

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ANITA LIMA DE SOUZA

**Citotaxonomia de espécies de *Carapa* e proteoma funcional de *Carapa surinamensis*
Miq.**

MANAUS

2019

ANITA LIMA DE SOUZA

**Citotaxonomia de espécies de *Carapa* e proteoma funcional de *Carapa surinamensis*
Miq.**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas como requisito para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

ORIENTADOR: DR. EDMAR VAZ DE ANDRADE

MANAUS

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729c Souza, Anita Lima de
Citotaxonomia de espécies de Carapa e proteoma funcional de
Carapa surinamensis Miq. / Anita Lima de Souza. 2019
118 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Edmar Vaz de Andrade
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do
Amazonas.

1. Andiroba. 2. Carapa. 3. Semente. 4. Proteoma. 5. Citogenética
vegetal. I. Andrade, Edmar Vaz de II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

ANITA LIMA DE SOUZA

**Citotaxonomia de espécies de *Carapa* e proteoma funcional de *Carapa surinamensis*
Miq.**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas como requisito para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Aprovada em dezanove de dezembro de dois mil e dezanove

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edmar Vaz de Andrade, Presidente

Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Prof. Dr. Diego Sotero de Barros Pinangé, Membro

Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Profa. Dra. Elen Bethleen de Souza Carvalho, Membro

Escola Superior Batista do Amazonas - ESBAM

Profa. Dra. Eliane Carvalho dos Santos, Membro

Centro Universitário do Norte - UNINORTE

Profa. Dra. Lucyanna Moura Coelho, Membro

Universidade Federal do Amazonas - UFAM

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por mais esta conquista, pela vida, pela força e perseverança.

Meus pais, Sérgio e Rosa. Muito obrigada por todo apoio e grande incentivo a minha carreira. Vocês são meu porto seguro, minha rocha. Essa conquista também é de vocês, por vocês e pra vocês!

Meu amado esposo Anderson pelo incentivo e apoio. Pela paciência e compreensão diante de minha ausência. Ao meu lindo e amado filho, Efraim, que também faz parte dessa história. Amo muito vocês.

Meu chefe, orientador e grande amigo, Dr. Edmar Vaz de Andrade (o Ed), por todos esses anos trabalhando juntos. Foram anos de muito aprendizado. Muito obrigada chefe pela paciência, atenção, orientação e amizade dispensados a mim. Tenho muito carinho e grande admiração por você;

Aos colegas de laboratório: Belle (Preciosa, que agora é professora), Nino, Jeff, Genilton, Rejane, e demais pelas boas conversas e companheirismo;

As meninas: Pamella, Suelen, Lorena, Samanta e Lanna pela amizade, companheirismo e boas comilanças;

A Canto da Luz e ao sr. Raimundo Luz por não medirem esforços durante as visitas à campo e coletas, viabilizando o suprimento de sementes para realização deste trabalho;

Ao professor Dr. Spartaco Astolfi Filho pelo apoio e grande incentivo nos momentos de aconselhamento científico;

Ao professor Dr. Diego Sotero e mestrandia Giulia pela paciência e tempo dispensado a me ensinar a citogenética vegetal;

Ao professor Dr. Jose Ferreira pelas boas conversas e suprimento de nitrogênio líquido quando precisei;

Ao professor Dr. Emerson, Kriscia e Ellen pelo apoio com o uso do laboratório de Microscopia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas;

A Universidade Federal do Amazonas, CAM e PPGBiotec pela oportunidade de desenvolver esse trabalho e alcançar mais essa conquista;

Ao LNBio por viabilizar as análises de espectrometria de massas;

Ao CNPq pelo auxílio financeiro;

E a todos que de alguma forma tornaram esse sonho possível. Muito obrigada!

**"⁶Não abandone a sabedoria, e ela protegerá você. Ame-a, e ela lhe dará segurança.
^{7a}Para ter sabedoria, é preciso primeiro pagar seu preço.. ⁸Ame a sabedoria, e ela o
tornará importante; abrace-a e você será respeitado." Provérbios de Salomão, cap.
4 (NTLH).**

RESUMO

A andirobeira é uma espécie vegetal arbórea pertencente a família Meliaceae, do gênero *Carapa*. É uma planta de múltiplo uso, pois apresenta madeira de boa qualidade, comparável ao mogno. De suas sementes é extraído o óleo, que é muito utilizado pelos povos tradicionais como anti-inflamatório, cicatrizante, repelente de insetos, entre outros. Ao longo dos anos a ciência vem confirmando gradativamente todas as aplicações descritas pelo uso tradicional, aumentando o conhecimento acerca das reais propriedades desse óleo tão precioso. *Carapa* é uma espécie de grande importância socioeconômica, pois seu uso tradicional atrelado ao grande potencial biotecnológico que apresenta, gera oportunidade de negócio para os povos amazônicos. A construção de bases de dados, juntamente com a elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos com a síntese dos bioativos, permitirão conhecimentos aprofundados em relação à espécie e direcionamentos para o melhor aproveitamento de suas propriedades. Os estudos citogenéticos nos revelam que, apesar das dificuldades de identificação das espécies de *Carapa* em campo, estas são de fato, espécies diferentes. As duas populações de *C. guianensis*, Cg1 e Cg2, apresentaram um número cromossômico $2n = 50$. Por outro lado a população 1 de *C. surinamensis* - Cs1 apresentou um número cromossômico $2n = 42$ e Cs2 não foi conclusivo, variando de $2n = 36$ a $2n = 50$. Pelo perfil proteômico das sementes de *C. surinamensis* em diferentes estádios de maturação, observou-se que as atividades metabólicas em semente verde (SV) estão elevadas, por ser esta uma fase de enchimento das sementes e portando, as demandas energéticas também o são, bem como a produção de metabólitos secundários. Destaca-se especialmente as vias envolvidas com a síntese de polifenóis - flavonoides e fenilpropanoides. Estes foram identificados exclusivamente em SV. Foram identificadas poucas proteínas envolvidas com a síntese de terpenoides, indicando que sua produção possa estar ocorrendo em outros tecidos, ou em outro estágio de maturação. Os resultados citogenéticos descritos nesse trabalho contribuem para uma melhor identificação das espécies do gênero *Carapa*. Somando-se aos dados proteômicos

obtidos, favorecem um melhor aproveitamento das sementes destas espécies, agregando, portanto, valor biotecnológico e uso sustentável desta importante espécie vegetal.

Palavras-chaves: Andiroba. *Carapa*. Semente. Proteoma. Citogenética vegetal.

ABSTRACT

Andirobeira is a tree species in the family Meliaceae, genus *Carapa*. It is a multipurpose plant because it has good quality wood, comparable to mahogany. From its seed is extracted oil, which is widely used by traditional people as anti-inflammatory, healing, insect repellent, among others. Over the years science has gradually confirmed all the applications described by traditional use, increasing the knowledge about the real properties of this precious oil. *Carapa* is a species of great socioeconomic importance, because its traditional use coupled with the great biotechnological potential that presents, generates business opportunity for the Amazonian peoples. The construction of databases, together with the elucidation of the molecular mechanisms involved with bioactive synthesis, will allow in-depth knowledge about the species and directions for the best use of its properties. Cytogenetic studies reveal that, despite the difficulties in identifying *Carapa* species in the field, they are in fact different species. The two populations of *C. guianensis*, Cg1 and Cg2, presented a chromosome number $2n = 50$. On the other hand, the population 1 of *C. surinamensis* - Cs1 presented a chromosome number $2n = 42$ and Cs2 was not conclusive, ranging from $2n = 36$ at $2n = 50$. Due to the proteomic profile of *C. surinamensis* seeds at different maturity stages, it was observed that the metabolic activities in SV are high, as this is a phase of seed filling and therefore, the energy demands are also, as well as the production of secondary metabolites. In particular, we highlight the pathways involved with the synthesis of polyphenols - flavonoids and phenylpropanoids. These were uniquely identified in SV. Few proteins involved with terpenoid synthesis have been identified, indicating that their production may be occurring in another tissue or at another stage of maturation. The cytogenetic results described in this work contribute to a better identification of *Carapa* species. In addition to the proteomic data obtained, they favor a better use of the seeds of these species, thus adding biotechnological value and sustainable use of this important plant species.

Keywords: Andiroba. *Carapa*. Seed. Proteoma. Plant cytogenetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Distribuição global das espécie de <i>Carapa</i>	4
Figura 02 - Prancha de identificação de <i>C. surinamensis</i> (esquerda) e <i>C. guianensis</i> (direita).....	5
Figura 03 - Distribuição de <i>C. guianensis</i>	6
Figura 04 - Distribuição de <i>C. surinamensis</i>	7
Figura 05 - Visão geral da área de coleta das sementes de <i>C. surimanensis</i> no sítio dos Moris, Km 47 AM-010.....	15
Figura 06 - Área de coleta das sementes.....	16
Figura 07 - Substrato utilizado para germinar as sementes para estudo citogenético (a) coletado sob a copa das andirobeiras no ponto de coleta de Cs1.....	17
Figura 08 - Visualização do hilo das sementes de espécies de <i>Carapa</i>	22
Figura 09 - Plântulas e sementes germinadas.....	23
Figura 10 - Células de <i>Carapa guianensis</i> . Cg1 (a) e Cg2 (b), ambas contendo um numero cromossômico de $2n=50$	24
Figura 11 - Células de <i>C. surinamensis</i> . Cs1 (a), $2n = 42$; Cs2 (b), $2n = 50$ (esquerda) e $2n = 36$ (direita).....	25
Figura 12 - Extração de proteínas de <i>C. surinamensis</i>	27
Figura 13 - Análise em SDS-PAGE dos extratos proteicos de semente de <i>C. surinamensis</i>	28
Figura 14 - Representação da distribuição de proteínas expressas para as condições SV e SM.....	29
Figura 15 - Via das pentoses fosfato.....	33
Figura 16 - Metabolismo de purinas.....	34
Figura 17 - Gel Semente Madura.....	35
Figura 18 - Representação da distribuição de proteínas identificadas envolvidas com o metabolismo de lipídeos.....	38
Figura 19 - Ciclo do ácido cítrico e produção de acetil-CoA.....	40
Figura 20 - Biossíntese de ácidos graxos.....	41
Figura 21 - Vias de biossíntese dos terpenóides.....	45
Figura 22 - Vias de biossíntese dos fenilpropanóides.....	46

Figura 23 - Biossíntese de flavonóides.....	48
--	-----------

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Categorização de proteínas de semente de <i>Carapa surinamensis</i>.....	30
--	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Coordenadas geográficas das áreas de coleta das sementes.....	16
Tabela 02 - Categorização de proteínas de semente de <i>C. surinamensis</i>.....	30
Tabela 03 - Proteínas envolvidas com metabolismo de lipídeo identificadas nas condições em estudo.....	36
Tabela 04: Proteínas envolvidas com metabolismo secundário identificadas nas condições em estudo.....	42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Aspectos botânicos e distribuição geográfica das espécies do gênero <i>Carapa</i> de ocorrência na Amazônia	4
2.2. Citogenética em Meliaceae	7
2.3. Metabolismo vegetal e desenvolvimento das sementes	9
2.4. Proteoma vegetal	11
3. OBJETIVOS	13
3.1 Objetivo Geral	13
3.2 Objetivos Específicos	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1 Coleta de material biológico - sementes	14
4.2 Estudo citogenético	17
4.2.1. Pré-tratamento com antimitótico e fixação das raízes.....	17
4.2.2. Montagem das lâminas e coloração convencional	17
4.3 Estudo Proteômico	18
4.3.1 Extração de proteínas	18
4.3.2 Dosagem de proteínas e fracionamento por SDS-PAGE	19
4.3.3 Recorte das bandas do gel e digestão das amostras	20
4.3.4 Análise por Espectrometria de Massas	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1 Germinação das sementes e estudo citogenético	21
5.2 Preparo dos extratos proteicos para estudo proteômico	26
5.3 Espectrometria de Massas	28
5.4 Descrição dos principais grupos de proteínas identificados nas sementes de <i>C. surinamensis</i>	31
5.4.1. Grupos envolvidos com metabolismo primário e comuns aos dois estádios	31
5.4.2. Grupos de proteínas expressos exclusivamente em cada estágio de maturação	33
5.4.3. Metabolismo de lipídeos	36
5.4.4. Metabolismo secundários	41
6. CONCLUSÃO	48
7. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES DURANTE DOUTORAMENTO	50
8. APÊNDICES	52
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pelos povos tradicionais é uma prática bastante antiga para o tratamento de uma ampla gama de enfermidades, principalmente na região Amazônica, onde o acesso à saúde é precário, e o uso de tratamentos alternativos é tradicional. Este conhecimento tem atraído a atenção das ciências e direcionado muitas pesquisas com vegetais, a fim de provar seus usos e aplicações descritos pelo conhecimento tradicional. A lista de espécies vegetais utilizadas nestas práticas é grande e entre elas encontra-se a andirobeira.

A andirobeira é uma espécie arbórea Amazônica pertencente à família Meliaceae. Ocorre na região dos Neotrópicos, abrangendo o norte da América do Sul e o sul da América Central (PENNINGTON et al., 1981; KENFACK, 2011a). Segundo revisão taxonômica mais recente, o gênero *Carapa* apresenta 27 morfoespécies diferentes, sendo três de ocorrência na região Amazônica: *C. guianensis* Aubl., *C. surinamensis* Miq. e *C. vasquesii* Kenfack (KENFACK, 2011a; KENFACK, 2011b). Destas, duas espécies são exploradas para extração de óleo: *C. guianensis* Aubl. e *C. surinamensis* Miq. É uma espécie de múltiplo uso, por produzir madeira de alta qualidade, semelhante ao mogno, muito utilizada na construção civil, e óleo que é extraído das suas sementes, conhecido popularmente como óleo de andiroba. Em comparação com a exploração madeireira, a coleta das sementes necessita pouco investimento e, além de não ser destrutiva, a produção do óleo pode assegurar um retorno econômico anual para a população local (MENDONÇA & FERRAZ, 2007).

O óleo de andiroba é um produto de grande destaque na região Amazônica, por apresentar oportunidade de negócio para os povos locais. É muito utilizado como fitocosmético e fitoterápico, como antisséptico, vermífugo, cicatrizante, purgativo, emoliente, suavizante e hidratante da pele e cabelos. Ele auxilia no tratamento das afecções do trato respiratório, febre, faringite, amigdalite, laringite, tosse, gripe, bronquite, pneumonia, reumatismo, artrite, fadiga muscular, edemas, hematomas, feridas, entre muitas outras. Apresenta comprovada ação como anti-inflamatório (PENIDO et al., 2006; HENRIQUES & PENIDO, 2014), anti-alérgico (PENIDO et al.,

2005; FERRARIS et al., 2011; FERRARIS et al., 2012; HENRIQUES & PENIDO, 2014), repelente de insetos (PROPHIRO et al., 2012), analgésico (PENIDO et al., 2005), cicatrizante (SILVA et al., 2015), anti-plasmodial (MIRANDA JUNIOR et al., 2012), anti-fúngico (FARIAS et al., 2016, NASCIMENTO et al., 2019), anti-malárico (PEREIRA et al., 2014), anti-microbiano (BATAGLION et al., 2014), inseticida (SANTOS et al., 2016), protege o DNA celular contra danos oxidativos (MILHOMEM-PAIXÃO et al., 2016), estimulante do sistema imunológico (FERRARIS et al., 2011), entre outros.

A família Meliaceae apresenta uma característica marcante que é a presença dos limonoides. Estas são moléculas da classe dos terpenóides - triterpenos modificados, compostos por cerca de 30 carbonos e um anel furano (em substituição a 4 carbonos terminais da cadeia lateral), são os principais representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida (VIEGAS-JUNIOR, 2003). A presença dessas moléculas nas folhas, casca e sementes é que conferem o característico sabor amargo desta espécie (VIEGAS-JUNIOR, 2003). É uma espécie bem conhecida quimicamente, porém, as informações moleculares a respeito do gênero *Carapa* ainda são escassas. As poucas informações presentes em literatura são referentes a espécie *C. guianensis*. Brousseau e colaboradores (2014) realizaram análises transcriptômicas em raízes, caules e folhas de plantas jovens de quatro espécies florestais neotropicais de diferentes famílias, e dentre estas a espécie da família Meliaceae foi *C. guianensis*. Observaram 21.770 *contigs* dos quais 78,9% (17184) apresentaram *blast* positivo em banco de dados e para os outros 21,2% (4586) não obtiveram resultados disponíveis nos bancos de dados. Mader e colaboradores (2018) realizaram o sequenciamento completo do genoma cloroplastial de quatro espécies da família Meliaceae, dentre elas *C. guianensis*, que apresentou um genoma circular de 159.483 pb, codificando 130 proteínas (GenBank: MF401522.1). Esses estudos são um primeiro passo para a aquisição de informações genômicas muito necessárias para as espécies do gênero *Carapa*, permitindo a construção de um banco de dados muito importante para os estudos proteômicos. Até presente data não foram realizados trabalhos proteômicos com espécies do gênero *Carapa*, sendo este um trabalho pioneiro.

A grande importância socioeconômica aliada ao potencial biotecnológico da andiroba tem despertado considerável interesse científico no desenvolvimento das

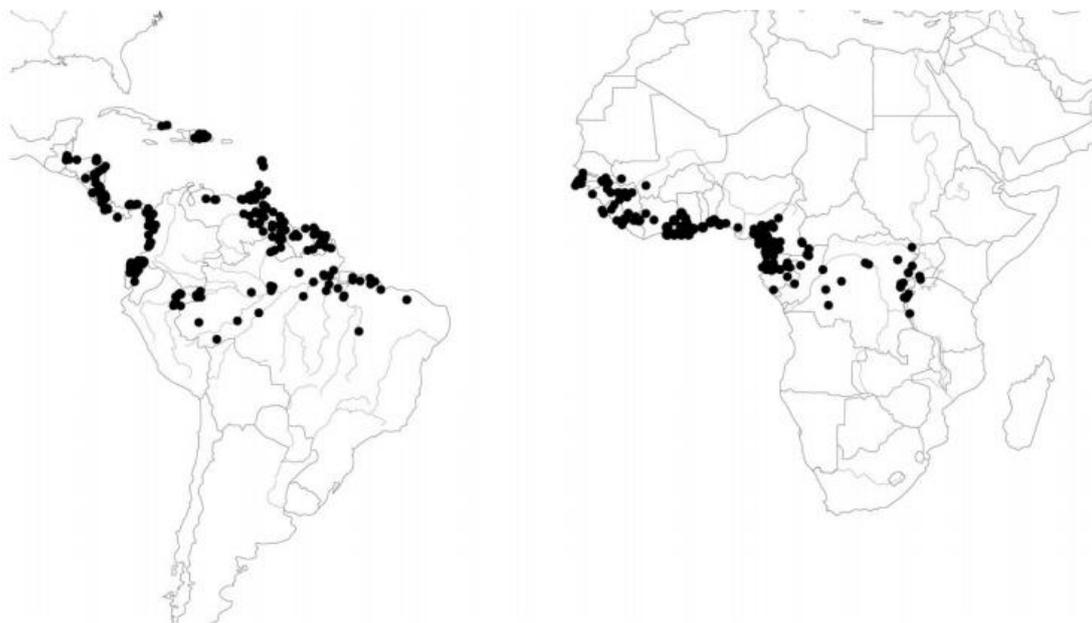
pesquisas de base, genética e molecular. Estes estudos permitirão elucidar a organização do genoma e os mecanismos moleculares ativos durante a maturação das sementes desta espécie, bem como as rotas biossintéticas dos limonoides, a fim de se explorar todo potencial desta espécie vegetal tão promissora.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos botânicos e distribuição geográfica das espécies do gênero *Carapa* de ocorrência na Amazônia

A família Meliaceae compreende 51 gêneros distribuídas na região Neotropical. Está entre as famílias vegetais com espécies de grande interesse agrônomo, ecológico, econômico e ornamental de alto potencial madeireiro (GROSSI et al., 2011). Seis gêneros ocorrem no Brasil - *Trichilia*, *Cabrlea*, *Guarea*, *Cedrela*, *Swietenia* e *Carapa*. As espécies do gênero *Carapa* encontram-se distribuídas nos Neotrópicos, abrangendo o norte da América do Sul e o sul da América Central e a região centro-oeste do continente Africano (KENFACK, 2011a) (FIGURA 01).

Figura 01 - Distribuição global das espécie de *Carapa*



Fonte: KENFACK, 2011a.

Na Amazônia ocorrem três espécies de *Carapa*: *C. guianensis* Aubl., *C. surinamensis* Miq. e *C. vasquesii* Kenfack (KENFACK, 2011a; KENFACK, 2011b), sendo que destas apenas *C. guianensis* e *C. surinamensis* são exploradas economicamente. Ocorrem em ambientes semelhantes, tanto em terra firme como em áreas alagadas. Diferem basicamente no porte das árvores, sendo que a *C. guianensis*

pode atingir até 55 m de altura, enquanto a *C. surinamensis*, de menor porte, pode atingir até 30 m de altura. Apresentam fuste cilíndrico podendo apresentar sapopemas. Ambas possuem uma copa de tamanho médio, densa e composta por ramos eretos ou com uma leve curvatura, proporcionando uma sombra intensa (FERRAZ et al., 2002). A inflorescência é uma panícula grande, contendo flores pequenas, unissexuais, sésseis ou subsésseis em *C. guianensis* e pedicelada em *C. surinamensis*. O fruto é uma cápsula globosa, contendo quatro valvas, com cerca de quatro sementes em cada valva, de tamanhos variados, indeiscentes - *C. guianensis*, ou deiscentes - *C. surinamensis* (FERRAZ et al., 2002) (FIGURA 02). As sementes das duas espécies podem ser identificadas pelo tamanho e a forma do hilo. Sementes de *C. surinamensis* apresentam um hilo menor e uma saliência delimitante, enquanto sementes de *C. guianensis* apresentam um hilo maior sem saliência delimitante (KENFACK, 2011a). De ambas as espécies é extraído o óleo das sementes sem se certificar de qual espécie de *Carapa* foi extraído.

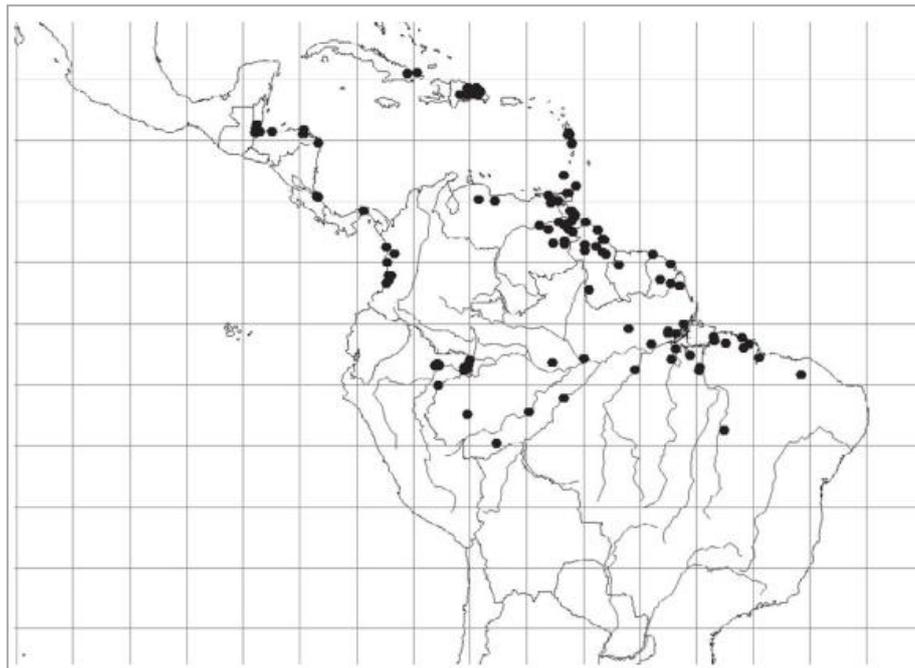
Figura 02 - Prancha de identificação de *C. surinamensis* (esquerda) e *C. guianensis* (direita). *C. surinamensis*, à esquerda: A. Foliolo; B. Parte da inflorescência; C. Flor ♀; D. Flor ♂; E. Fruto. *C. guianensis*, à direita: A. Inflorescência e folha; B. Flor ♀; C. Flor ♂; D. Fruto



Fonte: PENNINGTON et al, 1981.

C. guianensis é a espécie do gênero mais amplamente distribuída. Ocorre na América do Sul, ilhas Caribenhas e América Central (FIGURA 03). Segundo Kenfack (2011a) esta espécie apresenta variações morfológicas correlacionadas com o hábito e habitat onde se encontra. No norte da Guiana, *C. guianensis* é uma pequena árvore de até 10 m de altura e cresce em uma floresta sujeita a inundações de maré. No Peru e na Amazônia Brasileira, *C. guianensis* cresce em terra firme e é considerada uma árvore maior, com até 40 m de altura, com tronco reto que produz boa madeira. No entanto, a distinção das sementes com sua forma angulada e hilo longo, são constantes em toda a variedade desta espécie (KENKACK, 2011a).

Figura 03 - Distribuição de *C. guianensis*. Ocorre América do Sul: Brasil, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname, Venezuela; Ilhas do Caribe: Cuba, Republica Dominicana, Guadalupe, Martinique, Trinidad e Tobago; América Central: Belize, Costa Rica, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá

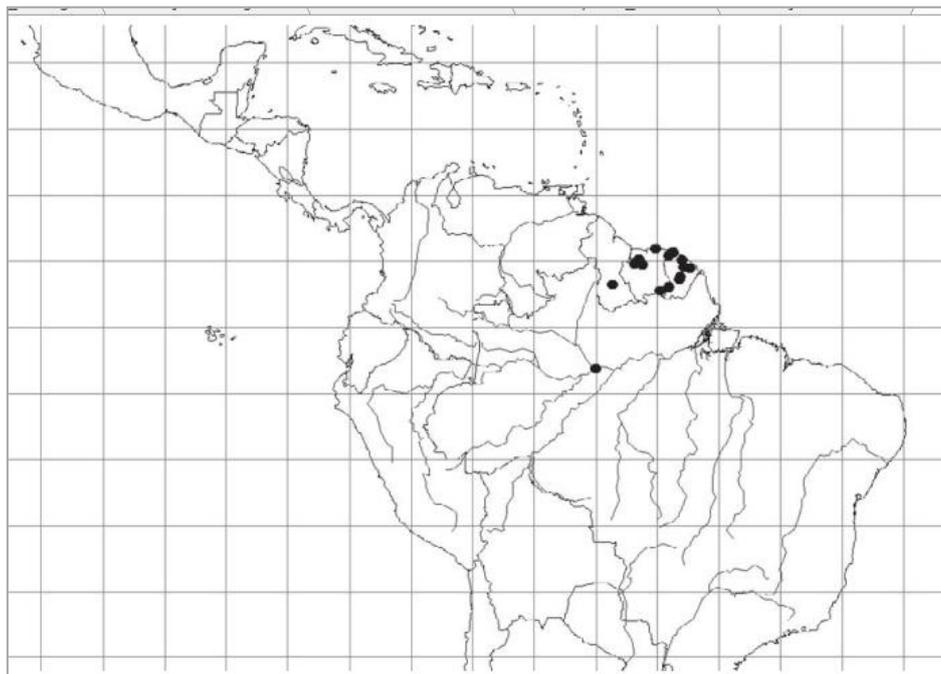


Fonte: KENFACK, 2011a.

C. surinamensis, por sua vez, apresenta distribuição geográfica mais restrita. Ocorre no norte do Brasil, Guiana, Guiana Francesa e Suriname (FIGURA 04, KENFACK, 2011a). Anteriormente, esta espécie era conhecida como *C. procera*, porém dados de sequenciamento de DNA colocaram *C. surinamensis* e *C. procera* em

grupos distintos, apesar de serem morfologicamente muito semelhantes (KENFACK, 2011a), sendo que *C. procera* ocorre no continente Africano enquanto *C. surinamensis* esta restrita ao continente Americano.

Figura 04 - Distribuição de *C. surinamensis*. Ocorre norte do Brasil, Guiana, Guiana Francesa e Suriname



Fonte: KENFACK, 2011a.

2.2. Citogenética em Meliaceae

Uma abordagem muito útil para o conhecimento de espécies florestais de interesse biotecnológico são os estudos citogenéticos. Esta ciência, por sua vez, compreende todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto o que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação quanto a sua variação e evolução (GUERRA, 1988). Esta ciência nos fornecem informações importantes sobre a taxonomia, evolução e genética, e nos conduzem à possibilidades do melhoramento genético de plantas e na preservação dos sistemas florestais. Mesmo se tratando de uma área básica e clássica da ciência, a análise cromossômica continua sendo a única maneira de se observar o genoma eucariótico em

forma de blocos individuais de material genético, passível de serem mensurados, diferenciados e manipulados (GUERRA & SOUZA, 2002).

No Brasil, apesar da imensa diversidade vegetal, ainda são escassas as informações acerca das relações cromossômicas e filogenéticas entre os grupos. A grande maioria das informações cromossômicas concernentes a família Meliaceae são referentes às espécies que ocorrem no continente Africano (SILVA, 2018). O conhecimento acerca do conjunto cromossômico que uma espécie apresenta, pode ser uma poderosa ferramenta para auxílio na identificação e classificação das espécies, principalmente àquelas pertencentes ao gênero *Carapa*, uma vez que as informações morfológicas aceitas são bastante controversas.

Na família Meliaceae, particularmente nos gêneros da subfamília *Swietenioideae* - onde se encontra o gênero *Carapa*, não existe uma constância quanto ao número cromossômico que ocorre entre as espécies. Styles e Vosa (1971) descreveram que as sete espécies de *Khaya* apresentam número cromossômico de $2n = 50$, enquanto as três espécies de *Swietenia* apresentam números cromossômicos diferentes, e isso dificulta o estabelecimento de um número básico x para a família. São relatados também, diferentes níveis de ploidia e número cromossômico variando de $2n = 16$ (*Sandoricum indicum*) a $2n = 360$ (*Trichilia dregeana*) (STYLES & VOSA, 1971). Silva (2018) realizou um estudo citotaxonômico entre as espécies da ordem Sapindales e observou que a formação das grandes famílias de Sapindales ocorreram a partir de duplicação e aumento do número cromossômico de um ancestral comum com $x = 7$, sendo $x = 14$ o número básico na raiz das grandes famílias. A poliploidia é um evento que não é tão presente nesta ordem, mas nas famílias em que ocorre foi de extrema importância na diversificação como em Meliaceae e Rutaceae, apesar de não ser muito presente na história evolutiva de Sapindales. Silva (2018) também observou que não existe uma conclusão quanto ao número básico para as espécies da família Meliaceae, e as opiniões acerca desta informação são divergentes, variando entre ($x = 7, 9, 12, 14$ e 25).

2.3. Metabolismo vegetal e desenvolvimento das sementes

Os organismos vegetais apresentam dois grandes grupos de compostos produzidos: metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são todas as moléculas essenciais para crescimento e desenvolvimento de todos os seres vivos. Estas compreendem os lipídeos, proteínas e carboidratos. Os produtos do metabolismo primário, por meio de rotas biossintéticas diversas e frequentemente desconhecidas, originam, à custa de energia, o segundo grupo de compostos químicos: metabólitos secundários. Estes, em geral apresentam estruturas complexas, baixa massa molecular, atividades biológicas marcantes e, diferentemente daqueles do metabolismo primário, são encontrados em concentrações relativamente baixas e em determinados grupos de plantas (SIMÕES et al., 2017), que em alguns casos caracterizam as famílias botânicas. Estes metabólitos apresentam atividade preventiva e protetora nos tecidos vegetais. Muitos metabólitos tem grande valor agregado, devido a suas aplicações como medicamentos, cosméticos e agroquímicos (VIZZOTO et al., 2010).

Estas moléculas conferem uma série de propriedades aos vegetais, dentre eles defesa contra herbívoros e microorganismos, proteção contra raios UV, atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes, bem como estão envolvidas em processos de alelopatias - efeitos que uma planta exerce sobre outra no ambiente (SIMÕES et al., 2007). Uma vez que são organismos fixos que vivem enraizados no solo, apresentam uma riqueza de metabólitos secundários e elevada capacidade biossintética, podendo responder e tolerar às mais diversas situações ambientais.

Os metabólitos secundários estão agrupados em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (VIZOTTO et al., 2010). É conhecida a ocorrência de limonoides, flavonoides, flavanas, cumarinas, triterpenos, triacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, metilbenzoatos e ácidos graxos saturados em sementes de *Carapa* (SILVA et al., 2012). Os limonóides, são triterpenos modificados e são provavelmente, os maiores representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida, de sabor amargo e produzidos principalmente nas famílias botânicas Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae (VIEGAS-JUNIOR, 2003). Estudos demonstram atividade anti-inflamatória e antialérgica de limonóides isolados de *C. guianensis*, inibindo a formação de edemas

em diferentes modelos experimentais em roedores (PENIDO et al., 2005; PENIDO et al., 2006), bem como, moderada ação inseticida contra saúva limão - *Atta sexdens rubropilosa* (AMBROZIN et al., 2006), lagarta do cartucho - *Spodoptera frugiperda* (SANTOS et al., 2016) e ação repelente de insetos contra espécies de mosca da família Calliphoridae (FERNANDES et al., 2016).

A lista de limonoides presentes em *C. guianensis* é bastante extensa, e estes compostos já foram identificados em sementes e pericarpo (SILVA et al., 2012), flores (SAKAMOTO et al., 2013; SAKAMOTO et al., 2015) e óleo da semente (MIRANDA-JUNIOR et al., 2012; INOUE et al., 2012; INOUE et al., 2013; INOUE et al., 2014, INOUE et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2018; TSUKAMOTO et al., 2019). O óleo contém cerca de 5% de material insaponificável (SILVA et al., 2012) onde se destacam os limonóides gedunina, 6 α -acetoxigedunina e andirobina (PENIDO et al., 2005; MIRANDA-JUNIOR et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2018), que conferem ao óleo seu grande potencial biotecnológico e interesse para uso na indústria farmacêutica e cosmética.

Partindo-se de uma perspectiva ecológica e agrícola, o ciclo de vida vegetal começa e termina com uma semente (TAIZ et al., 2017). As sementes são os tecidos vegetais especializados em armazenamento de reservas, a fim de nutrir o embrião e a plântula, até que esta seja capaz de realizar a fotossíntese. As sementes originam-se a partir do desenvolvimento do rudimento seminal (óvulo), e o fruto, em geral, origina-se do desenvolvimento do ovário. Tudo começa com a fecundação dupla que ocorre no saco embrionário, onde a oosfera une-se ao espermatozoide para produzir o zigoto (que virá a ser o embrião da semente) e o segundo espermatozoide funde-se com os núcleos polares, formando a célula triploide do endosperma primário. Durante a morfogênese da semente, o endosperma fornece nutrientes para o embrião em desenvolvimento, podendo ser quase completamente reabsorvido - como é o caso de *Arabidopsis*, ou ainda sobrar um remanescente que será suficiente para nutrir a plântula (TAIZ et al., 2017). O desenvolvimento das sementes compreende quatro etapas básicas: embriogênese, enchimento, final da maturação e abscisão. A embriogênese (diferenciação histológica) acontece nos primeiros dias após a polinização, onde ocorre a diferenciação dos tecidos e formação do embrião, e a partir daí começa a fase de enchimento da semente, indicado pelo aumento de sua massa e depósito de reservas. A

fase final do desenvolvimento das sementes é denominada maturação e, para muitas espécies abrange a perda evaporativa de água e aquisição de tolerância a dessecação. Estas sementes são chamadas de ortodoxas, pois toleram bem a dessecação e são armazenadas em estado seco por períodos variáveis. Por outro lado, também existem àquelas que são liberadas pela planta com um conteúdo de água relativamente alto e metabolismo ativo, que deterioram na dissecação e não sobrevivem à armazenagem, chamadas realcitrantes (TAIZ et al., 2017), como é o caso das sementes de *Carapa* (AMOÊDO & FERRAZ, 2019).

2.4. Proteoma vegetal

O conhecimento da dinâmica molecular que ocorre nos indivíduos vegetais frente às situações ambientais que se encontra, nos permite aplicar com maior segurança e explorar em sua totalidade o potencial biotecnológico que este possui. E este é o papel da proteômica, trazer à luz do conhecimento as particularidades bioquímicas e fisiológicas de um tecido, órgão ou organismo em um estágio de desenvolvimento e/ou condição ambiental que se encontra.

O sequenciamento completo do genoma vegetal é, em alguns casos uma tarefa bastante árdua, dada a complexidade e tamanho dos genomas. Neste contexto a genômica funcional vem ganhando espaço, nos permitindo conhecer a fisiologia e o potencial bioquímico dos vegetais. Desde 1994, ano em que foi pela primeira vez cunhado o termo "proteoma", a tecnologia vem sofrendo grandes e rápidos avanços. Passando pela primeira (*gel-based*), segunda (carregamento isotópico ou isobárico), terceira (*shotgun* ou *gel-free*) e quarta (*targeted*, *mass-western* ou SRM/MRM) geração de tecnologias (JORRIN-NOVO et al., 2019). Porém apesar dos enormes avanços na tecnologia, a proteômica vegetal ainda é realizada, em sua maioria, por abordagem *gel-based* - primeira geração, por ser uma abordagem simples, que nos permite obter uma visualização do proteoma celular, além de ser um instrumento de fácil operação e baixo custo, é uma técnica bioquímica padrão clássica disponível em muitos laboratórios, diferente das técnicas de carregamento e *shotgun*, que são mais caras e dependem de uma *expertise* para execução (JORRIN-NOVO et al., 2019).

Estudos proteômicos com sementes são comuns, por ser esse um órgão de armazenamento, rico em proteínas, principalmente as de reserva - *SSP Seed Storage Proteins*, compreendendo, em algumas espécies, até 80% do conteúdo total (GRUPTA et al., 2016). Estes tecidos também são especializados no armazenamento de carboidratos e lipídeos de reserva. O estudo de sementes imaturas nos proporciona entender as redes regulatórias que coordenam a produção de compostos de interesse biotecnológico. A compreensão dessas redes reguladoras nos ajuda a manipular as características das sementes, como o teor de proteínas e o peso das sementes, a fim de aumentar a produtividade, o valor nutricional das sementes e seu potencial biotecnológico (REPETTO et al., 2012). Assim, a proteômica permite a caracterização de respostas celulares, ativação de redes de genes e adaptação metabólica em uma ampla gama de estados fisiológicos da semente (NAMBARA & NONOGAKI, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o cariótipo de espécies de *Carapa* e o perfil proteico em semente de *Carapa surinamensis* Miq.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Elucidar o numero cromossômico presente nas células de *C. surinamensis* Miq. e *C. guianensis* Aubl;
- ✓ Obter as proteínas expressas nas sementes de *C. surinamensis* em diferentes estádios de maturação;
- ✓ Avaliar o perfil de expressão proteica e identificar as proteínas expressas em sementes de *C. surinamensis* em diferentes estádios de maturação;
- ✓ Determinar as vias metabólicas ativas durante a maturação das sementes de *C. surinamensis* Miq.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta de material biológico - sementes

Todas as coletas foram realizadas em áreas de plantio com produtores que fornecem sementes para a Empresa Canto da Luz, com o apoio do Sr. Raimundo Luz. Sementes de *Carapa surinamensis* Miq., para os estudos proteomicos, foram coletadas no Km 47 da AM-010, Ramal Sto. Antonio dos Moris, no sítio dos Moris, onde há um plantio de cerca de 20 árvores de *C. surinamensis* com idade de 34 anos (desde 1985). Foram selecionadas 3 árvores (FIGURA 05a) das quais foram realizadas coletas de uma cápsula de cada árvore com 60 (FIGURA 05b) e 90 (FIGURA 05c) dias após floração (DAF \pm 7 dias), denominadas verde e madura, respectivamente, totalizando 6 amostras. As cápsulas foram coletadas com auxílio de podão e aparadas com sacas de ráfia novas para não caírem no chão. Após, as sementes foram imediatamente separadas da cápsula e estocadas em gelo seco para o transporte até o laboratório de Criopreservação do Centro de Apoio Multidisciplinar (Bloco G - UFAM), onde foram mantidas a -80 °C até o momento da extração de biomoléculas.

Figura 05 - Visão geral da área de coleta das sementes de *C. surinamensis* no sítio dos Moris, Km 47 AM-010. 1, 2 e 3 referem-se aos indivíduos selecionados para realização da coleta das cápsulas em diferentes estádios de maturação (a); em "b" visualização da cápsula verde fechada (60 DAF), medindo cerca de 7 cm e a remoção das sementes; em "c" cápsula madura, com 8,5 cm e sementes maduras (90 DAF)



Fonte: o autor.

Para aos estudos citogenéticos sementes foram coletadas sob a copa das árvores. Foram coletadas sementes de *C. surinamensis* e *C. guianensis*, de duas populações para cada espécie. Para *C. surinamensis* uma das populações foi a mesma utilizada para o estudo proteômico - Km 47 da AM-010, denominada Cs1. A outra população estava localizada na BR-174, Km 28, Ramal São João, Sítio Nogueira - Cs2. Para *C. guianensis* cápsulas contendo sementes foram coletadas na AM-363, Km 64 - Cg1 e na AM-363, Km 58, Fazenda Capiraíba - Cg2 (TABELA 01; FIGURA 06). Sementes foram germinadas em substrato orgânico oriundo da decomposição de folhas e flores das andirobeiras, coletado sob a copa das árvores de Cs1 (FIGURA 09a). A germinação ocorreu em caixa de isopor (FIGURA 07b), em ambiente aberto, sombreado, e regado

diariamente. A cada dois dias as sementes eram monitoradas quanto ao surgimento de protrusão radicular.

Tabela 01: Coordenadas geográficas das áreas de coleta das sementes. Todas as amostras foram utilizadas para estudo citogenético, mas apenas Cs1 foi utilizada para estudo proteômico

Amostra	Endereço	Coordenadas geográficas
<i>C. surinamensis</i>	Cs1 Km 47 da AM-010, Ramal Sto. Antonio dos Moris	2° 45' 20.0" S; 59° 55' 57.7" W
	Cs2 BR-174, Km 28, Ramal São João	2° 43' 54.8" S; 60° 01' 36.8" W
<i>C. guianensis</i>	Cg1 AM-363, Km 64	2° 47' 29.5" S; 58° 24' 26.7" W
	Cg2 AM-363, Km 58	2° 47' 41.1" S; 58° 27' 04.2" W

Figura 06 - Área de coleta das sementes. Apesar de estarem geograficamente muito próximas, as origens de Cg1, Cg2 e Cs1 são distintas. Plântulas de Cg1 e Cs1 tem origem na região de Itacoatiara, e Cg2 é oriunda de Boa Vista. Cs2 é nativa da área coletada.



Fonte: Google maps.

Figura 07 - Substrato utilizado para germinar as sementes para estudo citogenético (a) coletado sob a copa das andirobeiras no ponto de coleta de Cs1. Semente postas para germinar em caixa de isopor (b) contendo o substrato



Fonte: o autor.

4.2 Estudo citogenético

4.2.1. Pré-tratamento com antimitótico e fixação das raízes

Por volta de 10 h, os meristemas apicais das raízes foram removidos com auxílio de bisturi e mergulhados em solução contendo 2 mM de 8-hidroxiquinoleína (8HQ) para que ocorresse o bloqueio do ciclo mitótico em metáfase, uma vez que o 8HQ destroem as fibras do fuso mitótico. As amostras foram mantidas à temperatura ambiente por 1 h e após, a 4 °C por 23 h. A fixação foi realizada com Carnoy 3:1 (três partes de álcool etílico P.A. para uma de ácido acético glacial) e mantidas à temperatura ambiente por 6 h. Após foram estocadas à -20 °C ate o momento de uso.

4.2.2. Montagem das lâminas e coloração convencional

Para montagem das lâminas e coloração dos cromossomos utilizou-se a técnica de esmagamento seguida de coloração (GUERRA & SOUZA, 2002). As raízes foram lavadas, mergulhando-as em água destilada por 5 min, para remover a solução de fixação. Após foram rapidamente enxugadas com auxílio de papel filtro e mergulhadas em HCl 5 N à temperatura ambiente por 20 min para que ocorresse a hidrólise da parede celular. Uma ponta de raiz (região meristemática) foi transferida para uma lâmina limpa

contendo uma gota de ácido acético 45 %, onde foi fragmentada em pedaços tão pequenos quanto possível com auxílio de agulhas em estereomicroscópio. Em seguida o material fragmentado foi coberto com uma lamínula e macerado com auxílio de uma agulha com ponta rombuda a fim de espalhar as células sobre a lâmina. A lamínula foi então pressionada sobre a lâmina em papel filtro a fim de espalhar melhor os cromossomos. O conjunto lâmina-lamínula foi então congelado em nitrogênio líquido por alguns segundos e a lamínula rapidamente retirada com auxílio de bisturi, permitindo que as células permanecessem aderidas à lâmina, uma vez que estas ficam aderidas à superfície mais gelada. As lâminas foram secas à temperatura ambiente e seguiu-se para a coloração.

Para coloração convencional utilizou-se o Giemsa, que cora cromossomos homogeneamente. As lâminas foram colocadas em cubetas contendo solução de Giemsa 2 % por 10 min. As lâminas foram cuidadosamente lavadas em água corrente para remover o excesso de corante e secas à temperatura ambiente. Uma gota de *Entelan* foi adicionada sobre o material fixado e corado, coberto com uma lamínula limpa e seco à temperatura ambiente por 16 h.

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico (Leica), na objetiva de 40 x para identificação das células em metáfase. As imagens das células foram obtidas com auxílio de suporte para acoplar câmera (13 MP) ao microscópio, utilizando a objetiva de 100 x e um aumento de 2 x na câmera, para captura de imagem e contagem dos cromossomos. Foram analisadas pelo menos 10 células mitóticas para definição do número cromossômico.

4.3 Estudo Proteômico

4.3.1 Extração de proteínas

As proteínas foram extraídas pelo método SDS-Fenol (SOUZA et al., 2014) com modificações. Sementes, variando de 8 a 18 g, foram maceradas na presença de nitrogênio líquido, com auxílio de almofariz e pistilo, até formação de pó. Não foi utilizado PVPP neste procedimento. Após foram adicionado 10 mL de solução I (10 %

Ácido Tricloroacético - TCA em Acetona) gelada - para limpeza da amostra a fim de remover e neutralizar os interferentes. As amostras foram homogeneizadas em desruptor ultrassônico em banho de gelo (3 pulsos de 20 seg a intervalos de 1 min) e incubado no gelo por 40 min. Amostras foram centrifugadas (4000 rpm/10 min/ 4 °C) e o sobrenadante foi descartado. O *pellet* foi lavado com 10 mL de acetona, centrifugado (4000 rpm/10 min /4 °C) e o sobrenadante descartado. O procedimento foi realizado por três vezes, para remoção do TCA e resíduo de óleo. As amostras foram secas à temperatura ambiente e estocados a -20 °C até momento de uso. Para extração de proteínas, a amostra foi alíquotada em microtubo - 0,2 g - e adicionado 0,6 mL de solução II (30 % sacarose; 2 % SDS; 0,1 M Tris-HCl pH, 7,5; 2 % β-mercaptoetanol). A mistura foi homogeneizada em vórtex por 30 seg e incubada a temperatura ambiente por 15 min. Foi então adicionado 0,6 mL de fenol hidratado e equilibrado (pH 7,5) e agitado em vórtex por 20 seg, para que ocorresse a solubilização das proteínas em fenol. Após 5 min de incubação à temperatura ambiente a amostra foi centrifugada (10.000 rpm/ 5 min / 4 °C) e a fase fenólica recuperada. Adicionou-se 3 V de 0,1 M de acetato de amônio em metanol e precipitado por 1 h a -20 °C. As proteínas foram recuperadas por centrifugação (10.000 rpm/ 10 min / 4 °C) e lavada por 3 vezes, sendo duas com metanol gelado e uma vez com acetona gelada. As amostras foram estocadas a -20 °C até o momento de uso.

4.3.2 Dosagem de proteínas e fracionamento por SDS-PAGE

A quantificação de proteínas totais foi realizada pelo método 2D Quant Kit (GE Healthcare). Uma alíquota do extrato proteico de Semente Madura (SM) e quatro alíquotas de Semente Verde (SV), de cada réplica, foram ressuspensos em 0,2 mL de Solução 8 M Ureia, 40 mM Ditiotretitol - DTT, 1 % Triton X-100. Para quantificação 10 µL de cada amostra foi dosada, segundo recomendações do fabricante. A massa de proteínas foi estimada segundo curva padrão obtida a partir de amostra de Albumina de Soro Bovina - BSA, contendo 6 pontos, de massa conhecida - 0 a 50 µg ($y = - 0,0079 x + 0,7367$; $R^2 = 0,9885$).

Para a análise em SDS-PAGE, 10 e 15 µg de proteínas dos seis extratos obtidos, foram resolvido em gel 12%, em tampão Tris Glicina (Tris 0,025 M; Glicina 0,192 M,

SDS 0,1 %) sob uma tensão de 200 V e corrente constante de 50 mA por gel no sistema Mini Gel (BioRad). Para visualização, o gel foi incubado em solução corante Comassie Brilhante *Blue* R-350 (GE Healthcare, preparados segundo recomendações do fabricante) por 16 h. Géis foram descorados com solução descorante (25 % Etanol, 8 % Ácido Acético) e imagens capturadas utilizando o *LabScan* 5.0 (GE Healthcare).

4.3.3 Recorte das bandas do gel e digestão das amostras

As proteínas fracionadas em SDS-PAGE foram excisadas do gel ao longo de toda a extensão da corrida, com auxílio de bisturi e transiluminador de luz branca, sendo 11 frações da condição Semente Verde e 9 frações da condição Semente Madura, todas em triplicata, totalizando 60 frações. O recorte das bandas foi feito em triplicata, utilizando as amostras aplicadas em 10 µg para aquelas bandas bem coradas e 15 µg para as faixas do gel menos coradas.

A digestão de proteínas *in gel* foi realizada segundo Hanna e colaboradores (2000) com modificações. O protocolo consiste de algumas etapas fundamentais: descoloração e remoção do SDS do gel, redução e alquilação das amostras, digestão com tripsina (*Sequencing Grade Modified Trypsin* - Promega V5111) e extração dos peptídeos. Os peptídeos de cada tréplica foram reunidos, liofilizados e mantidos a -20 °C até as análises por espectrometria de Massas.

4.3.4 Análise por Espectrometria de Massas

A análise por espectrometria de massas foi realizada no Laboratório Nacional de Biociências - LNBio (Campinas/SP). Os peptídeos liofilizados foram ressuspensos em 12 µL de ácido fórmico 0,1 %, acondicionados nos *vials* e organizados de acordo com intensidade de coloração das amostras, da menos intensa para a mais intensa. O volume de 4,5 µL da mistura de peptídeos foi separada em uma coluna cromatográfica C18 (100 µm x 100 mm) RP-nano UPLC (nanoAcquity, Waters) acoplado a um espectrômetro de massa modelo Q-TOF Premier (Waters) com fonte de ionização *nano-electrospray* a uma taxa de fluxo a 0,6 µL/ min. O gradiente utilizado, foi de 2-90 % de acetonitrila em 0,1 % de ácido fórmico durante 60 min. O instrumento foi operado no

modo "*top three*", no qual um espectro MS é adquirido seguido por MS/MS dos três picos mais intensos detectados.

Os espectros obtidos foram processados utilizando o programa *MassLynx v.4.1* e os arquivos gerados (*RAW files*) foram convertidos para uma lista de picos (MGF) sem considerar as varreduras pelo *software* Mascot Distiller v.2.6.2.0, 2009 (Matrix Science Ltd.). Após esta etapa, os arquivos foram analisados contra o banco de dados de plantas do UniProt (42.268 sequências, 16.292.130 resíduos; acesso em julho de 2019) usando o Mascot Daemon engine v.2.3.2 (Matrix Science Ltd.). Foram estabelecidos como modificação fixa carbamidometilação e como modificação variável, a oxidação da metionina. Também foram considerados um sítio de clivagem perdida para tripsina e tolerância de 0,1 Da para ambos íons precursor e fragmento. As proteínas identificadas foram agrupadas em categorias funcionais de acordo com o processo celular em que estão envolvidas com auxílio de ferramenta de bioinformática - Gene Ontology. Não foi utilizado filtro de exclusão de proteínas identificadas, considerando-se todas as amostras identificadas válidas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Germinação das sementes e estudo citogenético

As sementes coletadas foram avaliadas quanto o formato do hilo (FIGURA 08) e as plântulas observadas quanto ao lançamento dos eófilos, que são requisito para identificação das espécies de *Carapa*. Em *C. guianensis* as primeiras folhas são alternas, glabras e normalmente compostas, enquanto *C. surinamensis* apresenta eófilos simples antes da formação de folhas compostas (FERRAZ, 2002), além de ser comum o desenvolvimento de poliembriões (SOUZA FERREIRA et al., 2017), o que também foi observado nas plântulas de *C. surinamensis* em estudo (FIGURA 09a).

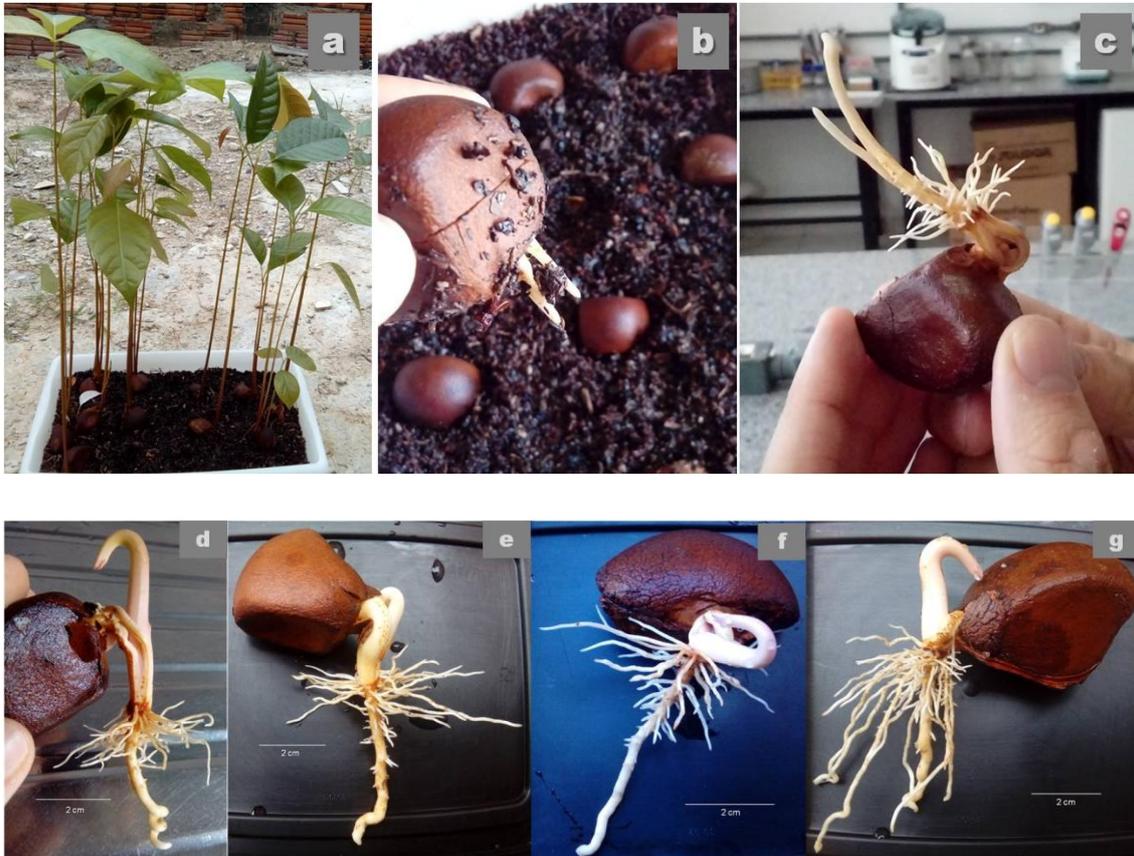
Figura 08 - Visualização do hilo das sementes de espécies de *Carapa*. Semente de Cs1 (a), semente de Cs2 (b), cápsula e semente de Cg1 (c, d), cápsula e semente de Cg2 (e, f)



Fonte: o autor.

Amoêdo e Ferraz (2019) relataram início de germinação de 12 a 15 dias para sementes de *C. surinamensis* mantidas à 25 - 35°C. As sementes de Cs1 apresentaram protrusão das radículas a partir de 11 dias, à temperatura ambiente (FIGURA 09b), corroborando com dados da literatura. Porém deixou-se por mais 4 dias para que houvesse aumento do tecido meristemático e melhor aproveitamento das amostras (FIGURA 09c) totalizando 15 dias, o que foi necessário também pra amostra Cg1 (FIGURA 09f). Quanto a Cs2 e Cg2 (FIGURA 09e e g) apresentaram bom acúmulo de tecido meristemático com 9 dias de germinação. O protocolo padrão de preparo do tecido meristemático para a realização do estudo citogenético foi bastante satisfatório, precisando de poucos ajustes. Todas as amostras foram pré-tratadas com anti-mitótico pelo horário das 10 h, como estabelece inicialmente o protocolo.

Figura 09 - Plântulas e sementes germinadas. Plântulas com múltiplos embriões germinados e eófilos simples (a); Início da germinação com 11 dias (b) e quatro dias depois - 15 dias, com aumento do número de raízes (c). Cs1 (d), Cs2 (e), Cg1 (f) e Cg2 (g) germinadas

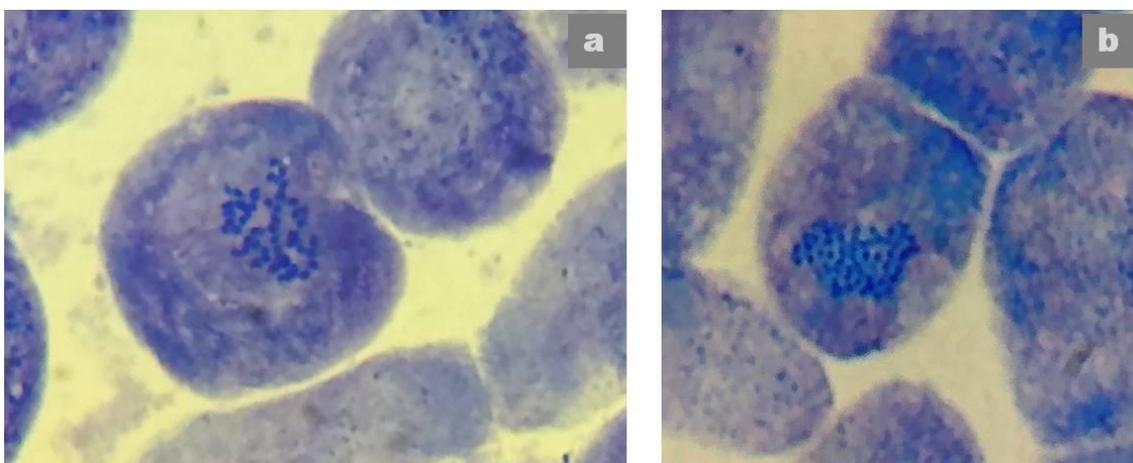


Fonte: o autor.

A avaliação do cariótipo nos revelou cromossomos muito pequenos, medindo cerca de 1 μm , o que dificultou a montagem do cariograma sem o auxílio de um software especializado. O número cromossômico encontrado para as duas espécies de *C. guianensis* (Cg1 e Cg2) foi de $2n = 50$ (FIGURA 10). De acordo com dados da literatura o número cromossômico é de $2n = 58$ para espécie de *C. guianensis* cultivada em Perak, na Malásia, com tamanho médio dos cromossomos de 1,05 μm (MINFRAY, 1963; STYLES & VOSA, 1971; KHOSLA & STYLES, 1975). Esta inconstância quanto ao número cromossômico entre espécies que ocorrem em diferentes regiões é comum. Há relatos que a espécie *Cedrela odorata* (mesma subfamília que *Carapa*) pode apresentar números cromossômicos diplóides diferentes de acordo com a geografia, $2n = 50$ para a raça restringida a América Central e Ilhas do Caribe e $2n = 56$

para as ocorridas no México e a América do Sul (STYLES & VOSA, 1971). Outra questão interessante pode ser a correta identificação da espécie de *Carapa*. Minfray (1963) descreveu o número cromossômico de $2n = 58$ para *C. guianensis*. Em 1971, Style e Vosa descreveu a espécie identificada por Minfray como *C. procera* e *C. grandiflora*. Estas observações justificam as observações de Kenfack (2011) que descreve ocorrência das espécies de *C. guianensis* apenas no continente Americano, tornando nossas descrições pioneiras para a espécie *C. guianensis*. Silva (2018) realizando levantamento dos estudos citogenéticos com as famílias da ordem Sapindales, verificou que a maior frequência de número cromossômico nas espécies da família Meliaceae foi $2n = 50$ (17,14%), apesar de não ter chegado a uma conclusão quanto ao número básico para a família. Porém, essa informação indica que o número básico para a família, pode ser alto (STYLES & VOSA, 1971).

Figura 10 - Células de *Carapa guianensis*. Cg1 (a) e Cg2 (b), ambas contendo um número cromossômico de $2n=50$. Imagens representativas para cada amostra analisada. Aumento 1000 x + 2 x aumento da câmera



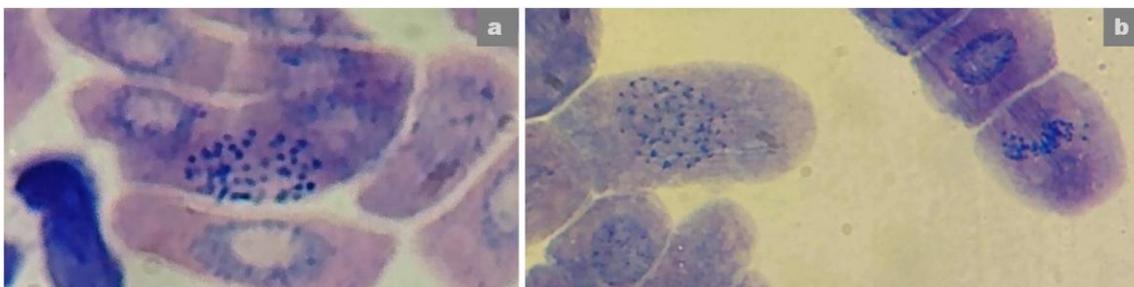
Fonte: o autor.

Por sua vez, espécie *C. surinamensis* - Cs1, apresentou um número cromossômico $2n = 42$ (FIGURA 11a), semelhante ao descrito para *Carapa obovata* (*Xilocarpus granatum*) e *Carapa moluccensis* (*Xilocarpus oblovlatus*) (SIDHU, 1968). Silva (2018) relatou a variação quanto ao número cromossômico que ocorre entre os gêneros pertencentes ao clado Swietenia, sendo esta variação de $2n = 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54,$

56, 58. $2n = 42$ seria um triplóide, de $x = 14$ ($3x$), o qual é um possível número básico da família. Os demais números podem ter se derivado por aneuploidia/displóidia. De acordo com os números cromossômicos já registrados, o clado deve ter se diversificado por poliploidia e séries diploides (SILVA, 2018). Também há possibilidade de diversos erros de contagem, havendo a necessidade de análises confirmatórias como avaliação do número cromossômico meiótico.

A outra população de *C. surinamensis* - Cs2, não apresentou número cromossômico conclusivo, variando de $2n = 36$ a $2n = 50$ cromossomos (FIGURA 11b). Essa variação no número cromossômico também foi observado por Melloni (2010), em estudos com *Cedrela odorata*. Os autores não conseguiram estabelecer uma conclusão quanto ao número cromossômico da espécie, pois este variou de $2n = 42$ a $2n = 104$ cromossomos, sugerindo a causa da variação numérica à presença de cromossomo B, o que também pode estar ocorrendo com o indivíduo de *Carapa* em questão. Esse tipo de cromossomo oriundos de vários tipos de mecanismos evolutivos são extra numéricos, pequenos e heterocromáticos. Nas espécies que possuem esses cromossomos o número dele por indivíduo é muito variável, como por exemplo no milho onde o número cromossômico varia de $2n = 20$ a $2n = 54$ (GUERRA, 1988).

Figura 11 - Células de *C. surinamensis*. Cs1 (a), $2n = 42$; Cs2 (b), $2n = 50$ (esquerda) e $2n = 36$ (direita). Visualização de um campo apresentando células mitóticas bem coradas com cromossomos bem contrastados. Imagem representativa para cada condição. Aumento de 1000x + 2x aumento da câmera



Fonte: o autor.

Com este conjunto cromossômico muito numérico e pequeno em tamanho, ficou difícil a montagem do kariograma e estimativa do tamanho médio dos cromossomos, pelo método convencionalmente utilizado - *Paint, Photoshop*, necessitando do auxílio de *software* especializado, que nos permita calcular com maior precisão as estruturas cromossômicas.

5.2 Preparo dos extratos proteicos para estudo proteômico

O protocolo de extração de proteínas utilizado neste trabalho, foi desenvolvido para semente e pericarpo de guaraná (SOUZA et al., 2014) e também apresentou resultados satisfatórios para folha, galho e calo de *Duroia macrophylla* (COELHO, 2018). *C. surinamensis* é uma oleaginosa e este procedimento de extração foi suficiente para remover todo o óleo presente nas sementes - cerca de 60% do conteúdo da semente (DJENOTIN et al., 2012). Durante as lavagens com acetona, observou-se uma grande quantidade de lipídeos sendo eliminados das amostras de semente madura, formando uma fase após a centrifugação (FIGURA 12a), o que permitiu um extrato proteico livre de gorduras, que interferem nas análises subsequentes (GORG et al., 2004). A composição de ácidos graxos do óleo de *C. surinamensis* é predominantemente monoinsaturada - ácido oléico 18:1, 59,1% (DJENOTIN et al., 2012), e este por sua vez apresenta ponto de fusão de 14 °C, o que favoreceu a eliminação do conteúdo de óleo dos extratos proteicos, pois todas as lavagens foram realizadas a 4 °C com acetona gelada. Para semente verde apenas um residual de óleo foi observado na superfície da fase acetona, indicando que o acúmulo de óleo na semente acontece na fase tardia de desenvolvimento.

Figura 12 - Extração de proteínas de *C. surinamensis*. (a) Visualização do tecido maduro lavado com acetona, evidenciando as fases e a grande quantidade de óleo que condensou devido a baixa temperatura de manipulação do extrato - 4°C. (b) Visualização dos extratos lavados com acetona e prontos para realização da extração de proteínas. À esquerda as amostras de Semente Verde - SV1, SV2, SV3, e a direita amostras de Semente Madura - SM1, SM2, SM3

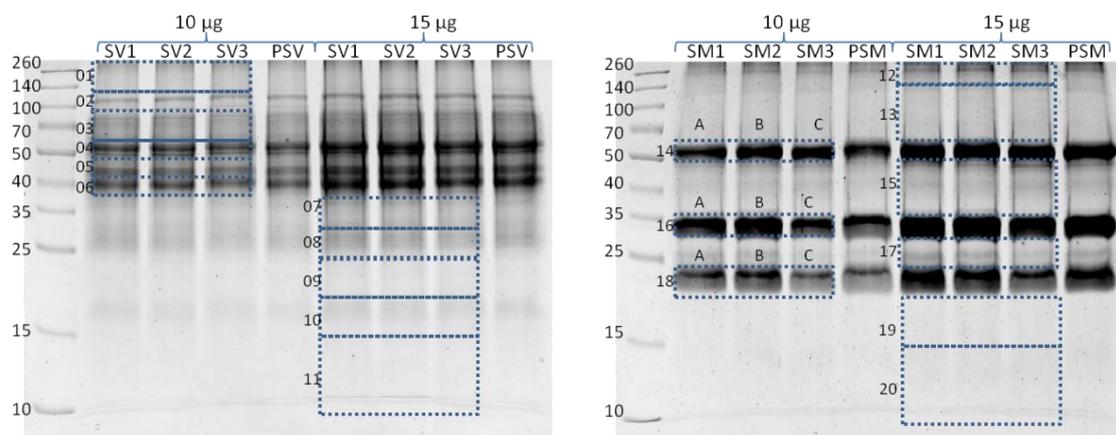


Fonte: o autor.

Apesar de o protocolo original sugerir o uso de polivinilpolipirrolidona (PVPP) para remoção dos polifenóis e redução da oxidação de proteínas, não foi utilizado neste trabalho e não foi observado oxidação dos extratos (FIGURA 12b). O rendimento de proteínas foi de 0,97 mg/g para SV1, 0,56 mg/g para SV2, 0,87 mg/g para SV3, 6,37 mg/g para SM1, 6,37 mg/g para SM2 e 5,12 mg/g para SM3. Estes valores representam um conteúdo de cerca de 0,08 % de proteína para a condição SV e 0,59 % de proteínas para a condição SM, corroborando com os dados de Nascimento (2017), que descreveu que dentre as reservas primárias em semente madura de *Carapa* a que apresentou menor expressividade foram as proteínas solúveis, com valores inferiores a 1 %. Os extratos analisados em SDS-PAGE (FIGURA 13) apresentaram bandas bem definidas livres dos arrastes característicos de contaminação com outras biomoléculas e/ou degradação, o que nos assegura boa qualidade das amostras para as análises por espectrometria de massas. O perfil de expressão proteica em SDS-PAGE é bem diferente entre as condições analisadas. Semente madura (SM) apresenta um conjunto de proteínas bastante intensas, indicando provavelmente proteínas de reserva, muito comuns em sementes. Por outro lado o perfil de semente verde (SV) é bem mais rico em

"diversidade" de proteínas, não apresentando os acúmulos característicos de semente madura.

Figura 13 - Análise em SDS-PAGE dos extratos proteicos de semente de *C. surinamensis*. Foram aplicados 10 e 15 µg de proteínas em cada poço, resolvidos em gel 12% e corado com Comassie Brilhante Blue R-350. As amostras foram extraídas e analisadas em triplicata. Em destaque no gel estão as faixas que foram cortadas para digestão e extração de peptídeos, enumeradas de 1 a 20. SV: semente Verde; SM: Semente Madura; PSV: Pool Semente Verde; PSM: Pool Semente Madura. Padrão: Spectra Multicolor Broad Range Protein Ladder ThermoFisher

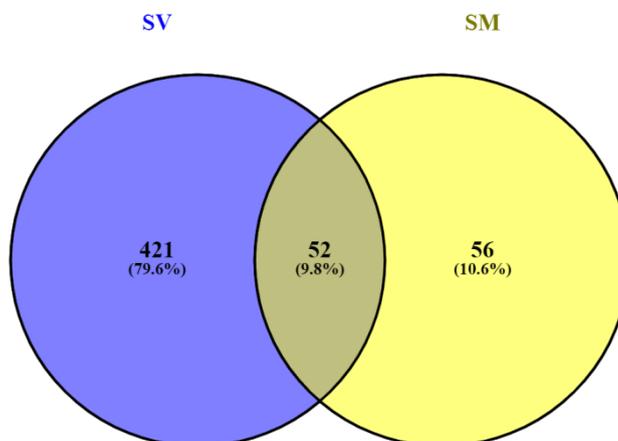


Fonte: o autor.

5.3 Espectrometria de Massas

Com as 20 faixas de gel selecionadas para análise por espectrometria de massas foram identificadas 581 proteínas - 473 para a condição SV (APENDICE 01) e 108 para SM (APENDICE 02). Este número reflete a diversidade de proteínas apresentada em SV quando comparado com SM (FIGURA 13). Destas, 9,8% (52) foram comuns para as duas condições, 79,6% (421) exclusivas para SV e 10,6% (56) exclusivas para SM (FIGURA 14). Para a análise das proteínas foram consideradas todas aquelas identificadas, independente do valor de *score* e número de peptídeos em *match*. Desta forma, aumentou-se a possibilidade de detecção das proteínas envolvidas com metabolismo secundário, que apresentam baixa taxa de expressão e poderiam ser mascaradas em detrimento de proteínas mais abundantes.

Figura 14 - Representação da distribuição de proteínas expressas para as condições SV e SM. As proteínas foram analisadas pela ferramenta Venny 2.1. utilizando o código do UniProt



Fonte: <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>

As proteínas foram categorizada de acordo com o processo biológico que está envolvido (*GenOntology* - GO), resultando num total de 19 grupos, dentre estes: *Resposta ao estresse/chaperonas; Metabolismo de carboidratos; Síntese de ATP, transporte de elétrons/íons; Biossíntese de proteínas; Proteínas ribossomais; Metabolismo de aminoácidos e nitrogênio; Ciclo celular; Estresse oxidativo/detoxificação; Metabolismo secundários; Metabolismo de lipídeos; Metabolismo de nucleotídeos; Transporte de proteínas; Proteínas reguladoras; Resposta de defesa; Transcrição, processamento de RNA e regulação de transcrição; Complexo proteolítico; Proteínas estruturais; Proteínas de reserva e Outros* (GRÁFICO 01; TABELA 02).

Gráfico 01 - Categorização de proteínas de semente de *Carapa surinamensis*. Os valores são expresso em numero total de proteínas em cada grupo. As setas indicam os grupos exclusivos de SV (seta azul) e SM (seta amarela)

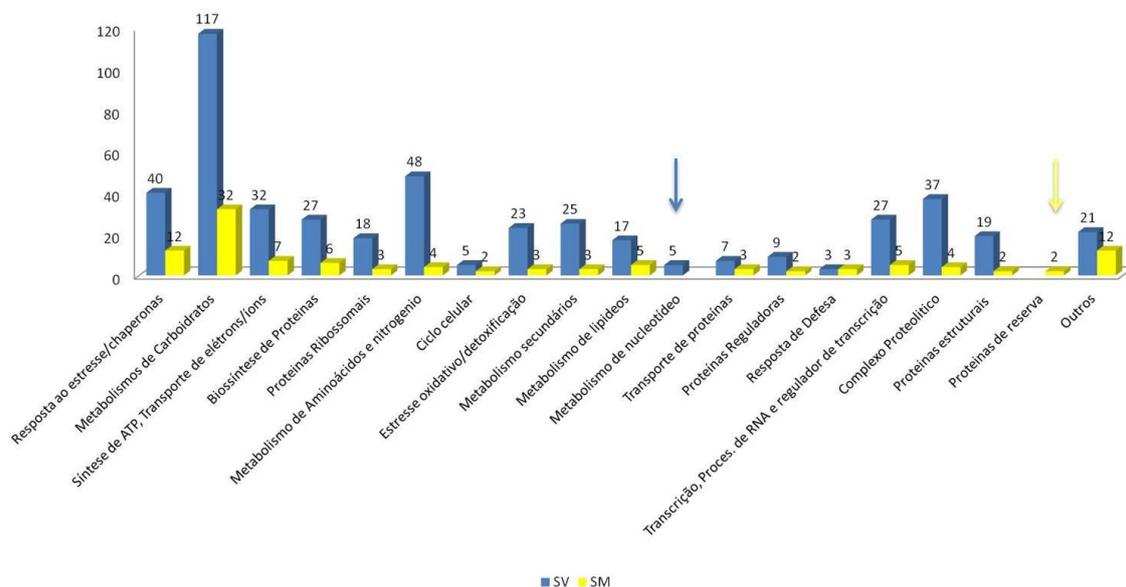


Tabela 02 - Categorização de proteínas de semente de *C. surinamensis*. As 581 proteínas identificadas foram categorizadas de acordo com GO. A soma dos valores absolutos excede o numero total de proteínas, pois algumas proteínas encontram-se envolvidas em mais de uma função biológica

Função Biológica	SV	SM
	Valor Absoluto	Valor Absoluto
Resposta ao estresse/chaperonas	40	12
Metabolismos de carboidratos	117	32
Síntese de ATP, transporte de elétrons/íons	32	7
Biossíntese de proteínas	27	6
Proteínas ribossomais	18	3
Metabolismo de aminoácidos e nitrogênio	48	4
Ciclo celular	5	2
Estresse oxidativo/detoxificação	23	3
Metabolismo secundários	25	3

Biossíntese de lipídeos	17	5
Metabolismo de nucleotídeo	5	-
Transporte de proteínas	7	3
Proteínas reguladoras	9	2
Resposta de defesa	3	3
Transcrição, processamento de RNA e regulador de transcrição	27	5
Complexo proteolítico	37	4
Proteínas estruturais	19	2
Proteínas de reserva	-	2
Outros	21	12

Dentre os grupos de proteínas, *Biossíntese de nucleotídeos* foi expressos exclusivamente na condição SV, enquanto *Proteínas de reserva* ocorreu apenas em SM. Todos os demais grupos apresentaram exemplares proteicos nas duas condições em estudo.

5.4 Descrição dos principais grupos de proteínas identificados nas sementes de *C. surinamensis*

5.4.1. Grupos envolvidos com metabolismo primário e comuns aos dois estádios

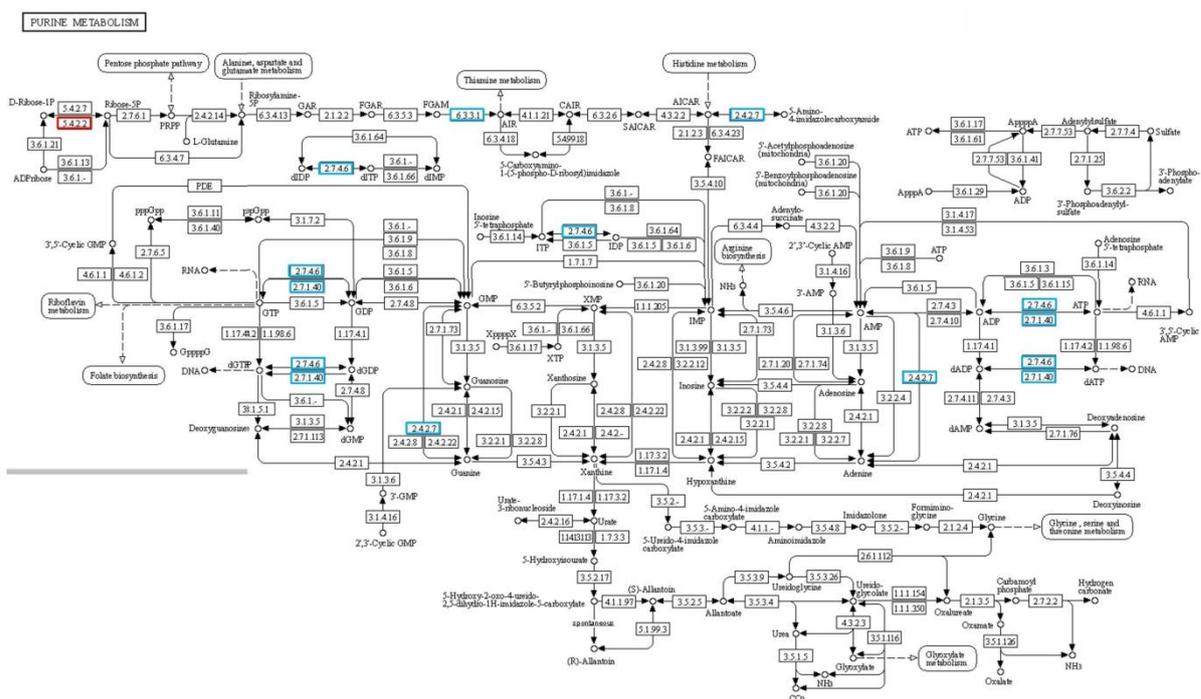
O grupo que se destacou em expressão foi *metabolismo de carboidratos*, com 117 proteínas em SV e 32 em SM. Resultado semelhante foi descrito por Miernik e Hajdich (2011) que observaram que as proteínas presentes no grupo que ele chamou de Metabolismo Central foram mais abundantes em todos os diferentes tipos de sementes analisadas - trigo, cevada, arroz, milho, mamona, *Arabidopsis*, entre outras. Neste grupo estão as enzimas que participam de diversos processos metabólicos primários, dentre eles a respiração celular, como glicólise, via das pentoses fosfato, ciclo do ácido tricarboxílico - TCA, que juntamente com a fosforilação oxidativa - enzimas presentes no grupo *síntese de ATP*, *transporte de elétrons/íons*, são vias fundamentais para produção de energia na célula (TAIZ et al., 2017). As vias de síntese primárias atuam em sinergia nos diferentes compartimentos celulares e trocando metabólitos em vários

níveis produzindo ATP, ácidos orgânicos (como piruvato) e coenzimas (NAD⁺/NADH e NADP⁺/NADPH), elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das sementes.

Deste grupo de enzimas uma atenção especial é dada àquelas que participam da rota das pentoses fosfato, que é uma via catabólica alternativa de oxidação da glicose-6P, sem produção de ATP, mas com geração de NADPH e pentoses fosfato. O NADPH, por sua vez, é um importante produto do metabolismo das pentoses fosfato, pois esta coenzima é usada para reações biossintéticas - lipídeos e assimilação e nitrogênio, defesa ao estresse, além de ser um substrato para reações que removem espécies reativas de oxigênio (EROs) (WENDT et al., 2000; TAIZ et al., 2017). Representantes enzimáticos/proteicos de todas essas vias acima citadas foram identificadas neste trabalho - *metabolismos de lipídeos, metabolismos de aminoácidos/nitrogênios, resposta ao estresse/chaperonas e estresse oxidativo/detoxificação*. As pentoses fosfato geradas servirão de substrato para a síntese de compostos fenólicos, como lignina, flavonoide e fitoalexinas (TAIZ et al., 2017). Neste trabalho foram identificados 4 representantes da via das pentoses fosfato na fase SV - *Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase* (G6PD - EC 1.1.1.49); *Phosphoglucomutase* (EC 5.4.2.2); *6-phosphogluconolactonase 2* (EC 3.1.1.31) e *6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating* (EC 1.1.1.44), enquanto em SM foram identificados apenas uma enzima - *Phosphoglucomutase* (EC 5.4.2.2), uma isomerase que interconverte D-ribose-5P em D-ribose-1P (FIGURA 15). Em uma visão geral das proteínas identificadas neste trabalho, participantes das vias metabólicas primárias, todas se destacaram na condição SV (GRÁFICO 01). Neste estágio a semente esta em fase de enchimento e desenvolvimento, as taxas metabólicas são elevadas e, portanto, a expressão de proteínas das vias primárias também o são.

destas proteínas em SV. As proteínas identificadas são: *Phosphoribosyl-formyl-glycinamide cyclo-ligase*, EC 6.3.3.1; *Isoform 2 of Adenine phospho-ribosyl-transferase*, EC 2.4.2.7; *Pyruvate kinase 2*, EC 2.7.1.40; *Nucleoside diphosphate kinase*, EC 2.7.4.6; *Nudix hydrolase 16*, EC 3.6.1.- (FIGURA 16).

Figura 16 - Metabolismo de purinas. Destacadas e azul estão as proteínas identificadas neste trabalho. Em vermelho a *Phosphoglucomutase*, EC 5.4.2.2, categorizada em *metabolismo de carboidratos* e identificadas nas duas condições em estudo - SV e SM

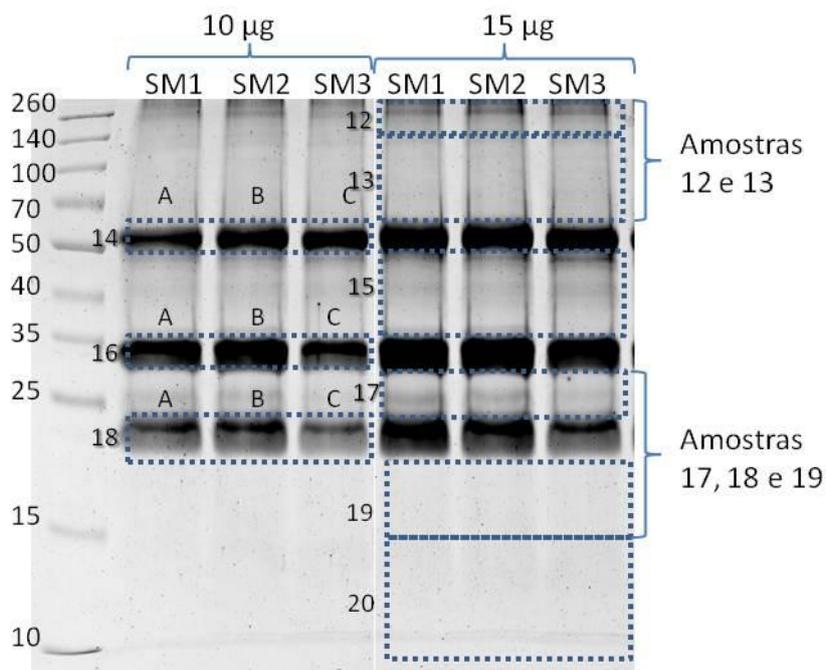


Fonte: KEGG Pathway, última atualização: 21 de nov. 2019; acesso dez. 2019.

A condição SM, por sua vez, também apresentou um grupo com expressão exclusiva: *Proteínas de reserva*. Este grupo já era esperado, uma vez que semente é um tecido de armazenamento de reservas. As proteínas de reserva identificadas foram: vicilina e leguminina tipo B. Suspeitava-se que estas proteínas fossem expressas principalmente nas bandas características da condição SM (banda 14, 16 e 18), quando analisado em SDS-PAGE, porém elas foram identificadas nas amostras 12, 13, 17, 18 e

19 - leguminina tipo B, e amostra 18 - vicilina (FIGURA 17). Não foram identificadas proteínas de reserva nas banda 14 e 16.

Figura 17 - Gel Semente Madura. Em destaque as bandas que foram excisadas do gel e onde foram identificadas as proteínas de reserva



Fonte: o autor.

As proteínas de reserva são importantes fontes de amino ácidos para uso durante a germinação e desenvolvimento das plântulas. Essas proteínas de armazenamento são de particular importância, pois determinam não apenas o conteúdo total de proteínas da semente, mas também sua qualidade para diversos usos (SHEWRY et al., 1995). As proteínas de reserva são classificadas de acordo com a solubilidade, em: albuminas (solúveis em água), globulinas (solúveis em tampão salino diluído), prolaminas (solúveis em mistura de água e álcool) e glutelinas (solúveis em ácido ou álcali) (SHEWRY et al., 1995). As globulinas do tipo legumininas 11S e vicilinas 7S são as principais proteínas de reserva da maioria das angiospermas e gimnospermas (SHUTOV et al., 1995). As legumininas maduras consistem em seis pares de

subunidades, que interagem de maneira não covalente. Cada par é formado por uma subunidade ácida de cerca de 40 kDa e uma básica de 20 kDa, ligadas entre si por uma ponte de sulfeto. As vicilinas, por sua vez, são tipicamente triméricas, e a composição detalhada de suas subunidades varia consideravelmente devido às modificações que sofre no processamento pós-traducionais - proteólise e glicosilação (SHEWRY et al., 1995).

5.4.3. Metabolismo de lipídeos

Carapa é uma oleaginosa e cerca de 60% do conteúdo da semente é formado por lipídeos (DJENOTIN et al., 2012). E, apesar de não detectarmos abundância de óleo no estágio verde durante a extração de proteínas, as vias de síntese encontram-se ativas nesta fase, indicando atividade metabólica de acúmulo de óleo. A síntese de proteínas de reserva e lipídeos é promovido pelo ABA (TAIZ et al., 2017), e ocorre na fase de enchimento das sementes, no caso deste trabalho em SV. Observou-se que na condição SV, foram expressas 3 proteínas que participam das vias de sinalização por ABA no grupo *proteínas reguladoras e receptoras de sinalização*, ao mesmo tempo que também foram expressas proteínas que participam da *biossíntese de proteínas e metabolismo de lipídeos*. Foram identificadas 13 proteínas no estágio SV e 5 em SM participando do metabolismo dos lipídeos (TABELA 03).

Tabela 03 - Proteínas envolvidas com metabolismo de lipídeo identificadas nas condições em estudo

SV	SM
Inositol-3-phosphate synthase (EC 5.5.1.4)	11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase-like 5 (EC 1.1.1.-)
Inositol-3-phosphate synthase (EC 5.5.1.4)	Cycloartenol synthase (EC 5.4.99.8)
Inositol-3-phosphate synthase (EC 5.5.1.4)	Stearoyl-[acyl-carrier-protein] 9-desaturase (EC 1.14.19.2)
Inositol-3-phosphate synthase isozyme 2 (EC 5.5.1.4)	Biotin carboxylase (EC 6.3.4.14)
Enoyl-[ACP] reductase [NADH] (EC 1.3.1.9)	Peroxygenase (EC 1.11.2.3)
Biotin carboxylase (EC 6.3.4.14)	

ATP-citrate synthase alpha chain protein 2
(EC 2.3.3.8)

Enoyl-[ACP] reductase [NADH] 1 (EC
1.3.1.9)

Stearoyl-[ACP] 9-desaturase (EC 1.14.19.2)

3-oxoacyl-[ACP] synthase I (EC 2.3.1.41)

3-oxoacyl-[ACP] synthase I (EC 2.3.1.41)

Probable enoyl-CoA hydratase 1 (EC
2.4.1.17)

3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase-like
protein 5 (EC 3.2.1.-)

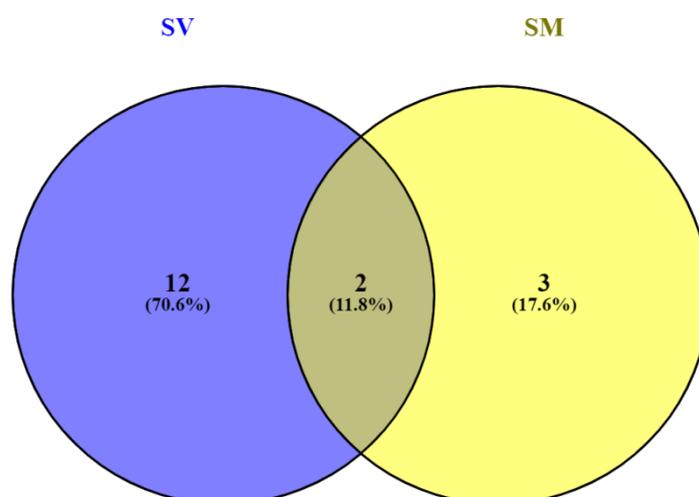
Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase (EC
2.3.3.10)

Probable acyl-activating enzyme 9 (EC
6.2.1.-)

Short-chain dehydrogenase/reductase SDRA
(EC 1.1.-.-)

Allene oxide cyclase (EC 5.3.99.6)

Figura 18 - Representação da distribuição de proteínas identificadas envolvidas com o metabolismo de lipídeos. As proteínas foram analisadas pela ferramenta Venny 2.1 utilizando o nome da enzima

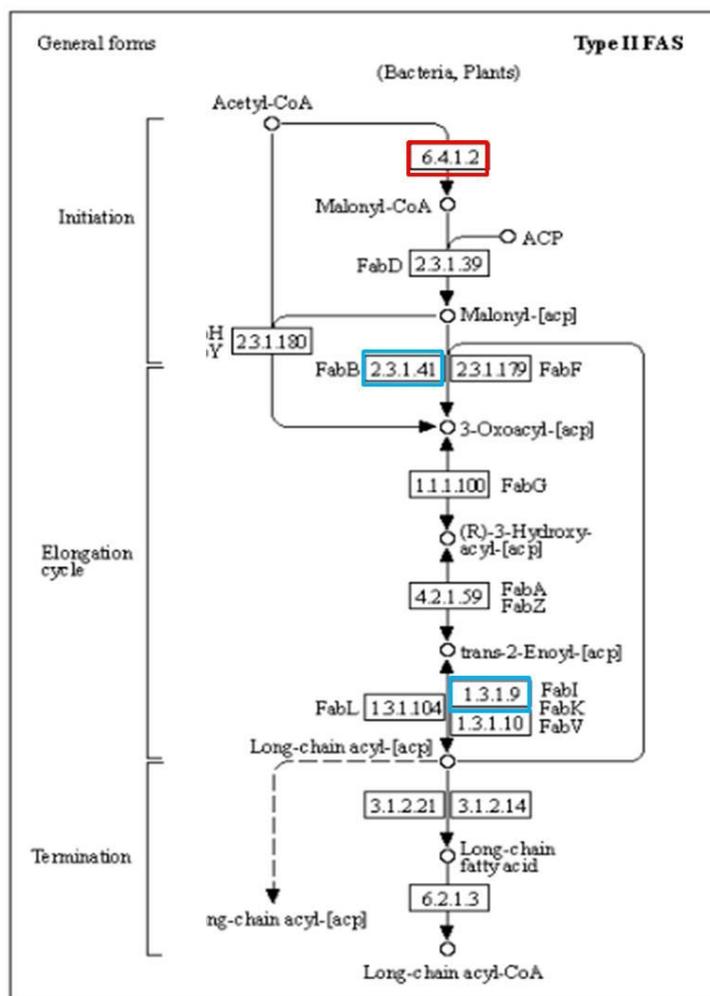


Fonte: <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>

Os lipídeos são classificados em dois grupos: os de armazenamento - triacilgliceróis, e os estruturais primários - glicerolipídeos. Outros lipídeos também são importante para estrutura e funcionamento das plantas, mas não são utilizados para armazenagem de energia, como os fosfolipídeos, galactolipídeos, esfingolipídeos - componentes de membrana, ceras - barreira física na superfície dos tecidos expostos, além de terpenóides (isoprenoides) e esteróis (TAIZ et al., 2017). Os triacilgliceróis, são armazenados nas sementes de oleaginosas nas células do cotilédone ou endosperma em estruturas conhecidas como corpos lipídicos - ou oleossomos, que são delimitadas por uma camada única de fosfolipídeos. Os oleossomos são estabilizados pela presença de proteínas específicas, denominadas oleosinas, que cobrem sua superfície externa e impedem que os oleossomos se fusionem. Não foi identificado neste trabalho a presença de proteínas oleosinas, provavelmente pelo método de extração de proteínas utilizado, onde houve remoção dos lipídeos e possível eliminação das oleosinas, pois são proteínas altamente lipofílicas (ROOIJEN & MOLONEY, 1995; FIGURA 12a).

Apesar deste grupo de proteínas (*metabolismo de lipídeos*) estar presente nas duas condições em estudo, a participação no metabolismo de lipídeos é diferente. Em SV, foi identificada uma proteína envolvida na síntese de acetil-CoA, o substrato utilizado para a biossíntese de ácidos graxos (FIGURA 19) e duas proteínas envolvidas com a alongação da cadeia acídica dos ácidos graxos - *enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH]* e *3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I* (FIGURA 20), além de uma enzima envolvida com a biossíntese dos ácidos graxos insaturados - *stearoyl-[acyl-carrier-protein] 9-desaturase*, EC 1.14.19.2, identificadas nas duas condições em estudo. O ácido graxo mais abundantes em *Carapa* é o ácido oléico (18:1), cerca de 59% (DJENOTIN et al., 2012) e essa informação corrobora com a identificação desta proteínas por ser este um ácido graxo insaturado. A proteína *biotin carboxylase*, EC6.3.4.14, também foi identificadas nas duas condições em estudo. Esta proteínas é parte do complexo multienzimático da acetil-CoA carboxilase (EC 6.4.1.2), enzima que cataliza a primeira reação da biossíntese dos ácidos graxos de cadeia longa (SHORROSH et al., 1995), sendo a *biotin carboxylase* a responsável por catalizar a primeira reação de carboxilação de acetil-CoA em malonil-CoA (SHINTANI et al., 1997; QUEIROZ & WALDROP, 2007, FIGURA 20).

Figura 20 - Biossíntese de ácidos graxos. Em azul estão as enzimas identificadas em SV com participação nas etapas de alongação das cadeias acídicas dos ácidos graxos - *3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I*, EC 2.3.1.41 e *enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH] 1*, EC 1.3.1.9. Destacado em vermelho esta a proteínas *acetil-CoA Carboxilase*, que é uma proteínas heteromérica composta por quatro subunidades distintas: a biotina carboxilase, a proteína transportadora de carboxil biotina, e as subunidades alfa e beta da carboxiltransferase



Fonte: KEGG Pathway, última atualização: 21 de nov. 2019; acesso dez. 2019.

Apenas na condição SV foi identificada a proteína que participa da biossíntese de inositol - *Inositol-3-phosphate synthase* (EC 5.5.1.4). Esta enzima catalisa a conversão de *D-Glucose-6-P* em *D-myo-inositol-3-P*, um primeiro passo para a biossíntese de ácido fítico, que é uma forma primária de armazenamento de fósforo nas sementes (TAIZ et al., 2017), e produção de todos os compostos contendo inositol, incluindo

fosfolípídeos (MAJUNDER et al., 1997). Esta enzima também foi identificadas em grande quantidade em semente imatura de soja, no início do estágio cotiledonar e desenvolvimento da semente (HEGEMAN et al., 2001), apresenta importante papel no estágio inicial de formação das sementes, através da regulação da formação do endosperma (ABID et al., 2009).

Em semente madura foi identificada uma enzima, considerada chave para biossíntese de triterpenos e esteróis: *cycloartenol synthase*, EC 5.4.99.8 (ZHAO et al., 2010). Esta enzima catalisa a ciclização do 2,3-epoxidoesqualeno em cicloartenol. Este passo é o principal ponto de ramificação que leva à síntese de esterol ou triterpenóide (ZHAO et al., 2010). Uma vez expressa em semente madura, esta enzima pode estar envolvida na biossíntese de triterpenóides, que são os metabólitos secundários característicos da espécie.

5.4.4. Metabolismo secundários

A família Meliaceae apresenta uma característica marcante, a presença dos limonoides. Limonoides são triterpenos modificados, que conferem o característico sabor amargo em *Carapa*. Os terpenóides são formados por unidades de isopentenil-difosfato, sintetizados a partir de duas rotas biossintéticas: via do mevalonato e via do methyl-D-ertritol-4-fosfate (MEP). Neste trabalho foram identificadas enzimas que participam das vias de síntese dos precursores dos limonoides - o isopentenil-difosfato, fenilpropanóides e flavonoides, além de outros metabólitos secundários (TABELA 04).

Tabela 04: Proteínas envolvidas com metabolismo secundário identificadas nas condições em estudo

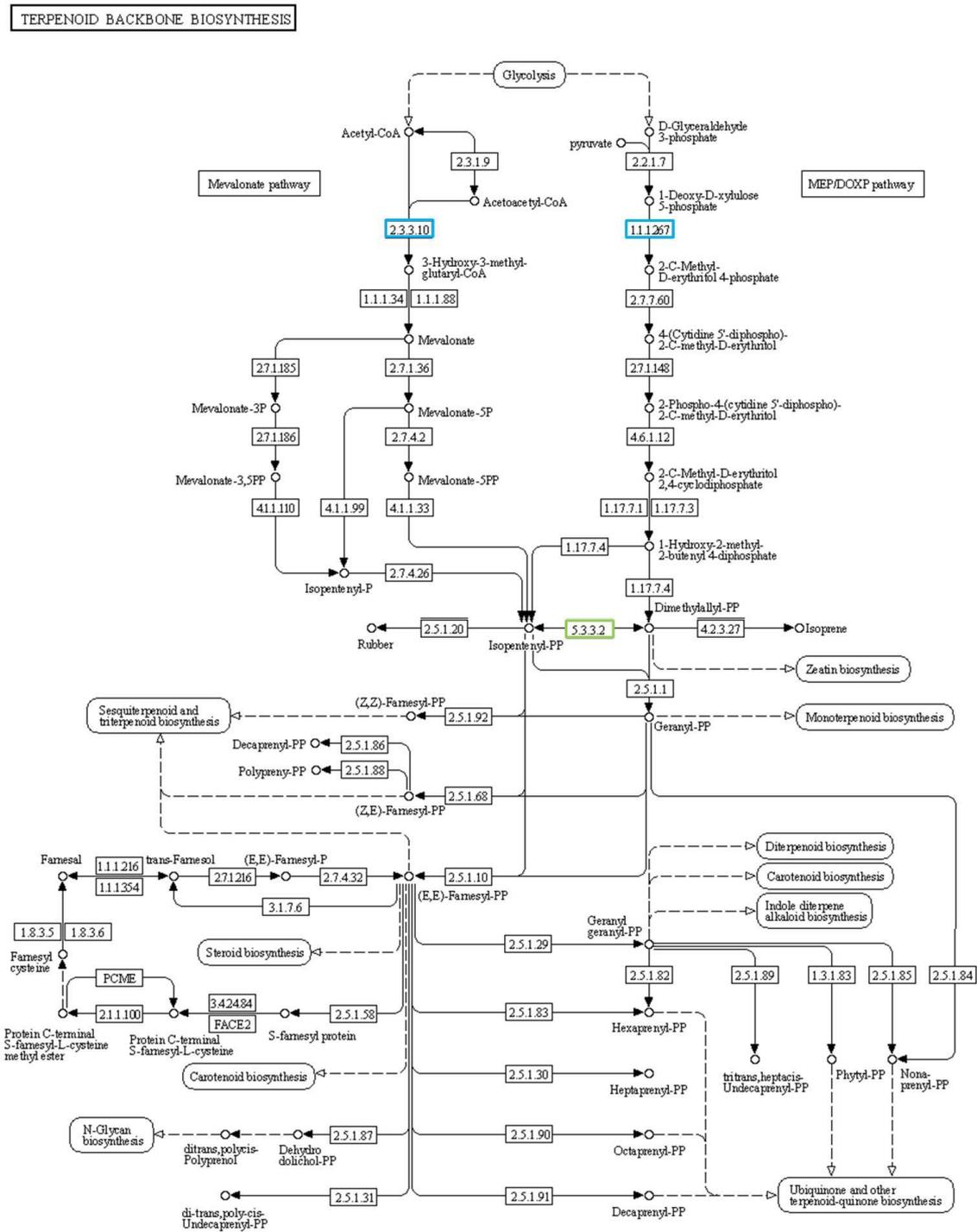
	SV		SM		
Terpenoides	<i>Isopentenyl-diphosphate</i>	<i>Delta-isomerase</i>	<i>Isopentenyl-diphosphate</i>	<i>Delta-</i>	
	<i>I</i> (EC 5.3.3.2)		<i>isomerase I</i> (EC 5.3.3.2)		
	<i>1-deoxy-D-xylulose</i>	<i>5-phosphate</i>	<i>Cytokinin</i>	<i>dehydrogenase</i>	<i>7</i> (EC
	<i>reductoisomerase</i> (EC 1.1.1.267)		1.5.99.12)		
	<i>Probable terpene synthase 6</i> (EC 4.2.3.-)				

	<i>Peroxidase</i> (EC 1.11.1.7)	
Fenilpropanóides	<i>Phenylalanine ammonia-lyase</i> (EC 4.3.1.24)	
	<i>(Iso)eugenol O-methyltransferase</i> (EC 2.1.1.146)	
	Probable cinnamyl alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.195)	
	Beta-glucosidase 4 (EC 3.2.1.21)	
	Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (EC 2.1.1.104)	
	<i>Chalcone--flavonone isomerase</i> (EC 5.5.1.6)	
Flavonóides	<i>Naringenin,2-oxoglutarate 3-dioxygenase</i> (EC 1.14.11.9)	
	<i>Chalcone synthase</i> (EC 2.3.1.74)	
	<i>Chalcone--flavonone isomerase</i> (EC 5.5.1.6)	
	<i>Anthocyanidin reductase ((2S)-flavan-3-ol-forming)</i> (EC 1.3.1.77)	
	<i>Probable methyltransferase PMT28</i> (EC 2.1.1.-)	<i>Probable methyltransferase PMT26</i> (EC 2.1.1.-)
<i>Cytochrome P450 705A5</i> (EC 1.14.-.-)		
<i>Dihomomethionine N-hydroxylase</i> (EC 1.14.14.32)		
<i>Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase, chloroplastic</i> (EC 5.4.3.8)		
<i>Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase</i> (EC 1.3.3.3)		
<i>Dirigent protein 7</i>		

Das enzimas envolvidas com a biossíntese de isopentenil-difosfato estão a *Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase I* (EC 5.3.3.2), presente em SV e SM. Esta isomerase interconverte isopentenil difosfato em Dimetilalil difosfato - precursor do

isopreno. Existem duas possíveis vias para a síntese destes compostos: via do mevalonato e via do metil-D-ertritol-4-fosfato (MEP). Curiosamente, neste trabalho foi identificadas uma enzima que participa da produção de isopentenil difosfato pela via do mevalonato (*Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase*, EC 2.3.3.10), e outras pela via do MEP (*1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase*, EC 1.1.1.267), ambos na condição SV (FIGURA 21). Também foi identificada uma enzima envolvida com o metabolismo de zeatina em SM - *cytokinin dehydrogenase 7* (EC 1.5.99.12). Zeatina é uma citocinina, que estimula a divisão de células vegetais maduras, na presença de auxinas (TAIZ & ZEIGER, 2009). A enzima identificada age degradando o precursor da zeatina - isopenteniladenina liberando adenina e o aldeído correspondente (FRÉBORT et al., 2002). Esta enzima desempenha papel na regulação dos níveis de citocininas nas células (SCHMÜLLING et al., 2003).

Figura 21 - Vias de biossíntese dos terpenóides. Destacados em azul estão as proteínas identificadas em SV: *1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase*, EC 1.1.1.267 e *hydroxymethylglutaryl-CoA synthase* EC 2.3.3.10. Esta última esta categorizada em *metabolismo de lipídeos*. Também foi identificada a enzima *isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase I*, EC 5.3.3.2 nas duas condições



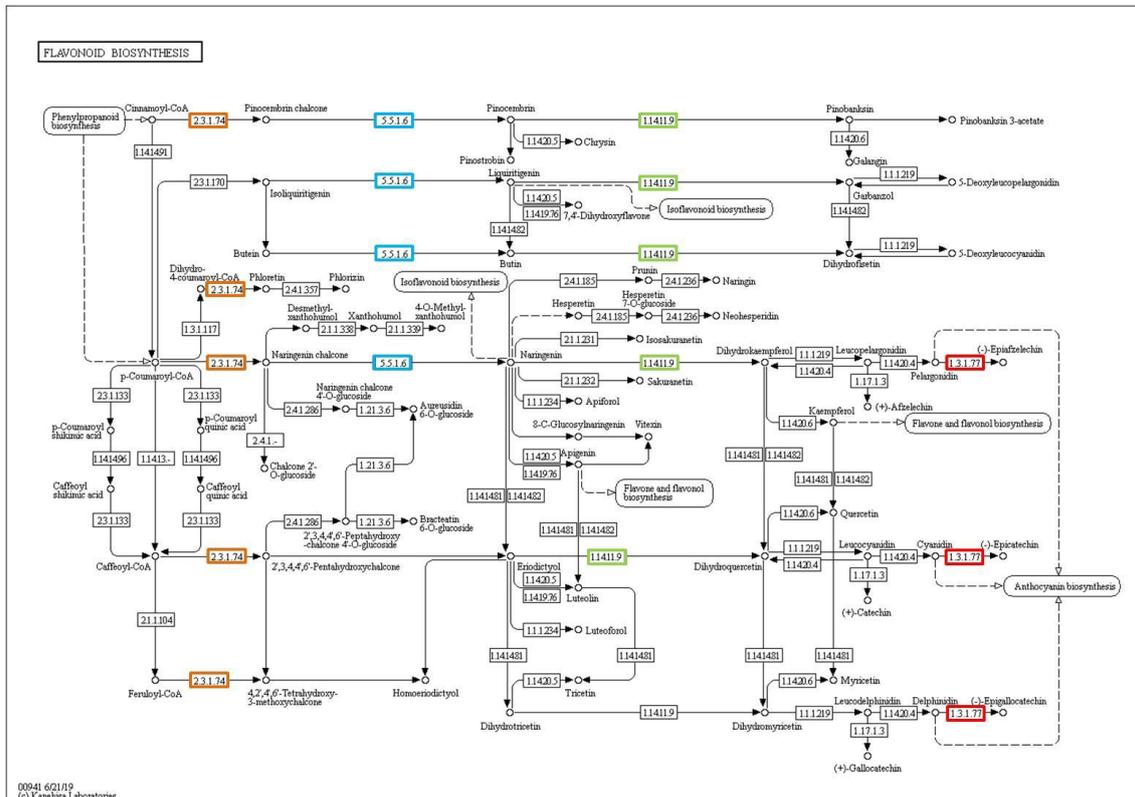
Fonte: KEGG Pathway, última atualização: 21 de nov. 2019; acesso dez. 2019.

As enzimas *peroxidase* e *probable cinnamyl alcohol dehydrogenase* estão envolvidas com a biossíntese dos monômeros de lignina (FIGURA 22), que são polímeros de subunidades aromáticas que atuam promovendo rigidez e resistência aos tecidos. Durante a extração de proteínas de semente verde, observou-se que os tecidos eram mais moles e claros, indicando pouca lignificação e ausência de oxidação do tegumento. As sementes verdes estão em fase de enchimento e aumento de tamanho, não podendo apresentar a rigidez observada em semente madura, o que justifica o surgimento destas enzimas apenas na condição SV, pois as estruturas ainda estão em formação.

Também foram identificadas apenas em SV as enzimas que participam das vias de síntese dos flavonoides. Os flavonoides constituem uma importante classe de polifenóis, presente em relativa abundância entre os metabólitos secundários vegetais. Biossintetizados a partir da rota dos fenilpropanóides apresentam uma série de funções, dentre elas: proteção dos vegetais contra os raios UV e visível, insetos, fungos, bactérias e vírus; atração de animais polinizadores; antioxidantes; reguladores de hormônios vegetais; agentes alelopáticos, dentre outros (SIMÕES et al., 2007).

As proteínas de biossíntese de flavonoides identificadas neste trabalho são: *chalcona-flavona isomerase* (EC 5.5.1.6), *naringenina, 2-oxoglutarate 3-dioxygenase* (EC 1.14.11.9), *chalcona sintase 1 e 2* (EC 2.3.1.74) e *antocianidina redutase* (EC 1.3.1.77) (FIGURA 23).

Figura 23 - Biossíntese de flavonóides. Em destaque as enzimas identificadas em SV: *chalcona sintase 1 e 2* (EC 2.3.1.74); *chalcona-flavona isomerase* (EC 5.5.1.6), *naringenina, 2-oxoglutarate 3-dioxygenase* (EC 1.14.11.9), e *antocianidina redutase* (EC 1.3.1.77)



Fonte: KEGG Pathway, última atualização: 21 de nov. 2019; acesso dez. 2019.

6. CONCLUSÃO

Citogenética de Meliaceae é bastante complexa por ser esta uma família heterogênea. Análises confirmatórias quanto ao número cromossômico, como avaliação de células meióticas e avaliação de conteúdo de DNA, serão realizadas para dar mais robustez aos dados. Além de estudos de bandeamento para buscar possíveis marcadores genéticos para as espécies de *Carapa*.

Foi identificado número cromossômico de $2n = 50$ para as duas espécies de *C. guianensis* em estudo. Para a população de *C. surinamensis*, Cs1 apresentou $2n = 42$ enquanto Cs2 não foi conclusiva, indicando possível presença de cromossomo B. O número cromossômico, por ser diferente, pode ser utilizado como uma característica de identificação das espécies que ocorrem na região.

Dentre as proteínas identificadas, foram exclusivos de SV - *biossíntese de nucleotídeos*, e exclusivo de SM - *proteínas de reserva*. Todos os demais grupos apresentaram expressão nas duas condições estudadas, sendo que aquelas que participam do metabolismo primário foram mais representativas na condição SV.

É conhecida a ocorrência de limonoides, flavonoides, flavanas, cumarinas, triterpenos, triacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, metilbenzoatos e ácidos graxos saturados em sementes maduras de *Carapa* (SILVA et al., 2012). Porém o metabolismo destas moléculas tem sido demonstrado ocorrer na fase verde, além da identificação da enzima antocianidina redutase, que indica a produção de proantocianidinas durante o enchimento das sementes.

Dentre as proteínas envolvidas com o metabolismo secundário identificadas em sementes, destacou-se aquelas envolvidas com a síntese de polifenóis - flavonoides e fenilpropanoides. Foram identificadas poucas proteínas envolvidas com o metabolismo de terpenóides no proteoma de semente de *Carapa*, apesar de ser uma característica marcante da espécie a presença de limonóides, indicando que sua produção possa estar ocorrendo em outro tecido, ou em outro estágio de maturação.

A presença de polifenóis na semente agrega valor ao seu potencial biotecnológico, pois os flavonoides são potenciais antioxidantes. O crescente interesse da indústria em

substituir os antioxidantes sintéticos pelos naturais tornam a massa de andiroba um possível alvo para isolamento destas moléculas promissoras a partir de fontes residuais (MOURE et al., 2001) da extração do óleo - torta.

8. APENDICES

01 - Proteínas identificadas em SV - 473 proteínas

Código	Score	Massa (Da)	Matches	Sequences	Proteína ID	Organismo	EC number	Biological process
P11143	3373	70871	115 (94)	24 (21)	Heat shock 70 kDa protein	Zea mays		Stress response
P22954	3262	71741	105 (82)	25 (20)	Probable mediator of RNA polymerase II transcription	Arabidopsis thaliana		Stress response, Transcription, Transcription regulation
O65719	3093	71559	101 (78)	24 (20)	Heat shock 70 kDa protein	Arabidopsis thaliana		Stress response
P24629	2530	71641	95 (70)	21 (17)	Heat shock cognate 70 kDa protein 1	Solanum lycopersicum		Stress response
P26413	2421	71291	86 (62)	17 (12)	Heat shock 70 kDa protein	Glycine max		Stress response
Q9S9N1	2120	71270	55 (46)	11 (8)	Heat shock 70 kDa protein 5	Arabidopsis thaliana		Stress response
Q08080	452	64918	22 (15)	10 (8)	Stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplast	Spinacia oleracea		Stress response
P37900	289	72428	39 (14)	9 (5)	Heat shock 70 kDa protein, mitochondrial	Pisum sativum		Stress response
Q9LTX9	288	77064	16 (12)	10 (8)	Heat shock 70 kDa protein 7, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		Protein transport, Stress response, Transport
Q02028	284	75583	20 (13)	9 (8)	Stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplast	Pisum sativum		Stress response
Q08276	254	73317	36 (15)	10 (6)	Heat shock 70 kDa protein, mitochondrial	Solanum tuberosum		Stress response
Q8GUM2	222	73315	42 (14)	10 (5)	Heat shock 70 kDa protein 9, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		Stress response
P53504	2754	42121	84 (68)	16 (13)	Actin-1	Sorghum bicolor		
P53494	2392	41980	82 (64)	17 (13)	Actin-4	Arabidopsis thaliana		

P02581	2137	41672	55 (45)	13 (8)	Actin-1	Glycine max		
P23343	2076	42246	77 (55)	17 (13)	Actin-1	Daucus carota		
Q96292	1739	42078	57 (47)	14 (11)	Actin-2	Arabidopsis thaliana		
P0CJ46	1728	42056	82 (53)	17 (14)	Actin-1	Arabidopsis thaliana		
Q9LEI9	1958	48112	55 (38)	12 (11)	Enolase 2	Hevea brasiliensis	4.2.1.11	Glycolysis
P42896	1925	48111	46 (37)	11 (10)	Enolase	Ricinus communis	4.2.1.11	Glycolysis
Q42971	1734	48285	40 (31)	9 (8)	Enolase	Oryza sativa subsp. japonica	4.2.1.11	Glycolysis
P25696	1165	47974	34 (25)	8 (8)	Bifunctional enolase 2/transcriptional activator	Arabidopsis thaliana	4.2.1.11	Glycolysis, Transcription, Transcription regulation
P26301	796	48262	31 (16)	11 (8)	Enolase 1	Zea mays	4.2.1.11	Glycolysis
Q9SXJ7	259	1E+05	18 (9)	14 (7)	Chaperone protein ClpC2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	3.6.1.3	
Q9C9C4	174	5181	7 (7)	2 (2)	Enolase 1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.2.1.11	Glycolysis
Q9LW96	2847	56505	64 (59)	14 (13)	Inositol-3-phosphate synthase	Nicotiana tabacum	5.5.1.4	Inositol biosynthesis, Lipid biosynthesis, <u>Lipid metabolism</u> , Phospholipid biosynthesis, Phospholipid metabolism
Q9FYV1	1783	56370	49 (44)	11 (10)	Inositol-3-phosphate synthase	Sesamum indicum	5.5.1.4	Inositol biosynthesis, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism, Phospholipid biosynthesis, Phospholipid metabolism

P42802	1575	56584	55 (45)	10 (9)	Inositol-3-phosphate synthase	Citrus paradisi	5.5.1.4	Inositol biosynthesis, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism, Phospholipid biosynthesis, Phospholipid metabolism
Q38862	500	56530	30 (24)	7 (7)	Inositol-3-phosphate synthase isozyme 2	Arabidopsis thaliana	5.5.1.4	Inositol biosynthesis, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism, Phospholipid biosynthesis, Phospholipid metabolism
P04796	2163	37015	97 (73)	12 (12)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Sinapis alba	1.2.1.12	Glycolysis
Q39769	1568	36917	62 (48)	11 (9)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Ginkgo biloba	1.2.1.12	Glycolysis
Q42671	1480	36568	59 (49)	7 (7)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Craterostigma plantagineum	1.2.1.12	Glycolysis
Q6K5G8	847	36716	74 (44)	11 (10)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 3, cytosolic	Oryza sativa subsp. japonica	1.2.1.12	Glycolysis
A2YQT7	676	36561	46 (33)	8 (8)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Oryza sativa subsp. indica	1.2.1.12	Glycolysis
Q9SAJ6	480	44974	24 (21)	6 (5)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPCP1	Arabidopsis thaliana	1.2.1.12	Glycolysis
P26521	473	36775	28 (24)	9 (7)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Ranunculus acris	1.2.1.12	Glycolysis
Q5E924	456	44989	26 (23)	7 (6)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPCP2	Arabidopsis thaliana	1.2.1.12	Glycolysis
P34923	387	36910	18 (16)	4 (4)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Physcomitrella patens subsp. Patens	1.2.1.12	Glycolysis

P17614	2135	59933	50 (39)	14 (13)	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	Nicotiana plumbaginifolia	7.1.2.2	ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
P29685	1804	60335	52 (38)	14 (13)	ATP synthase subunit beta, mitochondria	Hevea brasiliensis	7.1.2.2	ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
P92549	1165	55296	32 (28)	14 (12)	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
P18260	893	55794	43 (31)	18 (15)	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	Helianthus annuus		ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
B1A920	68	55194	6 (5)	3 (3)	ATP synthase subunit alpha, chloroplastic	Carica papaya	7.1.2.2	ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
O64937	1367	49604	59 (49)	14 (12)	Elongation factor 1-alpha	Oryza sativa subsp. japonica		Protein biosynthesis
P43643	1344	49593	60 (49)	14 (11)	Elongation factor 1-alpha	Nicotiana tabacum		Protein biosynthesis
P29521	933	49613	47 (36)	13 (10)	Elongation factor 1-alpha	Daucus carota		Protein biosynthesis
P34824	421	49489	24 (19)	9 (7)	Elongation factor 1-alpha	Hordeum vulgare		Protein biosynthesis
O23755	1355	94708	59 (39)	21 (15)	Elongation factor 2	Beta vulgaris		Protein biosynthesis
Q9ASR1	1253	94743	53 (34)	21 (13)	Elongation factor 2	Arabidopsis thaliana		Protein biosynthesis
P28996	332	94853	27 (12)	10 (3)	Elongation factor 2	Parachlorella kessleri		Protein biosynthesis
Q9SM09	1228	68923	27 (27)	9 (9)	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Citrus unshiu	7.1.2.2	Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
O23654	1049	69111	30 (25)	10 (9)	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Arabidopsis thaliana	7.1.2.2	Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
P31405	1045	68764	23 (23)	9 (9)	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Gossypium hirsutum	7.1.2.2	Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport

Q42662	1190	84822	32 (26)	10 (6)	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine	Plectranthus scutellarioides	2.1.1.14	Amino-acid biosynthesis, Methionine biosynthesis
P93263	1164	85054	34 (25)	8 (6)	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine	Mesembryanthemum crystallinum	2.1.1.14	Amino-acid biosynthesis, Methionine biosynthesis
Q42699	1146	85089	28 (23)	9 (6)	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine	Catharanthus roseus	2.1.1.14	Amino-acid biosynthesis, Methionine biosynthesis
Q9SRV5	1131	84873	35 (24)	9 (5)	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine	Arabidopsis thaliana	2.1.1.14	Amino-acid biosynthesis, Methionine biosynthesis
Q0WNZ5	1083	90993	29 (21)	8 (4)	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine	Arabidopsis thaliana	2.1.1.14	Amino-acid biosynthesis, Methionine biosynthesis
P08927	1196	63287	42 (38)	14 (12)	RuBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic	Pisum sativum		
Q42962	1076	42338	47 (34)	11 (9)	Phosphoglycerate kinase, cytosolic	Nicotiana tabacum	2.7.2.3	Glycolysis
Q9SAJ4	776	42162	36 (22)	9 (6)	Phosphoglycerate kinase 3, cytosolic	Arabidopsis thaliana	2.7.2.3	Glycolysis
P29409	709	45658	22 (16)	3 (3)	Phosphoglycerate kinase, chloroplastic (Fragment)	Spinacia oleracea	2.7.2.3	Calvin cycle
Q42961	363	50317	15 (7)	4 (3)	Phosphoglycerate kinase, chloroplastic	Nicotiana tabacum	2.7.2.3	Calvin cycle
P12863	1061	27236	28 (26)	8 (7)	Triosephosphate isomerase, cytosolic	Zea mays	5.3.1.1	Gluconeogenesis, Glycolysis
P48493	609	20756	16 (15)	4 (3)	Triosephosphate isomerase, cytosolic (Fragment)	Lactuca sativa	5.3.1.1	Gluconeogenesis, Glycolysis
P48495	573	27343	20 (20)	6 (6)	Triosephosphate isomerase, cytosolic	Petunia hybrida	5.3.1.1	Gluconeogenesis, Glycolysis
P21820	470	27244	22 (21)	5 (5)	Triosephosphate isomerase, cytosolic	Coptis japonica	5.3.1.1	Gluconeogenesis, Glycolysis
Q9SKP6	113	33553	14 (3)	5 (2)	Triosephosphate isomerase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	5.3.1.1	Calvin cycle
P54774	1004	90512	58 (31)	25 (16)	Cell division cycle protein 48 homolog	Glycine max		Cell cycle

Q9SCN8	842	91082	53 (26)	21 (12)	Cell division control protein 48 homolog D	Arabidopsis thaliana		Cell cycle, Cell division, Protein transport, Transport
O24047	987	35817	39 (29)	6 (4)	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	Mesembryanthemum crystallinum	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
Q7XDC8	888	35888	38 (28)	6 (5)	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	Oryza sativa subsp. Japonica	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
P93819	441	35890	23 (11)	6 (2)	Malate dehydrogenase 1, cytoplasmic	Arabidopsis thaliana	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
Q9FE01	860	27215	24 (22)	5 (4)	L-ascorbate peroxidase 2, cytosolic	Oryza sativa subsp. Japonica	1.11.1.11	Hydrogen peroxide, Stress response
P49608	834	98570	45 (29)	15 (10)	Aconitate hydratase, cytoplasmic	Cucurbita maxima	4.2.1.3	Glyoxylate bypass
O04916	345	67518	15 (13)	9 (8)	Aconitate hydratase, cytoplasmic (Fragment)	Solanum tuberosum	4.2.1.3	Glyoxylate bypass
Q6YZX6	345	98591	28 (20)	11 (9)	Putative aconitate hydratase, cytoplasmic	Oryza sativa subsp. japonica	4.2.1.3	Glyoxylate bypass
Q94A28	148	1E+05	12 (7)	6 (4)	Aconitate hydratase 2, mitochondria	Arabidopsis thaliana	4.2.1.3	Glyoxylate bypass, Tricarboxylic acid cycle
A4F1Q8	746	23647	13 (13)	2 (2)	Chalcone--flavonone isomeras	Clitoria ternatea	5.5.1.6	flavonoid biosynthesis
Q9SJQ9	709	38705	26 (24)	9 (7)	Fructose-bisphosphate aldolase 6, cytosolic	Arabidopsis thaliana	4.1.2.13	Glycolysis, Stress response
P29356	576	38675	20 (9)	7 (3)	Fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme	Spinacia oleracea	4.1.2.13	Glycolysis
P08440	508	39036	22 (16)	9 (8)	Fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme	Zea mays	4.1.2.13	Glycolysis
O65581	378	38555	14 (11)	6 (4)	Fructose-bisphosphate aldolase 5, cytosolic	Arabidopsis thaliana	4.1.2.13	Glycolysis
Q9ZP06	689	36010	17 (17)	5 (5)	Malate dehydrogenase 1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
P17783	671	36406	21 (16)	6 (5)	Malate dehydrogenase, mitochondrial	Citrullus lanatus	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
P83373	575	35828	23 (14)	6 (4)	Malate dehydrogenase, mitochondrial	Fragaria ananassa	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
Q9SN86	399	42607	11 (10)	5 (4)	Malate dehydrogenase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
P19446	308	37955	8 (7)	5 (4)	Malate dehydrogenase, glyoxysomal	Citrullus lanatus	1.1.1.37	Glyoxylate bypass, Tricarboxylic acid cycle

P84209	297	3108	9 (9)	2 (2)	Malate dehydrogenase, mitochondrial (Fragments)	Imperata cylindrica	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
Q09MH0	654	52999	35 (20)	9 (6)	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	Citrus sinensis	4.1.1.39	Calvin cycle, Carbon dioxide fixation, Photorespiration, Photosynthesis
A6MM44	534	53016	33 (17)	9 (6)	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	Buxus microphylla	4.1.1.39	Calvin cycle, Carbon dioxide fixation, Photorespiration, Photosynthesis
Q05987	264	52237	19 (10)	9 (5)	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	Cercidiphyllum japonicum	4.1.1.39	Calvin cycle, Carbon dioxide fixation, Photorespiration, Photosynthesis
P93338	641	53851	31 (22)	6 (4)	NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydro	Nicotiana plumbaginifolia	1.2.1.9	
O23254	610	52141	18 (13)	7 (4)	Serine hydroxymethyltransferase 4	Arabidopsis thaliana	2.1.2.1	One-carbon metabolism
Q2QXR8	564	57862	15 (15)	1 (1)	Pyruvate kinase 2, cytosolic	Oryza sativa subsp. Japonica	2.7.1.40	Glycolysis
P41090	511	41134	15 (10)	5 (3)	Naringenin,2-oxoglutarate 3-dioxygenase	Vitis vinifera	1.14.11.9	Flavonoid biosynthesis
Q05963	425	40526	12 (12)	4 (4)	Naringenin,2-oxoglutarate 3-dioxygenase	Callistephus chinensis	1.14.11.9	Flavonoid biosynthesis
Q07353	332	41725	10 (10)	3 (3)	Naringenin,2-oxoglutarate 3-dioxygenase (Fragment)	Petunia hybrida	1.14.11.9	Flavonoid biosynthesis
Q9LIA8	545	53709	15 (13)	5 (4)	UDP-glucose 6-dehydrogenase 2	Arabidopsis thaliana	1.1.1.22	UDP-alpha-D-glucuronate biosynthesis
Q96558	544	53478	16 (13)	5 (5)	UDP-glucose 6-dehydrogenase 1	Glycine max	1.1.1.22	UDP-alpha-D-glucuronate biosynthesis
Q8H156	486	25406	25 (23)	11 (10)	GTP-binding nuclear protein Ran-3	Arabidopsis thaliana		Protein transport, Transport
Q9ZU52	475	42529	15 (12)	4 (3)	Fructose-biphosphate aldolase 3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.1.2.13	Glycolysis

P14673	474	41752	25 (20)	6 (5)	Alcohol dehydrogenase 1	Solanum tuberosum	1.1.1.1	
P14219	315	41631	13 (10)	4 (2)	Alcohol dehydrogenase 1	Cenchrus americanus	1.1.1.1	
P48977	236	42066	12 (7)	6 (3)	Alcohol dehydrogenase	Malus domestica	1.1.1.1	
Q2R8Z5	174	41699	7 (5)	3 (2)	Alcohol dehydrogenase 1	Oryza sativa subsp. japonica	1.1.1.1	
Q41188	469	19484	10 (9)	2 (1)	Cold shock protein 2	Arabidopsis thaliana		
O65398	327	31965	10 (7)	5 (3)	Lactoylglutathione lyase GLX1	Arabidopsis thaliana	4.4.1.5	methylglyoxal degradation
Q948T6	306	32875	7 (6)	3 (2)	Lactoylglutathione lyase	Oryza sativa subsp. Japonica	4.4.1.5	methylglyoxal degradation
Q8W593	285	39427	7 (7)	4 (4)	Probable lactoylglutathione lyase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.4.1.5	methylglyoxal degradation
Q6Z1G7	345	40204	17 (14)	4 (3)	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-1	Oryza sativa subsp. japonica	1.2.4.1	Glycolysis
Q40345	430	48695	14 (12)	7 (6)	Isocitrate dehydrogenase [NADP], chloroplastic (Fragment)	Medicago sativa	1.1.1.42	Glyoxylate bypass, Tricarboxylic acid cycle
Q9SLK0	387	47546	16 (13)	9 (7)	Peroxisomal isocitrate dehydrogenase [NADP]	Arabidopsis thaliana	1.1.1.42	Stress response, Tricarboxylic acid cycle
P56336	413	17479	13 (13)	5 (5)	Eukaryotic translation initiation factor 5A-4	Solanum tuberosum		Protein biosynthesis
Q9AXQ3	382	17734	21 (16)	7 (7)	Eukaryotic translation initiation factor 5A-4	Solanum lycopersicum		Protein biosynthesis
P56335	367	17731	15 (15)	6 (6)	Eukaryotic translation initiation factor 5A-3	Solanum tuberosum		Protein biosynthesis
P24922	357	17581	13 (13)	5 (5)	Eukaryotic translation initiation factor 5A-2	Nicotiana plumbaginifolia		Protein biosynthesis
Q9AXJ4	351	17833	10 (10)	4 (4)	Eukaryotic translation initiation factor 5A	Manihot esculenta		Protein biosynthesis
P48386	394	42942	25 (19)	8 (7)	Chalcone synthase 1	Camellia sinensis	2.3.1.74	Flavonoid biosynthesis
Q43188	199	42848	15 (12)	8 (6)	Chalcone synthase 2	Solanum tuberosum	2.3.1.74	Flavonoid biosynthesis

Q9ZUT9	379	23090	16 (10)	9 (6)	40S ribosomal protein S5-1	Arabidopsis thaliana		
O65731	352	22119	20 (13)	11 (7)	40S ribosomal protein S5 (Fragment)	Cicer arietinum		
P08926	375	61998	17 (8)	7 (5)	RuBisCO large subunit-binding protein subunit alpha, chloroplastic	Pisum sativum		
P08824	307	52461	12 (6)	8 (4)	RuBisCO large subunit-binding protein subunit alpha (Fragment)	Ricinus communis		
P21239	255	57714	15 (6)	8 (5)	RuBisCO large subunit-binding protein subunit alpha, chloroplastic	Brassica napus		
P26563	361	50056	23 (15)	9 (5)	Aspartate aminotransferase P2, mitochondrial (Fragment)	Lupinus angustifolius	2.6.1.1	metabolism of amino acid, nitrogen metabolism
P46248	272	49971	34 (15)	9 (5)	Aspartate aminotransferase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.6.1.1	metabolism of amino acid, nitrogen metabolism
P46644	111	49152	10 (5)	7 (3)	Aspartate aminotransferase 3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.6.1.1	metabolism of amino acid, nitrogen metabolism
O20250	353	80744	20 (8)	5 (3)	Transketolase, chloroplastic	Spinacia oleracea	2.2.1.1	pathway Calvin cycle, Carbohydrate biosynthesis
F4IW47	251	80385	9 (6)	3 (2)	Transketolase-2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.2.1.1	pathway Calvin cycle, Carbohydrate biosynthesis
Q7SIC9	162	73347	12 (5)	5 (4)	Transketolase, chloroplastic	Zea mays	2.2.1.1	pathway Calvin cycle, Carbohydrate biosynthesis
Q96552	350	43433	16 (11)	7 (4)	S-adenosylmethionine synthase 2	Catharanthus roseus	2.5.1.6	One-carbon metabolism
P42054	322	29579	18 (12)	6 (3)	Outer plastidial membrane protein porin	Pisum sativum		Ion transport, Transport

P42055	311	29669	9 (9)	2 (2)	Mitochondrial outer membrane protein porin of 34 kDa	Solanum tuberosum		Ion transport, Transport
P42056	301	29433	15 (10)	7 (3)	Mitochondrial outer membrane protein porin of 36 kDa	Solanum tuberosum		Ion transport, Transport
Q9M9P3	312	51877	9 (8)	6 (5)	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase 2	Arabidopsis thaliana	2.7.7.9	
Q43772	210	51783	8 (6)	6 (4)	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	Hordeum vulgare	2.7.7.9	
Q42908	310	61316	12 (9)	7 (4)	2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerat	Mesembryanthemum crystallinum	5.4.2.12	Glycolysis, Stress response
P35493	236	61008	9 (8)	5 (4)	2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycera	Ricinus communis	5.4.2.12	Glycolysis
O24246	70	53475	4 (3)	4 (3)	2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerat	Prunus dulcis	5.4.2.12	Glycolysis
Q9SM60	309	63513	22 (14)	10 (8)	Phosphoglucomutase, cytoplasmic	Pisum sativum	5.4.2.2	Carbohydrate metabolism, Glucose metabolism
Q9M4G4	223	63658	24 (10)	7 (5)	Phosphoglucomutase, cytoplasmic	Solanum tuberosum	5.4.2.2	Carbohydrate metabolism, Glucose metabolism
Q9SGC1	196	63670	17 (10)	6 (5)	Probable phosphoglucomutase, cytoplasmic 2	Arabidopsis thaliana	5.4.2.2	Carbohydrate metabolism, Glucose metabolism
P52427	302	27545	12 (9)	5 (4)	Proteasome subunit alpha type-4	Spinacia oleracea	3.4.25.1	
O81148	295	27572	20 (14)	4 (4)	Proteasome subunit alpha type-4-A	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
Q9SLA8	298	41416	17 (9)	3 (2)	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH], chloroplastic	Arabidopsis thaliana	1.3.1.9	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism

B9DHA6	295	14952	21 (14)	4 (3)	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40-1	Arabidopsis thaliana		
Q8LRM8	294	18851	17 (10)	4 (3)	Translationally-controlled tumor protein homolog	Triticum aestivum		
Q9M5I8	248	18803	15 (9)	3 (3)	Translationally-controlled tumor protein homolog	Cucumis melo		
Q8H6A5	174	18735	7 (5)	4 (2)	Translationally-controlled tumor protein homolog	Zea mays		
Q0JGZ6	267	34869	7 (6)	4 (3)	Fructokinase-1	Oryza sativa subsp. japonica	2.7.1.4	Carbohydrate metabolism
Q6XZ79	262	34840	10 (6)	4 (3)	Fructokinase-1	Zea mays	2.7.1.4	Carbohydrate metabolism
P37829	121	33972	8 (7)	3 (3)	Fructokinase	Solanum tuberosum	2.7.1.4	Carbohydrate metabolism
A2YVR7	263	25828	7 (6)	4 (3)	Proteasome subunit alpha type-2	Oryza sativa subsp. indica	3.4.25.1	
O23708	200	25685	12 (9)	4 (3)	Proteasome subunit alpha type-2-A	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
Q06652	260	18755	5 (5)	2 (2)	Probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	Citrus sinensis	1.11.1.12	Stress response
P84977	260	5214	14 (14)	2 (2)	Glycine-rich RNA-binding protein 3 (Fragments)	Populus euphratica		
Q6YZE2	259	50434	7 (7)	3 (3)	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase, chloroplastic	Oryza sativa subsp. japonica	5.4.3.8	Chlorophyll biosynthesis, Porphyrin biosynthesis
P42799	254	50737	12 (5)	6 (3)	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase 1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	5.4.3.8	Chlorophyll biosynthesis, Porphyrin biosynthesis
P52578	258	33831	7 (6)	3 (2)	Isoflavone reductase homolog	Solanum tuberosum	1.3.1.-	
B9HRL7	258	33731	7 (7)	2 (2)	Phenylcoumaran benzylic ether reductase POP1	Populus trichocarpa	1.23.1.-	
Q9CAX6	257	16320	8 (7)	3 (2)	40S ribosomal protein S14-2	Arabidopsis thaliana		

Q944P7	255	61667	6 (5)	4 (3)	Leucine aminopeptidase 2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	3.4.11.1	
Q942L2	255	41114	11 (8)	4 (3)	Protein disulfide isomerase-like 2-2	Oryza sativa subsp. japonica	5.3.4.1	
O22263	241	39815	9 (8)	4 (3)	Protein disulfide-isomerase like 2-1	Arabidopsis thaliana	5.3.4.1	
Q9XI01	162	55852	9 (8)	3 (2)	Protein disulfide isomerase-like 1-1	Arabidopsis thaliana	5.3.4.1	
P29828	64	57280	6 (3)	4 (2)	Protein disulfide-isomerase	Medicago sativa	5.3.4.1	
Q40470	249	47152	12 (7)	5 (3)	Eukaryotic initiation factor 4A-7	Nicotiana tabacum	3.6.4.13	Protein biosynthesis
Q9LEV3	241	22829	11 (6)	4 (2)	CBS domain-containing protein CBSX3, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		
O82533	240	50747	14 (8)	5 (3)	Cell division protein FtsZ homolog 2-1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		
O65039	236	40485	12 (10)	2 (1)	Vignain	Ricinus communis	3.4.22.-	
P45739	236	57004	16 (6)	6 (3)	Catalase	Helianthus annuus	1.11.1.6	Hydrogen peroxide
A2YH64	227	57064	12 (4)	4 (2)	Catalase isozyme B	Oryza sativa subsp. indica	1.11.1.6	Hydrogen peroxide
Q42547	71	57059	5 (3)	2 (2)	Catalase-3	Arabidopsis thaliana	1.11.1.6	Hydrogen peroxide
P12365	49	56772	10 (2)	4 (2)	Catalase isozyme 2	Zea mays	1.11.1.6	Hydrogen peroxide
P0C0Y3	233	14172	11 (8)	2 (2)	Profilin	Fragaria ananassa		
Q9ZWR1	229	24022	6 (6)	1 (1)	Chalcone--flavonone isomerase	Citrus sinensis	5.5.1.6	Flavonoid biosynthesis
Q9M8R9	229	18110	11 (9)	2 (2)	Putative 4-hydroxy-4-methyl-2-oxoglutarate aldolase 1	Arabidopsis thaliana	4.1.3.17	
Q9FFE0	165	18094	6 (6)	2 (2)	Putative 4-hydroxy-4-methyl-2-oxoglutarate aldolase 2	Arabidopsis thaliana	4.1.3.17	

Q93Z53	229	62917	12 (9)	4 (3)	Plastidial pyruvate kinase 3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.7.1.40	Glycolysis
Q38935	222	16459	6 (6)	2 (2)	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP15-1	Arabidopsis thaliana	5.2.1.8	
Q42806	221	55951	14 (8)	6 (3)	Pyruvate kinase, cytosolic isozyme	Glycine max	2.7.1.40	Glycolysis
P22200	160	55819	17 (5)	7 (2)	Pyruvate kinase, cytosolic isozyme	Solanum tuberosum	2.7.1.40	Glycolysis
A9PCL4	217	17518	12 (11)	3 (3)	Peroxiredoxin-2	Populus trichocarpa	1.11.1.15	
Q9SVD7	216	16693	11 (9)	6 (5)	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1D	Arabidopsis thaliana		
Q0DRV6	200	15356	4 (3)	2 (1)	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 1	Oryza sativa subsp. japonica	1.15.1.1	
Q9LID5	197	20473	11 (7)	4 (1)	Dirigent protein 7	Arabidopsis thaliana		
B9N843	194	58031	11 (6)	6 (4)	Biotin carboxylase 2, chloroplastic	Populus trichocarpa	6.3.4.14	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
Q9LIP2	187	29580	13 (8)	7 (5)	Proteasome subunit beta type-5-B	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
Q6ZL94	184	34567	8 (4)	4 (2)	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha, mitochondrial	Oryza sativa subsp. japonica	6.2.1.5	Tricarboxylic acid cycle
P52877	181	47603	9 (5)	5 (2)	Phosphoserine aminotransferase, chloroplastic	Spinacia oleracea	2.6.1.52	Amino-acid biosynthesis, Serine biosynthesis
Q93VR3	180	43130	4 (4)	3 (3)	GDP-mannose 3,5-epimerase	Arabidopsis thaliana	5.1.3.18	Ascorbate biosynthesis
Q6ZDY8	176	69494	4 (3)	4 (3)	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial	Oryza sativa subsp. japonica	1.3.5.1	Electron transport, Transport, Tricarboxylic acid cycle
Q05728	173	41649	10 (6)	2 (1)	Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	6.3.3.1	Purine biosynthesis
Q9STY6	171	13799	8 (6)	1 (1)	40S ribosomal protein S20-2	Arabidopsis thaliana		
Q6K9N6	165	45405	11 (6)	5 (3)	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit beta, mitochondrial	Oryza sativa subsp. japonica	6.2.1.5	Tricarboxylic acid cycle

P93541	161	45070	7 (4)	5 (2)	Glutamate dehydrogenase	Solanum lycopersicum	1.4.1.3	
O65390	159	55320	9 (8)	2 (2)	Aspartic proteinase A1	Arabidopsis thaliana	3.4.23.-	
Q9XG77	158	27400	10 (6)	5 (3)	Proteasome subunit alpha type-6	Nicotiana tabacum	3.4.25.1	
Q9LSU3	149	27670	5 (4)	3 (2)	Proteasome subunit alpha type-6	Oryza sativa subsp. japonica	3.4.25.1	
Q2QZ86	158	46854	6 (6)	3 (3)	ATP-citrate synthase alpha chain protein 2	Oryza sativa subsp. Japonica	2.3.3.8	Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
O82531	157	24944	8 (5)	2 (2)	Proteasome subunit beta type-1	Petunia hybrida	3.4.25.1	
Q8LD46	154	17430	7 (4)	3 (1)	60S ribosomal protein L23a-1	Arabidopsis thaliana		
Q9C6Z3	147	44672	11 (7)	6 (2)	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-2	Arabidopsis thaliana	1.2.4.1	Glycolysis
Q10MQ2	147	50225	6 (4)	2 (1)	Probable LL-diaminopimelate aminotransferase, chloroplastic	Oryza sativa subsp. Japonica	2.6.1.83	
Q94KU2	145	58542	5 (4)	3 (2)	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating 2	Spinacia oleracea	1.1.1.44	Gluconate utilization, Pentose shunt
Q9FFR3	140	53626	8 (4)	4 (2)	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating 3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	1.1.1.44	Gluconate utilization, Pentose shunt
Q9ZT91	144	49607	2 (2)	1 (1)	Elongation factor Tu, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		Protein biosynthesis
Q75LR2	138	60794	11 (6)	4 (2)	Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase 1, chloroplastic	Oryza sativa subsp. japonica	2.5.1.54	Amino-acid biosynthesis, Aromatic amino acid biosynthesis
Q9C5U3	135	47389	10 (5)	5 (2)	26S proteasome regulatory subunit 8 homolog A	Arabidopsis thaliana		
O04019	85	47236	4 (2)	3 (2)	26S proteasome regulatory subunit 6A homolog B	Arabidopsis thaliana		

P54778	55	46674	7 (2)	3 (2)	26S proteasome regulatory subunit 6B homolog	Solanum tuberosum		
P42794	134	21019	13 (5)	4 (3)	60S ribosomal protein L11-2	Arabidopsis thaliana		
C6TBN2	129	38457	4 (4)	3 (3)	Probable aldo-keto reductase 1	Glycine max	1.1.1.-	
A2XRZ0	48	38437	5 (2)	4 (2)	Probable aldo-keto reductase 2	Oryza sativa subsp. indica	1.1.1.-	
Q39613	128	18501	21 (8)	5 (4)	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Catharanthus roseus	5.2.1.8	
Q9SP02	94	22004	9 (7)	5 (4)	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase CYP20-1	Arabidopsis thaliana	5.2.1.8	
P35627	62	18320	5 (3)	3 (2)	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Unspecified eudicot DB-1992	5.2.1.8	
Q69TY4	127	23788	4 (3)	2 (1)	Peroxiredoxin-2E-1, chloroplastic	Oryza sativa subsp. japonica	1.11.1.15	
P02519	126	17336	11 (8)	7 (6)	17.3 kDa class I heat shock protein	Glycine max		Stress response
Q9ZW31	91	17552	7 (6)	6 (5)	17.6 kDa class I heat shock protein 2	Arabidopsis thaliana		Stress response
O04886	123	63929	10 (2)	4 (1)	Pectinesterase 1	Citrus sinensis	3.1.1.11	Cell wall biogenesis/degradation
Q06378	121	39332	8 (6)	2 (1)	Glutamine synthetase	Hordeum vulgare	6.3.1.2	
Q9LDV4	120	59986	3 (2)	2 (2)	Alanine aminotransferase 2, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	2.6.1.2	
P30360	118	39249	9 (7)	4 (2)	Probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 2	Nicotiana tabacum	1.1.1.195	Lignin biosynthesis
Q9LT69	118	62368	3 (2)	2 (1)	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase 3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	1.1.1.95	
Q9SU63	117	58951	5 (4)	3 (2)	Aldehyde dehydrogenase family 2 member B4, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.2.1.3	
Q8S528	113	58458	5 (4)	4 (3)	Aldehyde dehydrogenase family 2 member B7, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.2.1.3	

O04496	116	48429	12 (9)	1 (1)	Aspartyl protease AED3	Arabidopsis thaliana	3.4.23.-	
Q9XEE2	116	36358	6 (2)	3 (1)	Annexin D2	Arabidopsis thaliana		
P80471	115	35671	2 (2)	1 (1)	Light-induced protein, chloroplastic	Solanum tuberosum		
P42066	114	74920	6 (3)	4 (2)	Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)	Cucumis sativus	4.1.1.49	Gluconeogenesis
P49199	113	24928	10 (1)	2 (1)	40S ribosomal protein	Oryza sativa subsp. Japonica		
O23715	113	27645	3 (3)	2 (2)	Proteasome subunit alpha type-3	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
O24362	76	27553	5 (3)	3 (2)	Proteasome subunit alpha type-3	Spinacia oleracea	3.4.25.1	
Q84L30	113	40098	2 (2)	1 (1)	Ubiquitin receptor RAD23d	Arabidopsis thaliana		DNA damage, DNA repair
P93395	112	25225	2 (2)	1 (1)	Proteasome subunit beta type-6	Nicotiana tabacum	3.4.25.1	
A5JTQ3	111	84413	3 (2)	2 (1)	Beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2	Medicago sativa subsp. Varia	3.2.1.37 e 3.2.1.55	Carbohydrate metabolism, Polysaccharide degradation, Xylan degradation
O64530	110	42152	5 (2)	2 (2)	Thiosulfate/3-mercaptopyruvate sulfurtransferase 1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	2.8.1.1	embryo development ending in seed dormancy
Q5Z6F5	110	35204	4 (2)	3 (1)	Probable protein phosphatase 2C 59	Oryza sativa subsp. japonica	3.1.3.16	
Q8L7K9	110	67111	11 (3)	5 (1)	NAD-dependent malic enzyme 2, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.1.1.39	
P35480	109	62829	11 (4)	8 (2)	Chaperonin CPN60, mitochondrial	Brassica napus		Stress response
P46637	106	37549	3 (2)	2 (1)	Arginase 1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	3.5.3.1	Arginine metabolism, Putrescine biosynthesis

Q6Z0I4	105	39277	4 (1)	2 (1)	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH] 1, chloroplastic	Oryza sativa subsp. japonica	1.3.1.9	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
P35055	100	43580	4 (2)	3 (1)	Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase, chloroplastic	Glycine max	1.3.3.3	Chlorophyll biosynthesis, Heme biosynthesis, Porphyrin biosynthesis
P17745	100	51883	3 (2)	2 (1)	Elongation factor Tu, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		Protein biosynthesis
Q42690	99	41301	17 (4)	5 (2)	Fructose-bisphosphate aldolase 1, chloroplastic	Chlamydomonas reinhardtii	4.1.2.13	Glycolysis
Q6NQL4	99	31998	2 (1)	2 (1)	2-dehydro-3-deoxyphosphooctonate aldolase 2	Arabidopsis thaliana	2.5.1.55	Cell wall biogenesis/degradation
P31656	99	39379	3 (3)	1 (1)	Probable cinnamyl alcohol dehydrogenase	Medicago sativa	1.1.1.195	Lignin biosynthesis
Q9SA14	98	43991	7 (5)	2 (2)	3-isopropylmalate dehydrogenase 1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	1.1.1.85	Amino-acid biosynthesis, Branched-chain amino acid biosynthesis, Leucine biosynthesis
Q9LFF9	97	24788	18 (3)	3 (2)	Soluble inorganic pyrophosphatase 4	Arabidopsis thaliana	3.6.1.1	
A2X8Q3	57	24372	16 (2)	3 (2)	Soluble inorganic pyrophosphatase	Oryza sativa subsp. indica	3.6.1.1	
P26360	97	35668	4 (1)	3 (1)	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	Ipomoea batatas		ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
Q9ASS6	97	28090	6 (4)	3 (2)	Isoform 2 of Photosynthetic NDH subunit of lumenal location 5, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	5.2.1.8	Transport
Q9LT08	96	34389	3 (2)	2 (1)	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14 homolog	Arabidopsis thaliana	3.4.19.-	Ubl conjugation pathway
P85485	96	1031	12 (9)	1 (1)	Unknown protein 1 (Fragment)	Pinus halepensis		
Q9ZS21	95	21003	12 (7)	6 (4)	Lactoylglutathione lyase	Glycine max	4.4.1.5	

P43650	95	18195	4 (4)	1 (1)	Putative ATP synthase protein YMF19	Triticum aestivum	7.1.2.2	ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
P52901	91	43488	9 (3)	4 (1)	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha	Arabidopsis thaliana	1.2.4.1	Glycolysis
Q9SSP5	91	57402	8 (3)	3 (1)	Threonine synthase 2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.2.3.1	Amino-acid biosynthesis, Threonine biosynthesis
Q9LXD6	90	84252	14 (3)	5 (2)	Beta-D-xylosidase 3	Arabidopsis thaliana	3.2.1.55	
Q9LJN4	89	86415	15 (4)	4 (3)	Probable beta-D-xylosidase 5	Arabidopsis thaliana	3.2.1.-	
Q9C6B3	90	30161	5 (2)	2 (1)	Gamma carbonic anhydrase 2, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	4.2.1.-	photorespiration
P0DKJ9	90	48165	13 (3)	6 (2)	26S proteasome regulatory subunit 7A	Oryza sativa subsp. japonica		
O04385	88	40252	5 (4)	3 (2)	(Iso)eugenol O-methyltransferase	Clarkia breweri	2.1.1.146	Phenylpropanoid biosynthesis
P34887	88	16251	6 (4)	3 (2)	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Allium cepa	5.2.1.8	
P84733	87	1707	117 (20)	2 (1)	Putative cytochrome c oxidase subunit II PS17 (Fragment)	Pinus strobus		
Q8LG70	87	29187	3 (3)	1 (1)	Probable 6-phosphogluconolactonase 2	Arabidopsis thaliana	3.1.1.31	
Q9SF16	87	60195	6 (2)	3 (1)	T-complex protein 1 subunit eta	Arabidopsis thaliana		
Q9XI05-2	85	23110	8 (4)	2 (1)	Isoform 2 of Proteasome subunit beta type-3-A	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
P29545	85	23842	10 (6)	3 (2)	Elongation factor 1-beta	Oryza sativa subsp. japonica		Protein biosynthesis
P42742	85	24856	1 (1)	1 (1)	Proteasome subunit beta type-1	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
Q7DLS1	84	29940	5 (2)	3 (1)	Proteasome subunit beta type-7-B	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	

Q04644	84	36332	4 (4)	2 (2)	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1	Cucumis melo	1.14.17.4	Ethylene biosynthesis, Fruit ripening
Q9MB94	77	36448	4 (4)	2 (2)	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	Prunus mume	1.14.17.4	Ethylene biosynthesis, Fruit ripening
Q9M4T8	83	26135	4 (3)	2 (2)	Proteasome subunit alpha type-5	Glycine max	3.4.25.1	
Q8LD27	83	25193	2 (2)	1 (1)	Proteasome subunit beta type-6	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
Q8RW90	82	46522	2 (2)	1 (1)	Fumarylacetoacetase	Arabidopsis thaliana	3.7.1.2	Phenylalanine catabolism, Tyrosine catabolism
D7U6G6	82	37044	2 (2)	1 (1)	Anthocyanidin reductase ((2S)-flavan-3-ol-forming)	Vitis vinifera	1.3.1.112 (1.3.1.77)	Flavonoid biosynthesis
Q40648	82	36598	10 (4)	2 (1)	Probable voltage-gated potassium channel subunit beta	Oryza sativa subsp. Japonica		Ion transport, Potassium transport, Transport
Q0J006	81	27311	13 (2)	4 (1)	Proteasome subunit alpha type-7-B	Oryza sativa subsp. Japonica	3.4.25.1	
F4I710	81	60410	3 (2)	2 (1)	Alanine aminotransferase 1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	2.6.1.2	
Q9LFG2	81	39473	16 (2)	4 (1)	Diaminopimelate epimerase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	5.1.1.7	Amino-acid biosynthesis, Lysine biosynthesis
P93629	81	41544	4 (2)	3 (1)	Alcohol dehydrogenase class-3	Zea mays	1.1.1.1	
P46485	79	17777	3 (2)	2 (1)	Glycine cleavage system H protein, mitochondrial	Flaveria trinervia		
Q9FXS3	79	18944	5 (2)	3 (2)	Probable phospholipid hydroperoxide glutathione perox	Nicotiana tabacum	1.11.1.12	
Q9M5Z9	78	15779	5 (2)	4 (1)	40S ribosomal protein S23	Euphorbia esula		
Q9LX07	78	36587	3 (3)	1 (1)	Annexin D7	Arabidopsis thaliana		

Q94AR8	77	55834	2 (2)	1 (1)	3-isopropylmalate dehydratase large subunit, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.2.1.33	Amino-acid biosynthesis, Branched-chain amino acid biosynthesis, Leucine biosynthesis
P35007	77	53769	13 (4)	3 (2)	Adenosylhomocysteinase	Catharanthus roseus	3.3.1.1	One-carbon metabolism, Stress response
Q9ZU46	77	79284	53 (21)	1 (1)	Receptor protein kinase-like protein ZAR1	Arabidopsis thaliana	2.7.11.1	
Q43317	76	34492	4 (2)	2 (2)	Cysteine synthase	Citrullus lanatus	2.5.1.47	Amino-acid biosynthesis, Cysteine biosynthesis
Q8W3D0	75	33356	7 (1)	4 (1)	Probable pyridoxal 5'-phosphate synthase subunit PDX	Oryza sativa subsp. japonica	4.3.3.6	
Q1ECF1	75	24117	4 (3)	2 (1)	Abscisic acid receptor PYL7	Arabidopsis thaliana		Abscisic acid signaling pathway
P84538	74	3290	2 (2)	1 (1)	Cysteine synthase (Fragments)	Populus euphratica	2.5.1.47	Amino-acid biosynthesis, Cysteine biosynthesis
Q9SPB1	74	56030	8 (1)	6 (1)	Leghemoglobin reductase	Vigna unguiculata	1.6.2.6	
Q9LIR4	73	65556	3 (1)	2 (1)	Dihydroxy-acid dehydratase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.2.1.9	Amino-acid biosynthesis, Branched-chain amino acid biosynthesis
Q0DLA3	72	16126	3 (2)	1 (1)	Actin-depolymerizing factor 7	Oryza sativa subsp. japonica		
Q9FLT0	72	1E+05	12 (3)	5 (3)	Ribonuclease TUDOR 2	Arabidopsis thaliana	3.1.-.-	
Q42954	71	55839	6 (1)	4 (1)	Pyruvate kinase, cytosolic isozyme	Nicotiana tabacum	2.7.1.40	Glycolysis
P52782	71	38976	6 (2)	3 (1)	Glutamine synthetase nodule isozyme	Lupinus luteus	6.3.1.2	Nitrogen fixation

Q9AT34	71	14866	2 (2)	2 (2)	40S ribosomal protein S15a	Daucus carota		
Q5VRY1	71	18133	7 (4)	2 (1)	18.0 kDa class II heat shock protein	Oryza sativa subsp. japonica		Stress response
O50003	70	17986			60S ribosomal protein L12	Prunus armeniaca		
P35131	70	16693	3 (2)	3 (2)				
P35131	70	16693	3 (1)	2 (1)	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 8	Arabidopsis thaliana	2.3.2.23	Ubl conjugation pathway
Q96254	70	50243	12 (4)	4 (1)	Guanosine nucleotide diphosphate dissociation inhibitor	Arabidopsis thaliana		
Q8LG77	69	40949	1 (1)	1 (1)	Isocitrate dehydrogenase [NAD] catalytic subunit 6, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.1.1.41	Tricarboxylic acid cycle
Q8W585	68	73324			ATP-dependent zinc metalloprotease FTSH 8, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	3.4.24.-	
O23016	67	36744	9 (2)	6 (2)				
O23016	67	36744	7 (3)	3 (2)	Probable voltage-gated potassium channel subunit bet	Arabidopsis thaliana		Ion transport, Potassium transport, Transport
P29108	67	45490			Stearoyl-[acyl-carrier-protein] 9-desaturase, chloroplastic	Brassica napus	1.14.19.2	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
P29108	67	45490	3 (1)	3 (1)				
Q9SGE0	66	44218	4 (2)	2 (1)	UDP-D-apiose/UDP-D-xylose synthase 2	Arabidopsis thaliana		Cell wall biogenesis/degradation
Q9SEC2	65	29164	5 (4)	2 (2)	Peptide methionine sulfoxide reductase	Lactuca sativa	1.8.4.11	
Q41396	65	26498			V-type proton ATPase subunit E	Spinacia oleracea		Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
Q41396	65	26498	6 (1)	3 (1)				
Q94JT5	65	30083	1 (1)	1 (1)	Cyclase-like protein 2	Arabidopsis thaliana		

Q9LF37	64	1E+05	9 (2)	6 (2)	Chaperone protein ClpB3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		Stress response
F4JVJ1	50	68969	4 (2)	4 (2)	Putative chaperone protein ClpB2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		
Q43117	62	64567	8 (2)	4 (1)	Pyruvate kinase isozyme A, chloroplastic	Ricinus communis	2.7.1.40	Glycolysis
Q9LFA3	62	46629	3 (1)	2 (1)	Monodehydroascorbate reductase 1, peroxisomal	Arabidopsis thaliana	1.6.5.4	FAD, Flavoprotein, NAD, NADP
Q6Z1J6	61	44704	5 (2)	3 (1)	Obg-like ATPase 1	Oryza sativa subsp. japonica	3.6.5.-	
Q9SE60	61	66817	2 (2)	1 (1)	Methylenetetrahydrofolate reductase 1	Arabidopsis thaliana	1.5.1.20	FAD, Flavoprotein, NAD
P85917	61	973	10 (4)	1 (1)	Putative heat shock protein 2 (Fragment)	Pseudotsuga menziesii		Stress response
Q9SVM4	59	52798	4 (2)	3 (1)	Serine hydroxymethyltransferase 5	Arabidopsis thaliana	2.1.2.1	One-carbon metabolism
P31166-2	59	19841	8 (3)	2 (1)	Isoform 2 of Adenine phosphoribosyltransferase 1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.4.2.7	Purine salvage
Q41350	59	28159	1 (1)	1 (1)	Osmotin-like protein	Solanum lycopersicum		defense response
Q8L7S6	58	60375	1 (1)	1 (1)	Beta-hexosaminidase 3	Arabidopsis thaliana	3.2.1.52	
Q9XFS9	58	52273	6 (2)	5 (2)	1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	1.1.1.267	Isoprene biosynthesis
Q9SWG0	57	45372	8 (2)	2 (2)	Isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.3.8.4	
Q9FX45	57	20278	3 (3)	1 (1)	Organelle RRM domain-containing protein 6, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		mRNA processing
Q9ZWQ8	56	35252	11 (2)	4 (2)	Plastid-lipid-associated protein, chloroplastic	Citrus unshiu		
P49209	56	22118	13 (1)	5 (1)	60S ribosomal protein L9-1	Arabidopsis thaliana		
Q9FMV1	55	27838	5 (4)	2 (1)	Gamma carbonic anhydrase-like 1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		
Q9LK38	54	53895	1 (1)	1 (1)	Selenium-binding protein 3	Arabidopsis thaliana		

Q8H104	54	60922	3 (1)	3 (1)	Aspartate--tRNA ligase 1, cytoplasmic	Arabidopsis thaliana	6.1.1.12	Protein biosynthesis
Q9FXT4	54	46191	4 (1)	2 (1)	Alpha-galactosidase	Oryza sativa subsp. japonica	3.2.1.22	
Q9CAT7	54	17993	2 (1)	2 (1)	Nascent polypeptide-associated complex subunit beta	Arabidopsis thaliana		Transcription, Transcription regulation
Q1W376	53	28172	3 (1)	3 (1)	Phosphomannomutase	Glycine max	5.4.2.8	
Q9LFD5	53	27218	4 (1)	3 (1)	Binding partner of ACD11 1	Arabidopsis thaliana		
O04204	53	33703	6 (2)	2 (1)	60S acidic ribosomal protein P0-1	Arabidopsis thaliana		
Q9FY64	53	17061	1 (1)	1 (1)	40S ribosomal protein S15-4	Arabidopsis thaliana		
Q8W4E2	52	54392	9 (2)	5 (1)	V-type proton ATPase subunit	Arabidopsis thaliana		Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
Q84L33	52	39837	4 (3)	3 (2)	Ubiquitin receptor RAD23b	Arabidopsis thaliana		DNA damage, DNA repair
Q8VY00	52	1E+05	8 (2)	7 (1)	Pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase	Arabidopsis thaliana	3.6.4.13	mRNA processing, mRNA splicing
Q0DAE4	52	14866	2 (1)	2 (1)	Glutaredoxin-C8	Oryza sativa subsp. japonica		Electron transport, Transport
Q39336	51	36157	10 (2)	5 (2)	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like p	Brassica napus		
P48534	51	27233	3 (1)	1 (1)	L-ascorbate peroxidase	Pisum sativum	1.11.1.11	Hydrogen peroxide, Stress response
O64518	51	45217	3 (2)	2 (1)	Metacaspase-5	Arabidopsis thaliana	3.4.22.-	
Q9SRY6	51	30115	2 (1)	2 (1)	Glutathione S-transferase	Arabidopsis thaliana	2.5.1.18	Detoxification
Q9FZ47	49	31446	2 (1)	1 (1)	ACT domain-containing protein ACR11	Arabidopsis thaliana		
A7PZL3	49	54139	1 (1)	1 (1)	Probable polygalacturonase	Vitis vinifera	3.2.1.15	

Q9M4G5	48	69091	5 (1)	2 (1)	Phosphoglucosyltransferase, chloroplast	Solanum tuberosum	5.4.2.2	Carbohydrate metabolism, Glucose metabolism
P47921	48	15726	2 (1)	2 (1)	Nucleoside diphosphate kinase (Fragment)	Solanum lycopersicum	2.7.4.6	Nucleotide metabolism
Q6I5C3	48	22429	5 (1)	2 (1)	Abcisic acid receptor PYL5	Oryza sativa subsp. japonica		Abcisic acid signaling pathway, Stress response
Q9M060	48	26864	1 (1)	1 (1)	Eukaryotic translation initiation factor 6-2	Arabidopsis thaliana		Protein biosynthesis, Ribosome biogenesis
K7QHS5	47	44948	5 (4)	2 (1)	Branched-chain amino acid aminotransferase 2, chloroplast	Humulus lupulus	2.6.1.42	Amino-acid biosynthesis, Branched-chain amino acid biosynthesis
P52410	46	50895	4 (1)	2 (1)	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I, chloroplast	Arabidopsis thaliana	2.3.1.41	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
Q24JL3	45	37617	3 (1)	2 (1)	Thiosulfate/3-mercaptopyruvate sulfurtransferase 2	Arabidopsis thaliana	2.8.1.1	
Q9FJI5	45	59422	5 (2)	2 (1)	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase, cytoplasmic isomerase	Arabidopsis thaliana	1.1.1.49	Carbohydrate metabolism, Glucose metabolism
P23902	44	49498	1 (1)	1 (1)	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I, chloroplast	Hordeum vulgare	2.3.1.41	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, <u>Lipid metabolism</u>
O65660	44	20408	1 (1)	1 (1)	PLAT domain-containing protein 1	Arabidopsis thaliana		Growth regulation, Stress response
P51615	43	65642	4 (1)	3 (1)	NADP-dependent malic enzyme	Vitis vinifera	1.1.1.40	

Q6NL24	43	28914	2 (2)	1 (1)	Probable enoyl-CoA hydratase 1, peroxisomal	Arabidopsis thaliana	4.2.1.17	Fatty acid metabolism, <u>Lipid metabolism</u>
Q9GI85	42	61376	15 (1)	4 (1)	Maturase K	Adesmia lanata		mRNA processing, tRNA processing
Q8H038	42	67356	3 (1)	3 (1)	Xyloglucan galactosyltransferase KATAMARI1 homolog	Oryza sativa subsp. Japonica	2.4.1.-	glicosilação de proteínas
P35686	41	14151	10 (3)	4 (1)	40S ribosomal protein S20	Oryza sativa subsp. japonica		
O04202	41	31956	1 (1)	1 (1)	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F	Arabidopsis thaliana		Protein biosynthesis
Q9LHH7	41	31798	3 (1)	3 (1)	Bifunctional protein FoID 2	Arabidopsis thaliana	1.5.1.5 e 3.5.4.9	One-carbon metabolism, Photorespiration
P47999	41	41915	4 (1)	4 (1)	Cysteine synthase, chloroplastic/chromoplastic	Arabidopsis thaliana	2.5.1.47	Amino-acid biosynthesis, Cysteine biosynthesis
Q8L7W8	40	94123	6 (1)	5 (1)	Alpha-L-fucosidase 2	Arabidopsis thaliana	3.2.1.51	
Q94AW8	39	47042	7 (1)	3 (1)	Chaperone protein dnaJ 3	Arabidopsis thaliana		
P93257	39	39556	3 (1)	3 (1)	Probable mannitol dehydrogenase	Mesembryanthemum crystallinum	1.1.1.255	
Q9C9Y8	38	69933	5 (1)	2 (1)	Probable inactive receptor kinase At3g08680	Arabidopsis thaliana		
Q8H0S9	37	99495	4 (1)	2 (1)	Puromycin-sensitive aminopeptidase	Arabidopsis thaliana	3.4.11.14	
Q9SYP2	37	67875	7 (1)	3 (1)	Pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransf	Arabidopsis thaliana	2.7.1.-	Glycolysis
Q6Z4G3	36	41652	38 (1)	4 (1)	UDP-arabinopyranose mutase 3	Oryza sativa subsp. japonica	5.4.99.30	Cell wall biogenesis/degradation

Q43636	36	13216	2 (1)	2 (1)	Thioredoxin H-type	Ricinus communis		Electron transport, Transport
Q0WPU1	35	2E+05	13 (1)	7 (1)	Myosin-15	Arabidopsis thaliana		
Q5PP32-2	35	30739	4 (1)	2 (1)	Isoform 2 of WAT1-related protein At3g45870	Arabidopsis thaliana		
Q67YI9	35	95418	2 (1)	2 (1)	Clathrin interactor EPSIN 2	Arabidopsis thaliana		Protein transport, Transport
Q9FGW9	35	1E+05	18 (1)	3 (1)	Transcription factor GTE10	Arabidopsis thaliana		Abscisic acid signaling pathway, Transcription, Transcription regulation
Q9M0Z6	35	19234	2 (1)	2 (1)	Peptide methionine sulfoxide reductase	Arabidopsis thaliana	1.8.4.12	Electron transport, Transport
A6MMT4	35	2E+05	15 (3)	5 (1)	DNA-directed RNA polymerase subunit beta	Illicium oligandrum	2.7.7.6	Transcription
Q8H0X6	34	26392	1 (1)	1 (1)	Cysteine proteinase inhibitor 6	Arabidopsis thaliana		Plant defense
Q9SH71	34	65860	3 (2)	2 (1)	Putative inactive receptor-like protein kinase	Arabidopsis thaliana		
Q9LHK1	34	20664	2 (1)	2 (1)	Nudix hydrolase 16, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	3.6.1.-	
Q9LFQ9	34	40813	3 (2)	2 (1)	E2F transcription factor-like E2FD	Arabidopsis thaliana		Cell cycle, Transcription, Transcription regulation
Q94A08	34	86002	9 (1)	4 (1)	Probable galactinol--sucrose galactosyltransferase 2	Arabidopsis thaliana	2.4.1.82	Carbohydrate metabolism
Q39571	34	22756	5 (2)	3 (1)	GTP-binding protein YPTC1	Chlamydomonas reinhardtii		Protein transport, Transport
Q9C9H9	33	85449	2 (1)	2 (1)	Pentatricopeptide repeat-containing protein	Arabidopsis thaliana		

A2YQ76	33	63625	3 (1)	3 (1)	Pyruvate decarboxylase 3	Oryza sativa subsp. indica	4.1.1.1	
Q7XJE6	33	40565	5 (2)	3 (1)	Metacaspase-1	Arabidopsis thaliana	3.4.22.-	Plant defense
Q9SA32	33	45447	2 (2)	1 (1)	Putative cyclin-B3-1	Arabidopsis thaliana		Cell cycle, Cell division
O49453	33	16563	3 (1)	2 (1)	Uncharacterized protein	Arabidopsis thaliana		
Q8S9Z2	33	44818	4 (1)	3 (1)	UDP-D-apiose/UDP-D-xylose synthase	Oryza sativa subsp. Japonica		Cell wall biogenesis/degradation
Q9FMG4	32	35149	3 (1)	2 (1)	Serine/arginine-rich splicing factor SC35	Arabidopsis thaliana		mRNA processing, mRNA splicing
Q06FP6	32	3E+05	9 (1)	5 (1)	Protein TIC 214	Pelargonium hortorum		Protein transport, Transport
Q5DM57	32	2E+05	8 (1)	4 (1)	Intraflagellar transport protein 172	Chlamydomonas reinhardtii		
O48557	32	19608	3 (1)	3 (1)	60S ribosomal protein L17	Zea mays		
B9RI00	32	64775	1 (1)	1 (1)	Probable terpene synthase 6	Ricinus communis	4.2.3.-	sesquiterpene synthase
A3KPF8	32	64996	1 (1)	1 (1)	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g79080	Arabidopsis thaliana		
Q9SHJ8	31	43515	2 (1)	1 (1)	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase-like protein 5	Arabidopsis thaliana	3.1.2.-	
Q85WU2	31	2E+05	8 (1)	7 (1)	Protein TIC 214	Pinus koraiensis		Protein transport, Transport
O81155	30	41361	2 (1)	2 (1)	Cysteine synthase, chloroplastic/chromoplastic	Solanum tuberosum	2.5.1.47	Amino-acid biosynthesis, Cysteine biosynthesis
A3A8Q4	30	85557	5 (1)	1 (1)	Probable protein phosphatase 2C 18	Oryza sativa subsp. Japonica	3.1.3.16	
Q9SGW3	30	30915	2 (1)	2 (1)	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 8 hom	Arabidopsis thaliana		Cytokinin signaling pathway
Q945K7	30	41112	1 (1)	1 (1)	Isocitrate dehydrogenase [NAD] catalytic subunit 5, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.1.1.41	Tricarboxylic acid cycle
Q7F8S5	30	23279	5 (1)	1 (1)	Peroxiredoxin-2E-2, chloroplastic	Oryza sativa subsp. japonica	1.11.1.15	

Q9LJX4	29	1E+05	14 (1)	3 (1)	Pumilio homolog 5	Arabidopsis thaliana		Translation regulation
Q9LS01	29	1E+05	4 (1)	3 (1)	Allene oxide cyclase	Arabidopsis thaliana	5.3.99.6	
Q9S7Q2	29	97120	64 (1)	4 (1)	Pentatricopeptide repeat-containing protein	Arabidopsis thaliana		Transcription, Transcription regulation
F4KFS5	29	2E+05	20 (2)	8 (1)	Structural maintenance of chromosomes flexible hinge	Arabidopsis thaliana		DNA damage, DNA repair
Q9T079	29	90330	1 (1)	1 (1)	Probable alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase	Arabidopsis thaliana	2.4.1.15	
Q9LVM1	29	80598	3 (2)	2 (1)	ABC transporter B family member 25, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		Ion transport, Iron transport, Transport
Q9FJA6	29	27612	5 (1)	3 (1)	40S ribosomal protein S3-3	Arabidopsis thaliana		
Q9SCL7	28	36800	4 (1)	2 (1)	Acetylglutamate kinase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.7.2.8	Amino-acid biosynthesis, Arginine biosynthesis
Q9M084	28	63391	5 (1)	3 (1)	Aspartate--tRNA ligase 2, cytoplasmic	Arabidopsis thaliana	6.1.1.12	Protein biosynthesis
P0DI78	28	43042	4 (2)	2 (1)	UPF0496 protein At3g28290	Arabidopsis thaliana		
Q9LSK8	27	79235	7 (2)	4 (1)	Pentatricopeptide repeat-containing protein At3g18020	Arabidopsis thaliana		
P54873	27	51632	1 (1)	1 (1)	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	Arabidopsis thaliana	2.3.3.10	Lipid biosynthesis, <u>Lipid metabolism</u> , Steroid biosynthesis, Steroid metabolism, Sterol biosynthesis
O22793	27	25041	3 (1)	1 (1)	Multiple organellar RNA editing factor 2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		mRNA processing
Q42800	27	36534	7 (1)	3 (1)	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate synthase, chloroplastic	Glycine max	4.3.3.7	Amino-acid biosynthesis, Diaminopimelate biosynthesis, Lysine biosynthesis

Q9LJG8	27	48455	6 (1)	4 (1)	Trihelix transcription factor ASIL2	Arabidopsis thaliana		Transcription, Transcription regulation
P0DH91	26	20637	9 (2)	5 (1)	ADP-ribosylation factor 2-B	Arabidopsis thaliana		ER-Golgi transport, Protein transport, Transport
Q9LMN4	26	11246	2 (1)	2 (1)	Sm-like protein LSM3A	Arabidopsis thaliana		mRNA processing, mRNA splicing
Q8L7M1	26	39151	7 (1)	2 (1)	Probable beta-1,3-galactosyltransferase 14	Arabidopsis thaliana	2.4.1.-	
Q8S4W7	26	65338	22 (1)	1 (1)	DELLA protein GAI1	Vitis vinifera		Gibberellin signaling pathway, Transcription, Transcription regulation
O23714	26	22640	1 (1)	1 (1)	Proteasome subunit beta type-2-A	Arabidopsis thaliana	3.4.25.1	
Q9LPK6	25	61109	14 (4)	4 (1)	Probable acyl-activating enzyme 9	Arabidopsis thaliana	6.2.1.-	Fatty acid metabolism, Lipid metabolism
P69242	25	1E+05	6 (1)	5 (1)	DNA-directed RNA polymerase 3, chloroplastic	Nicotiana sylvestris	2.7.7.6	Transcription
Q8VYR0	25	33834	6 (1)	3 (1)	Calcium uniporter protein 5, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		Calcium transport, Ion transport, Transport
Q8VY21	25	45910	8 (3)	3 (1)	Tubby-like F-box protein 3	Arabidopsis thaliana		Stress response
Q41342	24	84718	2 (1)	1 (1)	Ethylene receptor 1	Solanum lycopersicum	2.7.13.3	Ethylene signaling pathway, Two-component regulatory system
Q9SBL1	24	53509	4 (1)	2 (1)	Cyanohydrin beta-glucosyltransferase	Sorghum bicolor	2.4.1.85	

Q9LW15	24	19575	3 (1)	1 (1)	Cytochrome c oxidase subunit 5b-1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		
P37224	24	69815	10 (3)	1 (1)	NAD-dependent malic enzyme 65 kDa isoform, mitochondrial	Amaranthus hypochondriacus	1.1.1.39	
Q39472	24	33277	6 (2)	1 (1)	Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase I	Clarkia breweri	5.3.3.2	Chlorophyll biosynthesis, Isoprene biosynthesis, Photosynthesis
Q9LUG5	24	35933	4 (2)	3 (1)	Ribosome production factor 2 homolog	Arabidopsis thaliana		
Q9MB46	24	26440	10 (1)	6 (1)	V-type proton ATPase subunit E	Citrus unshiu		Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
Q1T7C2	23	57881	5 (1)	1 (1)	Cytochrome P450 710A11	Solanum lycopersicum	1.14.19.41	
F4JDI6	23	1E+05	8 (1)	4 (1)	Kinesin-like protein KIN-12F	Arabidopsis thaliana		
Q9FKA4	23	34625	12 (2)	3 (1)	Peroxidase 62	Arabidopsis thaliana	1.11.1.7	Hydrogen peroxide
Q9SJ05	23	34188	38 (1)	3 (1)	Shikimate kinase 1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	2.7.1.71	Amino-acid biosynthesis, Aromatic amino acid biosynthesis, Stress response
Q9FI39	23	58916	9 (1)	6 (1)	Cytochrome P450 705A5	Arabidopsis thaliana	1.14.-.-	
Q9SVQ3	23	58251	12 (1)	3 (1)	Rop guanine nucleotide exchange factor 9	Arabidopsis thaliana		
Q9LN50	22	83407	9 (1)	2 (1)	Probable methyltransferase PMT28	Arabidopsis thaliana	2.1.1.-	
Q0DZE0	22	77617	15 (1)	9 (1)	Phenylalanine ammonia-lyase	Oryza sativa subsp. japonica	4.3.1.24	Phenylpropanoid metabolism

Q9SZX3	22	54154	1 (1)	1 (1)	Argininosuccinate synthase, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	6.3.4.5	Amino-acid biosynthesis, Arginine biosynthesis
Q9C829	21	46792	6 (1)	2 (1)	Nuclear pore complex protein NUP50A	Arabidopsis thaliana		mRNA transport, Protein transport, Translocation, Transport
O82043	21	63211	6 (4)	1 (1)	Ketol-acid reductoisomerase, chloroplastic	Pisum sativum	1.1.1.86	Amino-acid biosynthesis, Branched-chain amino acid biosynthesis
Q36450	21	44892	4 (1)	3 (1)	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein	Nicotiana sylvestris	7.1.1.2	Electron transport, Respiratory chain, Transport
P93471	21	77125	10 (1)	2 (1)	E3 ubiquitin-protein ligase COP1	Pisum sativum	2.3.2.7	Phytochrome signaling pathway, Ubl conjugation pathway
A0A0P0XB70	20	18234	5 (2)	1 (1)	Protein mago nashi homolog 1	Oryza sativa subsp. Japonica		mRNA processing, mRNA splicing, mRNA transport, Nonsense-mediated mRNA decay, Translation regulation, Transport
Q9M0Q9	20	44548	2 (1)	1 (1)	Putative F-box protein At4g09190	Arabidopsis thaliana		
Q9ZUI3	19	58334	3 (1)	1 (1)	Beta-glucosidase 4	Arabidopsis thaliana	3.2.1.21	
Q9FI80	19	74180	8 (1)	3 (1)	Pentatricopeptide repeat-containing protein	Arabidopsis thaliana		
Q0INC5	19	89966	10 (1)	4 (1)	DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 28	Oryza sativa subsp. japonica	3.6.4.13	
P19667	19	17440	3 (1)	1 (1)	Curculin-1	Molineria latifolia		

Q8L7R2	18	38789	2 (1)	2 (1)	Homoserine kinase	Arabidopsis thaliana	2.7.1.39	Amino-acid biosynthesis, Plant defense, Threonine biosynthesis
Q8H4L8	18	17542	6 (1)	1 (1)	Alpha-amylase/trypsin inhibitor RA16	Oryza sativa subsp. japonica		
Q38884	18	36651	4 (1)	3 (1)	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I	Arabidopsis thaliana		Protein biosynthesis
Q9S9W2	18	26862	2 (2)	1 (1)	Short-chain dehydrogenase/reductase SDRA	Arabidopsis thaliana	1.1.-.-	Fatty acid metabolism, Lipid metabolism
Q949U1	17	62226	4 (1)	2 (1)	Dihomomethionine N-hydroxylase	Arabidopsis thaliana	1.14.14.42	
C0SUU6	17	39264	7 (1)	3 (1)	Probable transcription factor At1g11510	Arabidopsis thaliana		Transcription, Transcription regulation
Q40545	17	65699	10 (1)	3 (1)	Pyruvate kinase isozyme A, chloroplastic	Nicotiana tabacum	2.7.1.40	Glycolysis
Q93Z13	17	81229	33 (1)	1 (1)	Probable boron transporter 3	Arabidopsis thaliana		Anion exchange, Ion transport, Transport
B9FFA3	17	1E+05	9 (1)	4 (1)	Kinesin-like protein KIN-7E, chloroplastic	Oryza sativa subsp. japonica		
Q9ZPZ1	17	62393	9 (1)	4 (1)	Putative galacturonosyltransferase 2	Arabidopsis thaliana	2.4.1.-	Cell wall biogenesis/degradation
Q9LU92	15	42927	12 (1)	4 (1)	Trihelix transcription factor GT-4	Arabidopsis thaliana		Transcription, Transcription regulation
Q9LSS0	15	74307	3 (1)	2 (1)	L-type lectin-domain containing receptor kinase I.7	Arabidopsis thaliana	2.7.11.1	Plant defense
Q84P52	15	57546	7 (1)	3 (1)	Gamma aminobutyrate transaminase 3, chloroplastic	Solanum lycopersicum	2.6.1.96	
Q9LS10	15	41317	7 (1)	2 (1)	Probable S-adenosylmethionine-dependent methyltran	Arabidopsis thaliana		Magnesium, Metal-binding, S-adenosyl-L-methionine

Q8H9B6	15	27359	4 (1)	2 (1)	Caffeoyl-CoA O-methyltransferase	Solanum tuberosum	2.1.1.104	Lignin biosynthesis
P84722	15	7251	6 (1)	1 (1)	Putative fructose-bisphosphate aldolase, chloroplastic	Pinus strobus	4.1.2.13	Glycolysis
O65685	13	59629	12 (1)	5 (1)	BEL1-like homeodomain protein 6	Arabidopsis thaliana		Transcription, Transcription regulation

02 - Proteínas identificadas em SM - 108 proteínas

Código	Score	Massa (Da)	Matches	Sequences	Proteína ID	Organismo	EC number	Biological process
P29357	881	72143	26 (24)	11 (10)	Chloroplast envelope membrane 70 kDa heat shock-re	Spinacia oleracea		Stress response
P11143	819	70871	22 (21)	9 (9)	Heat shock 70 kDa protein	Zea mays		Stress response
P26413	814	71291	24 (22)	8 (8)	Heat shock 70 kDa protein	Glycine max		Stress response
Q03684	454	73705	8 (8)	3 (3)	Luminal-binding protein 4	Nicotiana tabacum		
Q42962	748	42338	17 (16)	5 (5)	Phosphoglycerate kinase, cytosolic	Nicotiana tabacum	2.7.2.3	Glycolysis
Q9SAJ4	439	42162	14 (12)	7 (7)	Phosphoglycerate kinase 3, cytosolic	Arabidopsis thaliana	2.7.2.3	Glycolysis
Q42961	337	50317	8 (8)	3 (3)	Phosphoglycerate kinase, chloroplastic	Nicotiana tabacum	2.7.2.3	Calvin cycle
P25858	682	37005	26 (19)	9 (8)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPC1, cytosolic	Arabidopsis thaliana	1.2.1.12	Glycolysis, Stress response
Q7FAH2	634	36921	25 (19)	8 (7)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2, cytosolic	Oryza sativa subsp. japonica	1.2.1.12	Glycolysis
P04796	596	37015	24 (17)	9 (7)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Sinapis alba	1.2.1.12	Glycolysis
P17878	264	36963	14 (10)	5 (5)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	Mesembryanthemum crystallinum	1.2.1.12	Glycolysis
Q5E924	170	44989	9 (8)	3 (3)	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPCP2,	Arabidopsis thaliana	1.2.1.12	Glycolysis
Q07210	571	52475	31 (25)	9 (8)	Ribulose biphosphate carboxylase large chain (Fragment)	Coleonema pulchellum	4.1.1.39	Calvin cycle, Carbon dioxide fixation, Photorespiration, Photosynthesis
A6MM44	458	53016	35 (26)	10 (8)	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	Buxus microphylla	4.1.1.39	Calvin cycle, Carbon dioxide fixation, Photorespiration, Photosynthesis
O81221	585	41867	37 (20)	11 (8)	Actin	Gossypium hirsutum		
P53492	545	41937	27 (19)	11 (8)	Actin-7	Arabidopsis thaliana		
Q23755	500	94708	16 (8)	3 (1)	Elongation factor 2	Beta vulgaris		Protein biosynthesis
A0A067XG71	448	25592	7 (6)	1 (1)	Lectin ConGF	Canavalia grandiflora		
P29521	397	49613	23 (18)	6 (3)	Elongation factor 1-alpha	Daucus carota		Protein biosynthesis

P17784	392	39238	12 (10)	5 (4)	Fructose-bisphosphate aldolase 1, cytoplasmic	Oryza sativa subsp. japonica	4.1.2.13	Glycolysis, Stress response
Q9SJK9	287	38705	15 (8)	5 (3)	Fructose-bisphosphate aldolase 6, cytosolic	Arabidopsis thaliana	4.1.2.13	Glycolysis, Stress response
O65581	265	38555	16 (7)	5 (3)	Fructose-bisphosphate aldolase 5, cytosolic	Arabidopsis thaliana	4.1.2.13	Glycolysis
P29356	196	38675	4 (3)	3 (2)	Fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme	Spinacia oleracea	4.1.2.13	Glycolysis
Q01859	286	59012	8 (8)	4 (4)	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	Oryza sativa subsp. japonica		ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
Q24047	277	35817	13 (8)	6 (4)	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	Mesembryanthemum crystallinum	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
Q9ZU52	269	42529	8 (6)	2 (2)	Fructose-bisphosphate aldolase 3, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.1.2.13	Glycolysis
P12863	259	27236	4 (4)	2 (2)	Triosephosphate isomerase, cytosolic	Zea mays	5.3.1.1	Gluconeogenesis, Glycolysis
P05190	244	54700	12 (12)	1 (1)	Legumin type B	Vicia faba		
Q9LEJ0	242	48029	10 (8)	4 (3)	Enolase 1	Hevea brasiliensis	4.2.1.11	Glycolysis
Q9C9C4	63	51841	8 (3)	4 (2)	Enolase 1, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	4.2.1.11	Glycolysis
Q42699	232	85089	9 (6)	6 (4)	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine	Catharanthus roseus	2.1.1.14	Amino-acid biosynthesis, Methionine biosynthesis
Q9ZP06	211	36010	10 (7)	5 (4)	Malate dehydrogenase 1, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
P84209	123	3108	4 (3)	2 (2)	Malate dehydrogenase, mitochondrial (Fragments)	Imperata cylindrica	1.1.1.37	Tricarboxylic acid cycle
Q2QXR8	178	57862	9 (7)	1 (1)	Pyruvate kinase 2, cytosolic	Oryza sativa subsp. japonica	2.7.1.40	Glycolysis
P08927	165	63287	7 (7)	3 (3)	RuBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic	Pisum sativum		
P85485	137	1031	17 (14)	1 (1)	Unknown protein 1 (Fragment)	Pinus halepensis		
P18260	127	55794	11 (5)	7 (3)	ATP synthase subunit alpha, mitochondria	Helianthus annuus		ATP synthesis, Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport

A2XRZ0	110	38437	2 (2)	2 (2)	Probable aldo-keto reductase 2	Oryza sativa subsp. indica	1.1.1.-	
Q9XI01	105	55852	4 (4)	1 (1)	Protein disulfide isomerase-like 1-1	Arabidopsis thaliana	5.3.1.4	
A2WSI7	98	25329	4 (3)	2 (2)	GTP-binding nuclear protein Ran-1	Oryza sativa subsp. indica		Protein transport, Transport
P93541	90	45070	4 (2)	3 (2)	Glutamate dehydrogenase	Solanum lycopersicum	1.4.1.3	
Q9M4G4	89	63658	6 (2)	4 (2)	Phosphoglucosyltransferase, cytoplasmic	Solanum tuberosum	5.4.2.2	Carbohydrate metabolism, Glucose metabolism
P25141	88	42288	4 (4)	2 (2)	Alcohol dehydrogenase 1	Petunia hybrida	1.1.1.1	
P14673	69	41752	3 (3)	2 (2)	Alcohol dehydrogenase 1	Solanum tuberosum	1.1.1.1	
P48495	87	27343	4 (3)	2 (2)	Triosephosphate isomerase, cytosolic	Petunia hybrida	5.3.1.1	Gluconeogenesis, Glycolysis
Q8LNZ3	85	39363	2 (2)	1 (1)	UDP-glucose 4-epimerase 1	Oryza sativa	5.1.3.2	
P09469	84	69077	4 (2)	3 (2)	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Daucus carota	7.1.2.2	Hydrogen ion transport, Ion transport, Transport
Q9SK09	82	55898	3 (2)	2 (1)	Vicilin-like seed storage protein At2g28490	Arabidopsis thaliana		
P84733	79	1707	85 (17)	2 (1)	Putative cytochrome c oxidase subunit II PS17 (Fragment)	Pinus strobus		
Q9ZU46	78	79284	49 (19)	1 (1)	Receptor protein kinase-like protein ZAR1	Arabidopsis thaliana	2.7.11.1	
Q9SCN8	70	91082	3 (1)	3 (1)	Cell division control protein 48 homolog D	Arabidopsis thaliana		Cell cycle, Cell division, Protein transport, Transport
P32045	67	16415	1 (1)	1 (1)	Pathogenesis-related protein P2	Solanum lycopersicum		Plant defense
P37833	67	44650	14 (1)	3 (1)	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	Oryza sativa subsp. japonica	2.6.1.1	
A2XFC7	65	27257	30 (1)	3 (1)	L-ascorbate peroxidase 1, cytosolic	Oryza sativa subsp. indica	1.11.1.11	Hydrogen peroxide, Stress response
Q94JT5	61	30083	3 (1)	1 (1)	Cyclase-like protein 2	Arabidopsis thaliana		

Q8VY21	59	45910	43 (17)	1 (1)	Tubby-like F-box protein 3	Arabidopsis thaliana		Stress response
P85917	59	973	13 (8)	1 (1)	Putative heat shock protein 2 (Fragment)	Pseudotsuga menziesii		Stress response
Q9T0G0	58	43528	2 (1)	2 (1)	11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase-like 5	Arabidopsis thaliana	1.1.1.-	Lipid biosynthesis, Lipid metabolism, Steroid biosynthesis
Q9SQ57	52	27789	5 (2)	2 (1)	Peroxygenase	Sesamum indicum	1.11.2.3	
Q84R16	46	61693	8 (3)	3 (1)	Probable xyloglucan galactosyltransferase GT14	Arabidopsis thaliana	2.4.1.-	
O22588	44	28222	2 (2)	1 (1)	Probable aquaporin TIP3-2	Arabidopsis thaliana		
Q39472	43	33277	24 (12)	1 (1)	Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase I	Clarkia breweri	5.3.3.2	Chlorophyll biosynthesis, Isoprene biosynthesis, Photosynthesis
P0C030	42	17119	3 (2)	1 (1)	Ubiquitin-NEDD8-like protein RUB1	Oryza sativa subsp. japonica		Ubl conjugation pathway
Q94AD1	42	21661	16 (1)	1 (1)	Putative DNA-binding protein	Arabidopsis thaliana		
P02520	39	8405	2 (1)	2 (1)	Class I heat shock protein (Fragment)	Glycine max		Stress response
O82013	38	17311	2 (1)	2 (1)	17.3 kDa class II heat shock protein	Solanum peruvianum		Stress response
Q39613	38	18501	2 (1)	2 (1)	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Catharanthus roseus	5.2.1.8	
Q9AXQ3	35	17734	2 (2)	1 (1)	Eukaryotic translation initiation factor 5A-4	Solanum lycopersicum		Protein biosynthesis
Q9LSU0	34	27506	1 (1)	1 (1)	Proteasome subunit alpha type-3	Oryza sativa subsp. japonica	3.4.25.1	
O22263	34	39815	25 (1)	2 (1)	Protein disulfide-isomerase like 2-1	Arabidopsis thaliana	5.3.4.1	
Q9GI85	33	61376	10 (1)	1 (1)	Maturase K	Adesmia lanata		mRNA processing, tRNA processing
Q85BG0	33	56044	1 (1)	1 (1)	NAD(P)H-quinone oxidoreductase chain 4, chloroplastic	Anthoceros angustus	7.1.1.-	

E2IUB0	33	87445	8 (2)	4 (1)	Cycloartenol synthase	Kalanchoe daigremontiana	5.4.99.8	Lipid biosynthesis, Lipid metabolism, Steroid biosynthesis
Q41319	32	45090	3 (1)	2 (1)	Stearoyl-[acyl-carrier-protein] 9-desaturase, chloroplastic	Solanum commersonii	1.14.19.2	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
B9HBA8	32	58241	2 (1)	2 (1)	Biotin carboxylase 1, chloroplastic	Populus trichocarpa	6.3.4.14	Fatty acid biosynthesis, Fatty acid metabolism, Lipid biosynthesis, Lipid metabolism
Q8VZE7	32	76259	5 (1)	2 (1)	RAP domain-containing protein, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		Plant defense, rRNA processing
C0LGD6	32	95662	2 (1)	2 (1)	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	Arabidopsis thaliana	2.7.11.1	
O49885	32	23667	31 (3)	3 (1)	60S ribosomal protein L13a	Lupinus luteus		
Q42690	31	41301	16 (2)	3 (1)	Fructose-bisphosphate aldolase 1, chloroplastic	Chlamydomonas reinhardtii	4.1.2.13	Glycolysis
F4IK01	31	33658	12 (1)	2 (1)	AUGMIN subunit 1	Arabidopsis thaliana		Cell cycle, Cell division, Mitosis
P37224	31	33658	15 (9)	1 (1)	NAD-dependent malic enzyme 65 kDa isoform, mitochondrial	Amaranthus hypochondriacus	1.1.1.39	
Q39182	30	8974	2 (2)	1 (1)	Defensin-like protein 2	Arabidopsis thaliana		Plant defense
Q944P7	29	61667	2 (1)	2 (1)	Leucine aminopeptidase 2, chloroplastic	Arabidopsis thaliana	3.4.11.5	
Q06652	28	18755	1 (1)	1 (1)	Probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	Citrus sinensis	1.11.1.12	Stress response
P52427	27	27545	1 (1)	1 (1)	Proteasome subunit alpha type-4	Spinacia oleracea	3.4.25.1	
Q8VZ74	27	49128	10 (1)	1 (1)	GTPase ERA-like, chloroplastic	Arabidopsis thaliana		Ribosome biogenesis
Q9T079	27	90330	1 (1)	1 (1)	Probable alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase	Arabidopsis thaliana	2.4.1.15	

P37225	26	66572	6 (4)	1 (1)	NAD-dependent malic enzyme 59 kDa isoform, mitochondrial	Solanum tuberosum	1.1.1.39	
P93749	25	39695	4 (1)	1 (1)	Probable protein kinase	Arabidopsis thaliana	2.7.11.-	
Q8L8L9	25	18199	2 (2)	1 (1)	Uncharacterized protein	Arabidopsis thaliana		
Q9LVM1	24	80598	5 (1)	2 (1)	ABC transporter B family member 25, mitochondrial	Arabidopsis thaliana		Ion transport, Iron transport, Transport
Q8H104	24	60922	1 (1)	1 (1)	Aspartate--tRNA ligase 1, cytoplasmic	Arabidopsis thaliana	6.1.1.12	Protein biosynthesis
Q7XM31	24	127928	3 (1)	2 (1)	Probable RNA-dependent RNA polymerase 2	Oryza sativa subsp. japonica	2.7.7.48	RNA-mediated gene silencing
Q9FT45	24	48157	9 (1)	1 (1)	Fasciclin-like arabinogalactan protein 15	Arabidopsis thaliana		
Q9FLD5	23	60538	2 (1)	1 (1)	AAA-ATPase ASD, mitochondrial	Arabidopsis thaliana	3.6.1.3	
Q9ZTX9	22	88198	2 (1)	1 (1)	Auxin response factor 4	Arabidopsis thaliana		Auxin signaling pathway, Transcription, Transcription regulation
A6MMT4	21	158061	7 (1)	3 (1)	DNA-directed RNA polymerase subunit beta	Illicium oligandrum	2.7.7.6	Transcription
Q82043	20	63211	4 (3)	1 (1)	Ketol-acid reductoisomerase, chloroplastic	Pisum sativum	1.1.1.86	Amino-acid biosynthesis, Branched-chain amino acid biosynthesis
I1N2Z5	20	12239	2 (1)	1 (1)	Protein SLE1	Glycine max		
Q9ZVU5	19	47714	4 (1)	2 (1)	KIN17-like protein	Arabidopsis thaliana		Stress response
Q6YW50	19	57264	1 (1)	1 (1)	Cytokinin dehydrogenase 7	Oryza sativa subsp. japonica	1.5.99.12	
Q8L7V3	19	93846	4 (1)	2 (1)	Probable methyltransferase PMT26	Arabidopsis thaliana	2.1.1.-	

Q8VYJ1	19	62561	6 (1)	2 (1)	2-succinylbenzoate--CoA ligase, chloroplatic/peroxisomal	Arabidopsis thaliana	6.2.1.26	
Q8GXF8	18	32699	4 (1)	1 (1)	E3 ubiquitin-protein ligase SGR9, amyloplastic	Arabidopsis thaliana	2.3.2.27	
Q93Z13	18	81229	15 (1)	2 (1)	Probable boron transporter 3	Arabidopsis thaliana		Anion exchange, Ion transport, Transport
Q39610	17	507002	18 (1)	5 (1)	Dynein alpha chain, flagellar outer arm	Chlamydomonas reinhardtii		Cilium biogenesis/degradation
Q9M8Z5	16	66087	44 (1)	2 (1)	Guanine nucleotide-binding protein-like NSN1	Arabidopsis thaliana		
Q09FQ2	15	219960	9 (1)	5 (1)	Protein TIC 214	Nandina domestica		Protein transport, Transport

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABID, G.; SILUE, S.; MUHOVSKI, Y.; JEAN-MARIE, J.; TOUSSAINT, A.; JEAN-PIERRE, B. Role of myo-inositol phosphate synthase and sucrose synthase genes in plant seed development. **Gene**, v, 439, p. 1-10, 2009.

AMOÊDO, S. C.; FERRAZ, I. D. K. A comparative study of the thermal ranges of three germination criteria of a tropical tree with bioeconomic interest: *Carapa surinamensis* Miq. (Meliaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79 (2), p. 213-219, 2019.

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; SANTOS, J. M.; SANTOS, F. N.; BARCIA, M. T.; LOURENÇO, C. C.; SALVADOR, M. J.; GODOY, H. T.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Comprehensive characterization of lipids from Amazonian vegetable oils by mass spectrometry techniques. **Food Research International**, v. 64, p. 472–481, 2014.

BROUSSEAU, L.; TINAUT, A.; DURET, C.; LANG, T.; GRANIER-GERE, P.; SCOTTI, I. High-throughput transcriptome sequencing and preliminary functional analysis in four Neotropical tree species. **BMC Genomics**, v. 15, p. 238, 2014.

COELHO, L. M. (2018). Análise proteômica de calos, folhas e galhos de *Duroia macrophylla* Huber. **Tese Doutorado**. Manaus, Universidade Federal do Amazonas, 128p.

DJENONTIN, T. S.; WOTTO, V. D.; AVLESSI, F.; LOZANO, P.; SOHOUNHLOUÉ, D. K. C.; PIOCH D. Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera*

(Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 39–45, 2012.

FARIAS, O. T.; NASCIMENTO, L. C.; OLIVEIRA, F. S.; SANTOS, M. D. R.; BRUNO, R. L. A. Óleo essencial de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) e copaíba (*Copaifera langsdorff* Desf) sobre a sanidade e fisiologia de sementes de feijão macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.18 (3), p. 629-635, 2016.

FERRARIS, F. K.; MORET, K. H.; FIGUEIREDO A. B. C.; PENIDO C.; HENRIQUES, M. G. M. O. Gedunin, a natural tetranortriterpenoid, modulates T lymphocyte responses and ameliorates allergic inflammation. **International Immunopharmacology**, v. 14, p. 82–93, 2012.

FERRARIS, F. K.; RODRIGUES, R.; SILVA, V. P.; FIGUEIREDO, R.; PENIDO, C.; HENRIQUES, M. G. M. O. Modulation of T lymphocyte and eosinophil functions in vitro by natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 1–11, 2011.

FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. Sementes e plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera* D.C.): Aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. **Acta Amazonica**, v. 32 (4), p. 647-661, 2002.

FRÉBORT, I.; SEBELA, M.; GALUSZKA, P.; WERNER, T.; SCHUMULLING, T.; PEC, P. Cytokinin oxidase/cytokinin dehydrogenase assay: optimized procedure and applications. **Analytical Biochemistry**, v. 306, p. 1-7, 2002.

GORG, A.; WEISS, W.; DUNN, M. J. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. **Proteomics**, v. 4, p. 3665–3685, 2004.

GROSSI, J. A.; GODOY, S. M.; MACEDO, C. R.; PAULA, G. B. N.; ROMAGNOLO, M. B.; RISSO-PASCOTTO, C. Comportamento meiótico durante a microsporogênese em espécies da família Meliaceae. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** V. 14 (1), p. 51-56, 2011.

GRUPTA, I.; MIN, C. W.; WANG, Y.; KIM, Y. C.; AGRAWAL, G. K.; RAKWAL, R.; KIM, S.; T. Expect the Unexpected Enrichment of “Hidden Proteome” of Seeds and Tubers by Depletion of Storage Proteins. **Frontiers in Plant Science**, v, 7, article 761, 2016.

GUERRA, M. **Introdução à Citogenética Geral**. (1988). Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan. 142p.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. (2002). **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto - SP: FUNPEC. 132p.

HANNA, S. L.; SHERMAN, N. E.; KINTER, M. T.; GOLDBERG, J. B. Comparison of proteins expressed by *Pseudomonas aeruginosa* strains representing initial and chronic isolates from a cystic fibrosis patient: an analysis by 2-D gel electrophoresis and capillary column liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Microbiology**, v. 146, p. 2495–2508, 2000.

HEGEMAN, C. E.; GOOD, L. L.; GRABAU, E. A. Expression of D-*myo*-inositol-3-phosphate synthase in soybean. Implications for phytic acid biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1941-1948, 2001.

HENRIQUES, M. G.; PENIDO, C. The Therapeutic Properties of *Carapa guianensis*. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, p. 850-856, 2014.

INOUE, T.; MATSUI, Y.; KIKUSHI, T.; YAMADA, T.; IN, Y.; MURAOKA, O.; SAKAI, C.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T. Carapanolides M-S from seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. **Tetrahedron**, v. 71, p. 2753-2760, 2015.

INOUE, T.; MATSUI, Y.; KIKUSHI, T.; IN, Y.; MURAOKA, O.; YAMADA, T.; TANAKA, R. Carapanolides C-I from the seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). **Fitoterapia**, v. 96, p. 56-64, 2014.

INOUE, T.; MATSUI, Y.; KIKUSHI, T.; IN, Y.; YAMADA, T.; MURAOKA, O.; MATSUNAGA, S.; TANAKA, R. Guianolides A and B, new carbon skeletal limonoids from the seeds of *Carapa guianensis*. **Organic Letters**, v. 15 (12), p. 3018-3021, 2013.

INOUE, T.; NAGAI, Y.; MITOOKA, A.; UJIKE, R.; MURAOKA, O.; YAMADA, T.; TANAKA, R. Carapanolides A and B: unusual 9,10-seco-mexicanolides having a 2R,9S-oxygen bridge from the seeds of *Carapa guianensis*. **Tetrahedron Letters**, v. 53, p. 6685-6688, 2012.

JORRIN-NOVO, J. V.; KOMATSU, S.; SACHEZ-LUCAS, R.; FRANCISCO, L. E. R. Gel electrophoresis-based plant proteomics: Past, present, and future. Happy 10th anniversary Journal of Proteomics!. **Journal of Proteomics**, v. 198, p. 1-10, 2019.

KENFACK, D. A Synoptic Revision of *Carapa* (Meliaceae). **Harvard Papers in Botany**, v. 16 (2), p. 171-231, 2011a.

KENFACK, D. Resurrection in *Carapa* (Meliaceae): a reassessment of morphological variation and species boundaries using multivariate methods in a phylogenetic context. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 165, p. 186–221, 2011b.

KHOSLA, P. K.; STYLES, B. T. Karyological Studies and Chromosomal Evolution in Meliaceae. **Silvae Genetica**, v. 24, p. 73-83, 1975.

MAJUNDER, A. L.; JONHSON, M. D.; HENRY, S. A. 1L-*myo*-inositol-1phosphate syntase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1348, p. 245-256, 1997.

MADER, M.; PAKULL, B.; BLANC-JOLIVET, C.; PAULINI-DREWES, M.; BOUDA, Z. H. N.; DEGEN, B.; SMALL, I.; KERSTEN, B. Complete Chloroplast Genome Sequences of Four Meliaceae Species and Comparative Analyses. **Int. J. Mol. Sci**, v. 19, p. 701, 2018.

MELLONI, M. N. G. (2010). Determinação do número cromossômico de espécies arbóreas nativas com potencial madeireiro. **Dissertação Mestrado**. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, 72p.

MENDONÇA, A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 37 (3), p. 353-364, 2007.

MILHOMEM-PAIXÃO, S. S. R.; FASCINELI, M. L.; ROLL, M. M.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B.; PIECZARKA, J. C.; SALGADO, H. L. C.; SANTOS, A. S.; GRISOLIA, C. K. The lipidome, genotoxicity, hematotoxicity and antioxidant properties of andiroba oil from the Brazilian Amazon. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39 (2), p. 248-256, 2016.

MINFRAY, P. E. Le noyau et les chromosomes somatiques de deux Méliacées. **Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle**, v. 35 (5), p. 527-531, 1963.

MIRANDA-JUNIOR, R. N. C.; DOLABELA, M. F.; SILVA, M. N.; PÓVOA, M. M.; MAIA, J. G. Antiplasmodial activity of the andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) oil and its limonoid-rich fraction. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 679–683, 2012.

MIERNYK, J. A.; HAJDUCH, M. Seed proteomics. **Journal of proteomics**, v. 74, p. 389-400, 2011.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidantes from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

NAMBARA, E.; NONOGAKI, H. Seed Biology in the 21st Century: Perspectives and New Directions. **Plant Cell Physiol.**, v. 53(1), p. 1–4, 2012.

NASCIMENTO, G. O. (2017). Caracterização molecular, morfofuncional e biotecnológica de espécies do gênero *Carapa*. **Tese Doutorado**. Manaus, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 163p.

NASCIMENTO, G. O.; SOUZA, D. P.; SANTOS, A. S.; BATISTA, J. F.; RATHINASABAPATHI, B.; GAGLIARDI, P. R.; GONÇALVES, J. F. C. Lipidomic profiles from seed oil of *Carapa guianensis* Aubl. and *Carapa vasquezii* Kenfack and implications for the control of phytopathogenic fungi. **Industrial Crops & Products**, v. 129, p. 67–73, 2019.

OLIVEIRA, I. S. S.; TELLIS, C. J. M.; CHAGAS, M. S. S.; BEHRENS, M. D.; CALABRESE, K. S.; ABREU-SILVA, A. L.; ALMEIDA-SOUZA, F. *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) Seed Oil: Chemical Composition and Antileishmanial Activity of Limonoid-Rich Fractions. **BioMed Research International**, p. 10, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5032816>.

PENIDO, C.; CONTE, F. P.; CHAGAS, M. S. S.; RODRIGUES, C. A. B.; PEREIRA, J. F. G.; HENRIQUES, M. G. W. O. Antiinflammatory effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on zymosan-induced arthritis in mice. **Inflammation Research**, v. 55, p. 457-464, 2006.

PENIDO, C.; COSTA, K. A.; PENNAFORTE, R. J.; COSTA, M. F. S.; PEREIRA, J. F. G.; SIANI, A. C.; HENRIQUES, M. G. M. O. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia. **Inflammation Research**, v. 54, p. 295-303, 2005.

PENNINGTON, T. D.; STYLES, B. T.; TAYLOR, D. A. H. Meliaceae. **Flora neotropica**, v. 28, p. 406-419, 1981.

PEREIRA, T. B.; SILVA, L. F. R.; AMORIM, R. C. N.; MELO, M. R. S.; SOUZA, R. C. Z.; EBERLIN, M. N.; LIMA, E. S.; VASCONCELOS, M. C.; POHLIT, A. M. In vitro and in vivo anti-malarial activity of limonoids isolated from the residual seed biomass from *Carapa guianensis* (andiroba) oil production. **Malaria Journal**, v. 13, p. 317, 2014.

PROPHIRO, J. S.; SILVA, M. A. N.; KANIS, L. A.; ROCHA, L. C. B. P.; DUQUE-LUNA, J. E.; SILVA, O. S. First report on susceptibility of wild *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) using *Carapa guianensis* (Meliaceae) and *Copaifera* sp. (Leguminosae). **Parasitol Res**, v. 110, p. 699–705, 2012.

QUEIROZ, M. S.; WALDROP, G. L. Modeling and numerical simulation of biotin carboxylase kinetics: Implications for half-sites reactivity. **Journal of Theoretical Biology**, v. 246, p. 167-175, 2007.

REPETTO, O.; ROGNIAUX, H.; LARRÉ, C.; THOMPSON, R.; GALLARDO, K. The seed nuclear proteome. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, artigo 289, 2012.

ROOJEN, G. J. H.; MOLONEY, M. M. Plant seed oil-bodies as carriers from foreign proteins. **Nature Biotechnology**, v. 13, p. 72-77, 1995.

SAKAMOTO, A.; TANAKA, Y.; INOUE, T.; KIKUSHI, T.; KAJIMOTO, T.; MURAOKA, O.; YAMADA, T.; REIKO, T. Andiolides Q–V from the flower of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). **Fitoterapia**, v. 90, p. 20–29, 2013.

SAKAMOTO, A.; TANAKA, Y.; YAMADA, T.; KIKUSHI, T.; MURAOKA, O.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T.; TANAKA, R. Andriolides W–Y from the flower oil of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). **Fitoterapia**, v. 100, p. 81–87, 2015.

SANTOS, A. C. V.; FERNANDES, C. C.; LOPES, L. M.; SOUSA, A. H. Insecticidal oils from amazon plants in control of fall armyworm. **Rev. Caatinga**, v. 29(3), p. 642 – 647, 2016.

SCHMÜLLING, T.; WERNER, T.; RIEFLER, M.; KRUPKOVÁ, E.; MANNS, I. B. Structure and function of cytokinin oxidase/dehydrogenase genes of maize, rice, Arabidopsis and other species. **Journal of Plant Research**, v. 116, p. 241-252, 2003.

SHEWRY, P. R.; NAPIER, J. A.; TATHAM, A. S. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, p. 945-956, 1995.

SHINTANI, D.; ROESLER, K.; SHORROSH, B.; SAVAGE, L.; OHLROGGE, J. Antisense expression and overexpression of biotin carboxylase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 114, p. 881-886, 1997.

SHUTOV, A. D.; KAKHOVSKAYA, L. A.; BRAUN, H.; BAUMLEIN, H.; MUNTZ, K. Legumin-Like and Vicilin-Like Seed Storage Proteins: Evidence for a Common Single-Domain Ancestral Gene. **Journal of Molecular Evolution**, v. 41, p. 1057-1069, 1995.

SIDHU, S. S. Further studies on the cytology of mangrove species of India. **Caryologia**, v. 21 (4), p. 353-357, 1968.

SILVA, C. E. S.; SANTOS, O. J.; RIBAS-FILHO, J. M.; TABUSHI, F. I.; KUME, M. H.; JUKONIS, L. B.; CELLA, I. F. Efeito da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) e *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização de colorrafias em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 42 (6), p. 399-406, 2015.

SILVA, R. G. G. (2018). Estudos citotaxonômicos em sapindales: estado da arte e evolução dos números cromossômicos. **Dissertação Mestrado**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 182p.

SILVA, S. G.; NUNOMURA, R. C. S.; NONUMURA, S. M. Limonoides isolados dos frutos de *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae). **Química Nova**, v. 35 (10), p. 1936-1939, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTS, L. A.; PETROVICK, P. R. (2007). Farmacognosia: da planta ao medicamento. **6ª ed.** Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: Editora UFSC.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTS, L. A.; PETROVICK, P. R. (2017). Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. **e-Pub**. Porto Alegre: Artmed.

SOUZA, A. L.; ANGELO, P. C. S.; NOGUEIRA, P. P. O.; GONÇALVES, J. F. C.; FRANCO, A. M.; ASTOLFI-FILHO, S.; LÓPEZ-LOSANO, J. L.; ANDRADE, E. V. Method for obtaining high-resolution proteomic analysis from pericarps of guarana. **Genetics and Molecular Research**, v. 13 (3), p. 8014-8024, 2014.

SOUZA FERREIRA, D. N.; CAMARGO, J. L. C.; FERRAZ, I. D. K. Multiple shoots of *Carapa surinamensis* seeds: Characterization and consequences in light of post-germination manipulation by rodents. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 346-351, 2017.

STYLES, B. T.; VOSA, C. G. Chromosome numbers in the Meliaceae. **Taxon**, v. 20 (4), p. 485-500, 1971.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLEN, I. M.; MURPHY, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. **6^a ed**. Porto Alegre: Artmed.

TSUKAMOTO, Y.; OYA, H.; KIKUSHI, T.; YAMADA, T.; TANAKA, R. Guianofruits C-I from fruit oil of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). **Tetrahedron**, v. 75, p. 1149-1156, 2019.

VIEGAS-JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26 (3), p. 390-400, 2003.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. (2010). Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Documentos 316**. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 16p.

WENDT, U. K.; WENDEROTH, I.; TEGELER, A.; VON SCHAEWEN, A. Molecular characterization of a novel glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato (*Solanum tuberosum* L.). **The Plant Journal**, v. 23 (06), p. 723-733, 2000.

ZHAO, H.; TANG, Q.; MO, C.; BAI, L.; TU, D.; MA, X. Cloning and characterization of squalene synthase and cycloartenol synthase from *Siraitia grosvenorii*. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 7 (2), p. 215-222, 2017