHANGED
V7AU90	Glucose-1-phosphate adenyltransferase	6,34	58317,89	932,7545	8	20,76	21263	23453,78	0,181269	-0,14148	UNCHANGED
V7AWT7	Uncharacterized protein	5,47	90218,73	2226,582	18	37,19	92331,67	173585,6	0,004873	-0,91075	DOWN
V7CQR2	Aspartate-semialdehyde dehydrogenase	6,12	41052,89	426,1006	3	12,8	15859,94	29081,11	0,005736	-0,87469	DOWN
V7C111	Uncharacterized protein	6,75	45081,73	5778,527	15	59,71	141055,9	146422,2	0,848597	-0,05387	UNCHANGED

T2DPJ8	40S ribosomal protein S6	11,15	28387,07	6411,626	6	34,82	11671,62	22497,29	0,001697	-0,94675	DOWN
V7BB35	Vacuolar proton pump subunit B	4,81	54393,87	888,5346	10	48,47	37577,33	48102	0,001933	-0,35623	UNCHANGED
V7C7X2	N-acyl-L-amino-acid amidohydrolase	5,7	50623,43	455,6319	3	9,07	13924,67	24786,11	0,002271	-0,83189	DOWN
V7CRL9	Uncharacterized protein	9,27	8634,003	8234,852	2	31,51	142215,7	19046,5	0,005398	2,900483	UP
V7CA94	Uncharacterized protein	7,85	29631,38	1580,276	6	35,14	29116,78	7362,697	3,09E-05	1,983545	UP
V7BKJ4	Uncharacterized protein	6,09	29840,19	676,3065	2	9,03	28704,67	33348,67	0,033496	-0,21634	UNCHANGED
V7D0Y0	TRASH domain-containing protein	11,17	18455,74	1244,349	3	19,63	34879,33	35911,44	0,500859	-0,04207	UNCHANGED
V7CR63	EF1_GNE domain-containing protein	4,21	25042,17	2801,004	8	54,11	25320,69	23514,13	0,000883	0,106789	UNCHANGED
V7CBZ3	Glutamate dehydrogenase	6,01	45439,89	644,7121	3	15,05	14710,78	9666,556	0,00249	0,6058	UP
V7CD29	Uncharacterized protein	4,74	37567,57	812,0388	7	30,24	38942,33	36944,11	0,347698	0,075995	UNCHANGED
V7BP67	Peptidase A1 domain-containing protein	7,78	46986,46	1404,037	6	23,79	48598,71	35169,86	0,02553	0,466579	UNCHANGED
V7BWH9	Peptidase A1 domain-containing protein	8,99	47488,22	764,7455	4	10,32	17708,56	18035,11	0,641236	-0,02636	UNCHANGED
V7AFM3	Uncharacterized protein	4,92	71514,86	6910,92	27	62,1	42751,75	22389,3	0,000228	0,933174	UP
V7B8Z2	Ribosomal_L16 domain-containing protein	10,92	25374,39	4864,152	10	44,34	14319,57	18469,4	0,006718	-0,36715	UNCHANGED
V7BQW2	Amidohydro-rel domain-containing protein	6,44	58689,28	3040,877	20	49,25	234088,1	246521	0,506017	-0,07466	UNCHANGED
V7CVE6	Uncharacterized protein	9,1	10149,68	6179,673	3	28,41	103363,7	48529,11	0,001407	1,090807	UP
V7BTD0	Phosphoglycerate kinase	6,18	42249,85	5382,853	18	77,56	90491,56	105241,2	0,234321	-0,21784	UNCHANGED
V7BBR4	Uncharacterized protein	4,86	26222,1	58088,04	16	91,05	513742,6	591468,7	0,014289	-0,20326	UNCHANGED
V7AMW9	Bet_v_1 domain-containing protein	5,4	18275,5	20426,05	12	78,75	155120,9	157386	0,686942	-0,02091	UNCHANGED
V7CPA5	Glutathione peroxidase	8,8	25841,31	5591,085	8	46,52	115950,8	98467,78	0,037584	0,235789	UNCHANGED
V7BJW0	Uncharacterized protein	10,75	15836,56	3555,893	4	24,29	11193,8	12546,11	0,393891	-0,16454	UNCHANGED
V7CD96	40S ribosomal protein S4	10,65	30027,03	3389,116	13	56,82	51499,33	92196,78	0,001935	-0,84016	DOWN
V7B2G6	Phosphoglycerate mutase (2,3-diphosphoglycerate-independent)	5,43	60956,24	427,815	4	10,93	23580,89	36623,33	6,37E-05	-0,63515	DOWN
V7D1L4	Methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase	7,38	31739,66	2258,175	9	45,24	39898,67	38494,33	0,744007	0,051694	UNCHANGED
V7BV45	Uncharacterized protein	10,13	39685,72	1411,43	8	28,07	34441,4	19042,78	0,001038	0,8549	UP
V7CXB2	NAC-A/B domain-containing protein	4,16	21841,09	1513,251	4	27,64	13825,43	15456,83	0,094183	-0,16092	UNCHANGED
V7BLY3	Uncharacterized protein	10,6	16037,48	3043,323	5	33,57	45643,44	73138,44	7,76E-05	-0,68022	DOWN
V7C335	Elongation factor 1-alpha	9,39	49673,3	15895,33	22	66,67	526916,1	529207,3	0,922021	-0,00626	UNCHANGED
V7C487	40S ribosomal protein S27	8,89	9956,352	5963,467	3	44,19	39500,67	60931,89	0,002816	-0,62532	DOWN
V7BCX8	Uncharacterized protein	9,16	27531,99	1381,896	6	26,94	48260,22	21479,89	1,46E-05	1,167848	UP
V7B788	Clathrin heavy chain	5,07	194404,9	713,8705	27	26,54	31993,7	146391,9	2,87E-05	-2,19398	DOWN

V7B6Z4	Fructose-bisphosphate aldolase	6,82	38828,94	8722,731	19	77,65	168479,1	148975	0,326843	0,177499	UNCHANGED
V7CMH4	40S ribosomal protein S6	11,15	28585,29	7919,157	5	34,54	91824,13	110457,1	0,030734	-0,26654	UNCHANGED
V7BIN2	Usp domain-containing protein	6,08	20044,07	16920,3	9	63,19	200036,2	156611,7	0,112518	0,35307	UNCHANGED
V7CFR2	Uncharacterized protein	10,7	10469,16	2018,016	3	34,78	30142,83	31830,78	0,307321	-0,07861	UNCHANGED
V7BU45	Uncharacterized protein	5,73	48218,47	1784,759	14	45,58	43269,89	54233,23	0,007588	-0,32581	UNCHANGED
V7C5Y1	Aldose 1-epimerase	5,57	37267,76	1008,503	4	22,71	21325	17063,11	0,03849	0,321665	UNCHANGED
V7ACP9	DUF4149 domain-containing protein	9,52	46386,72	3870,143	9	39,56	107794,2	70264,11	4,21E-05	0,61742	UP
V7B7E3	Amidohydro-rel domain-containing protein	6,38	62076,18	859,3459	5	6,27	25306,18	21694,8	0,283334	0,222141	UNCHANGED
V7D221	Prolyl-tRNA synthetase	5,99	58533,68	629,4023	4	14,31	15120,44	16473,67	0,508492	-0,12366	UNCHANGED
T2DQ31	40S ribosomal protein S17-4	10,4	15815,37	3717,595	5	23,7	42373,65	40840,89	0,731699	0,053153	UNCHANGED
V7BBZ7	Cytochrome b5 heme-binding domain-containing protein	4,28	23175,11	3512,252	7	54,5	62845,83	70956,75	0,173078	-0,17512	UNCHANGED
Q43634	Intracellular pathogenesis related protein	4,75	16389,58	13751,51	7	69,68	27237	18912,56	0,011576	0,526223	UNCHANGED
V7BIS6	Cyanate hydratase	5,51	18778,34	1547,929	3	36,36	10463,78	14216,22	0,005771	-0,44213	UNCHANGED
V7BMF8	Glutathione transferase	5,68	25076,69	3638,652	7	51,63	47402,76	44456,25	0,69947	0,092585	UNCHANGED
V7BVD2	Aconitate hydratase	7,55	107666,5	3619,424	22	41,91	19331,47	35381,08	1,3E-05	-0,87203	DOWN
V7CN37	Ribosomal_S17_N domain-containing protein	11,09	18077,09	3852,332	10	57,86	24334,58	41325,31	0,001598	-0,76402	DOWN
V7AWB2	Gp_dh_N domain-containing protein (Fragment)	9,06	20239,17	41465,19	8	50,56	188973,6	208844,8	0,203362	-0,14425	UNCHANGED
V7BCY8	ATP synthase subunit d, mitochondrial	4,83	19857,42	1118,272	2	15,48	12737,67	18375	0,015872	-0,52864	UNCHANGED
V7BGH4	Calreticulin	4,31	48442,23	5222,726	20	70	136415,1	217986,3	0,000771	-0,67623	DOWN
V7CFC6	Reticulon-like protein	9,78	24702,13	1878,873	2	13,68	36163,33	32201,67	0,488149	0,167392	UNCHANGED
V7CWQ4	S-(hydroxymethyl)glutathione dehydrogenase	6,07	41229,79	5249,805	15	68,34	138354,3	127721,4	0,175834	0,115367	UNCHANGED
U5U060	Oligomycin sensitivity conferring protein	9,92	26891,26	782,5512	3	20,41	15328,39	18654,56	0,042107	-0,28332	UNCHANGED
V7BS83	60S ribosomal protein L18a	10,88	21483,39	5292,399	8	55,62	71699,44	85527,44	0,03408	-0,25443	UNCHANGED
V7CXD6	Glutaredoxin-dependent peroxiredoxin	7,99	23057,35	608,3074	2	16,2	21681	40683,67	0,022552	-0,90802	DOWN
V7BA18	HATPase_c domain-containing protein	4,77	80463,41	5421,9	26	60,09	129945	128746,3	0,805555	0,01337	UNCHANGED
V7CQZ8	SHSP domain-containing protein	5,62	18353,74	3897,712	6	46,88	12040,49	13302,82	0,131145	-0,14384	UNCHANGED
V7B5W7	Uncharacterized protein	7,81	12183,41	1860,903	2	39,29	14185	29710,17	0,005532	-1,06659	DOWN
V7CVX7	Uncharacterized protein	9,67	15954,39	4787,922	3	33,55	31323,95	85402,32	0,011513	-1,44701	DOWN
V7BUB6	Uncharacterized protein	5,57	26118,52	11095,7	16	51,04	111562,9	151363,1	0,002159	-0,44016	UNCHANGED
V7BFL3	Uncharacterized protein	5,6	57559,17	40639,33	38	84,66	822962,4	1065920	0,001401	-0,3732	UNCHANGED
V7B803	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	4,87	51849,22	10727,91	29	76,97	230619,3	255201,6	0,059315	-0,14612	UNCHANGED
V7BBU1	Hcy-binding domain-containing protein (Fragment)	4,91	31387,02	929,7641	2	14,18	17093,83	16441,5	0,610331	0,056134	UNCHANGED

V7CMV3	Uncharacterized protein	6,27	26613,87	749,5088	2	10,09	31057	22228,67	0,000284	0,482497	UNCHANGED
V7BAZ0	ATP synthase subunit beta	5,7	59848,15	11213,16	21	74,91	147099,1	204146,7	0,004024	-0,47282	UNCHANGED
V7AT21	SHSP domain-containing protein	8,9	29300,88	931,8753	3	19,07	6981,833	11126,56	0,010898	-0,67233	DOWN
V7AR71	40S ribosomal protein S12	5,4	15309,52	5993,534	3	33,57	54569,67	88428,89	0,00142	-0,69642	DOWN
T2DLN4	60S ribosomal protein I9	9,72	21949,34	7174,109	13	64,25	47197,63	62502,44	0,001962	-0,4052	UNCHANGED
V7BUJ1	LRRNT_2 domain-containing protein	8,94	53722,48	2513,088	15	45,34	92816,67	16539,22	0,004355	2,488492	UP
V7C4W6	Uncharacterized protein	4,81	23705,18	2453,913	6	44,44	41917,22	51278,89	0,236296	-0,29082	UNCHANGED
V7B117	Uncharacterized protein	9,13	29726,74	3995,38	13	62,32	89306,33	49518,22	0,003424	0,850803	UP
V7C268	Tripeptidyl-peptidase II	5,52	147026,5	1998,759	55	58,69	57913,11	106389,2	0,003225	-0,87739	DOWN
V7AHZ1	Senescence domain-containing protein	6,59	46089,31	514,6983	2	9,37	12399,67	13550,17	0,066033	-0,12801	UNCHANGED
V7BP57	Peptidase A1 domain-containing protein	8,51	47238,88	1208,203	8	34,41	12352,48	11458,24	0,319983	0,108415	UNCHANGED
V7AK23	Malate dehydrogenase	8,8	36251,73	10338,7	14	74,2	124881,8	156816,4	0,001899	-0,32851	UNCHANGED
V7BBQ8	Dihydrolipoylysine-residue succinyltransferase	9,57	50510,97	1119,682	5	12,47	40672	42168,33	0,472581	-0,05212	UNCHANGED
V7D014	1,4-alpha-glucan branching enzyme	5,14	99079,42	596,1606	6	13,1	22314,67	15895,89	0,025107	0,489339	UNCHANGED
V7CBD0	Ribosomal_L18e/L15P domain-containing protein	11,04	16360,33	2686,164	6	49,32	41888,03	54860,22	0,030909	-0,38922	UNCHANGED
V7AJR2	Uncharacterized protein	10,08	41896,14	1331,14	5	14,81	37437,43	73717,41	0,000497	-0,97752	DOWN
V7CMT5	Uncharacterized protein (Fragment)	11,85	10621,6	5820,473	4	43,01	56018,78	28616,22	0,012217	0,969077	UP
V7BFL0	Uncharacterized protein	5	27190,41	9324,303	15	83,46	88650,22	112292,3	0,005787	-0,34106	UNCHANGED
V7BFT4	Uncharacterized protein	8,81	39130,68	37675,16	22	73,45	666734,8	636127,7	0,39913	0,067797	UNCHANGED
V7C056	Uncharacterized protein	7,52	20175,42	2293,221	2	15,03	21217,33	12579,67	0,026259	0,75415	UP
V7CZE1	Adenosine kinase	5,93	37870,26	1568,159	12	56,89	24772,78	25422,33	0,769919	-0,03734	UNCHANGED
V7BDD6	Pyruvate kinase	6,3	58224,04	2225,412	12	36,31	34325,66	37339,27	0,36407	-0,12141	UNCHANGED
V7CIN9	UDP-glucose 4-epimerase	7,02	43765,79	800,2661	5	16,2	10682,78	16020,11	0,003401	-0,5846	UNCHANGED
V7ANK0	Uncharacterized protein	6	22190,44	1334,705	2	21,94	41972	30183	0,423338	0,475691	UNCHANGED
V7CSN5	Uncharacterized protein	4,66	62703,27	5963,041	22	56,49	71093,35	90993,28	0,014156	-0,35605	UNCHANGED
V7B080	Uncharacterized protein	5,08	42000,98	6506,766	18	59,95	36494,72	44937,67	0,043376	-0,30024	UNCHANGED
V7BPF8	Uncharacterized protein	8,17	18460,97	1228,799	3	27,81	8219,5	10075,78	0,037138	-0,29377	UNCHANGED
V7AWC5	4-alpha-glucanotransferase	5,97	63609,99	3029,141	16	41,1	86426	89716,56	0,445065	-0,05391	UNCHANGED
V7BT57	Aldedh domain-containing protein	5,04	37059,28	4851,262	16	63,11	103318,6	128984,9	0,001965	-0,3201	UNCHANGED
V7B2L4	14_3_3 domain-containing protein	4,49	29093,71	8338,596	15	73,44	82097,35	115447,4	0,00019	-0,49183	UNCHANGED
V7AHC4	Protein disulfide-isomerase	4,52	65124,95	597,2828	6	10,92	26757,89	40711,44	0,007582	-0,60547	DOWN
V7AV18	Protein disulfide-isomerase	4,89	57742,88	21125,6	35	83,98	376367,8	456880,9	0,003978	-0,27967	UNCHANGED

V7AQB1	Lipoxygenase	6,24	97958,55	2336,58	6	7,38	6034,994	5324,152	0,337486	0,1808	UNCHANGED
T2DNI1	Hydroxyacylglutathione hydrolase	5,6	28929,44	545,8112	3	12,79	19292	26673	0,054022	-0,46738	UNCHANGED
V7AGU9	NAD(P)-bd_dom domain-containing protein	6,82	39197,88	1984,092	9	38,15	18567,53	25948,74	0,031046	-0,48288	UNCHANGED
V7BTD9	Uncharacterized protein	5,47	63285,24	1064,107	9	25,97	19950,67	30073	0,014825	-0,59203	UNCHANGED
V7CRP8	Polyadenylate-binding protein	7,91	71711,44	360,2807	2	3,99	12817,4	18707,27	0,002559	-0,54549	UNCHANGED
V7CYN3	NAC-A/B domain-containing protein	4,22	21796,1	1500,972	6	52,24	22492,72	32596	0,00079	-0,53524	UNCHANGED
V7BS67	Uncharacterized protein	11,44	16379,8	8306,645	10	67,33	72072,44	85323,67	0,118409	-0,2435	UNCHANGED
V7C2G9	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine S-methyltransferase	5,85	84581,65	7344,903	19	39,06	8277,286	7500,102	0,060216	0,142248	UNCHANGED
V7BTT2	Uncharacterized protein	5,16	41823,85	8652,514	16	56,23	89634,63	119743,3	0,027391	-0,41782	UNCHANGED
V7BAC3	SHSP domain-containing protein	5,96	17782,08	30075,97	13	82,8	488458,2	515376,4	0,079215	-0,07739	UNCHANGED
V7BJH6	Seryl-tRNA synthetase	5,93	51878,53	1532,951	9	45,41	57933,89	52962,33	0,066949	0,129441	UNCHANGED
V7AXU4	Protein disulfide-isomerase	5,39	56710,15	2510,694	15	39,88	69553,75	125122	0,046637	-0,84714	DOWN
V7C7X4	Uncharacterized protein	6,59	50372,75	14758,6	23	70,57	242058,4	252738,8	0,107981	-0,06229	UNCHANGED
V7CRE9	Ribonuclease	6,16	108818,1	837,6277	17	25,15	34094,33	61657,78	0,001555	-0,85475	DOWN
V7CS94	Biotin carboxylase	8,21	58584,23	839,491	7	22,5	14397,67	22357,56	0,000332	-0,63493	DOWN
V7AJY8	Uncharacterized protein	10,46	53603,37	3667,652	11	23,33	7347,259	4953,368	0,038285	0,568796	UNCHANGED
V7B7M0	SHSP domain-containing protein	7,77	17767,2	16558,34	11	67,95	122880,1	136617	0,09199	-0,15289	UNCHANGED
V7C9Z9	Carbonic anhydrase	5,34	28560,25	7504,738	17	80,86	145546,3	99132,11	0,00398	0,554054	UNCHANGED
V7BSG9	Uncharacterized protein	5,63	27944,93	14306,27	13	68,16	304091,2	463865,3	0,000243	-0,6092	DOWN
V7CDG3	Aldedh domain-containing protein	6,37	61816,8	957,0825	11	31,65	25279,33	29740,67	0,101406	-0,23448	UNCHANGED
V7AQB6	Uncharacterized protein	5,21	47002,59	3837,852	22	59,56	33104,34	34017,33	0,792191	-0,03925	UNCHANGED
V7BL53	Ribosomal_S17_N domain-containing protein	11,09	18081,11	4280,655	9	57,86	55588,2	62775,81	0,035417	-0,17543	UNCHANGED
V7B8S3	Uncharacterized protein	9,67	22820,34	3052,899	6	48,78	24765	34704	0,073907	-0,4868	UNCHANGED
V7B9I8	EF1_GNE domain-containing protein	4,38	24244,34	3644,829	10	58,82	91170,06	102502,7	0,5854	-0,16903	UNCHANGED
V7BB47	Protein disulfide-isomerase	5,48	47947,76	1984,38	11	44,95	57810,44	70303,22	0,261861	-0,28226	UNCHANGED
V7AGN7	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 homolog	4,91	97935,8	579,8067	10	15,82	24180	25807,22	0,006846	-0,09396	UNCHANGED
V7BZR0	Uncharacterized protein (Fragment)	5,03	38725,02	518,48	3	14,94	17948,72	11134,06	0,028357	0,688902	UP
V7CMM8	Alpha-1,4 glucan phosphorylase	5,27	112037,4	5112,565	17	31,05	10042,52	11952,43	0,028714	-0,25118	UNCHANGED
V7CEC3	Uncharacterized protein	5,35	22786,66	1350,488	4	25,74	12753	30410,22	0,001346	-1,25372	DOWN
V7BUX9	Uncharacterized protein	10	41873,2	1520,702	6	17,4	18536,94	17662,42	0,17317	0,06972	UNCHANGED
V7CQ93	Profilin	4,7	14295,32	2512,694	3	63,36	15784	15638,82	0,927886	0,013331	UNCHANGED

V7BRF6	Uncharacterized protein	5,39	65279,33	709,9324	8	24,33	29642,22	20095,26	0,022506	0,560799	UNCHANGED
V7D0W9	Ribosomal protein L19	11,86	24624,16	1848,99	5	27,96	21030,4	23037,04	0,39982	-0,13148	UNCHANGED
V7CNB9	Alpha-galactosidase	7,58	72093,36	449,4706	3	7,85	23566,56	13817,67	0,034461	0,770227	UP
V7CZL4	Ferritin	5,31	29623,45	3322,659	7	47,35	333983,6	356773,9	0,011196	-0,09523	UNCHANGED
V7C6Y0	Pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit alpha	6,38	68253,89	365,8901	4	10,05	14771	16279,78	0,206586	-0,14031	UNCHANGED
V7B9Z2	Uncharacterized protein	5,86	23436,12	2252,463	10	77	76741,56	100235,7	0,217455	-0,38532	UNCHANGED
V7AFC8	Uncharacterized protein	4,92	61637,4	695,7545	9	25,86	19662	35856,44	0,008976	-0,86682	DOWN
V7CIK0	Uncharacterized protein	10,25	14835,4	4656,816	6	50	-	40199,8	-	-	UNIQUE L8
V7D1C6	Uncharacterized protein	5,81	24212,25	351,6436	2	9,77	15829,67	10074,83	0,000452	0,651875	UP
V7BHC4	Peptidase A1 domain-containing protein	8,73	46664,11	2021,356	9	33,56	53690,44	43204,89	0,035585	0,313471	UNCHANGED
V7BFL4	Cupin type-1 domain-containing protein	4,9	41704,12	56512,68	25	79,51	899383,3	863147,6	0,636799	0,059329	UNCHANGED
V7BBA0	Ferritin	5,85	27874,76	5554,65	11	57,09	106038,8	63080,56	0,00661	0,749325	UP
V7CTB5	PKS_ER domain-containing protein	6,08	41778,55	3837,916	11	35,26	60100,62	92437,94	0,043083	-0,62111	DOWN
V7C1T5	Pyruvate kinase	6,12	55939,74	1690,248	17	52,75	57985,67	66736,89	0,016176	-0,20279	UNCHANGED
V7BT83	Phosphoglycerate kinase	9,05	49844,66	1091,516	8	27,25	95938,02	100300,9	0,116554	-0,06416	UNCHANGED
D3W146	Non-specific lipid-transfer protein	8,86	12349,07	17477,03	5	40,87	271862,6	335440,6	0,025792	-0,30318	UNCHANGED
V7ATU7	Thioredoxin domain-containing protein	5,76	13402,5	2080,702	3	33,61	46778,67	38484,33	0,00945	0,281579	UNCHANGED
V7BPP1	AB hydrolase-1 domain-containing protein	5,52	36337,52	14667,93	13	63,52	239315,9	215059,1	0,0798	0,154183	UNCHANGED
V7BNL7	Uncharacterized protein	7,21	23359,43	668,606	5	31,28	13124,33	13706,67	0,560881	-0,06263	UNCHANGED
V7ASE5	Glucose-6-phosphate isomerase	6,18	62887,73	1075,745	9	25,7	27190,89	29668,67	0,222384	-0,12582	UNCHANGED
V7C9Y9	UDP-glucose 4-epimerase	8	39385,94	5698,251	5	18,52	126247,7	116345,8	0,180133	0,117837	UNCHANGED
V7CN34	Guanosine nucleotide diphosphate dissociation inhibitor	5,28	50123,09	3188,681	18	59,1	111902,6	110026,2	0,698686	0,024396	UNCHANGED
V7C2N5	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	7,82	36665,95	25687,07	12	51,04	15137,55	14074,36	0,806652	0,105062	UNCHANGED
V7CZL8	Uncharacterized protein	4,84	27289	10184	14	62,45	177669,2	153752,9	0,007194	0,20858	UNCHANGED
V7B096	Uncharacterized protein	5,88	18929,27	2052,015	3	20	46103,11	46778,61	0,887008	-0,02098	UNCHANGED
T2DN03	Proteasome subunit beta	7,47	26280,05	1962,305	6	34,91	27692,67	30020,33	0,325587	-0,11644	UNCHANGED
V7B0A5	Uncharacterized protein	4,94	71543,01	6549,923	25	62,25	13311,38	15455,2	0,124565	-0,21543	UNCHANGED
V7CT13	Tubulin beta chain	4,59	50666,93	921,8216	7	19,28	24048,27	14861,41	0,004651	0,694362	UP
V7AQB5	AAA domain-containing protein	8,92	47233,88	772,6352	5	17,27	17754,44	19367,11	0,381001	-0,12543	UNCHANGED
V7CPQ1	AAA domain-containing protein	6,26	95544,98	1302,954	15	27,32	48545,56	40805,67	0,009972	0,25057	UNCHANGED
V7BL29	Uncharacterized protein	11,58	7511,744	6959,19	2	29,23	113530	129757,3	0,432281	-0,19274	UNCHANGED

V7BD83	Coatomer subunit delta	5,74	58417,3	789,038	3	9,43	14527,67	17287,78	0,048307	-0,25095	UNCHANGED
V7CGW9	Uncharacterized protein	6,52	20764,84	5193,212	10	80,11	80285,11	88825,7	0,498811	-0,14584	UNCHANGED
V7BAS7	Formyltetrahydrofolate synthetase	6,42	68066,97	3398,624	21	51,26	84690,11	78900,11	0,150702	0,102166	UNCHANGED
V7C8J3	Uncharacterized protein	6,64	39202,66	28125,24	30	68,91	256543,9	315862,2	0,13275	-0,30009	UNCHANGED
V7BUR4	Ketol-acid reductoisomerase	6,66	63387,16	1303,913	9	20,62	12640,78	30029,22	3,57E-05	-1,24828	DOWN
V7BF08	Uncharacterized protein	4,84	67750,65	6778,634	23	57,33	12331,93	11781,28	0,747375	0,065903	UNCHANGED
V7BN44	Peptidase_S9 domain-containing protein	5,82	82424,58	442,4502	3	7,47	11935,44	14661,17	0,000655	-0,29675	UNCHANGED
V7BVM2	Ribosomal protein	10,22	24667,13	1838,853	5	34,26	28054,48	44577,57	0,003279	-0,66809	DOWN
V7CTE5	Proteasome subunit beta	5,13	23199,53	1804,592	4	44,12	51495,89	49263,56	0,110211	0,063937	UNCHANGED
V7AVT2	Uncharacterized protein	6,09	26678,36	809,7888	3	13,91	15780,94	26600,17	0,000726	-0,75325	DOWN
V7AG63	RRM domain-containing protein	8,53	17048,05	1251,561	4	26,44	22775,07	34834,5	0,115648	-0,61306	UNCHANGED
V7BWV9	PfkB domain-containing protein	4,86	35464,57	7303,722	17	69,7	110444	97528,83	0,255804	0,179414	UNCHANGED
V7CH59	M20_dimer domain-containing protein	4,87	48115,7	925,3077	7	25,06	42928,22	36103,33	0,108149	0,249794	UNCHANGED
V7AUP3	Uncharacterized protein	10,14	18839,82	2527,471	2	39,55	45460,83	26542,33	0,051029	0,776329	UNCHANGED
V7CW25	Uncharacterized protein	9,25	12777,21	27918,25	5	62,81	93739,38	213888,3	0,001799	-1,19013	DOWN
V7BLB7	Histone H4	11,88	11409,4	13327,63	8	62,14	299981	223049,2	0,118814	0,427509	UNCHANGED
V7BGD9	Uncharacterized protein	9,95	14100,27	1402,886	2	16,26	-	11822,74	-	-	UNIQUE L8
V7BIH4	Ribosomal_S7 domain-containing protein	9,96	23095,56	4328,26	4	27,05	72013	119894,4	7,72E-05	-0,73544	DOWN
V7AHS3	Proteasome subunit alpha type	5,48	27432,13	1482,996	5	23,17	37306,67	43031,44	0,152866	-0,20596	UNCHANGED
V7BBU7	40S ribosomal protein S3a	10,25	29957,62	3088,499	10	49,81	26592,05	43501,98	5,81E-05	-0,71009	DOWN
V7BTF5	Uncharacterized protein	5,84	72753,4	792,3869	8	15,85	31001,11	29389,11	0,010043	0,077038	UNCHANGED
V7C8F3	Aldedh domain-containing protein	6,88	58802,05	782,975	8	23,36	30808,71	46102,66	0,000968	-0,58151	UNCHANGED
V7C3G4	Glutamine synthetase	5,26	39376,23	4175,047	9	47,19	45899	52839	0,099869	-0,20314	UNCHANGED
V7BIL6	Uncharacterized protein	4,95	90605,34	4331,381	32	63,01	112573,5	98197,72	0,425266	0,197105	UNCHANGED
V7CCI9	Uncharacterized protein	6,12	8762,513	16358,87	2	40,24	86492,83	127012,5	0,059042	-0,55432	UNCHANGED
V7BVR5	Uncharacterized protein	4,68	8213,908	8094,534	2	61,54	44957,17	56956	0,40419	-0,3413	UNCHANGED
V7ANA4	Uncharacterized protein	7,67	10838,85	16790,8	6	54,55	32265,44	96507	0,010842	-1,58064	DOWN
T2DN95	UDP-glucuronic acid decarboxylase	7,35	38637,37	2727,871	15	59,36	45219,59	48363,52	0,01076	-0,09697	UNCHANGED
H6WQB3	Allantoinase	5,4	56987,78	777,7686	9	24,8	27653,89	41000,11	0,015165	-0,56815	UNCHANGED
V7BVE8	Epimerase domain-containing protein	6,19	36320,62	1126,3	8	30,15	16619,21	23512,34	0,001733	-0,50057	UNCHANGED
V7C8Z4	Uncharacterized protein	4,64	64921,91	1933,098	18	49,39	110376,2	130506,6	0,309835	-0,24169	UNCHANGED
V7BRD9	Uncharacterized protein	5,01	73836,62	741,4806	8	23,66	-	30046,08	-	-	UNIQUE L8

V7BLU1	Uncharacterized protein	5,83	41936,84	1370,708	9	28,09	51750,89	56661,11	0,287934	-0,13078	UNCHANGED
V7BIJ9	Cysteine synthase	5,01	34742,11	1595,769	8	37,96	57059,11	62245,33	0,083441	-0,12551	UNCHANGED
V7AGS2	Uncharacterized protein	10,32	20900,23	4490,731	5	35,91	52308,44	77240	0,007077	-0,5623	UNCHANGED
V5N8E1	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	5,57	15300,68	5797,061	3	43,42	42854,11	68765,28	0,006682	-0,68225	DOWN
V7ATZ7	Tubulin beta chain	4,6	51200,31	1926,633	16	57,02	24927,19	14084,54	0,000161	0,823608	UP
V7C961	Uncharacterized protein	5,94	48066	2421,943	15	40,95	88998,56	77833,1	0,07607	0,193398	UNCHANGED
V7AER6	Uncharacterized protein	6,35	28479,05	5959,895	10	54,72	113561,8	126654,4	0,310522	-0,15742	UNCHANGED
V7BLB9	Malate dehydrogenase	5,48	35749,83	10388,07	14	55,12	157009,2	210590,3	0,017312	-0,42359	UNCHANGED
V7CRX8	UDP-glucose 4-epimerase	8,08	39443,99	31308,38	25	84,29	529833,1	409881,7	0,013521	0,370331	UNCHANGED
V7AIB2	Glyco_hydro_18 domain-containing protein	5,27	35586,88	28591,46	8	34,27	765236,3	890348,1	0,047902	-0,21846	UNCHANGED
V7CQB2	Malic enzyme	6,12	72333,23	1392,483	16	42,62	77300,57	84451,89	0,486564	-0,12765	UNCHANGED
V7ARA3	PCI domain-containing protein	9,02	56060,91	557,1169	4	11,91	16539,67	22330,56	0,018633	-0,43309	UNCHANGED
V7D1M3	CS domain-containing protein	4,2	20665,78	1062,654	3	26,34	22266,94	29071,11	0,015039	-0,38468	UNCHANGED
T2DLR9	Alcohol dehydrogenase 1	6,39	42210,09	22322,85	20	73,42	766059,7	776326,3	0,86963	-0,01921	UNCHANGED
V7BGZ2	Protein disulfide-isomerase	5,29	40583,85	6009,028	15	54,55	60731,89	172497,4	7,83E-06	-1,50605	DOWN
V7AWT8	Uncharacterized protein	9,68	30460,5	1285,087	5	28,62	31929,56	46073,22	0,000778	-0,52904	UNCHANGED
V7AE69	40S ribosomal protein S25	11,04	11969,05	4307,01	3	46,3	45421,67	57008,89	0,045152	-0,32781	UNCHANGED
V7AFT3	Poly [ADP-ribose] polymerase	5,31	92226,13	9816,464	46	77,71	146107,9	152442	0,29797	-0,06123	UNCHANGED
V7BJ41	AMP-binding domain-containing protein	7,94	80126,99	811,8121	9	20,89	59770,78	44706,33	0,001174	0,418961	UNCHANGED
V7BH19	Epimerase domain-containing protein	6,09	43066,91	809,7251	3	10,11	10637	20025,94	0,143934	-0,91278	UNCHANGED
V7B074	Importin subunit alpha	4,97	59000,79	954,7026	7	20,04	17467,55	14167,56	0,059094	0,302086	UNCHANGED
B3W6M4	Trypsin/chymotrypsin inhibitor	5,88	13943,39	15327,15	2	39,17	249500,2	18957	0,022882	3,718238	UP
V7ASP4	Ornithine transcarbamylase	8,08	40623,83	566,8577	3	12,85	16424,83	33396,39	0,00491	-1,02381	DOWN
V7AJR1	Annexin	6,69	35763,57	5679,928	15	61,34	118945,2	120242,6	0,88996	-0,01565	UNCHANGED
V7C3R6	Lectin_legB domain-containing protein	4,86	26962,9	28307,19	11	67,21	648383,1	641592,1	0,898257	0,01519	UNCHANGED
V7AS97	Lipoxygenase	6,45	95742,94	2952,418	9	15,37	145082,8	131095,6	0,718856	0,146257	UNCHANGED
V7BH64	Fructose-bisphosphate aldolase	7,84	38803,21	2444,375	6	22,41	50256,78	27710,74	0,026571	0,858873	UP
V7B8A1	Uncharacterized protein	10,35	28341,2	5703,832	10	48,15	169119,2	181570,6	0,051411	-0,10249	UNCHANGED
V7C356	Glutamate decarboxylase	5,37	56683,08	1371,004	11	38,08	36946,22	39597,67	0,053582	-0,09999	UNCHANGED
V7CPK9	Peroxiredoxin	9,06	28503,9	14831,28	13	53,15	322994,7	290978,9	0,07976	0,150596	UNCHANGED
V7CJP2	Cysteine synthase	5,54	34370,91	2435,85	15	68,31	52314,78	57952	0,317737	-0,14764	UNCHANGED
V7BWU7	Uncharacterized protein	4,59	19513,69	3625,753	7	61,7	40336	39443,89	0,699718	0,032266	UNCHANGED



V7AUA3	PCI domain-containing protein	6,03	47211,53	703,9063	5	16,11	27886,11	49382,67	0,000937	-0,82446	DOWN
V7AS22	Uncharacterized protein	9,92	21907,4	9323,563	12	66,32	55777,68	90329,8	0,000476	-0,69551	DOWN
V7CG35	60S ribosomal protein L13	11,42	23714,74	1054,161	7	38,83	14336,58	15519,03	0,528284	-0,11434	UNCHANGED
V7BPV5	Peptidase A1 domain-containing protein	7,25	47011,46	10162,64	14	48,94	664879,7	404097,3	0,000972	0,71839	UP
V7D092	Uncharacterized protein	6,67	27951,72	22980,23	18	75,52	266314,7	333935,3	0,004656	-0,32644	UNCHANGED
V7C6J2	Proteasome subunit beta	7,15	21381,17	2064,656	2	22,68	28445,5	40674,33	0,028106	-0,51592	UNCHANGED
V7ATG9	Lipoxygenase	6,27	96287,78	3233,847	18	26,11	71500	186105,9	0,004326	-1,38011	DOWN
V7BWP9	Phycocyanin domain-containing protein	8,97	46651,19	864,1341	4	12,61	50006,56	37562	0,087101	0,412843	UNCHANGED
V7AYI0	UDP-arabinopyranose mutase	5,91	42585,74	4698,693	8	25,61	5055,28	4455,505	0,20108	0,182202	UNCHANGED
C8YZ71	RACK1	7,61	36029,52	6808,942	15	64,81	194504,9	230284,4	0,000837	-0,24361	UNCHANGED
V7CDF5	Ribosomal_L2_C domain-containing protein	11,13	28401,56	2643,223	4	23,08	64329,11	54678,78	0,416206	0,234491	UNCHANGED
V7CNS9	Uncharacterized protein	5,13	94181,48	525,6806	6	13,46	16923,67	21471,22	0,02406	-0,34336	UNCHANGED
V7CGA9	EGF-like domain-containing protein	5,39	71073,66	1189,804	8	23,64	19907,88	28387,06	0,031834	-0,51189	UNCHANGED
V7AZ89	Proteasome subunit beta	5,96	29287,15	1794,841	8	54,04	39947,11	42861,56	0,33428	-0,10159	UNCHANGED
V7CXJ8	Uncharacterized protein	4,77	16088,95	2474,249	3	24,66	40009,33	66540,11	0,111112	-0,73389	UNCHANGED
V7AV39	Uncharacterized protein	5,73	41685,36	6056,847	13	49,47	76479,56	54572,85	0,004626	0,486891	UNCHANGED
V7BE66	Uncharacterized protein	5,88	27105,79	15236,6	11	56,96	272272,6	243611,1	0,114692	0,160472	UNCHANGED
V7BJF1	Uncharacterized protein	10,85	17161,28	6056,537	5	54,3	46668,89	73828,22	0,002217	-0,66171	DOWN
V7AJW8	CCT-beta	5,31	57635,42	726,9784	4	14,61	44983,22	42868	0,786074	0,069486	UNCHANGED
V7CZM8	Ribos_L4_asso_C domain-containing protein	11,04	44494,67	1829,115	13	47,01	50767,89	58828,22	0,190764	-0,21259	UNCHANGED
V7AX48	Aspartate transaminase	8,21	45175,72	622,2706	6	23,66	19872,78	32557	0,020168	-0,71217	DOWN
V7CIY2	Uncharacterized protein	6,85	45307,19	642,0173	6	26,96	22731,44	25295,89	0,464082	-0,15421	UNCHANGED
V7BFA0	Ribos_L4_asso_C domain-containing protein	10,93	44709,81	5510,703	18	57,04	89244,33	112407	0,005448	-0,3329	UNCHANGED
V7AED4	PfKB domain-containing protein	4,73	35709,71	3544,501	8	29,09	14337,8	22932,84	2,42E-05	-0,67759	DOWN
V7C6L3	PPDK_N domain-containing protein	6,31	164226	3934,179	51	48,42	142642	138786	0,812131	0,039537	UNCHANGED
V7C9M2	CYTOSOL_AP domain-containing protein	6,14	59990,6	837,1022	8	17,89	17886,25	25630,72	0,046861	-0,51902	UNCHANGED
V7D288	Serine hydroxymethyltransferase	7,25	52128,23	5666,114	24	79,19	358085,6	297897,6	0,050572	0,265488	UNCHANGED
V7C0V0	Allene-oxide cyclase	8,95	27990,51	606,7093	3	16,21	9814,389	9684,556	0,907049	0,019213	UNCHANGED
V7BXI4	Uncharacterized protein	9,79	14643,87	7458,796	5	38,85	31088,78	101092,7	0,002338	-1,70121	DOWN
V7BF97	Tubulin alpha chain	4,78	50077,21	1860,557	12	37,19	35371,7	15189,85	0,000918	1,219488	UP
V7CHR0	Uncharacterized protein (Fragment)	5,91	60802,81	1428,179	13	38,15	38728,33	45781,11	0,033582	-0,24136	UNCHANGED
O24320	Lipoxygenase	6,56	96592,86	3488,179	15	25,09	43345,89	79882,26	0,00055	-0,88198	DOWN

V7CUP3	Ribosomal_L18_c domain-containing protein	9,38	34603,24	2968,398	8	46,67	60990,56	60017,33	0,858172	0,023207	UNCHANGED
V7BJ61	Meth_synt_2 domain-containing protein	9,13	47169,3	4854,611	7	27,18	7529,588	5482,974	0,018395	0,457612	UNCHANGED
V7AP76	40S ribosomal protein SA	4,93	34059,62	4724,417	12	51,3	67502	133871,9	0,000379	-0,98785	DOWN
V7AL37	Usp domain-containing protein	6,37	18112,95	5733,166	12	85,19	113401,3	194222	0,002123	-0,77627	DOWN
T2DPE5	Nucleoside diphosphate kinase	7,75	16552,02	18330,77	9	65,77	183293,7	214071,9	0,008903	-0,22394	UNCHANGED
V7BHL0	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit, mitochondrial	6,65	39774,36	500,2437	3	16,43	10252,5	9840,556	0,650563	0,059164	UNCHANGED
V7AW68	SHSP domain-containing protein	5,87	17640,32	9325,417	7	59,62	172187,2	181217	0,196459	-0,07374	UNCHANGED
V7CP66	Uncharacterized protein	4,64	61647,17	5660,466	24	67,47	71392,21	89304,17	0,141934	-0,32296	UNCHANGED
V7CGM7	PEP_hydrolase domain-containing protein	5,96	81114,22	705,6011	3	7,34	10650,78	11677,67	0,352139	-0,13279	UNCHANGED
T2DM56	GTP-binding nuclear protein	6,41	25447,74	7204,154	10	64,25	174211,9	189469,7	0,053263	-0,12112	UNCHANGED
V7CIB7	Aconitate hydratase	5,6	98941,48	4946,667	30	53,27	144366,3	143415,9	0,883225	0,009529	UNCHANGED
V7ALQ5	Malate dehydrogenase	5,8	36263,54	5398,774	6	19,22	61247,68	61729,88	0,874459	-0,01131	UNCHANGED
V7BN55	Uncharacterized protein	8,79	33697,73	27659,69	14	48,22	680702,2	485869,7	0,043559	0,486454	UNCHANGED
V7BQN7	Proline iminopeptidase	5,79	44453,29	806,8599	8	38,87	38059,33	29685,22	0,079037	0,358505	UNCHANGED
V7BP31	Lactoylglutathione lyase	5,57	32464,9	1125,305	5	19,51	47238,67	41376,11	0,466492	0,19117	UNCHANGED
V7AFP4	Uncharacterized protein (Fragment)	9,66	50892,1	1088,109	5	14,44	23402,78	21567,78	0,34262	0,117802	UNCHANGED
V7C6C0	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	9,54	78408,52	642,5912	6	12,98	73922	76290	0,969484	-0,04549	UNCHANGED
V7ATN3	SERPIN domain-containing protein	8,41	46867,02	904,9645	5	15,57	23133,67	19467,11	0,02679	0,248955	UNCHANGED
V7BTW4	Knot1 domain-containing protein	7,45	9101,167	7259,229	2	32	69781,67	34788,5	0,019427	1,004238	UP
V7B3U0	Diadenosine tetraphosphate synthetase	6,69	81627,05	671,7346	11	20,58	36516,89	38004,56	0,535274	-0,05761	UNCHANGED
V7BK03	Glycine cleavage system H protein	4,98	20108,28	640,4825	2	21,23	16644	17876,5	0,179002	-0,10306	UNCHANGED
V7C3G7	CCT-theta	5,02	58997,14	312,1165	2	4,04	12813,83	10431,5	0,068132	0,296756	UNCHANGED
V7AML9	Ribosomal_S13_N domain-containing protein	10,81	17208,24	5870,087	7	56,29	81030,86	122386,9	0,090134	-0,59491	UNCHANGED
U5U2I1	40S ribosomal protein S3a	10,28	29859,62	3905,678	11	57,09	50384,51	61033,35	0,033819	-0,27662	UNCHANGED
V7CAV9	Eukaryotic translation initiation factor 5A	5,54	17727,84	2022,689	6	59,38	17267,89	24042,78	0,030642	-0,47751	UNCHANGED
V7AKI4	Uncharacterized protein	8,22	25471,02	4389,294	10	60,62	43222,67	33554,56	0,012191	0,365279	UNCHANGED
V7BPU4	Uncharacterized protein	5,22	32131,46	11899,97	6	30,14	4104,636	67437,49	0,001509	-4,03822	DOWN
V7D276	Protein transport protein SEC23	5,65	85661,3	1070,875	10	25,65	23334,61	22914,33	0,87382	0,026221	UNCHANGED
V7BWC0	NAD(P)-bd_dom domain-containing protein	7,34	39494,15	1262,254	10	43,27	5981,619	9257,724	0,124746	-0,63012	UNCHANGED
V7C0X0	Proteasome subunit alpha type	5,48	27522,24	2395,329	9	44,18	28897,22	34824,56	0,009613	-0,26917	UNCHANGED
V7BF75	Uncharacterized protein	10,6	44813,16	6310,427	18	49,87	60113,88	86074,78	0,002142	-0,51789	UNCHANGED
V7ARZ1	SHSP domain-containing protein	8,24	17761,23	1453,642	2	23,9	20688	25649	0,06982	-0,31011	UNCHANGED

B3KYI2	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing]	6,17	65249,88	387,3882	3	9,65	7584,167	6320,667	0,148032	0,262914	UNCHANGED
V7BX14	Lipoxygenase	5,91	97587,98	37432	52	69,19	1218911	1283597	0,447793	-0,0746	UNCHANGED
V7AWJ1	Ribosomal_L18e/L15P domain-containing protein	10,94	16626,64	890,7878	4	31,29	4074,172	4407,273	0,616585	-0,11338	UNCHANGED
V7ANJ8	WHy domain-containing protein	4,95	16742,38	47265,33	14	80,92	348174	441450,3	0,012314	-0,34244	UNCHANGED
V7CWI7	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	6,25	75050,72	528,1759	6	14,53	17215,22	21030,67	0,01293	-0,28881	UNCHANGED
V7AD31	Purple acid phosphatase	9,28	49196,6	860,002	7	23,08	6827,787	21982,4	0,00016	-1,68686	DOWN
V7CTG3	Tubulin beta chain	4,55	51090,19	1929,205	15	56,35	31768,26	21931,62	0,001061	0,534574	UNCHANGED
V7CZ55	Uncharacterized protein	4,91	71748,17	6657,9	23	56,37	2575,83	3201,78	0,062471	-0,31384	UNCHANGED
V7B8C8	Uncharacterized protein	11,03	15776,64	1949,849	6	46,62	15263,23	35771,62	5,94E-05	-1,22876	DOWN
V7BF33	AAA domain-containing protein	5,83	49529,06	501,4025	5	23,7	15284,89	21192	0,020548	-0,47141	UNCHANGED
V7CBy7	Uncharacterized protein	6,74	53276,16	820,223	8	36,6	26600	32888,56	0,107103	-0,30616	UNCHANGED
V7CFL4	Uncharacterized protein (Fragment)	4,75	42741,26	574,1166	2	12,76	11651,67	8892,833	0,073921	0,389821	UNCHANGED
V7AXD8	Xylulose kinase	5,73	61883,21	1139,973	12	29,03	31573	35594,67	0,369312	-0,17297	UNCHANGED
V7BYQ9	14_3_3 domain-containing protein	4,6	29676,27	1799,458	7	30,65	178888,4	44808,65	0,000631	1,997211	UP
V7BKZ2	Pyruvate kinase	6,7	58168,05	2626,647	11	40,04	32457,86	38201,38	0,063018	-0,23506	UNCHANGED
V7CAM9	Uncharacterized protein (Fragment)	4,54	40144,56	1752,022	7	23,31	30267,86	29582,87	0,813326	0,033025	UNCHANGED
V7C9P5	Uncharacterized protein	5,08	71540,1	15543,05	35	73,04	257381,6	254643,7	0,619438	0,015429	UNCHANGED
V7CL25	3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase	8,1	44995,96	586,0258	3	10,82	14408	13299,67	0,403277	0,11548	UNCHANGED
V7BUR9	Uncharacterized protein	6,83	55467,77	8551,207	23	59,28	182192,8	158320,7	0,569218	0,202616	UNCHANGED
V7AGN9	Usp domain-containing protein	7,37	18185,91	7744,335	12	82,32	103501,8	113460	0,148512	-0,13253	UNCHANGED
V7CJZ8	S10_ plectin domain-containing protein	10,02	19905,48	3538,589	5	29,05	53269,44	58824,89	0,246572	-0,14312	UNCHANGED
V7C654	Lectin_legB domain-containing protein	4,99	30262,09	37242,65	13	58,78	950595,8	1011567	0,540455	-0,08969	UNCHANGED
V7CTC1	Uncharacterized protein	5,5	23826,99	1232,3	5	28,3	9274,944	14019,17	0,036281	-0,59599	UNCHANGED
V7AL10	Uncharacterized protein	5,65	22834,37	640,9722	4	23,67	11868,44	11872,06	0,997016	-0,00044	UNCHANGED
V7AEU1	50S ribosomal protein L23, chloroplastic	10,69	17263,38	2482,019	4	28,76	21175,61	41981	0,001291	-0,98733	DOWN
V7C4I2	HATPase_c domain-containing protein	4,73	80867,68	1553,202	17	37,86	24746,12	23761,99	0,652278	0,058547	UNCHANGED
V7ATJ0	Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	5,3	40831,48	2484,347	9	48,72	59938,78	44227,56	0,336466	0,438544	UNCHANGED
V7AZR5	Uncharacterized protein	6,01	41891,88	1372,168	6	26,25	51650,3	67992,4	0,489607	-0,3966	UNCHANGED
V7BST4	Epimerase domain-containing protein	5,51	36047,12	1182,633	9	32,92	9796,544	25007,32	0,000144	-1,35201	DOWN
V7BVP3	Uncharacterized protein	4,17	11268,68	1604,351	4	73,21	15766,67	18347,67	0,574005	-0,21872	UNCHANGED
V7C8N0	Uncharacterized protein	9,69	22753,89	2478,571	9	43,9	32988,33	40289,99	0,312974	-0,28847	UNCHANGED

T2DNW6	CHP-rich zinc finger protein	5,79	26655,91	1218,908	4	22,13	45433,11	44416,56	0,866232	0,032647	UNCHANGED
V7BBE6	Ferritin	6,16	29626,73	2983,008	2	10,34	3750	1163,878	0,022611	1,687951	UP
V7AM91	Ribosomal_L16 domain-containing protein	10,92	25471,61	5059,732	9	46,15	72636,32	89176,94	0,013938	-0,29598	UNCHANGED
V7CFG3	Uncharacterized protein	8,75	14135,57	633,1183	3	31,5	11093,83	13136,22	0,488521	-0,24379	UNCHANGED
V7CY37	Uncharacterized protein	10,94	18719,75	1941,423	5	36,59	52410,11	37891,22	0,109398	0,467981	UNCHANGED
V7CB78	Aldedh domain-containing protein	7,7	58900,29	535,4132	4	11,21	12718,07	13869,54	0,396109	-0,12504	UNCHANGED
V7C855	Transketolase	6,41	79216,84	611,6485	4	9,18	26575,89	27478,89	0,871208	-0,04821	UNCHANGED
V7CSW5	Uncharacterized protein	10,55	16984,87	4576,346	5	36,05	113969,7	279160,4	0,013604	-1,29244	DOWN
V7C6Y1	Endoplasmic reticulum transmembrane protein	8,9	15229,89	3077,001	2	20,93	33669,67	28983,33	0,075594	0,216226	UNCHANGED
V7C7B8	60S acidic ribosomal protein P0	5,05	34240,48	4154,046	9	61,88	63698,39	119888,2	0,0047	-0,91236	DOWN
V7C4I9	Uncharacterized protein	6,18	141378,5	9128,183	52	69,36	326134,9	355491,1	0,127136	-0,12434	UNCHANGED
V7AEA1	Uncharacterized protein	4,65	40747,28	5083,055	14	57,07	120905,3	122963	0,775398	-0,02435	UNCHANGED
V7C9Y3	40S ribosomal protein S7	10,19	22125,61	722,0435	3	24,08	14671,35	18238,02	0,138482	-0,31395	UNCHANGED
V7BZF7	Lipoxygenase	6,23	96241,65	3076,421	9	13,9	68072,97	193030,2	0,092605	-1,50367	UNCHANGED
V7AX90	Aminopeptidase	5,06	98974,31	2508,743	33	52,92	83250,33	102987,2	0,354796	-0,30694	UNCHANGED
V7CX68	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine S-methyltransferase	5,92	84254,35	21669,93	39	68,68	301367,7	314341,6	0,04857	-0,06081	UNCHANGED
V7BES3	Uncharacterized protein	9,86	13594,56	2244,413	4	40,34	29977,33	30813,78	0,891021	-0,0397	UNCHANGED
V7CFI9	Cupin type-1 domain-containing protein	4,81	85229,95	24050,91	44	61,21	702705,2	450180,9	0,007671	0,642415	UP
V7CRB4	HATPase_c domain-containing protein	4,68	93897,49	3926,762	32	47,86	240698,7	179955,2	0,146578	0,41959	UNCHANGED
V7CRB8	Proteasome subunit alpha type	5,08	30912,54	1055,4	5	24,64	14841,67	18010,78	0,008638	-0,27921	UNCHANGED
V7BPM8	Ribosomal_L18e/L15P domain-containing protein	11,6	21110,91	6851,773	5	33,16	103880,1	144089,7	0,003839	-0,47205	UNCHANGED
V7B1U2	60S ribosomal protein L27	10,81	15714,69	5146,6	4	31,85	94421,09	109570,4	0,056271	-0,21468	UNCHANGED
V7BL51	Uncharacterized protein	4,13	11319,68	3759,46	4	78,07	21329,11	26863,11	0,121947	-0,3328	UNCHANGED
V7AWN2	Uncharacterized protein	7,13	59132,08	14131,82	30	60,35	660241,2	665982,1	0,885855	-0,01249	UNCHANGED
V7CUY9	Tubulin alpha chain	4,83	50121,4	2178,751	16	55,36	10472,23	11629,49	0,532116	-0,15122	UNCHANGED
V7CQL6	Uncharacterized protein	8,72	19105,05	1948,147	8	75	17153,67	13382,78	0,177569	0,358139	UNCHANGED
V7CFY6	Proteasome subunit alpha type	7,33	27291,9	747,6049	4	23,69	22649,78	28149,44	0,001072	-0,31361	UNCHANGED
V7D0N1	Uncharacterized protein	5,42	96408	446,3756	4	6,65	16983,33	10438,33	0,010221	0,702228	UP
V7AZN7	Uncharacterized protein	10,24	28627,57	1985,207	5	34,43	6247,237	5022,298	0,032676	0,314871	UNCHANGED
V7BDU7	Proteasome subunit beta	6,07	22695,91	1349,056	5	33,33	25049	32631,22	0,043692	-0,3815	UNCHANGED
V7BXI7	Tr-type G domain-containing protein	5,64	93560,14	8630,787	41	66,55	171733,4	198760,6	0,105889	-0,21086	UNCHANGED

V7BAM9	Glutamine synthetase	6,36	39687,87	4021,598	14	61,8	85465,33	66989,78	0,002003	0,351398	UNCHANGED
V7B3B5	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	5,44	53529,11	1314,808	13	40,58	53471,11	60356,67	0,02435	-0,17475	UNCHANGED
V7BM57	Uncharacterized protein	4,95	21262,13	8409,571	3	26,94	85809,11	99247,33	0,279676	-0,2099	UNCHANGED
V7AS43	Cytochrome b5 heme-binding domain-containing protein	5,16	15200,28	5263,747	6	69,4	33821,44	32007,44	0,598205	0,079531	UNCHANGED
V7CUH6	Aspartyl-tRNA synthetase	5,92	60934,55	486,1819	3	7,95	14423,11	14296,67	0,966918	0,012704	UNCHANGED
V7ASA9	Lipoxygenase	5,99	94810,07	2124,619	8	8,74	7219,68	5574,614	0,175161	0,373063	UNCHANGED
V7B774	40S ribosomal protein S4	10,73	29905,94	3533,078	12	55,68	41005,71	63042,72	0,002376	-0,62051	DOWN
V7B696	Glutathione transferase	5,79	24845,67	7298,634	7	41,86	163434,8	132605,1	0,001312	0,301578	UNCHANGED
Q69F96	UDP-arabinopyranose mutase	5,75	40763,76	1812,561	11	32,86	2750,405	2891,673	0,674373	-0,07226	UNCHANGED
V7AWM4	Glutaredoxin domain-containing protein	6,49	13706,59	16705,73	10	64,52	224360,7	105139,8	0,000187	1,09351	UP
V7CRX4	Reticulon-like protein	9,2	28649,22	4523,396	5	24,02	169990,1	139765,6	0,026986	0,282442	UNCHANGED
V7BXL6	Ig-like domain-containing protein	4,9	96428,8	1127,669	18	33,41	53195,33	31045,33	0,050762	0,776923	UNCHANGED
V7BM69	Uncharacterized protein	5,88	108800,5	358,4508	3	3,87	18343,56	18498,22	0,936288	-0,01211	UNCHANGED
V7BH14	Carboxypeptidase	4,98	55932,07	863,6586	4	14,75	8074,389	58147,89	0,325321	-2,8483	UNCHANGED
V7B5T3	Ferritin	5,56	28418,01	4549,485	11	58,66	74038,22	34771,78	0,000849	1,090353	UP
V7BG07	40S ribosomal protein S24	11,09	15764,59	10529,61	3	26,28	73215,11	101808,9	0,089189	-0,47565	UNCHANGED
V7C2S1	Uncharacterized protein (Fragment)	4,63	23207,21	1097,953	4	36,97	13324,56	12315,22	0,539397	0,113645	UNCHANGED
V7C790	Uncharacterized protein	6,37	26379,7	23069,16	11	72,59	293223,9	266304,9	0,23379	0,138924	UNCHANGED
V7C080	Elongation factor 1-alpha	9,39	49747,45	13852,93	21	61,3	101663,9	67223,5	0,038683	0,596769	UNCHANGED
V7CD28	Xylose isomerase	5,81	54297,59	2838,719	19	56,16	54588,67	63706,33	0,02218	-0,22284	UNCHANGED
V7AZA2	Gp_dh_C domain-containing protein (Fragment)	5,57	23539,9	31953,27	14	83,49	298245,3	301121,3	0,763172	-0,01385	UNCHANGED
V7ARW1	AAA domain-containing protein	6,07	48210,37	645,0236	6	23,24	12700,22	15881,67	0,461434	-0,32251	UNCHANGED
V7CQW0	Uncharacterized protein	5,17	54238,62	384,6479	2	6,12	12195,83	11502	0,404525	0,084504	UNCHANGED
V7B5K8	Uncharacterized protein	5,27	39272,91	1771,389	12	47,14	63287,46	62244,67	0,859999	0,02397	UNCHANGED
V7CQ94	Uncharacterized protein	6,84	93506,33	922,3627	2	2,65	514558	632060,3	0,42269	-0,29673	UNCHANGED
V7AVC2	40S ribosomal protein S26	11,46	15252,52	3850,256	3	33,33	39948	59830,17	0,072897	-0,58275	UNCHANGED
V7CTS0	Starch synthase, chloroplastic/amyloplastic (Fragment)	6,97	63644,78	1880,064	16	39,61	61331,78	37563,67	0,000105	0,707297	UP
V7C659	Glutaredoxin-dependent peroxiredoxin	5,27	17452,1	10727,91	7	73,46	145451,8	156435,3	0,28324	-0,10503	UNCHANGED
V7B2X0	Peptidase_M24 domain-containing protein	6,62	43576,75	1455,314	7	22,7	73894,78	50075,11	0,047758	0,561379	UNCHANGED
V7AQ77	Uncharacterized protein	5,23	18375,94	4804,5	6	42,26	89878,78	82878,44	0,442974	0,116984	UNCHANGED
V7ALW3	PKS_ER domain-containing protein	6,27	34787,93	758,1653	2	13,89	42043	29098,5	0,012566	0,530921	UNCHANGED
V7AZE6	Superoxide dismutase	8,76	26575,28	3828,694	9	57,32	61560,78	62282	0,93068	-0,0168	UNCHANGED

V7BME2	Sucrose-phosphate phosphatase	5,63	46935,21	5083,938	21	68,27	236776,9	84010,67	0,024062	1,494884	UP
V7BZD8	Uncharacterized protein	5,23	55261,76	644,8102	4	15,35	13408,89	13025,44	0,494953	0,041857	UNCHANGED
V7C2M9	Uncharacterized protein	4,21	23815,81	1792,976	5	37,38	46492,22	45247,44	0,648911	0,039153	UNCHANGED
V7AZC9	Protein-methionine-S-oxide reductase	5,42	22277,57	5480,145	7	42,35	50752,22	67923,22	0,075832	-0,42043	UNCHANGED
V7C610	Serine hydroxymethyltransferase	7,25	52219,41	4226,649	17	50,32	21020,38	20222,12	0,459658	0,055854	UNCHANGED
V7C8A5	TENA_THI-4 domain-containing protein	4,92	26503,08	15199,87	14	58,08	202620	203204,7	0,959434	-0,00416	UNCHANGED
V7AU58	Uncharacterized protein	5,37	48584,54	526,8177	2	6,82	20419,67	18886,5	0,13594	0,112604	UNCHANGED
V7CL73	Uncharacterized protein	11,17	12910,07	6100,704	5	53,57	42749,89	48515	0,288081	-0,18251	UNCHANGED
V7BIW3	AAA domain-containing protein	4,79	47670,33	915,7445	7	25,3	298842,8	250057,9	0,306894	0,257125	UNCHANGED
V7BLG0	Ribosomal_L14e domain-containing protein	10,91	15385,26	2161,114	4	31,82	44556,67	53469,89	0,032236	-0,26309	UNCHANGED
V7B0N8	Uncharacterized protein	4,98	91609,75	4018,708	35	67,48	124355,6	88996,97	0,083025	0,482644	UNCHANGED
V7BIC9	Uncharacterized protein	6,5	78178,37	1961,444	16	34,58	58908,67	95842,33	0,417236	-0,70218	UNCHANGED
V7CSN7	40S ribosomal protein S7	10,19	22011,55	917,2016	3	24,08	25934,94	49679,15	0,027103	-0,93774	DOWN
V7BPD9	AAA domain-containing protein	5,27	47256,81	840,8967	6	20,24	15780,56	19597,44	0,448738	-0,31252	UNCHANGED
V7BCC1	Uncharacterized protein	5,85	42018,99	3323,646	18	71,99	74028,56	80103,78	0,202208	-0,11379	UNCHANGED
V7C8C7	Adenosylhomocysteinase	5,5	53787,46	10086,48	25	71,13	184670,8	181814,4	0,810979	0,022489	UNCHANGED
V7BZK0	Lipoxygenase	5,82	97830,02	36151,11	53	73,76	766482,1	735716	0,677481	0,059103	UNCHANGED
V7BT55	KOW domain-containing protein	11,35	16668,44	2555,578	4	31,51	23406,11	25482	0,733097	-0,12259	UNCHANGED
T2DPD6	Profilin	4,69	14291,25	3073,007	3	58,78	29969,11	33858,44	0,527735	-0,17604	UNCHANGED
V7BXX9	Methyltransf_2 domain-containing protein	5,42	39696,45	845,0504	5	22,03	20781,44	23460,11	0,47215	-0,17491	UNCHANGED
V7CDF1	S4 RNA-binding domain-containing protein	10,7	23095,67	2281,823	6	25,38	20076,76	30823,33	0,00794	-0,6185	DOWN
V7AL93	Uncharacterized protein	5,04	51376,45	18086,35	22	66,74	447182,6	431634	0,606119	0,051055	UNCHANGED
V7C7L9	Uncharacterized protein (Fragment)	9,53	14059,15	1904,385	2	29,51	-	10238	-	-	UNIQUE L8
V7CE67	Ribosomal_S13_N domain-containing protein	10,81	17225,27	3392,01	7	52,32	23116,15	33746,29	0,002068	-0,54583	UNCHANGED
V7D2U5	Ribosomal protein	10,29	24746,32	2653,11	7	40,28	31369,65	38900,17	0,000379	-0,31041	UNCHANGED
V7BAJ3	Ubiquitin receptor RAD23	4,5	42192,41	875,4161	5	22	21331,78	19881,8	0,091384	0,101557	UNCHANGED
V7ADV6	60S ribosomal protein L7a	10,68	29617,13	1882,099	7	33,59	38155,5	60950,89	0,031278	-0,67576	DOWN
V7BG17	Uncharacterized protein	10,81	21531,25	2466,465	5	36,51	25484,39	35407	0,102208	-0,47442	UNCHANGED
V7B1G4	Uncharacterized protein	5,32	47173,89	3948,54	22	66,1	29517,87	26082,98	0,198534	0,17848	UNCHANGED
V7CGW4	Ubiquitin	10,21	17851,69	11431,49	10	63,23	148649,2	159231,9	0,46075	-0,09922	UNCHANGED
V7BTS9	RNase H domain-containing protein	7,91	88866,4	4759,558	7	19,29	11487,58	14441,75	0,60374	-0,33017	UNCHANGED
V7CGG2	Ribosomal protein L15	11,92	24276,08	1542,789	7	40,69	69262,67	55767,44	0,203564	0,312655	UNCHANGED

V7B315	Proteasome subunit alpha type	6,95	27440,17	3224,017	8	58	31652,03	47042,03	0,012647	-0,57165	UNCHANGED
V7C4J3	Cytochrome b5 heme-binding domain-containing protein	4,25	23448,35	1738,079	6	46,01	19201,06	11283,24	0,000621	0,767004	UP
V7ALC4	Aldo_ket_red domain-containing protein	6,2	35063,02	2113,501	12	57,19	47400,56	65646,44	0,190596	-0,46981	UNCHANGED
V7BD53	Uncharacterized protein	10,06	19566,89	3182,427	3	23,33	136699	70045,56	0,050289	0,964637	UNCHANGED
V7CL08	Uncharacterized protein	8,6	29655,88	45024,68	15	79,1	762671,8	733810,1	0,357769	0,055656	UNCHANGED
V7BTL8	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	7,98	45313,39	4002,908	8	33,49	5483,231	10944,18	0,046716	-0,99707	DOWN
V7BEQ4	Histone H2B	10,52	15059,67	4772,347	4	25,74	104112,7	67031,67	0,008551	0,635231	UP
V7CA00	Uncharacterized protein	6,74	32130,31	54681,73	18	86,39	667104,1	738140,8	0,042777	-0,14598	UNCHANGED
V7BUI1	PKS_ER domain-containing protein	6,25	34881,92	988,428	5	26,15	30547,89	28262,89	0,133967	0,112164	UNCHANGED
V7CDT6	Uncharacterized protein	6,92	23592,88	1133,156	2	25,84	24334,17	24493	0,990554	-0,00939	UNCHANGED
V7BF61	Uncharacterized protein	11	17624,57	6583,369	7	52,63	91715,44	134521,1	2,81E-05	-0,5526	UNCHANGED
V7BW77	Proteasome subunit alpha type	5,59	25548,2	1236,62	7	38,72	24791,33	24155,11	0,800198	0,037507	UNCHANGED
V7CWK7	Translocon-associated protein subunit beta	9,95	21057,33	1435,737	3	21,13	14618,78	14590,11	0,9952	0,002832	UNCHANGED
V7CQ18	Uncharacterized protein	4,89	73649,37	11294,6	36	56,01	186427,8	193020,4	0,615657	-0,05014	UNCHANGED
V7CPW6	Uncharacterized protein	11,11	15720,52	3349	7	51,88	40047,93	46625,05	0,197632	-0,21938	UNCHANGED
V7AHB3	(1->3)-beta-glucan endohydrolase	9,11	35430,14	5980,693	11	67,17	42815,56	101498,1	0,002203	-1,24525	DOWN
V7BJQ2	60S ribosomal protein L18a	10,68	19157,62	995,7676	2	30,19	15803,92	19568,92	0,158697	-0,30828	UNCHANGED
V7B7X5	Glutaredoxin domain-containing protein	6,93	11525,28	5887,681	8	92,52	48275,78	51796,37	0,633417	-0,10155	UNCHANGED
V7C7L0	Malic enzyme	5,76	65636,37	371,9703	3	8,29	9044,586	11559,5	0,278215	-0,35395	UNCHANGED
V7D036	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	7,35	37014,32	25202,15	15	58,82	81105,67	151474,3	0,126309	-0,9012	UNCHANGED
V7C6Z0	DHO_dh domain-containing protein	5,76	46566,1	434,4092	4	14,59	23997,56	20841,11	0,073306	0,203455	UNCHANGED
V7CAL4	Uncharacterized protein	5,75	55161,64	537,3809	2	8,05	6207,833	10697,5	0,033687	-0,78511	DOWN
V7AFZ9	Uncharacterized protein	5,88	55519,61	3067,343	19	52,33	149707,8	139352,2	0,266028	0,103413	UNCHANGED
V7CE61	TPR_REGION domain-containing protein	4,73	44817,34	1942,768	11	36,21	33365	37823	0,180719	-0,18093	UNCHANGED
V7D1B8	Uncharacterized protein	6,52	22115,58	3538,451	9	64,77	32503,81	33786,12	0,58351	-0,05582	UNCHANGED
V7AMV2	Pectinesterase	7,59	54057,93	567,0467	5	13,79	24590,33	16160,39	0,013487	0,605629	UP
V7BC72	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase	6,22	56578,32	2883,338	18	59,61	57438,11	75359,91	0,302904	-0,39179	UNCHANGED
V7CBH3	PCI domain-containing protein	5,17	44719,44	561,1783	6	21,76	16853,11	18624,44	0,718646	-0,14418	UNCHANGED
V5N947	Dienelactone hydrolase family protein	5,24	26394,85	616,6185	3	27,16	31082,5	33990	0,576586	-0,12901	UNCHANGED
V7C329	Alpha-1,4 glucan phosphorylase	5,08	111703,5	24886,86	46	67,01	473400,6	424454,9	0,015201	0,15745	UNCHANGED
V7CJ52	Uncharacterized protein	5,65	59191,21	760,874	9	26,91	42041,22	67435,44	0,629739	-0,6817	UNCHANGED
V7CF33	ATP:AMP phosphotransferase	7,22	26838,02	1106,828	5	30,99	20834,44	26752,44	0,091466	-0,3607	UNCHANGED

V7AYA6	CYTOSOL_AP domain-containing protein	6,29	60520,15	1977,199	20	57,89	62980,22	57448,78	0,34525	0,132623	UNCHANGED
V7BSC2	Obg-like ATPase 1	6,61	45008,52	805,4647	6	23,86	20038,11	16728,78	0,009762	0,260414	UNCHANGED
V7CBI3	Malate synthase	5,85	64326,03	768,6497	10	32,27	25148,56	24371,56	0,690487	0,045277	UNCHANGED
V7ARM2	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	7,16	69527,27	355,5004	2	6,15	13641,33	9288,167	0,055748	0,554519	UNCHANGED
V7CZK7	Pyruvate kinase	7,86	58061,71	2064,838	8	27,13	3251,166	3284,502	0,956373	-0,01472	UNCHANGED
V7BHP9	Uncharacterized protein	5,37	61420,63	1368,174	9	20,52	11179,18	14076,92	0,04152	-0,33252	UNCHANGED
V7BGD2	TCTP domain-containing protein	4,44	19189,83	2144,232	3	27,38	21652,15	25810,58	0,155026	-0,25345	UNCHANGED
V7BRM2	Fumarylacetoacetase	5,59	46243,45	2701,355	8	28,27	35070,33	88931,78	0,070835	-1,34245	UNCHANGED
V7B2Y0	Uncharacterized protein	6,26	69450,15	1731,353	2	6,97	-	2725,817	-	-	UNIQUE L8
V7BBP9	alpha-phaseolin	9,28	7845,671	77582,66	6	87,32	1084310	1034303	0,615272	0,068119	UNCHANGED
V7AX88	EF1_GNE domain-containing protein	4,21	24949,01	2809,712	5	39,13	10635,64	12982,63	0,072869	-0,28768	UNCHANGED
V7C245	UDP-arabinopyranose mutase	5,97	41359,38	3578	15	58,77	44768,1	63107,69	0,000784	-0,49534	UNCHANGED
T2DMF7	ARG10	5,28	25854,1	1259,189	3	21,1	16765,17	17550	0,866597	-0,066	UNCHANGED
V7BGG7	RanBD1 domain-containing protein	4,53	24679,27	2637,453	6	36,53	53887,56	81740,11	0,142627	-0,60109	UNCHANGED
V7AIR2	Bet_v_1 domain-containing protein	5,92	18541,98	24223,68	13	90,74	331431,9	245681,2	0,008633	0,431925	UNCHANGED
V7CZ62	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A	9,58	112187,6	528,3187	5	7,86	5947,333	9447,333	0,30482	-0,66766	UNCHANGED
V7C877	Polyadenylate-binding protein (Fragment)	8,83	61558,16	929,3088	6	22,46	27070,95	29496,72	0,220956	-0,12381	UNCHANGED
V7BH47	Uncharacterized protein	10,93	15167,88	5761,273	6	59,29	71037,56	71368,44	0,97934	-0,0067	UNCHANGED
V7BET4	Fructose-bisphosphate aldolase	7,8	42048,88	1899,655	8	29,58	28684,22	48619,67	3,31E-05	-0,76128	DOWN
V7BJQ8	Uncharacterized protein	5,45	50730,2	20458,21	27	66,67	724296,4	721461,1	0,958829	0,005659	UNCHANGED
V7AMH7	Aldo_ket_red domain-containing protein	6,09	35555,68	1197,827	7	38,73	7753,778	11554,33	0,001086	-0,57546	UNCHANGED
V7BMZ5	ATP citrate synthase	7,79	66403,03	560,1274	7	17,76	20879,33	17167,56	0,087172	0,282391	UNCHANGED
V7BF74	Uncharacterized protein	11,42	12826,51	1454,704	3	26,36	62672	63273,56	0,921125	-0,01378	UNCHANGED
V7CNI6	Uncharacterized protein	5,84	27555,99	1165,259	3	36,1	17412,78	22516,11	0,139639	-0,37081	UNCHANGED
V7BP33	Uncharacterized protein	5,01	30318,15	6209,41	4	29,18	139644	124253,7	0,193464	0,168465	UNCHANGED
V7C570	Uncharacterized protein	4,74	23718,05	5938,821	6	50,47	71811	77599,22	0,454906	-0,11184	UNCHANGED
V7CW28	Uncharacterized protein	5,16	41910,96	7688,756	17	58,89	121431,6	88637,48	0,257405	0,454155	UNCHANGED
H2FH48	Glutathione transferase	5,12	25624,33	909,759	2	9,78	38297	26304,67	0,07725	0,541913	UNCHANGED
V7C3K9	Uncharacterized protein	5,42	29761,98	708,7366	4	26,28	14815,11	18169,17	0,247677	-0,29442	UNCHANGED
V7BUJ2	40S ribosomal protein S8	10,79	24806,46	3160,855	9	47	42507,22	73534,67	2,97E-05	-0,79072	DOWN
V7BTA4	Meth_synt_1 domain-containing protein	6,21	49631,7	656,6952	4	11,75	5157,06	6212,613	0,531063	-0,26865	UNCHANGED



V7BBU8	Isocitrate dehydrogenase [NADP]	5,96	46316,84	1014,725	8	28,4	24478,67	26055,33	0,645552	-0,09005	UNCHANGED
V7CL94	PCI domain-containing protein	4,79	31079,33	996,0444	4	23,6	21391,94	24145,33	0,41905	-0,17468	UNCHANGED
V7ADL7	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	8,28	18401,83	28098,71	14	95,93	452595,2	375730,3	0,133818	0,268524	UNCHANGED
V7CAP6	Pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit beta	5,73	62679,29	396,0492	2	7,04	19774,83	12166,33	0,13137	0,700771	UNCHANGED
V7BR87	ADF-H domain-containing protein	5,66	16225,36	2525,13	3	55,4	29944,72	25167,56	0,235617	0,250737	UNCHANGED
V7AS03	Uncharacterized protein	4	11434,83	2522,347	2	30,36	41090	46609,17	0,510488	-0,18183	UNCHANGED
V7B2J8	Aldedh domain-containing protein	5,1	46023,82	3075,397	15	50	105677	109249,2	0,908642	-0,04796	UNCHANGED
V7AXG8	LipocIn_cytosolic_FA-bd_dom domain-containing protein	6,2	21459,36	7696,57	11	61,83	94026,78	126925,8	0,044796	-0,43284	UNCHANGED
V7CMK3	Tubulin alpha chain	4,82	50299,61	2650,947	18	59,47	73539,62	46098,29	0,018739	0,673808	UP
V7AU48	Uncharacterized protein	5,19	47019,7	3750,56	22	64,41	18949,5	11390,05	0,004614	0,734385	UP
V7AR96	RRM domain-containing protein	9,25	18052,08	872,0114	2	12,97	6215,253	13555,69	0,005864	-1,12501	DOWN
V7CNA2	Ribosomal_L18e/L15P domain-containing protein	11,03	16676,6	2563,662	6	46,62	40586,95	50198,82	0,005417	-0,30664	UNCHANGED
V7BAJ0	Proteasome subunit alpha type	4,5	26151,39	1579,496	5	35,02	34407,22	33592,78	0,866534	0,03456	UNCHANGED
V7CDQ6	Uncharacterized protein	4,8	77881,03	539,3033	8	21,08	13280,67	14708,11	0,407333	-0,14728	UNCHANGED
V7B4C9	W2 domain-containing protein	5,25	47376,41	387,6474	2	7,06	13425,33	10921,5	0,000554	0,297787	UNCHANGED
V7C819	Uncharacterized protein	6,76	46080,49	788,1113	5	20,81	14085,22	20767,33	0,023862	-0,56013	UNCHANGED
V7BT08	Uncharacterized protein	5,93	61057,25	1582,342	7	16,43	9527,097	16048,38	0,025947	-0,75232	DOWN
V7CBS6	Uncharacterized protein	6,63	22188,57	2986,137	7	52,33	6609,31	9581,232	0,001336	-0,53571	UNCHANGED
V7BQZ2	AB hydrolase-1 domain-containing protein	5,42	35909,89	1825,068	8	46,88	22124,67	24980	0,237601	-0,17512	UNCHANGED
V7AK72	Cysteine proteinase inhibitor	6,58	27454,83	4523,435	10	56,91	106295,2	129016	0,169835	-0,27947	UNCHANGED
V7BEF1	Cupin type-1 domain-containing protein	8,87	65371,71	1879,676	5	14,39	100857	52322,78	0,00889	0,9468	UP
V7B8B1	SHSP domain-containing protein	5,73	17894,24	11087,81	4	31,45	39095,06	54109,63	0,000278	-0,4689	UNCHANGED
V7D015	Uncharacterized protein	10,72	20691,75	1327,108	3	18,78	28967,5	52715,33	0,008245	-0,86379	DOWN
V7BHI2	Importin subunit alpha	5,02	59486,35	891,3606	4	11,28	6689,846	5532,307	0,03794	0,274092	UNCHANGED
V7APJ9	Lipoxygenase	6,13	97123,66	2256,205	12	18,27	13148,41	8462,575	0,096074	0,635719	UNCHANGED
V7ARW9	Aminotran_1_2 domain-containing protein	5,83	60434,41	539,0464	6	24,03	15985,44	16316,11	0,551199	-0,02954	UNCHANGED
V7CRL2	PKS_ER domain-containing protein	7,75	46455,95	722,1172	4	13,89	23577,72	28749,33	0,529962	-0,2861	UNCHANGED
V7BVE7	Uncharacterized protein	4,63	10653,03	17475,19	5	83,16	116372,4	126983	0,688152	-0,12589	UNCHANGED
V7BBB5	Ubiquitin receptor RAD23	4,57	42148,36	2001,247	8	32,34	30686,43	28340,92	0,395676	0,114714	UNCHANGED
V7ATG3	Lipoxygenase	9,08	94297,27	1449,675	4	8,32	13010,18	17920,16	0,008215	-0,46194	UNCHANGED
V7CTZ4	Alpha-mannosidase	5,92	117619	767,1368	9	15,65	67758,11	55146,44	0,023383	0,297126	UNCHANGED

V7C179	Formate dehydrogenase, mitochondrial	6,7	42604,43	29856,26	21	75,52	404425,8	403118,8	0,963562	0,00467	UNCHANGED
V7BFL2	Cupin type-1 domain-containing protein (Fragment)	4,8	41297,42	67138,34	25	78,24	1395506	1551418	0,471107	-0,1528	UNCHANGED
V7CMM3	60S ribosomal protein L13	11,59	23917,03	4102,335	7	50,24	45964,98	48344,04	0,725835	-0,0728	UNCHANGED
V7BK30	Aldo_ket_red domain-containing protein	7,71	36827,94	1783,572	10	53,35	40487,22	50821	0,015534	-0,32796	UNCHANGED
T2DNF5	S-formylglutathione hydrolase	6,14	32250,39	2286,947	7	64,91	50387,89	42014,44	0,03953	0,262192	UNCHANGED
V7AUU6	Aldehyde dehydrogenase	6,47	53742	3141,103	19	50	61024,22	75758,56	0,004021	-0,31203	UNCHANGED
V7CZE8	Clathrin heavy chain	5,13	194074,6	587,2808	17	17,28	5684,06	1971,045	0,000135	1,527961	UP
T2DPN9	Actin	5,16	41854,83	7525,125	15	51,99	60908,15	-	-	-	UNIQUE L3
V7CL69	60S ribosomal protein L27	10,86	15719,66	3941,914	4	31,85	4800,753	-	-	-	UNIQUE L3
V7AXA3	Malic enzyme	6	65309,64	720,969	5	13,24	4236,462	-	-	-	UNIQUE L3
V7B9D7	Fructose-bisphosphate aldolase	5,67	38786,1	1841,766	4	14,85	1140,53	-	-	-	UNIQUE L3
V7BKR7	Protein transport protein SEC23	4,58	20683,35	905,4993	3	31,15	540,0574	-	-	-	UNIQUE L3
V7D1H0	Glutamine synthetase	5,71	39279,17	889,7063	4	10,67	18763,56	-	-	-	UNIQUE L3
V7ANU1	40S ribosomal protein S6	11,15	28580,28	6434,051	5	39,36	-	1580,79	-	-	UNIQUE L8
V7AV25	Uncharacterized protein	5,11	25681,92	5666,209	6	30,97	-	3154,528	-	-	UNIQUE L8
V7B9B8	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase	6,45	54337,66	2652,998	16	58,91	-	5687,249	-	-	UNIQUE L8
V7BIT4	Uncharacterized protein	4,89	25601,98	7936,803	5	12,83	-	6052,016	-	-	UNIQUE L8
V7BYN3	2-Hacid_dh_C domain-containing protein (Fragment)	6,75	27607,61	2074,957	2	24,19	-	52923,92	-	-	UNIQUE L8
V7CIN0	Uncharacterized protein	9,07	21004,21	2569,577	6	43,96	-	2039,47	-	-	UNIQUE L8