



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

VALQUÍRIA DA SILVA

**EXPRESSÃO DE GENES DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMÔNIOS
EM FEIJÃO-CAUPI SOB ESTRESSE DE DESIDRATAÇÃO RADICULAR**

Recife
2021

VALQUÍRIA DA SILVA

**EXPRESSÃO DE GENES DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMÔNIOS
EM FEIJÃO-CAUPI SOB ESTRESSE DE DESIDRATAÇÃO RADICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Genética. Área de concentração: Biologia Molecular

Orientador: Prof. Dr. Ederson Akio Kido

Coorientador: Dr. Antônio Félix da Costa

Recife

2021

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Silva, Valquiria da

Expressão de genes das vias de sinalização por fitohormônios em feijão-caupi sob estresse de desidratação radicular / Valquiria da Silva – 2021.

157 f.: il., fig., tab.

Orientador: Ederson Akio Kido

Coorientador: Antônio Felix da Costa

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Genética, Recife, 2021. Inclui referências.

1. Expressão gênica 2. Biologia computacional 3. Feijão de corda I. Kido, Ederson Akio (orient.) II. Costa, Antônio Felix da (coorient.) III. Título

572.865

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-337

VALQUÍRIA DA SILVA

**EXPRESSÃO DE GENES DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMÔNIOS
EM FEIJÃO-CAUPI SOB ESTRESSE DE DESIDRATAÇÃO RADICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Genética. Área de concentração: Biologia molecular

Aprovado em: 31/ 08/ 2021.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. Ederson Akio Kido (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Valdir de Queiroz Balbino (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Marcelo Francisco Pompelli (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Wilson José da Silva Júnior (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Pernambuco, por conceder a estrutura necessária que possibilitou a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética, pela oportunidade. Agradeço também ao corpo docente do PPGG e funcionários do Departamento de Genética/UFPE.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio à pesquisa que possibilitou a realização deste trabalho.

Em especial, agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Éderson Akio Kido, a confiança, a dedicação, e as valiosas sugestões que contribuíram para o desenvolvimento e aperfeiçoamento deste trabalho. Agradeço também ao meu co-orientador Dr. Antônio Félix da Costa, por suas contribuições durante esta etapa da minha formação acadêmica.

Aos colegas do Laboratório de Genética molecular de Plantas: Bruna, Élvia, Fernanda, Francielly, Gizele, Jorge, Kátia, Manassés, Marislane, Neto, Rahisa, Vanessa e Vinicius, obrigada pelo carinho, amizade e pelas inúmeras trocas de conhecimento.

A minha família, aos meus pais: Pedro José da Silva e Severina Maria da Silva; e a minha irmã Paloma da Silva, por sempre incentivar o meu sucesso e permanecerem ao meu lado em minhas decisões. Agradeço também ao meu namorado, Igor Gomes Falcão, pelo apoio, amizade e companheirismo.

Por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a concepção deste trabalho.

RESUMO

O feijão-caupi representa a principal leguminosa cultivada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Entretanto, sua cultura é fortemente afetada pelo déficit hídrico. Frente a tal estresse, os fitormônios atuam como sinalizadores, promovendo respostas específicas às plantas. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a expressão de genes envolvidos nas vias de sinalização de fitormônios, em *V. unguiculata*, após a exposição das raízes ao ar (150 min.). Para tanto, *unitags HT-SuperSAGE* de feijão-caupi, provenientes de duas cultivares diferentes em resposta à seca, foram alinhadas (BlastN) aos transcritos de feijão-caupi associados as vias de sinalização por auxina, citocinina giberelina, ácido abscísico, etileno, jasmonato, brassinoesteróides, ácido salicílico e estrigolactonas. Dos 630 transcritos previstos, 260 foram diferencialmente expressos (DE, $p < 0,05$) após o estímulo aplicado ($p < 0,05$). No perfil PO (cultivar tolerante Pingo de Ouro), os transcritos UR (induzidos), DR (reprimidos) e n.s. (expressão não diferencial), foram 146, 35 e 78, respectivamente. No perfil sensível SI (Santo Inácio), esses números foram 81, 80 e 99, respectivamente. Desta forma, com base nos resultados foi possível: a) inferir o perfil transcricional das vias de sinalização por fitormônios de acordo com as respostas das cultivares de *V. unguiculata* após o estímulo de desidratação radicular; b) identificar Fatores de transcrição mais representados e potencialmente regulando genes cujos transcritos foram UR; c) predizer os interatomas associados aos transcritos UR das respostas individuais de cada cultivar; d) propor um conjunto de 17 pares de primers, para RT-qPCR, visando o desenvolvimento de marcadores funcionais baseados em cDNAs. Os resultados contribuem para uma melhor compreensão das vias de sinalização dos fitormônios nas respostas do feijão-caupi, face a um estresse de seca, podendo ser úteis aos programas de melhoramento genético, na busca de materiais mais adaptados a este estresse, o qual compromete nossas produções.

Palavras-chave: Bioinformática; Transcriptômica; SuperSAGE; Estresse abiótico.

ABSTRACT

Cowpea represents one of the main legumes cultivated in the North and Northeast regions of Brazil. However, this crop is strongly affected by water deficit. In the face of such stress, phytohormones act as signalers, promoting specific responses to plants. The present work aimed to characterize the expression of genes involved in phytohormone signaling pathways, in *V. unguiculata*, after roots have been exposed to air (150 min.). For this purpose, cowpea HT-SuperSAGE unitags from two different accessions in responses to drought, were aligned (BlastN) against cowpea transcripts associated with signaling pathways by auxin, gibberellin cytokinin, abscisic acid, ethylene, jasmonate, brassinosteroids, salicylic acid and strigolactones. Of the 630 transcripts predicted, 260 were differentially expressed (DE, $p < 0,05$) after the applied stimulus. In the tolerant profile (Pingo de Ouro accession), the UR (induced), DR (suppressed), and n.s. transcripts, were 146, 35, and 68, respectively. In the sensitive profile (Santo Inácio), those numbers were 81, 80 and 99, respectively. Thus, based on the results, it was possible to: a) infer the transcriptional profile of the signaling pathways by phytohormones according to the responses of *V. unguiculata* cultivars after the root dehydration stimulus; b) identify the most represented transcription factors and potentially regulating genes whose transcripts were UR; c) predict the interatomas associated with the UR transcripts of the individual responses of each cultivar; d) propose a set of 17 pairs of primers, for RT-qPCR, aiming the development of functional markers based on cDNAs. The results contribute to a better understanding of phytohormone signaling pathways in the responses of cowpea to drought stress, can be useful for genetic improvement programs, in the search for materials more adapted to stress, which compromises our productions.

Keywords: Bioinformatics; Transcriptomics; SuperSAGE; Abiotic stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Quadro comparativo de área, produtividade e produção do feijão-caupi (segunda safra) nas safras 2019/20 e 2020/21.	23
Figura 2 - Estrutura química das principais classes de fitormônios.	24
Figura 3 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Auxina.	26
Figura 4 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio ácido abscísico (ABA).	28
Figura 5 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio giberelina (GA)	29
Figura 6 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Citocinina (CK).	31
Figura 7 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Jasmonato (JA).	32
Figura 8 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Etileno (ETH).	34
Figura 9 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Brassinoesteróide (BRs).	35
Figura 10 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Ácido Salicílico (SA).	37
Figura 11 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Estrigolactona (SL).	38
Figura 12 - Resumo esquemático da técnica SAGE	41
Figura 13 - Resumo esquemático da obtenção das tags HT-SuperSAGE do feijão-caupi após estímulo de desidratação radicular (até 150 min.).	46
Figura 14 - Modelo das vias de transdução de sinal por fitormônios (<i>Plant Hormone Signal Transduction</i>) disponível na base de dados KEGG para <i>V. unguiculata</i>	48
Figura 15 - Resumo esquemático das metodologias empregadas no presente estudo.	52
Figura 16 - Distribuição dos transcritos induzidos (UR, coluna vermelha), reprimidos (DR, em azul) e n.s (p-value < 0,05 e FDR < 0,01, em cinza) das vias de transdução de sinal por Auxina (AUX), Ácido Abscísico (ABA), Giberelina (GAs), Citocinina (CKs), Jasmonato (JAs), Etileno (ETH), Brassinosesteróide (BRs), Ácido Salicílico (SA) e Estrigolactonas (SLs), das respostas das cultivares tolerante (PO: Pingo de ouro) e sensível (SI: Santo Inácio) de <i>V. unguiculata</i> após exposição das raízes ao ar (até 150 min), conforme expressões de <i>unitags</i> HT-SuperSAGE	54

Figura 17 - Transcritos das vias de sinalização por fitormônios: UR (induzidos) e DR (reprimidos) nas cultivares tolerante (PO: Pingo de Ouro) e sensível (SI: Santo Inácio) de <i>V. unguiculata</i> , em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min).....	55
Figura 18 - Via de transdução de sinal por Auxina em resposta ao estímulo de desidratação radicular (em até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	56
Figura 19 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por AUX.	57
Figura 20 - Via de transdução de sinal por Ácido Abscísico (ABA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) das cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	58
Figura 21 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por ABA.	59
Figura 22 - Via de transdução de sinal por Giberelina (GA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) das cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	60
Figura 23 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por GA.	61
Figura 24 - Via de transdução de sinal por Citocinina (CK) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	61
Figura 25 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por CK.	62
Figura 26 - Via de transdução de sinal por Jasmonato (JA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	63
Figura 27 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por JAs.	64
Figura 28 - Via de transdução de sinal por Etileno (ETH) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	65
Figura 29 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por ETH.	66

Figura 30 - Via de transdução de sinal por Brassinosteróide (BR) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	67
Figura 31 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por BRs.	68
Figura 32 - Via de transdução de sinal por Ácido Salicílico (SA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	69
Figura 33 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por SA.	70
Figura 34 - Via de transdução de sinal por estrigolactona (SL) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de <i>V. unguiculata</i>	71
Figura 35 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por SL.	71
Figura 36 - Número de fatores de transcrição previstos na regulação de transcritos de feijão-caupi induzidos (UR, upregulated) nas vias de sinalização por fitormônios, após um estímulo de desidratação radicular.	72
Figura 37 - Famílias de FTs e quantidades de interações preditas com transcritos UR das respostas tolerante (da cultivar Pingo de Ouro; amarelo) e sensível (Santo Inácio; azul) após desidratação de raízes.....	73
Figura 38 - Rede de interação proteína-proteína prevista para <i>A. thaliana</i> , com base nos transcritos exclusivamente induzidos (UR) na resposta da cultivar sensível Santo Inácio, após estímulo de desidratação radicular.....	75
Figura 39 - Termos de ontologia gênica relativos a processo biológico, função molecular e componente celular super-representados na resposta exclusiva da cultivar sensível de feijão-caupi (Santo Inácio) ao estímulo de desidratação radicular.	76
Figura 40 - Rede de interação proteína-proteína prevista para <i>A. thaliana</i> , com base nos transcritos exclusivamente induzidos (UR) na resposta da cultivar tolerante Pingo de Ouro, após estímulo de desidratação radicular.	78
Figura 41 - Termos de ontologia gênica relativos a processo biológico, função molecular e componente celular super-representados na resposta	

exclusiva da cultivar tolerante de feijão-caupi (Pingo de Ouro) ao estímulo de desidratação radicular.....79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de componentes e de transcritos com respectivas proteínas de <i>V. unguiculata</i> previstos para as vias de sinalização por Auxina (AUX), Citocinina (CK), Giberelina (GAs), Ácido abscísico (ABA), Jasmonato (JAs), Etileno (ETH), Ácido salicílico (SA), Brassinoesteróides (BRs) e estrigolactonas (SL).....	53
Tabela 2 - Pares de primers propostos para amplificação via RT-qPCR, para componentes de vias de sinalização por fitormônios no feijão-caupi, bem como regulações (Reg) e modulações da expressão gênica (FC) observadas na resposta sensível (SI, cultivar Santo Inácio) e na resposta tolerante (PO, cultivar Pingo de Ouro), após estímulo de desidratação radicular (até 150 min.).	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A-ARR	Two-component response regulator ARR-A Family
ABA	Ácido abscísico
asp	Aspartato
AUX	Auxina
AuxRE	Auxin responsive elements
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BRs	Brassinosteróide
cDNA	DNA complementar
CK	Citocinina
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DNA	Desoxiribonucleic Acid
DR	Down-regulated
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FC	Fold change
FTs	Fator de transcrição
GA	Giberelina
his	Histidina
ID	Identidade
JAS	Jasmonato
KO	Kegg Ortholog
LongSAGE	Long serial analysis of gene expression
MAPKKK	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase

PCR	Reação em cadeia da polimerase
PO	Pingo de Ouro
RNA-seq	Sequenciamento de RNA
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RT-qPCR,	PCR quantitativo em tempo real
SA	ácido salicílico
SAGE	Análise serial da expressão gênica
SCF	SCF ubiquitin ligase complex protein
Ser	Serina
SI	Santo Inácio
SL	Estrigolactona
SuperSAGE	SuperSerial Analysis of Gene Expression
TCS	Sistema regulatório de dois componentes
TFs	Phytochrome-interacting factor 3
UR	up-regulated

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 OBJETIVOS	19
1.1.1 Objetivo Geral	19
1.1.2 Objetivos específicos.....	19
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 A CULTURA DO FEIJÃO-CAUPI: ASPÉCTOS GERAIS	20
2.2 O DÉFICIT HÍDRICO E A CULTURA DO FEIJÃO-CAUPI	21
2.3 FITORMÔNIOS: MENSAGEIROS MOLECULARES	23
2.3.1 Auxina (AUX)	24
2.3.2 Ácido Abscísico (ABA)	26
2.3.3 Giberelina (GA)	28
2.3.4 Citocinina (CK)	30
2.3.5 Jasmonato (JA)	31
2.3.6 Etileno (ETH).....	32
2.3.7 Brassinosteróides (BR).....	34
2.3.8 Ácido Salicílico (SA).....	35
2.3.9 Estrigolactonas (SL).....	37
2.4. A GENÔMICA FUNCIONAL E A TRANSCRIPTÔMICA NO ESTUDO DE PLANTAS SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIA HÍDRICA.....	38
2.5. A BIOINFORMÁTICA E OS BANCOS DE DADOS PÚBLICOS COM INFORMAÇÕES ÚTEIS PARA O MELHORAMENTO VEGETAL	42
3 METODOLOGIA	45
3.1 ORIGEM DOS DADOS DE HT-SUPERSAGE	45
3.2 OBTENÇÃO DOS TRANSCRITOS E PROTEÍNAS DE <i>V. unguiculata</i> RELACIONADOS AS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS.....	46
3.3 EXPRESSÃO DOS TRANSCRITOS DAS VIAS DE TRANSDUÇÃO DE SINAL POR FITOHORMONIOS EM <i>V. unguiculata</i> COM BASE EM UNITAGS HT- SUPERSAGE.....	49
3.4 CONSTRUÇÃO DE HEATMAPS	50

3.5	ANÁLISE DE ENRIQUECIMENTO DE FATORES DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO ASSOCIADOS COM TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS.....	50
3.6	PREDIÇÃO DA REDE PPI (INTERAÇÕES PROTEÍNA-PROTEÍNA) ASSOCIADAS AOS TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS	50
3.7	SELEÇÃO DE GENES ALVOS E DESENHO DE PRIMERS PARA RT-QPCR..	51
4	RESULTADOS.....	53
4.1	OS TRANSCRITOS E PROTEÍNAS DE <i>V. unguiculata</i> ASSOCIADOS ÀS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS	53
4.2	A EXPRESSÃO <i>IN SILICO</i> DOS TRANSCRITOS DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS TENDO POR BASE AS UNITAGS HT-SUPERSAGE DE <i>V. unguiculata</i>	53
4.3	O PERFIL TRANSCRICIONAL DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITORMÔNIOS EM CULTIVARES DE <i>V. unguiculata</i> APÓS RAÍZES SEREM EXPOSTAS AO AR	55
4.3.1	Auxina	55
4.3.2	Ácido abscísico	58
4.3.3	Giberelina.....	60
4.3.4	Citocinina.....	61
4.3.5	Jasmonato	62
4.3.6	Etileno	64
4.3.7	Brassinosteróides	66
4.3.8	Ácido Salicílico.....	68
4.3.9	Estrigolactonas	70
4.4	OS FTS ENRIQUECIDOS ASSOCIADOS AOS TRANSCRITOS UR EXPRESSOS NAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITORMÔNIOS.....	72
4.5	A REDE PPI ASSOCIADA AOS TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS DE CADA CULTIVAR, EM RESPOSTA AO ESTÍMULO APLICADO	73
4.6	OS PRIMERS PROPOSTOS PARA RT-QPCR E PARA DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES FUNCIONAIS BASEADOS EM CDNAS.....	79
5	DISCUSSÃO	81

5.1 A REGULAÇÃO TRANSCRICIONAL DA VIA DE SINALIZAÇÃO POR FITORMÔNIOS APÓS EXPOSIÇÃO AO AR DAS RAÍZES DE FEIJÃO-CAUPI	81
5.1.1 Auxina	81
5.1.2 Ácido abscísico	83
5.1.3 Giberelina.....	85
5.1.4 Citocinina.....	85
5.1.5 Jasmonato	87
5.1.6 Etileno	88
5.1.7 Brassinoesteróides	89
5.1.8 Ácido salicílico	91
5.1.9 Estrigolactonas	91
5.2 OS FATORES DE TRANSCRIÇÃO ENRIQUECIDOS ASSOCIADOS AOS TRANSCRITOS INDUZIDOS DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMÔNIOS	93
5.3 AS REDES PPI ASSOCIADAS AOS TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS.....	94
6 CONCLUSÕES	100
REFERÊNCIAS.....	101

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp, família Fabaceae] é uma cultura economicamente importante para as regiões tropicais e subtropicais do mundo, nas quais é utilizado principalmente na alimentação humana e animal. No Brasil, o feijão-caupi corresponde ao principal grão consumido nas regiões Norte e Nordeste, exercendo relevante papel nutricional e social nessas regiões. Entretanto, a espécie sofre perdas rigorosas ocasionadas por diferentes estresses, tanto bióticos como abióticos. Dentre os fatores abióticos que acometem a cultura, o déficit hídrico é considerado um dos mais prejudiciais.

No feijão-caupi os efeitos negativos do déficit hídrico estão relacionados a menor capacidade de germinação, nodulação, fixação de nitrogênio, redução no crescimento da parte aérea e frutificação; afetando assim a produção e produtividade da cultura. Levando-se em consideração que a maior parte das áreas destinadas ao cultivo do feijão-caupi são propensas a grandes períodos de estiagens, identificar os mecanismos de resposta ativados pelo déficit hídrico, é uma estratégia valiosa para compreender o processo de tolerância a esse estresse.

Frente ao déficit hídrico há o desencadeamento de uma série de respostas fisiológicas, bioquímicas e morfológicas nas plantas, em um esforço para proteger ou se adaptar a novas condições. Nesse contexto os fitormônios correspondem a um dos principais sistemas de integração de eventos metabólicos nas respostas a um estresse. Da embriogênese até a senescência da planta, processos são iniciados ou mediados, por genes regulados por fitormônios, como auxina (AUX), giberelina (GAs), citocinina (CK), ácido abscísico (ABA), etileno (ETH), jasmonato (JAs), brassinoesteróides (BRs), ácido salicílico (SA), estrigolactonas (SLs) e etileno (ETH).

Embora cada hormônio vegetal desempenhe funções específicas, muitos estágios do crescimento da planta em face de estímulos externos, incluindo a privação de água são controlados por fitormônios. O déficit hídrico promove alterações na produção e distribuição dos fitormônios, podendo assim promover também os mecanismos de tolerância ao estresse.

No geral, as respostas das plantas aos estresses envolvem um grande número de genes, o que dificulta a caracterização molecular, requerendo novas tecnologias. O uso de estratégias genômicas permitem amostrar genes e caracterizar perfis de expressão global de genótipos, em respostas a um estímulo. Em relação ao feijão-

caupi, que é considerado uma espécie rústica, certas cultivares suportam alguma deficiência hídrica. A regulação transcricional de cultivares de fenótipos contrastantes a determinada condição abiótica (tolerante versus sensível) pode sinalizar a percepção, condução e amplificação dos sinais, em uma cascata de eventos, até as respostas fisiológicas finais, revelando similaridades e/ ou diferenças cruciais no desencadeamento das respostas das cultivares ao estímulo detectado.

Assim, o estudo das vias de transdução por fitormônios pode revelar informações de interesse para o melhoramento do feijão-caupi, bem como identificar potenciais marcadores moleculares que poderão contribuir para a melhoria da produtividade e a expansão da fronteira agrícola desta cultura.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Caracterizar a expressão de genes envolvidos nas vias de sinalização por fitormônios, em cultivares de feijão-caupi após raízes serem expostas ao ar.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Recuperar *unitags* HT-SuperSAGE diferencialmente expressas (DE), em raízes de cultivares tolerante e sensível de *V. unguiculata*, após uma exposição ao ar de até 150 min, em comparações com expressões em raízes sem o estímulo de cada cultivar.
- b) Identificar transcritos e regulações relacionadas com as *unitags* DE identificadas acima, para as vias de sinalização por fitormônios (AUX, CK, GA, ABA, JAs, ETH, SA, BRs, SL), de acordo com as respostas das cultivares de *V. unguiculata*.
- c) Desenhar a partir dos transcritos identificados acima, pares de *primers* para RT-qPCR, visando o desenvolvimento de marcadores funcionais baseados em cDNAs

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A CULTURA DO FEIJÃO-CAUPI: ASPÉCTOS GERAIS

A leguminosa *Vigna unguiculata* (L.) Walp, popularmente conhecida como feijão-caupi ou feijão macassar, pertence à família Fabaceae e ao gênero *Vigna*. As cultivares domesticadas estão subdivididas em quatro subgrupos, de acordo com as principais características dos frutos e das sementes: *unguiculata*, *sesquipedalis*, *biflora* e *textilis* (PADULOSI; NG, 1997).

O feijão-caupi possui hábitos variáveis de crescimento, desde ereto a prostrado. Apresenta folhas compostas e trifolioladas, que se dispõem alternadamente ao longo do caule. As flores são monóicas e apresentam coloração variando em tons de amarelo, roxo e branco (LUSH *et al.*, 1979). A espécie possui fruto do tipo legume, geralmente amarelo ou marrom quando maduro. Este pode conter de 6 a 20 sementes, a depender da cultivar e das condições de cultivo. As sementes variam em textura, podendo ser lisas ou rugosas, e em relação a coloração, esta pode ser preta, verde, vermelha, marrom, branca ou manchada (GHALMI *et al.*, 2010).

A cultura do feijão-caupi é bem distribuída no mundo, mais concentrada nas regiões tropicais e subtropicais. Dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) para o ano de 2019 indicava o cultivo do feijão-caupi em uma área superior a 14,4 milhões de hectares, com produção mundial aproximada de 8,9 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2020). Vale salientar, que os dados da FAO estão subestimados, uma vez que os dados de grandes produtores da cultura, como Índia e Brasil, não estão incluídos.

O feijão-Caupi é cultivado em mais de 100 países (FAOSTAT, 2020), e o Brasil se destaca como o terceiro maior produtor da cultura, com uma produção aproximada de 637.300 toneladas (CONAB, 2019). Seu potencial econômico reflete a grande importância na formação de emprego e renda, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do país, onde chegou a representar aproximadamente 80% dos grãos consumidos na alimentação humana (DANTAS *et al.*, 2002).

A grande importância do feijão-caupi é relacionada à sua ampla empregabilidade. O feijão-caupi é uma fonte rica em nutrientes essenciais como proteínas, vitaminas, minerais, lipídeos, ferro e cálcio. Seus grãos também possuem uma grande quantidade de fibras e uma baixa quantidade de gordura (GONÇALVES

et al., 2016). Assim, a espécie apresenta um alto valor nutricional, sendo cultivada principalmente para o consumo humano, através da produção de grãos secos ou verdes. A biomassa vegetal também é utilizada na alimentação animal como forragem, e para correção e fertilização do solo como adubo verde (VURUKONDA *et al.*, 2016).

2.2 O DÉFICIT HÍDRICO E A CULTURA DO FEIJÃO-CAUPI

A disponibilidade de água é um dos principais fatores de estresses nas plantas, afetando a produtividade e a persistência das mesmas. A agricultura é fortemente afetada pelo déficit hídrico, e, as mudanças climáticas previstas para o cenário global intensificará este quadro, tanto pela diminuição das chuvas, quanto pelo aumento das temperaturas (DAI, 2013; LOBELL *et al.*, 2014).

Diversos mecanismos fisiológicos e anato morfológicos permitem um grupo tolerar ou se adaptar ao estresse hídrico (ARÚJO-JUNIOR *et al.*, 2019). Durante o estresse de déficit hídrico há um desencadeamento de um conjunto de respostas complexas, que inclui a expressão de diversos genes. Os mecanismos utilizados pelas plantas durante esse período podem ser classificados em três tipos: escape, retardo e tolerância (TARDIEU, 2005). Os mecanismos de escape permitem que as plantas completem o seu ciclo fenológico mais rapidamente, evitando com que os problemas relacionados ao estresse se tornem graves o bastante para ocasionar danos à planta. Os mecanismos de retardo estão relacionados com o desenvolvimento de um sistema radicular eficiente e com a diminuição de perda de água para a atmosfera. Por sua vez, os mecanismos associados à tolerância permitem às plantas manterem normalmente suas funções fisiológicas mesmo em situações de déficit hídrico (TARDIEU, 2005).

As principais respostas fisiológicas de plantas sob déficit hídrico envolvem a redução da condutância estomática, que afetam as taxas fotossintéticas e a transpiração (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007). Plantas tolerantes ao déficit hídrico também apresentam genes que estão associados ao crescimento radicular, uma vez que raízes mais longas quando submetidas a tais condições tendem a prolongar-se até as regiões mais úmidas do solo (ARUNYANARK *et al.*, 2009).

Ao nível celular, uma das principais consequências do déficit hídrico consiste no aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS; KAUR; ASTHIR,

2017). O aumento na quantidade de ROS é considerado um sinal desencadeador da expressão de diferentes genes responsivos a estresses, incluindo genes codificadores de aquaporinas, proteínas de choque térmico e FTs, de modo a desencadear mecanismos de adaptação (KAUR; ASTHIR, 2017). Por outro lado, altas concentrações de ROS podem acarretar danos as membranas celulares, as proteínas e as moléculas de RNA e DNA, culminando em morte celular por processo denominado estresse oxidativo (CHOUDHURY *et al.*, 2016). A quantidade de ROS pode ser controlada por meio da ativação do sistema antioxidante das plantas. Vale salientar que a ação de muitos dos componentes deste sistema são regulados por fitormônios. Logo, o fortalecimento do sistema de defesa é considerado uma resposta adaptativa ao estresse hídrico, prevenindo as plantas dos danos oxidativos induzidos por um déficit hídrico (HASANUZZAMAN *et al.*, 2013).

Em relação ao feijão-caupi, apesar da espécie ser considerada rústica e de grande adaptação a diferentes ambientes, alguns autores afirmam que a cultura é fortemente afetada por fatores bióticos e abióticos (KUMAR; KUMAR, 2015), sendo o déficit hídrico, o mais crucial. Efeitos do déficit hídrico no feijão-caupi já foram relatados. Estudos apontam que plantas submetidas a esse estresse apresentam menor capacidade de germinação (FERREIRA *et al.*, 2017), nodulação e fixação de nitrogênio (SINCLAIR *et al.*, 2015). O déficit hídrico também influencia negativamente o desenvolvimento da parte aérea (HAYATU; MUHAMMAD; ABDU, 2014), o tamanho e a quantidade de sementes por vagens (AHMED *et al.*, 2010).

No geral, para o feijão-caupi completar o ciclo fenológico, a cultura necessita de aproximadamente 400 mm de água, sendo o estágio vegetativo o de maior consumo hídrico, com uma demanda variando de acordo com as condições de cultivo (solo e clima) e da cultivar plantada (DA SILVA *et al.*, 2016). Considerando que a maior parte do cultivo do feijão-caupi no Brasil ocorre em regiões com estiagens, seus efeitos negativos são visualizados nos dados de acompanhamento da produção de grãos da CONAB, que relatam diminuição nas produções de feijão-caupi, nas diversas regiões (Figura 1; CONAB, 2021). Especialmente em Pernambuco, durante o último ano (safra 2020/21) o clima foi considerado desfavorável durante parte do ciclo de cultivo, levando à redução do potencial de produção, principalmente devido ao baixo índice pluviométrico, onde a produção final para este período ficou estimada em 24,1 mil toneladas, sendo aproximadamente 39% inferior ao resultado obtido na safra 2019/20 (CONAB, 2021).

Figura 1 – Quadro comparativo de área, produtividade e produção do feijão-caupi (segunda safra) nas safras 2019/20 e 2020/21.

REGIÃO/UF	ÁREA (Em mil ha)			PRODUTIVIDADE (Em kg/ha)			PRODUÇÃO (Em mil t)		
	Safra 19/20	Safra 20/21	VAR. %	Safra 19/20	Safra 20/21	VAR. %	Safra 19/20	Safra 20/21	VAR. %
	(a)	(b)	(b/a)	(c)	(d)	(d/c)	(e)	(f)	(f/e)
NORTE	34,2	55,7	62,9	1.095	1.110	1,3	36,2	61,8	70,7
AC	5,2	5,3	1,9	700	720	2,9	3,6	3,8	5,6
TO	29,0	50,4	73,9	1.124	1.151	2,4	32,6	58,0	77,9
NORDESTE	692,5	685,0	(1,1)	427	359	(16,0)	295,9	245,8	(16,9)
MA	27,8	29,8	7,2	621	606	(2,4)	17,3	18,1	4,6
PI	8,7	4,3	(50,6)	949	989	4,2	8,3	4,3	(48,2)
CE	380,4	386,2	1,5	381	287	(24,7)	144,9	110,8	(23,5)
RN	56,8	43,3	(23,8)	439	412	(6,2)	24,9	17,8	(28,5)
PB	76,5	66,7	(12,8)	431	295	(31,6)	33,0	19,7	(40,3)
PE	107,3	104,7	(2,4)	375	230	(38,7)	40,2	24,1	(40,0)
BA	35,0	50,0	42,9	780	1.020	30,8	27,3	51,0	86,8
CENTRO-OESTE	133,8	165,9	24,0	1.204	978	(18,8)	161,2	162,2	0,6
MT	118,6	152,8	28,8	1.211	959	(20,8)	143,6	146,5	2,0
GO	15,0	13,0	(13,3)	1.150	1.200	4,3	17,3	15,6	(9,8)
DF	0,2	0,1	(50,0)	1.420	1.240	(12,7)	0,3	0,1	(66,7)
SUDESTE	0,1	0,1	-	903	795	(12,0)	0,1	0,1	-
MG	0,1	0,1	-	903	795	(12,0)	0,1	0,1	-
NORTE/NORDESTE	726,7	740,7	1,9	456	415	(8,9)	332,1	307,6	(7,4)
CENTRO-SUL	133,9	166,0	24,0	1.204	978	(18,8)	161,3	162,3	0,6
BRASIL	860,6	906,7	5,4	573	518	(9,5)	493,4	469,9	(4,8)

Fonte: Conab (2021).

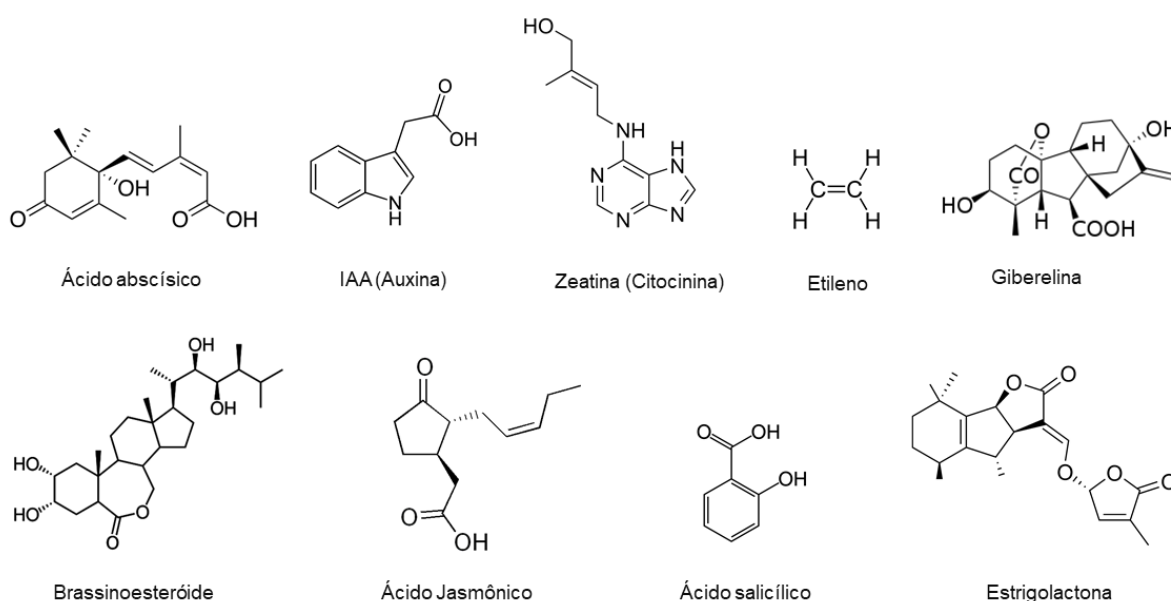
Já se sabe que alguns genótipos do feijão-caupi apresentam uma maior capacidade de suportar condições de déficit hídrico (JIA *et al*, 2016). Assim, identificar as respostas desses genótipos ao estresse poderá revelar genes de interesse para o melhoramento do feijão-caupi, bem como potenciais alvos moleculares que poderão contribuir para melhoria da produtividade e, conseqüentemente, da expansão da fronteira agrícola.

2.3 FITORMÔNIOS: MENSAGEIROS MOLECULARES

Na maior parte do ciclo de vida das plantas, estas se encontram expostas aos diferentes tipos de estresses, tanto bióticos como abióticos. De modo a enfrentar tal situação, ao longo da evolução, o grupo desenvolveu uma série de mecanismos que permitem a percepção de sinais de estresse (VERMA *et al.*, 2016). Neste ponto, a comunicação celular se faz necessária de modo a alcançar uma resposta efetiva. Atualmente, são conhecidas ao menos nove moléculas sinalizadoras denominadas fitormônios. Entre elas se incluem: auxina (AUX), ácido abscísico (ABA), etileno (ETH), brassinoesteróide (BRs), jasmonato (JAs), citocinina (CKs), giberelina (GAs), ácido salicílico (SA) e estrigolactonas (SLs; VERMA *et al*, 2016).

Os fitormônios compõem um grupo de moléculas produzidas nas células em baixas concentrações, mas que são capazes de regular múltiplos processos celulares. Além disso, os mesmos atuam tanto no local de síntese, como em outras partes da planta (WANI *et al.*, 2016). A figura 2 ilustra a estrutura química das principais classes de fitormônios conhecidas atualmente.

Figura 2 - Estrutura química das principais classes de fitormônios.



Fonte: Adaptado de Wani *et al.* (2016).

De modo geral, os fitormônios atuam principalmente como reguladores do crescimento e desenvolvimento normal das plantas (SANTNER *et al.*, 2009; ZWANENBURG, POSPÍŠIL, ZELJKOVIĆ, 2016; UMEZAWA *et al.*, 2010). Embora cada hormônio vegetal cumpra funções específicas, eles controlam muitas etapas do desenvolvimento das plantas frente a estímulos externos, incluindo o déficit hídrico (TIAN *et al.*, 2018a).

2.3.1 Auxina (AUX)

O hormônio vegetal AUX está relacionado a diferentes processos fisiológicos das plantas (WEIJERS; WAGNER, 2016), incluindo o desenvolvimento embrionário, a formação de raízes laterais e adventícias, tropismos, abscisão foliar, alongamento,

divisão, e diferenciação celular. Muitos desses processos são mediados por alterações na expressão gênica (ROOSJEN; PAQUE; WEIJERS, 2018).

Apesar da AUX ser descrita principalmente como um hormônio regulador do crescimento, alguns trabalhos destacam que ela apresenta grande importância nas respostas de plantas submetidas a estresses abióticos (ALVES *et al.*, 2017; HU, *et al.*, 2015), incluindo o déficit hídrico (RAHEEN *et al.*, 2018). Em resumo, a via de sinalização por AUX, representa um importante fator regulador de interação entre a planta e o ambiente na qual ela se encontra, pois, a modulação da via produz diferentes respostas transcricionais, dependentes do contexto celular e ambiental, podendo assim promover mecanismos de tolerância ao estresse (LAVY; ESTELLE, 2016). A ação molecular das AUXs permite uma rápida troca entre a repressão e a ativação transcricional de genes alvos por meio da degradação de repressores transcricionais (LAVY; ESTELLE, 2016).

Os principais componentes da maquinaria de sinalização por AUX pertencem a três famílias de proteínas: a família de correceptores de auxina F-box TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1/AUXIN SIGNALING F-BOX PROTEIN (TIR1/AFB), a família de fatores de transcrição (FTs) AUXIN RESPONSE FACTORS (ARFs), e a família de proteínas repressoras Auxine/ INDOLE-3-ACETIC ACID (Aux/ IAA).

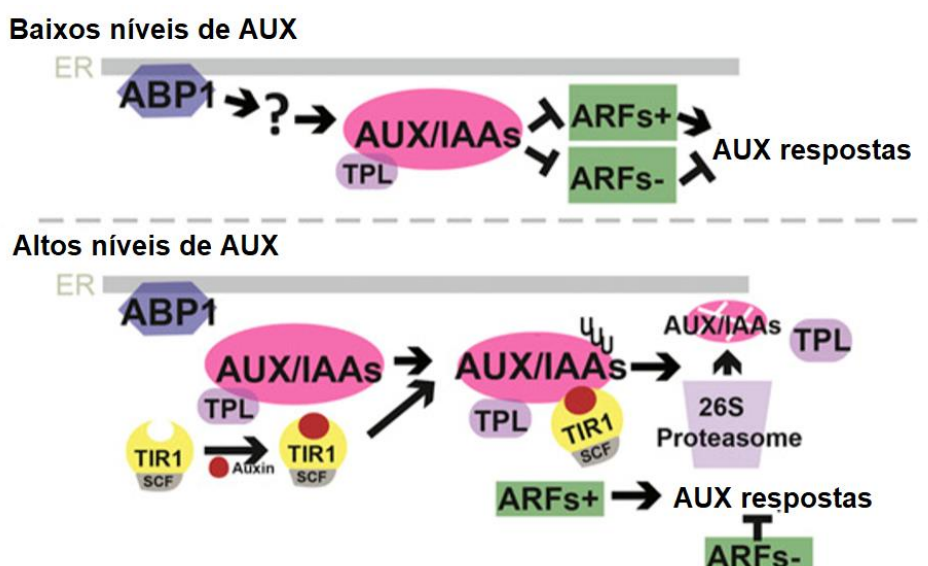
A influência de FTs ARFs sobre determinados genes é controlada em duas situações. Na primeira, a transcrição é regulada pela própria estrutura da proteína (GUILFOYLE; HAGEN, 2007; WU, 2015). Os FTs ARFs possuem estrutura modular e são formados basicamente por três domínios: um domínio de ligação ao DNA (DBD), um domínio médio, e um domínio PB1 localizado no terminal carboxil (WEIJERS; WAGNER, 2016). O domínio DBD N terminal corresponde a uma região altamente conservada entre os FTs ARFs. Esse domínio atua no reconhecimento de curtas sequências de DNA, presentes nos promotores dos genes responsivos a AUX, chamadas de elementos responsivos a auxina (AuxRE). Já o domínio médio corresponde a uma região de maior variação, e, está envolvido na ativação ou repressão de genes (ROOSJEN; PAQUE; WEIJERS, 2018).

Estudos bioquímicos e análises de bioinformática dos domínios médios dos FTs ARFs permitiram classifica-los como ativadores ou repressores da transcrição gênica (ULMASOV *et al.*, 1999; TIWARI *et al.*, 2003). As proteínas ARFs que atuam como repressores geralmente apresentam a região média enriquecida pelos aminoácidos prolina, serina e treonina; enquanto que os ARFs que atuam como

ativadores, geralmente apresentam domínios médios enriquecidos pelo aminoácido glutamina. Além disso, tal região nos ARFs ativadores tem sido descrita como local de interação com proteínas envolvidas na remodelação da cromatina (SWI/ SNF; GUILFOYLE; HAGEN, 2007; WU, 2015).

Na segunda situação, a influência dos FTs ARFs sobre determinados genes é controlada pela ação das proteínas AUX/IAA e TPL (TOPLESS; SZEMENYEI; HANNON; LONG, 2008). Em baixos níveis de AUX os repressores transcricionais AUX/IAA, juntamente com as proteínas TPL, interagem com os FTs ARFs e reprimem as suas atividades (GUILFOYLE; HAGEN, 2007). Entretanto o aumento de AUX nas células leva a degradação dos repressores AUX/IAA. A AUX atua aumentando a afinidade de AUX/IAA com TIR1/AFB, que por sua vez conduzem AUX/IAA a degradação via proteossomo (TAN, 2007; GUILFOYLE; HAGEN, 2007), liberando os FTs ARFs da inibição. Os FTs ARFs agora podem então influenciar a expressão dos genes responsivos a AUX. Vale ressaltar que, os FTs ARFs também induzem a expressão de genes que codificam os repressores AUX/IAA, o que resulta em um mecanismo de regulação na via por feedback negativo (BENJAMINS; SCHERES, 2008). A via de sinalização por AUX está representada na figura 3.

Figura 3 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Auxina.



Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2015).

2.3.2 Ácido Abscísico (ABA)

O ABA também desempenha papel significativo em várias etapas do desenvolvimento das plantas. A via de sinalização por ABA controla principalmente a manutenção da dormência e desenvolvimento das sementes (NAMBARA *et al.*, 2010), e o fechamento estomático (KUROMORI *et al.*, 2011). Dentre os fitormônios conhecidos, o ABA é considerado o regulador chave da tolerância das plantas a estresses abióticos e bióticos (WANI; KUMAR, 2015; CAO *et al.*, 2011). Em condições desfavoráveis, os níveis de ABA nas células radiculares aumentam através da sua biossíntese, e o seu acúmulo resulta numa cascata de sinais, que desencadeiam respostas moleculares em toda a planta sob estresse (NG *et al.*, 2014).

Durante o estresse hídrico, o ABA é tanto sintetizado nas raízes, e enviado para a parte aérea das plantas através do xilema (MALCHESKA *et al.*, 2017), quanto nas folhas (ZHANG *et al.*, 2018a). Nas folhas, o ABA controla o fechamento estomático, limitando a fotossíntese. O ABA também regula a expressão de vários genes responsivos a estresses, aumentando tolerância das plantas a condições limitantes (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2006).

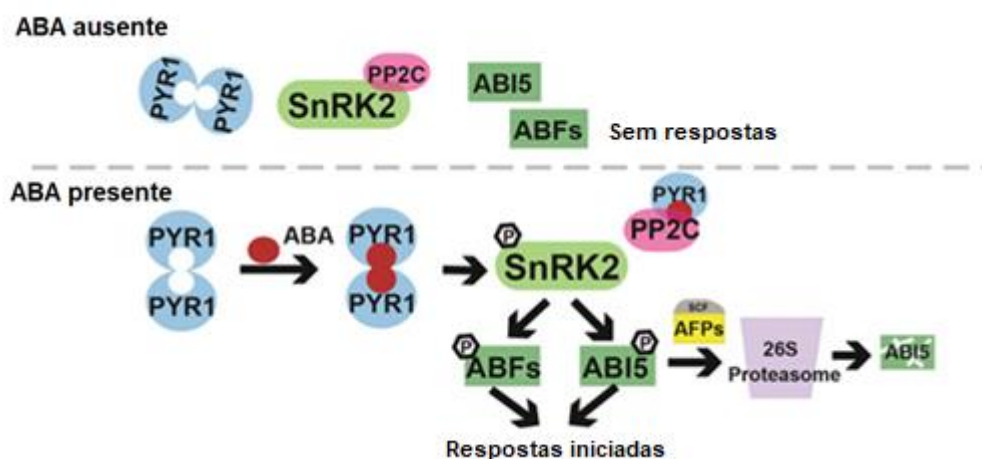
Atualmente, as proteínas AIT (ABSCISIC ACID-IMPORTING TRANSPORTER), ABCG25 (ATP-BINDING CASSETTE G25) e PDR (PLEIOTROPIC DRUG RESISTENCE) são reconhecidas como sistemas transportadores envolvidos no efluxo e influxo de ABA (KANG *et al.*, 2010; KUROMORI *et al.*, 2010; KANNO *et al.*, 2012). A expressão desses componentes é relatada como tecido-específica; os componentes ABCG25 e AIT são principalmente expressos em tecidos vasculares, enquanto que o transportador PDR é principalmente expresso nas células guarda (BOURSIAC *et al.*, 2013).

A via de sinalização por ABA é composta pelos receptores PYR/PYL (PYRABACTIN RESISTENCE/ PYRABACTIN RESISTENCE-LIKE) e RCAR (REGULATORY COMPONENT OF ABSCISIC ACID RECEPTOR), pelas proteínas fosfatase PP2C (PROTEIN PHOSPHATASE 2C), pelas proteínas quinases SnRK2 (SERINE/THREONINE-PROTEIN KINASE SRK2) e pelos FTs ABF (ABSCISIC ACID-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING FACTORS).

Na ausência de ABA, os reguladores positivos SnRK2 interagem fisicamente com a proteína PP2C e são inativados por ela. A inativação ocorre através da desfosforilação de um resíduo de serina localizado no domínio de ativação das quinases SnRK2, tendo como consequência a inibição da resposta mediada pelo ABA. Já na presença de ABA, sua ligação aos receptores PYR/ PYL interrompe a ligação

estabelecida entre SnRK2 e PP2C, pois tais receptores inibem a atividade enzimática de PP2C (LEE; LUAN, 2012; SOON *et al.*, 2012). Sem a ligação de PP2C, a proteína quinase SnRK2 torna-se ativa por meio de autofosforilação. Em sua forma ativa, as proteínas SnRK2 se ligam aos FTs ABFs, e tal processo resulta na ativação da resposta mediada por ABA (LEUNG, 2012; OSAKABE *et al.*, 2014; YOSHIDA *et al.*, 2019). A via de sinalização por ABA pode ser visualizada na figura 4.

Figura 4 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio ácido abscísico (ABA).



Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2015).

2.3.3 Giberelina (GA)

As GAs correspondem a uma classe de fitormônios bastante estudada. Já foram identificadas mais de 130 estruturas diferentes. Entretanto, apenas as formas GA1, GA3, GA4 e GA7 são biologicamente ativas; sendo GA1 e GA4 as mais atuantes em angiospermas (GIACOMELLI *et al.*, 2013).

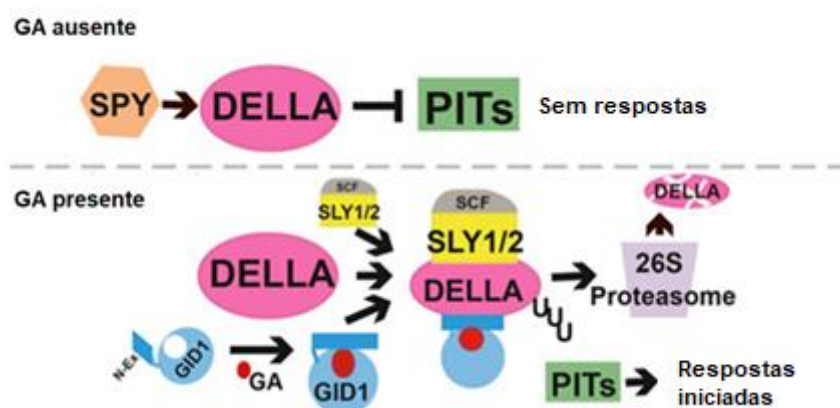
As GAs participam e regulam diversas etapas do crescimento e desenvolvimento das plantas, tais como germinação das sementes (PENFIELD *et al.*, 2017), expansão foliar (Xu *et al.*, 2016a), alongamento caulinar e desenvolvimento das flores (GRASS *et al.*, 2017; MARTINS, *et al.*, 2018) e frutos (HU *et al.*, 2018). As GAs também estão relacionadas com respostas de adaptação das plantas sob estresses ambientais, como estresse térmico, salino e hídrico (COLEBROOK, *et al.*, 2014). Nesse contexto, as GAs também são conhecidas por interações negativas e positivas com outros fitormônios (WEISS; ORI, 2007).

Em relação ao estresse hídrico, estudos evidenciam que após aplicação de GA, plantas submetidas ao estresse recuperaram o crescimento (AKTER *et al.*, 2014). Outros estudos relataram que mutantes com sensibilidade reduzida a GA, apresentaram uma maior tolerância a deficiência hídrica quando comparados ao tipo selvagem (NIR; MOSHELION; WEISS, 2014). Entretanto, os mecanismos pelos quais a GA atua na adaptação das plantas sob estresse hídrico não estão claros.

A via de sinalização por GA compreende quatro componentes principais: a proteína receptora de giberelina GID1 (GIBBERELLIN-INTENSIVE DWARF1), as proteínas repressoras DELLA (DELLA-CONTAINED PROTEIN), os fatores de transcrição PIF (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR) e a proteína F-Box. Em baixos níveis de GA, o receptor GID1 está em sua forma inativa, e a proteína repressora DELLA inibe a atividade dos FTs PIF. Desta forma, a resposta por GA é reprimida (LI, *et al.*, 2016). As proteínas DELLA interagem com diferentes FTs PIF, e inibem a atividade deles sequestrando o domínio de ligação ao DNA (LI, *et al.*, 2016).

Na presença de GA, suas formas bioativas são percebidas pelo receptor GID1. Esse receptor, quando ligado a GA, interage com as proteínas DELLA formando o complexo ternário GA-GID1-DELLA. Tal interação é realizada através de dois domínios conservados localizados na região N-terminal das proteínas DELLA. Após a formação do complexo, as proteínas DELLA serão degradadas via complexo ubiquitina ligase SCFSLY1 / GID2, liberando os FTs PIFs, levando assim a ativação da via (FONOUNI-FARDE *et al.*, 2016). A via de transdução de sinal por GA está representada na figura 5.

Figura 5 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio giberelina (GA)



Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2015).

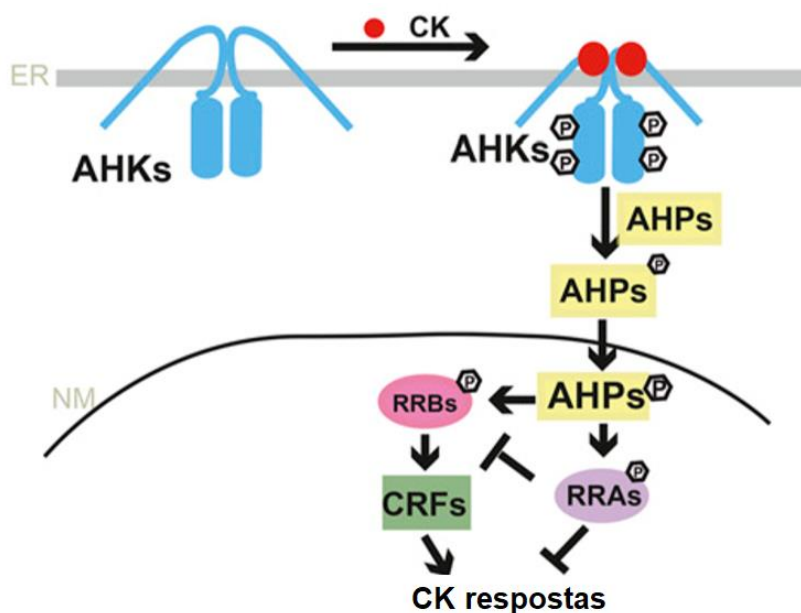
2.3.4 Citocinina (CK)

O fitormônio CK controla uma gama de processos fisiológicos envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo o desenvolvimento vascular (RYBEL *et al.*, 2014; EL-SHOWK *et al.*, 2015), a manutenção de meristemas e flores (RONG *et al.*, 2017) e o controle da arquitetura radicular (BIELACH *et al.*, 2012) e a formação de nódulos radiculares (REID *et al.*, 2017). Trabalhos relatam também a influência na resposta de plantas sob estresses bióticos ou abióticos (NISHIYAMA *et al.*, 2011; RAINES *et al.*, 2016).

A via de sinalização por CK envolve várias etapas de fosforilação bastante semelhante a via TCS (*two-component regulatory system*) de bactérias e fungos (SCHALLER; SHIU; ARMITAGE, 2011). Em *Arabidopsis thaliana* a via de sinalização é baseada na percepção da CK pelos receptores ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE (AHK2, AHK3 e AHK4/CRE1), e na transferência de grupos fosfatos destes receptores para os reguladores de resposta a CK (ARRs), sendo tal transferência mediada pelas proteínas ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFER PROTEINS (AHPs; KIEBER; SCHALLER *et al.*, 2014).

A via de sinalização se inicia com a ligação específica da CK ao domínio de ligação CHASE, presente em receptores AHK, que se encontram na membrana de retículo endoplasmático. Tal ligação culmina na autofosforilação dos receptores AHK. Posteriormente, o grupo fosfato é transferido para a proteína AHP, que então migra para o núcleo, e fosforila os reguladores de resposta a CK tipo B (B-ARRs). Os B-ARRs são FTs que regulam positivamente a expressão de genes responsáveis a CK, incluindo os reguladores de respostas negativos A-ARRs. A via de sinalização por CK pode ser visualizada na figura 6.

Figura 6 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Citocinina (CK).



Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2015).

2.3.5 Jasmonato (JA)

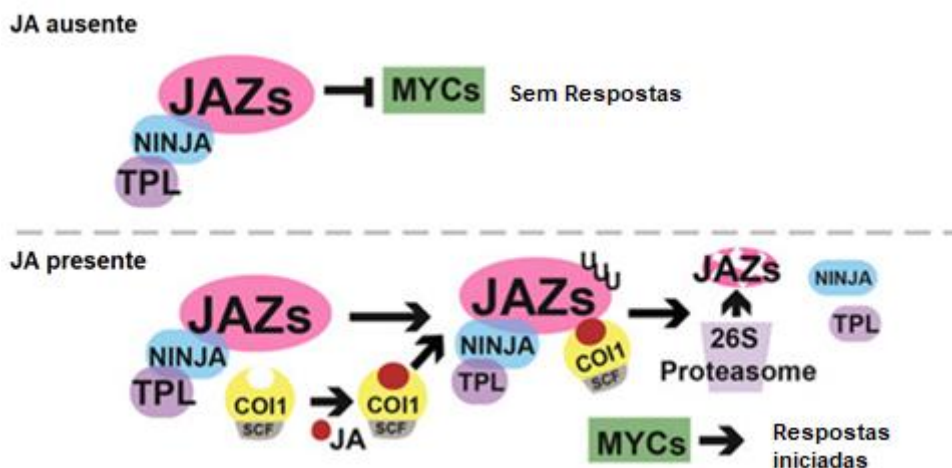
O ácido jasmônico, ou jasmonato, coordena diversos processos fisiológicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das plantas; incluindo a germinação de sementes (LINKIES; LEUBNER-METZGER, 2012; PLUSKOTA *et al.*, 2019), o crescimento e a senescência foliar (JIANG *et al.*, 2014). O JAs também é conhecido por mediar respostas contra estresses bióticos (FALK *et al.*, 2014) e abióticos (KAZAN *et al.*, 2015; BALFAGÓN *et al.*, 2019).

As formas biologicamente ativas de JAs são percebidas pela proteína COI1 (CORONATINE INTENSIVE1; SHEARD *et al.*, 2010). Além de COI1, a sinalização por JA depende da atividade das proteínas JAR1 (JASMONATE RESISTANTE1), JAZs (JASMONATE ZIM-DOMAIN PROTEINS), NINJA (NOVEL INTERACTOR OF JASMONATE ZIM-DOMAIN PROTEIN) e MYCs (MYC-RELATED TRANSCRIPTIONAL ACTIVATOR; SHEARD *et al.*, 2010; POAUWELS *et al.*, 2010).

Na ausência das formas bioativas de JAs, as proteínas JAZs, em conjunto com as proteínas NINJA, ligam-se aos FTs MYCs e inibem a sua atividade. Quando o JAs está presente, este se liga a proteína COI1. Posteriormente, COI1 interage com as proteínas da família JAZs, levando-as a degradação via proteossoma SCFCOI1 (POAUWELS *et al.*, 2010). Com a degradação dos repressores JAZs, os FTs MYC2

tornam-se livres para regular a expressão dos genes responsáveis ao JAs. A via de sinalização por JAs está representada na figura 7.

Figura 7 -Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Jasmonato (JA).



Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2015).

2.3.6 Etileno (ETH)

O ETH é um fitormônio gasoso que coordena uma gama de processos fisiológicos, incluindo a germinação de sementes (EL-MAAROUF-BOUTEAU *et al.*, 2015), o amadurecimento e a senescência de órgãos (LQBAL *et al.*, 2017). A via implicada também atua em respostas das plantas contra estresses abióticos (KLAY *et al.*, 2018) e bióticos (YANG *et al.*, 2017). Tais estresses alteram os níveis endógenos de ETH nas plantas, induzindo o acúmulo. Esse acúmulo pode aumentar as chances de sobrevivência das plantas sob estresses; uma vez que ele é capaz de modular a expressão de uma variedade de genes, desencadeando mecanismos de tolerância (KLAY *et al.*, 2018).

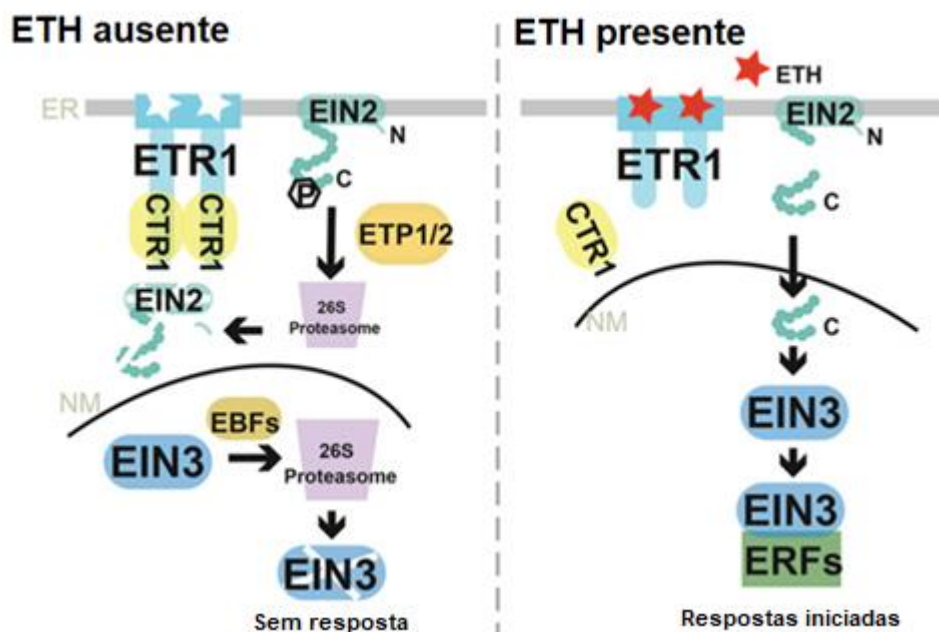
Atualmente, a via de sinalização por ETH se encontra bem caracterizada, estando já relatada algumas de suas interações com outras vias (LI *et al.*, 2017). Geralmente o ETH age de forma coordenada ao JAs (ZHU; Lee, 2015) e ao SA (DI; GOMILA; TAKKEN, 2017) na regulação de respostas de defesa das plantas contra pragas e patógenos. Entretanto, quando combinado ao ABA, a interação pode ser tanto sinérgica (VALLURU *et al.*, 2016) como antagônica (DONG *et al.*, 2016).

Nas células, o ETH é percebido pelos receptores ETR1 (ETHYLENE RESPONSE1), localizados nas membranas do retículo endoplasmático. Esses

receptores funcionam como reguladores negativos da via (BINDER *et al.*, 2012). Na ausência de ETH, ETR1 ativa a proteína CTR1 (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE1), que corresponde a uma proteína tripla quinase ativada por mitógenos (MAPKKK). Quando ativada, CTR1 em conjunto com os receptores ETR1, inibem a atividade do regulador positivo EIN2 (ETHYLENE INTENSIVE2; JU *et al.*, 2012). A proteína EIN2 desempenha um papel central nas respostas mediadas por ETH (JI; GUO, 2013), pois ela é necessária para a estabilização dos FTs EIN3 (ETHYLENE INTENSIVE3) e EIL1 (ETHYLENE INTENSIVE3-LIKE). Portanto, a inativação de EIN2 acarreta a repressão da resposta por ETH.

Na presença de ETH, os receptores ETR1 e a proteína quinase CTR1 são inativados. A proteína EIN2 é então desfosforilada e seu domínio hidrofílico, localizada na região C-terminal (CEND), é clivado e transportado ao núcleo (JI; GUO, 2013). No núcleo, o domínio CEND se liga aos FTs EIN3 e EIL1, estabilizando-os (CHANG *et al.*, 2013). Os FTs desencadeiam então as respostas mediadas por ETH, ligando-se aos promotores gênicos de diferentes componentes, incluindo TFs ERFs (ETHYLENE-RESPONSIVE TRANSCRIPTION FATOR). Os TFs ERFs, por sua vez, podem se ligar aos motivos “AGCCGCC” (caixa GCC), presentes em muitos promotores de genes regulados por ETH (TOURNIER *et al.*, 2003). A via de sinalização por ETH pode ser visualizada na figura 8.

Figura 8 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Etileno (ETH).



Fonte: Adaptado de Wang *et al.* (2015).

2.3.7 Brassinosteróides (BR)

Os BRs são uma classe de hormônios esteroides vegetais que coordenam um grande número de processos nas plantas. Dentre eles, destacam-se o alongamento e a divisão celular (WEI; LI, 2016), a germinação das sementes (CUKOR *et al.*, 2018), o desenvolvimento vascular (LEE *et al.*, 2019), o desenvolvimento de flores (HONG; SUNG; HYU, 2018) e frutos (AYUB *et al.*, 2016), e a imunidade das plantas (YAN *et al.*, 2018; FURIO *et al.*, 2019).

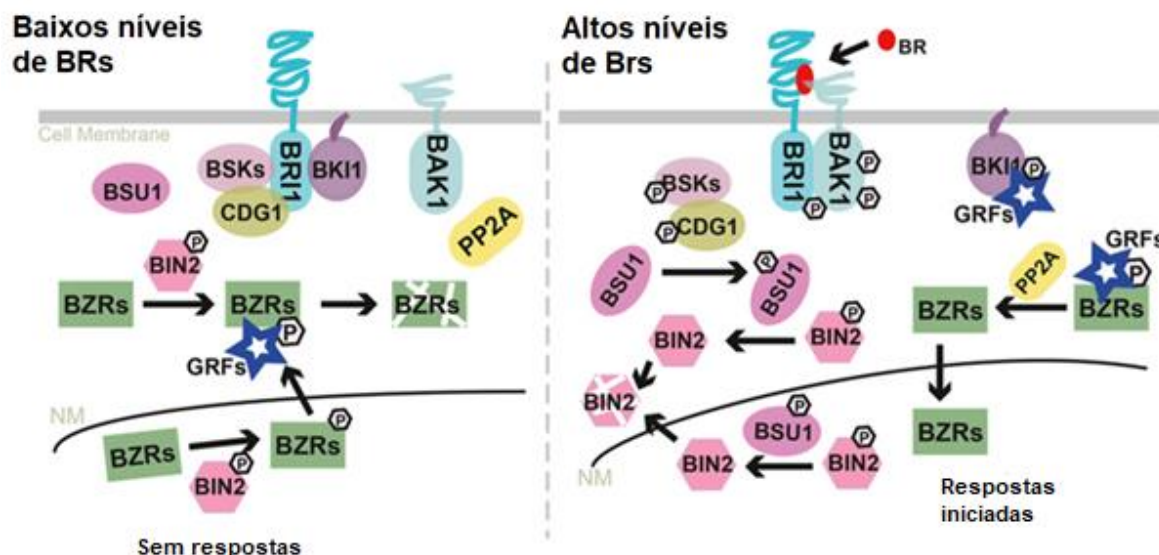
Os BRs também conferem tolerância às plantas contra uma gama de estresses, incluindo o déficit hídrico (GRUSZKA *et al.*, 2016) e a salinidade (SHARMA *et al.*, 2013). Em tais situações, as principais respostas mediadas por BRs envolvem a regulação de atividade de enzimas antioxidantes (SHARMA *et al.*, 2018), da capacidade fotossintética (LI *et al.*, 2015; SHU *et al.*, 2016), e do metabolismo de carboidratos (POCIECHA *et al.*, 2016). Além disso, em situações estressantes os BRs também induzem a biossíntese de outros fitormônios, de modo a favorecer o crescimento das plantas sob estresses (GRUSZKA *et al.*, 2016).

A via de sinalização por BRs se inicia na membrana plasmática, onde são percebidos pelo receptor BRI1 (BRASSINOSTEROID INTENSIVE1). Os BRs se ligam

ao domínio extracelular de BRI1 e promovem a sua interação com o correceptor BAK1 (BRASSINOSTEROID INTENSIVE1-ASSOCIATED RECEPTOR KINASE 1), levando a sua ativação (SHE *et al.*, 2011). Na ausência de BRs, a ligação entre BRI1 e BAK1 é regulada negativamente por BKI1 (BRASSINOSTEROID INTENSIVE1 KINASE INHIBITOR1), que se liga ao domínio quinase de BRI1 inibindo a sua função. Ao mesmo tempo, o regulador negativo BIN2 (BRASSINOSTEROID INTENSIVE2) fosforila os FTs BZR1/2 (BRASSINAZOLE RESISTANT1/ 2), mediando a sua degradação via proteossomo (YE; LI; YIN, 2011).

Altos níveis de BRs promovem a ativação de BRI1 e a inativação de BKI1. Na ausência de BKI1, BRI1 e BAK1 interagem e se transfosforilam promovendo a total ativação de BRI1, e iniciam uma cascata de sinalização a jusante. BRI1 também interage com a proteína fosfatase BSU1 (BRASSINOSTEROID INTENSIVE1 SUPPRESSOR1) e juntos inibem a atividade do regulador negativo BIN2. Ao mesmo tempo, os FTs BZR1/ 2 são ativados pela proteína fosfatase PP2A via desfosforilação. Por sua vez, BZR1/ 2, livres da ação de BIN2, se ligam aos promotores de diversos genes de modo a regular as respostas moleculares mediadas por BRs (YE; LI; YIN, 2011). A via de sinalização por BRs está representada na figura 9.

Figura 9 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Brassinoesteróide (BRs).



Fonte: Adaptado de: Wang *et al.* (2015).

2.3.8 Ácido Salicílico (SA)

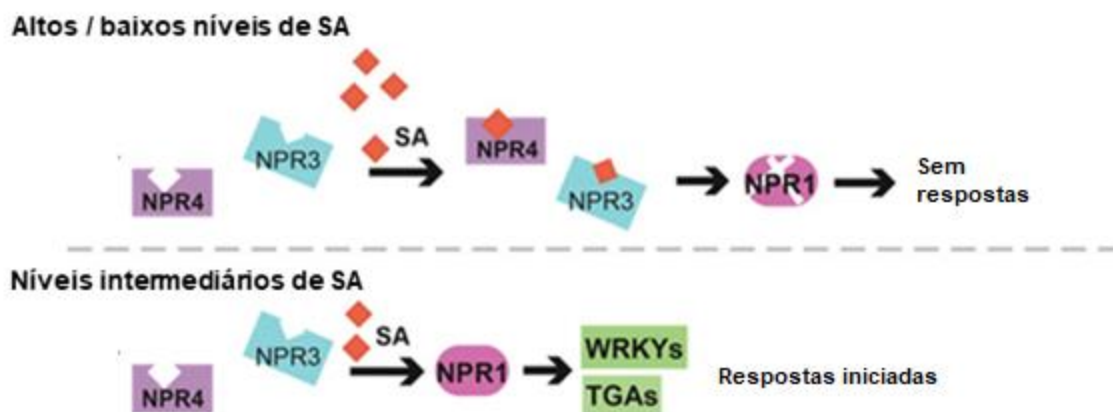
O SA está relacionado com importantes processos fisiológicos que ocorrem durante todo o desenvolvimento das plantas, como germinação das sementes (ANAYA *et al.*, 2018), desenvolvimento de frutos, floração, fotossíntese (ZHANG *et al.*, 2015), metabolismo do nitrogênio e nodulação das raízes (LEBEIS *et al.*, 2015). O SA também desempenha um importante papel no controle das respostas das plantas aos estresses abióticos (KHAN *et al.*, 2015) e bióticos (KUMAR *et al.*, 2014). Em relação aos estresses bióticos, o SA está intimamente envolvido com a resposta contra patógenos, sendo considerado um regulador chave da resistência sistêmica adquirida das plantas (KUMAR *et al.*, 2014).

A via de sinalização por SA foi recentemente descrita utilizando o modelo vegetal *A. thaliana* (FU *et al.*, 2012). Em *Arabidopsis*, a proteína NPR1 (NONEXPRESSER OF PATHOGENESIS-RELATED GENE1) foi identificada como um co-regulador transcricional chave de genes responsivos ao SA. A atividade de NPR1 é fortemente regulada por modificações dependentes de SA (FU *et al.*, 2012). Em baixos níveis de SA, as proteínas NPR1 encontram-se ligadas através de pontes bissulfídicas. O aumento da concentração de SA ocasiona uma alteração no estado redox celular, e essa alteração é detectada por NPR1, que passa do estado oligômero inativo para o de monômero ativo (MOU *et al.*, 2003). Os monômeros ativos de NPR1 são posteriormente transportados para o núcleo.

As proteínas NPR3 e NPR4 atuam como receptores de SA, mas também estão envolvidas na degradação de NPR1 (DING *et al.*, 2018b). NPR3 e NPR4 se ligam ao SA e a NPR1 com diferentes afinidades. Em baixos níveis de SA, NPR4 se liga à NPR1 levando à degradação. Em altos níveis de SA, NPR1 também é degradada, sendo esta degradação coordenada por NPR3. Dessa forma, a resposta mediada por SA é reprimida. Em níveis intermediários de SA, tanto NPR3 e NPR4 não se ligam a NPR1, acarretando o acúmulo dos monômeros de NPR1 (FU *et al.*, 2012; FU, *et al.*, 2013).

Por sua vez, os monômeros de NPR1 interagem e ativam os FTs TGA (TGACG-BINDING FACTORS), e esses regulam a expressão de genes relacionados com a defesa das plantas, tal como o gene codificador da proteína PR-1 (PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN1). NPR1 também interage e ativa os FTs WRKYs (WRKY TRANSCRIPTION FATOR), os quais amplificam as respostas transcricionais mediadas por SA (FU *et al.*, 2012; BACKER *et al.*, 2019). A via de sinalização por SA encontra-se representada na figura 10.

Figura 10 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Ácido Salicílico (SA).



Fonte: Adaptado de: Wang *et al.* (2015).

2.3.9 Estrigolactonas (SL)

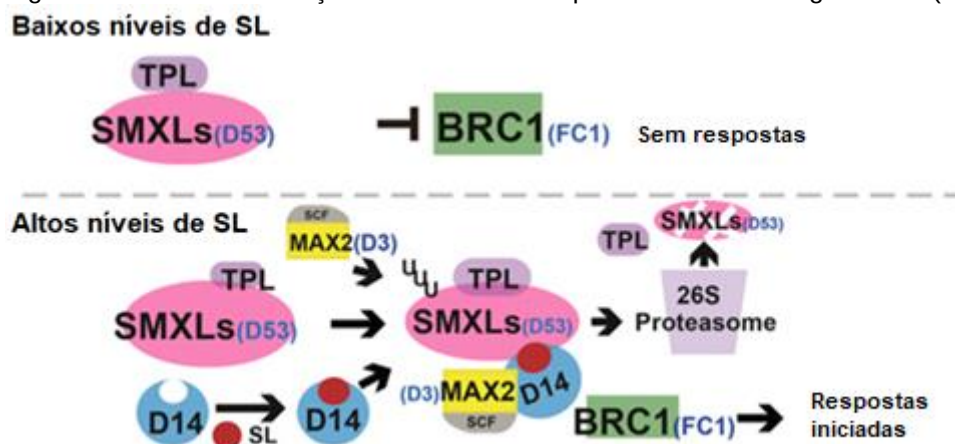
As SLs compõem uma classe de hormônios vegetais bastante diversificada descoberta em meados da década de 1960 (COOK *et al.*, 1966). Elas são bastante conhecidas por induzir a germinação de plantas parasitárias (TORRES-VERA *et al.*, 2016) e promover interações simbióticas entre as plantas e fungos micorrízicos arbusculares (MORI *et al.*, 2016; KOBAYASHI *et al.*, 2018). Mas, recentemente, trabalhos vem apontando a sua interferência em diversos aspectos do desenvolvimento das plantas, como na senescência foliar (TIAN *et al.*, 2018b), no desenvolvimento radicular (JIANG *et al.*, 2016), no crescimento do caule e da parte aérea (WANG *et al.*, 2015; BENNETT *et al.*, 2016).

Nas plantas angiospermas, as SLs são percebidas através do receptor D14 (DWARF14), membro da superfamília de proteínas α/β hidrolase. Todas as proteínas D14 possuem uma tríade catalítica (Ser-His-Asp) que atua na hidrólise de SL, mecanismo fundamental para a transdução de sinal por SL (NAKAMURA *et al.*, 2013). Além disso, sabe-se que a proteína D14 requer a proteína MAX2 (D3) para exercer sua função.

Em baixos níveis de SL, a proteína D53 (SMXLs) interage com as proteínas TPL (TOPELESS PROTEIN), e inibe a atividade dos FTs TCP (TEOSINTE BRANCHED). Assim, a via de sinalização por SL é inativada. O aumento nos níveis de SL promove uma interação entre D14 e MAX2, que em conjunto promovem a degradação de D53 via complexo SCFMAX2. Na ausência de D53, os FTs TCP

podem então regular as respostas mediadas por SL (ZHOU *et al.*, 2013). Na figura 11, a via de sinalização por SL pode ser visualizada.

Figura 11 - Via de transdução de sinal mediada pelo fitormônio Estrigolactona (SL).



Fonte: Adaptado de: Wang *et al.* (2015).

2.4. A GENÔMICA FUNCIONAL E A TRANSCRIPTÔMICA NO ESTUDO DE PLANTAS SUBMETIDAS A DEFICIÊNCIA HÍDRICA

A replicação, a transcrição e a tradução são os três principais processos que sustentam as funções celulares. Tais processos são fortemente interdependentes, de modo que os produtos ou reagentes de um processo podem regular o desempenho de outros processos nas células. Nesse contexto, um dos principais objetivos da biologia molecular é elucidar de forma abrangente tais relações. O desenvolvimento genômica funcional tem como marco inicial o final da década de 1970 (JARRELL *et al.*, 2011); tendo como principais objetivos identificar, quantificar e caracterizar os constituintes dos sistemas biológicos. A genômica funcional utiliza dados oriundos de todos os níveis da biologia de modo a entender como o genoma informa os diversos fenótipos biológicos. Desta forma, a genômica funcional tornou-se essencial para a compreensão dos mecanismos envolvidos na defesa e/ou tolerância a estresses em plantas (ESPINDOLA *et al.*, 2010).

Como mencionado anteriormente, o déficit hídrico induz uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas nas plantas (ARAÚJO JUNIOR *et al.*, 2019), fazendo com que elas respondam ao nível molecular e celular. Estas respostas, por compreenderem um grande número de genes, têm a caracterização molecular global

bastante dificultada, requerendo novas tecnologias. Neste contexto, a transcriptômica como estratégia pode auxiliar.

A transcriptômica é um ramo da genômica funcional com foco na análise do transcriptoma. O transcriptoma, por sua vez, é definido como o conjunto total de moléculas de RNA transcritas em um determinado organismo, tecido ou célula, sendo ele específico para um determinado estágio de desenvolvimento ou condição fisiológica (WANG *et al.*, 2009). O termo “transcriptoma” foi inicialmente proposto por Charles Auffray em 1996, e utilizado pela primeira vez em um artigo científico no ano de 1997 (VELCULESCU *et al.*, 1997).

Através da transcriptômica é possível caracterizar funcionalmente (Li *et al.*, 2019) e estruturalmente genes (regiões 5' UTR, 3' UTR, CDS; GUO *et al.*, 2017), anotar transcritos anteriormente identificados (NUDELMAN *et al.*, 2018), identificar padrões de *splicing* (PERVOUCHINE *et al.*, 2019; FERRARO *et al.*, 2019) e quantificar as alterações nos níveis de expressão gênica associadas a condições específicas (QIU *et al.*, 2017; SHUKLA *et al.*, 2019). Além disso, nos últimos anos diferentes técnicas oriundas da transcriptômica também vêm sendo utilizadas para a identificação de biomarcadores associados a doenças (PENDER *et al.*, 2021).

A abordagem transcriptômica compreende uma das principais análises ômicas utilizadas para compreender as respostas das plantas as alterações ambientais. Ao longo das últimas décadas, diferentes metodologias transcriptômicas têm surgido com o intuito de analisar transcritos qualitativamente e quantitativamente. Estas diferentes metodologias podem ser divididas em duas categorias principais. A primeira, compreende as metodologias fundamentadas na hibridação; já a segunda, abrange as metodologias baseadas no sequenciamento e contagem de transcritos (RANI; SHARMA, 2017).

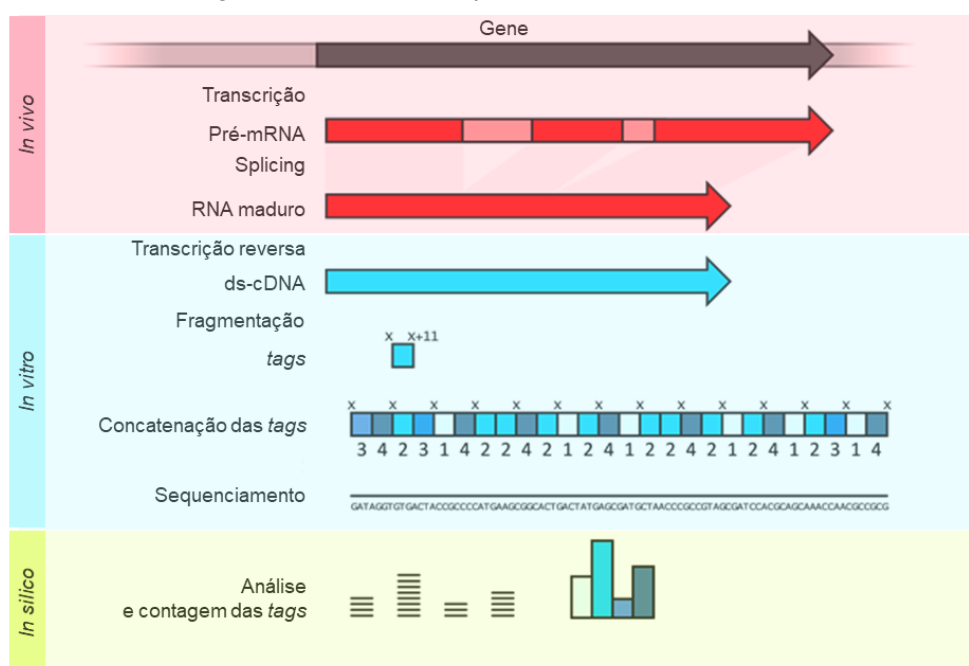
Uma das principais representantes da primeira categoria é a técnica de *microarray* (SCHENA *et al.*, 1995). A técnica de *microarray* consiste na hibridação do DNA alvo a uma matriz ordenada de oligonucleotídeos (sondas); onde o perfil de expressão é gerado através da utilização de marcadores fluorescentes para cada amostra, e a sobreposição gráfica das cores permite visualizar quais genes são ativados ou reprimidos em situações específicas (exemplo amostra tratada *versus* amostra controle; STEARS; MARTINSKY; SCHENA, 2003).

No segundo grupo, podem ser citadas as técnicas derivadas da SAGE (Serial Analyses of Gene Expression; VELCULESCU *et al.*, 1995) e o RNA-seq

(Sequenciamento de RNA; MORIN *et al.*, 2008). Esta última metodologia vem sendo muito aplicada nos últimos anos (MARGUERAT; BÄHLER, 2010). Nesta técnica, RNAs de uma amostra são extraídos, fragmentados e sequenciados utilizando métodos de alto rendimento. Após a análise dos fragmentos sequenciados, as chamadas *reads* poderão ser montadas e/ou mapeadas em um genoma de referência (MARGUERAT; BÄHLER 2010) e após a montagem do transcriptoma, o nível de expressão para cada um dos transcritos é então calculado. Neste caso, o número de *reads* que alinham com a sequência de referência reflete a abundância do mRNA na amostra (MARGUERAT; BÄHLER 2010).

Por sua vez, a partir técnica SAGE (VELCULESCU *et al.*, 1995) e suas variantes LongSAGE (SAHA *et al.*, 2002) e SuperSAGE (MATSUMURA *et al.*, 2003) possibilitam também gerar perfis de expressão relacionados com condições específicas (MATSUMURA *et al.*, 2005). A técnica tem como princípio a contagem de transcritos através da análise de pequenos fragmentos denominados *tags*. Na técnica SAGE, os mRNAs presentes em uma amostra são extraídos e convertidos a cDNAs de cadeia dupla (ds-cDNAs), através da técnica de transcrição reversa. Posteriormente, os ds-cDNAs são digeridos através das enzimas de restrição *NlaIII* e *BsmF1*, tendo como resultado final *tags* de 15 pb, que serão sequenciadas e contadas. A frequência de cada *tag* na amostra representa o nível de expressão do gene relacionado a cada *tag*. As *tags* geradas também são utilizadas para identificar os genes correspondente às mesmas (Figura 12; MATSUMURA *et al.*, 2005). Assim, técnica SAGE se destaca por permitir analisar quantitativamente e qualitativamente um grande número de transcritos, de forma rápida e completa.

Figura 12 - Resumo esquemático da técnica SAGE



Fonte: adaptado de Lowe *et al.* (2017).

Apesar da metodologia ser eficiente, o tamanho da *tag* SAGE original foi um fator limitante, pois em organismos com genomas complexos, esta *tag* poderia acarretar uma anotação incorreta do gene que a originou. Frente a isso, novas técnicas foram desenvolvidas a partir da SAGE, como a LongSAGE (SAHA *et al.*, 2002) e a SuperSAGE (MATSUMURA *et al.*, 2005), diferindo apenas no que diz respeito às enzimas de restrição utilizadas e ao tamanho das tags geradas. Na técnica LongSAGE, a enzima de restrição *MmeI* ocupou o lugar da enzima *BsmF1*, para se obter fragmentos de 20 pb; entretanto, a *tag* gerada na LongSAGE também foi considerada um fator limitante para sua utilização em organismos de genomas complexos.

A partir da técnica SuperSAGE, tags de 26 pb foram obtidas pela utilização das endonucleases de restrição *NlaIII* e *EcoP15I*. Dessa forma, a técnica evitava as limitações encontradas tanto na SAGE quanto na LongSAGE (MATSUMURA *et al.*, 2005). Essa técnica tem sido bastante utilizada na avaliação de plantas submetidas a estresses, tanto por fatores bióticos (FONDEVILLA *et al.*, 2014) como abióticos (KELISH *et al.*, 2014; FERREIRA-NETO, 2014; DA-SILVA *et al.*, 2017).

Ao se combinar a técnica SuperSAGE com o sequenciamento NGS de alto rendimento (*high-throughput*), a técnica denominada HT-SuperSAGE (MATSUMURA *et al.*, 2010), eliminou a necessidade de concatenação das tags e clonagens

bacterianas, se tornando em uma alternativa simples de ser aplicada. As *tags* sequenciadas requerem somente contagens e anotações via alinhamentos BLAST, não necessitando de grandes recursos de informática ou mesmo de bioinformática do que aqueles em uso em um laboratório de biologia molecular, podendo, desta forma, acelerar a velocidade de aquisição de informações úteis ao melhoramento vegetal convencional.

2.5. A BIOINFORMÁTICA E OS BANCOS DE DADOS PÚBLICOS COM INFORMAÇÕES ÚTEIS PARA O MELHORAMENTO VEGETAL

O desenvolvimento das abordagens ômicas gerou um novo campo de estudo, a bioinformática. O termo “bioinformática” pode ser definido como o uso de técnicas oriundas da matemática, estatística e da computação para a análise de dados biológicos (HUERTA *et al.*, 2000). Através da bioinformática é possível acessar e analisar grandes quantidades de dados em um curto período de tempo, sendo uma melhoria significativa em relação aos antigos métodos de análise manual (NASCIMENTO, 2005). Desta forma, diferentes abordagens *in silico* antecederam muitos estudos *in vitro* ou *in vivo*.

As análises da bioinformática focam em três tipos principais de dados: sequências biológicas (de DNA, RNAs e aminoácidos), estruturas moleculares e resultados de experimentos ômicos, como dados de expressão gênica ou de acúmulo de proteínas (LUSCOMBE; GREENBAUM; GERSTEIN, 2001). A maioria das abordagens permitem comparar estes dados, tendo como princípio semelhanças biológicas significativas. Nesse contexto, dados oriundos de um determinado organismo podem ser examinados e comparados a organismos relacionados, de modo a caracterizar e anotar sequências biológicas.

O método mais comumente utilizado na comparação, caracterização e anotação de sequências biológicas corresponde ao BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*; PEARSON, 2013). Segundo Neumann *et al.*, (2014) a alta popularidade do BLAST se justifica pela flexibilidade, velocidade e confiabilidade do algoritmo de pesquisa. Através do BLAST uma sequência de consulta (*query*) pode ser comparada a sequências de um banco de dados, de modo a identificar semelhanças compartilhadas sobre um limite determinado (*threshold*). O BLAST é comumente utilizado na atribuição de categorias funcionais e taxonômicas a sequências.

Entretanto, a ferramenta pode ser utilizada com diferentes objetivos, entre eles o estudo do *splicing* alternativo de mRNAs (KOSCIELNY *et al.*, 2009), a predição de primers para PCR (YE *et al.*, 2012), a descoberta de regiões conservadas (BORATYN *et al.*, 2012), e o estudo de vias metabólicas (FERREIRA-NETO *et al.*, 2021). Desta forma, a aplicação do método corresponde a uma das primeiras etapas da análise de dados brutos, muitas vezes estendendo-se à mineração de dados baseados em sequências (NEUMANN *et al.*, 2014).

Entre as ferramentas da bioinformática, um método importante para a análise funcional de dados biológicos corresponde a análise dos termos da ontologia genética (GO). Os termos GO compreendem três categorias estruturadas hierarquicamente, que caracterizam produtos gênicos em termos de seus processos biológicos associados, funções moleculares ou componentes celulares. Através deste método é possível realizar uma análise de enriquecimento GO; isto é, identificar quais termos GO estariam estatisticamente super ou sub representados em um grupo de genes, transcritos ou proteínas, quanto a um referencial. Nesse sentido, a análise auxilia na obtenção de um melhor entendimento sobre o conteúdo de informação biológica relacionadas a diferentes produtos gênicos; principalmente para aqueles que não dispõem de maiores informações (SHI *et al.*, 2015).

Fundamentais para a organização e disponibilização dos resultados oriundos das pesquisas citadas anteriormente são os bancos de dados públicos (AMBROSINO *et al.*, 2020). Dentre estes podem ser citados o *GenBank* (BENSON *et al.*, 2005), o *SWISS-PROT* (GASTEIGER; JUNG; BAIROCH, 2001), e o *KEGG* (KANEHISA; GOTO, 2000). No *GenBank* (*Genetic Sequence Data Bank*), hospedado no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), encontram-se depositados conjuntos de sequências de nucleotídeos ou de aminoácidos para uma variedade de organismos. O *GenBank* foi criado para fornecer e encorajar pesquisadores em todo o mundo a terem acesso às informações de sequenciamento de DNA mais abrangentes e atualizadas (BENSON *et al.*, 2018). Além das sequências depositadas, estão também disponíveis dados da literatura sobre anotações e funções biológicas de sequências depositadas (NASCIMENTO, 2005).

O *SWISS-PROT*, por sua vez, é um banco de dados de sequências de proteínas anotadas e difere de outros bancos de dados por três critérios: (1) anotação (2) redundância mínima e (3) integração com outros bancos de dados. Já o banco de dados *KEGG* (*Kyoto Encyclopedia Of Genes and Genomes*) é responsável por

integrar informações genômicas, químicas e funcionais. O *KEGG* inclui três tipos de banco de dados: (1) *GENES*, onde encontram-se depositados conjuntos de genes de organismos totalmente ou parcialmente sequenciados; (2) *PATHWAY*, que representa as redes moleculares em interação; e (3) *LIGAND*, no qual estão representados dados sobre moléculas intracelulares e informações de reações enzimáticas e compostos químicos (KANEHISA *et al.*, 2000). Vale ressaltar que os bancos de dados citados anteriormente também hospedam em suas plataformas diferentes ferramentas de bioinformática, que possibilitam auxiliar a inferir conhecimentos biológicos importantes em dados de expressão de genes (SHI-JING *et al.*, 2015).

Essas ferramentas e bancos de dados podem auxiliar no melhoramento do feijão-caupi, que no Brasil, devido a importância da cultura, é alvo de diferentes estudos, realizados em grande parte pela Embrapa Meio-Norte (Teresina, PI) e alguns órgãos estaduais, dentre os quais o Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA, Recife, PE). Normalmente, esses programas são clássicos e tradicionais no melhoramento convencional, mas abertos para adição de novas tecnologias (FREIRE-FILHO *et al.*, 2014), até para diminuir o tempo necessário para o desenvolvimento e liberação de novas cultivares, mais adaptados às condições de cultivo. Logo, as análises transcriptômicas, como a HT-superSAGE, associadas as estratégias de bioinformática, podem acelerar a obtenção de informações importantes para estes programas, principalmente no desenvolvimento de novas cultivares mais tolerantes aos diferentes estresses.

3 METODOLOGIA

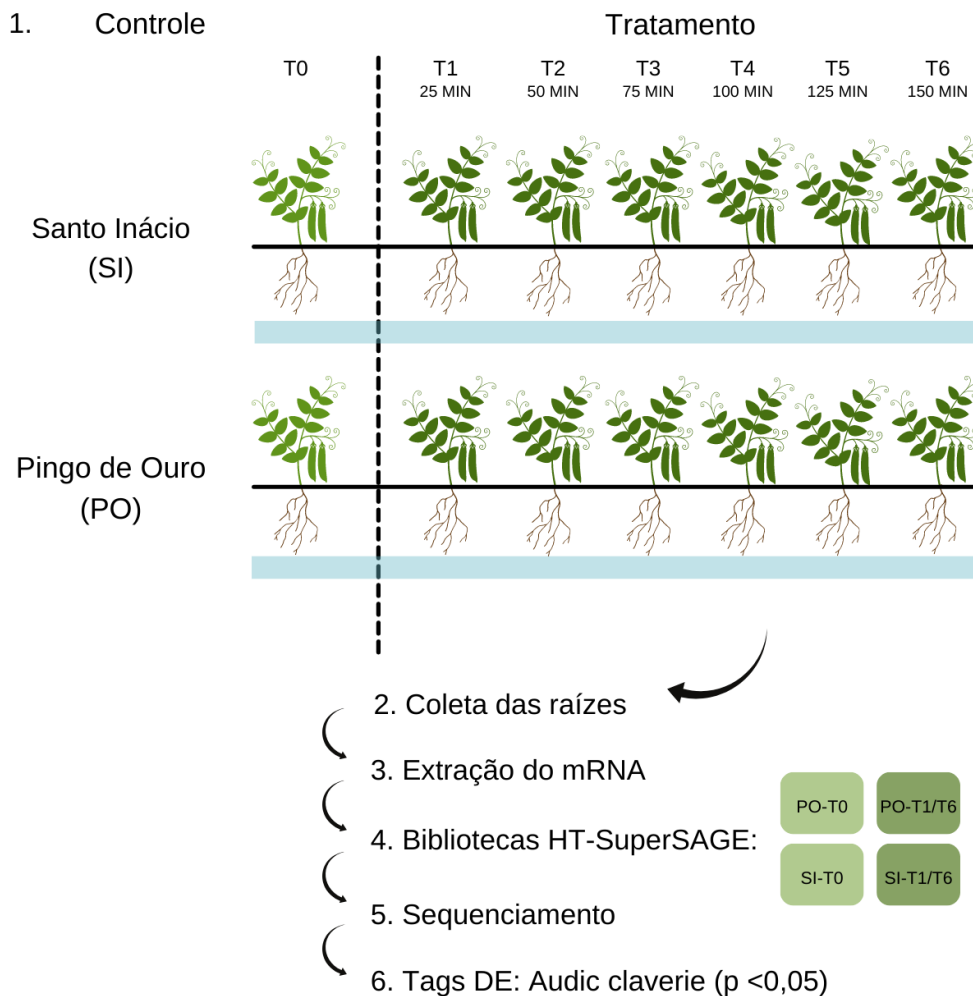
3.1 ORIGEM DOS DADOS DE HT-SUPERSAGE

Os dados de HT-SuperSAGE estavam disponíveis no Lab. de Genética Molecular de plantas UFPE (Depto de Genética/ CB). Esses dados (descritos originalmente por Kido *et al.*, 2011) compreendem *tags* de 26 pb de duas cultivares de *V. unguiculata*, Pingo de Ouro (PO; tolerante) e Santo Inácio (SI, sensível), indicadas como contrastantes a seca pelo Programa de Melhoramento de Feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte (Teresina, PI).

As *tags* foram geradas de um ensaio conduzido na Embrapa Soja (Londrina, PR), cujos procedimentos foram descritos em Ferreira Neto *et al.* (2013), e no qual a cultivar sensível e a tolerante foram cultivadas em sistema hidropônico. Ao atingirem o estágio de desenvolvimento V2 (15 dias), parte das plantas foram suspensas do meio líquido, tendo suas raízes expostas ao ar, por períodos de 25 minutos, totalizando 150 minutos, em seis tempos de coleta. RNAs totais foram extraídos (*RNeasy Mini kit*, Qiagen®) das raízes coletadas nos tempos estabelecidos, gerando quatro bibliotecas HT-SuperSAGE, que foram sequenciadas via *Illumina Genome Analyzer II*: SI_T0 (cultivar Santo Inácio, controle sem estímulo), SI_T1-T6 (cultivar Santo Inácio, amostra conjunta dos tempos com exposição, de 1 a 6), PO_T0 (cultivar Pingo de ouro, controle sem estímulo) e PO_T1-T6 (cultivar Pingo de ouro, amostra conjunta dos tempos com exposição, de 1 a 6). A amostra conjunta foi composta de quantidades similares de RNAs extraídos de cada tempo de coleta, cultivar e tratamento.

Após sequenciamento, foram identificadas as *unitags* (as diferentes *tags* de 26 pb) e aquelas consideradas diferencialmente expressas (DE), a partir de testes *Audic-Claverie* ($p < 0,05$), implementado no software *DiscoverySpace* (v.4.01; Robertson *et al.*, 2007), foram classificadas em induzidas (UR, up-regulated) ou reprimidas (DR, down-regulated; Figura 13).

Figura 13 - Resumo esquemático da obtenção das tags HT-SuperSAGE do feijão-caupi após estímulo de desidratação radicular (até 150 min.).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

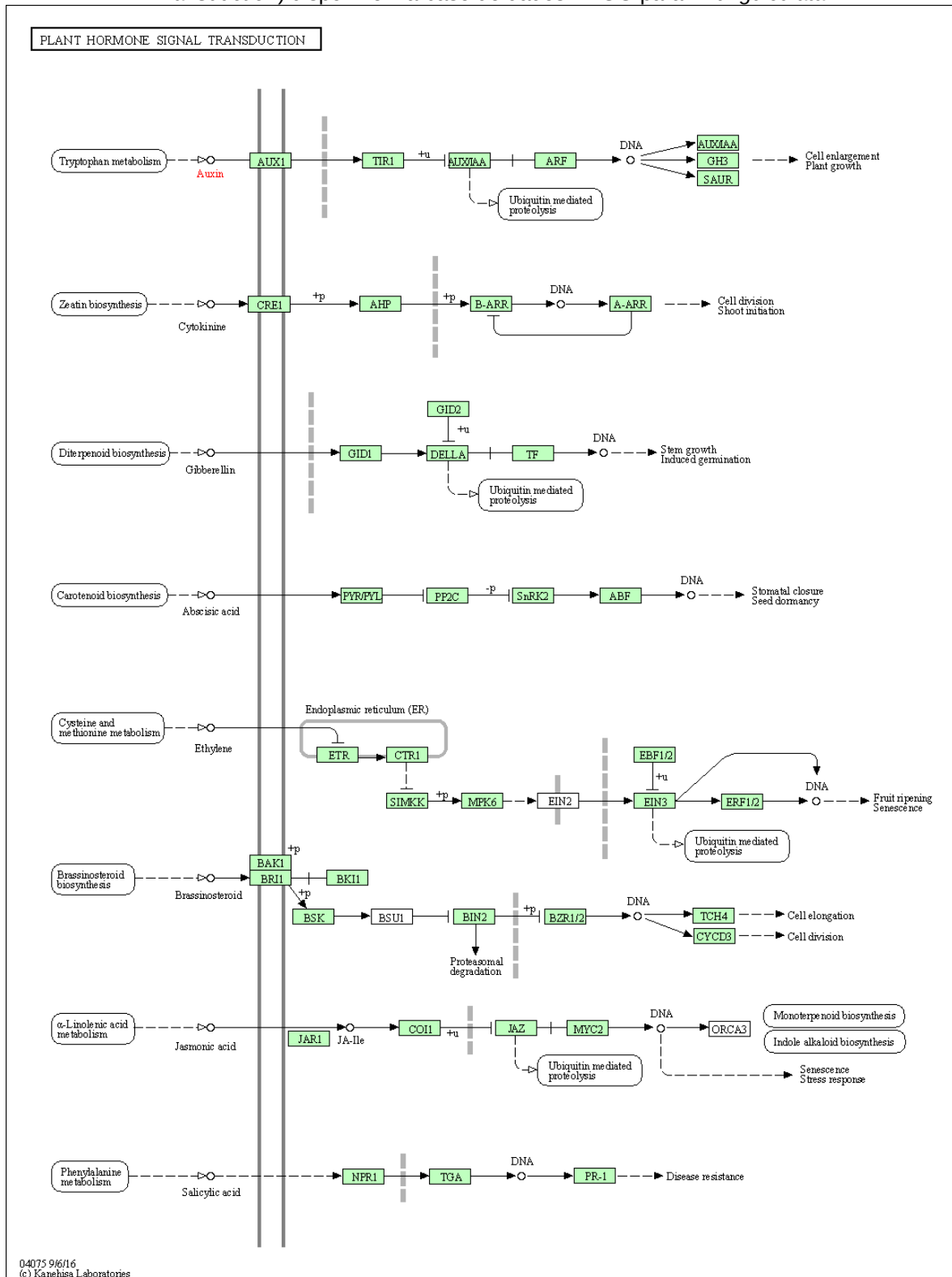
3.2 OBTENÇÃO DOS TRANSCRITOS E PROTEÍNAS DE *V. unguiculata* RELACIONADOS AS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS

Os transcritos e proteínas relacionados com as vias de transdução de sinal por fitormônios (*Plant Hormone Signal Transduction*) foram obtidos de três modos independentes. Inicialmente, foram recuperados 319 transcritos e proteínas envolvidos com as vias de transdução de sinal por AUX, CK, GA, ABA, JA, ETH, SA e BR através da base de dados *KEGG* (<http://www.genome.jp/kegg/>), para *V. unguiculata* (figura 14). Para cada sequência também foi recuperado o identificador KO (*Kegg Ortholog*). Em paralelo, as proteínas de *V. unguiculata*, recuperadas da base de dados Genbank (41.173; NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), foram submetidas as ferramentas de anotação automática *KofanKOALA*

(<https://www.genome.jp/tools/kofamkoala/>) e KAAS (<https://www.genome.jp/kegg/kaas/>), no intuito de recuperar para cada sequência o identificador KO, e através dele identificar a via KEGG que a possível via KEGG a sequência proteica estaria vinculada.

Posteriormente, os componentes da via de sinalização por estrigolactonas (SLs) e componentes não depositados no modelo KEEG das demais vias, foram identificados inicialmente na espécie modelo *A. thaliana*, através da busca de proteínas na base de dados *UniProt/SwissProt* (<https://www.uniprot.org/>). Posteriormente, as mesmas sequências foram alinhadas via BLASTp contra proteínas de *V. unguiculata* da base Genbank (NCBI). Para cada sequência proteica de referência foi eleito o melhor *hit* de *V. unguiculata*, do melhor alinhamento seguindo os parâmetros: menor *e-value*, maior *Score*, e maior percentual de cobertura. Transcritos de *V. unguiculata* referentes a cada uma dessas proteínas também foram recuperados.

Figura 14 - Modelo das vias de transdução de sinal por fitormônios (*Plant Hormone Signal Transduction*) disponível na base de dados KEGG para *V. unguiculata*.



Fonte: Kegg Pathway (2019).

3.3 EXPRESSÃO DOS TRANSCRITOS DAS VIAS DE TRANSDUÇÃO DE SINAL POR FITOHORMONIOS EM *V. unguiculata* COM BASE EM UNITAGS HT-SUPERSAGE

As *unitags* HT-SuperSAGE foram alinhadas (BLASTn) a transcritos curados das vias de sinalização por fitormônios (AUX, CK, GA, ABA, JAs, ETH, SA, BRs e SL), de *V. unguiculata*. Alinhamentos válidos apresentaram: a) *unitag* presente na região codificadora da proteína (CDS); b) *e-value (cutoff)* $<10^{-4}$; c) máximo de um *mismatch* em 26 pb (tamanho da *unitag*); d) sítio CATG íntegro na extremidade 5' do transcrito (sítio de reconhecimento da enzima *NlaIII* previsto no protocolo SuperSAGE). Todas as *unitags* observadas alinhadas em um mesmo transcrito foram consideradas na expressão *in silico* desse transcrito. Assim, as abundâncias de cada transcrito de cada cultivar foram comparadas considerando as presenças nas bibliotecas após estímulo, em relação ao controle sem o estímulo, e os valores de *p-value* foram estimados de testes *Audic-Claverie*, através da ferramenta *online* ACDtool (Ferramenta 2 - *Comparison of two tables of counts of the same rare events* ; <http://www.igs.cnrs-mrs.fr/acdtool/home.php>), verificando se as abundâncias das *unitags* descendem de distribuições de Poisson com médias iguais ou proporcionais ao tamanho da amostra. Os valores foram ajustados (*q-value*) para correção de erros tipo I (FDR) executando o método Benjamini & Hochberg (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995) no pacote *R Stats* v3.6.2.

As contagens das *unitags* por transcritos foram normalizadas inicialmente pelo total de *tags* em cada biblioteca e, em seguida, normalizadas considerando um milhão de transcritos por biblioteca (RPM); e para cada transcrito foi calculado o valor de FC (*fold change* ou modulação da expressão) pela razão (R) entre as frequências normalizadas no tratamento pelo respectivo controle negativo, similar ao realizado para as *unitags*. Transcritos que apresentaram FDR $<0,01$, e $\log_2FC >1$ foram declarados diferencialmente expressos (DE) e estatisticamente induzidos (UR, *up-regulated*) e aqueles com FDR $<0,01$ e $\log_2FC <-1$, declarados reprimidos (DR, *down-regulated*).

Diagramas de Venn, gerados pela ferramenta *online* Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) identificaram transcritos DE com expressão contrastante entre as cultivares (ex: UR na cultivar tolerante e DR ou n.s. na sensível).

3.4 CONSTRUÇÃO DE HEATMAPS

Perfis de expressão (*heatmaps*) foram gerados para transcritos DE, com o auxílio do software *TBtools* (<https://github.com/CJ-Chen/TBtools>), a partir dos valores FC dos transcritos, comparando duas situações (tratamento e controle negativo), e uso de parâmetros sugeridos para o software.

3.5 ANÁLISE DE ENRIQUECIMENTO DE FATORES DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO ASSOCIADOS COM TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS

A análise de enriquecimento de FTs identificou aqueles mais representados interagindo com o conjunto de transcritos das vias de sinalização por fitormônios induzidos na resposta ao estímulo aplicado de cada cultivar. As análises (*TF enrichment analysis*; $p\text{-value} \leq 0,05$; *methods: motif*) para cada via de sinalização foram feitas com a ferramenta on-line *PlantRegMap* (<http://plantregmap.cbi.pku.edu.cn/>). Os FTs exclusivamente relacionados com transcritos UR de cada cultivar, bem como aqueles compartilhados foram comparados em diagramas de *Venn*.

3.6 PREDIÇÃO DA REDE PPI (INTERAÇÕES PROTEÍNA-PROTEÍNA) ASSOCIADAS AOS TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS

Uma análise de interação proteína-proteína (PPI) foi conduzida utilizando os dados disponíveis no banco STRING (versão 11.0b; <https://string-db.org/>) previstos para a espécie *A. thaliana*, em razão da ausência de dados PPI para a espécie *V. unguiculata*. Assim, após identificar as proteínas similares àquelas de *V. unguiculata*, relacionadas exclusivamente com transcritos UR de cada cultivar, estas foram submetidas, de modo independente, ao banco de dados STRING, através da opção “*Multiple Sequences*”. Nas configurações básicas, as fontes de interações: mineração de texto, experimentos, bancos de dados, co-expressão, vizinhança, fusão gênica e co-ocorrência, foram selecionadas para a construção das redes PPI, tendo-se definido o valor 0,4 como *threshold* para o score de interação, representando um grau de

confiança média para as interações. Foram definidos o número máximo de iteradores: “não mais que 10 iteradores” na opção *1st shell*, e “não mais que 20 iteradores” na opção *2st shell*.

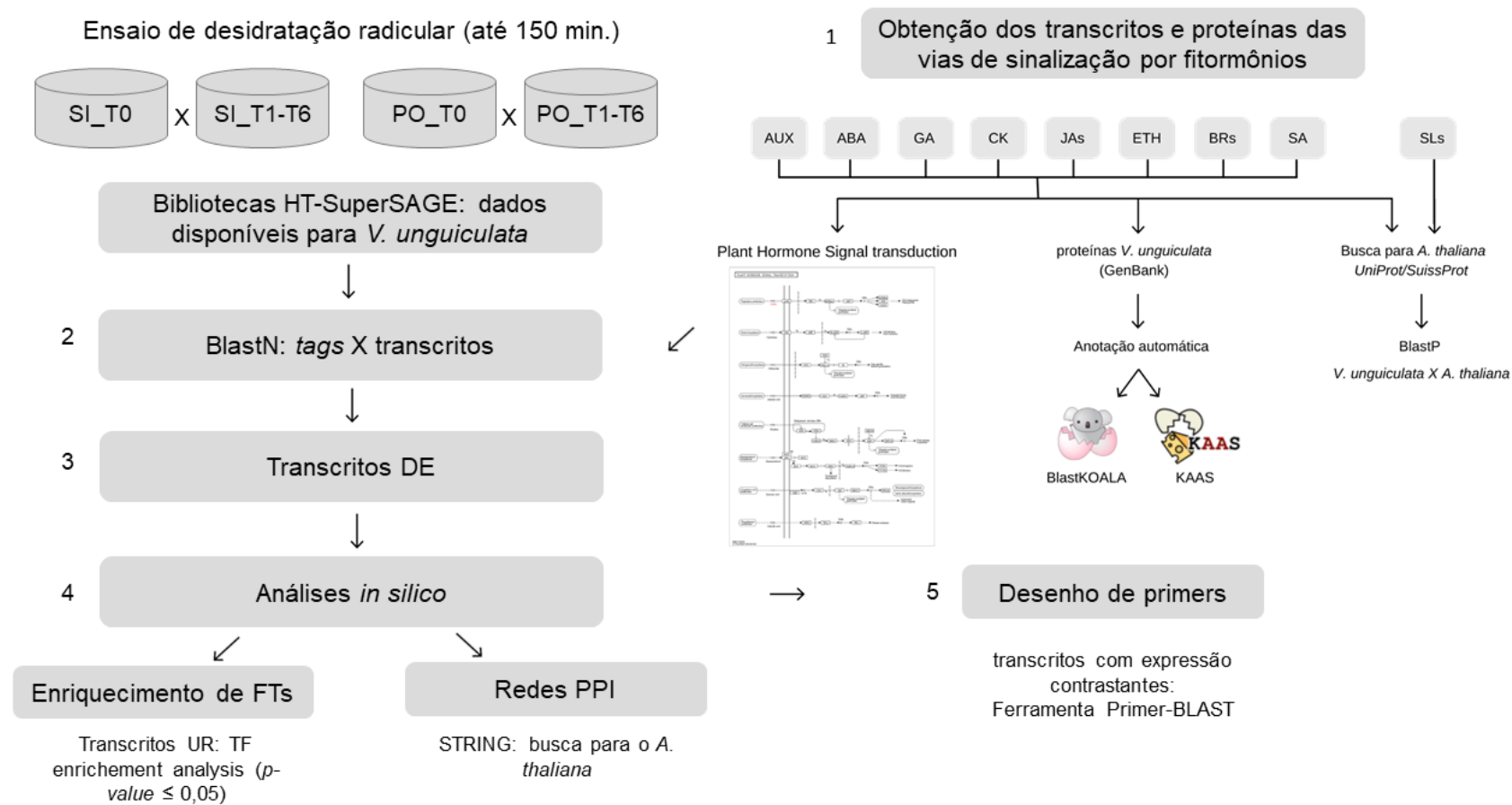
O banco STRING também foi utilizado na análise de enriquecimento funcional da rede de interação, identificando processos biológicos, funções moleculares e componentes celulares significativamente enriquecidos, através do método *Aggregate Fold Change*, conforme descrito em Yu *et al.* (2017).

3.7 SELEÇÃO DE GENES ALVOS E DESENHO DE PRIMERS PARA RT-QPCR

Candidatos das vias de sinalização por fitormônios foram selecionados para validação via RTqPCR, tendo por base a expressão *in sílico* dos transcritos. Foram escolhidos, prioritariamente, transcritos com expressão contrastantes entre os *bulks* analisados (ex: UR no *bulk* tolerante e DR ou n.s no *bulk* sensível), além da modulação da expressão do transcrito (valores de FC). Primers foram propostos pela ferramenta *Primer-BLAST* (YE *et al.*, 2012; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>), a partir dos parâmetros: tamanho do *primer* (pb): mínimo de 20, ótimo de 22 e máximo de 24 pb; tamanho do *amplicom* (pb): de 80 a 150; TM (temperatura de dissociação) do *primer* (°C): mínima de 58, ótima de 60 e máxima de 62; Temperatura de *melting* do produto (°C): mínima de 75, ótima de 85 e máxima de 95; conteúdo GC (%): variação de 45 a 55; CG *clamp*: 1. Demais parâmetros seguiram o padrão determinado pelo programa.

O resumo das etapas de trabalho adotadas no presente estudo encontra-se resumidas na figura 15.

Figura 15 - Resumo esquemático das metodologias empregadas no presente estudo.



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4 RESULTADOS

4.1 OS TRANSCRITOS E PROTEÍNAS DE *V. unguiculata* ASSOCIADOS ÀS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS

No total foram identificadas 630 sequências nucleotídicas de *V. unguiculata* e respectivas proteínas, distribuídas nas vias de sinalização por AUX, CK, GAs, ABA, JAs, ETH, SA, BRs e SLs (Tabela 1; Apêndice A).

Tabela 1 – Número de componentes e de transcritos com respectivas proteínas de *V. unguiculata* previstos para as vias de sinalização por Auxina (AUX), Citocinina (CK), Giberelina (GAs), Ácido abscísico (ABA), Jasmonato (JAs), Etileno (ETH), Ácido salicílico (SA), Brassinoesteróides (BRs) e estrigolactonas (SL). *Variação do número mínimo e máximo de transcritos com proteínas para um componente da via.

Via	Nº de componentes	Nº de sequências	Variação*
AUX	10	210	8-81
CK	6	50	3-17
GA	4	20	4-8
ABA	8	141	1-51
JÁ	5	20	2-9
ETH	8	47	1-13
AS	4	66	5- 37
BR	11	52	1-11
SL	4	24	1-16

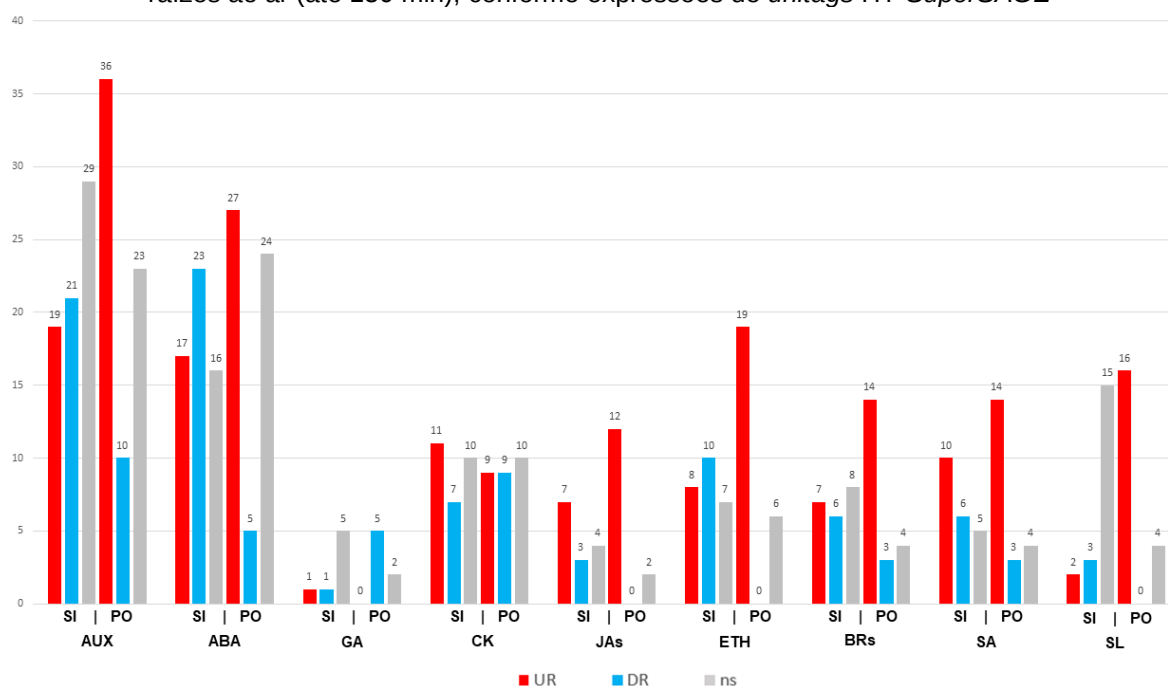
Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.2 A EXPRESSÃO *IN SILICO* DOS TRANSCRITOS DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS TENDO POR BASE AS UNITAGS HT-SUPERSAGE DE *V. unguiculata*

Das 149.305 *unitags* HT-SuperSAGE de *V. unguiculata* disponíveis, relacionadas ao estímulo de desidratação radicular, alinhamentos válidos (BLASTn, *e-value* < 0,005, máximo de um *mismatch* no alinhamento tag-EST, início 5' CATG íntegro e alinhamentos plus/plus com a CDS), contra 630 transcritos *V. unguiculata* previstos para as vias de transdução de sinal por fitormônios, identificaram 1.122 *unitags* alinhadas com 471 transcritos de referência.

As *unitags* de cada transcrito permitiram inferir a expressão *in silico* destes, sob as condições de estudo. Destes transcritos de *V. unguiculata* previstos nas vias de sinalização por fitormônios, e que ancoraram *unitags*, 260 foram declarados estatisticamente DE, após o estímulo aplicado. Transcritos induzidos (UR), reprimidos (DR) e de expressão não significativa (n.s), das respostas das cultivares para cada via de sinalização, são mostrados na figura 16. É notável a diferença em transcritos UR, DR e n.s. nas respostas das duas cultivares. A cultivar tolerante (Pingo de Ouro) expressou 146 transcritos UR, 35 DR e 78 n.s., referentes as nove vias analisadas. Já a cultivar sensível (Santo Inácio), expressou 81 UR, 80 DR e 99 n.s.

Figura 16 - Distribuição dos transcritos induzidos (UR, coluna vermelha), reprimidos (DR, em azul) e n.s ($p\text{-value} < 0,05$ e $FDR < 0,01$, em cinza) das vias de transdução de sinal por Auxina (AUX), Ácido Abscísico (ABA), Giberelina (GAs), Citocinina (CKs), Jasmonato (JAs), Etileno (ETH), Brassinoesteróide (BRs), Ácido Salicílico (SA) e Estrigolactonas (SLs), das respostas das cultivares tolerante (PO: Pingo de ouro) e sensível (SI: Santo Inácio) de *V. unguiculata* após exposição das raízes ao ar (até 150 min), conforme expressões de *unitags* HT-SuperSAGE

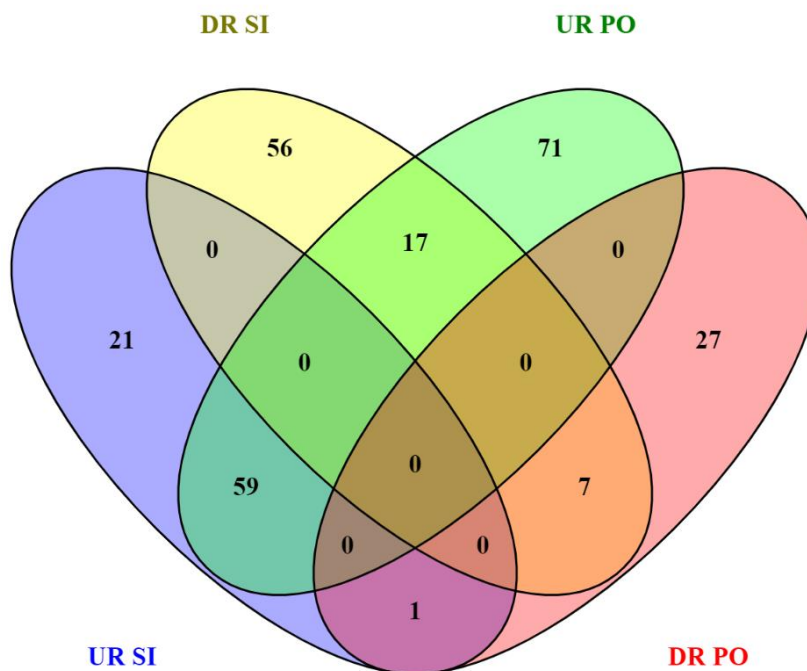


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

Transcritos exclusivos de cada cultivar ou compartilhados, de mesma regulação ou divergentes, entre as cultivares sensível e tolerante de *V. unguiculata*, também foram identificados (Figura 17). Assim, na resposta sensível, 21 e 56 transcritos foram exclusivamente induzidos e reprimidos. Na resposta tolerante, esses valores foram 71 e 27 transcritos, respectivamente. Além disso, 17 transcritos apresentaram regulações divergentes, sendo induzidos na resposta tolerante e

reprimidos na resposta sensível. De modo análogo, 1 transcrito foi reprimido na resposta tolerante e induzido na resposta sensível. De modo geral, ao comparar os dois perfis de expressão, nota-se um maior potencial de indução da expressão de genes na resposta tolerante do feijão-caupi do que na resposta sensível.

Figura 17 - Transcritos das vias de sinalização por fitormônios: UR (induzidos) e DR (reprimidos) nas cultivares tolerante (PO: Pingo de Ouro) e sensível (SI: Santo Inácio) de *V. unguiculata*, em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min).



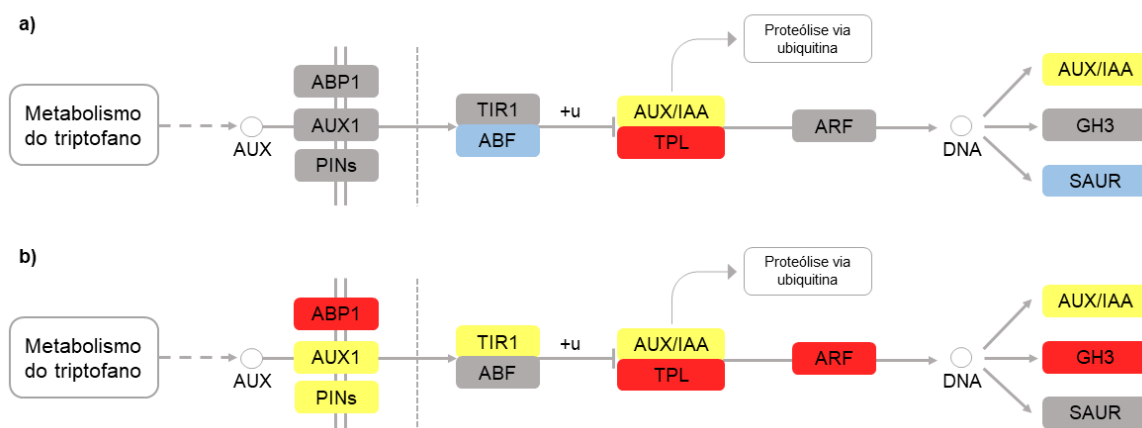
Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3 O PERFIL TRANSCRICIONAL DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITORMÔNIOS EM CULTIVARES DE *V. unguiculata* APÓS RAÍZES SEREM EXPOSTAS AO AR

4.3.1 Auxina

A regulação transcricional da via de sinalização por AUX em respostas das duas cultivares de feijão-caupi após exposição das raízes ao ar (de até 150 min) é mostrada na figura 18. As principais respostas transcricionais divergentes entre as duas cultivares estiveram relacionadas com os componentes ABP1, PINs, AFBs, SAUR e ARFs.

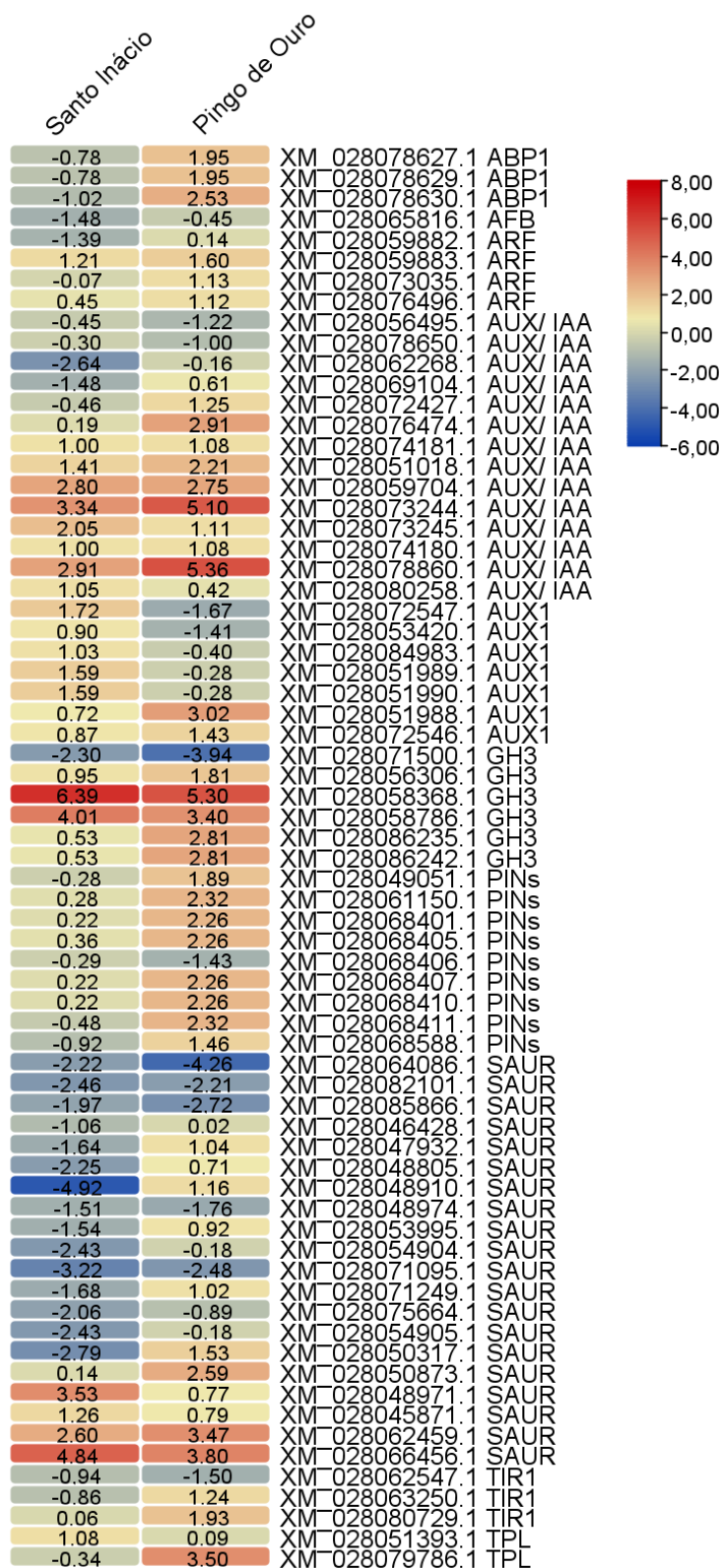
Figura 18 - Via de transdução de sinal por Auxina em resposta ao estímulo de desidratação radicular (em até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos majoritariamente de expressão induzida; em azul, componentes com transcritos com expressão reprimida; em amarelo, componentes com transcritos com expressão induzida ou reprimida; e em cinza, componentes com transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por AUX encontra-se representada na figura 19; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice B. Dos 210 transcritos de *V. unguiculata* previstos para a via de transdução de sinal por AUX, 69 transcritos foram declarados DE após exposição ao estímulo de desidratação radicular. Na resposta sensível, os totais de transcritos UR, DR e n.s. foram 19, 21 e 29 respectivamente. Na resposta tolerante, estes foram 36, 10 e 23 respectivamente. Ao comparar as duas respostas, observa-se que há uma tendência maior a indução na resposta tolerante (PO), do que na resposta sensível (SI).

Figura 19 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por AUX. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão

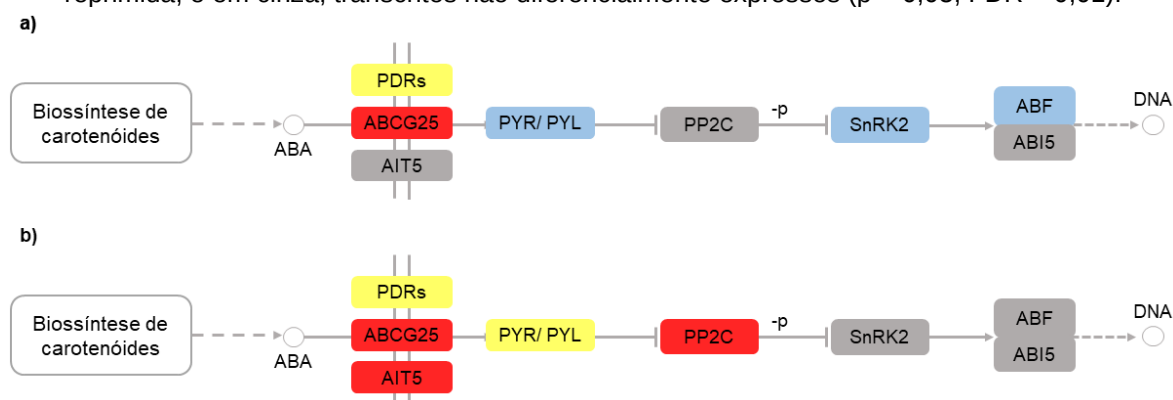


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.2 Ácido abscísico

A regulação transcricional dos genes da via de transdução de sinal por ABA, nas respostas das duas cultivares de feijão-caupi após o estímulo, é mostrada na Figura 20. Divergências na regulação da expressão dos transcritos relacionados aos componentes AIT5, PYR/PYL, PP2C, SnRK2 e ABF foram observadas ao comparar as duas respostas.

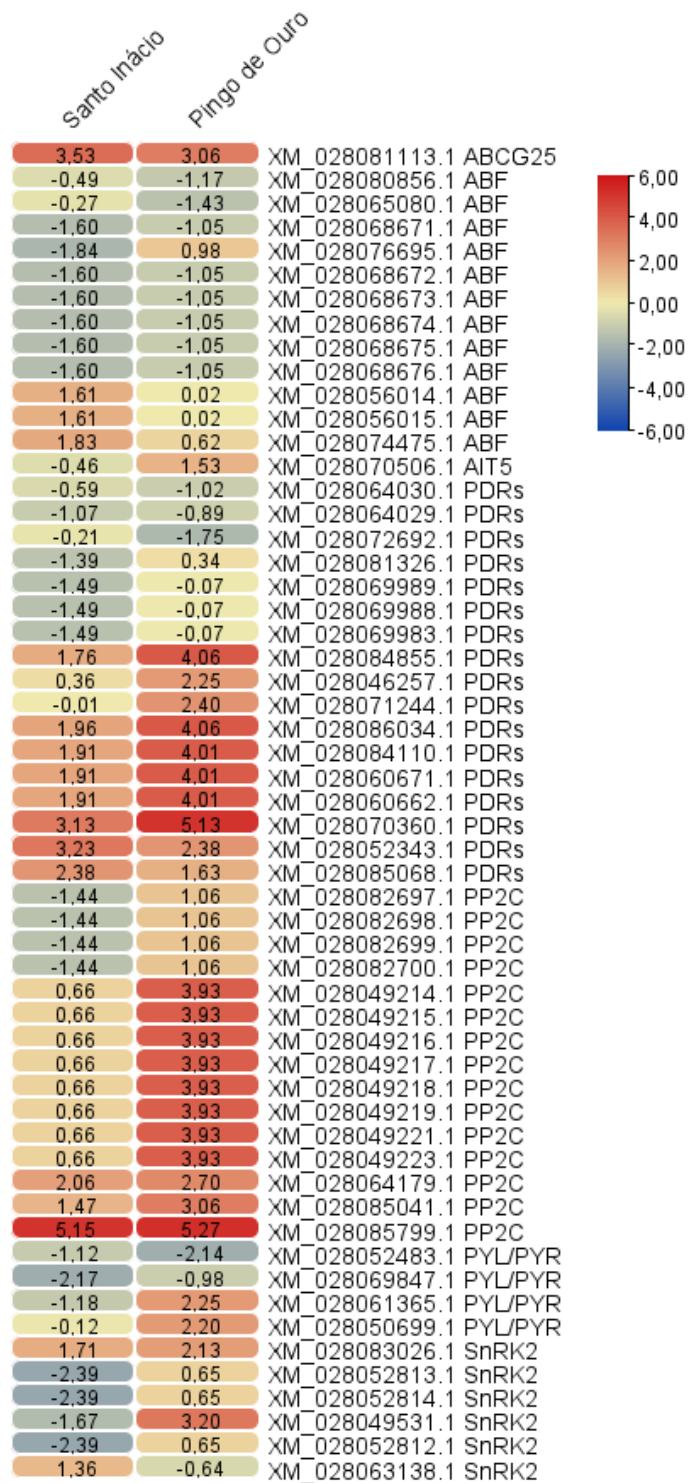
Figura 20 - Via de transdução de sinal por Ácido Abscísico (ABA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) das cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos majoritariamente de expressão induzida; em azul, transcritos com expressão reprimida; em amarelo, transcritos com expressão induzida ou reprimida; e em cinza, transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por ABA encontra-se representada na figura 21, e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice C. Na via de sinalização por ABA, dos 138 transcritos previstos, 56 foram declarados DE nas respostas das cultivares de feijão-caupi após o estímulo; e, dos oito componentes previstos, apenas ABI5 não apresentou transcrito DE em ambas respostas. Na resposta sensível, os transcritos UR, DR e n.s. foram 17, 32 e 16, respectivamente. Na resposta tolerante foram 27, 5 e 24, respectivamente. Ao comparar as duas respostas, uma maior tendência de indução é observada na resposta tolerante em relação a resposta sensível.

Figura 21 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por ABA. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.

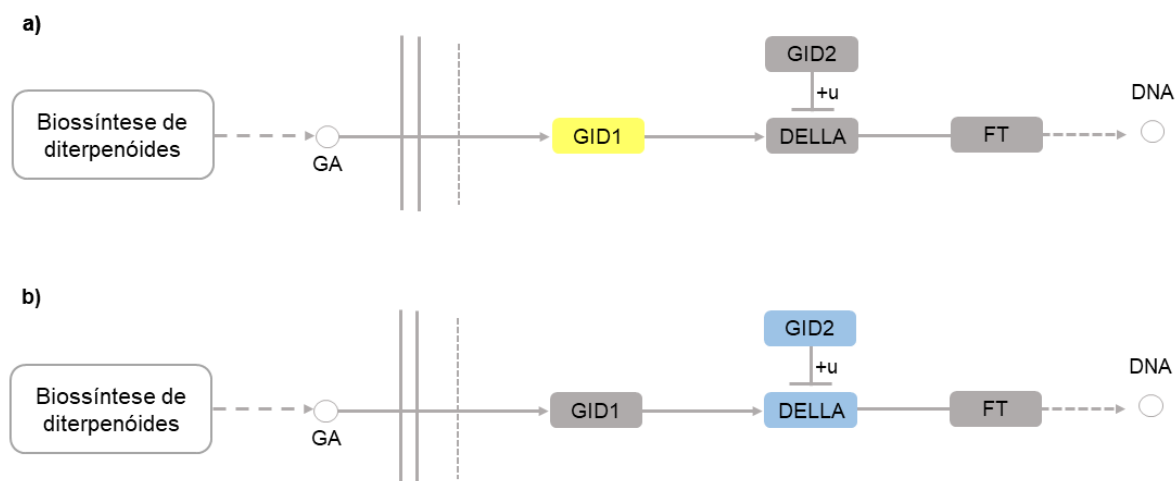


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.3 Giberelina

A regulação transcricional de genes da via de sinalização por GA, nas respostas das duas cultivares de feijão-caupi após o estímulo aplicado, encontra-se na Figura 22. Nota-se que três dos quatro componentes previstos para a via de sinalização por GA apresentaram transcritos DE, os quais foram majoritariamente reprimidos na resposta tolerante.

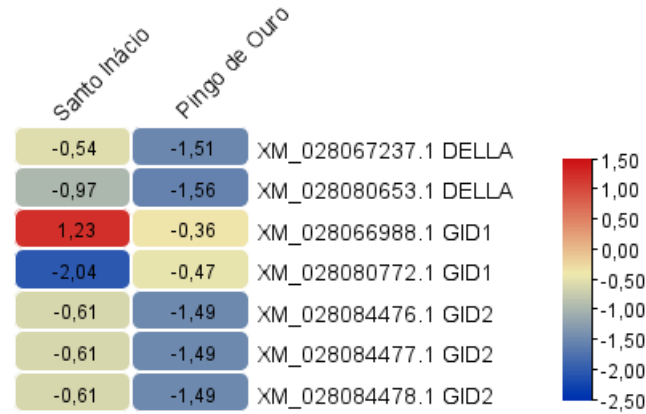
Figura 22 - Via de transdução de sinal por Giberelina (GA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) das cultivares sensível (a) e tolerante (b) de. Destacados em azul os componentes com transcritos de expressão majoritariamente reprimida; em amarelo, transcritos com expressão induzida ou reprimida; e em cinza, transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por GA encontra-se representada na figura 23, e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice D. Dos 20 transcritos previstos na via de sinalização por CK, 7 foram declarados DE após o estímulo aplicado. Na resposta sensível, os totais de transcritos UR, DR e n.s. foram 1, 1 e 5 respectivamente. Na resposta tolerante, estes foram 0, 5 e 2 respectivamente.

Figura 23 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por GA. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.

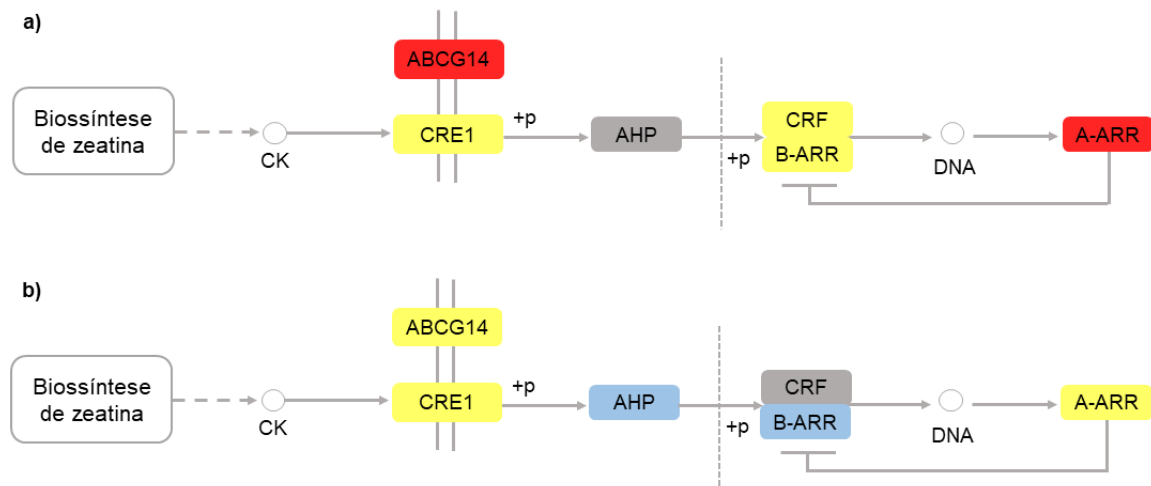


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.4 Citocinina

A regulação da expressão de genes da via de transdução de sinal por CK, em respostas ao estímulo de desidratação radicular, das cultivares sensível e tolerante de feijão-caupi, é mostrada na Figura 24. Ao comparar as duas respostas, observa-se que as regulações transcricionais foram bastante divergentes.

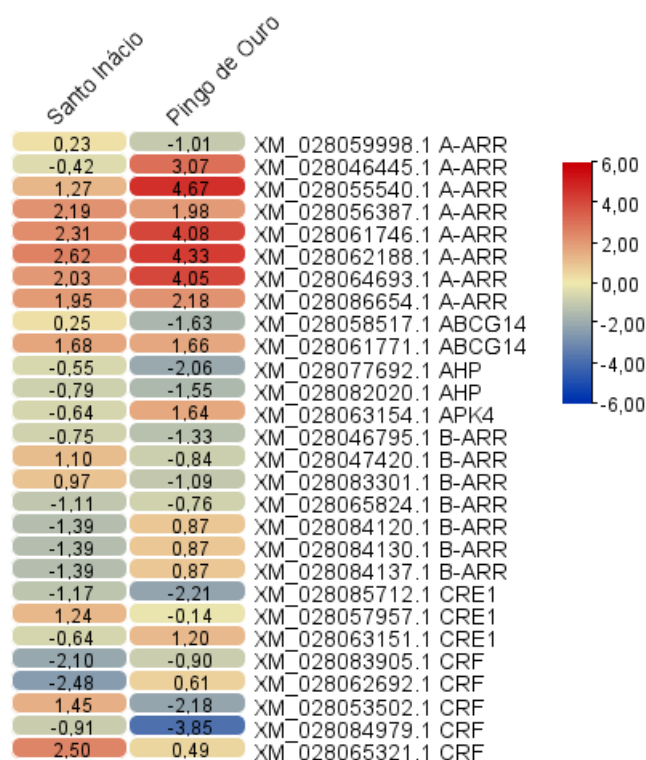
Figura 24 - Via de transdução de sinal por Citocinina (CK) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos majoritariamente de expressão induzida; em azul, transcritos com expressão reprimida; em amarelo, transcritos com expressão induzida ou reprimida; em cinza, transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por CK encontra-se representada na figura 25; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice E. Dos 50 transcritos previstos na via de sinalização por CK, 28 foram declarados DE após o estímulo aplicado. Na resposta sensível, os totais de transcritos UR, DR e n.s. foram 11, 7 e 10 respectivamente. Na resposta tolerante, estes foram 9, 9, e 10 respectivamente. Todos os componentes da via apresentaram transcritos DE, sendo o número de transcritos induzidos e reprimidos similares nas duas respostas.

Figura 25 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por CK. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.



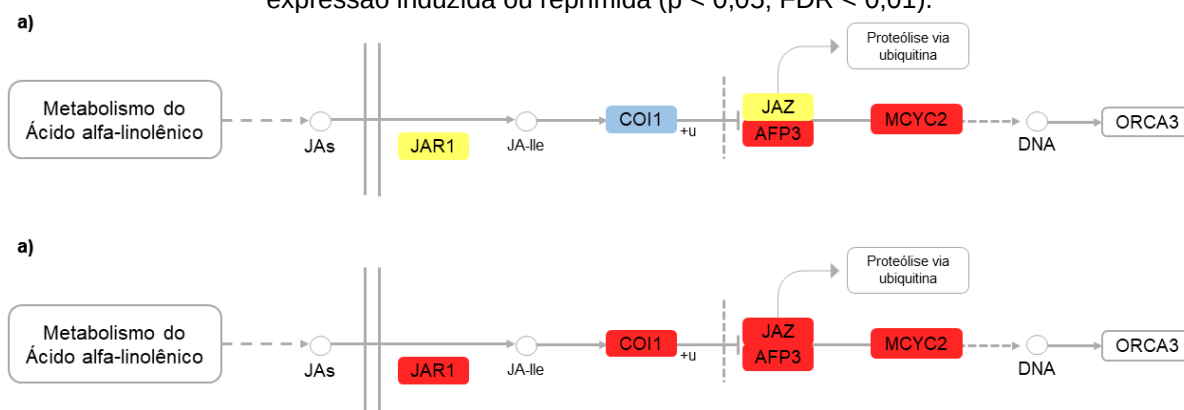
Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.5 Jasmonato

A regulação transcricional dos genes da via de sinalização por JAs, nas respostas das cultivares de feijão-caupi após o estímulo, é mostrada na Figura 26. Todos os componentes previstos na via apresentaram transcritos DE após o estímulo

aplicado. Uma ausência de transcritos reprimidos na resposta tolerante foi observada, e a principal divergência na comparação das respostas transcricionais das duas cultivares envolveu transcritos JAR1, COI1 e JAZ induzidos na resposta tolerante e reprimidos na resposta sensível.

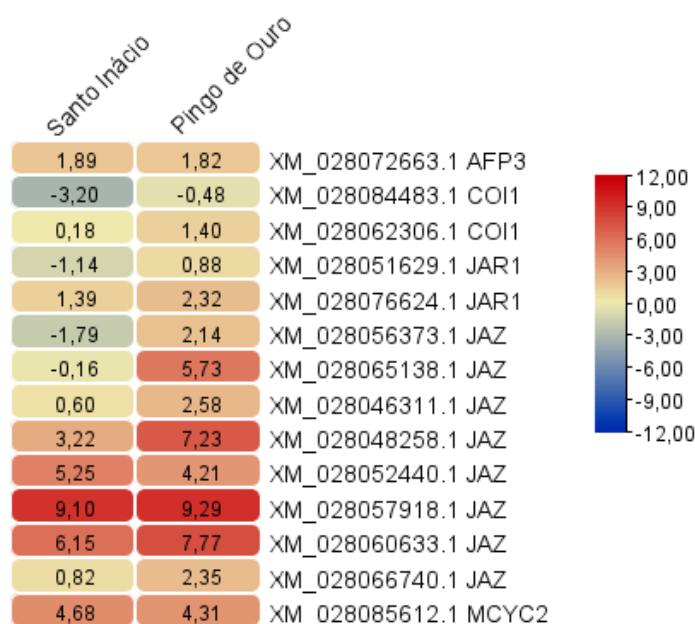
Figura 26 - Via de transdução de sinal por Jasmonato (JA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos de expressão majoritariamente induzida; em azul os componentes com transcritos de expressão majoritariamente reprimida; em amarelo, transcritos com expressão induzida ou reprimida ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por JAs encontra-se representada na figura 27; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice F. Dos 20 transcritos previstos na via de sinalização por JAs, 14 foram declarados DE após o estímulo aplicado. Na resposta sensível, os totais de transcritos UR, DR e n.s. foram 7, 3 e 4 respectivamente. Na resposta tolerante, estes foram 12, 0 e 2 respectivamente.

Figura 27 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por JAs. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.

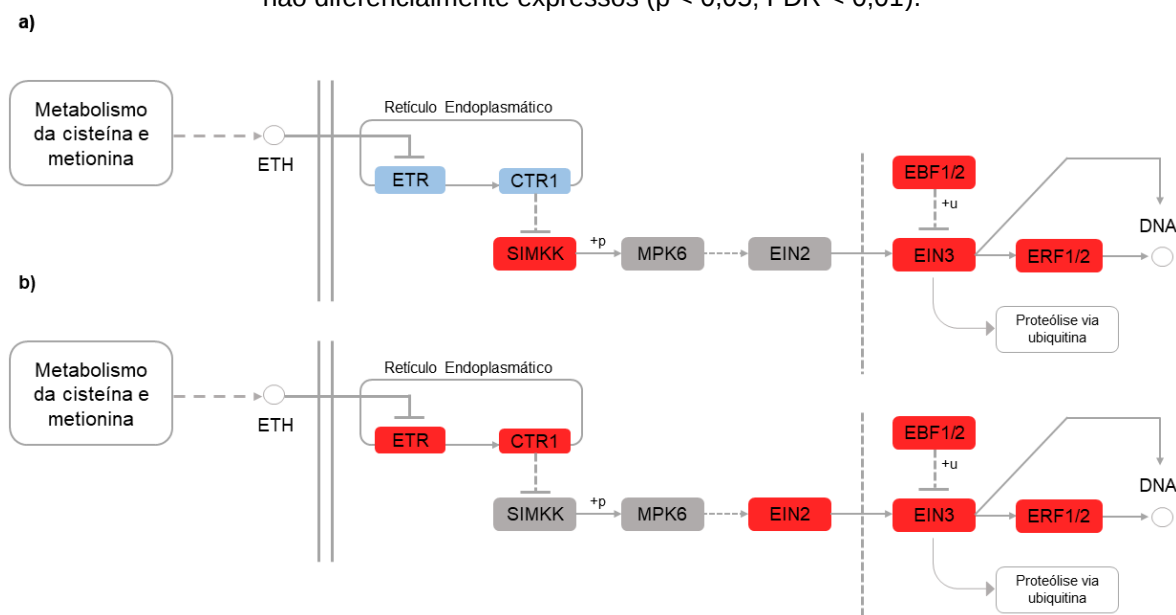


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.6 Etileno

A regulação transcricional dos genes da via de transdução de sinal por ETH em resposta ao estímulo aplicado, nas respostas das cultivares sensível e tolerante de feijão-caupi, é mostrada na Figura 28. Ao comparar as duas respostas, nota-se que as principais divergências transcricionais envolveram os componentes ETR, CTR1, SIMKK e EIN2.

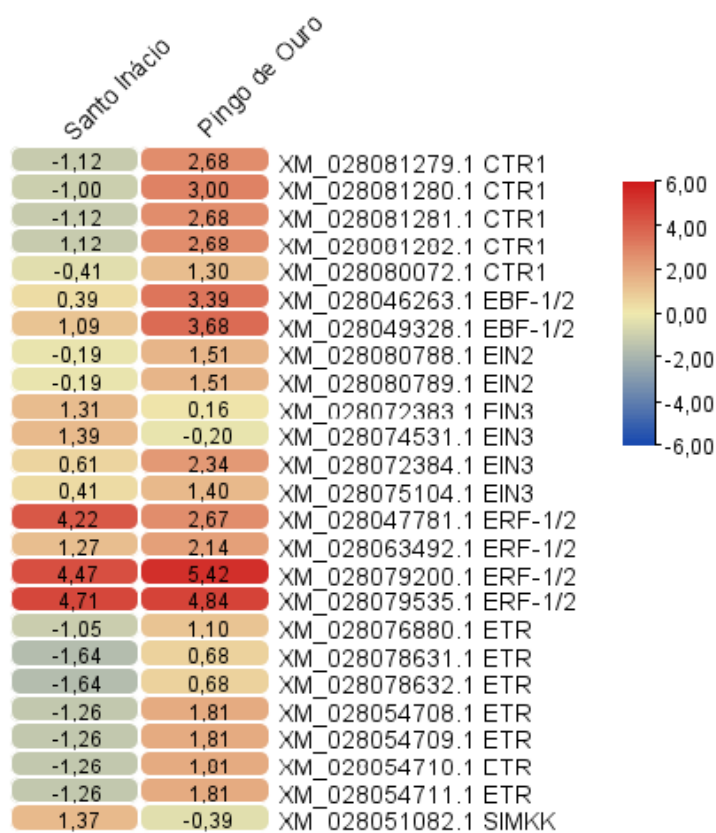
Figura 28 - Via de transdução de sinal por Etileno (ETH) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos majoritariamente de expressão induzida; em azul, os componentes com transcritos com expressão reprimida, e em cinza, os componentes com transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por ETH encontra-se representada na figura 29; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice G. Dos 47 transcritos de *V. unguiculata* previstos na via de sinalização por ETH, 25 foram declarados DE nas respostas das cultivares de feijão-caupi após o estímulo. Na resposta sensível os transcritos com expressão UR, DR e n.s. foram 8, 10 e 7, respectivamente. Na resposta tolerante foram 19, 0 e 6, respectivamente. Aparentemente, a resposta tolerante parece induzir mais e reprimir menos, em relação a resposta sensível.

Figura 29 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por ETH. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.

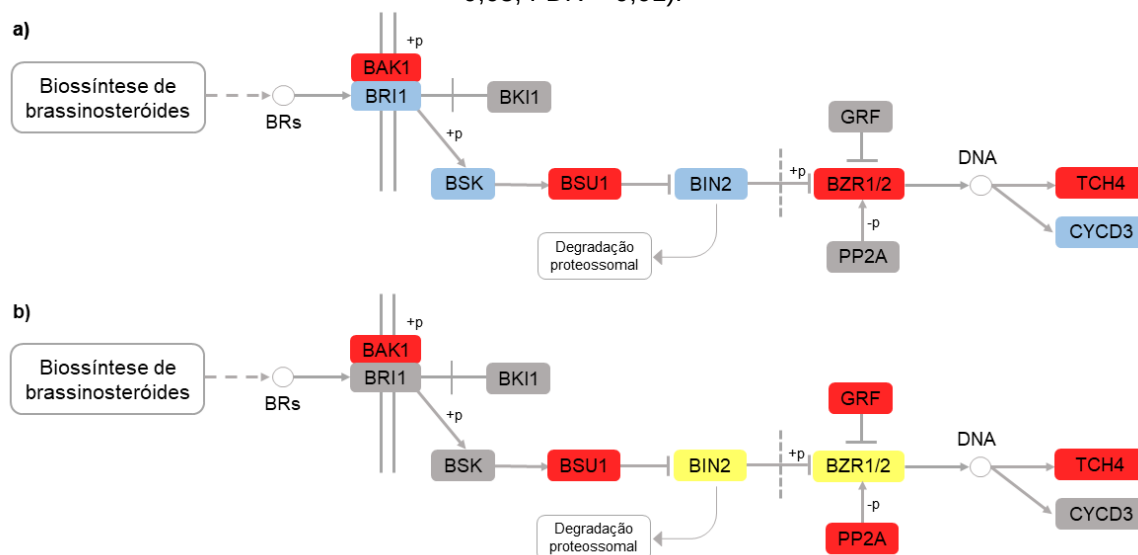


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.7 Brassinosteróides

A regulação transcricional dos genes da via de transdução de sinal por BRs em resposta ao estímulo aplicado, nas respostas das cultivares sensível e tolerante de feijão-caupi, é mostrada na Figura 30. As respostas transcricionais das cultivares mostraram divergência na regulação da maioria dos componentes da via.

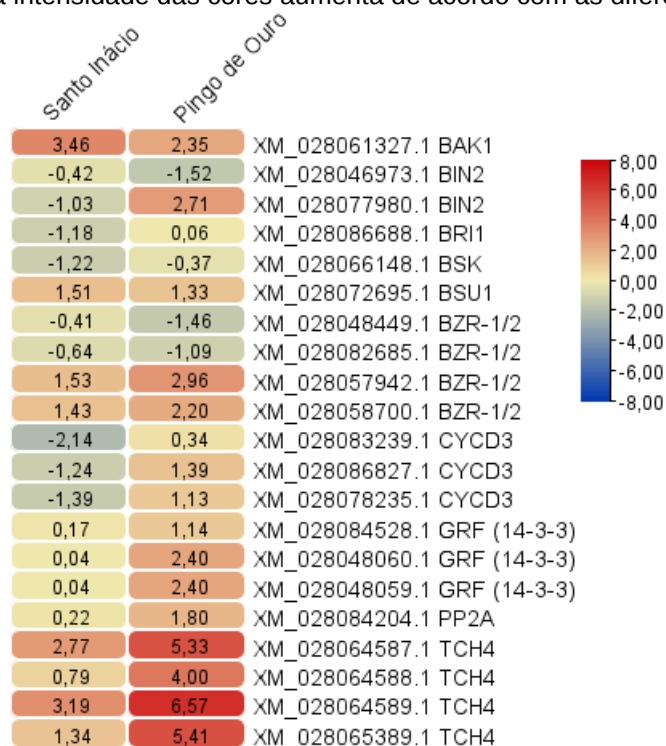
Figura 30 - Via de transdução de sinal por Brassinosteróides (BR) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos de expressão induzida; em azul, os componentes com transcritos com expressão reprimida; em amarelo, os componentes com transcritos com expressão induzida ou reprimida, e em cinza, transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por BRs encontra-se representada na figura 31; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice H. Na via, 10 dos 11 componentes previstos apresentaram transcritos DE após exposição ao estímulo. Dos 52 transcritos de *V. unguiculata* previstos para a via de transdução de sinal por BRs, 21 transcritos foram declarados DE após exposição ao estímulo de desidratação radicular. Na resposta sensível, os totais de transcritos UR, DR e n.s. foram 7, 6 e 8, respectivamente. Na resposta tolerante, estes foram 14, 3 e 4, respectivamente. Ao comparar as cultivares nota-se uma maior tendência a indução da via na resposta tolerante do que na resposta sensível.

Figura 31 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por BRs. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.

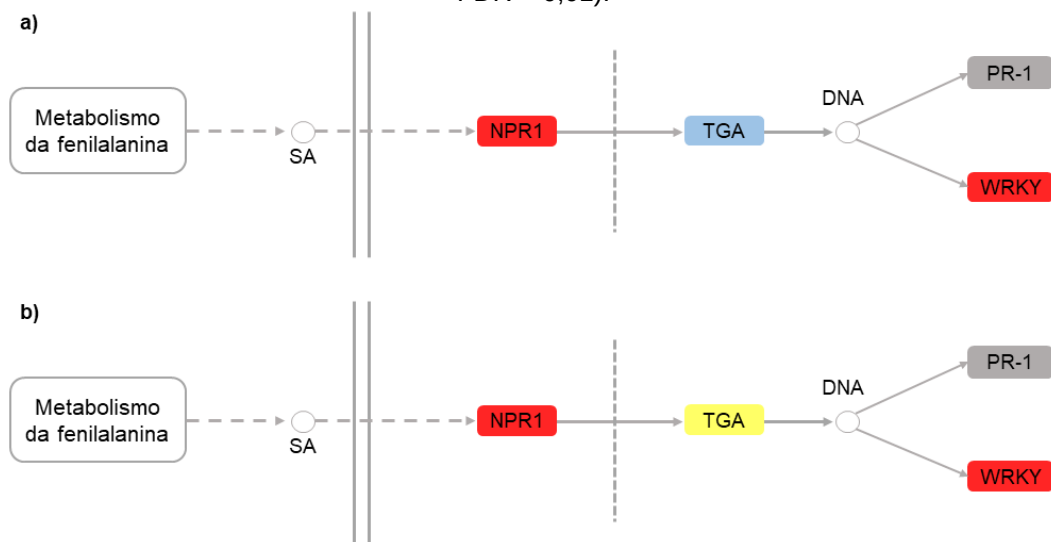


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.8 Ácido Salicílico

A regulação da expressão dos genes da via de sinalização por SA, nas respostas das duas cultivares de feijão-caupi após o estímulo, é mostrada na Figura 32. Todos os componentes previstos na via apresentaram transcritos DE após o estímulo aplicado, e as respostas das cultivares sensível e tolerante mostraram haver divergências transcricionais.

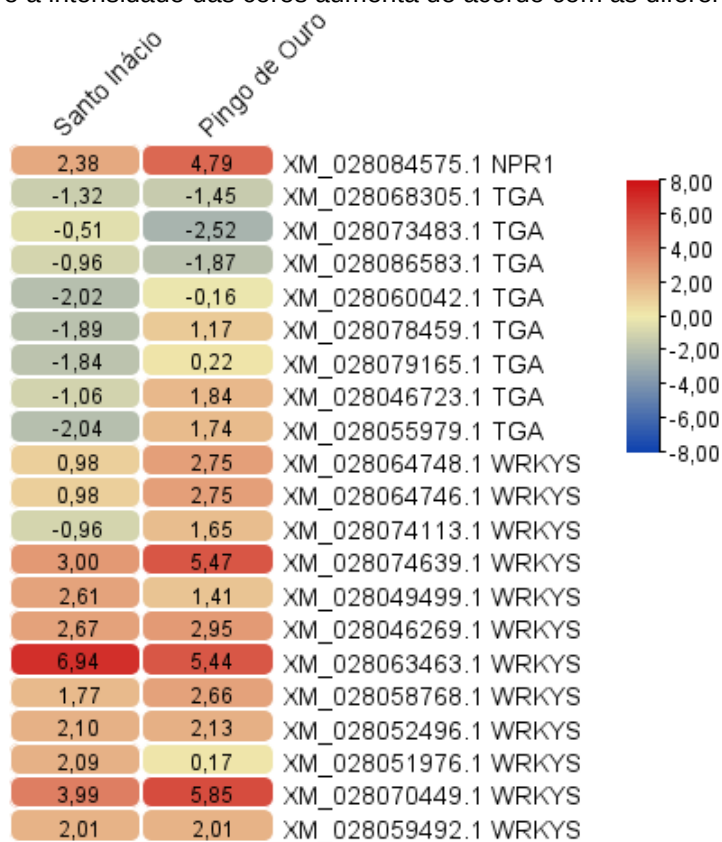
Figura 32 - Via de transdução de sinal por Ácido Salicílico (SA) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos de expressão induzida; em azul, os componentes com transcritos de expressão reprimida; em amarelo, os componentes com transcritos de expressão induzida ou reprimida, e em cinza, transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por SA encontra-se representada na figura 33; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice I. Dos 66 transcritos de *V. unguiculata* previstos na via de sinalização por SA, 21 foram declarados DE nas respostas das cultivares de feijão-caupi após o estímulo. Na resposta sensível os transcritos com expressão UR, DR e n.s. foram 10, 6 e 5, respectivamente. Já na resposta tolerante esses valores foram 14, 3, 4, respectivamente.

Figura 33 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por SA. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.



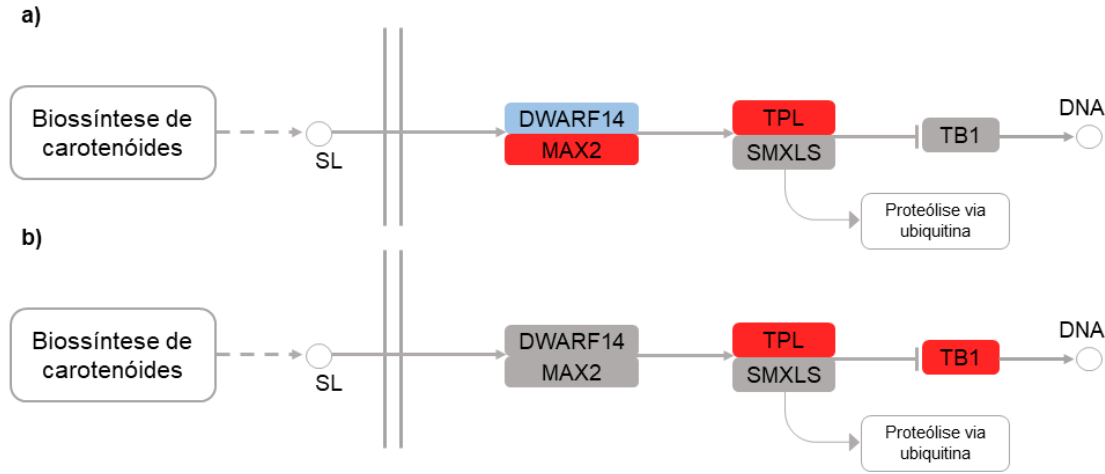
Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.3.9 Estrigolactonas

A via de sinalização por SL, recriada com base na expressão *in silico* de seus transcritos, das respostas das duas cultivares de feijão-caupi após a exposição ao estímulo, é mostrada na Figura 34. Na comparação das respostas, percebeu-se divergências na regulação da maioria dos componentes da via.

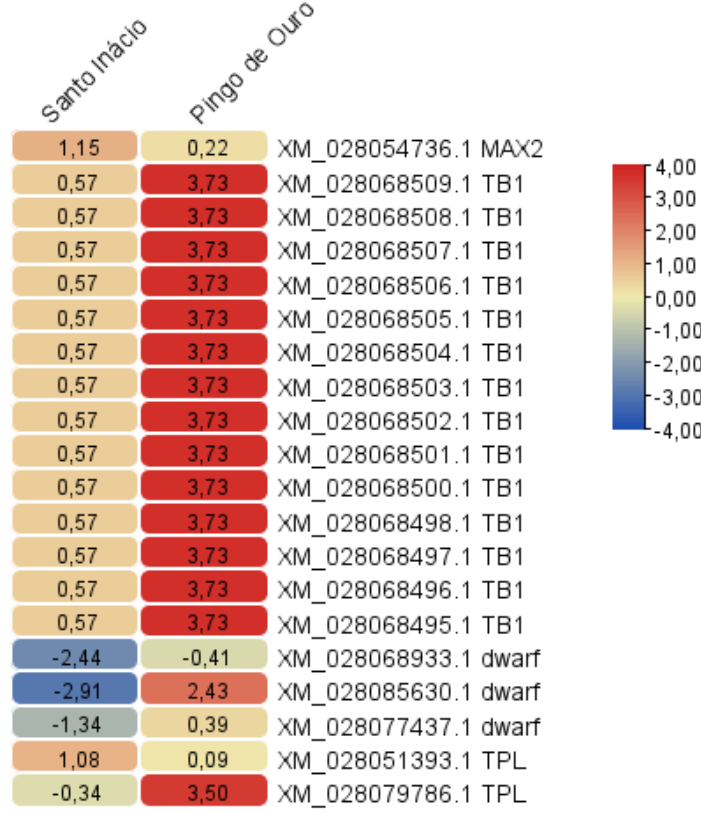
A modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por SL encontra-se representada na figura 35; e os dados de regulação e valores de FC de cada transcrito, das respostas tolerante e sensível, encontram-se disponíveis no apêndice J. Dos 24 transcritos previstos, 20 foram declarados DE após o estímulo. Na resposta sensível, os totais de transcritos UR, DR e n.s. foram 2, 3 e 15, respectivamente. Na resposta tolerante, estes foram 16, 0 e 4, respectivamente.

Figura 34 - Via de transdução de sinal por estrigolactonas (SL) em resposta ao estímulo de desidratação radicular (de até 150 min) nas cultivares sensível (a) e tolerante (b) de *V. unguiculata*. Destacados em vermelho os componentes com transcritos de expressão induzida; em azul, os componentes com transcritos de expressão reprimida; e em cinza, os componentes com transcritos não diferencialmente expressos ($p < 0,05$; FDR $< 0,01$).



Fonte: A autora (2021).

Figura 35 - Modulação da expressão dos componentes da via de sinalização por SL. Na figura, os transcritos induzidos e reprimidos encontram-se representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente, e a intensidade das cores aumenta de acordo com as diferenças de expressão.

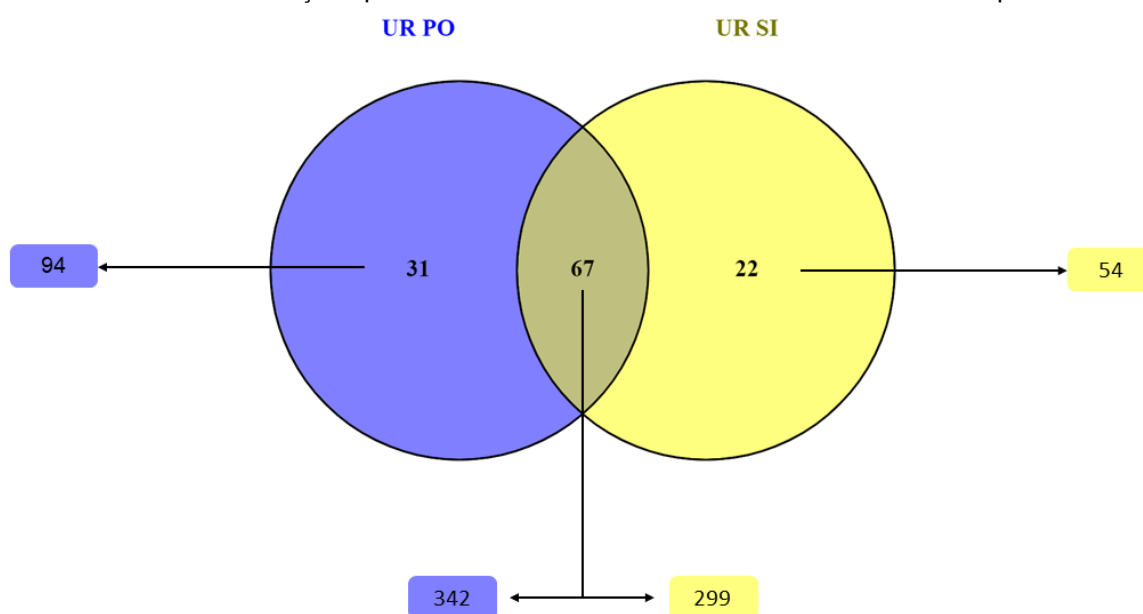


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.4 OS FTS ENRIQUECIDOS ASSOCIADOS AOS TRANSCRITOS UR EXPRESSOS NAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITORMÔNIOS

Os transcritos induzidos na resposta da cultivar PO e da SI foram avaliados, em separado, quanto aos potenciais FTs que interagiriam com os promotores dos genes codificadores daqueles transcritos, sendo aqueles enriquecidos os mais representados nas interações com aqueles alvos. Da resposta de PO foram previstos 712 FTs e 1.299 regulações, sendo 98 os enriquecidos (436 regulações). Já na resposta de SI foram 596 FTs e 904 regulações, sendo 89 os enriquecidos (353 regulações). Comparando os FTs enriquecidos, 67 FTs foram observados nas duas respostas, outros 31 foram exclusivos da resposta PO, e outros 22 da resposta SI (Figura 36).

Figura 36 - Número de fatores de transcrição previstos na regulação de transcritos de feijão-caupi induzidos (UR, *up-regulated*) nas vias de sinalização por fitormônios, após um estímulo de desidratação radicular. A resposta da cultivar tolerante Pingo de Ouro (PO) está em destaque em azul, e a resposta da cultivar sensível Santo Inácio (SI), em amarelo. Números nos retângulos indicam as interações preditas entre os FTs e os transcritos UR de cada resposta.

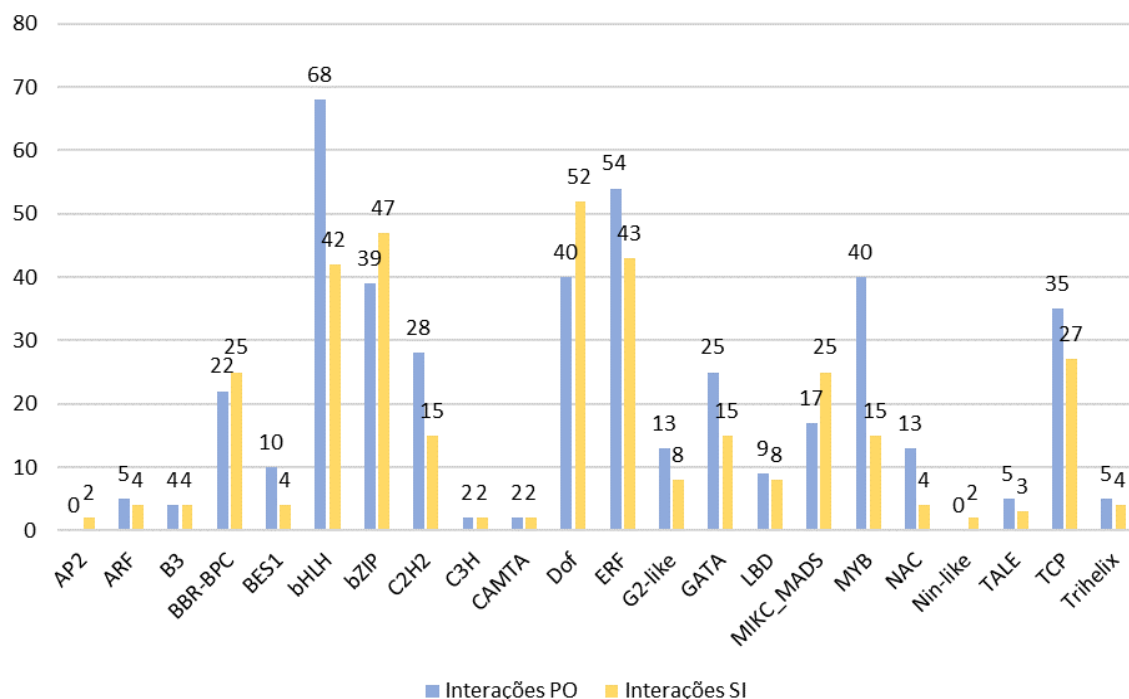


Fonte: Valquíria da Silva (2021).

Os FTs preditos nas duas respostas cobriram 22 famílias (figura 37). Na resposta de PO, os FTs com mais regulações foram das famílias BBR-BPC, MIKC_MADS, C2H2, bHLH e ERF. Na resposta de SI, aqueles com mais regulações

foram das famílias BBR-BPC, MIKC_MADS, Dof, bHLH e ERF. FTs das famílias Nin-LIKE e AP2 interagiram apenas com transcritos UR da resposta SI.

Figura 37 - Famílias de FTs e quantidades de interações preditas com transcritos UR das respostas tolerante (da cultivar Pingo de Ouro; amarelo) e sensível (Santo Inácio; azul) após desidratação de raízes.



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

Na resposta de PO, vários FTs interagiram com transcritos de diferentes vias de sinalização por fitormônios. Por exemplo, os FTs Vang01g18260, Vang0537s00150, Vang0070s00260 (bHLH) e Vang05g02710 (BBR-BPC) regulariam transcritos de 4 vias de sinalização por fitormônios. Já na resposta SI, os FTs Vang04g06720 (MIKC_MADS) e Vang05g02710 (BBR-BPC) regulariam genes de diferentes vias de sinalização por fitormônios.

4.5 A REDE PPI ASSOCIADA AOS TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS DE CADA CULTIVAR, EM RESPOSTA AO ESTÍMULO APLICADO

Com base nos transcritos UR da resposta tolerante e da sensível foram preditas as redes de interações proteína-proteína (PPI), tendo como modelo *A. thaliana*. Nessas redes, as proteínas são representadas por nós, e as relações de interação,

por arestas, cujas cores representam evidências utilizadas nas previsões das associações. A cor vermelha é indicativa de fusão gênica; verde, de genes vizinhos; azul, de co-ocorrência; roxa, de resultados experimentais; amarela, de mineração de texto; azul, de evidências de banco de dados, e preta, de coexpressão.

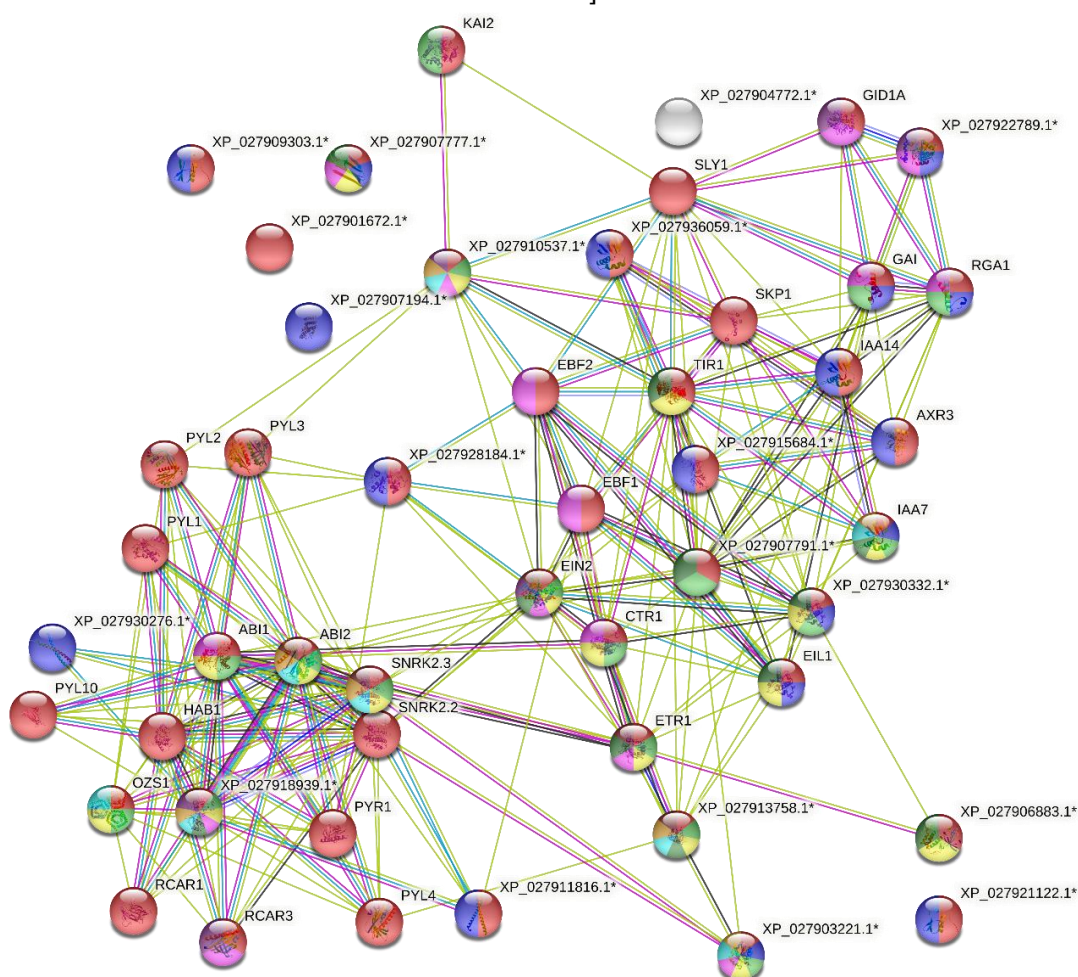
O interatoma dos transcritos UR exclusivos da resposta sensível de SI é dado na figura 38, cuja lista das proteínas presentes na rede PPI é dada no apêndice K. Os 21 transcritos UR após o estímulo de desidratação radicular de SI foram associados a 19 ortólogos de *A. thaliana*. A rede PPI apresentou 218 interações envolvendo 49 proteínas, sendo 8,9 o valor associado ao grau médio de nós, e 0,527 o valor médio do coeficiente de agrupamento local. Os dados PPI mostraram que muitas proteínas relacionadas aos transcritos UR das vias de sinalização por fitormônios apresentaram um número de parceiros de interação na rede igual ou superior a 5. Os ortólogos de *A. thaliana* associados as proteínas XP_027907791.1 (AUX1), XP_027918939.1 (SnRK2), XP_027930332.1 (EIN3) e XP_027913758.1 (CRE1) do feijão-caupi apresentaram 19, 16, 13 e 10 parceiros de interação, respectivamente, ao passo que somente 6 proteínas não apresentaram parceiros de interação.

A rede PPI permitiu, ainda, predizer pontos de associações entre componentes de diferentes vias de sinalização por fitormônios. Na via de sinalização por AUX foram previstas associações com as vias de ETH, CK e ABA, através dos componentes AUX1 (XP_027918939.1) e ARF1 (XP_027915684.1). A via de sinalização por ETH interagiria com as vias de sinalização por CK e ABA, através dos componentes EIN3 (XP_027303332.1 e XP_027928184.1). Já a via de sinalização por SL, se conectaria com as vias de sinalização por AUX, ABA e ETH, pela ação do componente MAX2 (XP_027910537.1). Por sua vez, a via de sinalização por GA interagiria com AUX através do componente GID1 (XP_027922789.1), e CK se conectaria com a via de sinalização por ABA através de CRE1 (XP_027913758.1).

A análise de enriquecimento funcional GO conduzida em paralelo identificou termos GO enriquecidos para categorias de processo biológico (PB), função molecular (FM) e componente celular (CC). Relativo a categorias PB, 179 termos GO foram declarados enriquecidos, sendo a maioria dos componentes da rede PPI envolvidos com o processo celular (GO: 0009987), a regulação do processo celular (GO: 0050794), e a resposta ao estímulo (GO: 0050896). Os termos GO de destaques relacionados com respostas a estresses foram GO: 0006950 (resposta ao estresse), GO: 0009605 (resposta ao estímulo externo) e GO: 0009628 (resposta ao estímulo

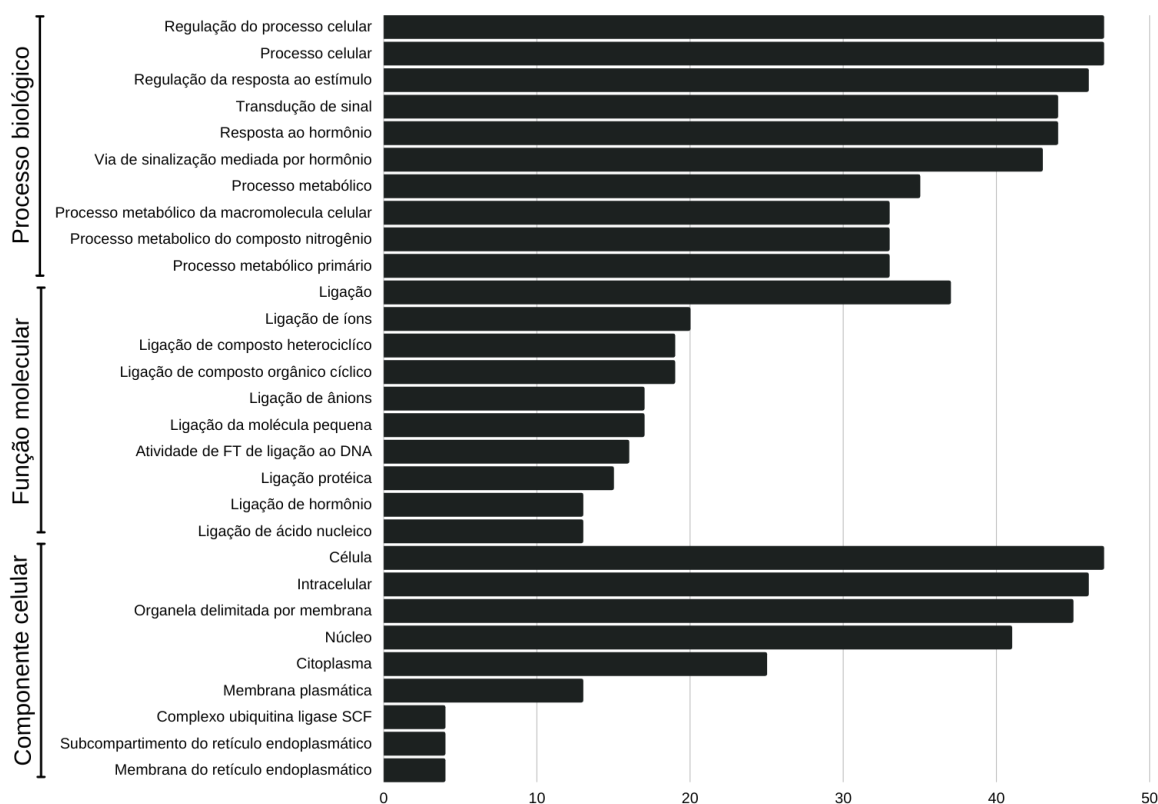
abiótico) e caracterizaram proteínas representadas na rede PPI (figura 38). Relativo a FM, foram identificados 32 termos GO enriquecidos, sendo a atividade de ligação (GO: 0005488) a principal função atribuída aos componentes da rede PPI. Nas categorias CC foram identificados 9 termos GO enriquecidos. Os principais termos GO das três categorias (PB, FM e CC), associados aos componentes da rede PPI prevista na resposta sensível SI, são apresentados na figura 39.

Figura 38 - Rede de interação proteína-proteína prevista para *A. thaliana*, com base nos transcritos exclusivamente induzidos (UR) na resposta da cultivar sensível Santo Inácio, após estímulo de desidratação radicular. Na rede, as proteínas relacionadas aos transcritos UR estão indicadas por asterisco (*). Os nós (bolas) representam as proteínas, e as cores das arestas, os tipos de interações. As cores das bolas (nós) representam termos GO para processo biológico relacionados com resposta a estresses [vermelho: resposta ao estímulo; azul escuro: regulação da expressão gênica; verde claro: resposta ao estímulo abiótico; amarelo: resposta ao estresse; lilás, regulação da resposta ao estímulo; verde escuro: resposta ao estímulo externo; azul claro resposta à água; laranja: resposta a privação de água; roxo: regulação positiva da resposta ao estímulo; marrom: resposta ao estresse osmótico].



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

Figura 39 - Termos de ontologia gênica relativos a processo biológico, função molecular e componente celular super-representados na resposta exclusiva da cultivar sensível de feijão-caupi (Santo Inácio) ao estímulo de desidratação radicular.



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

O interatoma dos transcritos UR observados exclusivamente na resposta tolerante PO também foi representado por rede PPI (Figura 40), sendo a lista de proteínas dada no apêndice L. Os 88 transcritos UR exclusivos da resposta tolerante PO, associados a 44 ortólogos de *A. thaliana*, gerou uma rede PPI composta por 74 nós e 315 arestas, com valores para o grau médio dos nós e para o coeficiente de agrupamento local médio da rede de 8,51 e 0,559, respectivamente. Os dados indicaram que as proteínas de *A. thaliana* ortólogas as proteínas XP_027928347.1 (AUX1), XP_027936530.1 (TIR1) e XP_027930905.1 (EIN3) do feijão-caupi estariam conectadas na rede com 23, 22 e 17 parceiros de interação, respectivamente, enquanto que somente 5 proteínas não apresentariam na rede parceiros de interação.

Também a partir da rede PPI da resposta exclusiva tolerante foram previstas interações entre as diferentes vias de sinalização por fitormônios. A via de sinalização por AUX se conectou com as vias de sinalização por CK, BRs, ABA, ETH, SA, JAs e BRs, através dos componentes PIN1 (XP_027924389.1), AUX1 (XP_027928347.1) e TIR1 (XP_027936530.1). Associações entre ABA e as vias de sinalização por JAs, CK

e ETH foram previstas através da ação dos componentes SnRK2 (XP_027905332.1), PYL4 (XP_027906500.1) e PYR1 (XP_027917166.1). A via de sinalização por ETH foi conectada com as vias de sinalização por JAs e CK, através dos componentes EIN3 (XP_027930905.1 e XP_027928185.1), EIN2 (XP_027936590.1) e CTR1 (XP_027935873.1). Já as interações envolvendo JAs e SA foram previstas por intermédio de COI1 (XP_027918107.1).

Por sua vez, a análise GO para as categorias PB identificou 247 termos enriquecidos, dentre os quais, aqueles relacionados ao processo celular (GO: 0009987), regulação biológica (GO: 0065007) e regulação do processo biológico (GO: 0050789), foram associados a maior parte das proteínas da rede PPI. Também na resposta exclusiva tolerante PO, termos PB relacionados com respostas a estresses foram associados a maior parte das proteínas da rede PPI (Figura 38). Para as categorias FM, foram identificados 47 termos enriquecidos, sendo a atividade de ligação (GO: 0005488) a principal função relacionada as proteínas da rede. No caso da categoria CC, 21 termos enriquecidos foram identificados. Os principais termos GO associados às três principais categorias (PB, FM e CC), e com os componentes da rede PPI previstos na resposta tolerante de PO são apresentados na figura 41.

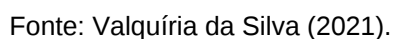
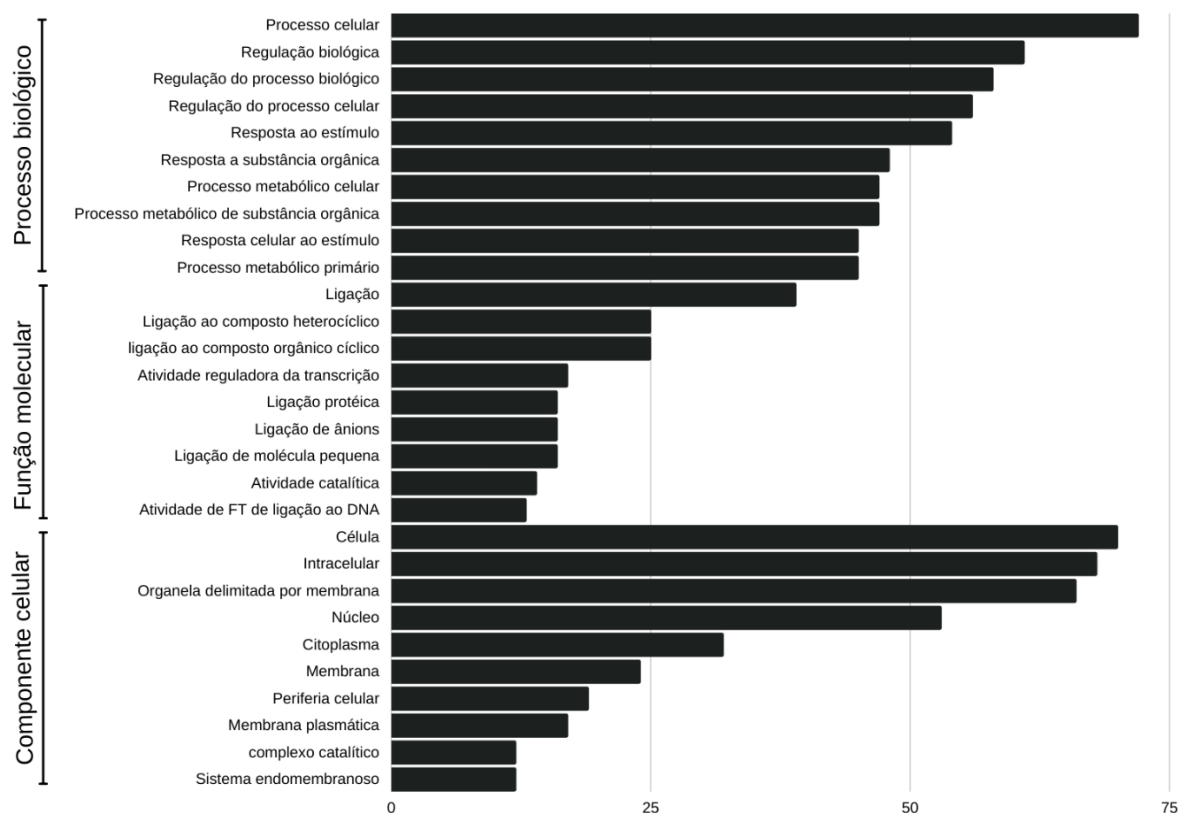


Figura 41 - Termos de ontologia gênica relativos a processo biológico, função molecular e componente celular super-representados na resposta exclusiva da cultivar tolerante de feijão-caupi (Pingo de Ouro) ao estímulo de desidratação radicular.



Fonte: Valquíria da Silva (2021).

4.6 OS PRIMERS PROPOSTOS PARA RT-QPCR E PARA DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES FUNCIONAIS BASEADOS EM CDNAS

Os transcritos com expressão *in silico* contrastantes nas respostas das cultivares tolerante e sensível (UR no bulk tolerante e DR ou n.s. no bulk sensível ou UR no bulk sensível e DR ou n.s. no bulk tolerante) foram selecionados para proposição de *primers* visando amplificação de potenciais marcadores moleculares funcionais baseados em cDNAs (RT-qPCR). Tal estratégia possibilitou o desenho de 17 pares de primers envolvidos com as diferentes vias de sinalização por fitormônios (Tabela 2).

Tabela 2 - Pares de primers propostos para amplificação via RT-qPCR, para componentes de vias de sinalização por fitormônios no feijão-caupi, bem como regulações (Reg) e modulações da expressão gênica (FC) observadas na resposta sensível (SI, cultivar Santo Inácio) e na resposta tolerante (PO, cultivar Pingo de Ouro), após estímulo de desidratação radicular (até 150 min.).

ID transcrito	Componente	Via	FC	REG SI	FC	REG PO	left primer	Right primer
XM_028050317.1	SAUR32	AUX	-6,9226	DR	2,89044	UR	TTGGTTTCCCTGTCTTTGTTGC	AATCCTGCTTCTTCCCATCACG
XM_028078630.1	ABP1	AUX	-2,0344	DR	5,79056	UR	CCTCGTAACAAGTGGGAGTAAGG	ATCCAGACCTTTAGCAAGATGC
XM_028061365.1	PYL/PYR	ABA	-2,2595	DR	4,77059	UR	CAGTGATACGGCTACACACAAC	AGGTGTTGGTTCGGTCCATAG
XM_028049531.1	SnRK2	ABA	-3,1788	DR	9,19182	UR	GTGACACAAGCAACTGACAAAC	GGGTATTGAAGCAAAGCAAGAG
XM_028062306.1	COI1	JAs	1,1323	Ns	2,6423	UR	ATTCCGATCTTCTGCTCCTCTC	AGGCGACCAATATGAAGAAGTC
XM_028054708.1	ETR	ETH	-2,3882	DR	3,49514	UR	TTCATCTCTGTTGCTGCTCTTG	AAGTCATCAACTGGCATCTGTG
XM_028081279.1	CTR1	ETH	-2,1799	DR	6,40897	UR	TTGGACAGTCAAGCACTTCATC	GCACCAGGAATCAAAGCAATC
XM_028080788.1	EIN2	ETH	-1,1395	Ns	2,85136		CATCATTTCTTGTCTCCCTAAC	TGGCATCTCCCAAATAATACC
XM_028078235.1	CYCD3	BRs	-2,6242	DR	2,19254	UR	AGCATCTCCTTCTGTCTGTGC	ATCCCACCACTGTGTTCAATC
XM_028084204.1	PP2A	BRs	1,1629	Ns	3,48157	UR	TATACACGTTCCGTGCGTTTG	GTCATCATCTTGGCGACGTATC
XM_028064748.1	SRKY	SA	-0,5054	Ns	6,72142	UR	TCTCTTGGGAGGAAATAACAGC	TATGGAGAACC GTTGAAGGAG
XM_028074113.1	SRKY	SA	-1,9439	Ns	3,13666	UR	GAAGGGTAGTGTGTCATTTG	GAGACATCATTGACGGTGACAG
XM_028084575.1	NPR1	SA	5,204	UR	27,6176	UR	AGTAAGCTCAGTGAAGCCTTG	TGTCTTCAACGAGAATCTCAGC
XM_028085630.1	Dwarf	SL	-7,5063	DR	5,37714	UR	TCTCCAACTCATCCTCATCGG	CTCGTAGTTGCTTCCATTGC
XM_028053502.1	CRF	CK	2,731	UR	-4,5308	DR	GTGTTTCTGAAGTTGAAGCCAC	GAGCATTCTGGTTACCTTGGG
XM_028083301.1	B-ARR	CK	1,963	Ns	-2,1256	DR	GTTATCAGCGATGTACGAATGC	TTCCCTTCATCACCATCTTAGG
XM_028066988.1	GID1	GAs	2,3402	UR	-1,2803	Ns	TACCAGAACTCGGTTTCAATTTGG	TCGTCTTCTATCTTCCCTCCTG

Fonte: Valquíria da Silva (2021).

5 DISCUSSÃO

5.1 A REGULAÇÃO TRANSCRICIONAL DA VIA DE SINALIZAÇÃO POR FITORMÔNIOS APÓS EXPOSIÇÃO AO AR DAS RAÍZES DE FEIJÃO-CAUPI

5.1.1 Auxina

A AUX é reconhecida por regular positivamente o crescimento do sistema radicular. Em um contexto de deficiência hídrica, o aprimoramento do sistema radicular pode reduzir os efeitos negativos do estresse (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007), uma vez que um sistema radicular maior pode ser mais eficiente na captação de água ao atingir camadas mais profundas do solo.

Na via de transdução de sinal por AUX, as famílias de proteínas AUX1/LAX e PINs são as principais envolvidas no transporte polar de AUX, enquanto que as proteínas TIR1 e ABP1 atuam como receptores de AUX. Em baixos níveis de AUX, os repressores transcricionais AUX/IAA inibem a atividade dos FTs ARF, e consequentemente as respostas mediadas por AUX são inativadas. Quando os níveis de AUX nas células aumentam, há uma maior interação entre as proteínas TIR1 e os repressores transcricionais AUX/IAA, o que faz com proteínas TIR1 conduzam AUX/IAA a degradação via proteossomo, tendo como consequência a liberação dos FTs ARF para regular a expressão de genes responsivos, contribuindo assim para uma melhor adaptação (GUILFPYLE; HAGEN, 2007; TAN, 2007; BENJAMINS; SCHERES, 2008).

No presente estudo, a maioria dos transcritos AUX1/LAX da resposta tolerante PO apresentou expressão UR e n.s., em contraste aos de expressão n.s. da resposta sensível de SI. Também os transcritos PINs da resposta de PO foram majoritariamente UR, em comparação aos n.s. da resposta de SI. Assim, em relação aos transportadores de AUX, transcritos PINs de expressão UR podem ter sido importantes na resposta de PO, visto que mudas transgênicas de arroz superexpressando o gene OsPIN3 foram mais tolerantes ao estresse de seca, tendo apresentado raízes mais longas (ZHANG *et al.*, 2012). Adicionalmente, as duas cultivares também apresentaram divergência na regulação de transcritos ABP1 (UR na resposta de PO e DR/n.s. na resposta de SI), sendo que a indução desse componente poderia contribuir positivamente na adaptação ao estímulo aplicado.

O acúmulo de proteínas transportadoras de AUX reflete na circulação de AUX para outras células ou órgãos da planta. Assim, o fitormônio influenciaria a expressão de genes responsivos, em diversas partes da planta. Neste contexto, transcritos TIR1 foram majoritariamente UR na resposta de PO, e n.s na resposta de SI. No caso de SI pode haver uma influência negativa na ativação da resposta a AUX, que sem a ação da proteína TIR1, os repressores AUX/IAA continuariam inibindo os FTs ARF e, consequentemente, minimizando a expressão de genes responsivos e favoráveis à aclimatação. Na literatura, mudas transgênicas de *A. thaliana* que superexpressavam ectopicamente os genes CsTIR ou CsABF mostraram maior amplificação do sinal por AUX (CHEN *et al.*, 2017). Em condições de estresse salino, as plantas transgênicas apresentaram maiores taxas de germinação e sobrevivência em relação as plantas do tipo selvagem. As atividades de CsTIR/ ABF estariam aprimorando a tolerância ao sal por meio da manutenção do crescimento radicular e acúmulo de moléculas osmorreguladoras, evitando a perda de água pelas mudas (CHEN *et al.*, 2017). No presente caso, identificou-se transcrito ABF de expressão DR pela cultivar SI e n.s. pela cultivar PO.

Os FTs ARF regulam a expressão dos genes responsivos a AUX, dentre os quais os genes AUX/IAA, GH3 e SAUR, que estão envolvidos na resposta efetiva ao fitormônio. Na resposta de PO, os transcritos ARF foram de expressão UR e n.s., e na resposta SI, de maioria n.s.. Genes ARF DE já foram reportados em tomate (*Solanum lycopersicum*) após estresses de sal, seca e inundações (BOUZROUD *et al.*, 2018), e em *Camellia sinensis* após salinidade e seca (XU *et al.*, 2016b). Há de se ressaltar que alguns FTs não necessitam de uma superexpressão para desempenhar devidamente suas funções (PHILLIPS; HOOPS, 2008).

Tanto na resposta de PO quanto na de SI, transcritos AUX/IAA e TPL foram majoritariamente UR. Apesar de regular negativamente a via de sinalização por AUX, proteínas AUX/IAA também já foram relatadas como atuantes em respostas de plantas submetidas a estresses abióticos, inclusive seca. Em plantas transgênicas de arroz a superexpressão do gene OsIAA6 melhorou a tolerância a seca (JUNG *et al.*, 2015). Em outro estudo, Salehin *et al.*, (2019) demonstraram que os genes Aux/IAA5, IAA6 e IAA19 foram necessários para a tolerância a seca. Os genes em questão regulariam os níveis de glucosinolatos alifáticos (GLS), metabólitos secundários que desempenham papéis relevantes na regulação estomática, evitando uma maior perda de água pela planta. Possíveis efeitos negativos decorrentes do acúmulo de proteínas

AUX/IAA na ativação da via de sinalização por AUX seriam minimizados pela indução de TIR1, em uma resposta tolerante.

A expressão de transcritos GH3 foi majoritariamente UR na resposta de PO, e n.s. na resposta de SI. Expressão induzida de genes GH3 em plantas sob estresses ambientais foi reportada em várias espécies, como o tomate (*S. lycopersicum*, KUMAR *et al.*, 2012) e o MILHO (*Zea mays*, FENG *et al.*, 2015). Genes GH3 atuam na conjugação do excesso de IAA a aminoácidos, processo necessário para a homeostase da AUX. A expressão induzida deste componente na resposta tolerante poderia contribuir na ativação das respostas mediadas por AUX. De outra forma, a maioria dos transcritos SAUR foram n.s. na resposta de PO e DR na resposta de SI. Genes SAUR foram envolvidos no controle da expansão e alongamento celular (MARKAKIS *et al.*, 2013). Aparentemente estes processos não estariam em destaques nas respostas imediatas das cultivares estudadas.

No geral, os dados do presente estudo evidenciam que a via de sinalização por AUX pode estar desempenhando um papel relevante na resposta ao estímulo aplicado, principalmente na cultivar PO considerada mais tolerante.

5.1.2 Ácido abscísico

Durante a deficiência hídrica, a produção de ABA endógeno é aumentada, de modo a regular uma gama de respostas fisiológicas frente ao estresse, como por exemplo, o fechamento estomático (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007). Nesse processo, ABA é acumulado e transportado célula a célula, de modo passivo ou através de transportadores. Na via de sinalização por ABA, as proteínas AIT (NRT1/PTR), ABCG25 e PDR/ABCG40 atuam nesse transporte de ABA.

Na ausência de ABA, a proteína SnRK2 é inativada pela ação da proteína PP2C, e as respostas mediadas por ABA não são efetivadas. Na presença de ABA, este se liga aos receptores PYR/PYL, e rompe a interação de PP2C com SnRK2, permitindo que proteínas SnRK2 ative os TFs ABF ou ABI5, que atuam na regulação dos genes ABA responsivos.

Transcritos codificando transportadores de ABA foram majoritariamente de expressão UR nas respostas das cultivares após o estímulo aplicado. A indução destes componentes possibilita a entrega de ABA a diferentes partes da planta, como em células guardas, onde podem induzir o fechamento estomático, minimizando a

perda de água. Essa pode ser uma das estratégias utilizadas pelas cultivares em resposta ao tratamento realizado.

Já os transcritos PYR/PYL apresentaram expressões divergentes pelas cultivares (a maioria foi UR na resposta de PO, e DR na resposta de SI). Em algodão (*Gossypium hirsutum* L.), Liang *et al.* (2017) verificaram que os níveis de expressão da família gênica em questão são naturalmente mais altos em genótipos considerados mais tolerantes à seca do que em sensíveis. Em plantas transgênicas superexpressando genes da família PYR/PYL, estas apresentaram maior tolerância a estresses abióticos, como seca (YU *et al.*, 2016; HE *et al.* 2018; LIANG *et al.*, 2017; QUAN *et al.*, 2018) e frio (LENKA *et al.*, 2018).

A maioria dos transcritos codificadores de PP2C e SnRK2 apresentaram expressão UR e n.s, respectivamente, na resposta PO, e n.s. e DR na resposta SI. Uma vez que PP2C atua como regulador negativo da via, seria esperado que transcritos PP2C fossem majoritariamente reprimidos sob déficit hídrico. Entretanto, visto que PO também apresentou transcritos PYR/PYL induzidos, seus potenciais produtos finais poderiam estar inibindo a atividade das proteínas PP2C, deixando SnRK2 livre para exercer suas funções.

Membros da família SnRK2 desempenham papéis críticos na via de sinalização por ABA. Plantas de *A. thaliana* contendo mutações nos 10 membros da família SnRK2 apresentaram taxas de crescimento menores em relação ao tipo selvagem, após estresse hiperosmótico (Fujii *et al.*, 2011). Por outro lado, plantas superexpressando algum desses membros SnRK2 já foram reportadas apresentando maior tolerância a estresses salinos (SONG *et al.*, 2016; FENG *et al.*, 2019) e de seca (PHAN *et al.*, 2016; FENG *et al.*, 2019).

Adicionalmente, transcritos FT ABI5 diferencialmente expressos não foram observados nas respostas das cultivares, ao passo que transcritos ABF foram majoritariamente n.s. na resposta de PO, e DR na resposta de SI. Genes ABF já foram alvos de transgenia em plantas, resultando, no geral, em aumento na tolerância destas frente a estresses oxidativos, de seca, e de salinidade (ZHAO *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2016). Fatores de transcrição ABF atuam na regulação da expressão de genes responsivos ao ABA, por meio do reconhecimento e ligação a elementos cis nos promotores destes. A expressão DR observada na resposta de SI poderia afetar negativamente a expressão de genes regulados por ABA, conferindo e explicando a menor tolerância da cultivar SI.

5.1.3 Giberelina

Na via de sinalização por GA, as proteínas DELLA correspondem ao principal regulador negativo. Elas inibem a atividade dos FTs responsivos a GA, e em consequência respostas mediadas são inativadas. As formas ativas de GA, quando presentes, se ligam a receptores GID1, e juntos promovem a degradação de proteínas DELLA via proteossomo. Assim, FTs implicados ficam livres para promover as respostas mediadas (LI, *et al.* 2016).

As GAs atuam em múltiplos aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, como o alongamento do caule e a expansão foliar. Entretanto, trabalhos reportam que tais processos são inibidos em plantas submetidas a estresses hídricos (LI *et al.*, 2012). Trabalhos também reportam que plantas sob deficiência hídrica tendem a reduzir os níveis ou o sinal de GA, e assim promovem uma maior tolerância ao estresse (COLEBROOK *et al.*, 2014; LITVIN; VAN IERSEL; MALLADI, 2016; PLAZA-WÜTHRICH *et al.*, 2016).

Os dados do presente trabalho reforçam esses encontros. Após o estímulo, a maioria dos genes da via de sinalização por GA apresentaram-se DR na resposta de PO, e n.s. na resposta de SI. A tendência a repressão minimiza a ação da via nas raízes, limitando o transporte de GA para outras regiões. Se as principais respostas fisiológicas controladas por GA são alongamento de caule e expansão foliar, a inativação da via de sinalização e transporte de GA ofereceria vantagens adaptativas às plantas em condições adversas, pois um fenótipo menor implica em menos gastos de energia. Esta estratégia poderia estar sendo adotada pelas cultivares frente ao estímulo aplicado.

5.1.4 Citocinina

As CKs são geralmente descritas como reguladores negativos de plantas sob estresses abióticos. Em condições normais de crescimento, as CKs inibem o alongamento e ramificação do sistema radicular (IOIO *et al.*, 2007; PODLEŠÁKOVÁ *et al.*, 2012). Na via de sinalização por CK, receptores AHK se autofosforilam quando ligados a CK. Posteriormente, o grupo fosfato é transferido as proteínas AHPs, que migram para o núcleo. No núcleo, essas proteínas fosforilam fatores de resposta a CK do tipo B (B-ARR), e estes por sua vez possibilitam que as respostas mediadas por

CK sejam ativadas. Os FTs B-ARR também induzem a expressão dos repressores A-ARR, resultando assim num mecanismo de regulação da via por feedback negativo (HEYL; SCHMÜLLING, 2003).

Na literatura é reportado que a redução dos níveis endógenos de CK melhoram a tolerância de plantas submetidas ao estresse de seca (NISHIYAMA *et al.*, 2012), enquanto que a aplicação de CK exógena (POSPISILOVA *et al.*, 2005) possibilita maior abertura estomática e aumento da transpiração, fatores que implicam em maior perda de água para o ambiente. No presente estudo, muitos transcritos relacionados com o transporte e sinalização de CK foram reprimidos na resposta de PO.

De modo diferente, transcritos ABCG14 apresentaram expressão UR e DR na resposta de PO, e UR e n.s. na resposta de SI. Mutações no gene codificador desse componente da via acarretam reduções nas concentrações de CK no xilema em aproximadamente 90% (KO *et al.*, 2014). Assim, a repressão desse gene poderia conferir vantagem as plantas sob déficit hídrico, pois estaria reduzindo o transporte de CKs para a parte aérea da planta.

Por sua vez, transcritos CRE1 apresentaram expressão UR, DR e n.s. por ambas as cultivares após o estímulo. Já os transcritos AHP foram majoritariamente reprimidos na resposta de PO, e n.s. na resposta de SI. Este último resultado está de acordo com o esperado, pois a atividade de AHP resulta na ativação da resposta mediada por CK, e a CK por sua vez apresenta função reguladora negativa em plantas sob estresses abióticos. Mutações no gene AHP foram implicadas no aprimoramento da tolerância de plantas ao estresse de desidratação (KANG *et al.*, 2012).

Os componentes da via B-ARR e CRF atuam na regulação da expressão dos genes responsivos a CK. Tais componentes apresentaram transcritos DR e n.s. na resposta de PO, e UR, DR e n.s. na resposta de SI. Os FTs B-ARR também induzem a expressão dos reguladores negativos A-ARR, cujos transcritos apresentaram expressão majoritariamente UR em ambas as respostas. A indução de A-ARR estaria interferindo na atividade dos fatores B-ARR, e as respostas mediadas por CK, portanto, estariam sendo interrompidas em ambas as cultivares. Em conjunto, os resultados reforçam mais ainda a ideia de que CK atua como regulador negativo, logo, a inativação da sinalização e transporte de CK em condições adversas poderia ser benéfica.

5.1.5 Jasmonato

O fitormônio JAs atua em muitos processos do desenvolvimento das plantas, com influências nas respostas contra estresses bióticos e abióticos. Na via de sinalização mediada por JA, na ausência das suas formas bioativas, as proteínas JAZ, NINJA e TPL trabalham juntas para inativar os FTs MYC. Quando as formas bioativas estão presentes, estas se ligam ao receptor COI1, que por sua vez conduz a degradação das proteínas JAZ via proteossoma, liberando os FTs MYC para ativar as respostas mediadas por JA.

Em plantas sob estresses, os níveis de JA tendem a aumentar (ZHANG *et al.*, 2013). No presente estudo, o estímulo induziu a expressão da maior parte dos transcritos previstos na via, nas respostas de PO e SI. Trabalhos já reportaram a expressão de genes envolvidos nas vias de sinalização e/ ou biossíntese de JAs sendo induzida por deficiência hídrica (DOMENICO *et al.*, 2012; DU *et al.*, 2013). Assim, possivelmente JAs seria um regulador positivo das respostas das cultivares estudadas.

Em relação as proteínas JAZs, apesar de atuarem como repressores, a maioria dos transcritos codificadores foram induzidos nas cultivares PO e SI, após o estímulo aplicado. A indução sugere que mecanismos de adaptação ao estresse também podem envolver a repressão de alguns genes ativados por JAs em condições ideais de crescimento. A melhoria na tolerância poderia, então, ser relacionada a menores gastos de energia. Em estudo de An *et al.* (2017), a superexpressão do gene *MdJAZ2* da maçã aumentou a tolerância de *A. thaliana* aos tratamentos de sal (NaCl) e seca. Resultados similares envolveram a superexpressão dos genes *JAZ1* (LIU *et al.*, 2019), *JAZ8* (PEETHAMBARAN *et al.*, 2018) e *JAZ14* (ZHOU *et al.*, 2015).

Adicionalmente, transcritos COI1 também apresentaram expressão UR e n.s. na resposta de PO, e expressão DR e n.s. na resposta de SI, após o estímulo aplicado. A indução deste componente pela cultivar tolerante (PO) poderia estar atenuando a atividade das proteínas JAZ, liberando os FTs MYC2 da repressão, e estes atuariam na regulação da expressão gênica a jusante da via de sinalização por JA.

Transcritos FT MYC2 foram fortemente induzidos após o estímulo aplicado nas cultivares PO e SI. Análise do transcriptoma de *Phormium tenax* também identificou FT MYC2 induzido pelo estresse de seca (BAI *et al.*, 2017). Uma análise proteômica em *A. thaliana*, comparando plantas selvagens e mutantes do gene *myc2*, identificou

27 proteínas com acúmulo diferencial modulado por FTs MYC2, e que estariam envolvidas nos metabolismos de carboidratos e glucosinolatos, defesa a estresses, fotossíntese, dobramento e degradação de proteínas (GUO *et al.*, 2012). Nesse contexto, a expressão induzida de transcritos FT MYC2 das respostas das cultivar PO e SI, após o estímulo aplicado, pode conferir vantagens adaptativas as plantas frente ao potencial estresse.

5.1.6 Etileno

Além do papel no crescimento e desenvolvimento das plantas, o ETH também está envolvido em respostas das plantas sob estresses. Em circunstâncias adversas, plantas tendem a aumentar a síntese de ETH. Na presença deste, a proteína EIN2 é acumulada por conta da inativação do regulador negativo CTR1. O domínio C-terminal de EIN2 é, então, translocado ao núcleo e estabiliza o FT EIN3, que por sua vez, atua induzindo a transcrição dos FTs ERF, ativando assim as respostas mediadas (MENG *et al.*, 2010).

Em relação aos reguladores negativos ETR1, CTR1, SIMKK e MPK6, a resposta sensível de SI apresentou a expressão UR para transcritos SIMKK. Adicionalmente, transcritos EIN2 foram de expressão n.s., o que poderia influenciar negativamente o pleno funcionamento da via, e consequentemente aumentar a susceptibilidade ao estímulo. Na resposta de PO para os transcritos SIMKK, MPK6 e EIN2, as expressões foram, respectivamente, n.s., n.s. e UR. Em plantas transgênicas superexpressando genes MPKs se reportou associações com redução no crescimento radicular (CHEN *et al.*, 2015) e diminuição do acúmulo de proteínas do sistema de defesa antioxidante (DING *et al.*, 2018a), resultando em uma maior susceptibilidade das plantas a estresses abióticos, com altas temperaturas e seca (CHEN *et al.*, 2015; DING *et al.*, 2018a). Nesse contexto, a expressão n.s. de transcritos MPK6 nas respostas das cultivares poderia estar contribuindo positivamente com a aclimação ao estímulo aplicado.

Em respostas mediadas por ETH, as proteínas EIN3 também são reguladores chaves, porém poucos trabalhos abordam as influências delas nas respostas adaptativas das plantas ao déficit hídrico. No presente estudo, transcritos EIN3 foram induzidos nas respostas de ambas as cultivares após estímulo aplicado.

De modo contrário ao esperado, transcritos EBF-1/2 apresentaram expressão UR nas respostas das duas cultivares, e essa indução pode influenciar negativamente as respostas mediadas por ETH, uma vez com que o componente atua como regulador negativo da via. Entretanto, transcritos EIN3 também foram induzidos nas duas cultivares, após o estímulo. Segundo Peng *et al.* (2014) além de induzir a expressão de genes responsáveis ao ETH, como genes que codificam proteínas sequestradoras de ROS, as proteínas EIN3 atuam mediando a degradação dos reguladores negativos EBF-1/2. Nesse contexto, proteínas EIN3 poderiam desempenhar o mesmo papel em feijão-caupi, contribuindo para a adaptação ao estímulo.

Transcritos ERF também apresentaram expressão UR nas respostas das cultivares PO e SI, após o estímulo aplicado. A relação de genes ERFs com respostas ao estresse de seca é reportada na literatura. A superexpressão dos genes *CmERF053* (NIE *et al.*, 2018), *CarERF116* (DEOKAR *et al.*, 2015), *SpERF1* (YANG *et al.*, 2016) e *ZmERF1* (SHI *et al.*, 2016) em *A. thaliana* resultou em maior tolerância ao déficit hídrico. Em tabaco transgênico, a expressão do gene *ERF9* da soja (*Glicine max*) aumentou a tolerância à seca, em relação as linhagens selvagens. A superexpressão de *GmERF9* também foi responsável por aumentar o acúmulo de prolina (ZHAI *et al.* 2017). Assim, genes ERF poderiam estar contribuindo positivamente no aumento da tolerância do feijão-caupi ao estímulo aplicado.

5.1.7 Brassinoesteróides

Os BRs apresentam uma complexa rede de transdução de sinal. Em baixos níveis de BRs, o regulador negativo BRI1 inativa os reguladores positivos BKL1, BSK e CDG1. Ao mesmo tempo a proteína BIN2 fosforila e inativa os FTs BZR1/2, que são posteriormente retidos pelas proteínas GRF, e como consequência, as respostas mediadas por BRs são inativadas. Na presença de BRs, o receptor BRI1 se desassocia de BKL1 e é ativado. BRI1 fosforila e ativa as proteínas BSK, CDG1 e SSU1, que em conjunto atuam na inativação de BIN2. Por sua vez, a proteína PP2C desfosforila os FTs BZR1/2, e esses podem então regular a expressão dos genes responsivos.

A expressão induzida de transcritos BAK1 e BSU1, dois reguladores positivos, em respostas das cultivares PO e SI, após o estímulo, foi observada. A indução dos

reguladores positivos da via de sinalização por BRs refletem a relevância dos papéis desempenhados por esse fitormônio nas respostas adaptativas das plantas. Plantas de *A. thaliana* com mutações no gene *bak1* tornam-se insensíveis ao ABA (SHANG *et al.*, 2016), fato este contornado quando a expressão de BAK1 retorna aos níveis normais. BAK1 além de atuar nas respostas mediadas por BRs, também atua sinergicamente com o fitormônio ABA.

Por sua vez, transcritos BIN2 de expressão UR e DR na resposta de PO, e DR e n.s., na resposta de SI também foram observados. Apesar de BIN2 atuar como regulador negativo da via de sinalização por BRs, alguns trabalhos apontam que a superexpressão confere maior tolerância a plantas (transgênicas) sob estresses abióticos, de seca, altas temperaturas (SAHNI *et al.*, 2016) e salinidade (WANG *et al.*, 2018a). Os mecanismos de atuação frente a esses estresses não estão muito claros ainda.

Em relação aos transcritos FT BZR1/2, a expressão observada foi UR e DR na resposta de PO após o estímulo aplicado; para os transcritos PP2A, a expressão foram predominantemente UR na resposta de PO e n.s. na de SI. Entre os genes induzidos por BZR1/2 podem ser citados CYCD3 e TCH4, envolvidos nos processos de divisão e alongação celular, respectivamente (MENGES *et al.*, 2006; BERGONCI *et al.*, 2014).

Para os transcritos CYCD3, a expressão observada foi majoritariamente n.s. na resposta de PO, e DR na resposta de SI. Já os transcritos TCH4 foram predominantemente UR as respostas de ambas as cultivares. O gene TCH4 codifica a enzima XYLOGLUCAN ENDOTRANSGLUCOSYLASE, importante na construção da parede celular de tecidos em crescimento. A indução da expressão de genes codificadores de enzimas reguladoras da estrutura celular pode ser importante para a adaptação da planta a deficiência hídrica. Em tomateiros transgênicos expressando constitutivamente o gene TCH4, as plantas exibiam maior tolerância ao estresse por sal e seca (CHOI *et al.*, 2011). Essa expressão está relacionada com a atividade de remodelação da parede celular nas células do meristema radicular, visando a expansão das mesmas. A atividade poderia contribuir positivamente para o alongamento das raízes, podendo ser um dos mecanismos em feijão-caupi para mitigar efeitos negativos do estímulo de desidratação radicular. Este gene pode ser um bom candidato para manipulação biotecnológica ou alvo para desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais.

5.1.8 Ácido salicílico

O SA é um dos fitormônios mais atuantes na defesa das plantas a doenças e predadores, entretanto, efeitos positivos frente estresses abióticos em plantas também têm sido reportados. Na via de sinalização por SA a proteína NPR1 ativa os FTs TGA, e estes por sua vez conduzem a amplificação das respostas mediadas por SA. No presente estudo, transcrito NPR1 apresentou expressão UR nas respostas das cultivares PO e SI. Efeitos positivos da expressão de NPR1 na melhoria da tolerância das plantas sob estresses já foram documentados. Em maçã (*Malus hupehensis*), a expressão do gene NPR1 foi induzida por estresses abióticos (salinidade, seca e baixas temperaturas), e a superexpressão do gene resultou em maior tolerância em tabaco transgênico sob estresse salino e de seca (ZHANG *et al.*, 2014). Tendo em vista que NPR1 atua como um co-regulador chave na via de sinalização por SA, é provável que a indução de seus transcritos, contribua para o pleno funcionamento da via em condições de estresse.

Ainda na via de sinalização por SA, os FTs TGA atuam induzindo a expressão de outros genes FTs, tais como PR-1 e WRKYs. Transcritos TGA de expressão UR, DR e n.s. foram observados na resposta de PO, sendo majoritariamente DR na resposta de SI. A tendência a repressão pela cultivar sensível pode representar um comprometimento das respostas mediadas por SA em face ao estímulo aplicado.

Transcritos FT PR-1 mostraram-se n.s. nas respostas das cultivares PO e SI, o que parece de acordo, pois esse FT induz principalmente genes relacionados a mecanismos de resistência a doenças. Transcritos FT WRKY, por sua vez, apresentaram expressão predominantemente UR em ambas as respostas. A superexpressão de genes WRKY contribuindo positivamente na tolerância a estresses em plantas é fortemente reportada (CHU *et al.*, 2015; HE *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2016b). Mas, trabalhos também relatam que a superexpressão de alguns genes da família afeta negativamente a tolerância das plantas frente a determinados estresses abióticos aplicados (YAN *et al.*, 2015; CAI *et al.*, 2017). Esclarecer as contribuições na tolerância aos estresses das plantas ainda necessita de maiores estudos.

5.1.9 Estrigolactonas

As SLs correspondem a uma classe de fitormônios biossinteticamente originados de carotenoides (ZHANG *et al.*, 2015). Embora muitas de suas influências nos processos fisiológicos das plantas sejam conhecidas, o conhecimento de suas relações com as respostas adaptativas das plantas a estresses ambientais ainda é limitado. Os componentes da via de transdução de sinal por SL compreendem: DWARF14, MAX2, TPL, SMXLS e FT TB1/TCP. Em baixos níveis de SL, a proteína SMXL interage com TPL e juntas inibem a atividade dos FTs TB1/TCP, e como consequência as respostas mediadas por SL são inativadas. Em altos níveis de SL, as proteínas D14 juntamente com MAX2 (D3) conduzem a degradação de SMXLS, liberando assim os FTs BRC1, que regulam a expressão dos genes responsivos a SL.

No presente trabalho, a maioria das expressões observadas dos transcritos DWARF14 foram n.s. e DR, nas respostas, respectivamente, de PO e SI. A repressão de DWARF14 poderia refletir em efeitos negativos nas respostas mediadas por SL, pois as proteínas SMXLs, em conjunto com as proteínas TPL, continuariam a inativar os FTs TB1, e consequentemente as respostas por SL estariam minimizadas, contribuindo com o caráter sensível da cultivar SI. Vale salientar que a expressão por ambas cultivares dos transcritos SMXLs foi n.s., e provavelmente, os efeitos negativos desse componente sobre os FTs TB1 estariam minimizados.

Na resposta de PO, a expressão do transcrito MAX2 foi n.s., e na resposta de SI foi UR. Linhagens de *A. thaliana* com mutações de perda de função em genes MAX apresentaram fenótipos de hipersensibilidade a estresses de seca e sal (HA *et al.*, 2014). Também em *A. thaliana*, a superexpressão do transgene MAX2 (de maçã) conferiu maior tolerância a plantas sob estresses de sal e seca, evidenciando uma contribuição na fotomorfogênese e influências em outras vias de sinalização por fitormônio, como a AUX (AN *et al.*, 2016). Logo, MAX2 exerce papel fundamental nas respostas das plantas aos estresses abióticos, não somente por regular a via de sinalização por SL, mas também por influenciar respostas mediadas por outros fitormônios. Também este é um bom candidato para manipulação genética ou alvo para desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais baseados em cDNAs.

Transcritos TB1 também foram induzidos na resposta de PO, e n.s. na resposta de SI. A indução pode refletir o papel regulador deste componente da via, em respostas adaptativas quanto a tolerância a um possível estresse. Em ervilhas, em condições normais de cultivo, se verificou que mutações no gene *Psbc1* (homólogo de TB1) acarretava insensibilidade a SL, sendo que as plantas também apresentavam

maiores ramificações na parte aérea (BRAUN *et al.*, 2012). Um maior crescimento, em condições adversas, pode implicar em maior susceptibilidade ao estresse ambiental, concorrendo em maiores gastos de energia. Deve se ressaltar, ainda, que o papel desse componente sob estresse de seca é pouco conhecido.

5.2 OS FATORES DE TRANSCRIÇÃO ENRIQUECIDOS ASSOCIADOS AOS TRANSCRITOS INDUZIDOS DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMÔNIOS

As análises *in silico* previram mais interações entre os FTs preditos regulando os genes cujos transcritos foram UR na resposta de PO do que aqueles da resposta de SI, observados em menor número. Essa maior interação possibilita, em tese, maior diversidade nas respostas adaptativas da planta ao estímulo aplicado, ao regular genes das vias de sinalização por fitormônios e genes responsáveis ao estímulo.

Dentre os FTs identificados, aqueles das famílias BBR-BPC, MICK_MADS, C2H2, bHLH e ERF foram os mais preditos nessas interações, e o envolvimento destas em respostas de plantas sob estresses ambientais é bem documentado. Por exemplo, os FTs da família C2H2, caracterizadas por dedos de zinco, são reguladores-chaves das respostas a estresses em plantas (WANG *et al.*, 2019a; HAN *et al.*, 2020) e membros da família podem aumentar a tolerância da planta à seca, aumentando os níveis de osmoprotetores, a eliminação de ROS (CHU *et al.*, 2016; YIN *et al.*, 2017), ou interagindo com vias de sinalização, como ABA (ZANG *et al.*, 2016). A superexpressão do gene *ZFP3*, membro da família, em plantas de *A. thaliana* resultou em maior tolerância ao estresse de seca (ZANG *et al.*, 2016), enquanto que linhas transgênicas com *ZFP3* induziram o acúmulo de prolina, e a expressão de genes responsivos a estresses.

Outro exemplo inclui os FTs da família bHLH, que atuam como ativadores ou repressores da expressão gênica, desempenhando importantes papéis nas respostas das plantas a estresses (SAMIRA *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2018b; WANG *et al.*, 2019b). A superexpressão de um gene *RmICE1*, um FT bHLH de rosa selvagem (*Rosa multiflora* Thunb.) aumentou a tolerância do tabaco transgênico aos estresses de sal e frio (LUO *et al.*, 2020), e genes bHLH em trigo (*T. aestivum* L.) mostraram interagir com múltiplas vias de sinalização a estresses (WANG *et al.*, 2019b).

Por sua vez, FTs ERF, que desempenham papéis importantes na via de sinalização do ETH, em ensaios de transgenia com superexpressão culminaram em maior tolerância das plantas a diferentes estresses abióticos. A superexpressão de um gene *GmERF3* aumentou a tolerância de plantas transgênicas de tabaco aos estresses de sal e seca, além de aumentar a resistência contra infecções provocadas por fungo, bactéria e vírus (ZHANG *et al.*, 2009). Ainda, o transgene FT *OsEREBP1* em arroz transgênico induziu a expressão de genes relacionados com o metabolismo de lipídios e genes relacionados com a biossíntese do ABA e JAs (JISHA *et al.*, 2015).

Apesar dos exemplos, estudos que esclareçam as influências dessas famílias de FTs nas respostas adaptativas das plantas sob estresses são necessários. Entretanto, é perceptível que os FTs desempenham papéis chaves na modulação da expressão dos componentes das vias de sinalização por fitormônios. Ensaios que envolvam a superexpressão de tais componentes podem ser interessantes, uma vez que a correta regulação de um FT, em teoria, pode ocasionar melhoria na sinalização por fitormônios das diferentes vias. Logo, esses FTs seriam bons candidatos como transgene, em manipulações genéticas, visando o melhoramento da cultura, principalmente em relação ao estresse de seca. Um dos candidatos propostos corresponde ao FT *Vang05g02710* da família BBR-BPC, que apresentou alto grau de interação com transcritos UR das duas respostas, e envolveu várias vias de sinalização por fitormônios. Outro candidato corresponde ao FT *Vang04g06720*, família MIKC_MADS, também previsto regulando diferentes vias de sinalização por fitormônios.

5.3 AS REDES PPI ASSOCIADAS AOS TRANSCRITOS UR DAS VIAS DE SINALIZAÇÃO POR FITOHORMONIOS

As redes de interações proteína-proteína são cruciais para os processos celulares e os fitormônios não atuam isoladamente, mas por meio de interações sinérgicas ou antagônicas (PELEG, BLUMWALD, 2011). As conexões entre as vias de sinalização por fitormônios são denominadas *crosstalk*, e estas são centrais nas respostas das plantas submetidas a estresses ambientais (RASOOL *et al.*, 2018). Assim, analisar dados da transcriptômica a partir de ferramentas da proteômica é uma abordagem eficiente para se compreender a organização funcional das respostas frente aos estresses.

No presente estudo, as redes PPI forneceriam pistas das conexões entre os componentes das vias de sinalização por fitormônios, principalmente aqueles relacionados aos transcritos UR da resposta ao estímulo aplicado, e outras proteínas. Assim, comparando as redes PPI previstas, foi notável a diferença em números de nós e interações nas respostas exclusivas de cada cultivar. De modo geral, o resultado refletiu o maior número de transcritos UR da cultivar PO após o estímulo. Assim, as interações e interatores previstos para a cultivar tolerante PO pode contribuir positivamente para a adaptação ao estímulo aplicado. Vale ressaltar que as redes estão subestimadas, pois para alguns transcritos não foram observados os ortólogos de *A. thaliana*.

Em ambas as redes há pontos de interações complexos entre alvos de diferentes vias de sinalização. Entre as vias analisadas, AUX foi a que mais apresentou interações com outras vias. Para as respostas das cultivares sensível e tolerante, foram previstas interações entre AUX e ETH, CK e ABA. As AUXs são reconhecidas como o principal hormônio vegetal envolvido no controle do crescimento e desenvolvimento radicular, estratégia essencial em condições de estresse hídrico. Do ponto de vista hormonal, o processo é regulado pela ação integrada de diferentes vias de sinalização (PETRICKA *et al.*, 2012).

A natureza das interações envolvendo AUX e ABA tende a variar de acordo com o tecido vegetal, mas de modo geral, convergem na regulação de muitos processos. Sob estresse hídrico, ABA e AUX tendem a modular a arquitetura do sistema radicular para aumentar a captação de água (OVERVOORDE *et al.*, 2010; PETRICKA *et al.*, 2012). Nas pontas das raízes de *A. thaliana* sob estímulo de ABA a expressão dos genes AUX1 e PIN2 é mais intensa (XU *et al.*, 2013), evidenciando a coordenação AUX-ABA no controle do crescimento radicular. Em arroz, ABA exógeno foi capaz de promover o crescimento de pelos radiculares, induzindo a expressão de genes envolvidos na biossíntese (*OsAMI*, *OsYUCCA4* e *OsYUCCA1*) e transporte (*OsPIN*, *OsAUX* e *OsPID*) de AUX. Mudanças de arroz tratadas com ABA e NPA, um inibidor do transporte de AUX, apresentaram raízes com pelos radiculares mais curtos, sugerindo que uma atuação conjunta de ABA e AUX é necessária para um desenvolvimento normal (WANG *et al.*, 2017). Os pelos radiculares podem corresponder a 70% da área de superfície das raízes (PEREG; MCMILLAN, 2015), logo, sob deficiência hídrica promover o crescimento deles é uma vantagem adaptativa. No caso do presente estudo, pontos de convergência entre AUX e ABA

envolveram as proteínas TIR1, AUX1 e SnRK2. Os efeitos destas interações frente a estresses abióticos ainda são escassos, necessitando maiores estudos.

Por outro lado, AUXs e CKs atuam de forma antagônica na formação das raízes laterais; as CKs interferem negativamente nesse processo, induzindo a degradação dos transportadores de AUX do tipo PINs (MARHAVÝ *et al.*, 2014), sendo essa regulação mediada pelo receptor AHK4 (MARHAVÝ *et al.*, 2011). Além disso, foi relatado que os FTs ARR1 também induzem a degradação de AUX em *A. thaliana* (MAMBRO *et al.*, 2017).

A relação entre AUX e ETH também é necessária para o ajuste fino da organogênese das raízes (HU *et al.*, 2017). Em associação com AUX, o ETH induz a formação de raiz adventícia (NEGI *et al.*, 2010). A aplicação de ETH exógeno na laranja trifoliata (*Poncirus trifoliata*) induziu o crescimento de raízes e dos pelos radiculares (ZHANG *et al.*, 2016a), e neste caso o ETH agiria regulando positivamente a expressão de genes envolvidos na biossíntese e no transporte de AUX. Entretanto, assim como CK, o ETH regula negativamente a formação da raiz lateral através da modulação da expressão de genes PIN. Sob estresse hídrico, a manutenção das raízes laterais pode prejudicar o alongamento da raiz axial. Assim, a inibição do crescimento das raízes laterais, controlada por CK e ETH, é estratégia adaptativa, ao direcionar os gastos energéticos para o desenvolvimento da raiz axial (KSOURI *et al.*, 2016). Interações entre componentes da via de sinalização por ETH e os transportadores PINs foram previstas na resposta tolerante de PO após o estímulo. Logo, tais interações podem ser importantes para a adaptação das cultivares ao estímulo aplicado.

Na resposta da tolerante PO também foram previstas interações entre componentes da via de sinalização por AUX com as vias de sinalização por BRs, SA e JAs. O equilíbrio entre AUX e BRs é necessário para a regulação do crescimento radicular (SUN *et al.*, 2020). As AUXs também regulam a biossíntese de BRs, e, estes por sua vez, frente a estresses abióticos podem aumentar a expressão de genes responsivos por AUX. Tal interação é mediada por BIN2, que atua fosforilando alguns FTs da família ARF, impedindo assim a subsequente interação dos ARFs com os repressores transcricionais AUX/IAA (CHO *et al.*, 2014). Estudo com *A. thaliana* demonstrou que FTs ARF6 e BZR1 ativam de forma interdependente genes alvos compartilhados, dentre eles, *BIM1*, *BEE1*, *HAT2* e *SAUR*, genes que promovem o alongamento celular (OH *et al.*, 2014). Além disso, os FTs BZR1 também interagem

com genes PIN, induzindo a expressão e, conseqüentemente, aumentando as respostas mediadas por AUX (KONO; YIN, 2020). Nesse contexto, as interações previstas entre AUX e BRs, nas respostas ao estímulo aplicado das cultivares de feijão-caupi, poderia conferir vantagens adaptativas.

Na resposta exclusiva de SI, pontos de associações entre ABA e as vias de sinalização por ETH e SL, se deu por intermédio dos componentes da família PYL. Na resposta tolerante PO, a interação de ABA com JAs, ETH e CK se deu por componentes PYL1, PYL4 e SnRK2. Estudos reportam a associação dos membros da família PYR/ PYL com outras vias de sinalização por fitormônios (HUANG *et al.*, 2008; DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO, 2013). Também é relatado um antagonismo entre ABA-ETH-CK, no controle do fechamento estomático. Sabe-se que o ETH consegue aumentar a tolerância a estresses abióticos através da regulação da biossíntese do ABA por intermédio dos FTs ERF (QUAN *et al.*, 2010; CHENG *et al.*, 2013). Em plantas transgênicas de trigo (*Triticum aestivum*), a superexpressão do gene *TaERF1* foi associada com o aumento da sensibilidade ao ABA, ocasionando um rápido fechamento estomático (XU *et al.*, 2007). Em *A. thaliana* a superexpressão de ERF1 além de promover o fechamento estomático, influenciaria positivamente a regulação de genes específicos de resposta à seca, no acúmulo de ABA e prolina (CHENG *et al.*, 2013). Segundo Nazareno & Hernandez (2017), o controle do fechamento estomático sob efeito combinado ABA-ETH torna-se menor, em comparação aos efeitos individuais exercidos por cada hormônio. Um fechamento estomático parcial pode auxiliar na aclimação a deficiência hídrica, uma vez que permite a captação de CO₂ suficiente para fotossíntese, e evitaria maiores perdas de água para o ambiente (ACHARYA; ASSMANN, 2008).

Por sua vez, relações sinérgicas entre SL e ABA, frente ao estresse de seca, já foram relatadas (BU *et al.*, 2014). Em *A. thaliana* mutações no gene MAX2 foram associadas a menor sensibilidade as respostas desencadeadas pelo ABA, assim como menor sensibilidade ao fechamento estomático. Linhagens mutantes também apresentaram menor espessura da cutícula foliar, em comparação as plantas selvagens. Essas características contribuíram para uma maior sensibilidade das linhagens mutantes frente ao estresse. Análises de qPCR mostraram que a mutação influenciou negativamente a expressão de genes responsivos ao estresse de seca, e dos genes relacionados com a via de sinalização por ABA (BU *et al.*, 2014). No presente estudo, associações entre MAX2 com as vias de sinalização por ETH e AUX

foram previstas. Assim, monitorar a expressão de MAX2 pode ser importante na resposta do feijão-caupi frente a um déficit hídrico.

As interações envolvendo as vias de sinalização por ABA e JAs podem ser tanto sinérgicas como antagônicas. As vias de sinalização por ABA e JAs convergem na regulação positiva do metabolismo de ascorbato e glutatona, que atuam no sistema de defesa antioxidante reduzindo os danos oxidativos provocados pela seca (BROSSA *et al.*, 2011). Alguns componentes da via de sinalização por JAs são também fatores chaves na regulação da via de sinalização por ABA. Em *A. thaliana* sob déficit hídrico, o acúmulo de JA-Ile (jasmonato-isoleucina), catalisado por JAR1, foi necessário para o acúmulo de ABA nas raízes (OLLAS, ARBONA E GOMES-CADENAS, 2015). Altos níveis de ABA associados ao JA endógeno regulam a modulação da parede celular, e assim contribuem para a aclimatação de *A. thaliana* ao estresse de seca (HARB *et al.*, 2010).

Além das interações previstas com ABA, componentes da via de sinalização por JAs, de acordo com a resposta tolerante de PO, estariam interagindo com ETH e SA. A ação conjunta do SA, JAs e ETH normalmente é relacionada com respostas de defesa das plantas contra pragas e patógenos, mas estes também desempenham papéis relevantes nas respostas das plantas aos estresses abióticos. Os FTs ERFs podem ser induzidos pela via de sinalização por JAs, de modo a promover a expressão de genes relacionados com respostas a estresses abióticos (RAMEGOWDA; SENTHIL-KUMAR, 2015). Outra convergência entre JAs e ET envolve os componentes JAZs e EIN3. Os FTs EIN3 interagem fisicamente com as proteínas repressoras JAZ, resultando na supressão da atividade de EIN3 (ZHU *et al.* 2011). Porém, na presença das formas bioativas de JAs, os repressores JAZ são degradados e, como consequência, os FTs EIN3 estão livres para exercer suas funções (WASTERACK; HAUSE 2013). Nesse contexto, as interações previstas entre JAs-ETH, na resposta da cultivar tolerante PO após o estímulo, seriam vantagens adaptativas frente ao potencial estresse.

As vias de sinalização por JAs e SA convergem na promoção da expressão de genes envolvidos nas respostas de defesas das plantas contra pragas e patógenos. Na resposta exclusiva tolerante de PO, SA-JAs estariam interagindo através dos componentes WRKY70 e COI1. O modo como estes componentes atuam em conjunto frente a estresses abióticos ainda necessita maiores estudos.

Pontos de *crosstalk* entre GA-AUX foram previstos na resposta sensível de SI. Muitos processos do desenvolvimento são regulados através da ação sinérgica de GA e AUX, entre eles a regulação da expansão celular e diferenciação de tecidos (O'NEILL *et al.* 2010). A presença de dois elementos de resposta a GA no promotor do gene SITIR1 do tomate (*Solanum lycopersicum*) sinalizou a interferência de GA nas respostas mediadas por AUX (REN; WANG, 2016). As GAs também podem exercer influência na abundância das proteínas transportadoras de AUX (WILLIGE *et al.* 2011). A ação sinérgica de AUX e GA promoveu o alongamento do caule na couve chinesa (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* var. *Utilis* Tsen et Lee) através da regulação da expansão celular (KOU *et al.*, 2021).

De modo geral, uma forte relação dos componentes das redes PPI a processos biológicos relacionados com respostas a estresses foram observados, corroborando os dados da literatura (FUJII *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2016, YANG *et al.*, 2016; SAHNI *et al.*, 2016; AN *et al.* 2017). Em conjunto, as redes PPI evidenciam a importância dos fitormônios como reguladores chaves nas respostas das plantas aos diferentes estresses, ao passo que os valores de coeficiente de agrupamento local médio estimados para as redes suportam a hipótese de que as proteínas identificadas estariam interagindo biologicamente como grupo.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho caracterizou a regulação transcricional de genes envolvidos em nove vias de sinalização por fitormônios, em resposta a um estímulo de desidratação radicular (de até 150 min.), em duas cultivares de feijão-caupi contrastantes à seca, Pingo de Ouro (tolerante) e Santo Inácio (sensível). Os perfis transcricionais das vias mostraram que, no geral, Os fitormônios AUX, ABA, JAs, ETH, BRs, SA e SL provavelmente atuam como reguladores positivos das respostas ao estímulo de desidratação radicular no feijão-caupi; enquanto que os fitormônios Os fitormônios CK e GA atuariam como reguladores negativos nas mesmas condições. A comparação das respostas transcricionais das cultivares indicou diferenças qualitativas e quantitativas, no que se refere a indução e repressão dos genes analisados. Maior número de genes induzidos foi observado na resposta tolerante. Daqueles de regulações divergentes pelas cultivares (UR na resposta tolerante e DR na resposta sensível), 17 transcritos selecionados apresentam potencial para desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais, após as devidas validações das expressões via RT-qPCR. Do enriquecimento de FTs, vários foram preditos regulando simultaneamente transcritos de diferentes vias de sinalização, com potencial para uso como transgenes, podendo influenciar em diferentes vias de sinalização por fitormônios. As redes PPI das cultivares previram interações relevantes entre proteínas componentes das diferentes vias de sinalização, refletindo a complexidade dos mecanismos moleculares relacionados, e as respostas adaptativas ao estímulo aplicado. De modo geral, as informações ajudam a melhorar o entendimento da resposta molecular imediata da cultura do feijão-caupi frente a um potencial déficit hídrico, representado pelo estímulo de desidratação radicular.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, B. R.; ASSMANN, S. M. Hormone interactions in stomatal function. **Plant Molecular Biology**, v. 69, n. 4, p. 451–462, 2009.
- AHMED, F. E.; SULIMAN, A. S. H. Effect of water stress applied at different stages of growth on seed yield and water-use efficiency of Cowpea. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1, p. 534–540, 2010.
- AKTER, N. *et al.* Alleviation of drought stress in maize by exogenous application of gibberellic acid and cytokinin. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 41–48, 2014.
- ALVES, L. R. *et al.* Cadmium stress related to root-to-shoot communication depends on ethylene and auxin in tomato plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 134, p. 102–115, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.11.008>>.
- AMBROSINO, L. *et al.* Bioinformatics resources for plant abiotic stress responses: State of the art and opportunities in the fast evolving-omics era. **Plants**, v. 9, n. 5, p. 1–38, 2020.
- AN, J. P. *et al.* Apple F-box protein MdMAX2 regulates plant photomorphogenesis and stress response. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. NOVEMBER2016, p. 1–15, 2016.
- AN, X. H. *et al.* Functional identification of apple MdJAZ2 in Arabidopsis with reduced JA-sensitivity and increased stress tolerance. **Plant Cell Reports**, v. 36, n. 2, p. 255–265, 2017.
- ANAYA, F. *et al.* Influence of salicylic acid on seed germination of Vicia faba L. under salt stress. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 1, p. 1–8, 2018.. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.10.002>>.
- ARAÚJO JÚNIOR, G. Do N. *et al.* Estresse hídrico em plantas forrageiras: Uma revisão. **Pubvet**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2019.
- ARUNYANARK, A. *et al.* Association between aflatoxin contamination and drought tolerance traits in peanut. **Field Crops Research**, v. 114, n. 1, p. 14–22, 2009.

AYUB, R. A. *et al.* Absciscic acid involvement on expression of related gene and phytochemicals during ripening in strawberry fruit *Fragaria × ananassa* cv. Camino Real. **Scientia Horticulturae**, v. 203, p. 178–184, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.026>>.

BACKER, R.; NAIDOO, S.; BERG, N. VAN DEN. The NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1) and related family: Mechanistic insights in plant disease resistance. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. February, p. 1–21, 2019.

BAI, Z. Y. *et al.* Whole-transcriptome sequence analysis of differentially expressed genes in *Phormium tenax* under drought stress. **Scientific Reports**, v. 7, n. December 2016, p. 1–9, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep41700>>.

BALFAGÓN, D. *et al.* Jasmonic acid is required for plant acclimation to a combination of high light and heat stress. **Plant Physiology**, v. 181, n. 4, p. 1668–1682, 2019.

Benjamini, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, 1995.

BENJAMINS, R.; SCHERES, B. Auxin: The Looping Star in Plant Development. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 443–465, 2008.

BENNETT, T. *et al.* Strigolactone regulates shoot development through a core signalling pathway. **Biology Open**, v. 5, n. 12, p. 1806–1820, 2016.

BENSON, D. A. *et al.* GenBank. **Nucleic Acids Research**, v. 33, n. DATABASE ISS., p. 34–38, 2005.

BENSON, D. A. *et al.* GenBank. **Nucleic Acids Research**, 2018. v. 46, n. D1, p. D41–D47. WANI, S. H. *et al.* Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. **Crop Journal**, v. 4, n. 3, p. 162–176, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.010>>.

BERGONCI, T. *et al.* Arabidopsis thaliana RALF1 opposes brassinosteroid effects on root cell elongation and lateral root formation. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 8, p. 2219–2230, 2014.

BIELACH, A. *et al.* Spatiotemporal regulation of lateral root organogenesis in Arabidopsis by cytokinin. **Plant Cell**, v. 24, n. 10, p. 3967–3981, 2012.

BINDER, B. M.; CHANG, C.; ERIC SCHALLER, G. Perception of Ethylene by Plants - Ethylene Receptors. **The Plant Hormone Ethylene**, v. 44, p. 117–145, 2012.

BORATYN, G. M. *et al.* Domain enhanced lookup time accelerated BLAST. **Biology Direct**, v. 7, p. 1–14, 2012.

BOURSIAC, Y. *et al.* ABA transport and transporters. **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 6, p. 325–333, 2013.

BOUZROUD, S. *et al.* Auxin response factors (ARFs) are potential mediators of auxin action in tomato response to biotic and abiotic stress (*Solanum lycopersicum*). **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, p. 1–20, 2018.

BRAUN, N. *et al.* The pea TCP transcription factor PsBRC1 acts downstream of strigolactones to control shoot branching. **Plant Physiology**, v. 158, n. 1, p. 225–238, 2012.

BROSSA, R. *et al.* Interplay Between Absciscic Acid and Jasmonic Acid and its Role in Water-oxidative Stress in Wild-type, ABA-deficient, JA-deficient, and Ascorbate-deficient Arabidopsis Plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 3, p. 322–333, 2011.

BU, Q. *et al.* Regulation of drought tolerance by the F-box protein MAX2 in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 164, n. 1, p. 424–439, 2014.

CAI, R. *et al.* The maize WRKY transcription factor ZmWRKY17 negatively regulates salt stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants. **Planta**, v. 246, n. 6, p. 1215–1231, 2017.

CAO, F. Y.; YOSHIOKA, K.; DESVEAUX, D. The roles of ABA in plant-pathogen interactions. **Journal of Plant Research**, v. 124, n. 4, p. 489–499, 2011.

CHANG, K. N. *et al.* Temporal transcriptional response to ethylene gas drives growth hormone cross-regulation in Arabidopsis. **eLife**, v. 2013, n. 2, p. 1–20, 2013.

CHEN, X. *et al.* A cotton Raf-like MAP3K gene, GhMAP3K40, mediates reduced tolerance to biotic and abiotic stress in *Nicotiana benthamiana* by negatively regulating growth and development. **Plant Science**, v. 240, p. 10–24, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.08.012>>.

CHEN, Z. *et al.* Ectopic expression of cucumber (*Cucumis sativus* L.) CsTIR/AFB genes enhance salt tolerance in transgenic Arabidopsis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 131, n. 1, p. 107–118, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11240-017-1267-7>>.

CHENG, M. C. *et al.* The arabidopsis ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 Regulates abiotic stress-responsive gene expression by binding to different cis-acting elements in response to different stress signals. **Plant Physiology**, v. 162, n. 3, p. 1566–1582, 2013.

CHO, H. *et al.* A secreted peptide acts on BIN2-mediated phosphorylation of ARFs to potentiate auxin response during lateral root development. **Nature Cell Biology**, v. 16, n. 1, p. 66–76, 2014.

CHOI, J. Y. *et al.* Constitutive expression of CaXTH3, a hot pepper xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase, enhanced tolerance to salt and drought stresses without phenotypic defects in tomato plants (*Solanum lycopersicum* cv. Dotaerang). **Plant Cell Reports**, v. 30, n. 5, p. 867–877, 2011.

CHOUDHURY, F. K. *et al.* Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 856–867, 2017.

CHU, X. *et al.* The cotton WRKY gene GhWRKY41 positively regulates salt and drought stress tolerance in transgenic *Nicotiana benthamiana*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1–21, 2015.

CHU, Y. *et al.* Overexpression of the novel *Zygophyllum xanthoxylum* C2H2-type zinc finger gene ZxZF improves drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* and poplar. **Biologia (Poland)**, v. 71, n. 7, p. 769–776, 2016.

COLEBROOK, E. H. *et al.* The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, n. 1, p. 67–75, 2014.

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 5, n. 4, p. 1–113, 2019.

COOK, C. E. *et al.* Germination of witchweed (*striga lutea* Lour.): Isolation and properties of a potent stimulant. **Science**, v. 154, n. 3753, p. 1189–1190, 1966.

CUKOR, J. *et al.* Effects of brassinosteroid application on seed germination of Scots pine under standard and heat stress conditions. **Baltic Forestry**, v. 24, n. 1, p. 60–67, 2018.

CUKOR, J. *et al.* Effects of brassinosteroid application on seed germination of Scots pine under standard and heat stress conditions. **Baltic Forestry**, v. 24, n. 1, p. 60–67, 2018.

DAI, A. Increasing drought under global warming in observations and models. **Nature Climate Change**, v. 3, n. 1, p. 52–58, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nclimate1633>>.

DANTAS, J. P. *et al.* Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 425–430, 2002.

Da-Silva M.D. *et al.* Genotype-dependent regulation of drought-responsive genes in tolerant and sensitive sugarcane cultivar. **Gene**, v. 633, p. 1717–27, 2017.

DASZKOWSKA-GOLEC, A.; SZAREJKO, I. Open or close the gate - Stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. MAY, p. 1–16, 2013.

DEOKAR, A. A. *et al.* The CarERF genes in chickpea (*Cicer arietinum* L.) and the identification of CarERF116 as abiotic stress responsive transcription factor. **Functional and Integrative Genomics**, v. 15, n. 1, p. 27–46, 2015.

DI, X.; GOMILA, J.; TAKKEN, F. L. W. Involvement of salicylic acid, ethylene and jasmonic acid signalling pathways in the susceptibility of tomato to *Fusarium oxysporum*. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 7, p. 1024–1035, 2017.

DING, H. *et al.* The tomato mitogen-activated protein kinase SLMPK1 is as a negative regulator of the high-temperature stress response. **Plant Physiology**, v. 177, n. 2, p. 633–651, 2018a.

DING, Y. *et al.* Opposite Roles of Salicylic Acid Receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in Transcriptional Regulation of Plant Immunity. **Cell**, v. 173, n. 6, p. 1454- 1467. 2018b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.044>>.

DOMENICO, S. DE *et al.* Transcriptomic analysis of oxylipin biosynthesis genes and chemical profiling reveal an early induction of jasmonates in chickpea roots under drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 61, p. 115–122, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.09.009>>.

DONG, Z. *et al.* Absciscic Acid Antagonizes Ethylene Production through the ABI4-Mediated Transcriptional Repression of ACS4 and ACS8 in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 9, n. 1, p. 126–135, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.007>>.

DU, H.; LIU, H.; XIONG, L. Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. OCT, p. 1–10, 2013.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. *et al.* Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. **Plant, Cell and Environment**, v. 38, n. 2, p. 364–374, 2015.

EL-SHOWK, S. *et al.* Parsimonious Model of Vascular Patterning Links Transverse Hormone Fluxes to Lateral Root Initiation: Auxin Leads the Way, while Cytokinin Levels Out. **PLoS Computational Biology**, v. 11, n. 10, p. 1–40, 2015.

ESPINDOLA, F. S. *et al.* Recursos de bioinformática aplicados às ciências ômicas como genômica, transcriptômica, proteômica, interatômica e metabolômica. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 3, 2010.

FALK, K. L. *et al.* The role of glucosinolates and the jasmonic acid pathway in resistance of *Arabidopsis thaliana* against molluscan herbivores. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 5, p. 1188–1203, 2014.

FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

FAOSTAT: Crops, 2020. Disponível em:

<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>.

FENG, J. *et al.* TaSnRK2.9, a sucrose non-fermenting 1-related protein kinase gene, positively regulates plant response to drought and salt stress in transgenic tobacco. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. January, p. 1–17, 2019.

FENG, S. *et al.* Genome-wide identification, expression analysis of auxin-responsive GH3 family genes in maize (*Zea mays* L.) under abiotic stresses.

Journal of Integrative Plant Biology, v. 57, n. 9, p. 783–795, 2015..

FERRARO, N. M. *et al.* Title: One-sentence summary: Authors :Affiliations : Abstract : Main Text : Background. 2019.

FERREIRA, A. C. T. *et al.* WATER AND SALT STRESSES ON GERMINATION OF COWPEA (*Vigna unguiculata* cv. BRS Tumucumaque) SEEDS. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1009–1016, 2017.

FERREIRA NETO, J. R. C. *et al.* Early transcriptional response of soybean contrasting accessions to root dehydration. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. 1–20, 2013.

FERREIRA NETO, J. R. C. SuperSAGE: identificação e análise de genes super e sub regulados em Soja (*Glycine max*) sob condições de desidratação radicular. p. 69, 2014.

FERREIRA-NETO, J. R. C. *et al.* Importance of inositols and their derivatives in cowpea under root dehydration: An omics perspective. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 441–462, 2021.

FONDEVILLA, S. *et al.* Identification of Genes Involved in Resistance to *Didymella pinodes* in Pea by deepSuperSAGE Transcriptome Profiling. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 32, n. 1, p. 258–269, 2014.

FONOUNI-FARDE, C. *et al.* DELLA-mediated gibberellin signalling regulates Nod factor signalling and rhizobial infection. **Nature Communications**, v. 7, 2016.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* Cruzamentos de feijão-caupi. n. L, p. 119, 2014.

FU, Z. Q. *et al.* NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 228–232, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature11162>>.

FU, Z. Q.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, n. 1, p. 839–863, 2013.

FUJII, H.; VERSLUES, P. E.; ZHU, J. K. Arabidopsis decuple mutant reveals the importance of SnRK2 kinases in osmotic stress responses in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 4, p. 1717–1722, 2011.

FURIO, R. N. *et al.* Effect of natural and synthetic Brassinosteroids on strawberry immune response against *Colletotrichum acutatum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, n. 1, p. 227–241, 2019.

GASTEIGER, E.; JUNG, E.; BAIROCH, A. SWISS-PROT: Connecting biomolecular knowledge via a protein database. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 3, n. 3, p. 47–55, 2001.

GENE, T.; CONSORTIUM, O. Gene Ontology: tool for the. **Gene Expression**, v. 25, n. may, p. 25–29, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10802651>>.

GHALMI, N. *et al.* Morphological and molecular diversity within Algerian cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 57, n. 3, p. 371–386, 2010.

GIACOMELLI, L. *et al.* Gibberellin metabolism in *Vitis vinifera* L. During bloom and fruit-set: Functional characterization and evolution of grapevine gibberellin oxidases. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 14, p. 4403–4419, 2013.

GONÇALVES, A. *et al.* Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), a renewed multipurpose crop for a more sustainable agri-food system: Nutritional advantages and constraints. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 2941–2951, 2016.

GRAS, D. E. *et al.* SMZ/SNZ and gibberellin signaling are required for nitrate-elicited delay of flowering time in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 3, p. 619–631, 2018.

GRUSZKA, D. *et al.* Barley brassinosteroid mutants provide an insight into phytohormonal homeostasis in plant reaction to drought stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. DECEMBER2016, p. 1–14, 2016.

GUILFOYLE, T. J.; HAGEN, G. Auxin response factors. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 5, p. 453–460, 2007.

GUO, J. *et al.* Proteomic identification of MYC2-dependent jasmonate-regulated proteins in *Arabidopsis thaliana*. **Proteome Science**, v. 10, n. 1, p. 1–13, 2012.

HA, C. Van *et al.* Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 2, p. 851–856, 2014.

HAN, G. *et al.* C2H2 Zinc Finger Proteins: Master Regulators of Abiotic Stress Responses in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. February, p. 1–13, 2020.

HARB, A. *et al.* Molecular and physiological analysis of drought stress in *arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth. **Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p. 1254–1271, 2010.

HASANUZZAMAN, M. *et al.* Drought Stress Responses in Plants, Oxidative Stress, and Antioxidant Defense. **Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance**, p. 209–250, 2013.

HAYATU, M.; MUHAMMAD, S. Y.; HABIBU, U. A. Effect Of Water Stress On The Leaf Relative Water Content And Yield Of Some Cowpea (*Vigna Unguiculata* (L) Walp .) Genotype. **International Journa of Scientific & Technology Research**, v. 3, n. 7, p. 148–152, 2014.

HE, G. H. *et al.* Drought-responsive WRKY transcription factor genes TaWRKY1 and TaWRKY33 from wheat confer drought and/or heat resistance in *Arabidopsis*. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–16, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12870-016-0806-4>>.

HE, Z. *et al.* The maize ABA receptors ZmPYL8, 9, and 12 facilitate plant drought resistance. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. April, p. 1–12, 2018.

HEYL, A.; SCHMÜLLING, T. Cytokinin signal perception and transduction. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, n. 5, p. 480–488, 2003.

HONG, J.; SUNG, J.; RYU, H. Brassinosteroids-mediated regulation of ABI3 is involved in high-temperature induced early flowering in plant . **Journal of Plant Biotechnology**, v. 45, n. 2, p. 83–89, 2018.

HU, J. *et al.* The interaction between DELLA and ARF/IAA mediates crosstalk between gibberellin and auxin signaling to control fruit initiation in tomato. **Plant Cell**, v. 30, n. 8, p. 1710–1728, 2018.

HU, W. *et al.* The Auxin response factor gene family in banana: Genome-wide identification and expression analyses during development, ripening, and Abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. September, p. 1–16, 2015.

HU, Y.; VANDENBUSSCHE, F.; STRAETEN, D. VAN DER. Regulation of seedling growth by ethylene and the ethylene–auxin crosstalk. **Planta**, v. 245, n. 3, p. 467–489, 2017.

HUANG, D. *et al.* The relationship of drought-related gene expression in *Arabidopsis thaliana* to hormonal and environmental factors. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 11, p. 2991–3007, 2008.

HUERTA M. *et al.* Nih Working Definition of Bioinformatics and computational biology. **US National Institute of Health**, 2000.

IOIO, R.D *et al.* Cytokinins Determine Arabidopsis Root-Meristem Size by Controlling Cell Differentiation. **Current Biology**, v. 17, n. 8, p. 678–682, 2007.

JARRELL, K. F. *et al.* Major players on the microbial stage: why archaea are important. Microbiology, **Microbiology Society**, v. 157, n. 4, p. 919-936, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.047837-0>>

JI, Y.; GUO, H. From endoplasmic reticulum (ER) to nucleus: EIN2 bridges the gap in ethylene signaling. **Molecular Plant**, v. 6, n. 1, p. 11–14, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/mp/sss150>>.

JIANG, L. *et al.* Strigolactones spatially influence lateral root development through the cytokinin signaling network. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 379–389, 2016.

JIANG, Y. *et al.* Arabidopsis WRKY57 functions as a node of convergence for jasmonic acid- and auxin-mediated signaling in jasmonic acid-induced leaf senescence. **Plant Cell**, v. 26, n. 1, p. 230–245, 2014.

JISHA, V. *et al.* Overexpression of an AP2/ERF type transcription factor OsEREBP1 confers biotic and abiotic stress tolerance in rice. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, p. 1–24, 2015..

JU, C. *et al.* CTR1 phosphorylates the central regulator EIN2 to control ethylene hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in Arabidopsis.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 109, n. 47, p. 19486–19491, 2012.

JUNG, H. *et al.* OsIAA6, a member of the rice Aux/IAA gene family, is involved in drought tolerance and tiller outgrowth. **Plant Science**, v. 236, p. 304–312, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.04.018>>.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 27-30, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>>.

KANG, J. *et al.* PDR-type ABC transporter mediates cellular uptake of the phytohormone abscisic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 5, p. 2355–2360, 2010.

KANG, N. Y. *et al.* Cytokinin receptor-dependent and receptor-independent pathways in the dehydration response of Arabidopsis thaliana. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 14, p. 1382–1391, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.007>>.

KANNO, Y. *et al.* Identification of an abscisic acid transporter by functional screening using the receptor complex as a sensor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 24, p. 9653–9658, 2012.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Molecular responses to drought stress in plants. **Biologia Plantarum**, v. 61, n. 2, p. 201–209, 2017.

KAZAN, K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 4, p. 219–229, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2015.02.001>>.

KELISH, A. EL *et al.* Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen allergenicity: SuperSAGE transcriptomic analysis upon elevated CO₂ and drought stress. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 1–16, 2014.

KHAN, M. I. R. *et al.* Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. JUNE, p. 1–17, 2015.

KIDO, E.A., *et al.* Identification of Plant Protein Kinases in Response to Abiotic and Biotic Stresses Using SuperSAGE. **Curr Protein Pept Sci**, v. 12, p. 643–656, 2011.

KIEBER, J. J.; SCHALLER, G. E. Cytokinins. **The Arabidopsis Book**, 2014. v. 12, p. e0168. GAO, H. *et al.* Overexpression of a WRKY transcription factor TaWRKY2 enhances drought stress tolerance in transgenic wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. August, p. 1–10, 2018.

KLAY, I. *et al.* Ethylene Response Factors (ERF) are differentially regulated by different abiotic stress types in tomato plants. **Plant Science**, v. 274, p. 137–145, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.05.023>>.

KO, D. *et al.* Arabidopsis ABCG14 is essential for the root-to-shoot translocation of cytokinin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 19, p. 7150–7155, 2014.

KOBAE, Y. *et al.* Strigolactone Biosynthesis Genes of Rice are Required for the Punctual Entry of Arbuscular Mycorrhizal Fungi into the Roots. **Plant and Cell Physiology**, v. 59, n. 3, p. 544–553, 2018.

KONO, A.; YIN, Y. Updates on BES1/BZR1 Regulatory Networks Coordinating Plant Growth and Stress Responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. December, 2020.

KOSCIELNY, G. *et al.* ASTD: The Alternative Splicing and Transcript Diversity database. **Genomics**, v. 93, n. 3, p. 213–220, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2008.11.003>>.

KOU, E. *et al.* Crosstalk between auxin and gibberellin during stalk elongation in flowering Chinese cabbage. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83519-z>>.

KSOURI, N. *et al.* Transcriptional responses in root and leaf of prunus persica under drought stress using RNA sequencing. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. NOVEMBER2016, p. 1–19, 2016.

KUMAR, Arvind; KUMAR, Akhilesh. Effect of abiotic and biotic factors on incidence of pests and predator in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) walp.]. **Legume Research**, v. 38, n. 1, p. 121–125, 2015.

KUMAR, D. Salicylic acid signaling in disease resistance. **Plant Science**, v. 228, p. 127–134, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.014>>.

KUMAR, R. *et al.* Genome-wide investigation and expression analysis suggest diverse roles of auxin-responsive GH3 genes during development and response to different stimuli in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Molecular Genetics and Genomics**, v. 287, n. 3, p. 221–235, 2012.

KUROMORI, T. *et al.* ABC transporter AtABCG25 is involved in abscisic acid transport and responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 5, p. 2361–2366, 2010.

KUROMORI, T. *et al.* Arabidopsis mutants of AtABCG22, an ABC transporter gene, increase water transpiration and drought susceptibility. **Plant Journal**, v. 67, n. 5, p. 885–894, 2011.

LAVY, M.; ESTELLE, M. Mechanisms of auxin signaling. **Development (Cambridge)**, v. 143, n. 18, p. 3226–3229, 2016.

LEBEIS, S. L. *et al.* Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. **Science**, v. 349, n. 6250, p. 860–864, 2015.

LEE, J. *et al.* Brassinosteroids facilitate xylem differentiation and wood formation in tomato. **Planta**, v. 249, n. 5, p. 1391–1403, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00425-019-03094-6>>.

LEE, S. C.; LUAN, S. ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses. **Plant, Cell and Environment**, v. 35, n. 1, p. 53–60, 2012.

LENKA, S. K. *et al.* Ectopic Expression of Rice PYL3 Enhances Cold and Drought Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Biotechnology**, v. 60, n. 5, p. 350–361, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12033-018-0076-5>>.

LEUNG, J. *et al.* Mécanisme moléculaire d'action de l'acide abscissique en réponse à la sécheresse chez les végétaux. **Biologie Aujourd'hui**, v. 206, n. 4, p. 301–312, 2012.

LI, J. *et al.* Brassinosteroid alleviates chilling-induced oxidative stress in pepper by enhancing antioxidation systems and maintenance of photosystem II. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 11, p. 1–11, 2015.

Li J. *et al.* Tomato SIDREB gene restricts leaf expansion and internode elongation by downregulating key genes for gibberellin biosynthesis. **Journal of experimental botany**, v. 63, n. 18, p. 6407–6420, 2012.

LI, K. *et al.* DELLA-mediated PIF degradation contributes to coordination of light and gibberellin signalling in *Arabidopsis*. **Nature Communications**, v. 7, n. May, p. 1–11, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms11868>>.

LI, Q. *et al.* In silico genome-wide identification and comprehensive characterization of the BES1 gene family in soybean. **Heliyon**, v. 5, n. 6, p. e01868, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01868>>.

LI, X. *et al.* The biphasic root growth response to abscisic acid in *Arabidopsis* involves interaction with ethylene and auxin signalling pathways. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. August, p. 1–12, 2017.

LIANG, C. *et al.* Activation of ABA receptors gene GhPYL9-11A is positively correlated with cotton drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. August, p. 1–13, 2017.

LINKIES, A.; LEUBNER-METZGER, G. Beyond gibberellins and abscisic acid: How ethylene and jasmonates control seed germination. **Plant Cell Reports**, v. 31, n. 2, p. 253–270, 2012.

LITVIN, A. G.; IERSEL, M. W. VAN; MALLADI, A. Drought stress reduces stem elongation and alters gibberellin-related gene expression during vegetative growth of tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 141, n. 6, p. 591–597, 2016.

LIU, S. *et al.* The moss jasmonate ZIM-domain protein PnJAZ1 confers salinity tolerance via crosstalk with the abscisic acid signalling pathway. **Plant Science**, v. 280, n. November 2018, p. 1–11, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.11.004>>.

LOBELL, D. B. *et al.* Greater sensitivity to drought accompanies maize yield increase in the U.S. Midwest. **Science**, v. 344, n. 6183, p. 516–519, 2014.

LOWE, R. *et al.* Transcriptomics technologies. **PLoS Computational Biology**, v. 13, n. 5, p. 1–23, 2017.

LQBAL, N. *et al.* Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. **Front Plant Sci**, V. 8, p. 1–19, 2017.

LUO, P. *et al.* Overexpression of RmICE1, a bHLH transcription factor from *Rosa multiflora*, enhances cold tolerance via modulating ROS levels and activating the expression of stress-responsive genes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, n. June, p. 104–160, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104160>>.

LUSCOMBE, N. M.; GREENBAUM, D.; GERSTEIN, M. What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field. **Methods of Information in Medicine**, v. 40, n. 4, p. 346–358, 2001.

LUSH, W. M. Floral morphology of wild and cultivated cowpeas. **Economic Botany**, v. 33, n. 4, p. 442–447, 1979.

MALCHESKA, F. *et al.* Drought-enhanced xylem sap sulfate closes stomata by affecting ALMT12 and guard cell ABA synthesis. **Plant Physiology**, v. 174, n. 2, p. 798–814, 2017.

MAMBRO, R. DI *et al.* Auxin minimum triggers the developmental switch from cell division to cell differentiation in the Arabidopsis root. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 36, p. E7641–E7649, 2017.

MARGUERAT, S.; BÄHLER, J. RNA-seq: From technology to biology. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 4, p. 569–579, 2010.

MARHAVÝ, P. *et al.* Cytokinin controls polarity of PIN1-dependent Auxin transport during lateral root organogenesis. **Current Biology**, v. 24, n. 9, p. 1031–1037, 2014.

MARHAVÝ, P. *et al.* Cytokinin Modulates Endocytic Trafficking of PIN1 Auxin Efflux Carrier to Control Plant Organogenesis. **Developmental Cell**, v. 21, n. 4, p. 796–804, 2011.

MARKAKIS, M. N. *et al.* Characterization of a small auxin-up RNA (SAUR)-like gene involved in arabidopsis thaliana development. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. 1–13, 2013.

MARTINS, A. O. *et al.* To Bring Flowers or Do a Runner: Gibberellins Make the Decision. **Molecular Plant**, v. 11, n. 1, p. 4–6, 2018.

MATSUMURA, H. *et al.* Gene expression analysis of plant host-pathogen interactions by SuperSAGE. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 26, p. 15718–15723, 2003.

MATSUMURA, H. *et al.* High-throughput superSAGE for digital gene expression analysis of multiple samples using next generation sequencing. **PLoS ONE**, v. 5, n. 8, 2010.

MATSUMURA, H. *et al.* SuperSAGE. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 11–18, 2005.

MENG, X. *et al.* Isolation and characterization of an erf transcription factor gene from cotton (*Gossypium barbadense* L.). **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 28, n. 1, p. 176–183, 2010.

MENGES, M. *et al.* The D-type cyclin CYCD3;1 is limiting for the G1-to-S-phase transition in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 18, n. 4, p. 893–906, 2006.

MORI, N. *et al.* Carlactone-type strigolactones and their synthetic analogues as inducers of hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. **Phytochemistry**, v. 130, p. 90–98, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.05.012>>.

MORIN, R. D. *et al.* Profiling the HeLa S3 transcriptome using randomly primed cDNA and massively parallel short-read sequencing. **BioTechniques**, v. 45, n. 1, p. 81–94, 2008.

MOU, Z.; FAN, W.; DONG, X. Inducers of plant systemic acquired resistance Regulate NPR1 function through redox changes. **Cell**, v. 113, n. 7, p. 935–944, 2003.

NAKAMURA, H. *et al.* Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. **Nature Communications**, v. 4, 2013.

NAMBARA, E. *et al.* Absciscic acid and the control of seed dormancy and germination. **Seed Science Research**, v. 20, n. 2, p. 55–67, 2010.

NAZARENO, A. L.; HERNANDEZ, B. S. A mathematical model of the interaction of abscisic acid, ethylene and methyl jasmonate on stomatal closure in plants. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–12, 2017.

NEGI, S. *et al.* Genetic dissection of the role of ethylene in regulating auxin-dependent lateral and adventitious root formation in tomato. **Plant Journal**, v. 61, n. 1, p. 3–15, 2010.

NEUMANN, R. S.; KUMAR, S.; SHALCHIAN-TABRIZI, K. BLAST output visualization in the new sequencing era. **Briefings in Bioinformatics**, v. 15, n. 4, p. 484–503, 2014.

NG, L. M. *et al.* Absciscic acid perception and signaling: Structural mechanisms and applications. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 35, n. 5, p. 567–584, 2014.

NIE, J. *et al.* The AP2/ERF transcription factor CmERF053 of chrysanthemum positively regulates shoot branching, lateral root, and drought tolerance. **Plant Cell Reports**, v. 37, n. 7, p. 1049–1060, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00299-018-2290-9>>.

NIR, I.; MOSHELION, M.; WEISS, D. The Arabidopsis GIBBERELLIN METHYL TRANSFERASE 1 suppresses gibberellin activity, reduces whole-plant transpiration and promotes drought tolerance in transgenic tomato. **Plant, Cell and Environment**, v. 37, n. 1, p. 113–123, 2014.

NISHIYAMA, R. *et al.* Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. **Plant Cell**, v. 23, n. 6, p. 2169–2183, 2011.

NUDELMAN, G. *et al.* High resolution annotation of zebrafish transcriptome using long-read sequencing. **Genome Research**, v. 28, n. 9, p. 1415–1425, 2018.

O'NEILL, D. P. *et al.* Regulation of the gibberellin pathway by auxin and DELLA proteins. **Planta**, v. 232, n. 5, p. 1141–1149, 2010.

OH, E. *et al.* Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the Arabidopsis hypocotyl. **eLife**, v. 2014, n. 3, p. 1–19, 2014.

OLLAS, C. D.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Jasmonoyl isoleucine accumulation is needed for abscisic acid build-up in roots of Arabidopsis under water stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, v. 38, n. 10, p. 2157–2170, 2015.

OSAKABE, Y. *et al.* ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. **New Phytologist**, v. 202, n. 1, p. 35–49, 2014.

OVERVOORDE, P.; FUKAKI, H.; BEECKMAN, T. Auxin control of root development. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 2, n. 6, 2010.

PADULOSI S., NG NQ. Origin, taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: Singh, B. B.; *et al.* **Advances in Cowpea Research**. Nigéria: IITA, p. 1-12, 1997.

PEARSON, W. R. An introduction to sequence similarity (“homology”) searching. **Current Protocols in Bioinformatics**, n. SUPPL.42, p. 1–8, 2013.

PEETHAMBARAN, P. K. *et al.* Salt-inducible expression of OsJAZ8 improves resilience against salt-stress. **BMC Plant Biology**, v. 18, n. 1, p. 1–15, 2018.

PELEG, Z.; BLUMWALD, E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 290–295, 2011.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2011.02.001>>.

PENDER, A. *et al.* Genome and transcriptome biomarkers of response to immune checkpoint inhibitors in advanced solid tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 1, p. 202–212, 2021.

PENFIELD, S. Seed dormancy and germination. **Current Biology**, v. 27, n. 17, p. R874–R878, 2017.

PENG, J. *et al.* Salt-Induced Stabilization of EIN3/EIL1 Confers Salinity Tolerance by Deterring ROS Accumulation in Arabidopsis. **PLoS Genetics**, v. 10, n. 10, 2014.

PEREG, L.; MCMILLAN, M. Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 80, p. 349–358, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.020>>.

PERVOUCHINE, D. *et al.* Integrative transcriptomic analysis suggests new autoregulatory splicing events coupled with nonsense-mediated mRNA decay. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. 10, p. 5293–5306, 2019.

PETRICKA, J. J.; WINTER, C. M.; BENFEY, P. N. Control of arabidopsis root development. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 563–590, 2012.

PHAN, T. T. *et al.* Overexpression of sugarcane gene SoSnRK2.1 confers drought tolerance in transgenic tobacco. **Plant Cell Reports**, v. 35, n. 9, p. 1891–1905, 2016.

PHILLIPS, T.; HOOPES, L. Transcription factors and transcriptional control in eukaryotic cells. **Nature Education**, v. 1, p. 119, 2008.

PLAZA-WÜTHRICH, S. *et al.* Gibberellin deficiency confers both lodging and drought tolerance in small cereals. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. MAY2016, p. 1–14, 2016.

- PLUSKOTA, W. E. *et al.* Jasmonic acid and ethylene are involved in the accumulation of osmotin in germinating tomato seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 232, n. June 2018, p. 74–81, 2019.
- POCIECHA, E. *et al.* Brassinosteroids increase winter survival of winter rye (*Secale cereale* L.) by affecting photosynthetic capacity and carbohydrate metabolism during the cold acclimation process. **Plant Growth Regulation**, v. 80, n. 2, p. 127–135, 2016.
- PODLEŠÁKOVÁ, K. *et al.* Novel cytokinin derivatives do not show negative effects on root growth and proliferation in submicromolar range. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, 2012.
- POSPÍŠILOVÁ, J. *et al.* Interactions between abscisic acid and cytokinins during water stress and subsequent rehydration. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 4, p. 533–540, 2005.
- QIU, Z. *et al.* Physiological and transcriptome analysis of He-Ne laser pretreated wheat seedlings in response to drought stress. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 11–13, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-06518-z>>.
- QUAN, R. *et al.* Overexpression of an ERF transcription factor TSRF1 improves rice drought tolerance. **Plant Biotechnology Journal**, v. 8, n. 4, p. 476–488, 2010.
- QUAN, W. *et al.* Overexpression of AtPYL5 under the control of guard cell specific promoter improves drought stress tolerance in Arabidopsis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 129, p. 150–157, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.033>>.
- RAHEEM, A. *et al.* Auxin production by rhizobacteria was associated with improved yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64, n. 4, p. 574–587, 2018.
- RAINES, T. *et al.* Characterization of the cytokinin-responsive transcriptome in rice. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–16, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12870-016-0932-z>>.

RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. **Journal of Plant Physiology**, v. 176, p. 47–54, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2014.11.008>>.

RANI, B.; SHARMA, V. K. Transcriptome profiling: methods and applications-A review. **Agricultural Reviews**, v. 38, n. 4, p. 271–281, 2017.

RASOOL, S. *et al.* Cross Talk Between Phytohormone Signaling Pathways Under Abiotic Stress Conditions and Their Metabolic Engineering for Conferring Abiotic Stress Tolerance. **Abiotic Stress-Mediated Sensing and Signaling in Plants: An Omics Perspective**, p. 329–350, 2018.

REID, D. *et al.* Cytokinin biosynthesis promotes cortical cell responses during nodule development. **Plant Physiology**, v. 175, n. 1, p. 361–375, 2017.

REN, Z.; WANG, X. SITIR1 is involved in crosstalk of phytohormones, regulates auxin-induced root growth and stimulates stenospermocarpic fruit formation in tomato. **Plant Science**, v. 253, p. 13–20, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.09.005>>.

RONG, X. F. *et al.* Type-B ARR_s Control Carpel Regeneration Through Mediating AGAMOUS Expression in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 59, n. 4, p. 756–764, 2018.

ROOSJEN, M.; PAQUE, S.; WEIJERS, D. Auxin Response Factors: Output control in auxin biology. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 179–188, 2018.

RYBEL, B. DE *et al.* Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in Arabidopsis. **Science**, v. 345, n. 6197, 2014.

SAHA, S. *et al.* Using the transcriptome to annotate the genome. **Nat Biotechnol**, v. 20, p. 508–512, 2002.

SAHNI, S. *et al.* Overexpression of the brassinosteroid biosynthetic gene DWF4 in Brassica napus simultaneously increases seed yield and stress tolerance. **Scientific Reports**, v. 6, n. March, p. 1–14, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep28298>>.

SALEHIN, M. *et al.* Auxin-sensitive Aux/IAA proteins mediate drought tolerance in Arabidopsis by regulating glucosinolate levels. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-12002-1>>.

SAMIRA, R. *et al.* The bHLH transcription factor ILR3 modulates multiple stress responses in Arabidopsis. **Plant Molecular Biology**, v. 97, n. 4–5, p. 297–309, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11103-018-0735-8>>.

SANTNER, A.; CALDERON-VILLALOBOS, L. I. A.; ESTELLE, M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 5, p. 301–307, 2009.

SCHALLER, G. E.; SHIU, S. H.; ARMITAGE, J. P. Two-component systems and their co-option for eukaryotic signal transduction. **Current Biology**, v. 21, n. 9, p. R320–R330, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2011.02.045>>.

SCHENA, M. *et al.* Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. **Science**, v. 270, n. 5235, p. 467–470, 1995.

SHANG, Y. *et al.* BRI1-Associated Receptor Kinase 1 Regulates Guard Cell ABA Signaling Mediated by Open Stomata 1 in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 9, n. 3, p. 447–460, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.12.014>>.

SHARMA, I. *et al.* Brassinosteroids Reciprocates Heavy Metals Induced Oxidative Stress in Radish by Regulating the Expression of Key Antioxidant Enzyme Genes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, n. 0, p. 1–9, 2018.

SHARMA, I. *et al.* Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 69, p. 17–26, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.013>>.

SHE, J. *et al.* Structural insight into brassinosteroid perception by BRI1. **Nature**, v. 474, n. 7352, p. 472–477, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature10178>>.

SHEARD, L. B. *et al.* Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor. **Nature**, v. 468, n. 7322, p. 400–407, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature09430>>.

SHI-JING, L. *et al.* A Review on Bioinformatics Enrichment Analysis Tools Towards Functional Analysis of High Throughput Gene Set Data. **Current Proteomics**, v. 12, n. 1, p. 14–27, 2015.

SHI, Q. *et al.* Characterization of a maize ERF gene, ZmERF1, in hormone and stress responses. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 5, 2016.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 221–227, 2007.

SHU, K. *et al.* Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. **Molecular Plant**, v. 9, n. 1, p. 34–45, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>>.

SHU, S. *et al.* The role of 24-epibrassinolide in the regulation of photosynthetic characteristics and nitrogen metabolism of tomato seedlings under a combined low temperature and weak light stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 344–353, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.021>>.

SHUKLA, N. *et al.* Transcriptome analysis of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)-infected tomato (*Solanum lycopersicum*) roots reveals complex gene expression profiles and metabolic networks of both host and nematode during susceptible and resistance responses. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 3, p. 615–633, 2018.

SINCLAIR, T. R. *et al.* Variation among cowpea genotypes in sensitivity of transpiration rate and symbiotic nitrogen fixation to soil drying. **Crop Science**, v. 55, n. 5, p. 2270–2275, 2015.

SONG, X. *et al.* Heterologous overexpression of poplar snrk2 genes enhanced salt stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. May, p. 1–11, 2016.

SOON, F. F. *et al.* Molecular mimicry regulates ABA signaling by SnRK2 kinases and PP2C phosphatases. **Science**, v. 335, n. 6064, p. 85–88, 2012.

STEARNS, R. L.; MARTINSKY, T.; SCHENA, M. Trends in microarray analysis. **Nature Medicine**, v. 9, n. 1, p. 140–145, 2003.

SUN, L. *et al.* PIN-LIKES Coordinate Brassinosteroid Signaling with Nuclear Auxin Input in *Arabidopsis thaliana*. **Current Biology**, v. 30, n. 9, p. 1579- 1588.e6, 2020.

SZEMENYEI, H.; HANNON, M.; LONG, J. A. TOPLESS mediates auxin-dependent transcriptional repression during *Arabidopsis* embryogenesis. **Science**, v. 319, n. 5868, p. 1384–1386, 2008.

TAN, X. *et al.* Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. **Nature**, v. 446, n. 7136, p. 640–645, 2007.

TARDIEU, F. Plant tolerance to water deficit: Physical limits and possibilities for progress. **Comptes Rendus - Geoscience**, v. 337, n. 1–2, p. 57–67, 2005.

TIAN, H. *et al.* Auxin-BR interaction regulates plant growth and development. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. January, p. 1–8, 2018a.

TIAN, M. Q. *et al.* Strigolactone-induced senescence of a bamboo leaf in the dark is alleviated by exogenous sugar. **Journal of Pesticide Science**, v. 43, n. 3, p. 173–179, 2018b.

TIWARI, S. B. *et al.* The Roles of Auxin Response Factor Domains in Auxin-Responsive Transcription Published by : **American Society of Plant Biologists (ASPB)**) Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/3871883> REFERENCES Linked references are available on JSTOR for this article. v. 15, n. 2, p. 533–543, 2016.

TORRES-VERA, R. *et al.* Expression of molecular markers associated to defense signaling pathways and strigolactone biosynthesis during the early interaction tomato-*Phelipanche ramosa*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 94, p. 100–107, 2016.

TOURNIER, B. *et al.* New members of the tomato ERF family show specific expression pattern and diverse DNA-binding capacity to the GCC box element. **FEBS Letters**, v. 550, n. 1–3, p. 149–154, 2003.

ULMASOV, T.; HAGEN, G.; GUILFOYLE, T. J. Activation and repression of transcription by auxin-response factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 10, p. 5844–5849, 1999.

UMEZAWA, T. *et al.* Molecular basis of the core regulatory network in ABA responses: Sensing, signaling and transport. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 11, p. 1821–1839, 2010.

VALLURU, R. *et al.* Foliar abscisic acid-to-ethylene accumulation and response regulate shoot growth sensitivity to mild drought in wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. APR2016, p. 1–13, 2016.

VELCULESCU, V.E. *et al.* Serial analysis of gene expression. **Science**, v. 5235, p. 484–487, 1995.

VELCULESCU, V. E. *et al.* Characterization of the yeast transcriptome. **Cell**, v. 88, n. 2, p. 243–251, 1997.

VERMA, V.; RAVINDRAN, P.; KUMAR, P. P. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12870-016-0771-y>>.

VURUKONDA, S. S. K. P. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WANG, C. *et al.* Insights into the origin and evolution of the plant hormone signaling machinery. **Plant Physiology**, v. 167, n. 3, p. 872–886, 2015.

WANG, K. *et al.* The role of C2H2 zinc finger proteins in plant responses to abiotic stresses. **Physiologia Plantarum**, v. 165, n. 4, p. 690–700, 2019a.

WANG, L. *et al.* Genome-wide analysis of bHLH transcription factor family reveals their involvement in biotic and abiotic stress responses in wheat (*Triticum aestivum* L.). **3 Biotech**, v. 9, n. 6, p. 1–12, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-019-1742-4>>.

WANG, L. *et al.* Strigolactone signaling in *Arabidopsis* regulates shoot development by targeting D53-like SMXL repressor proteins for ubiquitination and degradation. **Plant Cell**, v. 27, n. 11, p. 3128–3142, 2015.

- WANG, L. Shuang *et al.* Overexpression of GmBIN2, a soybean glycogen synthase kinase 3 gene, enhances tolerance to salt and drought in transgenic *Arabidopsis* and soybean hairy roots. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 9, p. 1959–1971, 2018a.
- WANG, P. *et al.* Genome-wide characterization of bhlh genes in grape and analysis of their potential relevance to abiotic stress tolerance and secondary metabolite biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. February, p. 1–15, 2018b.
- WANG, T. *et al.* Absciscic acid regulates auxin homeostasis in rice root tips to promote root hair elongation. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. June, p. 1–18, 2017.
- WANG, Z. *et al.* Overexpressing *Arabidopsis* ABF3 increases tolerance to multiple abiotic stresses and reduces leaf size in alfalfa. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 199–208, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.020>>.
- WANI, S. H.; KUMAR SAH, S. Biotechnology and Abiotic Stress Tolerance in Rice. **Rice Research: Open Access**, v. 2, n. 2, 2014.
- WASTERNAK, C.; HAUSE, B. Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1021–1058, 2013.
- WEI, Z.; LI, J. Brassinosteroids Regulate Root Growth, Development, and Symbiosis. **Molecular Plant**, v. 9, n. 1, p. 86–100, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.12.003>>.
- WEIJERS, D.; WAGNER, D. Transcriptional Responses to the Auxin Hormone. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, n. 1, p. 539–574, 2016.
- WEISS, D.; ORI, N. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. **Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 1240–1246, 2007.

WILLIGE, B. C. *et al.* Gibberellin regulates PIN-FORMED abundance and is required for auxin transport-dependent growth and development in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell**, v. 23, n. 6, p. 2184–2195, 2011.

WU, M. F. *et al.* Auxin-regulated chromatin switch directs acquisition of flower primordium founder fate. **eLife**, v. 4, n. OCTOBER2015, p. 1–20, 2015.

XU, Q. *et al.* Gibberellin-Regulation and Genetic Variations in Leaf Elongation for Tall Fescue in Association with Differential Gene Expression Controlling Cell Expansion. **Scientific Reports**, v. 6, n. April, p. 1–12, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep30258>>.

XU, W. *et al.* Absciscic acid accumulation modulates auxin transport in the root tip to enhance proton secretion for maintaining root growth under moderate water stress. **New Phytologist**, v. 197, n. 1, p. 139–150, 2013.

XU, Y. X. *et al.* Identification and expression profiling of the auxin response factors (ARFs) in the tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) under various abiotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 98, p. 46–56, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.11.014>>.

XU, Z. S. *et al.* Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (TaERF1) that increases multiple stress tolerance. **Plant Molecular Biology**, v. 65, n. 6, p. 719–732, 2007.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Transcriptional Regulatory Networks in Cellular Responses and Tolerance To Dehydration and Cold Stresses. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, n. 1, p. 781–803, 2006.

YAN, H. *et al.* BRASSINOSTEROID-SIGNALING kinase1 phosphorylates MAPKKK5 to regulate immunity in *arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 176, n. 4, p. 2991–3002, 2018.

YAN, Y. *et al.* Overexpression of GhWRKY27a reduces tolerance to drought stress and resistance to *Rhizoctonia solani* infection in transgenic *Nicotiana benthamiana*. **Frontiers in Physiology**, v. 6, n. SEP, p. 1–16, 2015.

YANG, C. *et al.* Activation of ethylene signaling pathways enhances disease resistance by regulating ROS and phytoalexin production in rice. **Plant Journal**, v. 89, n. 2, p. 338–353, 2017.

YANG, Yunqiang *et al.* A novel Ap2/ERF transcription factor from *Stipa purpurea* leads to enhanced drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Reports**, v. 35, n. 11, p. 2227–2239, 2016.

YE, H.; LI, L.; YIN, Y. Recent Advances in the Regulation of Brassinosteroid Signaling and Biosynthesis Pathways. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 53, n. 6, p. 455–468, 2011.

YE, N.; ZHANG, J. Antagonism between abscisic acid and gibberellins is partially mediated by ascorbic acid during seed germination in rice. **Plant Signaling and Behavior**, v. 7, n. 5, p. 6–9, 2012.

YIN, M. *et al.* The *Arabidopsis* Cys2/His2 zinc finger transcription factor ZAT18 is a positive regulator of plant tolerance to drought stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 11, p. 2991–3005, 2017.

YOSHIDA, T. *et al.* Revisiting the Basal Role of ABA – Roles Outside of Stress. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 7, p. 625–635, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.04.008>>.

YU, C. *et al.* A strategy for evaluating pathway analysis methods. **BMC Bioinformatics**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2017.

YU, J. *et al.* Overexpression of poplar pyrabactin resistance-like abscisic acid receptors promotes abscisic acid sensitivity and drought resistance in Transgenic *Arabidopsis*. **PLoS One**, v. 11, n. 12, p. 1–17, 2016.

ZHAI, Y. *et al.* Overexpression of soybean GmERF9 enhances the tolerance to drought and cold in the transgenic tobacco. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 128, n. 3, p. 607–618, 2017.

ZHANG, C. *et al.* Effects of endogenous abscisic acid, jasmonic acid, polyamines, and polyamine oxidase activity in tomato seedlings under drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 159, p. 172–177, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.05.013>>.

ZHANG, D.; XIA, R.; CAO, X. Ethylene modulates root hair development in trifoliate orange through auxin-signaling pathway. **Scientia Horticulturae**, v. 213, p. 252–259, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.007>>.

ZHANG, F. P. *et al.* Leaves, not roots or floral tissue, are the main site of rapid, external pressure-induced ABA biosynthesis in angiosperms. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 5, p. 1261–1267, 2018.

ZHANG, G. *et al.* Overexpression of the soybean GmERF3 gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 13, p. 3781–3796, 2009.

ZHANG, J. Y. *et al.* Overexpression of the *Malus hupehensis* MhNPR1 gene increased tolerance to salt and osmotic stress in transgenic tobacco. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 3, p. 1553–1561, 2014.

ZHANG, Q. *et al.* The putative auxin efflux carrier OsPIN3t is involved in the drought stress response and drought tolerance. **Plant Journal**, v. 72, n. 5, p. 805–816, 2012.

ZHANG, Y. *et al.* CsWRKY46, a WRKY transcription factor from cucumber, confers cold resistance in transgenic-plant by regulating a set of cold-stress responsive genes in an ABA-dependent manner. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 108, p. 478–487, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.013>>.

ZHANG, Y. *et al.* Salicylic acid alleviates cadmium-induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). **Protoplasma**, v. 252, n. 3, p. 911–924, 2015a.

ZHANG, Y.; RUYTER-SPIRA, C.; BOUWMEESTER, H. J. Engineering the plant rhizosphere. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 136–142, 2015b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.12.006>>.

ZHAO, B. Y. *et al.* BnaABF2, a bZIP transcription factor from rapeseed (*Brassica napus* L.), enhances drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. **Botanical Studies**, v. 57, n. 1, p. 0–11, 2016.

ZHOU, F. *et al.* D14-SCF D3 -dependent degradation of D53 regulates strigolactone signalling. **Nature**, v. 504, n. 7480, p. 406–410, 2013.

ZHOU, X. *et al.* A maize jasmonate Zim-domain protein, ZmJAZ14, associates with the JA, ABA, and GA signaling pathways in transgenic Arabidopsis. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–21, 2015

ZHU, Z. *et al.* Derepression of ethylene-stabilized transcription factors (EIN3/EIL1) mediates jasmonate and ethylene signaling synergy in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 30, p. 12539–12544, 2011.

ZHU, Z.; LEE, B. Friends or foes: New insights in jasmonate and ethylene co-actions. **Plant and Cell Physiology**, v. 56, n. 3, p. 414–420, 2015

ZWANENBURG, B.; POSPÍŠIL, T.; ČAVAR ZELJKOVIĆ, S. Strigolactones: new plant hormones in action. **Planta**, v. 243, n. 6, p. 1311–1326, 2016.

APÊNDICE A

Apêndice A - Alvos recuperados para vias de transdução de sinal pelos fitohormônios Auxina (AUX), Citocinina (CK), Giberelina (GA), Ácido Abscísico (ABA), Jasmonato (JAs), Etileno (ETH), Ácido Salicílico (SA), Brassinosteróides (BRs) e Estrigolactonas (SL). *T/P: número de sequências de transcritos e proteínas recuperadas para cada alvo.

Via	Alvo	Anotação	*T/ P
AUX	ABP1	<i>Auxin-binding protein 1</i>	3
AUX	AUX1	<i>Auxin transporter-like protein 5</i>	10
AUX	PINs	<i>Pin-formed family proteins</i>	38
AUX	TIR1	<i>Transport inhibitor response 1</i>	3
AUX	ABF	<i>Auxin-sinaling F-box protein</i>	3
AUX	AUX/ IAA	<i>Auxin-responsive protein IAA</i>	36
AUX	TPL	<i>Protein TOPLESS</i>	9
AUX	ARF	<i>Auxin response factor</i>	15
AUX	GH3	<i>Indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3</i>	12
AUX	SAUR	<i>Auxin-responsive protein SAUR</i>	81
Ck	ABCG14	<i>ABCG14 transporter G family member 14</i>	3
Ck	CRE1	<i>Histidine kinase</i>	5
Ck	AHP	<i>Histidine-containing phosphotransfer peotein</i>	11
Ck	CRF	<i>Cytokinin responses factors</i>	5
Ck	B-ARR	<i>Two-component response regulator ARR-B Family</i>	17
Ck	A-ARR	<i>Two-component response regulator ARR-A Family</i>	9
GA	GID1	<i>Gibberellin receptor GID1</i>	4
GA	DELLA	<i>DELLA protein</i>	4
GA	GID2	<i>F-box protein GID2</i>	4
GA	TFs	<i>Phytochrome-interacting factor 3</i>	8
ABA	PDRs	<i>Pleiotropic drug resistance</i>	51
ABA	ABCG25	<i>ATP binding cassette 25</i>	1
ABA	AIT5	<i>Protein NRT1/ PTR Family</i>	3
ABA	PYR/ PYL	<i>Abscisic acid receptor PYR/PYL Family</i>	11
ABA	PP2C	<i>Protein phosphatase 2C</i>	22
ABA	SnRK2	<i>Serine/threonine-protein kinase SRK2</i>	17
ABA	ABF	<i>ABA responsive element binding factor</i>	27
ABA	ABI5	<i>Protein abscisic acid intensive 5</i>	9
JAs	JAR1	<i>Jasmonic acid-amido synthetase JAR1</i>	3

Continuação

Via	Alvo	Anotação	*T/ P
JAs	COI1	<i>Coronatine-insensitive protein 1</i>	2
JAs	JAZ	<i>Jasmonate ZIM domain-containing protein</i>	9
JAs	AFP	<i>Ninja family protein</i>	3
JAs	MYC2	<i>Transcription factor MYC2</i>	3
ETH	ETR	<i>Ethylene receptor</i>	13
ETH	CTR1	<i>Serine/threonine-protein kinase CTR1</i>	5
ETH	SIMKK	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase</i>	1
ETH	MPK6	<i>Mitogen-activated protein kinase 6</i>	1
ETH	EIN2	<i>Ethylene-insensitive protein 2</i>	3
ETH	EBF1/2	<i>EIN3-binding F-box protein</i>	4
ETH	EIN3	<i>Ethylene-insensitive protein 3</i>	8
EHT	ERF1/2	<i>Ethylene-responsive transcription factor 1</i>	12
SA	NPR1	<i>Regulatory protein NPR1</i>	5
SA	TGA	<i>Transcription factor TGA</i>	37
SA	PR-1	<i>Pathogenesis-related protein 1</i>	7
SA	WRKYs	<i>WRKYs transcription factors</i>	17
BRs	BAK1	<i>Brassinosteroid insensitive 1-associated receptor kinase 1</i>	6
BRs	BRI1	<i>Protein brassinosteroid insensitive 1</i>	1
BRs	BKI1	<i>BRI1 kinase inhibitor 1</i>	3
BRs	BSK	<i>BR-signaling kinase</i>	4
BRs	BSU1	<i>Brassinosteroid insensitive 1 supressor 1</i>	2
BRs	BIN2	<i>Protein brassinosteroid insensitive 2</i>	5
BRs	BZR1/2	<i>Brassinosteroid resistant 1/ 2</i>	5
BRs	GRF	<i>General regulatory factor (14-3-3)</i>	11
BRs	PP2A	<i>Serine/ threonine-protein phosphatase PP2A</i>	6
BRs	TCH4	<i>Xyloglucan: xyloglucosyl transferase TCH4</i>	4
BRs	CYCD3	<i>Cyclin-D3-3</i>	5
SL	DWARF14	<i>Strigolactone esterase D14</i>	5
SL	MAX2	<i>Proteína F-box MAX2</i>	1
SL	SMXLS	<i>Estrigolactona esterase</i>	2
SL	TB1	<i>Teosinte branched 1</i>	16

APÊNDICE B

Apêndice B - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por auxina, e respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro), após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028078627.1	ABP1	Transportador	Ns	-1,72	UR	3,85
XM_028078629.1	ABP1	Transportador	Ns	-1,72	UR	3,85
XM_028078630.1	ABP1	Transportador	DR	-2,03	UR	5,79
XM_028065816.1	ABF	Transportador	DR	-2,79	ns	-1,37
XM_028059882.1	ARF	Fator de transcrição	DR	-2,61	ns	1,10
XM_028059883.1	ARF	Fator de transcrição	UR	2,31	ns	3,04
XM_028073035.1	ARF	Fator de transcrição	Ns	-1,05	UR	2,19
XM_028076496.1	ARF	Fator de transcrição	Ns	1,37	UR	2,18
XM_028056495.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	Ns	-1,37	DR	-2,34
XM_028078650.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	Ns	-1,23	DR	-2,00
XM_028062268.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	DR	-6,22	ns	0,90
XM_028069104.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	DR	-2,78	ns	1,53
XM_028072427.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	Ns	-1,37	UR	2,38
XM_028076474.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	Ns	1,14	UR	7,54
XM_028074181.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	2,01	UR	2,12
XM_028051018.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	2,66	UR	4,64
XM_028059704.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	6,97	UR	6,72

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028073244.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	10,10	UR	34,41
XM_028073245.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	4,14	UR	2,16
XM_028074180.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	2,01	UR	2,12
XM_028078860.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	7,49	UR	40,98
XM_028080258.1	AUX/ IAA	Regulador negativo	UR	2,07	ns	1,33
XM_028072547.1	AUX1	Transportador	ns	-0,30	DR	-3,19
XM_028053420.1	AUX1	Transportador	ns	1,87	DR	-2,66
XM_028084983.1	AUX1	Transportador	UR	2,04	ns	-1,32
XM_028051989.1	AUX1	Transportador	UR	3,02	ns	-1,21
XM_028051990.1	AUX1	Transportador	UR	3,02	ns	-1,21
XM_028051988.1	AUX1	Transportador	ns	1,64	UR	8,10
XM_028072546.1	AUX1	Transportador	ns	1,83	UR	2,70
XM_028071500.1	GH3	Fator de transcrição	DR	-4,92	DR	-15,32
XM_028056306.1	GH3	Fator de transcrição	ns	1,93	UR	3,50
XM_028058368.1	GH3	Fator de transcrição	UR	84,06	UR	39,37
XM_028058786.1	GH3	Fator de transcrição	UR	16,06	UR	10,52
XM_028086235.1	GH3	Fator de transcrição	ns	1,45	UR	7,00
XM_028086242.1	GH3	Fator de transcrição	ns	1,45	UR	7,00
XM_028049051.1	PINs	Transportador	ns	-1,21	UR	3,70
XM_028061150.1	PINs	Transportador	ns	1,21	UR	4,99

Continuação

ID transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028068401.1	PINs	Transportador	ns	1,17	UR	4,78
XM_028068405.1	PINs	Transportador	ns	1,29	UR	4,78
XM_028068406.1	PINs	Transportador	ns	-1,22	DR	-2,69
XM_028068407.1	PINs	Transportador	ns	1,17	UR	4,78
XM_028068410.1	PINs	Transportador	ns	1,17	UR	4,78
XM_028068411.1	PINs	Transportador	ns	-1,40	UR	5,00
XM_028068588.1	PINs	Transportador	ns	-1,89	UR	2,75
XM_028064086.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-4,67	DR	-19,14
XM_028082101.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-5,51	DR	-4,64
XM_028085866.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-3,91	DR	-6,59
XM_028046428.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-2,08	ns	1,01
XM_028047932.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-3,11	ns	2,06
XM_028048805.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-4,77	ns	1,63
XM_028048910.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-30,20	ns	2,23
XM_028048974.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-2,85	ns	-3,39
XM_028053995.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-2,90	ns	1,89
XM_028054904.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-5,39	ns	-1,13
XM_028071095.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-9,33	ns	0,18
XM_028071249.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-3,21	ns	2,02
XM_028075664.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-4,18	ns	-1,85

Continuação

ID transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028054905.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-5,39	ns	-1,13
XM_028050317.1	SAUR	Fator de transcrição	DR	-6,92	UR	2,89
XM_028050873.1	SAUR	Fator de transcrição	ns	1,10	UR	6,01
XM_028048971.1	SAUR	Fator de transcrição	UR	11,57	ns	1,70
XM_028045871.1	SAUR	Fator de transcrição	UR	2,39	ns	1,73
XM_028062459.1	SAUR	Fator de transcrição	UR	6,04	UR	11,05
XM_028066456.1	SAUR	Fator de transcrição	UR	28,72	UR	13,89
XM_028062547.1	TIR1	Co-receptor de AUX	ns	-1,92	DR	-2,83
XM_028063250.1	TIR1	Co-receptor de AUX	ns	-1,81	UR	2,36
XM_028080729.1	TIR1	Co-receptor de AUX	ns	1,04	UR	3,81
XM_028051393.1	TPL	Regulador negativo	UR	2,12	ns	1,07
XM_028079786.1	TPL	Regulador negativo	ns	-1,26	UR	11,30

APÊNDICE C

Apêndice C - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por Ácido Abscísico, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro) após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028081113.1	ABCG25	Transportador	UR	11,54	UR	8,32
XM_028080856.1	ABF	Fator de transcrição	ns	-1,41	DR	-2,26
XM_028065080.1	ABF	Fator de transcrição	ns	-1,21	DR	-2,70
XM_028068671.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,03	ns	-2,08
XM_028076695.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,59	ns	1,97
XM_028068672.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,03	ns	-2,08
XM_028068673.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,03	ns	-2,08
XM_028068674.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,03	ns	-2,08
XM_028068675.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,03	ns	-2,08
XM_028068676.1	ABF	Fator de transcrição	DR	-3,03	ns	-2,08
XM_028056014.1	ABF	Fator de transcrição	UR	3,05	ns	1,01
XM_028056015.1	ABF	Fator de transcrição	UR	3,05	ns	1,01
XM_028074475.1	ABF	Fator de transcrição	UR	3,56	ns	1,54
XM_028070506.1	AIT5	Transportador	ns	-1,37	UR	2,89
XM_028064030.1	PDRs	Transportador	ns	-1,51	DR	-2,03

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028064029.1	PDRs	Transportador	DR	-2,09	ns	-1,85
XM_028072692.1	PDRs	Transportador	ns	-1,16	DR	-3,36
XM_028081326.1	PDRs	Transportador	DR	-2,62	ns	1,26
XM_028069989.1	PDRs	Transportador	DR	-2,81	ns	-1,05
XM_028069988.1	PDRs	Transportador	DR	-2,81	ns	-1,05
XM_028069983.1	PDRs	Transportador	DR	-2,81	ns	-1,05
XM_028084855.1	PDRs	Transportador	UR	3,39	UR	16,73
XM_028046257.1	PDRs	Transportador	ns	1,29	UR	4,75
XM_028071244.1	PDRs	Transportador	ns	-1,00	UR	5,28
XM_028086034.1	PDRs	Transportador	UR	3,89	UR	16,70
XM_028084110.1	PDRs	Transportador	UR	3,77	UR	16,16
XM_028060671.1	PDRs	Transportador	UR	3,77	UR	16,16
XM_028060662.1	PDRs	Transportador	UR	3,77	UR	16,16
XM_028070360.1	PDRs	Transportador	UR	8,74	UR	35,12
XM_028052343.1	PDRs	Transportador	UR	9,36	UR	5,22
XM_028085068.1	PDRs	Transportador	UR	5,21	UR	3,09
XM_028082697.1	PP2C	Regulador negativo	DR	-2,71	ns	2,08
XM_028082698.1	PP2C	Regulador negativo	DR	-2,71	ns	2,08
XM_028082699.1	PP2C	Regulador negativo	DR	-2,71	ns	2,08

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028082700.1	PP2C	Regulador negativo	DR	-2,71	ns	2,08
XM_028049214.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049215.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049216.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049217.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049218.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049219.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049221.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028049223.1	PP2C	Regulador negativo	ns	1,58	UR	15,24
XM_028064179.1	PP2C	Regulador negativo	UR	4,16	UR	6,49
XM_028085041.1	PP2C	Regulador negativo	UR	2,76	UR	8,32
XM_028085799.1	PP2C	Regulador negativo	UR	35,58	UR	38,68
XM_028052483.1	PYL/PYR	Receptor de ABA	DR	-2,17	DR	-4,40
XM_028069847.1	PYL/PYR	Receptor de ABA	DR	-4,50	ns	-1,98
XM_028061365.1	PYL/PYR	Receptor de ABA	DR	-2,26	UR	4,77
XM_028050699.1	PYL/PYR	Receptor de ABA	ns	-1,09	UR	4,61
XM_028083026.1	SnRK2	Regulador positivo	UR	3,28	UR	4,37
XM_028052813.1	SnRK2	Regulador positivo	DR	-5,25	ns	1,57
XM_028052814.1	SnRK2	Regulador positivo	DR	-5,25	ns	1,57
XM_028049531.1	SnRK2	Regulador positivo	DR	-3,18	UR	9,19

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028052812.1	SnRK2	Regulador positivo	DR	-5,25	ns	1,57
XM_028063138.1	SnRK2	Regulador positivo	UR	2,57	ns	-1,56

APÊNDICE D

Apêndice D - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$). de feijão caupi, da via de transdução de sinal por Giberelina, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro), após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028067237.1	DELLA	Regulador negativo	ns	-1,46	DR	-2,85
XM_028080653.1	DELLA	Regulador negativo	ns	-1,96	DR	-2,94
XM_028066988.1	GID1	Receptor de GAs	UR	2,34	ns	-1,28
XM_028080772.1	GID1	Receptor de GAs	DR	-4,12	ns	-1,39
XM_028084476.1	GID2	Regulador positivo	ns	-1,53	DR	-2,80
XM_028084477.1	GID2	Regulador positivo	ns	-1,53	DR	-2,80
XM_028084478.1	GID2	Regulador positivo	ns	-1,53	DR	-2,80

APÊNDICE E

Apêndice E - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por citocinina, e respectivas regulações (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028059998.1	A-ARR	Regulador negativo	ns	1,17	DR	-2,01
XM_028046445.1	A-ARR	Regulador negativo	ns	-1,34	UR	8,42
XM_028055540.1	A-ARR	Regulador negativo	UR	2,41	UR	25,54
XM_028056387.1	A-ARR	Regulador negativo	UR	4,55	UR	3,94
XM_028061746.1	A-ARR	Regulador negativo	UR	4,96	UR	16,95
XM_028062188.1	A-ARR	Regulador negativo	UR	6,16	UR	20,07
XM_028064693.1	A-ARR	Regulador negativo	UR	4,10	UR	16,58
XM_028086654.1	A-ARR	Regulador negativo	UR	3,86	UR	4,53
XM_028058517.1	ABCG14	Transportador	ns	1,19	DR	-3,09
XM_028061771.1	ABCG14	Transportador	UR	3,22	UR	3,17
XM_028077692.1	AHP	Regulador positivo	ns	-1,47	DR	-4,16
XM_028082020.1	AHP	Regulador positivo	ns	-1,73	DR	-2,93
XM_028063154.1	APK4	Receptor de CK	ns	-1,56	UR	3,12
XM_028046795.1	B-ARR	Fator de transcrição	ns	-1,68	DR	-2,52
XM_028047420.1	B-ARR	Fator de transcrição	UR	2,14	ns	-1,79
XM_028083301.1	B-ARR	Fator de transcrição	ns	1,96	DR	-2,13
XM_028065824.1	B-ARR	Fator de transcrição	DR	-2,16	ns	-1,69

Continuação

ID transcrito	Componente	Função	Reg SI	FC	Reg PO	FC
XM_028084120.1	B-ARR	Fator de transcrição	DR	-2,62	ns	1,83
XM_028084130.1	B-ARR	Fator de transcrição	DR	-2,62	ns	1,83
XM_028084137.1	B-ARR	Fator de transcrição	DR	-2,62	ns	1,83
XM_028085712.1	CRE1	Receptor de CK	DR	-2,25	DR	-4,64
XM_028057957.1	CRE1	Receptor de CK	UR	2,36	ns	-1,11
XM_028063151.1	CRE1	Receptor de CK	ns	-1,56	UR	2,29
XM_028083905.1	CRF	Fator de transcrição	DR	-4,28	ns	0,54
XM_028062692.1	CRF	Fator de transcrição	DR	-5,57	ns	1,52
XM_028053502.1	CRF	Fator de transcrição	UR	2,73	DR	-4,53
XM_028084979.1	CRF	Fator de transcrição	ns	-1,88	DR	-14,44
XM_028065321.1	CRF	Fator de transcrição	UR	5,65	ns	1,41

APÊNDICE F

Apêndice F - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por jasmonato, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro) após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028072663.1	AFP3	Regulador negativo	UR	3,71	UR	3,53
XM_028084483.1	COI1	Receptor de JAs	DR	-9,17	ns	0,72
XM_028062306.1	COI1	Receptor de JAs	ns	1,13	UR	2,64
XM_028051629.1	JAR1	Regulador positivo	DR	-2,21	ns	1,83
XM_028076624.1	JAR1	Regulador positivo	UR	2,62	UR	5,00
XM_028056373.1	JAZ	Regulador negativo	DR	-3,46	UR	4,40
XM_028065138.1	JAZ	Regulador negativo	ns	-1,12	UR	52,96
XM_028046311.1	JAZ	Regulador negativo	ns	1,52	UR	5,96
XM_028048258.1	JAZ	Regulador negativo	UR	9,31	UR	150,60
XM_028052440.1	JAZ	Regulador negativo	UR	38,09	UR	18,53
XM_028057918.1	JAZ	Regulador negativo	UR	549,33	UR	627,15
XM_028060633.1	JAZ	Regulador negativo	UR	71,18	UR	218,76
XM_028066740.1	JAZ	Regulador negativo	ns	1,77	UR	5,10
XM_028085612.1	MCYC2	Fator de transcrição	UR	25,72	UR	19,81

APÊNDICE G

Apêndice G - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por Etileno, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro) após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028081279.1	CTR1	Regulador negative	DR	-2,18	UR	6,41
XM_028081280.1	CTR1	Regulador negative	ns	-2,00	UR	8,01
XM_028081281.1	CTR1	Regulador negative	DR	-2,18	UR	6,41
XM_028081282.1	CTR1	Regulador negative	DR	-2,18	UR	6,41
XM_028080072.1	CTR1	Regulador negative	ns	-1,33	UR	2,46
XM_028046263.1	EBF-1/2	Regulador negative	ns	1,31	UR	10,46
XM_028049328.1	EBF-1/2	Regulador negative	UR	2,13	UR	12,82
XM_028080788.1	EIN2	Regulador positive	ns	-1,14	UR	2,85
XM_028080789.1	EIN2	Regulador positive	ns	-1,14	UR	2,85
XM_028072383.1	EIN3	Fator de transcrição	UR	2,48	ns	1,12
XM_028074531.1	EIN3	Fator de transcrição	UR	2,62	ns	-1,15
XM_028072384.1	EIN3	Fator de transcrição	ns	1,53	UR	5,06
XM_028075104.1	EIN3	Fator de transcrição	ns	1,33	UR	2,64
XM_028047781.1	ERF-1/2	Fator de transcrição	UR	18,65	UR	6,36
XM_028063492.1	ERF-1/2	Fator de transcrição	UR	2,41	UR	4,42
XM_028079200.1	ERF-1/2	Fator de transcrição	UR	22,09	UR	42,84
XM_028079535.1	ERF-1/2	Fator de transcrição	UR	26,22	UR	28,63

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028076880.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-2,06	ns	2,15
XM_028078631.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-3,12	ns	1,60
XM_028078632.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-3,12	ns	1,60
XM_028054708.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-2,39	UR	3,50
XM_028054709.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-2,39	UR	3,50
XM_028054710.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-2,39	UR	3,50
XM_028054711.1	ETR	Receptor de ETH	DR	-2,39	UR	3,50
XM_028051082.1	SIMKK	Regulador negativo	UR	2,59	ns	-1,31

APÊNDICE H

Apêndice H - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por Brassinosteróides, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro) após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028061327.1	BAK1	Co-receptor de BRs	UR	11,04	UR	5,11
XM_028046973.1	BIN2	Regulador negativo	ns	-1,34	DR	-2,86
XM_028077980.1	BIN2	Regulador negativo	DR	-2,05	UR	6,53
XM_028086688.1	BRI1	Receptor de BRs	DR	-2,26	ns	1,04
XM_028066148.1	BSK	Regulador positivo	DR	-2,33	ns	-1,29
XM_028072695.1	BSU1	Regulador positivo	UR	2,84	UR	2,51
XM_028048449.1	BZR-1/2	Fator de transcrição	ns	-1,33	DR	-2,75
XM_028082685.1	BZR-1/2	Fator de transcrição	ns	-1,56	DR	-2,12
XM_028057942.1	BZR-1/2	Fator de transcrição	UR	2,89	UR	7,76
XM_028058700.1	BZR-1/2	Fator de transcrição	UR	2,69	UR	4,61
XM_028083239.1	CYCD3	Fator de transcrição	DR	-4,42	ns	1,26
XM_028086827.1	CYCD3	Fator de transcrição	DR	-2,37	ns	2,61
XM_028078235.1	CYCD3	Fator de transcrição	DR	-2,62	UR	2,19
XM_028084528.1	GRF (14-3-3)	Regulador geral	ns	1,13	UR	2,20
XM_028048060.1	GRF (14-3-3)	Regulador geral	ns	1,03	UR	5,28
XM_028048059.1	GRF (14-3-3)	Regulador geral	ns	1,03	UR	5,28
XM_028084204.1	PP2A	Regulador positivo	ns	1,16	UR	3,48

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028064587.1	TCH4	Fator de transcrição	UR	6,81	UR	40,33
XM_028064588.1	TCH4	Fator de transcrição	ns	1,72	UR	16,04
XM_028064589.1	TCH4	Fator de transcrição	UR	9,15	UR	95,00
XM_028065389.1	TCH4	Fator de transcrição	UR	2,53	UR	42,50

APÊNDICE I

Apêndice I - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por Ácido Salicílico, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro) após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change.

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028084575.1	NPR1	Regulador positivo	UR	5,20	UR	27,62
XM_028068305.1	TGA	Fator de Transcrição	DR	-2,50	DR	-2,74
XM_028073483.1	TGA	Fator de Transcrição	ns	-1,42	DR	-5,72
XM_028086583.1	TGA	Fator de Transcrição	ns	-1,94	DR	-3,65
XM_028060042.1	TGA	Fator de Transcrição	DR	-4,04	ns	-1,12
XM_028078459.1	TGA	Fator de Transcrição	DR	-3,71	Ns	2,25
XM_028079165.1	TGA	Fator de Transcrição	DR	-3,58	Ns	1,17
XM_028046723.1	TGA	Fator de Transcrição	DR	-2,08	UR	3,58
XM_028055979.1	TGA	Fator de Transcrição	DR	-4,10	UR	3,35
XM_028064748.1	WRKYS	Fator de Transcrição	ns	-0,51	UR	6,72
XM_028064746.1	WRKYS	Fator de Transcrição	ns	-0,51	UR	6,72
XM_028074113.1	WRKYS	Fator de Transcrição	ns	-1,94	UR	3,14
XM_028074639.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	8,01	UR	44,44
XM_028049499.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	6,10	UR	2,66
XM_028046269.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	6,37	UR	7,71
XM_028063463.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	122,44	UR	43,55
XM_028058768.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	3,42	UR	6,32

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028052496.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	4,29	UR	4,39
XM_028051976.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	4,25	Ns	1,12
XM_028070449.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	15,91	UR	57,68
XM_028059492.1	WRKYS	Fator de Transcrição	UR	4,03	UR	4,03

APÊNDICE J

Apêndice J - Transcritos diferencialmente expressos ($p < 0,05$; $FDR < 0,01$) de feijão caupi, da via de transdução de sinal por Estrigolactonas, e suas respectivas regulações observadas (Reg.) e valores de FC, nas respostas das cultivares sensível (SI: Santo Inácio) e tolerante (PO: Pingo de Ouro) após raízes expostas ao ar (até 150 min). *ID: identificador do transcrito; **FC: fold change

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028054736.1	MAX2	Regulador negativo	UR	2,21	ns	1,16
XM_028068509.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068508.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068507.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068506.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068505.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068504.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068503.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068502.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068501.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068500.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068498.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068497.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068496.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068495.1	TB1	Fator de transcrição	ns	1,49	UR	13,28
XM_028068933.1	dwarf	Regulador positivo	DR	-5,41	ns	-1,33
XM_028085630.1	dwarf	Regulador positivo	DR	-7,51	UR	5,38

Continuação

ID* transcrito	Componente	Função	Reg. SI	FC**	Reg. PO	FC**
XM_028077437.1	dwarf	Regulador positivo	DR	-2,53	ns	1,31
XM_028051393.1	TPL	Regulador negativo	UR	2,12	ns	1,07
XM_028079786.1	TPL	Regulador negative	ns	-1,26	UR	11,30

APÊNDICE K

Apêndice K - Proteínas identificadas na rede de proteína-proteína prevista para *A. thaliana*, com base nos transcritos exclusivamente induzidos (UR) na cultivar Santo Inácio (sensível), após estímulo de desidratação radicular.

Proteína	Anotação
ABI1	Protein phosphatase 2C family protein
ABI2	Protein phosphatase 2C family protein
AXR3	AUX/IAA transcriptional regulator family protein
CTR1	Serine/threonine-protein kinase CTR1
EBF1	EIN3-binding F box protein 1
EBF2	EIN3-binding F box protein 2
EIL1	ETHYLENE INSENSITIVE 3-like 1 protein
EIN2	NRAMP metal ion transporter family protein
ETR1	Signal transduction histidine kinase
GAI	GRAS family transcription factor family protein
GID1A	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HAB1	Protein phosphatase 2C 16
IAA14	Indole-3-acetic acid inducible 14
IAA7	Auxin-responsive protein IAA7
KAI2	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
OZS1	C4-dicarboxylate transporter/malic acid transport protein
PYL1	Absciscic acid receptor PYL1
PYL10	Absciscic acid receptor PYL10
PYL2	Absciscic acid receptor PYL2
PYL3	Absciscic acid receptor PYL3
PYL4	Absciscic acid receptor PYL4
PYR1	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily protein
RCAR1	Regulatory component of ABA receptor 1
RCAR3	Regulatory components of ABA receptor 3
RGA1	GRAS family transcription factor family protein
SKP1	S phase kinase-associated protein 1
SLY1	F-box family protein
SNRK2.2	Serine/threonine-protein kinase SRK2D
SNRK2.3	Sucrose nonfermenting 1(SNF1)-related protein kinase 2.3
TIR1	Protein TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1

Continuação

Proteína	Anotação
XP_027901672.1	auxin-responsive protein SAUR32
XP_027903221.1	two-component response regulator ARR12
XP_027904772.1	auxin-responsive protein SAUR23-like
XP_027906883.1	mitogen-activated protein kinase kinase 5-like
XP_027907194.1	Vigna unguiculata protein TOPLESS-like (LOC114166640), mRNA
XP_027907777.1	probable WRKY transcription factor 46
XP_027907791.1	auxin transporter-like protein 4
XP_027909303.1	AP2-like ethylene-responsive transcription factor At1g79700
XP_027910537.1	F-box/LRR-repeat MAX2 homolog A
XP_027911816.1	ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5-like protein 2
XP_027913758.1	histidine kinase 4-like
XP_027915684.1	auxin response factor 1-like
XP_027918939.1	serine/threonine-protein kinase SAPK2
XP_027921122.1	AP2-like ethylene-responsive transcription factor AIL5
XP_027922789.1	gibberellin receptor GID1B-like
XP_027928184.1	ETHYLENE INSENSITIVE 3-like 3 protein
XP_027930276.1	G-box-binding factor 4-like
XP_027930332.1	protein ETHYLENE INSENSITIVE 3-like
XP_027936059.1	auxin-responsive protein IAA11

APÊNDICE L

Apêndice L - Proteínas identificadas na rede de proteína-proteína prevista para *A. thaliana*, com base nos transcritos exclusivamente induzidos (UR) na cultivar Pingo de ouro (tolerante), após estímulo de desidratação radicular.

Proteína	Anotação
APC10	Anaphase-promoting complex subunit 10
AT2G32730	Rpn2/Psmd1 subunit
AT4G24820	26S proteasome, regulatory subunit Rpn7
BES1	Brassinosteroid signalling positive regulator (BZR1) family protein
BSU1	Serine/threonine protein phosphatase family protein
BZR1	Protein BRASSINAZOLE-RESISTANT 1
CDC2	A-type cyclin-dependent kinase
CDKB1;1	Cyclin-dependent kinase B1-1
CDKB1;2	Cyclin-dependent kinase B1-2
CKS1	Catalytic subunit of cyclin dependent kinase 1
CKS2	Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 2
CYCA3;1	Putative cyclin-A3-1
CYCA3;3	Cyclin A3
CYCA3;4	CYCLIN A3
CYCB2;2	Cyclin B2
CYCB2;4	CYCLIN B2
CYCD2;1	Cyclin D2
CYCD3;1	CYCLIN D3
CYCD3;3	Encode CYCD3
CYCD4;1	CYCLIN D4
CYCD6;1	Putative cyclin-D6-1
EBF1	EIN3-binding F box protein 1
EIN4	Signal transduction histidine kinase, hybrid-type, ethylene sensor
ERS1	Ethylene response sensor 1
IAA7	Auxin-responsive protein IAA7
ICK3	Kip-related protein (KRP)
ICK5	Kip-related protein (KRP)
JAZ1	jasmonate ZIM domain-containing protein
KRP2	Kip-related protein (KRP)
RPN1A	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 homolog A

Continuação

Proteína	Anotação
RPT3	26S proteasome regulatory subunit 6B homolog
XP_027902058.1	pleiotropic drug resistance protein 1-like
XP_027902064.1	EIN3-binding F-box protein 1-like
XP_027902112.1	protein TIFY 3-like
XP_027902246.1	two-component response regulator ARR17-like
XP_027902524.1	bZIP transcription factor TGA10-like isoform X1
XP_027903860.1	14-3-3-like protein isoform X1
XP_027905024.1	protein phosphatase 2C 50-like
XP_027905332.1	serine/threonine-protein kinase SRK2A-like
XP_027906118.1	auxin-responsive protein SAUR32
XP_027906500.1	abscisic acid receptor PYL4-like
XP_027906674.1	auxin-responsive protein SAUR36-like
XP_027910512.1	ethylene receptor
XP_027911780.1	transcription factor TGA9-like isoform X1
XP_027912107.1	indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.6-like
XP_027912174.1	protein TIFY 6A-like isoform X1
XP_027916951.1	Vigna unguiculata auxin efflux carrier component 2
XP_027917166.1	abscisic acid receptor PYR1-like
XP_027918107.1	coronatine-insensitive protein 1
XP_027918952.1	histidine kinase 4-like isoform X1
XP_027920389.1	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 22-like
XP_027920547.1	disease resistance protein At4g27190-like isoform X1
XP_027922541.1	protein TIFY 6B-like isoform X1
XP_027924296.1	probable cyclic nucleotide-gated ion channel 20
XP_027924389.1	Vigna unguiculata probable auxin efflux carrier component 1c
XP_027926307.1	protein NRT1/ PTR FAMILY 5.6-like
XP_027927045.1	ABC transporter G family member 36
XP_027928185.1	ETHYLENE INSENSITIVE 3-like 3 protein
XP_027928228.1	auxin-responsive protein IAA26-like isoform X2
XP_027928347.1	auxin transporter-like protein 2
XP_027928836.1	auxin response factor 9-like
XP_027929914.1	WRKY DNA-binding transcription factor 70-like
XP_027930905.1	ETHYLENE INSENSITIVE 3-like 1 protein

Continuação

Proteína	Anotação
XP_027932275.1	auxin-responsive protein IAA16-like
XP_027932297.1	auxin response factor 1-like
XP_027933781.1	shaggy-related protein kinase eta-like
XP_027934431.1	Vigna unguiculata auxin-binding protein T85
XP_027935587.1	Vigna unguiculata topless-related protein 3-like
XP_027936530.1	protein TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1-like
XP_027935873.1	serine/threonine-protein kinase CTR1
XP_027936590.1	ethylene-insensitive protein 2
XP_027940005.1	serine/threonine-protein phosphatase PP2A catalytic subunit
XP_027941431.1	strigolactone esterase RMS3
XP_027942043.1	probable indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.6 isoform X2