



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA**

WANDERSON LIMA CUNHA

**Análise das relações de expressão gênica entre enxerto e porta-enxerto de seringueira
(*Hevea brasiliensis*)**

**Analysis of gene expression relationships between graft and rootstock of rubber tree
(*Hevea brasiliensis*)**

Campinas

2024

WANDERSON LIMA CUNHA

**Análise das relações de expressão gênica entre enxerto e porta-enxerto de seringueira
(*Hevea brasiliensis*)**

**Analysis of gene expression relationships between graft and rootstock of rubber tree
(*Hevea brasiliensis*)**

Dissertação apresentada à pós-graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Dissertation presented to the Institute of Biology of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Vegetal Biology.

Orientador: Profa. Anete Pereira de Souza

Coorientador: Dr. Felipe Roberto Francisco

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO/TESE
DEFENDIDA PELO **WANDERSON LIMA CUNHA** E ORIENTADO PELA PROF(A). DR(A).
ANETE PEREIRA DE SOUZA

Campinas

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

C914a Cunha, Wanderson Lima, 1997-
Análise das relações de expressão gênica entre enxerto e porta-enxerto de seringueira (*Hevea brasiliensis*) / Wanderson Lima Cunha. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Anete Pereira de Souza.

Coorientador: Felipe Roberto Francisco.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Enxertia. I. Souza, Anete Pereira de, 1962-. II. Francisco, Felipe Roberto, 1992-. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Analysis of gene expression relationships between graft and rootstock of rubber tree (*Hevea brasiliensis*)

Palavras-chave em inglês:

Grafting

Área de concentração: Biologia Vegetal

Titulação: Mestre em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

Anete Pereira de Souza [Orientador]

Maria Imaculada Zucchi

Mirian Perez Maluf

Data de defesa: 17-04-2024

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

-ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-5639-5377>

-Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5825143319156504>

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Anete Pereira de Souza

Dra. Maria Imaculada Zucchi

Dr. Mirian Perez Maluf

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia.

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 - por meio do Programa de Excelência Acadêmica – PROEX (88887.705723/2022-00)- Nº de bolsa concedida 18

A minha orientadora Anete Pereira de Souza, por toda orientação.

Ao coorientador Dr. Felipe Roberto Francisco por todos os ensinamentos.

A Aline da Costa Lima Moraes, por ter me dado força e muita ajuda.

Ao Vinicius Mandolesi, por ter me ajudado a terminar esse trabalho.

Ao Danilo Sforça, por todas as contribuições e ensinamentos.

A todos os colegas de trabalho por terem me ajudado.

Agradeço a minha família que sempre foi um apoio, amo muito.

Agradeço as minhas amigas Natália e Barbara pelo carinho.

RESUMO

A borracha natural (cis-1,4-poliisopreno) é amplamente utilizado como matéria-prima na indústria e tem como precursor chave o monômero pirofosfato de isopentenila (IPP). Este é sintetizado em duas vias: a via do ácido mevalônico (MVA) no citosol e a via 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP) nos plastídios. Essas vias podem ser reguladas, afetando a produção de borracha pela interação entre o enxerto e o porta-enxerto, que desempenha uma influência significativa nesse sistema. Apesar da importância dessa interação a nível molecular, são poucos os estudos que fazem tal abordagem, em relação a níveis de transcritos essa abordagem ainda é inexistente na literatura. Desta forma, este trabalho visa identificar o perfil transcricional de genes relacionados a processos biológicos e vias metabólicas associados às interações nas diferentes combinações do enxerto (E) RRIM600 clonados com porta-enxertos (PE) provindos de sementes de diferentes genótipos (IAN873, PB235 e sementes não selecionadas (SNS)). Neste estudo, foram avaliados três tratamentos, combinações de porta-enxerto/enxerto, IAN873 x RRIM600, PB235 x RRIM600 e SNS x RRIM600. A confirmação dos genótipos foi realizada a partir de marcadores microssatélites. As análises da expressão diferencial (DEG), foram realizadas com base na produção média de borracha seca de IAN873 aproximadamente em 240 g, PB235 de 266 g e SNS menos produtivo com 165 g. Os DEGs obtidos das combinações foram enriquecidos, identificando vias importantes como a biossíntese de fenilpropanóide (GO:0009699), identificada apenas em SNS-PE x E, possivelmente envolvido com estresse oxidativo. Também foi identificado o gene associado com a proteína ubiquitina (GO:0016567) e genes envolvidos com a mediação da sinalização de açúcar (GO:0010182), identificados na intersecção das DEGs entre IAN873 vs SNS e PB235 vs SNS enxertos, que podem estar contribuindo para a maior produção de borracha. Outro resultado importante relacionado à via de biossíntese da borracha, com o gene relacionado ao difosfato de isopentenila (IDI) foi encontrado como *upregulated* em PB235-PE x E e *downregulated* em IAN873-PE x E, pode ser a existência de uma variação na via MVA dependendo do porta-enxerto, e o gene *squalene synthase* (SQS), que está *upregulated* unicamente em SNS-PE x E, atuando na formação de esteroides na via MVA, que está envolvida com a resposta ao estresse oxidativo. Esses resultados possibilitaram a caracterização da variação na expressão resultante da interação do enxerto com o porta-enxerto, demonstrando que cada porta-enxerto influencia de diferentes

formas a produção borracha dos genótipos enxertados, tanto provocando estresses oxidativos quanto alterando o metabolismo de síntese de borracha natural.

Palavras chaves: Enxertia, produção de borracha natural, gene diferencialmente expresso e RNA-seq

ABSTRACT

Natural rubber (cis-1,4-polyisoprene) is widely used as a raw material in industry, and its key precursor is isopentenyl pyrophosphate (IPP). It is synthesized in two ways: the mevalonic acid (MVA) pathway in the cytosol and the 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (MEP) pathway in plastids. These pathways can be regulated, affecting rubber production through the interaction between the graft and rootstock, which plays a significant role in this system. Despite the importance of this interaction at the molecular level, few studies have approached it in relation to transcript levels; this approach is still non-existent in the literature. Thus, this study aimed to identify the transcriptional profile of genes related to biological processes and metabolic pathways associated with interactions in different combinations of graft (E) (RRIM600) cloned with rootstocks (PE) from seeds of different genotypes (IAN873, PB235, and unselected seeds (SNS)). In this study, three treatments were evaluated: rootstock/graft combinations, IAN873 $\times$ RRIM600, PB235 $\times$ RRIM600, and SNS $\times$ RRIM600. Genotype confirmation was performed using microsatellite markers. Differential expression analysis (DEG) was performed based on the average dry rubber production of IAN873 (approximately 240 g), PB235 (266 g), and SNS (165 g). The DEGs obtained from the combinations were enriched, identifying important pathways, such as phenylpropanoid biosynthesis (GO:0009699), identified only in SNS-PE $\times$ E and possibly involved in oxidative stress. Genes associated with ubiquitin protein (GO:0016567) and those involved in sugar signaling mediation (GO:0010182) were also identified at the intersection of DEGs between IAN873 vs. SNS and PB235 vs. SNS grafts, which may contribute to higher rubber production. Another important result is related to the rubber biosynthesis pathway, in which the gene related to isopentenyl diphosphate (IDI) was found to be upregulated in PB235-PE $\times$ E and downregulated in IAN873-PE $\times$ E. There may be variations in the MVA pathway depending on the rootstock, and the squalene synthase gene (SQS), which is upregulated only in SNS-PE $\times$ E, acting in the formation of steroids in the MVA pathway, which is involved in the response to oxidative stress. These results allowed the characterization of the variation in expression resulting from the interaction of the graft with the rootstock, demonstrating that each rootstock influences in different ways the rubber production of the grafted genotypes, both causing oxidative stresses and altering the metabolism of natural rubber synthesis.

Keywords: Grafting, natural rubber production, differentially expressed gene and RNA-seq

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACT = Acetyl-coa acetyltransferase 1
ACC = Acetyl-coa carboxilase
ACCT = Acetyl-coa acetyltransferase 2
ATP = Adenosina trifosfato
BH014 = Transcription factor bhlh14
CPT/HRT = Cis-prenyltransferase
DEG = Genes diferentemente expressos
DMAPP = Dimetilalil Difosfato
DXS = 1-deoxy-d-xylulose-5-phosphate synthase, chloroplastic
E = Enxerto (RRIM600)
FPP = Farnesil Pirofosfato
FPPS = Farnesyl pyrophosphate synthase
FPS = Farnesil Pirofosfato Sintase
G3PC = glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GGPPS = geranylgeranyl pyrophosphate synthase
GPP = Geranyl Pirofosfato
HMGS = Hydroxymethylglutaryl-coa synthase
HMDH = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme
HRT = Rubber cis-polyprenyltransferase hrt2
IPP = Isopentenil
IPPI/IDI = Isomerase do Difosfato de Isopentenila
ISPD = 2-c-methyl-d-erythritol4-phosphatecytidyltransferase
ISPE = 4-diphosphocytidyl-2-c-methyl-d-erythritol
ISPF = 2-c-methyl-d-erythritol2,4-cyclodiphosphate
ISPG = 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate
MEP = 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato
MVA = Ácido Mevalônico
MVD = Diphosphomevalonate decarboxylase
PAL = fenilalanina amônia- liase
PE = Porta-enxerto
PMK = Phosphomevalonate kinase peroxisomal
PPO = polifenol oxidase
PSY = phytoene synthase
REF = Fator de Alongamento de Borracha
SRP = Stress-related protein
SRPP = Proteína de Pequenas Partículas de Borracha
SNS = Semente não selecionada
SQS = Squalene synthase
Y1754 = Acetyltransferase at1g77540

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1. Material Vegetal	15
2.2. Genotipagem	16
2.3. Sequenciamento de RNA	17
2.4. Montagem do transcriptoma	18
2.5. Análise de Expressão Diferencial	19
3. RESULTADOS	20
3.1. Genotipagem	20
3.2. Transcriptoma	20
3.3. Análise de Expressão Diferencial	21
3.4. Biossíntese de Borracha Natural	23
4. DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO.....	30
PERSPECTIVA.....	30
REFERÊNCIAS	32
APÊNDICES	37
ANEXOS	50
ANEXO I - DECLARAÇÃO CIBIO.....	50
ANEXO II - DECLARAÇÃO DE AUTORIA.....	51

1. INTRODUÇÃO

A borracha natural, um poliisopreno (cis-1,4-poliisoprene) amplamente utilizado como matéria prima na indústria, tem sua produção anual estimada em aproximadamente 14 milhões de toneladas (FAO, 2023). Esse composto pode ser encontrado em diversas plantas, sendo a seringueira (*Hevea brasiliensis*, Muell. Arg) a mais importante para o mercado (Liu et al., 2020; FAO, 2023). Atualmente, o plantio comercial de *H. brasiliensis* é realizado por meio de propagação vegetativa, visando manter a produção homogênea. Dessa forma, o plantio de genótipos mais produtivos de seringueira ocorre por meio do processo de enxertia, no qual o enxerto é um clone da planta matriz, e o porta-enxerto é proveniente de sementes (Khotcharat et al., 2016; Priyadarshan, 2017; Cheng et al., 2020).

A partir do melhoramento convencional de seringueira, realizado com base em características de interesse econômico, foi possível selecionar plantas com uma produção de 2.500kg/ha de borracha natural, em comparação com 496 kg/ha de plantas não selecionadas, resultando em um aumento de produtividade de 4 vezes em 70 anos (Priyadarshan, 2017). No entanto, o longo ciclo de vida da seringueira reduz a eficiência do melhoramento (Priyadarshan, 2017), com o período necessário para o início da produção de látex podendo chegar a 5 anos nos genótipos mais precoces, ou chegando até 7 anos como em PB235 (IRCA, 1976), tornando o processo de melhoramento da espécie laborioso e demorado, levando em torno de 20 a 30 anos (Priyadarshan, 2017; Suryanarayanan & Azevedo, 2023). Atualmente no Brasil os principais programas de melhoramentos são da iniciativa governamental com destaques para Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) (Fiepr, 2019).

O principal objetivo do melhoramento genético de *H. brasiliensis* é o aumento da produção de borracha natural, que ocorre em células especializadas conhecidas como lactíferos (Long et al., 2021). Durante a síntese do látex, o monômero pirofosfato de isopentenila (IPP) destaca-se como um precursor chave. Esse monômero é derivado de duas vias: a via 2-C-metil-d-eritritol 4-fosfato (MEP) nos plastídios (Figura 1 A) e a via do ácido mevalônico (MVA) no citosol (Figura 1 B) (Liu et al., 2020). A utilização dos IPPs na síntese da borracha é realizada pela ação sinérgica de diversas enzimas e proteínas. A isomerase do difosfato de isopentenila (IPPI/IDI) condensa o IPP em dimetilalil difosfato (DMAPP) (Yamashita and Takahashi, 2020; Xin et al., 2021). Simultaneamente, o farnesil pirofosfato sintase (FPS) catalisa a transformação do geranyl pirofosfato (GPP) em farnesil pirofosfato (FPP) (Figura 1 C), o qual é fundamental para a estrutura da borracha natural (Figura 1 A, B) (Xin et al., 2021). Além disso, a proteína

de pequenas partículas de borracha (SRPP), fator de alongamento de borracha (REF) e a cis-preniltransferase (CPT/HRT) (Figura 1 D) são as proteínas principais na formação da borracha (Liu et al., 2020; Long et al., 2021).

Vários hormônios vegetais desempenham um papel fundamental na biossíntese dos terpenóides, tanto na formação de borracha com outros terpenos, por exemplo o etileno, que influencia o transportador de sacarose (SUT) (Figura 1 E) (Tang et al., 2016). O jasmonato, por meio do módulo HbCOI1–HbJAZ3–HbMYC2 (Figura 1 F), atuando em cascata no FPS e SRPP, o que indica a atuação direta do jasmonato na regulação da biossíntese da borracha natural (Deng et al., 2018; Long et al., 2021). A identificação de genes, processos biológicos e metabólicos que afetam tais vias pode fornecer informações valiosas para o melhoramento genético. Um desses processos ainda pouco estudado na espécie é a enxertia, principal forma de propagação dos genótipos mais produtivos.

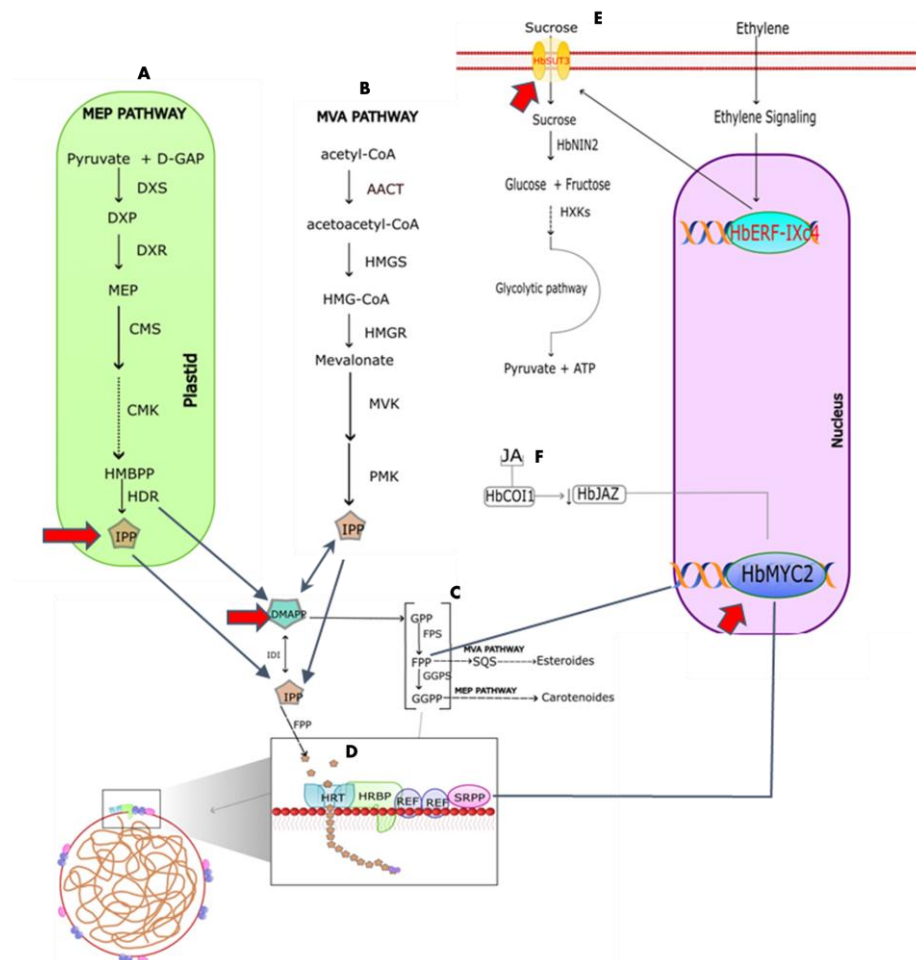


Figura 1. Biossíntese da borracha natural e influência dos hormônios vegetais. A. Via MEP ocorrendo no plastídio. B. Via MVA ocorrendo no citosol. C. Condensação do DMAPP em compostos secundários para formação de outros terpenos. D. Maquinário Biossintética de formação da borracha natural. E. Atuação do etileno no transportador de sacarose. F. Atuação

do jasmonato na síntese de borracha natural. Com as setas vermelhas mostrando os compostos chaves.

A interação entre o enxerto e o porta-enxerto desempenha uma influência significativa na produção de borracha natural (Yao et al., 2017). Diferentes estudos revelaram que determinados porta-enxertos estão associados a um aumento na produção de borracha (Cardinal et al., 2007a; b; Yao et al., 2017). De acordo com Yao et al. (2017) o porta-enxerto CATAS8813 demonstrou um rendimento superior de borracha quando utilizado no enxerto PR107, em comparação com outros porta-enxertos. Além disso, observou-se uma redução na produção de borracha influenciada por diferentes combinações de enxertos. Foi identificada uma redução substancial na produção de borracha natural ao utilizar sementes providas de plantas silvestres para a produção dos porta-enxertos, em comparação com o uso de sementes provenientes de RRIM600, IAN873 e PB235 (Cardinal et al., 2007a; b).

Neste contexto, a enxertia pode estar associada a alterações metabólicas, conforme descrito por He et al., (2022) em *Citrus* spp, causadas pela interação da enxertia. Alterações semelhantes também foram observadas em seringueira (Yuan et al., 2011; Prabpree et al., 2018). Yuan et al. (2011) identificaram a presença de metabólitos relacionados à oxidação em diferentes combinações de enxerto e porta-enxerto, indicando um possível estresse causado pela enxertia. Além disso, encontraram a presença da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) e polifenol oxidase (PPO), ambos relacionados ao estresse em decorrência da enxertia (Prabpree et al., 2018; Amri et al., 2021) essas enzimas também estão envolvidas com estresses abióticos (Zhang & Sun, 2021). Nos estágios iniciais da enxertia em seringueira, Prabpree et al. (2018) corroboram tais resultados, identificando variações na expressão gênica da PAL associadas à interação do enxerto com o porta-enxerto de seringueira.

O impacto do porta-enxerto na expressão gênica do enxerto pode ser observado em diversas culturas por meio da análise de transcriptoma. Em uvas, por exemplo, foi possível identificar genes diferencialmente expressos (DEGs) influenciados pelo porta-enxerto, resultando em modificações na coloração das bagas (Zhong et al., 2022). Essa influência também é observada em árvores frutíferas, como o *Citrus*, em que a enxertia resulta em DEGs relacionados à regulação de sinais hormonais, desempenhando um papel significativo no estiolamento foliar (He et al., 2022).

No contexto apresentado, existe a possibilidade de ocorrer uma variação na expressão gênica induzida por diferentes combinações de enxertia (Prabpree et al., 2018; Zhong et al., 2022). Essa variação pode envolver genes relacionados à interação entre o enxerto e o porta-enxerto, que podem resultar em uma redução da produtividade da planta (Habibi et al., 2022;

Liu et al., 2023). Entretanto, em seringueira, esse processo ainda permanece desconhecido, principalmente no que diz respeito regulação na expressão de genes que podem estar expressos nas diferentes combinações de enxerto e porta-enxerto, e que, por conseguinte, podem afetar a produção de borracha natural (Yuan et al., 2011; Prabpree et al., 2018).

A compreensão dos processos de interação entre enxerto e porta-enxerto em seringueira é de suma importância para avanços no melhoramento genético da espécie, principalmente visando o aumento da produção de borracha natural. A análise do transcriptoma de diferentes condições de tratamento pode fornecer a compreensão sobre os genes que influenciam a produção de borracha natural, regulados por diferentes combinações de enxerto e porta-enxerto. Portanto, o objetivo deste estudo é identificar o perfil transcricional de genes relacionados a processos biológicos e vias metabólicas associados com a interação nas combinações de enxerto (RRIM600) com porta-enxertos (PB235, IAN873 e sementes não selecionadas (SNS)) em seringueira. Esta abordagem tem o potencial de revelar novas estratégias para otimizar a produção de borracha natural, além de fornecer recomendações valiosas para a produção de mudas de *H. brasiliensis*.

1.2 Objetivos específicos

- Identificar geneticamente os genótipos
- Construir um transcriptoma de *H. brasiliensis* do enxerto e porta-enxerto.
- Determinar os genes diferencialmente expressos de clones RRIM600 e dos porta-enxerto PB235, IAN873 e SNS.
- Identificar os principais processos biológicos e vias metabólicas associadas aos genes diferencialmente expressos na enxertia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A Figura 2 ilustra de forma resumida passo a passo de cada etapa realizada neste trabalho.

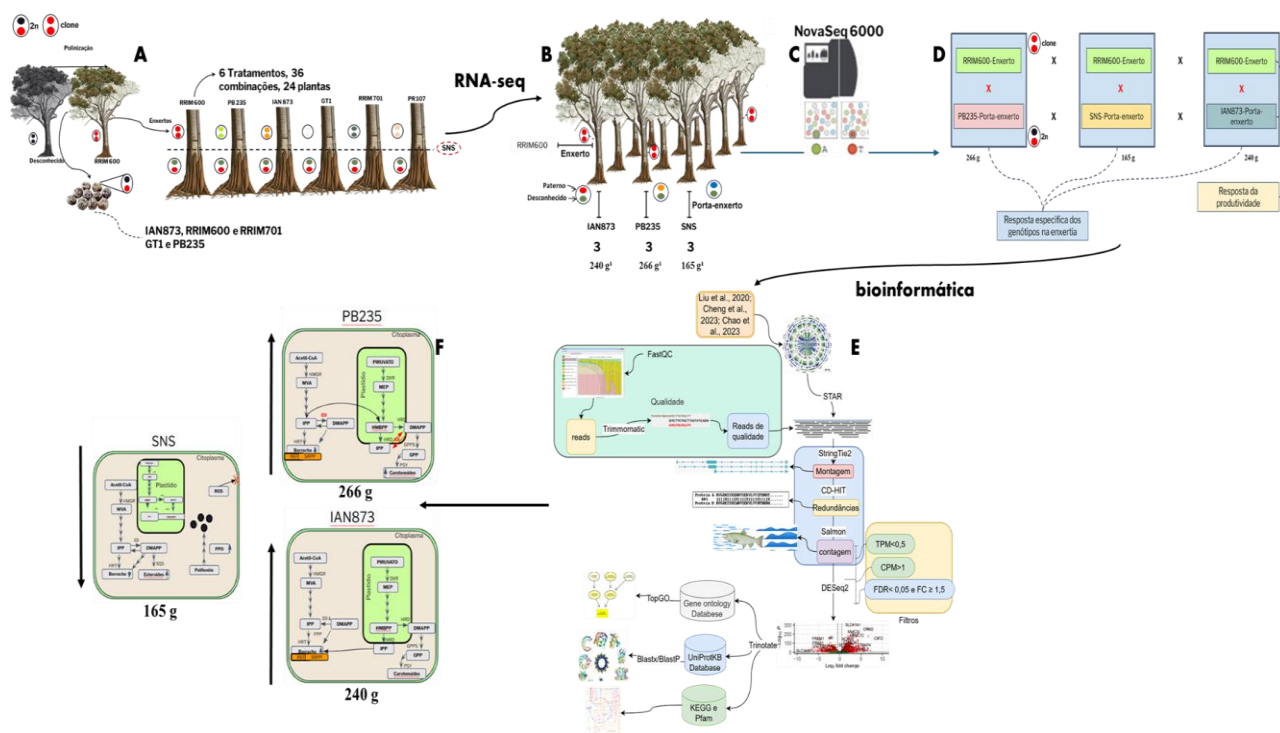


Figura 2. Infográfico dos materiais e métodos utilizados. A. População do experimento utilizado, círculos com coloração igual representa, material genético de um indivíduo clonal (Enxertos) e coloração diferente de indivíduos provenientes de cruzamento (Porta-enxertos), 36 combinações de enxertia com 24 plantas. B. condições selecionadas para RNA-seq. C. Sequenciador utilizado, sequenciado em 100 pb *Paired-end*. D. Comparações para análise de expressão diferencial. E. Análise de bioinformática. F. Resultados das comparações com as variações metabólicas encontradas em decorrência da enxertia. As sentas representados a menor produção de borracha natural.

2.1. Material Vegetal

Os genótipos selecionados fazem parte de um experimento estabelecido em 1989 e conduzido no Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro-Norte da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), localizado em Pindorama/SP (21°13' S 48° 56' W). A população total inclui seis diferentes tratamentos, composto pelos porta-enxertos: GT1, IAN873, PB235, RRIM600, RRIM701 e sementes não-selecionadas (SNS), obtidos de polinização aberta. Para cada tratamento, há um subtratamento relacionado ao enxerto, o qual inclui os genótipos GT1, IAN873, PB235, RRIM600, RRIM701, e PR107, totalizando 36 combinações (Figura 2 A). O delineamento empregado foi o de blocos ao acaso, considerando 4 blocos e 6 repetições de cada tratamento/enxerto dentro dos blocos, conforme descrito por Cardinal et al. (2007a; b) (Figura suplementar 2A). Desta forma, cada porta-enxerto apresentava 6 repetições de cada genótipo considerado (Figura suplementar 2B). As árvores foram plantadas em um espaçamento de 7 m entre as linhas e 3 m entre as plantas

(Figura suplementar 2B). Para este estudo foram selecionados apenas 3 tratamentos do experimento, sendo 3 diferentes porta-enxertos com RRIM600 como enxerto (Tabela 1). Condições selecionadas para o experimento de RNA-seq, todos os porta-enxertos com enxerto de RRIM600.

Tabela 1. Combinações utilizadas para o experimento de RNA-seq

Porta-enxerto	Enxerto	Repetição
IAN873	RRIM600	3
PB235	RRIM600	3
SNS	RRIM600	3

Desta forma, foram coletadas amostras de 49 plantas, todas contendo o clone RRIM600 como enxerto. Em relação ao porta-enxerto, 24 tinham porta-enxertos provenientes de sementes de PB235, 19 de IAN873 e 6 de SNS. Os indivíduos selecionados apresentaram produção média de borracha seca durante 5 anos de aproximadamente de 240 g em IAN873, PB235 de 266 g e SNS menos produtivo com 165 g (Cardinal et al., 2007a). De cada planta, foram coletadas 10 amostras do caule do enxerto e 10 do porta-enxerto utilizando extratos de casco (Figura 3 suplementar) desenvolvido pelo grupo com discos de aproximadamente 2 cm de largura e comprimento, armazenados a -80°C.

2.2. Genotipagem

Todos os genótipos (enxerto e porta-enxerto) foram confirmados por meio de marcadores microssatélites (SSR). Para isso foi utilizado um conjunto de 10 marcadores SSR (Tabela 1 suplementar) conforme descrito por Le Guen et al. (2011) que apresentaram polimorfismo adequado avaliados com base na heterozigosidade observada e heterozigosidade esperada (Le Guen et al., 2011) e foi verificado se esses marcadores diferenciavam os genótipos IAN873, PB235, RRIM600 e SNS.

A extração de DNA teve como base diversos protocolos de extração que foram testados sem sucesso (Doyle and Doyle, 1990; Collins and Symons, 1992; Schierenbeck, 1994; De la Cruz et al, 1995; Bandana and Ahuja, 1999; Mercado et al, 1999; Tel-Zur et al, 1999). Desta forma, foi necessário realizar teste com diferentes concentrações dos compostos químicos utilizados, dos protocolos testados, chegando a um protocolo específico para a extração de seringueira que seguiu com os discos extraídos da periderme estes foram seccionados em fatias e colocados em tubos criogênicos de 2 mL, contendo duas esferas e uma bead discoidal,

seguindo com adição de 850 μ L do tampão 20% (V/V) Tris 1M pH 8,0, 10% (V/V) EDTA 0,5M pH 8,0, 5% (m/V) Acetato de Sódio, 1% (m/V) BSA, 2,4% (m/V) PVP, 3,6% (m/V) N-Laurilsarcosine, 3,6% (m/V) CTAB, 11,7% (V/V) 2-Mercapthoretanol. O material foi triturado no Tisseu Lyzer, por 45 segundos a 30 Hz, com parada a cada 15 segundos, em seguida, incubado em banho-maria durante 40 min a 56°C, realizando inversão dos tubos em intervalos de 10 min, e centrifugado por 5 min a 8.000 rpm, a fase aquosa foi transferida para um tubo de 1,5 mL, adicionando 250 μ L do tampão 29,4% (m/V) Acetato de Potássio, 11,5% (V/V) Ácido Acético e vortexada por 5 segundos, seguida de centrifugação de 2 min a 13.000 rpm. Transferindo a fase aquosa para tubos de 2,0 mL, e adicionado 800 μ L de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) e misturando por inversão durante 5 min, após esse tempo, centrifugou por 10 min a 13.000 rpm recuperando, 650 μ L do sobrenadante e transferindo para um novo tubo de 1,5 mL, adicionando 455 μ L de isopropanol gelado e incubar por 1 hora a -20 °C. Após a incubação, foram centrifugados por 15 min a 13.000 rpm a 4°C, descartando o sobrenadante, com 600 μ L de etanol 70% a 4°C, centrifugando a 2 min em 13.000 rpm e descartando o sobrenadante, repetindo por mais uma vez. Em seguida, o pellet é mantido por 1 hora à temperatura ambiente. Por fim, adicionamos 50 μ L de água MilliQ, ressuspendendo o pellet e armazenando em -20°C.

A qualidade da extração foi avaliada utilizando gel de agarose concentrado a 1% TAE 1X. A amplificação dos locos por reação em cadeia da polimerase (PCR) foi baseada no protocolo descrito por Le Guen et al. (2011): (master mix volume de 25 μ L) 2 ng de DNA, Tampão para PCR 1x, Cloreto de Magnésio 1,2 mM, dNTP 0,25 mM e 200 μ M de cada *primer*, TAQ polimerase 1 U. O programa para o termociclador foi de acordo com Le Guen et al. (2011). Os produtos da amplificação foram visualizados em gel de agarose 2% TBE 0,5X e considerados apenas os que tivessem banda. Após esse procedimento, os produtos da PCR foram desnaturados por 5 minutos a 95°C. Em seguida, esses foram aplicados em um gel de poliacrilamida de 6% corado com prata permitindo a genotipagem visual.

2.3. Sequenciamento de RNA

A avaliação dos perfis de expressão de RNA foi realizada considerando as combinações: IAN873xRRIM600-E (E- enxerto), IAN873xRRIM600-PE (PE- porta-enxerto), PB235xRRIM600-E, PB235xRRIM600-PE, SNSxRRIM600-E, SNSxRRIM600-PE (Figura 3). Para cada combinação, foram utilizadas três réplicas biológicas dos enxertos e três dos porta-enxertos, totalizando 18 amostras.

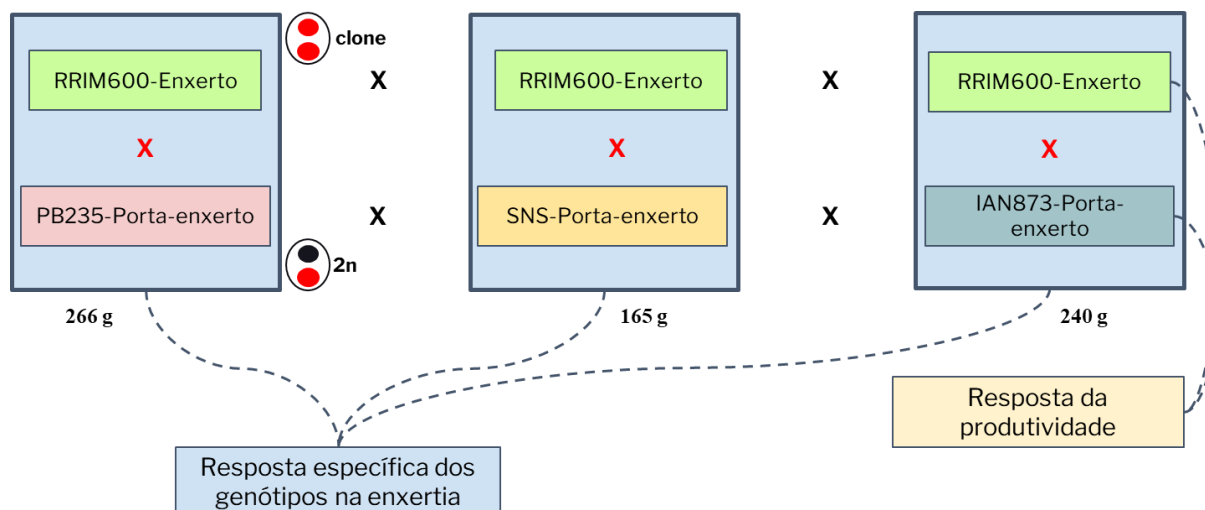


Figura 3. As combinações utilizadas para avaliação do perfil de expressão, quadrados verdes representados os clones RRIM600, abaixo representando os porta-enxertos, com uma divisão representados que são sementes advindas de cruzamento, em amarelo IAN873, azul SNS e Vermelho PB235.

A extração do RNA total seguiu protocolo de cloreto de lítio com o tampão CTAB (Campos Mantello et al., 2019). A qualidade e quantidade do RNA extraído foi avaliada com o NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA), e a sua integridade foi avaliada em gel de agarose 1% com hipoclorito de sódio 6% (Aranda et al., 2012).

Para o sequenciamento do RNA, foram construídas 18 bibliotecas Illumina ao todo contendo as amostras dos enxertos e dos porta-enxertos. Cada uma dessas bibliotecas foi sintetizada para conter 5 réplicas de cDNA, seguindo o protocolo TruSeq Stranded mRNA (Illumina Inc., San Diego, EUA). A qualidade das bibliotecas foi avaliada usando o equipamento TapeStation 4200 (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), com um chip *high sensitivity* de DNA (Agilent DNA-1000). A quantificação das bibliotecas foi realizada com o fluorímetro Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). As bibliotecas foram sequenciadas na plataforma NovaSeq 6000 (Illumina, San Diego, EUA) por 100 pb *Paired-end* usando o kit NovaSeq 6000 SP Reagent Kit v1.5 (Illumina, San Diego, EUA) no Centro de Pesquisas sobre o Genoma Humano e Células-Tronco (CEGH-CEL).

2.4. Montagem do transcriptoma

A qualidade das sequências foi avaliada por meio do *software* FastQC v0.11.5 (Brown et al., 2017). Os resíduos de adaptadores e as leituras de baixa qualidade foram removidos utilizando o *software* Trimmomatic v0.39 (Bolger et al., 2014). Em seguida, as sequências filtradas foram mapeadas nos genomas de referência de Liu et al. (2020), Cheng et al. (2023) e

Chao et al. (2023) utilizando o *software* STAR v2.7.3a (Stark et al., 2019). Desse modo a montagem do transcriptoma para cada uma das sequências mapeadas nos 3 genomas de referência (Liu et al., 2020; Cheng et al., 2023; Chao et al., 2023) foi feita separadamente utilizando o *software* Stringtie v2.2.0 (Kovaka et al., 2019). Essas montagens obtidas em separado foram então combinadas e tiveram as redundâncias removidas por meio do *software* CD-HIT v4.8.1 (Bioinformatic, 2009). Utilizamos o *software* BUSCO v5.6.1 (Mose et al., 2021) para avaliar a qualidade do transcriptoma. Por fim, o *software* Salmon v1.9 (Patro et al., 2017) foi utilizado para estimar a expressão dos transcritos de alta qualidade e a anotação funcional foi feita utilizando o *software* Trinotate v3.2.2 (Bryant et al., 2017) em conjunto com o BLASTX e BLASTP v2.15.0 (Guigó et al., 2000). Foram utilizados os bancos de dados UniProtKB/Swiss-Prot v2023_05 (Coudert et al., 2023), Pfam (Mistry et al., 2021), *kyoto encyclopedia of genes and genomes* (KEGG) (Kanehisa & Goto, 2000) e *Gene Ontology* (GO) (Ashburner et al., 2000).

2.5. Análise de Expressão Diferencial

Para análise de expressão diferencial, apenas genes com *Transcripts Per Kilobase Million* (TPM) > 0,5 foram mantidos, sendo zerado os genes com TPM < 0,5. Em seguida, os genes que apresentaram um perfil de expressão com mais da metade das amostras zeradas foram completamente zerados em todas as amostras. Depois, foram selecionados apenas os genes que apresentaram uma quantidade de *counts per million* (CPM) acima de um milhão (CPM > 1) em pelo menos 3 amostras, realizado com a função *cpm* do pacote *edgeR* (Robinson et al., 2010). Assim, foram realizadas 7 combinações para a análise de DEG (Tabela 2; Figura 3): IAN873-ExSNS-E, IAN873-PExSNS-PE, PB235-ExSNS-E e PB235-PExSNS-PE, essas combinações visam obter DEGs relacionando a resposta nas diferentes combinações de maior produção de borracha em contraste com a de menor produção. Além disso, foram realizadas as seguintes análises: PB235-PExE, IAN873-PExE, SNS-PExE, essas combinações estão associadas a DEGs envolvidas nas respostas da planta em função da enxertia, portanto nesse caso foi avaliada a influência do porta-enxerto sobre a expressão gênica do enxerto. Para identificação dos DEGs empregou-se o *software* DESeq (Love et al., 2014) no R (R Core Team 2023) com taxa de falso positivo (FDR) < 0,05 e $\log_2 \text{fold change}$ (FC) $\geq 1,5$. Os termos GOs associados às DEGs foram enriquecidos para vias metabólicas utilizando-se o *topGO* (Alexa & Rahnenfuhrer, 2023) com um p-valor (Fisher) < 0.05 no R. A visualização dos GOs foi feita com o *ggplot2* (Wickham, 2016) e *Upset* e *heatmap* do *ComplexHeatmap* (Gu et al., 2016) usando o R (R Core Team 2023).

Tabela 2. Combinações utilizadas para análise de expressão diferencial

Comparações	Sigla
IAN873xRRIM600-E vs SNSxRRIM600-E	IAN873-ExSNS-E
IAN873xRRIM600-PE VS SNSxRRIM600-PE	IAN873-PExSNS-PE
PB235xRRIM600-E vs SNSxRRIM600-E	PB235-ExSNS-E
PB235xRRIM600-PE vs SNSxRRIM600-PE	PB235-PExSNS-PE
PB235xRRIM600-E vs PB235xRRIM600-PE	PB235-ExPE
IAN873xRRIM600-E vs IAN873xRRIM600-PE	IAN873-ExPE
SNSxRRIM600-E vs SNSxRRIM600-PE	SNS-ExPE

E = Enxerto (RRIM600), PE = Porta-enxerto (IAN873, PB235 e SNS)

3. RESULTADOS

3.1. Genotipagem

A genotipagem foi realizada usando 10 marcadores SSR (Tabela 1 suplementar) que foram eficientes para confirmar a origem genética dos genótipos coletados, com isso foi possível identificar 18 amostras com genótipos correspondente ao perfil genético esperado, tanto no enxerto como clone (RRIM600) e no porta-enxerto sendo um parental esperado das combinações (IAN873, PB235 e SNS). As amostras confirmadas foram usadas para a construção das bibliotecas de RNA-seq.

3.2. Transcriptoma

O sequenciamento resultou um total de aproximadamente 552 milhões de *reads*, com valores de 7,77 milhões a 92,9 milhões e a média de *reads* por amostra de 30 milhões. Após a filtragem de qualidade, foram obtidas aproximadamente 481 milhões de *reads* (89,71%). As quais foram alinhadas aos genomas de Liu et al. (2020), Cheng et al. (2023) e Chao et al. (2023) (Tabela 3). É possível observar na Tabela 3 uma alta taxa de alinhamento de 87% em todos os genomas de referências. Após a remoção dos genes redundantes foi obtido um total de aproximadamente 83 mil (33,7%) genes únicos. Dentre esses genes, foram zerados apenas aqueles que apresentavam uma expressão mínima ($TPM < 0,5$) e zerado os que estavam com zero em mais da metade das amostras, obtendo um total de 61.306 genes, dos quais foram mantidos 46.688 genes que apresentaram $CPM > 1$, utilizados para anotação funcional e identificação de DEGs. Esses 46.688 foram identificados em proporções diferentes em cada um dos genomas utilizando, sendo, portanto, identificados 17.177 (37%) no genoma de Chao et al. (2023), 17.893 (38%) identificados no genoma de Cheng et al. (2023) e finalmente 11.618

(25%) identificados no genoma de Liu et al. (2021). O padrão de dispersão dessas amostras pode ser observado na Figura suplementar 1.

Tabela 3. Resultados do sequenciamento e mapeamento das *reads* obtidas, com o total de *reads* filtradas e mapeadas de cada réplica, três réplicas do enxerto e três do porta-enxerto de cada combinação.

Amostras	Número de <i>reads</i>	<i>Reads</i> Filtradas	<i>Reads</i> Mapeadas Liu et al. (2020)	<i>Reads</i> Mapeadas Cheng et al. (2023)	<i>Reads</i> Mapeadas Chao et al. (2023)	Total de <i>reads</i> não mapeada (%)
IAN873-E	25.301.006	22.394.494	10.315.789	10.435.608	10.297.242	6,80%
IAN873-PE	20.159.456	18.179.730	8.455.194	8.560.722	8.437.415	5,82%
IAN873-E	40.526.254	36.280.272	17.437.093	17.579.131	17.396.501	3,09%
IAN873-PE	37.196.464	33.570.922	15.294.620	15.391.266	15.251.136	8,31%
IAN873-E	40.698.456	35.231.550	14.914.341	15.006.901	14.878.076	14,81%
IAN873-PE	48.973.086	44.353.214	18.435.155	18.662.676	18.365.286	15,85%
PB235-E	20.966.548	19.458.094	9.297.651	9.330.913	9.277.945	4,09%
PB235-PE	16.670.938	14.305.316	6.609.195	6.646.678	6.588.590	7,07%
PB235-E	43.011.994	37.850.028	17.213.642	17.397.586	17.195.742	8,07%
PB235-PE	52.002.634	46.470.304	21.041.711	21.186.603	21.002.698	8,82%
PB235-E	40.111.218	35.916.098	17.290.588	17.503.635	17.268.621	2,53%
PB235-PE	33.610.704	31.144.182	14.281.231	14.425.604	14.248.419	7,36%
SNS-E	8.457.236	7.468.434	3.195.608	3.219.502	3.187.791	13,78%
SNS-PE	17.300.724	15.078.664	7.118.493	7.204.697	7.106.292	4,44%
SNS-E	18.678.760	16.159.844	7.609.880	7.688.880	7.599.723	3,06%
SNS-PE	28.729.532	25.901.352	12.325.942	12.455.334	12.308.561	3,09%
SNS-E	11.540.530	10.508.608	5.092.583	5.194.659	5.102.432	6,80%
SNS-PE	37.691.624	31.485.464	14.996.968	15.256.404	14.982.252	5,82%
Total	541.627.164	481.756.570	220.925.684	223.146.799	220.494.722	

E = Enxerto (RRIM600), PE = Porta-enxerto (IAN973, PB253 e SNS)

A qualidade do transcriptoma avaliada pelo BUSCO mostrou que 95,5% de genes ortólogos estavam completos, indicando uma alta completude. Além disso, foi observado que 1,6% estavam fragmentados, enquanto 2,9% estavam ausentes. Adicionalmente, os genes apresentaram um tamanho N50 de 2130 pb e um L50 de 22368 pb, indicando boa qualidade da montagem do transcriptoma.

Com base na anotação gênica, obtivemos uma taxa de correspondência de 81% no Swiss-Prot (37.838), seguido por Pfam com 74,4% (37.754) e KEGG com 22,6% (10.567). Em relação a vias de síntese de borracha na via MEP foram anotados 73 genes e a via MVA 105 genes.

3.3. Análise de Expressão Diferencial

Neste estudo, foram conduzidas análises de expressão diferencial envolvendo um total de sete combinações (Tabela 4). Em relação à comparação entre IAN873-ExSNS-E obtivemos

um total de 1319 DEGs para o IAN873xSNS/PE obtivemos uma quantidade de 3569. Para PB235-ExSNS-E foram identificadas 770 e no PB235xSNS/PE com 7981. Além disso, foi realizada comparação entre enxerto e porta-enxerto de cada tratamentos, para encontrar as DEGs específica de cada combinação, desta maneira encontrou um total de 9678 DEGs para IAN873-ExPE, 3708 para PB235-ExPE, e 5093 para SNS-PE x E, e quantidades de termos GOs associados a essas DEGs (Tabela 4).

Tabela 4. Análise da expressão diferencial e GO das DEGs

Sigla	DEGs	up	Down	GO BP	GO MF	GO CC
IAN873-ExSNS-E	1319	441	878	77	44	19
IAN873-PExSNS-PE	3569	2175	1394	93	53	16
PB235-ExSNS-E	770	292	478	69	33	17
PB235-PExSNS-PE	7981	4457	3524	142	71	37
PB235-PExE	3708	1866	1842	76	47	13
IAN873-PExE	9678	5424	4254	101	57	30
SNS-PExE	5093	2678	2415	171	76	26

E = Enxerto (RRIM600), PE = Porta-enxerto (IAN873, PB235 e SNS), BP=Processo biológico, MF=Função molecular, CC = Componente celular

Além disso, foram selecionados os genes com intersecção das diferentes combinações (Figura 4 A), as quais apresentam diferenças na produção de borracha natural. Nas intersecções entre IAN873-E vs SNS-E int PB235-E vs SNS-E resultou em 74 DEGs, IAN873-E vs SNS-E int IAN873-E vs PE totalizaram 72 DEGs, PB235-E vs SNS-E int PB235-E vs PE 47 e IAN873-E vs PE int PB235-E vs PE um total de 66 DEGs (Tabela suplementar 1). Foram identificados diferentes GOs associados a processos biológicos importantes como: proteína ubiquitina (GO:0016567), proteína mediadora de sinalização para açúcares (GO:0010182) e transportador de proteína (GO:0015031) (Figura 4 B).

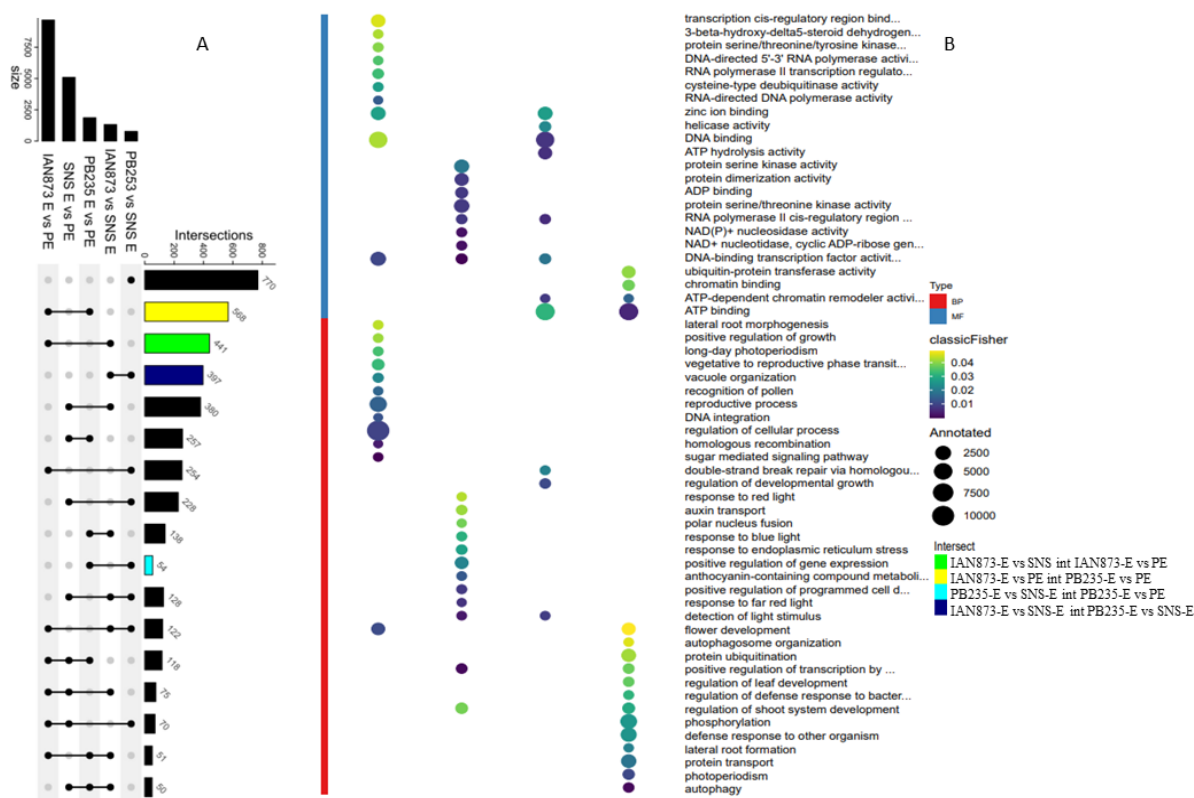


Figura 4. Análise das DEGs identificadas nas intersecções com seus genes enriquecidos. (A) Upset mostrando quantos DEGs cada interação resultou em verde (IAN873-E vs SNS-E int IAN873-E vs PE), amarelo (IAN873-E vs PE int PB235-E vs PE), azul claro (PB235-E vs SNS-E int PB235-E vs PE) e azul escuro (IAN873-E vs SNS-E int PB235-E vs SNS-E) as intersecções enriquecidas. (B) Dotplot com os GOs enriquecidos processo biológico (BP)-vermelho, função molecular (MF)-azul, tamanho do círculo indica a quantidade de genes, a cor classificação do teste de Fisher p-valor <0.05. E = Enxerto (RRIM600), PE = Porta-enxerto (IAN873, PB235 e SNS).

3.4. Biossíntese de Borracha Natural

Nas vias metabólicas envolvidas na síntese da borracha natural, especificamente nas vias MVA e MEP, foram encontrados genes com diferentes padrões de expressão nas combinações estudadas (Figura 5). Em relação a combinação entre IAN873 (E e PE), foi identificado um padrão de expressão homogêneo em comparação com as outras condições de enxertia, com destaque para os genes *rubber elongation factor* (REF), *small rubber particle protein* (SRPP), *rubber cis-prenyltransferase* (HRT). Em contraste PB235 (E e PE) apresentou uma variação mais expressiva em relação a IAN873 (Figura 5), enquanto o SNS (E e PE) mostrou um padrão mais heterogêneo entre enxerto e os porta-enxertos nos genes da via MVA (Figura 5 A). Além disso, o difosfato de isopentenila (IDI) foi encontrado como *upregulated* em PB235-PE x E e *downregulated* em IAN873-PE x E mostrando a existência de uma variação

na via MVA dependendo do porta-enxerto escolhido. Outro gene importante é o *squalene synthase* (SQS) que está *upregulated* exclusivamente em SNS-PE x E, um dos precursores no processo de formação de esteroides, podendo atuar na resposta oxidativa. Em relação à via MEP, o tratamento IAN873 (E e PE) (Figura 5 A) e PB235 (E e PE), observamos um padrão de expressão semelhante em genes como 4-hidroxy-3-methylbut-2-en-1 (ISPG), 2-c-methyl-d-erythritol 4-phosphate (ISPD) e Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (G3PC2) quando comparados a SNS (E e PE) apresenta uma maior variação (Figura 5 B), além disso, na condição SNS-PE x E, e o gene importante como o ISPD estar *downregulated*.

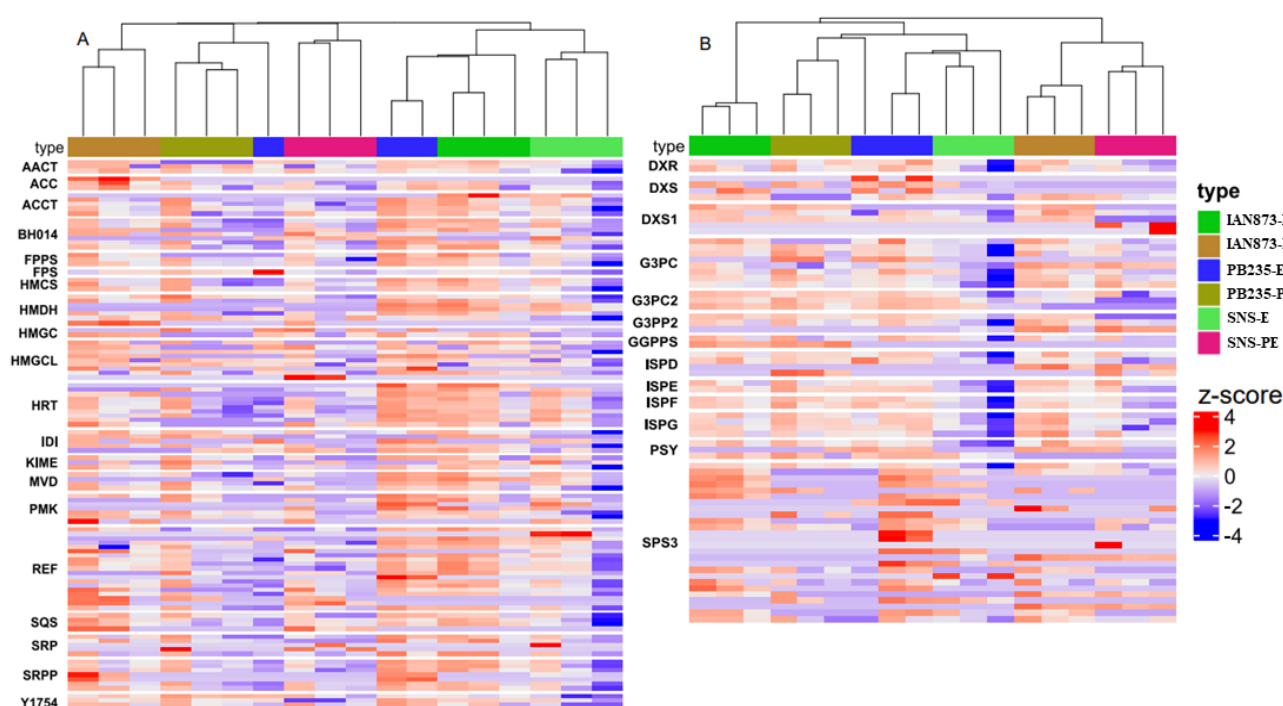


Figura 4. Perfil de expressão de genes envolvidos na via de biossíntese de Terpenóides. (A) MVA (mevalonate) via de síntese de borracha e esteroides: (Symbol) e informação: Acetil-CoA carboxilase (ACC), Hidroximetilglutaril-CoA sintase (HMGS), 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima (HMDH), Fosfomevalonato quinase peroxissomal (PMK), Difosfomevalonato descarboxilase (MVD), Esqualeno sintase (SQS), Farnesil pirofosfato sintase (FPPS), Cis-polipreniltransferase de borracha hrt2 (HRT), Proteína do fator de alongamento da borracha (REF), Difosfato de isopentenila (IPPI/IDI), Proteína pequena de partícula de borracha (SRPP), Acetiltransferase at1g77540 (Y1754), Proteína relacionada ao estresse (SRP), Fator de transcrição bhlh14 (BH014). (B) MEP (2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphat) via de sínteses de carotenóides, (Symbol) e informação: 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato sintase cloroplástica (DXS), Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (G3PC), Geranilgeranil pirofosfato sintase (GGPPS), 2-C-metil-D-eritritol4-fosfato citidililtransferase (ISPD), 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol (ISPE), 2-C-metil-D-eritritol2,4-ciclodifosfato (ISPF), 4-hidroxi-3-metilbut-2-en-1-il difosfato (ISPG), Fitoeno sintase (PSY). E = Enxerto (RRIM600), PE = Porta-enxerto (IAN873, PB253 e SNS)).

4. DISCUSSÃO

Para este trabalho foi realizada a genotipagem de todas as amostras de *H. brasiliensis* utilizadas para obtermos um transcriptoma mais preciso. Nesse sentido, foi identificado um conjunto de marcadores acurados para a identificação dos genótipos de seringueira amplamente plantados no Brasil (IAN873, PB235 e RRIM600) com alta produção de borracha natural (Cardinal et al., 2007a; b; Chow et al., 2012), e genótipos não melhorados (SNS). Essa etapa foi de extrema importância, visto que a contaminação em uma população estabelecida em 1989 (Cardinal et al., 2007a; b) é bastante frequente, o que não tira o mérito do experimento.

A montagem do transcriptoma foi feita utilizando os únicos genomas de referências disponíveis para a espécie a nível de cromossomo (Liu et al. 2020; Chao et al. 2023; Cheng et al. 2023). A quantidade de genes identificados em cada referência foi de 17.177 (Chao et al., 2023), 17.893 (Cheng et al., 2023) e 11.618 (Liu et al., 2020), em conjunto possibilitou a obtenção de um transcriptoma com 95,5% de genes completos essa quantidade de genes estão de acordo com que já foi encontrado em outros trabalhos de transcriptoma para seringueira (Mantello et al., 2014; Campos Mantello et al., 2019; Long et al., 2021; Mao et al., 2023).

Observamos a partir dos genes identificados que os clones de cada combinação se agruparam conforme o esperado, com porta-enxertos de SNS formando um grupo distintos dos demais porta-enxertos. No entanto, também é possível observar uma variação nos clones, possivelmente causada pelos efeitos do ambiente e a enxertia, resultados semelhantes também foram observados em outras espécies arbóreas como *Citros* spp (He et al., 2021), além disso, observa-se uma variação na expressão gênica dos clones devido à enxertia. Um estudo mostrou que a metilação DNA, influenciada pelo ambiente, pode causar alterações na expressão de seringueira (Uthup et al., 2018). Esse efeito pode influenciar significativamente a expressão naquele momento, afetando assim as interações moleculares (Yakovlev et al., 2011; Shang et al., 2022; He et al., 2023). Desta forma, o efeito do ambiente e a troca genética na enxertia pode ser uma possível causa da dispersão das amostras encontradas neste trabalho.

A comparação entre as plantas mais produtivas, enxertadas com IAN873 e PB235, em relação às plantas menos produtivas, enxertadas com SNS (Cardinal et al., 2007a; b), podem proporcionar uma compreensão aprofundada dos processos metabólicos envolvidos na enxertia. Nossos resultados mostram a influência dessas interações na expressão de genes envolvidos na produção de borracha natural nos genótipos (enxerto e porta-enxerto). Adicionalmente, a análise entre os contrastes IAN873-PE x E, PB235-PE x E e SNS-PE x E revelou genes específicos entre os grupos que são afetados pela enxertia como os genes REF, EIL e PPO, já

relatado na literatura (Chow et al., 2012; Wadeesirisak et al., 2017; Amri et al., 2021; Zhong et al., 2022). A estratégia aqui adotada de investigar as intersecções entre grupos contrastantes, já se mostrou eficaz em diferentes espécies vegetais, se mostrando fundamental para identificação de genes envolvidos com a produção borracha (Prabpree et al., 2018; Amri et al., 2021; Zhong et al., 2022).

Desta maneira, os resultados da análise de DEGs mostram uma variação na expressão dos genes em cada combinação relacionada à produção de borracha como IDI e ao metabolismo essencial, como o de polifenóis. Essas observações já foram relatadas por Xin et al. (2021), que mostrou a existência de estratégias diferentes para a produção de borracha entre diferentes genótipos de seringueira como Reyan7-33-97 apresentado maiores partículas de borracha que RRIM600, isso pode ocorrer por pequenos ajustes na expressão de vias de catálise do IPP. Aqui nossos resultados mostram um padrão de variação semelhante entre os genótipos RRIM600 enxertado em IAN873 e PB235, que apresentam alta produção, tal expressão se apresenta diferente em clones de RRIM600 enxertados em SNS, de menor produção.

Na combinação entre SNS-PE x E foi identificado como DEGs genes envolvidos com a biossíntese de fenilpropanóides (GO:0009699). Essa via é encontrada em outros trabalhos com relação direta com a enxertia e com forte influência na interação do porta-enxerto com enxerto podendo resultar em estresse, em decorrência da interação do enxerto com o porta-enxerto (Prabpree et al., 2018; Amri et al., 2021; Zhong et al., 2022; Hou et al., 2023). A via metabólica do fenilpropanóide estar envolvida a estresse, nessa via encontra-se fenilalanina amônia-liase (PAL) e polifenol oxidase (PPO), duas enzimas atuantes na interação da enxertia (Prabpree et al., 2018; Amri et al., 2021; Habibi et al., 2022). A enzima PAL apresenta maior expressão em seringueiras em estágios iniciais da enxertia associada a uma menor compatibilidade, porém essa expressão diminui com passar do tempo tornando-se inalterada (Prabpree et al., 2018). Esses relatos estão de acordo com os nossos resultados que não foi identificado qualquer variação nas plantas menos produtivas (SNS) e nas mais produtivas como IAN873 e PB235, relacionado a PAL. Em relação a enzima PPO, conhecida por estar associada com estresse oxidativo em plantas enxertadas, por indução de espécies oxidativas (ROS) e devido oxidar compostos fenólicos (Amri et al. 2021; Habibi et al., 2022), se mostra como *upregulated* em SNS, a combinação menos produtiva (Figura 6). O envolvimento desta enzima está relacionado ao estresse devido a enxertia, ocorrendo pela interação do porta-enxerto com o enxerto, essa relação já foi descrita na literatura em diferentes espécies, além de induzida por estresse abiótico, em plantas sob estresse biótico (enxertia) (Zhang & Sun, 2021; Amri et al. 2021; Habibi et al., 2022), desta maneira, SNS pode estar com maior nível de estresse que as

demais condições. Em pêssogo (*Prunus persica*), Amri et al. (2021) mostram que essa enzima está diretamente envolvida com estresse resultante da enxertia, provocando danos celulares por oxidar os compostos fenólicos e aumentando o nível de compostos tóxicos no citoplasma. Além disso, está envolvida com a morte celular programada por promover estresse oxidativo, gerado pela resposta a interação da enxertia (Amri et al., 2021; Hou et al., 2023). Neste sentido, em SNS-PE x E, também foram encontrados genes associados com a morte celular programada (GO:0012501) que estão ligada ao estresse oxidativo, podendo ser um indício para menor produção de borracha em SNS em comparação aos outros porta-enxertos, devido a planta ter que produzir compostos que reduz os danos oxidativos, como esteroides. Por conta dessas relações, as plantas enxertadas em porta-enxertos SNS, estão mais propícias a sofrerem estresse biótico e abiótico, o que pode acarretar uma diminuição da produção de borracha natural.

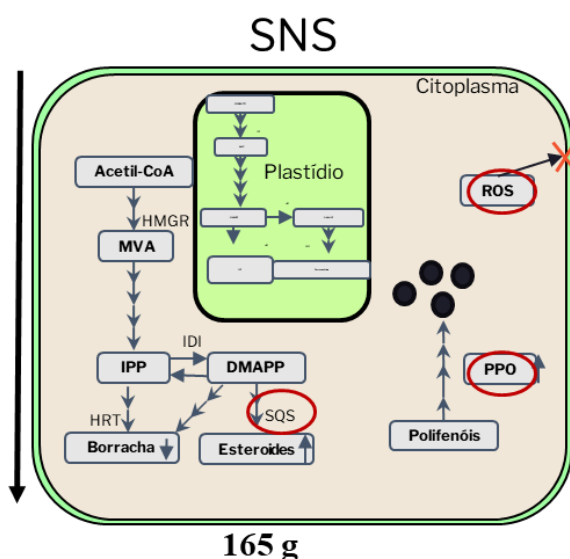


Figura 6. Condição com porta-enxerto em SNS, círculo em vermelho genes *upregulated*, SQS precursor de esteroides e PPO leva a oxidação de polifenóis induzindo ROS, via MVA citoplasma e no plastídio via MEP, seta representa menor produção de borracha em relação a PB235 e IAN873.

Quando analisadas as DEGs obtidas nas intersecções, podemos obter um padrão de genes comuns diretamente ou indiretamente envolvido na maior produção de borracha. Nós clones de IAN873-E x SNS-E e PB235-E x SNS-E enxertados, foi possível identificar genes relacionados à fosforilação de lipídios (GO:0046834), que podem atuar no processo de estruturação da borracha natural possibilitando uma melhor formação, ligada principalmente aos componentes REF e SRPP, principais componentes na produção da borracha (Wadeesirisak et al., 2017). Outro achado importante foi os genes envolvidos com a via de sinalização de

açúcar (GO:0010182), que tem importante função de promover mais ATP (Adenosina trifosfato) para via de sínteses de borracha (Tang et al., 2010). Em conjunto com o etileno, esses genes têm a função de sinalização do transportador, que acelera a via glicolítica, devido principalmente pelas proteínas das famílias gênicas AP2/ERF (Tang et al., 2010; Piyatrakul et al., 2014). É notória a importância do hormônio etileno em diversos processos biológicos como o metabolismo energético, pressão de turgescência, pH e modificações pós-traducionais em seringueira (Tang et al., 2016). Identificamos genes envolvidos com esse hormônio, como o *ethylene insensitive 3* (EIL3) que são observados como *upregulated* exclusivamente em PB235-PE x SNS-PE e PB235-PE x E. A sua função ainda não é clara, mas pode estar envolvido com a resposta específica de PB235 por produzir mais carotenóides que os outros genótipos (Chow et al., 2012).

A proteína ubiquitina (GO:0016567) que foi encontrado em IAN873 vs SNS e PB235 vs SNS enxerto, também foi encontrada com alta expressão no látex no trabalho de Long et al. (2021), demonstrando que possui uma forte influência na regulação dos lactíferos, desenvolvendo um papel importante na síntese da borracha natural, no entanto ainda há pouco conhecimento a respeito dessa proteína na síntese desse composto (Long et al., 2021), tais genes podem ser um padrão comum da influência do porta-enxertos mais produtivos, além de existir pequenas alterações intrínsecas de cada genótipos que pode estar impulsionando a via de síntese da borracha.

Nossos resultados demonstram a existência de perfis de expressão diferentes entre os clones RRIM600, devido a influência dos porta-enxerto, outros estudos também encontraram padrões de expressão diferente entre clones de genótipos diferentes (Chow et al., 2012; Campos Mantello et al., 2019; Xin et al., 2021). O estudo realizado por Chow et al., (2012) descobriu que o particionamento do IPP ocorre de duas maneiras, em PB235 existe partição de IPP entre a biossíntese de carotenoides e as partículas de Frey-Wyssling e a síntese de cis-poliisopreno nas partículas de borracha do citosol. Em RRIM600, que não produz tanto carotenoides, a via MEP é um fornecedor alternativo de IPP para a síntese de cis-poliisopreno nas partículas de borracha do citosol. Essa característica é fundamental para mostrar a influência do porta-enxerto na síntese da borracha, neste sentido, foi encontrado aqui uma variação na via MVA relacionado ao IDI que estar *upregulated* em PB235-PE x E, e *downregulated* em IAN873-PE x E podendo implicar que em PB235-PE x E esteja catalisando a isomerização de IPP em DMAPP, depois condensado em GPP, FPP e GGPP (Figura 6), no entanto essa composição pode acarretar na via para formação de esteróides ou particionamento do IPP em PB235 para via MEP (Long et al., 2021; Chow et al., 2012), diferentes das outras combinações, em SNS-

PE x E apresentou genes *upregulated* de SQS, este é precursor para formação de esteroides (Chow et al., 2012; Long et al., 2021) (Figura 5) que desempenha papel importante em estresse e resposta oxidativa (Vriet et al., 2012) podendo levar a redução na produção de borracha em SNS e na via MEP o ISPD que estar *downregulated*, possivelmente pela menor formação de carotenóides. Desta forma, essas variações já são observadas em diversos genótipos de seringueira com alta produção de borracha (Chow et al., 2012; Xin et al., 2021), também foram encontrado por Mantello et al. (2011), os clones PR255 e GT1 apresentam distintas expressões que podem afetar a produção de borracha, com o clone PR255 apresentando alta expressão da enzima de anidrase carbônica que facilita a difusão de dióxido de carbono, diferentemente o clone GT1 exibe alta expressão de genes relacionados à lignina e a síntese de flavonoides, essas descobertas corroborando com as variações observadas neste estudo, onde os clones enxertados em SNS demonstraram alta expressão de genes relacionados ao estresse biótico e abiótico, enquanto PB235 uma variação nas vias MVA e MEP, podendo ser devido o particionamento do IPP, diferente de IAN873 (Figura 7). No entanto, esta foi a primeira vez que se observou variação no clone enxertado a nível de transcriptoma, influenciado pelos porta-enxertos. Essas variações podem ocorrer devido às combinações de enxertia, que influenciam a expressão de genes, isso por sua vez, afeta as vias metabólicas dos clones enxertados e consequentemente o rendimento na produção de borracha.

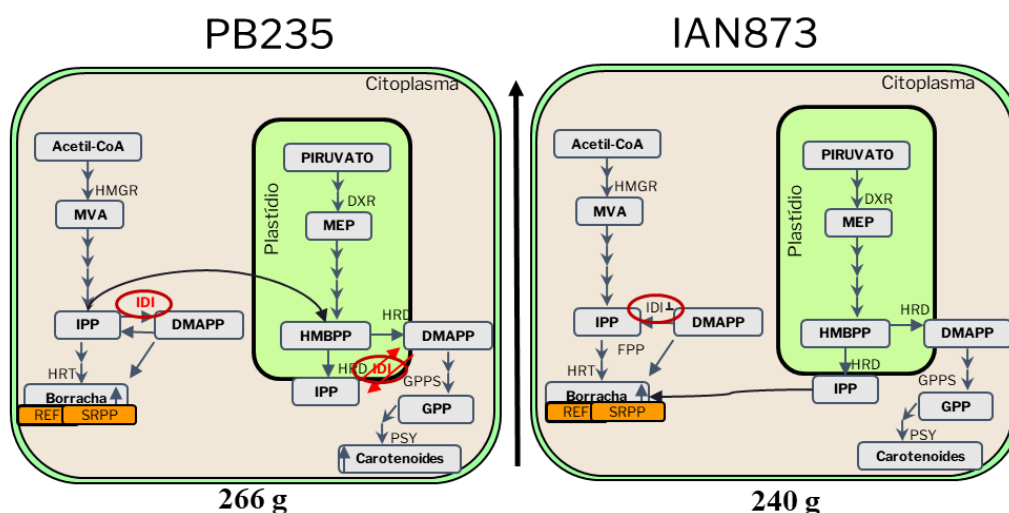


Figura 7. Condição com porta-enxertos em PB235 e IAN873, círculo em vermelho são genes *upregulated* em PB235 e *downregulated* em IAN873, via MVA citoplasma e no plastídio via MEP, seta representa maior produção de borracha em relação a SNS.

CONCLUSÃO

A identificação do perfil transcricional de genes associados a processos biológicos e vias metabólicas, em combinações de enxerto RRIM600 com porta-enxertos IAN873, PB235 e SNS é fundamental para entendimento da enxertia na espécie, sendo este o primeiro transcriptoma montado para o porta-enxerto em *H. brasiliensis*. Observamos uma variação na expressão de genes nas vias metabólicas envolvidas na síntese de borracha natural, especificamente nas vias MVA e MEP. Adicionalmente, constatou-se que os padrões de expressão podem estar sendo influenciados por uma reação à enxertia dependendo do genótipo, o que pode impactar a síntese de borracha.

Na condição com porta-enxerto SNS, foi possível identificar genes relacionado à biossíntese de fenilpropanóides, que em conjunto com o PPO que está *upregulated*, pode indicar que diferentes combinações de enxerto podem levar à formação e acúmulo de compostos tóxicos para a célula, resultando em um aumento de compostos oxidativos e danos celulares que afetam a produção de borracha. Esses achados sugerem que o PPO pode estar relacionada à interação na enxertia, provocando estresses e possivelmente reduzindo a produção de borracha em SNS-PE x E.

Além disso, foram encontradas variações relacionadas à via de síntese de borracha nos porta-enxertos mais produtivos, PB235 e IAN873. Os enxertos de PB235 apresentaram genes *upregulated* relacionados à síntese de etileno, como o específico EIL, além do IDI na via MVA, diferente do IAN873. Isso mostra que há variação do clone (enxerto) depende do porta-enxerto empregado, portanto, cada combinação de enxertia pode resultar em uma estratégia de biossíntese de borracha diferente.

PERSPECTIVA

A identificação de 10 marcadores microssatélite eficientes para identificar os genótipos IAN873, PB235 e RRIM600, pode contribuir para a heveicultura e para melhoramento, devido à possibilidade da confirmação dos genótipos pelos produtores ou empregados no programa de melhoramento.

A montagem do transcriptoma usando os três genomas de referências foi uma estratégia importante para obter boa quantidade de genes, essa estratégia pode ser empregada em trabalhos futuros para a seringueira, que apresenta um genoma complexo, devido à alta taxa de repetições e elementos de transposons.

Os resultados deste estudo fornecem uma visão valiosa sobre a influência das combinações da enxertia na expressão gênica envolvida na produção de borracha em seringueiras. Esses achados podem ter implicações significativas para a otimização da produção de borracha natural, sendo necessário ser levado em conta as possíveis interações entre enxerto com porta-enxerto que serão empregados.

Acreditamos que futuros estudos, são necessários para a melhor compreensão das interações da enxertia de seringueira em diferentes fases do desenvolvimento da planta.

Também acreditamos que este trabalho mostra a nível molecular, a importância dos porta-enxertos para o desenvolvimento do clone (copa), e a sua influência na produção de látex. Vislumbramos que tais achados possam contribuir para os programas de melhoramento genético de seringueira, principalmente no que diz respeito à importância dada ao porta-enxertos.

REFERÊNCIAS

- Alexa, A., & Rahnenfuhrer, J. (2023). *topGO: enrichment analysis for gene ontology* (2.52.0) [R package version]. <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/topGO.html>
- Aranda, P. S., LaJoie, D. M., & Jorcyk, C. L. (2012). Bleach gel: A simple agarose gel for analyzing RNA quality. *ELECTROPHORESIS*, 33(2), 366–369. <https://doi.org/10.1002/elps.201100335>
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., & Sherlock, G. (2000). Gene Ontology: Tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1), Artigo 1. <https://doi.org/10.1038/75556>
- Amri, R., C. Font i Forcada, R. Giménez, A. Pina, and M.Á. Moreno. 2021. Biochemical Characterization and Differential Expression of PAL Genes Associated With “Translocated” Peach/Plum Graft-Incompatibility. *Frontiers in Plant Science* 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.622578>.
- Bolger, A.M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30(15): 2114–2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170.
- Brown, J., M. Pirrung, and L.A. McCue. 2017. FQC Dashboard: integrates FastQC results into a web-based, interactive, and extensible FASTQ quality control tool. *Bioinformatics* 33(19): 3137–3139. doi: 10.1093/bioinformatics/btx373.
- Bryant, D.M., K. Johnson, T. DiTommaso, T. Tickle, M.B. Couger, et al. 2017. A Tissue-Mapped Axolotl De Novo Transcriptome Enables Identification of Limb Regeneration Factors. *Cell Reports* 18(3): 762–776. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.063.
- Bandana, S.M. and Ahuja, P.S. (1999) Isolation and PCR amplification of genomic DNA from market samples of dry tea. *Plant Molecular Biology Reporter* 17, 171–178.
- Bioinformatics, (2009) CD-HIT: Cluster Database at High Identity with Tolerance (bioinformatics.org) CD-HIT web server
- Campos Mantello, C., L. Boatwright, C.C. da Silva, E.J. Scaloppi, P. de Souza Goncalves, et al. 2019. Deep expression analysis reveals distinct cold-response strategies in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *BMC Genomics* 20(1): 455. doi: 10.1186/s12864-019-5852-5.
- Cardinal, Á.B.B., P. de S. Gonçalves, and A.L.M. Martins. 2007a. Influência de seis porta-enxertos sobre a produção de clones superiores de seringueira. *Bragantia* 66: 277–284. doi: 10.1590/S0006-87052007000200011.
- Cardinal, Á.B.B., P. de S. Gonçalves, and A.L.M. Martins. 2007b. Stock-scion interactions on growth and rubber yield of *Hevea brasiliensis*. *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)* 64: 235–240. doi: 10.1590/S0103-90162007000300004.
- Chao, J., S. Wu, M. Shi, X. Xu, Q. Gao, et al. 2023. Genomic insight into domestication of rubber tree. *Nat Commun* 14(1): 4651. doi: 10.1038/s41467-023-40304-y.
- Cheng, H., C. Tang, and H. Huang. 2020. The Reyan 7-33-97 Rubber Tree Genome: Insight into Its Structure, Composition and Application. In: Matsui, M. and Chow, K.-S., editors, *The Rubber Tree Genome*. Springer International Publishing, Cham. p. 13–40
- Cheng, H., X. Song, Y. Hu, T. Wu, Q. Yang, et al. 2023. Chromosome-level wild *Hevea brasiliensis* genome provides new tools for genomic-assisted breeding and valuable loci to elevate rubber yield. *Plant Biotechnology Journal* 21(5): 1058–1072. doi: 10.1111/pbi.14018.
- Chow, K.-S., Mohd.-N. Mat-Isa, A. Bahari, A.-K. Ghazali, H. Alias, et al. 2012. Metabolic routes affecting rubber biosynthesis in *Hevea brasiliensis* latex. *Journal of Experimental Botany* 63(5): 1863–1871. doi: 10.1093/jxb/err363.

- Coudert, E., S. Gehant, E. de Castro, M. Pozzato, D. Baratin, et al. 2023. Annotation of biologically relevant ligands in UniProtKB using ChEBI. *Bioinformatics* 39(1): btac793. doi: 10.1093/bioinformatics/btac793.
- Collins, G.G. and Symons, R.H. (1992) Extraction of nuclear DNA from grape vine leaves by a modified procedure. *Plant Molecular Biology Reporter* 10, 233–235
- Deng, X., D. Guo, S. Yang, M. Shi, J. Chao, et al. 2018. Jasmonate signalling in the regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree, *Hevea brasiliensis*. *Journal of Experimental Botany* 69(15): 3559–3571. doi: 10.1093/jxb/ery169.
- De la Cruz, M., Whitkus, R.M. and Motabravo, L. (1995) Tropical tree DNA isolation and amplification. *Molecular Ecology* 4, 787–789.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12, 13–15.
- FAO. (2023). *FAOSTAT Website, FAO Statistic Division*. <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>
- Fiepr (2019) Cientistas usam nanotecnologia para avaliar novos clones de seringueira Pesquisa da Embrapa auxilia no melhoramento genético da planta [https://www.fiepr.org.br/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/](https://www.fiepr.org.br/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/especial/boletins-setoriais/7/)
- Gu, Z., Eils, R., & Schlesner, M. (2016). Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. *Bioinformatics*, 32(18), 2847–2849. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw313>
- Guigó, R., P. Agarwal, J.F. Abril, M. Burset, and J.W. Fickett. 2000. An Assessment of Gene Prediction Accuracy in Large DNA Sequences. *Genome Res.* 10(10): 1631–1642. doi: 10.1101/gr.122800.
- Habibi, F., Liu, T., Folta, K., & Sarkhosh, A. (2022). Physiological, biochemical, and molecular aspects of grafting in fruit trees. *Horticulture Research*, 9, uhac032. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac032>
- He, Q., Tang, S., Zhi, H., Chen, J., Zhang, J., Liang, H., Alam, O., Li, H., Zhang, H., Xing, L., Li, X., Zhang, W., Wang, H., Shi, J., Du, H., Wu, H., Wang, L., Yang, P., Xing, L., ... Diao, X. (2023). A graph-based genome and pan-genome variation of the model plant *Setaria*. *Nature Genetics*, 55(7), Artigo 7. <https://doi.org/10.1038/s41588-023-01423-w>
- He, W., R. Xie, Y. Wang, Q. Chen, H. Wang, et al. 2022. Comparative transcriptomic analysis on compatible/incompatible grafts in *Citrus*. *Horticulture Research* 9: uhab072. doi: 10.1093/hr/uhab072.
- Hou, Y., X. Qin, H. Qiu, D. Li, N. Xu, et al. 2023. Metabolite profiling and transcriptome analyses provide insight into the regulatory network of graft incompatibility in litchi. *Frontiers in Genetics* 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2022.1059333> (accessed 8 January 2024).
- IRCA. Institut de Recherches sur le Caoutchouc. Clone PB 235: fiche technique A-4, Paris, 1976, 4p.
- Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>
- Khotcharat, N., S. Sdoodee, and U. Meesawat. 2016. Growth performance of clonal rubber rootstocks and combining ability test with the scion of clone RRIM600. *Agriculture and Natural Resources* 50(2): 98–103. doi: 10.1016/j.anres.2015.07.003.
- Kovaka, S., A.V. Zimin, G.M. Pertea, R. Razaghi, S.L. Salzberg, et al. 2019. Transcriptome assembly from long-read RNA-seq alignments with StringTie2. *Genome Biology* 20(1): 278. doi: 10.1186/s13059-019-1910-1.

- Le Guen, V., C. Gay, T.C. Xiong, L.M. Souza, M. Rodier-Goud, et al. 2011. Development and characterization of 296 new polymorphic microsatellite markers for rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Plant Breeding* 130(2): 294–296. doi: 10.1111/j.1439-0523.2010.01774.x.
- Liu, J., C. Shi, C.C. Shi, W. Li, Q.J. Zhang, et al. 2020. The Chromosome-Based Rubber Tree Genome Provides New Insights into Spurge Genome Evolution and Rubber Biosynthesis. *Molecular Plant* 13(2): 336–350. doi: 10.1016/J.MOLP.2019.10.017.
- Liu, Y., H. Liu, T. Zhang, J. Liu, X. Sun, et al. 2023. Interactions between rootstock and scion during grafting and their molecular regulation mechanism. *Scientia Horticulturae* 308: 111554. doi: 10.1016/j.scienta.2022.111554.
- Long, X., Y. Fang, Y. Qin, J. Yang, and X. Xiao. 2021. Latex-specific transcriptome analysis reveals mechanisms for latex metabolism and natural rubber biosynthesis in laticifers of *Hevea brasiliensis*. *Industrial Crops and Products* 171: 113835. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113835.
- Love, M.I., W. Huber, and S. Anders. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology* 15(12): 550. doi: 10.1186/s13059-014-0550-8.
- Mao, C., L. Li, T. Yang, M. Gui, X. Li, et al. 2023. Transcriptomics integrated with widely targeted metabolomics reveals the cold resistance mechanism in *Hevea brasiliensis*. *Frontiers in Plant Science* 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.1092411> (accessed 10 January 2024).
- Mantello, C. C., Cardoso-Silva, C. B., Silva, C. C. da, Souza, L. M. de, Junior, E. J. S., Gonçalves, P. de S., Vicentini, R., & Souza, A. P. de. (2014). De Novo Assembly and Transcriptome Analysis of the Rubber Tree (*Hevea brasiliensis*) and SNP Markers Development for Rubber Biosynthesis Pathways. *PLOS ONE*, 9(7), e102665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102665>
- Mercado, J.A., Mansouri, E.I., Bermudez, J.S., Alfaro, F.P. and Quesada, M.A. (1999) A convenient protocol for extraction and purification of DNA from *Fragaria*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant* 35, 152–153.
- Mistry, J., Chuguransky, S., Williams, L., Qureshi, M., Salazar, G. A., Sonnhammer, E. L. L., Tosatto, S. C. E., Paladin, L., Raj, S., Richardson, L. J., Finn, R. D., & Bateman, A. (2021). Pfam: The protein families database in 2021. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D412–D419. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913>
- Mose Manni, Matthew R Berkeley, Mathieu Seppely, Felipe A Simão, and Evgeny M Zdobnov. BUSCO update: Novel and streamlined workflows along with broader and deeper phylogenetic coverage for scoring of eukaryotic, prokaryotic, and viral genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 38(10):4647–4654, jul 2021. doi: 10.1093/molbev/msab199. URL <https://doi.org/10.1093/molbev/msab199>.
- Patro, R., G. Duggal, M.I. Love, R.A. Irizarry, and C. Kingsford. 2017. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. *Nat Methods* 14(4): 417–419. doi: 10.1038/nmeth.4197.
- Piyatrakul, P., M. Yang, R.-A. Putranto, J. Pirrello, F. Dessailly, et al. 2014. Sequence and Expression Analyses of Ethylene Response Factors Highly Expressed in Latex Cells from *Hevea brasiliensis*. *PLOS ONE* 9(6): e99367. doi: 10.1371/journal.pone.0099367.
- Prabpree, A., P. Sangsil, C. Nualsri, and K. Nakkanong. 2018. Expression profile of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and phenolic content during early stages of graft development in bud grafted *Hevea brasiliensis*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 14: 88–95. doi: 10.1016/j.bcab.2018.02.010.
- Priyadarshan, P.M. 2017. Refinements to *Hevea* rubber breeding. *Tree Genetics & Genomes* 13(1): 20. doi: 10.1007/s11295-017-1101-8.

- R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Robinson, M.D., D.J. McCarthy, and G.K. Smyth. 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26(1): 139–140. doi: 10.1093/bioinformatics/btp616.
- Shang, L., Li, X., He, H., Yuan, Q., Song, Y., Wei, Z., Lin, H., Hu, M., Zhao, F., Zhang, C., Li, Y., Gao, H., Wang, T., Liu, X., Zhang, H., Zhang, Y., Cao, S., Yu, X., Zhang, B., ... Qian, Q. (2022). A super pan-genomic landscape of rice. *Cell Research*, 32(10), Artigo 10. <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00685-z>
- Stark, R., M. Grzelak, and J. Hadfield. 2019. RNA sequencing: the teenage years. *Nat Rev Genet* 20(11): 631–656. doi: 10.1038/s41576-019-0150-2.
- Suryanarayanan, T. S., & Azevedo, J. L. (2023). From forest to plantation: A brief history of the rubber tree. *Indian Journal of History of Science*, 58(1), 74–78. <https://doi.org/10.1007/s43539-023-00071-7>
- Schierenbeck, K.A. (1994) Modified polyethylene glycol DNA extraction procedure for silica gel dried tropical woody plants. *Biotechniques* 16, 392–394.
- Tang, C., D. Huang, J. Yang, S. Liu, S. Sakr, et al. 2010. The sucrose transporter HbSUT3 plays an active role in sucrose loading to laticifer and rubber productivity in exploited trees of *Hevea brasiliensis* (para rubber tree). *Plant, Cell & Environment* 33(10): 1708–1720. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02175.x.
- Tang, C., M. Yang, Y. Fang, Y. Luo, S. Gao, et al. 2016. The rubber tree genome reveals new insights into rubber production and species adaptation. *Nature Plants* 2(6): 1–10. doi: 10.1038/nplants.2016.73.
- Tel-Zur, N., Abbo, S., Myslabodski, D. and Mizrahi, Y. (1999) Modified CTAB procedure for DNA isolation from epiphytic cacti of the genera *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). *Plant Molecular Biology Reporter* 17, 249–254.
- Uthup, T. K., Karumamkandathil, R., Ravindran, M., & Saha, T. (2018). Heterografting induced DNA methylation polymorphisms in *Hevea brasiliensis*. *Planta*, 248(3), 579–589. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2918-6>
- Vriet, C., E. Russinova, and C. Reuzeau. 2012. Boosting Crop Yields with Plant Steroids. *The Plant Cell* 24(3): 842–857. doi: 10.1105/tpc.111.094912.
- Wadeesirisak, K., S. Castano, K. Berthelot, L. Vaysse, F. Bonfils, et al. 2017. Rubber particle proteins REF1 and SRPP1 interact differently with native lipids extracted from *Hevea brasiliensis* latex. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1859(2): 201–210. doi: 10.1016/j.bbamem.2016.11.010.
- Wickham H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Xin, S., Y. Hua, J. Li, X. Dai, X. Yang, et al. 2021. Comparative analysis of latex transcriptomes reveals the potential mechanisms underlying rubber molecular weight variations between the *Hevea brasiliensis* clones RRIM600 and Reyan7-33-97. *BMC Plant Biology* 21(1): 244. doi: 10.1186/s12870-021-03022-5.
- Yamashita, S., and S. Takahashi. 2020. Molecular Mechanisms of Natural Rubber Biosynthesis. *Annual Review of Biochemistry* 89(1): 821–851. doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-111107.
- Yakovlev, I. A., Asante, D. K. A., Fossdal, C. G., Junttila, O., & Johnsen, Ø. (2011). Differential gene expression related to an epigenetic memory affecting climatic adaptation in Norway spruce. *Plant Science*, 180(1), 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.07.004>

- Yao, X., X. Chen, J. Wang, J. Zhou, M. Cai, et al. 2017. Effect of Clonal Rootstocks on the Growth and Yield of Hevea Rubber. *J Rubber Res* 20(3): 203–212. doi: 10.1007/BF03449152.
- Yuan, K., X. Ding, L.-F. Yang, Z.-H. Wang, W.-F. Lin, et al. 2011. Proteome analysis of interaction between rootstocks and scions in *Hevea brasiliensis*. *AJB* 10(66): 14816–1425. doi: 10.5897/AJB11.1844.
- Zhang, J., & Sun, X. (2021). Recent advances in polyphenol oxidase-mediated plant stress responses. *Phytochemistry*, 181, 112588. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112588>
- Zhong, H., Z. Liu, F. Zhang, X. Zhou, X. Sun, et al. 2022. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal the effects of self- and hetero-grafting on anthocyanin biosynthesis in grapevine. *Horticulture Research* 9: uhac103. doi: 10.1093/hr/uhac103.

APÊNDICES

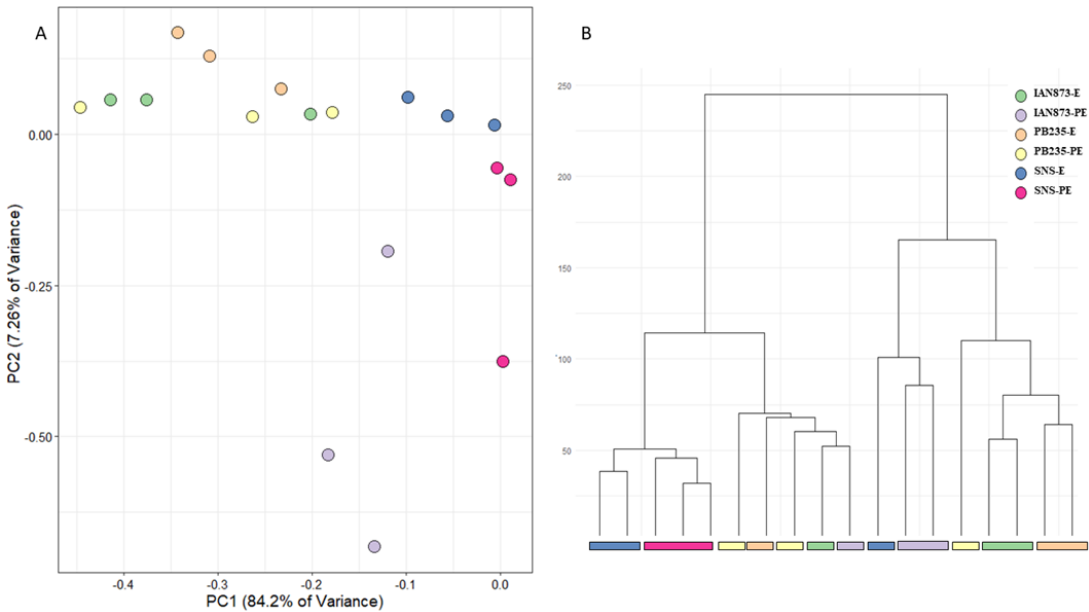


Figura suplementar 1. Análise da dispersão das amostras. A Análise do componente principal (PC1 e PC2). B Análise de agrupamento hierárquico. E = Enxerto (RRIM600), PE = Porta-enxerto (IAN973, PB253 e SNS)

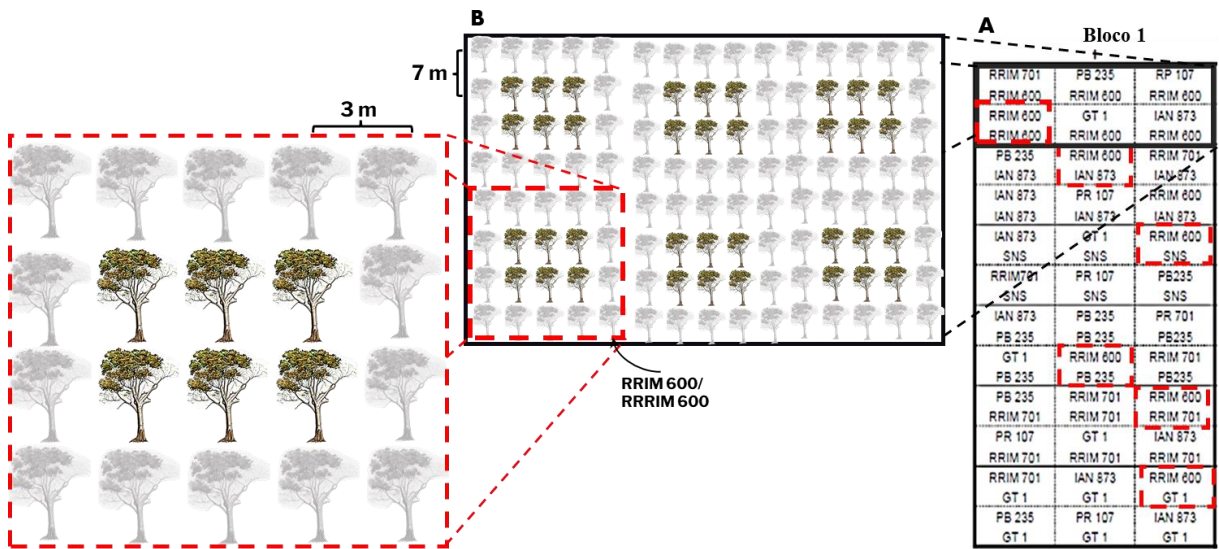


Figura suplementar 2. Esquema do delineamento experimental em blocos ao acaso, 4 blocos A. Bloco 1 do delineamento experimental dividido em parcelas, B. Parcelas com 6 tratamentos com subparcelas com 20 plantas e 6 plantas a repetição de um tratamento, as demais plantas são bordaduras.

Tabela suplementar 1. Loco corresponde ao nome do Loco; Acesso corresponde ao *accession number* no banco de dados EMBL; Primer Senso e antisenso; Repetição corresponde ao *motif* repetido em tandem; Faixa de tamanho do alelo. Tabela adaptada de Le Guen, V et al (2011).

Loco	Acesso	Primer Senso	Primer Antisenso	Repetição	Faixa de tamanho do alelo
TAs2746	AY486902	GCCACTCAATTTCTCTTC	AGTAAAATCAATGTCACAGG	(GT)15	159-193
A2412	AY486699	TCCATGAGCAACTCTTC	GTCTTCTACATTCTCTACTGACT	(GA)17	281-297
A2405	AY486696	AAGTTGATGTTAGGAGGAA	GAACTACGTCTGCATTGA	(GA)21	147-173
A2483	AY486729	TACATAAATCCAGCCCA	ACTCATCTATTTTGTCTACCC	(CT)21	182-210
A2298	AY486676	TACCTCTGCTAAAATACCC	TACAAAGAGGAGAGCGA	(CT)15	255-271
A2398	AY486694	GGACTATTTCTTGGATGG	GTGGATAGCAAGTGAGGT	(CT)22	188-218
a297	AY486576	CGAGCACTGGAAAAAGATAG A	TGAAAAGAAAGTTATGGATTGG A	(GA)16	187-215
A2723	AY486835	GCAATAAATGAGTGAGCA	AGAAACGGATAGTGGAAA	(CT)15	269-279
T2091	AY486907	GAAAAGCCAAGCAAAA	CAGCGGTAACAAAGATG	(CA)9	277-315
A2413	AY486681	ATCCAAACCTGCTCATAC	GACCCCTATCCAAAAGA	(GA)17	287-311

Tabela suplementar 1. Gos relacionados às intersecções

GO.ID	Term	A	Fisher	Class	intersecções	GeneList_2
GO:0006914	autophagy	272	1	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10304.2,catas_MSTRG.10304.3
GO:0070413	trehalose metabolism in response to stre...	33	36	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.18764.2,catas_MSTRG.18764.4
GO:1900186	negative regulation of clathrin-dependen...	11	45	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.2510.1,catas_MSTRG.29017.2
GO:0010964	regulation of regulatory ncRNA-mediated ...	11	45	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.9016.11,catas_MSTRG.9016.5
GO:0005992	trehalose biosynthetic process	38	54	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.18764.2,catas_MSTRG.18764.4
GO:0009772	photosynthetic electron transport in pho...	12	54	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12231.1,catas_MSTRG.22789.3
GO:2000601	positive regulation of Arp2/3 complex-me...	12	54	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11273.4,catas_MSTRG.3958.3
GO:0002143	tRNA wobble position uridine thiolation	12	54	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11585.1,catas_MSTRG.1929.5
GO:0055063	sulfate ion homeostasis	13	63	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.15895.1,catas_MSTRG.28920.2

GO:0051291	protein heterooligomerization	13	63	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11101.1,catas_MSTRG.4787.3
GO:0006168	adenine salvage	14	74	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.17945.1,catas_MSTRG.21653.2
GO:0032776	DNA methylation on cytosine	43	76	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10641.1,catas_MSTRG.11093.1
GO:0009228	thiamine biosynthetic process	44	81	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11588.1,catas_MSTRG.12900.1
GO:0009638	phototropism	47	97	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12682.1,catas_MSTRG.15689.1
GO:0009648	photoperiodism	495	105	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10086.5,catas_MSTRG.1059.2
GO:0044209	AMP salvage	17	108	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12077.1,catas_MSTRG.15175.1
GO:0010199	organ boundary specification between lat...	17	108	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.13555.1,catas_MSTRG.13555.2
GO:0072318	clathrin coat disassembly	17	108	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.2510.1,catas_MSTRG.28349.1
GO:0006166	purine ribonucleoside salvage	18	121	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12077.1,catas_MSTRG.15175.1
GO:0045652	regulation of megakaryocyte differentiat...	20	148	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.4991.12,catas_MSTRG.4991.2
GO:1904294	positive regulation of ERAD pathway	21	163	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12921.3,catas_MSTRG.15905.2
GO:0015031	protein transport	2056	184	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10025.2,catas_MSTRG.10155.1
GO:0010311	lateral root formation	112	211	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.1100.4,catas_MSTRG.13061.1
GO:0098542	defense response to other organism	2641	25	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10059.1,catas_MSTRG.1006.1
GO:0016310	phosphorylation	3181	257	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10025.2,catas_MSTRG.10059.1
GO:0000423	mitophagy	27	262	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11076.2,catas_MSTRG.11076.3
GO:0006893	Golgi to plasma membrane transport	71	29	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10537.1,catas_MSTRG.14073.1
GO:0048831	regulation of shoot system development	662	293	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10095.1,catas_MSTRG.10095.2
GO:1900424	regulation of defense response to bacter...	156	313	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11193.1,catas_MSTRG.12022.2
GO:0046854	phosphatidylinositol phosphate biosynthe...	76	345	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10586.1,catas_MSTRG.15910.1
GO:2000024	regulation of leaf development	259	366	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10336.1,catas_MSTRG.10557.1
GO:0045944	positive regulation of transcription by ...	332	374	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10530.1,catas_MSTRG.1059.2
GO:0032456	endocytic recycling	34	401	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.1816.2,catas_MSTRG.1816.3

GO:0016567	protein ubiquitination	1674	416	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10025.2,catas_MSTRG.10064.1
GO:0046834	lipid phosphorylation	83	43	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10586.1,catas_MSTRG.14702.1
GO:0044057	regulation of system process	11	457	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11076.2,catas_MSTRG.11076.3
GO:1904970	brush border assembly	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.13678.4,catas_MSTRG.5493.1
GO:1902018	negative regulation of cilium assembly	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.24101.1,catas_MSTRG.24101.2
GO:2000122	negative regulation of stomatal complex ...	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.16228.5,wild_MSTRG.10369.1
GO:1903842	response to arsenite ion	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.5386.2,gt1_MSTRG.5703.2
GO:1900366	negative regulation of defense response ...	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	gt1_MSTRG.4006.2,wild_MSTRG.13085.1
GO:0090414	molybdate ion export from vacuole	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.16566.1,catas_MSTRG.16566.2
GO:0051149	positive regulation of muscle cell diffe...	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	gt1_MSTRG.31373.1,gt1_MSTRG.31373.3
GO:0002526	acute inflammatory response	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	gt1_MSTRG.6789.1,gt1_MSTRG.8147.2
GO:1904106	protein localization to microvillus	5	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.13678.4,catas_MSTRG.5493.1
GO:1905037	autophagosome organization	118	459	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10304.2,catas_MSTRG.10304.3
GO:1901002	positive regulation of response to salt ...	37	468	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10991.1,catas_MSTRG.14212.2
GO:0009908	flower development	1245	483	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10005.2,catas_MSTRG.10095.1
GO:0043666	regulation of phosphoprotein phosphatase...	47	488	BP	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12452.2,catas_MSTRG.154.4
GO:0010117	photoprotection	24	21	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12494.1,catas_MSTRG.19349.1
GO:1902347	response to strigolactone	26	29	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0045944	positive regulation of transcription by ...	332	106	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10530.1,catas_MSTRG.1059.2
GO:0019677	NAD catabolic process	76	265	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1238.1,catas_MSTRG.1238.3
GO:0009583	detection of light stimulus	138	31	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10973.7,catas_MSTRG.13070.11
GO:0071000	response to magnetism	7	314	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.28877.1,catas_MSTRG.28877.3
GO:1902448	positive regulation of shade avoidance	7	314	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.28877.1,catas_MSTRG.28877.3
GO:1901529	positive regulation of anion channel act...	7	314	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.28877.1,catas_MSTRG.28877.3

GO:0010218	response to far red light	96	717	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10224.1,catas_MSTRG.10224.5
GO:0042938	dipeptide transport	11	794	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.24660.4,catas_MSTRG.2652.1
GO:0043068	positive regulation of programmed cell d...	182	817	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10025.2,catas_MSTRG.1238.1
GO:1900426	positive regulation of defense response ...	67	991	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12590.2,catas_MSTRG.13607.1
GO:0010617	circadian regulation of calcium ion osci...	13	1108	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0042939	tripeptide transport	13	1108	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.24660.4,catas_MSTRG.2652.1
GO:0015693	magnesium ion transport	43	1174	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12538.2,catas_MSTRG.12851.1
GO:0046886	positive regulation of hormone biosynthe...	23	1247	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11753.1,catas_MSTRG.17837.1
GO:0046856	phosphatidylinositol dephosphorylation	40	1358	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13204.2,catas_MSTRG.13204.3
GO:0046283	anthocyanin-containing compound metaboli...	153	1362	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1068.1,catas_MSTRG.10973.7
GO:1901672	positive regulation of systemic acquired...	15	1468	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1059.2,catas_MSTRG.20581.1
GO:0010343	singlet oxygen-mediated programmed cell ...	15	1468	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12658.3,catas_MSTRG.12658.5
GO:0010244	response to low fluence blue light stimu...	16	1664	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0034982	mitochondrial protein processing	17	187	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10711.3,catas_MSTRG.10813.1
GO:0051289	protein homotetramerization	17	187	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.19440.1,catas_MSTRG.19847.1
GO:0043153	entrainment of circadian clock by photop...	18	2087	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:1901332	negative regulation of lateral root deve...	18	2087	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.16286.2,catas_MSTRG.28877.1
GO:0009638	phototropism	47	2091	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12682.1,catas_MSTRG.15689.1
GO:0010628	positive regulation of gene expression	1167	2149	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10178.1,catas_MSTRG.10356.1
GO:0009785	blue light signaling pathway	48	221	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12682.1,catas_MSTRG.13070.11
GO:0048826	cotyledon morphogenesis	45	2306	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13484.2,catas_MSTRG.13983.1
GO:0034976	response to endoplasmic reticulum stress	310	2757	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10270.1,catas_MSTRG.10270.9
GO:0006370	7-methylguanosine mRNA capping	22	3049	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10800.1,catas_MSTRG.10800.2
GO:0009637	response to blue light	188	3075	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10005.2,catas_MSTRG.11616.2

GO:0015914	phospholipid transport	67	3306	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11313.1,catas_MSTRG.11313.6
GO:0010310	regulation of hydrogen peroxide metaboli...	24	3584	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11451.1,catas_MSTRG.12493.14
GO:0010197	polar nucleus fusion	101	3807	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1000.7,catas_MSTRG.10013.2
GO:0048831	regulation of shoot system development	662	3823	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10095.1,catas_MSTRG.10095.2
GO:0072387	flavin adenine dinucleotide metabolic pr...	25	3864	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0060918	auxin transport	265	4115	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10005.2,catas_MSTRG.10495.1
GO:0010114	response to red light	105	429	BP	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10260.1,catas_MSTRG.11430.1
GO:0009638	phototropism	47	18	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12682.1,catas_MSTRG.15689.1
GO:1904106	protein localization to microvillus	5	65	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13678.4,catas_MSTRG.5493.1
GO:1904970	brush border assembly	5	65	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13678.4,catas_MSTRG.5493.1
GO:0009583	detection of light stimulus	138	88	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10973.7,catas_MSTRG.13070.11
GO:1901529	positive regulation of anion channel act...	7	92	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.28877.1,catas_MSTRG.28877.3
GO:0071000	response to magnetism	7	92	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.28877.1,catas_MSTRG.28877.3
GO:1902448	positive regulation of shade avoidance	7	92	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.28877.1,catas_MSTRG.28877.3
GO:0048638	regulation of developmental growth	320	109	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10266.1,catas_MSTRG.10378.2
GO:1900186	negative regulation of clathrin-dependen...	11	144	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.2510.1,catas_MSTRG.29017.2
GO:0000720	pyrimidine dimer repair by nucleotide-ex...	12	156	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.23917.3,catas_MSTRG.5690.1
GO:0010617	circadian regulation of calcium ion osci...	13	169	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0009584	detection of visible light	14	182	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.2440.1,catas_MSTRG.2440.2
GO:0010343	singlet oxygen-mediated programmed cell ...	15	195	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12658.3,catas_MSTRG.12658.5
GO:1901672	positive regulation of systemic acquired...	15	195	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1059.2,catas_MSTRG.20581.1
GO:0051214	RNAi-mediated antiviral immunity against...	15	195	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13237.11,catas_MSTRG.13237.13
GO:0010244	response to low fluence blue light stimu...	16	208	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0048578	positive regulation of long-day photoper...	16	208	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12554.13,catas_MSTRG.20834.1

GO:0000724	double-strand break repair via homologou...	171	213	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10886.1,catas_MSTRG.13206.1
GO:0034982	mitochondrial protein processing	17	221	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10711.3,catas_MSTRG.10813.1
GO:0072318	clathrin coat disassembly	17	221	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.2510.1,catas_MSTRG.28349.1
GO:0009970	cellular response to sulfate starvation	17	221	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.21343.1,catas_MSTRG.30476.1
GO:1900486	positive regulation of isopentenyl diphos...	17	221	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.15366.1,catas_MSTRG.17413.1
GO:0043153	entrainment of circadian clock by photop...	18	234	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:1901332	negative regulation of lateral root deve...	18	234	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.16286.2,catas_MSTRG.28877.1
GO:0010226	response to lithium ion	18	234	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11713.1,catas_MSTRG.11713.3
GO:0017196	N-terminal peptidyl-methionine acetylati...	22	285	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.16557.1,catas_MSTRG.25079.1
GO:0010117	photoprotection	24	311	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12494.1,catas_MSTRG.19349.1
GO:0010310	regulation of hydrogen peroxide metaboli...	24	311	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11451.1,catas_MSTRG.12493.14
GO:0000055	ribosomal large subunit export from nucl...	25	323	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11374.1,catas_MSTRG.11764.1
GO:0072387	flavin adenine dinucleotide metabolic pr...	25	323	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:1902347	response to strigolactone	26	336	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0010143	cutin biosynthetic process	35	45	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.14981.1,catas_MSTRG.15230.2
GO:0010345	suberin biosynthetic process	35	45	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.15366.1,catas_MSTRG.15721.20
GO:0090110	COPII-coated vesicle cargo loading	37	475	BP	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11204.1,catas_MSTRG.1609.1
GO:0010182	sugar mediated signaling pathway	125	0,00052	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10093.3", "catas_MSTRG.12169.3")
GO:0033320	UDP-D-xylose biosynthetic process	17	68	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10647.1", "catas_MSTRG.10647.2")
GO:0042732	D-xylose metabolic process	22	149	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10647.1", "catas_MSTRG.10647.2")
GO:1901255	nucleotide-excision repair involved in i...	6	158	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.23917.3", "gt1_MSTRG.30015.3")
GO:0071578	zinc ion import across plasma membrane	6	158	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("gt1_MSTRG.37216.1", "gt1_MSTRG.37216.12")
GO:1902182	shoot apical meristem development	54	243	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10350.12", "catas_MSTRG.10350.4")
GO:0032197	retrotransposition	29	335	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.13879.1", "catas_MSTRG.13879.2")

GO:0035825	homologous recombination	87	365	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10025.2", "catas_MSTRG.10519.1")
GO:0000423	mitophagy	27	369	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11076.2", "catas_MSTRG.11076.3")
GO:0000720	pyrimidine dimer repair by nucleotide-ex...	12	666	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.23917.3", "catas_MSTRG.5690.1")
GO:0050821	protein stabilization	72	682	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.13186.3", "catas_MSTRG.15137.1")
GO:0006535	cysteine biosynthetic process from serin...	38	721	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11195.4", "catas_MSTRG.11195.7")
GO:0050794	regulation of cellular process	10550	965	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10005.2", "catas_MSTRG.10008.11")
GO:0009908	flower development	1245	1103	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10005.2", "catas_MSTRG.10095.1")
GO:0015074	DNA integration	86	1258	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11603.1", "catas_MSTRG.12254.1")
GO:0007064	mitotic sister chromatid cohesion	47	1294	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.16727.1", "catas_MSTRG.16727.2")
GO:2000134	negative regulation of G1/S transition o...	18	1482	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.15199.1", "catas_MSTRG.16807.4")
GO:0048497	maintenance of floral organ identity	18	1482	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12653.1", "catas_MSTRG.12653.2")
GO:0034727	piecemeal microautophagy of the nucleus	18	1482	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12345.2", "catas_MSTRG.12345.4")
GO:0022414	reproductive process	3704	1492	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10005.2", "catas_MSTRG.10016.1")
GO:0048544	recognition of pollen	109	1564	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10376.3", "catas_MSTRG.10537.1")
GO:0000712	resolution of meiotic recombination inte...	19	1645	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.14022.1", "catas_MSTRG.16146.1")
GO:0006423	cysteinyI-tRNA aminoacylation	20	1815	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.17039.2", "catas_MSTRG.17039.4")
GO:0016578	histone deubiquitination	20	1815	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10025.2", "catas_MSTRG.17767.3")
GO:0007033	vacuole organization	221	2225	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10304.2", "catas_MSTRG.10304.3")
GO:0010117	photoprotection	24	2566	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12494.1", "catas_MSTRG.19349.1")
GO:0060149	negative regulation of post-transcriptio...	24	2566	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10931.3", "catas_MSTRG.10931.4")
GO:0010105	negative regulation of ethylene-activate...	61	2584	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10093.3", "catas_MSTRG.11263.1")
GO:0000463	maturation of LSU-rRNA from tricistronic...	63	2809	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11075.1", "catas_MSTRG.12173.5")
GO:0000967	rRNA 5'-end processing	27	3198	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.121.2", "catas_MSTRG.1810.1")
GO:0009088	threonine biosynthetic process	27	3198	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.16832.3", "catas_MSTRG.20240.2")

GO:0010158	abaxial cell fate specification	27	3198	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.129.2", "catas_MSTRG.17542.1")
GO:0010228	vegetative to reproductive phase transit...	673	324	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10086.5", "catas_MSTRG.10589.1")
GO:0080050	regulation of seed development	67	3288	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12032.1", "catas_MSTRG.12444.1")
GO:0048571	long-day photoperiodism	163	3391	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.1059.2", "catas_MSTRG.11512.3")
GO:0071035	nuclear polyadenylation-dependent rRNA c...	28	342	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10392.1", "catas_MSTRG.11472.10")
GO:0045454	cell redox homeostasis	71	3807	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10181.1", "catas_MSTRG.11537.1")
GO:0010587	miRNA catabolic process	31	4123	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.14974.1", "catas_MSTRG.18892.1")
GO:0045927	positive regulation of growth	132	4124	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10070.1", "catas_MSTRG.11252.1")
GO:0010102	lateral root morphogenesis	144	4349	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.1100.4", "catas_MSTRG.12296.1")
GO:0009937	regulation of gibberellic acid mediated ...	57	4601	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11095.1", "catas_MSTRG.13168.1")
GO:0070413	trehalose metabolism in response to stre...	33	4619	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.18764.2", "catas_MSTRG.18764.4")
GO:0018107	peptidyl-threonine phosphorylation	34	4875	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11410.1", "catas_MSTRG.11410.2")
GO:0034063	stress granule assembly	34	4875	BP	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.16327.14", "catas_MSTRG.16327.16")
GO:0045156	electron transporter, transferring elect...	9	29	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12231.1,gr1_MSTRG.36626.1
GO:0042131	thiamine phosphate phosphatase activity	10	36	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11588.1,catas_MSTRG.13601.1
GO:0050334	thiaminase activity	11	43	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11588.1,catas_MSTRG.13601.1
GO:0034237	protein kinase A regulatory subunit bind...	12	52	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11273.4,catas_MSTRG.3958.3
GO:0071933	Arp2/3 complex binding	12	52	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.11273.4,catas_MSTRG.3958.3
GO:0005524	ATP binding	5824	53	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10003.2,catas_MSTRG.10003.5
GO:1990756	ubiquitin ligase-substrate adaptor activ...	13	61	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.13612.1,catas_MSTRG.13612.2
GO:0003999	adenine phosphoribosyltransferase activi...	14	7	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.17945.1,catas_MSTRG.21653.2
GO:0000285	1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kin...	16	91	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.20320.2,catas_MSTRG.20320.3
GO:0003825	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase...	16	91	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.18764.2,catas_MSTRG.18764.4
GO:0000993	RNA polymerase II complex binding	55	139	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10095.1,catas_MSTRG.10095.2

GO:0140658	ATP-dependent chromatin remodeler activi...	104	153	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.1069.3,catas_ MSTRG.10957.1
GO:0004523	RNA-DNA hybrid ribonuclease activity	75	314	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.12241.2,catas_ _MSTRG.14730.1
GO:0003682	chromatin binding	516	378	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10603.1,catas_ _MSTRG.10603.2
GO:0004842	ubiquitin-protein transferase activity	1145	404	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10025.2,catas_ _MSTRG.10064.1
GO:0090729	toxin activity	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.24747.1,catas_ _MSTRG.5182.3
GO:0015410	ABC-type manganese transporter activity	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.30060.1,catas_ _MSTRG.30060.2
GO:1905538	polysome binding	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	gt1_MSTRG.35322.3,wild_ MSTRG.17590.1
GO:0004198	calcium-dependent cysteine-type endopept...	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	gt1_MSTRG.32031.2,gt1_M STRG.32031.3
GO:0008479	tRNA-guanosine(34) queuine transglycosyl...	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.30798.1,catas_ _MSTRG.30798.2
GO:0009020	tRNA (guanosine-2'-O-)- methyltransferase...	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10805.1,catas_ _MSTRG.23978.3
GO:0004590	orotidine-5'-phosphate decarboxylase act...	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.16165.1,catas_ _MSTRG.16165.2
GO:0004588	orotate phosphoribosyltransferase activi...	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.16165.1,catas_ _MSTRG.16165.2
GO:0008160	protein tyrosine phosphatase activator a...	5	448	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	gt1_MSTRG.3193.2,gt1_MS TRG.3193.4
GO:0016168	chlorophyll binding	38	47	MF	IAN873 vs SNS int PB235 vs SNS	catas_MSTRG.10814.1,catas_ _MSTRG.12052.1
GO:0000981	DNA-binding transcription factor activit...	431	28	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10178.1,catas_ _MSTRG.10224.1
GO:0033721	aldehyde dehydrogenase (NADP+) activity	5	143	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.6439.2,gt1_M STRG.35342.4
GO:0061809	NAD+ nucleotidase, cyclic ADP- ribose gen...	187	209	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11660.1,catas_ _MSTRG.11660.2
GO:0050135	NAD(P)+ nucleosidase activity	187	209	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11660.1,catas_ _MSTRG.11660.2
GO:0015095	magnesium ion transmembrane transporter ...	48	27	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12538.2,catas_ _MSTRG.12851.1
GO:0004028	3-chloroallyl aldehyde dehydrogenase act...	7	295	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.6439.2,gt1_M STRG.35342.4
GO:0102483	scopolin beta-glucosidase activity	33	733	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12306.1,catas_ _MSTRG.13191.1
GO:0000978	RNA polymerase II cis-regulatory region ...	283	796	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10178.1,catas_ _MSTRG.10224.1
GO:0004674	protein serine/threonine kinase activity	2165	815	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10059.1,catas_ _MSTRG.10093.3
GO:0043531	ADP binding	789	818	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1111.1,catas_ MSTRG.11514.2

GO:0046983	protein dimerization activity	1374	828	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10025.2,catas_MSTRG.10042.1
GO:0031210	phosphatidylcholine binding	13	1043	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.27432.1,catas_MSTRG.27432.3
GO:0070405	ammonium ion binding	14	1208	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.27432.1,catas_MSTRG.27432.3
GO:0008525	phosphatidylcholine transporter activity	16	1567	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.27432.1,catas_MSTRG.27432.3
GO:0106310	protein serine kinase activity	1933	191	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10059.1,catas_MSTRG.10093.3
GO:0009882	blue light photoreceptor activity	20	2404	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0003904	deoxyribodipyrimidine photo-lyase activi...	21	2636	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0043878	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase...	22	2877	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13522.1,catas_MSTRG.16294.1
GO:0004630	phospholipase D activity	22	2877	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12888.7,catas_MSTRG.16605.4
GO:0070290	N-acylphosphatidylethanolamine-specific ...	22	2877	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12888.7,catas_MSTRG.16605.4
GO:0003688	DNA replication origin binding	23	3126	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11392.1,catas_MSTRG.14436.3
GO:0004124	cysteine synthase activity	25	3649	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11195.4,catas_MSTRG.11195.7
GO:0030371	translation repressor activity	26	3922	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10434.1,catas_MSTRG.13273.3
GO:0004029	aldehyde dehydrogenase (NAD+) activity	27	4202	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13522.1,catas_MSTRG.16294.1
GO:0016289	CoA hydrolase activity	29	4734	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.12059.1,catas_MSTRG.12271.1
GO:0004565	beta-galactosidase activity	29	4785	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.15990.1,catas_MSTRG.16375.1
GO:0010329	auxin efflux transmembrane transporter a...	29	4785	MF	AN873 vs E vs PE int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10005.2,catas_MSTRG.10495.1
GO:0009882	blue light photoreceptor activity	20	31	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0000978	RNA polymerase II cis-regulatory region ...	283	603	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10178.1,catas_MSTRG.10224.1
GO:0016887	ATP hydrolysis activity	1302	663	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10005.2,catas_MSTRG.10142.1
GO:0003677	DNA binding	4822	731	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10050.2,catas_MSTRG.10050.6
GO:0140658	ATP-dependent chromatin remodeler activi...	104	822	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1069.3,catas_MSTRG.10957.1
GO:0016296	palmitoyl-[acyl-carrier-protein] hydrola...	11	1429	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13683.1,catas_MSTRG.18503.1
GO:0000981	DNA-binding transcription factor activit...	431	1873	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10178.1,catas_MSTRG.10224.1

GO:0004386	helicase activity	462	2245	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10288.1,catas_MSTRG.10288.3
GO:0008270	zinc ion binding	1772	268	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10028.1,catas_MSTRG.1005.1
GO:0003904	deoxyribodipyrimidine photo-lyase activi...	21	2711	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.1657.2,catas_MSTRG.1657.4
GO:0005524	ATP binding	5824	3124	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.10003.2,catas_MSTRG.10003.5
GO:0000036	acyl carrier activity	27	3472	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.11171.1,catas_MSTRG.13683.1
GO:0004525	ribonuclease III activity	33	4228	MF	PB235 vs SNS int PB235 E vs PE	catas_MSTRG.13237.11,catas_MSTRG.13237.13
GO:0061578	K63-linked deubiquitinase activity	16	55	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.17767.3", "catas_MSTRG.19731.1")
GO:0048040	UDP-glucuronate decarboxylase activity	19	92	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10647.1", "catas_MSTRG.10647.2")
GO:0070403	NAD+ binding	32	428	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10647.1", "catas_MSTRG.10647.2")
GO:0000014	single-stranded DNA endodeoxyribonucleas...	10	449	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.1083.1", "catas_MSTRG.18946.1")
GO:0015250	water channel activity	37	646	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12065.1", "catas_MSTRG.13944.1")
GO:0004523	RNA-DNA hybrid ribonuclease activity	75	752	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12241.2", "catas_MSTRG.14730.1")
GO:0003887	DNA-directed DNA polymerase activity	77	824	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10319.4", "catas_MSTRG.12045.1")
GO:0004534	5'-3' RNA exonuclease activity	15	1012	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12886.7", "catas_MSTRG.21345.2")
GO:0003700	DNA-binding transcription factor activit...	2295	1022	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.1016.1", "catas_MSTRG.10178.1")
GO:0000285	1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kin...	16	1149	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.20320.2", "catas_MSTRG.20320.3")
GO:0003825	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase...	16	1149	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.18764.2", "catas_MSTRG.18764.4")
GO:0005385	zinc ion transmembrane transporter activ...	49	1399	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11326.1", "catas_MSTRG.11326.3")
GO:0003964	RNA-directed DNA polymerase activity	90	1403	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11603.1", "catas_MSTRG.12254.1")
GO:0140999	histone H3K4 trimethyltransferase activi...	20	1771	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.16103.1", "catas_MSTRG.16103.2")
GO:0004817	cysteine-tRNA ligase activity	20	1771	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.17039.2", "catas_MSTRG.17039.4")
GO:0009882	blue light photoreceptor activity	20	1771	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.1657.2", "catas_MSTRG.1657.4")
GO:0015038	glutathione disulfide oxidoreductase act...	23	2311	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11978.1", "catas_MSTRG.13620.1")
GO:0003950	NAD+ ADP-ribosyltransferase activity	23	2311	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.12296.1", "catas_MSTRG.12296.3")

GO:0004843	cysteine-type deubiquitinase activity	163	2698	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10269.1", "catas_MSTRG.12699.6")
GO:0004124	cysteine synthase activity	25	2704	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11195.4", "catas_MSTRG.11195.7")
GO:0008270	zinc ion binding	1772	2744	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10028.1", "catas_MSTRG.1005.1")
GO:0000977	RNA polymerase II transcription regulato...	311	3319	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10178.1", "catas_MSTRG.10224.1")
GO:0003899	DNA-directed 5'-3' RNA polymerase activi...	119	3469	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10454.2", "catas_MSTRG.10454.4")
GO:0004712	protein serine/threonine/tyrosine kinase...	181	3961	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10093.3", "catas_MSTRG.10656.3")
GO:0003677	DNA binding	4822	423	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10050.2", "catas_MSTRG.10050.6")
GO:0003854	3-beta-hydroxy-delta5-steroid dehydrogen...	127	4241	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10647.1", "catas_MSTRG.13012.1")
GO:0030145	manganese ion binding	76	4367	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.11342.1", "catas_MSTRG.11555.1")
GO:0000976	transcription cis-regulatory region bind...	1515	4564	MF	IAN873 vs SNS int IAN873 E vs PE	c("catas_MSTRG.10178.1", "catas_MSTRG.10224.1")

BP=Processo biológico, MF=Função molecular, CC = Componente celular, A = Annotated

ANEXOS

ANEXO I - DECLARAÇÃO CIBIO



COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Universidade Estadual de Campinas
Caixa Postal 6109. 13083-970, Campinas, SP, Brasil
Fone (19) 3521-6378. email: cpgib@unicamp.br



DECLARAÇÃO

Em observância ao **§5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15**, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Dissertação de Mestrado, intitulada **"ANÁLISE DAS RELAÇÕES DE EXPRESSÃO GÊNICA ENTRE ENXERTO E PORTA-ENXERTO DE SERINGUEIRA (HEVEA BRASILIENSIS)"**, desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: Wanderson Lima Cunha
Nome do(a) aluno(a): Wanderson Lima Cunha

Assinatura: Anete Pereira de Sousa
Nome do(a) orientador(a): Anete Pereira de Sousa

Data: 02/05/2024

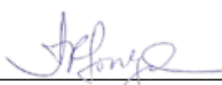
ANEXO II - DECLARAÇÃO DE AUTORIA

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **ANÁLISE DAS RELAÇÕES DE EXPRESSÃO GÊNICA ENTRE ENXERTO E PORTA-ENXERTO DE SERINGUEIRA (HEVEA BRASILIENSIS)**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 02/05/2024

Assinatura : Wanderson Lima Cunha
Nome do(a) autor(a): **Wanderson Lima Cunha**
RG n.º 04814794304

Assinatura : 
Nome do(a) orientador(a): **Anete Pereira De Sousa**
RG n.º 86803256