



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

KARINE THIERS LEITÃO LIMA

**POLIMORFISMOS DO GENE DA PLASTOQUINOL OXIDASE (PTOX) EM
ECOTIPOS DE *Arabidopsis thaliana* (PROJETO 1001 GENOMAS): CORRELAÇÕES
DE EXPRESSÃO GÊNICA E DE VARIANTES ESTRUTURAIS DA PROTEÍNA
COM A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS ECOTIPOS**

FORTALEZA

2017

KARINE THIERS LEITÃO LIMA

POLIMORFISMOS DO GENE DA PLASTOQUINOL OXIDASE (PTOX) EM ECOTIPOS
DE *Arabidopsis thaliana* (PROJETO 1001 GENOMAS): CORRELAÇÕES DE
EXPRESSÃO GÊNICA E DE VARIANTES ESTRUTURAIS DA PROTEÍNA
COM A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS ECOTIPOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica. Área de concentração: Genômica Funcional.

Orientador: Prof. Dr. José Hélio Costa

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L698p Lima, Karine Thiers Leitão.
Polimorfismos do gene da plastoquinol oxidase (PTOX) em ecotipos de *Arabidopsis thaliana* (projeto 1001 genomas): correlações de expressão gênica e de variantes estruturais da proteína com a distribuição geográfica dos ecotipos / Karine Thiers Leitão Lima. – 2017.
87 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. José Hélio Costa.
1. Planta modelo. 2. Docking molecular. 3. Immutans. 4. Condições ambientais. 5. SNPs. I. Título.
CDD 572
-

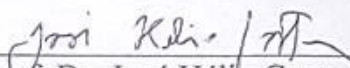
KARINE THIERS LEITÃO LIMA

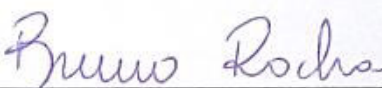
POLIMORFISMOS DO GENE DA PLASTOQUINOL OXIDASE (PTOX) EM ECOTIPOS
DE *Arabidopsis thaliana* (PROJETO 1001 GENOMAS): CORRELAÇÕES DE
EXPRESSÃO GÊNICA E DE VARIANTES ESTRUTURAIS DA PROTEÍNA
COM A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS ECOTIPOS


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica. Área de concentração: Genômica Funcional.

Aprovada em: 15/02/2017.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. José Hélio Costa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dr. Bruno Anderson Matias da Rocha
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dr. Bruno Lopes de Sousa
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

FORTALEZA

2017

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Hélio Costa, exemplo de sabedoria, determinação, empenho e generosidade. Muito obrigada pelo acolhimento e pela paciência, tenho muita admiração pelo senhor.

Aos Pesquisadores Bruno Lopes de Sousa e Bruno Anderson Matias da Rocha por aceitarem fazer parte dessa banca e contribuírem para o crescimento do meu trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e seus professores pela excelente formação proporcionada.

Aos órgãos de fomento Capes e CNPq pelo suporte financeiro e apoio à pesquisa nacional.

Agradeço à minha família pelo apoio e paciência nos momentos de estresse. Principalmente minha mãe, que me suportou estressada e muitas vezes me ajudou lendo códigos de ecotipos enquanto eu digitava. Obrigada por tudo mãe!

Aos meus colegas de laboratório que sempre estiveram disponíveis a me ajudar prontamente e retirar minhas dúvidas.

Aos meus amigos da vida por deixarem os momentos difíceis mais leves.

E, especialmente, ao meu noivo Diogo Araújo. Por todos os momentos em que eu fiquei nervosa e ele compreendeu. A todas as noites em claro que ele passou ao meu lado seja dando suporte moral ou fosse classificando climas, preenchendo tabelas, organizando formatação e referências. Muito obrigada por ter estado ao meu lado e ter se disposto a ser meu IC sem receber nada em troca além do meu amor! Saiba que sem você eu não teria conseguido! Amo você!

RESUMO

Arabidopsis thaliana foi a primeira planta a ter seu genoma inteiramente sequenciado e se encaixa como principal modelo para estudos de plantas. Além disso, habita vários ambientes tornando-se um alvo interessante para investigar variações genéticas, como os polimorfismos. Esse estudo de polimorfismos no DNA é importante para a pesquisa, pois ajuda a identificar e desenvolver marcadores moleculares específicos. Aqueles polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) são os principais tipos de polimorfismos explorados e uma vez identificados são utilizados para compreender a adaptação e evolução da espécie, além de contribuir no melhoramento de determinado cultivar. A plastoquinol oxidase (PTOX) é uma oxidoreductase que atua na resposta ao estresse em plantas. Dessa forma, investigar os SNPs nesse gene em *A. thaliana* podem contribuir para descoberta de marcadores moleculares e indicá-lo como possível gene alvo para melhoramento em plantas. O objetivo deste estudo foi identificar os SNPs no gene PTOX de 1190 acessos de *A. thaliana*, prever as estruturas tridimensionais para os principais polimorfismos, analisar a expressão gênica em diversas condições e correlacioná-los com o ambiente. Coletamos os dados genômicos e anotamos o gene da PTOX manualmente, tomando como referência o ecotipo Columbia-0. Em seguida, todos os SNPs não-sinônimos foram identificados. As coordenadas dos acessos foram utilizadas para classificar o clima, a pluviosidade e a morfologia geográfica. A estrutura tridimensional foi predita pelo servidor PHYRE2, I-TASSER e Modeller 9.16; e as variantes estruturais polimórficas foram realizadas pela ferramenta mutagênese do PyMOL. As escolhidas foram submetidas ao “docking” molecular pelo servidor DockThor. A expressão gênica foi realizada pelo software TopHat. Nas análises de bioinformática 32 SNPs foram encontrados, dentre estes 16 foram não-sinônimos e destes 11 acarretaram a mudança para um aminoácido de classe diferente. Os aminoácidos das posições 13, 78, 81 e 323 foram aqueles que apresentaram maior taxa de mutação de todos: 40%, 31%, 31% e 49%, respectivamente, e apresentaram associação com a pluviosidade e a intensidade da luz. A estrutura modificada na posição 323 parece favorecer uma interação mais forte da enzima com o substrato, o plastoquinol, do que Columbia-0. Para os dados de expressão o gene da PTOX é expresso constitutivamente em condições normais e induzido em condições de estresse, especialmente aquelas que envolvem intensidade de luz. Concluímos que as mudanças (SNPs) na sequência do gene da PTOX sugerem estar relacionadas com a adaptação ambiental, ou seja, esta influencia a seleção de genótipos mutantes.

Palavras-chave: SNPs. Planta modelo. Docking molecular. Immutans. Condições ambientais.

ABSTRACT

Arabidopsis thaliana was the first plant to have its entirely genome sequenced and fits as the main model for plant studies. In addition, it inhabits several environments making it an interesting target to investigate genetic variations, such as polymorphisms. The study of DNA polymorphisms is important for research because it helps to identify and develop specific molecular markers. The single nucleotide polymorphisms (SNPs) are the main types of polymorphisms explored and once identified are used to understand the adaptation and evolution of species, in addition contribute to the improvement of a particular cultivar. Plastoquinol oxidase (PTOX) is an oxidoreductase that acts on the stress response in plants. Thus, investigating the SNPs in this gene in *A. thaliana* may contribute to the discovery of molecular markers and suggests it as a possible target gene for plant breeding. The aim of this study was to identify the SNPs in the PTOX gene of 1190 accessions of *A. thaliana*, to predict the three-dimensional structures for the main polymorphisms, to analyze the gene expression in several conditions and to correlate them with the environment. We collected the genomic data and annotated the PTOX gene manually. And using the Columbia-0 ecotype as a reference all non-synonymous SNPs were identified. The coordinates of the accessions were used to classify the climate, rainfall and geographical morphology. The three-dimensional structure was predicted by the servers PHYRE2, I-TASSER and Modeller 9.16; and the polymorphic structural variants were performed by the PyMOL mutagenesis tool. The structures were submitted to molecular docking by the DockThor server. Gene expression was performed by TopHat software. In the bioinformatics analyzes 32 SNPs were found, of which 16 were non-synonyms and of these 11 changed to a different class amino acid. The amino acids from positions 13, 78, 81 and 323 were those with the highest mutation rate of all: 40%, 31%, 31% and 49%, respectively, and were found associated with rainfall and light intensity. The modified structure at position 323 seems favors a stronger interaction of the enzyme with the substrate, plastoquinol, than Columbia-0. For expression data the PTOX gene is constitutively expressed under normal conditions and induced under stress conditions, especially those involving light intensity. We concluded that the changes (SNPs) in the PTOX gene sequence suggest to be related to the environmental adaptation, that is, this influences the selection of mutant genotypes.

Keywords: SNPs. Model plant. Docking. Immutans. Environmental conditions.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 – Número de publicações envolvendo <i>A. thaliana</i> 1980 – 2016	12
Figura 1 – Fluxograma do desenvolvimento de <i>A. thaliana</i> como modelo de estudo	15
Figura 2 – Esquema de ação da proteína PTOX	22
Figura 3 – Esquema de biossíntese de carotenoides	25
Figura 4 – Esquema para a clorespiração	26
Figura 5 – Sequência de AA da Proteína PTOX e as Principais Modificações Geradas Pelos Polimorfismos.	40
Gráfico 2 – Porcentagem de ecotipos mutantes nos climas, pluviosidades e posição especificados para o relevo planície	42
Gráfico 3 – Porcentagem de ecotipos mutantes nos climas, pluviosidades e posição especificados para o relevo planalto	42
Gráfico 4 – Porcentagem de ecotipos mutantes nos climas, pluviosidades e posição especificados para o relevo entre montanhas.....	43
Gráfico 5 – Porcentagem de ecotipos mutantes nos climas, pluviosidades e posição especificados para o relevo montanha	44
Figura 6 – Estrutura tridimensional predita pelo PHYRE2	45
Figura 7 – Parâmetros utilizados pelo servidor PHYRE2.....	46
Figura 8 – Estrutura tridimensional predita pelo I-TASSER e Modeller	46
Figura 9 – Estruturas tridimensionais construídas através de mutagênese	47
Figura 10 – Perfil de desordem fornecido pelo servidor DISOPRED	48
Figura 11 – Predição de estruturas secundárias pelo servidor PSIPRED	49
Figura 12 – Predição de regiões transmembrana pelo servidor MEMSAT-SVM	50
Gráfico 6 – Expressão da PTOX em condições de elevada altitude.	57
Gráfico 7 – Expressão da PTOX em mudas em condições de escuro e escuro alagado ...	58
Gráfico 8– Expressão da PTOX em raízes em condições de escuro e escuro alagado	59
Gráfico 9– Expressão da PTOX em ecotipos submetidos à seca moderada.	60
Gráfico 10 – Expressão comparativa entre os acessos Col-0 e Ler.	61
Gráfico 11 – Expressão comparativa entre os acessos Col-0 e Kil.....	61
Gráfico 12 – Expressão comparativa entre os acessos Col-0 e Sij submetidos às temperaturas de 23°C e 27°C.	62
Gráfico 13 – Expressão comparativa em mudas de 16 acessos de <i>A. thaliana</i>	63
Gráfico 14 – Expressão comparativa em raízes de 16 acessos de <i>A. thaliana</i>	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Correlação entre SNPs e a quantidade de acessos que os contêm.....	39
Tabela 2 – Correlação entre os AA modificados e os acessos que sofreram a mudança .	40
Tabela 3 – Predição dos processos metabólicos em que a PTOX possa estar envolvida .	52
Tabela 4 – Predição das funções metabólicas que a PTOX possa realizar	53
Tabela 5 – Predição dos componentes celulares dos quais a PTOX possa ser componente	54
Tabela 6 – Resultados para a energia intermolecular entre as estruturas e o ligante	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
PTOX	Plastoquinol oxidase
PQ	Plastoquinona
PQH2	Plastoquinol
SNPs	Single Nucleotide Polymorphisms
RPFM	Reads por kilobase por milhão
RMSD	Desvio da raiz quadrada
PDB	Protein Data Bank
QTL	Quantitative trait loci
NDH	Complexo NADPH desidrogenase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 <i>Arabidopsis thaliana</i> : Um Modelo de Estudo	11
1.2 The 1001 Genomes Consortium	14
1.3 Estudos Recentes Com <i>A. thaliana</i>	18
1.4 PTOX: Atividade Catalítica, Origem Evolutiva e Estrutura	22
1.5 PTOX e Seu Envolvimento nos Processos Metabólicos Celulares	24
1.6 PTOX e Seu Papel no Aumento da Tolerância a Estresses	27
1.7 Definição de Polimorfismos de um Único Nucleotídeo (SNPs).....	31
1.8 A Importância dos SNPs no Melhoramento Genético de Plantas.....	32
2 OBJETIVO GERAL	34
2.1 Objetivos Específicos.....	34
3 METODOLOGIA	35
3.1 Obtenção das Sequências do Gene	35
3.2 Identificação dos Polimorfismos de Um Único Nucleotídeo (SNPs)	35
3.3 Classificação das Condições Geográficas	35
3.4 Predição, Modelagem Comparativa e Validação da Estrutura Tridimensional	36
3.5 Mutagênese Para Construção das Estruturas Tridimensionais Com os Polimorfismos	37
3.6 Predição de Estruturas Secundárias e Função Molecular.....	37
3.7 Docking Molecular	37
3.8 Dados de Expressão Gênica	38
3.9 Análises Estatísticas.....	38
4 RESULTADOS	39
4.1 SNPs Não-Sinônimos e a Correlação Com as Condições Geográficas	39
4.2 Estruturas Tridimensionais e a Interação com o Plastoquinol	44
4.3 Dados de Expressão Gênica da PTOX.....	55
5 DISCUSSÃO	65
5.1 Correlação Entre os SNPs e a Pluviosidade e a Intensidade de Luz Incidente.....	65
5.2 SNPs Não-Sinônimos Causam Efeitos Diversos na Interação PTOX – PQH ₂	68
5.3 PTOX: Uma Expressão Constitutiva e Induzível	72
6 CONCLUSÃO	77
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Arabidopsis thaliana*: Um Modelo de Estudo

Arabidopsis thaliana é uma angiosperma da família Brassicaceae, classificada como uma erva daninha. Existe em diversas regiões do mundo e por essa razão ainda não há o conhecimento do local exato de origem (Meyerowitz, 1987). É uma planta de porte pequeno (em torno de 15cm de altura, excluindo-se as raízes), com flores que podem autofecundar-se ou serem cruzadas artificialmente, sem um fruto de importância agrônômica e alta produção de sementes (Costa, 2011). O ciclo completo de desenvolvimento e floração do ecotipo referência Columbia-0 completa-se entre 6 a 8 semanas (Meyerowitz, 1987; Costa, 2011). Por possuir um curto ciclo de desenvolvimento, ser de fácil manipulação e rápida propagação, além de requerer pequenos espaços de cultivo a *A. thaliana* tornou-se a espécie modelo de estudos experimentais de variações fisiológicas e fenótipo-genóticas (Leonelli, 2007).

Em 1980, alguns pesquisadores sentiram a necessidade de se obter um organismo modelo padrão para as pesquisas genéticas com plantas, assim como havia nas demais áreas. A *A. thaliana* foi escolhida para servir de modelo à pesquisa genética vegetal por possuir alguns dados genômicos disponíveis, uma coleção rica de diferentes acessos/ecotipos e uma estrutura cromossômica simples, apenas 5 cromossomos (Martienssen e McCombie, 2001). Os resultados de pesquisas obtidos com *A. thaliana* estimavam-se serem aplicáveis às demais plantas, o que com o tempo foi confirmado devido à proximidade genética entre essa e as diversas angiospermas (Somerville and Koornneef, 2002). Um empecilho ocorria pela dificuldade de se realizar a transformação genética, mas foi solucionado com a descoberta da técnica de transformação com o plasmídeo T da *Agrobacterium tumefaciens* que permitiu, e permite, compreender muitos processos celulares e fisiológicos (Leonelli, 2007). No ano 2000, o genoma completo de *A. thaliana* foi publicado, o primeiro de uma planta, e houve um aumento desde então do número de publicações científicas envolvendo a espécie (Gráfico 1), confirmando esta como modelo vegetal experimental (Somerville and Koornneef, 2002; Leonelli, 2007).

Organismos modelo são espécies amplamente estudadas para a compreensão de processos biológicos e/ou desenvolvimento de processos e espera-se que os resultados gerados sejam aplicáveis a outros organismos (Leonelli, 2013). Um organismo modelo tem de possuir características experimentais relacionadas às poderosas ferramentas genéticas, ou seja, deve possuir um tamanho físico e genômico pequenos; ter baixo custo de cultivo, manutenção e

transporte; ter um ciclo celular de curto tempo; alta taxa de fertilidade; possuir elevada susceptibilidade a mutações ou às técnicas de modificação genética; ter padronização do modelo referência; e, possuir incentivos poderosos de comunidades de pesquisa renomadas (Leonelli, 2013).

Gráfico 1: Distribuição do número de trabalhos envolvendo *A. thaliana* publicados entre o ano de 1980 e 2016. Em 1980, houve o desenvolvimento e crescimento das organizações de pesquisa e investimento voltadas a definição da *A. thaliana* como espécie modelo para estudos com vegetais. A partir dos demais anos, até o atual (2016) o crescimento é acompanhado pelo aumento da disponibilidade de dados genéticos nos bancos de dados.



Fonte: Elaborado pelo autor com base nos dados obtidos em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

As desvantagens de se escolher *A. thaliana* como modelo é que devido sua autofecundação, isso dificulta a detecção de alvos de seleção e afeta o processo adaptativo diretamente (Gepstein e Horwitz, 1995). O processo de autogamia aumenta a incidência de homozigose e dificulta a análise filogenética entre populações, pois é um importante fator de divergência entre as mesmas. O processo de recombinação efetivo é reduzido, o que aumenta o número de permutas polimórficas deletérias que não são selecionadas no processo adaptativo e mantendo uma baixa variação (Gepstein e Horwitz, 1995). Além disso, a recombinação pode originar uma modificação vantajosa e permitir que tal mutação seja mais adaptada e ocorra sua perpetuação em detrimento às não tão vantajosas quanto essa, reduzindo a diversidade genética (Koenig e Weigel, 2015). Ademais, ainda há possibilidade de alelos maléficos serem perpetuados a cada geração até que reproduzam uma consequência danosa bastante desvantajosa à espécie (Yant e Bomblies, 2017; Koenig e Weigel, 2015). Além dessas características, o fato de ser uma espécie de porte pequeno não é de todo vantajoso, pois alguns

experimentos necessitam muito material para obter-se uma quantidade razoável de um tecido específico. E, também, *A. thaliana* não possui interesse agrônomo, sendo alvo apenas de estudos de base para demais cultivares (Gepstein e Horwitz, 1995).

Porém, observando-se todas as características, diversos fatores contribuíram para que a *A. thaliana* se transformasse num modelo de estudo. Primeiro, tem características fisiológicas favoráveis, é de fácil manipulação, tem um ciclo de vida curto, é fácil de cultivar e requer espaços pequenos de produção o que permite a avaliação do crescimento, do desenvolvimento e das respostas a estresses bióticos e abióticos (Delatorre e Silva, 2008; Costa, 2011; Gepstein e Horwitz, 1995). Além de que, possui elevada semelhança de processos fisiológicos e genéticos com as demais espécies vegetais, até mesmo as mais distantes evolutivamente, o que permite a estipulação dos seus resultados para os demais organismos (Delatorre e Silva, 2008; Costa, 2011; Gepstein e Horwitz, 1995). Segundo, possui um genoma pequeno de tamanho aproximado de 125 megabases, sem muitas regiões repetidas ou elementos de transposição (85% são janelas de leitura aberta – cerca de 26 mil genes), o que reduz o tempo e os custos para se obter informações mais detalhadas sobre a função de genes ainda não decifrados (Wigge e Weigel, 2001; Leonelli, 2007; Martienssen e McCombie, 2001). Terceiro, tem uma elevada taxa de mutação, principalmente quando utilizada a técnica de transformação através da *A. tumefaciens*, o que permite estudos de engenharia genética que observem a resposta gênica a determinada condição a qual foi submetida, e, assim, identificar genes alvos para a manipulação em plantas de importância agrônoma (Somerville, 1994; Gepstein e Horwitz, 1995; Brito, 2009; Page e Grossniklaus, 2002). Quarto, é de ampla distribuição, existem plantas espalhadas por todo o mundo sugerindo que esta tem uma herança genética evolutiva compartilhada por muitas outras espécies, permitindo identificar genes homólogos de interesse científico para outras espécies, além de indicar que essa espécie é de fácil adaptação local (Delatorre e Silva, 2008). Quinto, é de fácil manipulação inclusive em estratégias de isolamento de genes para transferi-los à outras espécies e induzir tolerância (Koenig e Weigel, 2015; Delatorre e Silva, 2008). Sexto, possui versatilidade científica, *A. thaliana* é de interesse nas diversas áreas da ciência incluindo fisiologia vegetal, bioquímica, biologia molecular e bioinformática (Leonelli, 2007).

Após a publicação do genoma no ano 2000 pela “Iniciativa Genômica da Arabidopsis (AGI)”, essa se consolidou como modelo vegetal de estudo. Foram identificados diversos polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs), mas a maior parte do genoma era conservado, o que significa que há uma convergência evolutiva e isso é bom no estudo da diversidade entre os acessos e seus locais de origem (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000).

Análises comparativas entre o genoma de *A. thaliana*, várias Brassicaceae e *Solanum lycopersicum* demonstraram que o tamanho dos éxons e a posição dos íntrons são conservados entre as espécies vegetais (mais de 86% dentro do mesmo gênero), corroborando com a expectativa de que esta é a base ideal para estudos genéticos básicos e para melhoramento de culturas de interesse (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000). Além disso, avaliações dos genes envolvidos no transporte de íons, no reparo do DNA, na regulação gênica através dos fatores de transcrição e na composição dos compartimentos celulares apresentaram conservação em comparação com os eucariotos *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Mus musculus* espécies distantes evolutivamente em relação às espécies vegetais (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000). Quando utilizados na comparação com estas espécies os genes envolvidos nas reações responsivas à luz e metaboloma vegetal, apenas a *A. thaliana* os possuiu (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000). Esse fato incentivou o uso da espécie modelo vegetal, pois esta já contendo esses genes aumentam a probabilidade de que os resultados de um estudo possam ser extrapolados às outras plantas do que um outro sistema eucarioto heterólogo. Estas descobertas a partir da publicação do genoma de *A. thaliana* foram os pontos-chave para confirmá-la como planta modelo nos estudos com vegetais (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000).

1.2 Projeto 1001 Genomas

Eventos chave no desenvolvimento e uso de *A. thaliana* como modelo de estudo foram se desenrolando de forma bem sucedida para a consolidação do mesmo. Primeiro, o interesse de grupos de pesquisadores importantes em 1980 despertou a atenção da comunidade científica o que culminou no investimento por parte da “National Science Foundation” (NFS) nos projetos de pesquisa e nas organizações que estudavam *A. thaliana* (Koornneef e Meinke, 2010). Em 1983, o primeiro mapa genético da planta foi publicado. Já em 1986, a primeira planta transgênica de *A. thaliana* foi gerada (Koornneef e Meinke, 2010; Somerville e Koornneef, 2002). Finalmente, em 1990 foi estabelecida a “Multinational *Arabidopsis thaliana* Research Project”, um projeto para sequenciar o genoma da espécie até o ano 2000. Em 1996, o projeto deslanchou e ficou denominado “Arabidopsis Genome Initiative” (AGI), até que no ano 2000 o genoma completo, com o mapeamento dos 5 cromossomos foi publicado (The Multinational Coordinate *Arabidopsis thaliana* Genome Research Project, 1997; The Arabidopsis Genome Initiative, 2000). Após a publicação do genoma, criou-se um novo projeto para facilitar a pesquisa com *A. thaliana*, “The Arabidopsis Information Resource” (TAIR)

(Rhee, 2003). O projeto teve início no ano 2000, e tem por objetivo ser o maior banco de dados online de plantas, contendo todos os dados de *A. thaliana* publicados e disponibilizando-os a qualquer cientista que esteja interessado com o intuito de contribuir com o compartilhamento de informações que favoreçam a permanência da espécie como modelo de estudo (Figura 1) (Rhee, 2003).

Figura 1: Fluxograma da trajetória para o desenvolvimento e uso da *A. thaliana* como modelo de estudos de plantas de alta qualidade.



Fonte: Elaborada pelo autor com base na bibliografia mencionada no parágrafo acima.

Com este alicerce consistente construído, em 2008 teve início o Projeto 1001 Genomas Consórcio. Esse projeto tem por objetivo o sequenciamento de vários acessos/ecotipos de *Arabidopsis thaliana* das mais diferentes localidades no mundo, objetivamente mais de 1000 (Zeller, 2008). A metodologia empregada foi inovadora por aplicar um algoritmo de determinação de sequências novo. A técnica envolve o resequenciamento das sequências por "microarray", para identificar as regiões polimórficas (RPs). Ocorre a hibridização da sequência ao DNA nas placas dos "arrays" e então é aplicado o modelo matemático do algoritmo "Margin-based Prediction of Polymorphic Regions" (mPPR) para definir as mudanças nas sequências, e depois a sequência de forma completa (Zeller, 2008). Esse algoritmo consiste no programa identificar as transições permitidas com base nas regiões conservadas e não conservadas fornecidas previamente, e assim conseguir atribuir a cada posição modificada na sequência uma pontuação através da avaliação das informações obtidas anteriormente e das medidas das leituras do processo de hibridização e com o uso de funções matemáticas atribuir o rótulo daquela mudança, se possível ou não (Zeller, 2008). Com esse novo método a identificação das RPs revelou índices de certeza superiores a 97%, o que classifica o método como mais preciso que os demais utilizados para sequenciamentos de larga escala (Zeller, 2008).

O projeto resultou no sequenciamento de exatamente 1135 acessos de uma coleção de ampla distribuição mundial. O estudo foi motivado pela necessidade de se quantificar a variação genética de forma mais ampla, para garantir uma comparação entre muitas amostras; além disso, para compreender melhor a distribuição demográfica dos acessos e sua co-dependência com as condições geográficas a que cada um está submetido (The 1001 Genomes Consortium, 2016). Os sequenciamentos tiveram uma cobertura de identificação de “Single Nucleotide Polymorphism” (SNPs) para cada 10 pares de bases (pb), o que o classificou como o mapeamento mais denso existente até hoje, até mesmo quando comparado ao projeto similar de 1000 genomas humanos. Porém, como o processo foi realizado utilizando sequências curtas, não é indicado que se use essas sequências para dados muito específicos, como a construção de “primers” específicos, por exemplo (The 1001 Genomes Consortium, 2016). Estudos filogenéticos realizados com as sequências indicaram que a expansão global dos acessos ao redor do mundo deu-se após o período pós-glacial, e essa abrupta adaptação ao local pode ter sido a fonte das mudanças existentes entre alelos (The 1001 Genomes Consortium, 2016). Dessa forma, o projeto dos 1001 genomas fornece uma oportunidade de decifrar como as modificações genéticas estão relacionadas com a variação fenotípica em determinado ambiente e as mudanças dentro deste (The 1001 Genomes Consortium, 2016).

O projeto dos 1001 genomas tem suas informações disponibilizadas através do site (<http://1001genomes.org/>) e além disso, inúmeras ferramentas que podem ser utilizadas. Dentre estas existe o AraPheno (<https://arapheno.1001genomes.org/>) que é um banco de dados público de fenótipos. A proposta primária do AraPheno é fornecer informações detalhadas sobre os estudos e os fenótipos avaliados e depositados no banco de dados (Seren, 2016). Em adição, o usuário pode visualizar as informações de forma interativa, correlacionando o fenótipo expressado com a região geográfica. Para isso são fornecidos histogramas de análise, que permitem a comparação entre os fenótipos e os padrões geográficos a que pertencem. Até o ano de 2016 foram disponibilizados dados de 260 fenótipos, provenientes de diversos tecidos e condições de cultivo (Seren, 2016). Outra ferramenta muito útil é o easyGWAS (<https://easygwas.ethz.ch/>), ela identifica o padrão de SNPs da variável e faz a interseção destes com o clima, além de prever quais das variáveis passaram por adaptação ambiental. Até 2016, o banco de dados possuía 150 “genome wide association studies” (GWAS) e 145 fenótipos públicos disponíveis (<https://easygwas.ethz.ch/>). Leva em consideração todos os interferentes: como escolha de acessos nos quais a seleção natural de fato ocorreu, que é o apropriado para o mapeamento; e os fenótipos captados pelas plantas originais que não são, muitas vezes, observadas em plantas cultivadas em câmaras num curto espaço de tempo; e a heterogeneidade

dos habitats de *A. thaliana* que são muito mais confiáveis que submeter as plantas a condições similares o que permite resultados mais robustos (Bergelson e Roux, 2010). Apesar de ser muito vantajosa, apenas 5779 estudos de correlação foram realizados, devido ao uso ser restrito a pagantes, que em 2016 incluem 660 usuários (Bergelson e Roux, 2010).

Outras duas ferramentas muito importantes são a POLYMORPH e Pseudogenomes, ambas fornecem o sequenciamento dos diversos acessos para serem usados pela pesquisa científica. POLYMORPH (<http://polymorph.weigelworld.org/>) possui o sequenciamento de 80 acessos de oito regiões diferentes da Eurásia (Europa e Ásia), fazendo parte do projeto piloto do 1001 genomas de Arabidopsis (Cao, 2011). A ferramenta permite a visualização, análise e pesquisa por SNPs para os 80 acessos. Além disso, permite que sejam construídos subconjuntos dos ecotipos pertencentes as regiões de mesmas características geográficas e favorece a realização de análises genômicas mais detalhadas e direcionadas (Cao, 2011). Associada à esta ferramenta, está a disponibilização de um “link” (<http://polymorph-clark20.weigelworld.org>) para encontrar as sequências genômicas de 20 acessos, com localizações geográficas e fenótipos diferentes, de alto padrão de qualidade (Gan, 2011). No próprio site consegue-se identificar os SNPs de forma eficiente e confiável para todo o genoma ou restringir para a avaliação de um único gene (Gan, 2011). Pseudogenomes (<http://tools.1001genomes.org/pseudogenomes/>) é a ferramenta que fornece o genoma dos 1135 acessos que foram sequenciados e sua região geográfica, nela pode-se escolher todas as sequências ou apenas aquelas pertencentes a determinada localização geográfica de interesse (The 1001 Genomes Consortium, 2016). Após escolhidos os acessos, segue-se o passo de restrição a determinado gene através do código obtido pelo TAIR e então realiza-se o download, concedido no formato “.fasta” e os estudos podem ser efetuados (The 1001 Genomes Consortium, 2016).

Um novo projeto, desenvolvido pelo mesmo grupo de pesquisa (Projeto 1001 Genomas Consórcio), finalizou o sequenciamento recentemente de mais de mil epigenomas, denominado “1001 Epigenomes Project” (The 1001 Epigenomes Consortium, 2016). A pesquisa selecionou 1227 acessos de *A. thaliana* com ampla diversidade geográfica e genética e realizou o sequenciamento do epigenoma (DNA metilado - metiloma) e do transcriptoma dos mesmos. O tecido escolhido foi o das folhas da roseta e 1107 metilomas de boa qualidade foram obtidos para 1028 acessos, enquanto 1203 transcriptomas de alta qualidade foram obtidos para 998 acessos e indicaram que as mudanças que ocorrem no epigenoma estão associadas a resposta ambiental e desempenha, portanto, um papel na adaptação (The 1001 Epigenomes Consortium, 2016). Assim, provê informação adicional a fornecida pelo projeto genômico de

A. thaliana na compreensão de como funciona a ativação e bloqueio da expressão gênica (The 1001 Epigenomes Consortium, 2016). Dessa forma, os recursos do genoma, do metiloma e do transcriptoma, quando todos disponibilizados, tornam possíveis investigações mais confiáveis de correlação entre as variações genéticas, a evolução e a adaptação ao ambiente (Lang, 2016).

A maior disponibilidade de dados sobre *A. thaliana* tem permitido um crescimento no número de pesquisas em torno desta espécie modelo, com objetivo de construir uma base de conhecimento para o melhoramento de outras espécies de valor econômico agregado (Lasky, 2012). Dentre essas pesquisas, as genéticas sofreram um impacto maior devido à imensa quantidade de informações sobre marcadores moleculares e condições ambientais que facilitaram as investigações das interações entre genótipo e fenótipo (Lasky, 2012).

Hirose et al. (2015), desenvolveram um cromossomo artificial vetor de transformação competente (CAT) que permite a transferência de sequências superiores a 80 “kilobases” (kb) e realizaram o mapeamento de todo o genoma através desses CATs, o que permitiu a construção de mapas genéticos de alta resolução. Um total de 110 CATs com as sequências foram disponibilizados no GenBank e TAIR de forma pública. Os CATs forneceram uma cobertura de 90.9% do genoma de *A. thaliana*, de maior qualidade que os disponibilizados até então, incluindo 100% do genoma do cloroplasto (Hirose, 2015). Essa biblioteca de CATs forneceu um mapa dos genes em alta resolução que poderão contribuir para os processos de transformação genética de plantas, provendo benefícios e mais exatidão aos pesquisadores desta área.

1.3 Estudos Recentes Com *A. thaliana*

Mesmo com todas as informações disponibilizadas, ainda não se desvendaram a maioria dos genes e das vias envolvidas na tolerância à estresses bióticos e abióticos. A investigação em torno dessas descobertas é de grande interesse para o desenvolvimento de cultivares melhorados, para que possam reduzir custos e aumentar a produtividade. A *A. thaliana* é muitas vezes escolhida como o passo inicial desses estudos (Hirose, 2015). A seca é um dos principais fatores limitantes para a produtividade de culturas de importante valor agrônomo, por isso, a resposta e regulação desse estresse são foco de muitos estudos. *A. thaliana* transgênica superexpressando o gene VlbZIP36 de *Vitis vinifera*, envolvido na sinalização e resposta a estresses abióticos, demonstrou uma maior tolerância a desidratação do que a condição controle, além de sinalizar para os fatores de transcrição das enzimas antioxidantes (Tu, 2016). Mojica et al., trabalhou com 354 linhagens de *A. thaliana*

provenientes da Suécia e Itália, submetendo-as a condições de estresse hídrico e identificaram 44% de genes com expressão constitutiva e 20% com expressão induzida, com este mapeamento identificaram onde estão localizados os genes candidatos ao melhoramento das culturas de espécies numa próxima geração, que poderão ser responsivas à seca e mais economicamente vantajosas. Um gene induzido em condições de estresse, TaRCI, clonado do trigo e expresso em *A. thaliana* demonstrou que as mudas expressando-o tiveram uma melhor recuperação ao estresse da seca; foram mais saudáveis e verdes; e possuíram uma maior taxa de fotossíntese, de acúmulo de biomassa e de clorofila do que as da condição controle (Khurana, 2015).

No entanto, avaliar as respostas para um estresse não traduz as condições ambientais reais, uma vez que no ambiente ocorre a ação combinada de estresses bióticos e abióticos e impõe a necessidade de estudos de estresses combinados. Olivas et al. (2016), combinaram estresses de seca com infestação pelo inseto *Pieris rapae* e de infestação pelo *P. rapae* com o fungo *Botrytis cinerea* em 40 acessos de *A. thaliana*. Puderam demonstrar que as variações de expressão gênica entre o estresse combinado abiótico (seca) e biótico (*P. rapae*) e o estresse combinado apenas biótico (*P. rapae* e *B. cinerea*) existem e são características, o que facilita a identificação de marcadores moleculares nos pontos de resposta exclusivos de cada condição. Enquanto o estresse combinado dos dois bióticos quando comparado ao estresse apenas do inseto (*P. rapae*) não apresentou diferenças de expressão, o que indica que os mesmos genes estão envolvidos na resposta para esses casos e apenas uma avaliação de SNPs poderia identificar o ponto chave para um possível melhoramento genético na planta (Olivas, 2016).

Balsamo et al., 2015 submeteram mutantes de *A. thaliana* deficientes na produção de monossacarídeos à deficiência hídrica. Os monossacarídeos são importantes na composição da parede celular das células vegetais, e a biomecânica das paredes é essencial na manutenção da integridade e evita a perda de água em condições de seca. Aqueles deficientes em xilose e galactose foram os menos tolerantes ao estresse hídrico, pois são essenciais a composição da parede celular. E, aqueles deficientes em raminose foram os mais tolerantes, pois é um componente secundário, identificando a estrutura celular como uma componente auxiliar na resposta à estresses (Balsamo, 2015).

Dada a importância da estrutura celular, é essencial compreender o transporte de ATP dentro das células que esteja voltado para as reações metabólicas de desenvolvimento e resposta à estresses. Proteínas transportadoras de ATP através da membrana mitocondrial (APCs), as AtAPC1, AtAPC2 e AtAPC3 (At – *A. thaliana*) tiveram uma maior expressão de 1

sob condições controle e de 3 sob condições estressantes em todos os tecidos, indicando AtAPC3 como alvo de transgenia para fornecer mais energia no combate à danos celulares (Monné, 2015). Ou seja, o ATP desempenha um papel essencial em resposta aos estresses. Um experimento que submeteu mudas de *A. thaliana* a 4°C resultaram no aumento de atividade da fosfolipase D e redução de atividade da H⁺-ATPase até 12 horas. Após esse tempo, a fosfolipase D e a H⁺-ATPase aumentaram suas atividades. No caso da ATPase foi em resposta a redução na expressão do gene PP2A, que desfosforila a ATPase inativando-a. Além disso, a fosfolipase D gera um aumento na produção de ácido fosfatídico (AF) que é um sinalizador para a H⁺-ATPase ligar-se à proteína 14-3-3 que a fosforila, ativando-a. Os resultados indicaram PP2A e AF como alvos para a tolerância em culturas em condições de temperaturas amenas (Muzi, 2016).

O isolamento de um alelo inteiro responsivo ao frio em *A. thaliana* permitiu observar o desenvolvimento das plantas submetidas a esse estresse. As mutantes contendo o alelo tiveram um menor crescimento radial, redução da elongação da raiz e baixo teor de celulose (Howles, 2016). A formação de dímeros de pirimidina também pode interferir no desenvolvimento das células, por isso Wang et al. (2016), estudaram os efeitos da alta radiação UV em 4 acessos de *A. thaliana*, 2 de elevada altitude e 2 de baixa altitude. Eles observaram que os de baixa altitude tiveram uma maior taxa de dímeros formados no início e depois tiveram uma taxa menor indicando que houve a indução de genes de resistência a alta incidência solar nestes e nos de elevada altitude não variou a expressão indicando uma expressão constitutiva nestes, habituados a condição. O crescimento radial da planta acompanhou o padrão apresentado para os dímeros, nos de baixa altitude houve um menor crescimento radial que depois normalizou indicando que após a indução de genes resistentes a incidência solar reduziu a formação dos dímeros, e o desenvolvimento do tecido foi menos afetado. Enquanto nos de elevada altitude não houve interferência no desenvolvimento da raiz, devido a expressão constitutiva de genes que evitam a formação de dímeros. Porém, como o custo energético é muito alto para indução, um vetor de expressão para uma expressão constitutiva em ambas condições reduziria o gasto energético para os demais processos celulares (Wang, 2016).

O papel dos hormônios também é de suma importância na compreensão dos processos fisiológicos desempenhados pelas plantas em condições de estresse. Plantas de *A. thaliana* mutantes, sem o gene *aba2* (defeito na produção de ácido abscísico - ABA), sem o gene *ga20ox1* (defeito na produção de giberelinas - GA) e sem os dois genes, foram estudados para ver o efeito de cada um no desenvolvimento da planta e viu-se que o duplo mutante mostrou induzir uma leve redução no crescimento, maior do que o mutante isolado *aba2*.

Enquanto *ga20ox1* revelou crescimento pouco menor que o controle sugerindo assim que o ABA desempenha um papel essencial no desenvolvimento da planta (Chiang, 2015).

Um dos principais danos gerados pelos estresses são causados pela formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), assim, a remoção desses radicais é o alvo primário ao combate de estresses no geral. Noshi et al., 2016 investigaram a ação de mutantes de *A. thaliana* sem e com fatores de transcrição de genes de combate a EROs, TGA9, TGA10 e ambos, e os submeteu ao tratamento com flg22 (padrão molecular de patógenos). Foi identificado que os mutantes sem os genes foram mais sensíveis ao flg22 do que o controle, sendo maior para *tga10* e para o duplo mutante, e nos que possuíam os genes houve uma indução da transcrição desses fatores, principalmente TGA10, indicando que este fator de transcrição desempenha um papel principal na mediação de respostas a EROs causados por flg22.

A produção de EROs também funciona como sinalização para uma cascata de reações que previnem maiores danos à planta desempenhada pelas enzimas catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione redutase (GR). Rejeb et al. (2015a) avaliou mutantes de *A. thaliana* com e sem duas NADPH oxigenases, produtoras de H₂O₂, em condições de estresse salino. E observaram que as superexpressando *AtRbohD*, *AtRbohF* e *AtRbohD/F* tiveram aumento da concentração de H₂O₂ e induziram a cascata de combate às EROs após exposição ao estresse salino mais que o controle. Enquanto as com os genes silenciados *atrbohD*, *atrbohF* e *atrbohD/f* apresentaram inibição da geração de H₂O₂ após exposição ao estresse, não estimulando a cascata de reações, demonstrando que a ação dessas enzimas NADPH oxidases são essenciais como sinalizadoras da cascata de respostas aos danos oxidativos causados por estresse salino. Mutantes de *A. thaliana* sem expressar estes mesmo dois genes tiveram menos acúmulo de prolina que a linhagem selvagem. A prolina é essencial no combate a EROs, na estabilização de proteínas e como fonte de C e N para as plantas. A adição de H₂O₂ exógeno acarretou num aumento dos níveis de prolina, indicando que a sinalização por H₂O₂ através das oxidases é essencial também para o acúmulo benéfico de prolina (Rejeb, 2015b).

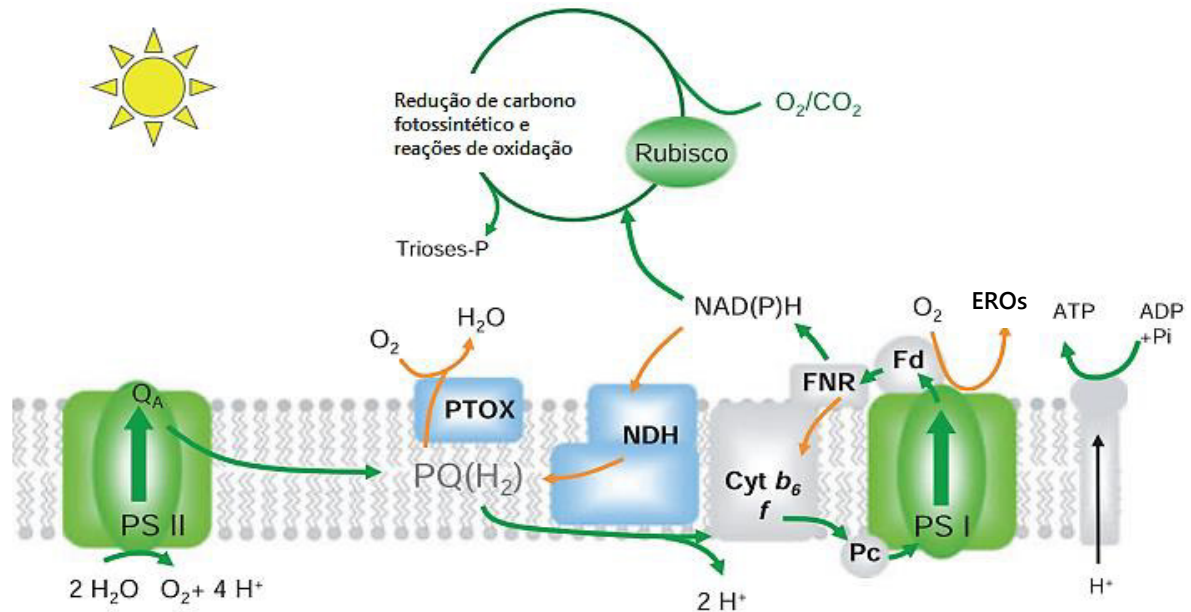
As proteínas ricas em aminoácidos metionina (PRM) também estão envolvidas no combate as EROs e em diversos processos celulares. Em *A. thaliana* foram identificados 121 genes envolvidos na geração de PRMs, dentre estes 57 foram responsivos aos estresses de seca e salinidade e 21 pertenciam aos cloroplastos. Tendo em vista que os cloroplastos aparecem como principal local de geração de EROs, foi sugerido que esses 21 genes podem tornar-se alvos no melhoramento de culturas (Chu, 2016). A superexpressão do gene codificador da proteína oxidase terminal do plastídeo (PTOX) acarreta no acúmulo de H₂O₂ que atua como

sinalizador para as demais vias de combate às EROs, além de prevenir diretamente a formação das mesmas por reoxidar a plastoquinona reduzida e permitir que ela desvie o excesso de elétrons gerados sob condições de estresse e é o alvo de muitos estudos que abrangem a melhoria genética de plantas (Johnson e Stepien, 2016).

1.4 PTOX: Atividade Catalítica, Origem Evolutiva e Estrutura

Terminal oxidase do plastídeo (PTOX), também chamada immutans e plastoquinol oxidorreductase, é uma proteína presente no estroma do cloroplasto codificada no núcleo das células vegetais e pertencente à classe das proteínas Diferro Carboxilato Quinol Oxidases (Dox) (Finnegan, 2003). É responsável pela catálise de conversão do plastoquinol (PQH₂) originado na fotossíntese em plastoquinona (PQ) por entregar os equivalentes redutores ao O₂, gerando H₂O (Figura 2) (Rumeau, 2007). O plastoquinol provém da doação de elétrons pelo NAD(P)H ou pela ferredoxina à plastoquinona oxidada, gerando um reservatório de PQH₂, a PTOX reconhece a alta concentração de PQH₂ e atua reoxidando-a (Kuntz, 2004; Nawrocki, 2015). O mecanismo envolve a interação inicial de uma sequência de 16 aminoácidos (AA), essenciais para a especificidade e atividade da enzima à PQH₂ e após o ajuste induzido da enzima ao substrato os dois íons Fe, ligados através de duas histidinas e quatro glutamatos, recebem os elétrons e então os transferem para o O₂, na proporção de dois PQH₂ necessários para reduzir uma molécula de O₂ à 2 H₂O (Johnson e Stepien, 2016; Josse, 2003; McDonald, 2011; Yu, 2014).

Figura 2: Esquema de ação da proteína PTOX e a interrelação com os demais processos celulares realizados nas células vegetais. PSII – fotossistema II, PSI – fotossistema I, NDH – complexo da NAD(P)H desidrogenase, Cyt *b6f* – complexo do citocromo *b6f*, Fd – ferredoxina, FNR – Fd-NADP-oxidoreductase, Pc – plastocianina, EROs – espécies reativas de oxigênio.



Fonte: Rumeau, 2007

Devido às características estruturais e de ação da PTOX estabeleceu-se que ela faz parte da classe de proteínas Dox e está relacionada evolutivamente a proteína Oxidase Alternativa (AOX), uma proteína mitocondrial que faz parte de uma via alternativa para a transferência de elétrons que possam ser produzidos em excesso na respiração (Fu, 2009; Josse, 2000; Atteia, 2004). Ambas proteínas possuem sequências semelhantes que indicam terem a mesma origem evolutiva, nesse contexto, as duas possuem na região C-terminal os AA responsáveis pela ligação dos íons Fe, quatro glutamatos e duas histidinas e têm resistência ao cianeto (Johnson e Stepien, 2016; Fu, 2005; Josse, 2000; Atteia, 2004). Além disso, as sequências proteicas de PTOX e AOX apresentam similaridade maior que 25% (a maior dentre as Doxs) indicando que são provenientes de um mesmo ancestral comum. Porém quando submetidas a análise filogenética demonstram serem de grupos familiares separados (Kuntz, 2004; McDonald, 2006). Presume-se que mesmo ambas tendo a mesma origem evolutiva a separação ocorreu há muito tempo. Propõe-se que surgiram de dois eventos endossimbióticos distintos, já que a AOX é encontrada em proteobactérias, protozoários e plantas enquanto a PTOX só é encontrada em cyanobactérias, algas e plantas (Kuntz, 2004; Carol e Kuntz, 2001; McDonald, 2006).

Essa suposições são sustentadas pelas evidências: primeiro, proteobactérias e cyanobactérias são provenientes de dois eventos endossimbióticos diferentes; segundo, acredita-se que as mitocôndrias foram o primeiro evento de simbiose a ocorrer, pois há presença da AOX em organismos como protistas, fungos e flagelos; terceiro, os eucariotos plastídicos

que possuem em alguma fase da vida cloroplastos resultam do evento simbiótico primário com cyanobactérias e contêm ambas proteínas; e quarto, espécies que possuem PTOX e AOX devem ter tido origem de eventos secundários ou terciários de endossimbiose (McDonald, 2011; McDonald, 2006). Além disso, dois resíduos responsáveis por estabilizar as histidinas de ligação do Fe estão presentes nas proteínas PTOX e AOX, a asparagina nas posições 174 e 221 e o aspartato nas posições 275 e 323, respectivamente (Finnegan, 2003). Ademais, a AOX pôde substituir a PTOX no mutante *im* (gene da PTOX inibido) de *A. thaliana* tendo sua expressão aumentada e realizando a oxidação da PQH₂ (Fu, 2012).

Com a semelhança clara existente entre essas duas proteínas pode-se deduzir a provável estrutura da PTOX com base na estrutura cristalizada da AOX disponível e a estrutura predita da PTOX possuiu quatro domínios alfa-hélices e um centro de diFe (Fe-Fe) (Kuntz, 2004; Johnson e Stepien, 2016; Fu, 2005). Yu et al. (2014), deduziram uma estrutura tetramérica para a PTOX com quatro centros de diFe, oito Fe ao todo, porém era uma proteína de fusão MBP-PTOX (MBP – proteína de ligação à maltose) o que torna pouco confiável a dedução. Os íons Fe funcionam como cofatores catalíticos e não podem ser substituídos por outros íons. Eles se prendem à estrutura da proteína através de seis aminoácidos, na sequência de aminoácidos de *A. thaliana* eles são: E136, E175, H178, E227, E296 e H299 (E – glutamato e H – histidina) (McDonald, 2011; Fu, 2005; Fu, 2009). Dois aminoácidos estão envolvidos na estabilização das histidinas, a asparagina na posição 174 e o aspartato na 275 (Finnegan, 2003; Fu, 2009). Além do centro principal de transferência de elétrons na região C-terminal, existem 16 aminoácidos importantes para a função, especificidade e estabilidade da proteína PTOX com o substrato (Johnson e Stepien, 2016; McDonald, 2011; Atteia, 2004). Na região N-terminal há uma sequência que age como peptídeo trânsito (“peptídeo sinal” de uma proteína endereçada ao cloroplasto segundo Li e Chiu, 2010) para induzir a ligação da proteína à membrana do tilacóide (McDonald, 2011; Atteia, 2004). Em contraste com outras Doxs, a PTOX possui especificidade restrita ao plastoquinol, as sequências alifáticas SVL-H-M/L-YE-T/S parecem estar diretamente relacionadas com a preferência pelo substrato (Josse, 2003). McDonald et al. (2011), encontraram que dentro desta sequência a tirosina (Y) da posição 154 é a principal responsável pela atividade *in vitro* e pela especificidade pela PQH₂.

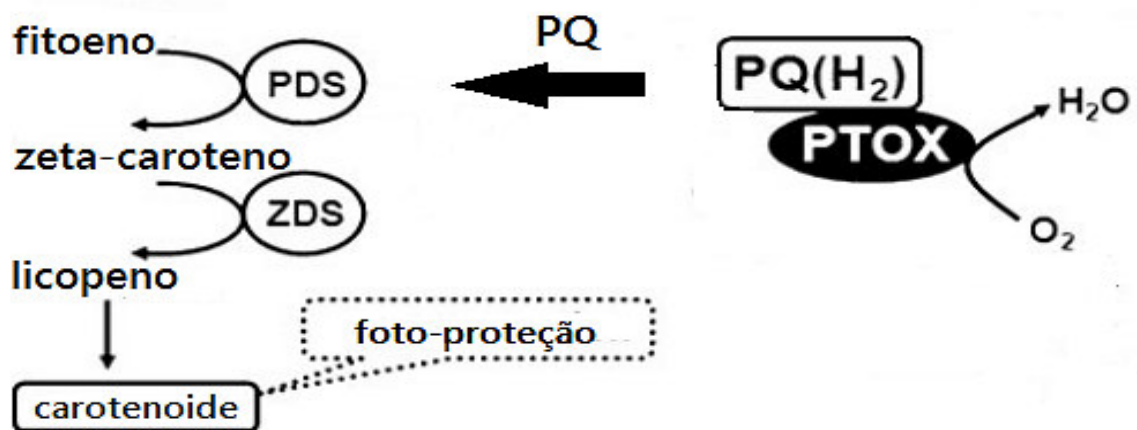
1.5 PTOX e Seu Envolvimento nos Processos Metabólicos Celulares

A via metabólica de biossíntese de carotenoides requer como precursor a PQ oxidada, proveniente da ação da PTOX (Josse, 2000). Os carotenoides são sintetizados no

plastídeo e necessitam da ação da PTOX para que a síntese ocorra (Kuntz, 2004). Porém, em cloroplastos maduros a PQ oxidada pode ser fornecida pela ação do complexo da citocromo *b6f*, mas naqueles em desenvolvimento essa função é desempenhada pela PTOX (Rumeau, 2007). Esta atua oxidando o PQH₂ para convertê-lo a PQ oxidada e esta é necessária como precursora no processo de síntese de carotenoides. Estes são pigmentos acessórios da fotossíntese e também são agentes protetores, captam a luz em excesso e evitam danos foto-oxidantes às clorofilas das plantas (Sun e Wen, 2011). A produção de carotenoides envolve duas enzimas principais, a fitoeno desaturase (PDS) e a zeta-caroteno desaturase (ZDS), que atuam sucessivamente para converter o fitoeno em zeta-caroteno e então em licopeno (Figura 3) (Johnson e Stepien, 2016; Okegawa, 2010; Sun e Wen, 2011). O licopeno é um carotenoide que ainda pode ser convertido em alfa e beta-carotenos e xantofilas, essenciais no papel de foto-proteção nas plantas.

Diversos estudos sugerem que em cloroplastos em desenvolvimento, as plantas mutantes de tomate (*ghost*) e *A. thaliana* (*im*), que não possuem o gene para PTOX, apresentam um aspecto branco manchado nas folhas, devido as clorofilas danificadas, e um acúmulo de fitoeno (McDonald, 2011; Carol e Kuntz, 2001). Além disso, no tomate *ghost* foram identificadas ainda falta de pigmentação em frutas e flores (Shahbazi, 2007).

Figura 3: Esquema de biossíntese de carotenoides e a correlação com a ação da PTOX. PDS – fitoeno dessaturase, ZDS – zeta-caroteno dessaturase, PQ – plastoquinona oxidada e PQH₂ – plastoquinona reduzida.



Fonte: Sun e Wen, 2011.

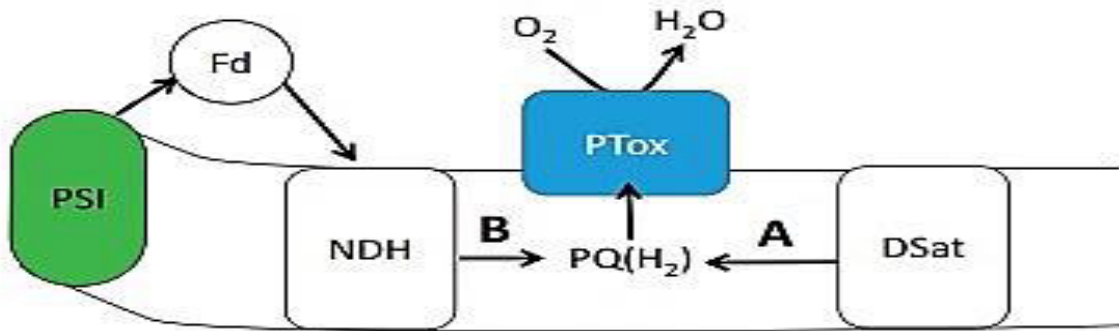
Steccanella et al. (2015), reconheceram no mutante de *A. thaliana im*, elevada redução no nível de PQ oxidada e correlacionou à redução na produção de clorofila, pois identificou que a PQ é precursora também da enzima ciclase redutase, que faz parte da via de

síntese da clorofila. Assim, a ausência da PTOX causa danos não somente à síntese de carotenoides como à de clorofila, que tem a concentração reduzida tanto pela foto-oxidação, devido a falta de proteção desempenhada pelos carotenoides, como pela síntese reduzida pela falta do precursor originado pela PTOX (Carol e Kuntz, 2001). Etioplastos do *im* de *A. thaliana* não desenvolvem para cloroplastos maduros e possuem um acúmulo de fitoeno, em contraste, cloroplastos maduros parecem apresentar vias alternativas à PTOX para oxidar a PQH₂ e prosseguir a biossíntese de carotenoides (Kambakam, 2016).

Dessa forma, os danos causados pela alteração na via biossintética de carotenoides podem ser explicados porque: é provável que seja necessário atingir um nível limitante para que de fato obtenha-se uma resposta protetiva a foto-oxidação; a PTOX desempenha um papel essencial para atingir esse limite, porém somente no estágio inicial de diferenciação dos cloroplastos nos tecidos, em cloroplastos maduros vias alternativas devem atuar para substituir a função da PTOX (Kuntz, 2004). Em cenoura (*Daucus carota*) mesmo após o amadurecimento dos tecidos a expressão da PTOX permaneceu elevada associada à biossíntese de carotenoides (Campos, 2016).

A clororespiração refere-se a uma via alternativa de transferência de elétrons que ocorre nos cloroplastos, da qual PTOX faz parte. Atua principalmente no escuro para desviar os elétrons que não podem ser transferidos pelos fotossistemas pela falta de luz, gerando o gradiente de pH necessário para geração de ATP pela ATP-sintase e evitando ativação desnecessária do aparato fotossintético (Sun e Wen, 2011; Johnson e Stepien, 2016). Porém, também age durante o dia quando há excesso de elétrons gerado em consequência de algum estresse biótico ou abiótico. A clororespiração envolve a redução da PQ oxidada pela NAD(P)H desidrogenase (NDH) ao PQH₂ e sua posterior oxidação pela PTOX (Figura 4) (Johnson e Stepien, 2016; Sun e Wen, 2011; Díaz, 2007). Ou seja, esta fica responsável por evitar a formação de um reservatório de plastoquinol e, dessa forma, permite a reciclagem da PQ e o ciclo para o desvio de elétrons pode continuar (Díaz, 2007).

Figura 4: Esquema do sistema da clororespiração e a correlação com a ação da PTOX. A – Representa a PQH₂ proveniente da síntese de carotenoides. B – Representa a clororespiração, elétrons provenientes do PSI (fotossistema I) são transferidos à PQ pela NDH (ND(P)H desidrogenase) originando o PQH₂ e então este é oxidado pela PTOX a PQ dando continuidade ao ciclo.



Fonte: Johnson e Stepien, 2016

Esse ciclo de desvio contínuo dos elétrons evita a formação de EROs que possam ser originados pela transferência desequilibrada de elétrons ao O_2 (McDonald, 2011). Inúmeros trabalhos apresentam uma indução da expressão da PTOX em plantas submetidas a estresses, sendo esta responsável pela manutenção do balanço redox, essencial a homeostase celular (Johnson e Stepien, 2016). Dependendo das condições celulares a PTOX pode originar em vez de H_2O , a espécie reativa H_2O_2 em baixos níveis que atua sinalizando para os mecanismos antioxidantes catalisados por uma cascata de reações enzimáticas, contribuindo, assim, para as respostas de combate às EROs (McDonald, 2011). Assim, as funções da cloro-respiração sustentadas pela ação da PTOX são o suprimento de ATP à célula com dissipação da energia em excesso, através do transporte cíclico de elétrons pelo fotossistema I (PSI), complexo NDH e PTOX; e, prevenir a superredução do PSI e contornar a produção de EROs em excesso (Rumeau, 2007).

1.6 PTOX e Seu Papel no Aumento da Tolerância a Estresses

Além do seu papel nas vias de biossíntese de carotenoides e na cloro-respiração, a PTOX tem sido apontada como uma válvula alternativa para o transporte de elétrons quando a planta está submetida à estresses. O excesso de elétrons recebido nessas condições seria desviado não apenas através dos fotossistemas, mas também pela PTOX com o intuito de inibir a formação de EROs pelo desequilíbrio na transferência de elétrons (Johnson e Stepien, 2016). Dessa forma, a PTOX é o alvo de muitos estudos que avaliam sua relação com as respostas aos estresses, para torná-la possível alvo do melhoramento genético de plantas. É importante ter o conhecimento de que se uma planta se torna tolerante após a exposição a um estresse esta passou por um processo de aclimação. Portanto, compreender os processos fisiológicos envolvidos

na aclimação são muito importantes para a agricultura e o meio ambiente (Tallón e Quiles, 2007).

Ibáñez et al. (2010) trabalharam com duas angiospermas *Chrysanthemum morifolium* e *Spathiphyllum wallisii*, uma adaptada ao sol e outra à sombra, respectivamente. Eles avaliaram a resposta da PTOX a estresses de seca, calor e temperatura elevada e observaram um aumento da expressão da enzima juntamente com a expressão do complexo NDH, sendo maior na espécie de sombra, indicando que a PTOX está relacionada ao processo de aclimação, pois contribuiu para a continuidade da produção de ATP e evitou a formação de EROs pelo excesso de elétrons dissipado no estresse.

Plantas de cereal (*Avena sativa*) crescidas sob condições de luz intensa e elevada temperatura têm uma inibição do fotossistema II, um aumento da atividade do fotossistema I e uma alta expressão dos genes da PTOX e do NDH em folhas jovens e maduras, possivelmente pela associação das duas vias para desviar o excesso de elétrons gerado pelo estresse (Tallón e Quiles, 2007). Quiles et al. (2002), obtiveram resultado similar com cereal, porém os estresses foram aquecimento, alta intensidade de luz e elevada temperatura, e testando diretamente sistemas ligados às membranas dos tilacóides maduros da *A. sativa*. Esses resultados sugerem que a PTOX atua como válvula de desvio de elétrons, já que em tecidos maduros o nível de expressão da PTOX envolvida na biossíntese de carotenoides é muito baixo (Kuntz, 2004).

Shirao e colaboradores (2013) trabalharam com 35 angiospermas, de 33 espécies, e com 71 angiospermas, de 68 espécies, avaliando a expressão da PTOX em condições normais de cultivo e destacou que a expressão da PTOX foi bem maior nas gimnospermas do que nas angiospermas e houve um maior desvio de elétrons, porém esse desvio não gerou a variação de pH necessário para a produção de ATP pela ATP-sintase. Esses resultados despertam o interesse sobre quais diferenças existem entre o gene da PTOX de gimnospermas e angiospermas para compreender as descobertas no intuito de se obter uma proteína mais eficaz.

Joet et al. (2002), utilizou um mutante de tabaco expressando o gene da PTOX de *A. thaliana* e o submeteu ao escuro e a luz moderada, em ambas condições a AtPTOX teve um aumento de expressão em relação ao controle, principalmente no escuro possivelmente associada a cloro-respiração. Dessa forma, uma completa deleção do fotossistema II (PSII) provavelmente geraria um aumento de atividade da via cíclica de elétrons. O mutante de tabaco sem o PSII (*psbA*) obteve um aumento no nível de expressão da PTOX e do NDH, detectando-se seus RNA mensageiros, indicando uma regulação e indução dessas proteínas a nível transcricional (Baena-González, 2003). Porém, mutantes de tabaco superexpressando AtPTOX submetidos a elevada intensidade de luz tiveram um aumento da concentração de EROs, que

podem ocasionar danos foto-oxidativos aos tecidos (Heyno, 2009). No entanto, avaliando os trabalhos em conjunto, observa-se que as atividades da PTOX e do NDH ocorrem em paralelo, portanto a superexpressão de apenas um dos genes poderia ser a fonte do problema. Além disso, as EROs produzidas pela ação da PTOX podem funcionar como sinalizadoras de reações em cascatas para o combate às mesmas.

Simkin et al. (2003b), identificaram que em tomate (*Lycopersicon esculentum*) a concentração de carotenoides está inversamente relacionada a expressão da PTOX e do NDH, porém quando a espécie é submetida a elevada intensidade de luz a expressão das duas aumenta independente da concentração dos carotenoides funcionando como via alternativa de transporte de elétrons e favorecendo a geração das moléculas foto-protetivas. Mutantes de tomate sem expressar a PTOX (*ghost*) foram submetidas a comparação com o tipo selvagem sob condições de estresse de luz moderada, luz intensa, escuro e baixa disponibilidade de CO₂. Em *ghost* em todas as condições houve um acúmulo de PQH₂ em comparação com o tomate selvagem. E na avaliação da expressão da PTOX na espécie selvagem sob as condições impostas ocorreu um aumento da expressão da PTOX nas condições do escuro e de luz intensa, enquanto com luz moderada o aumento foi acompanhado pela produção de EROs (Trouillard, 2012). Shahbazi et al. (2007), identificaram um aumento da atividade da PTOX em relação ao fotossistema II em tomate após 16 horas de exposição a luz intensa, enquanto no *ghost* o PSII e PSI foram inibidos, provavelmente devido à luz no PSII e no PSI pela falta PQ pela ação da PTOX, interrompendo o fluxo de elétrons. Esses trabalhos sugerem que a PTOX pode estar relacionada a tolerância a estresses intensos e em moderados funciona como sinalizadora das demais vias protetoras.

Além disso, PTOX parece estar envolvida no processo de amadurecimento de frutos, uma vez que um estudo com frutos em amadurecimento, tomate e pimenta (*Capsicum annum*) obteve uma expressão aumentada da proteína (Josse, 2000). Ademais, a pimenta submetida a estresses de alta intensidade de luz e escuro também revelaram uma elevada expressão da PTOX, principalmente na condição de luz intensa, um aumento de 24% (Simkin, 2003a).

O espinafre (*Spinacia oleracea*) quando submetido a luz de intensidade de até 50 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ possui uma atividade de reciclagem de elétrons maior pela PTOX que pelo PSII, quando ultrapassado esse limite o PSII supera a atividade da PTOX no transporte de elétrons, e esta fica mais restrita a geração de EROs que sinalizam e ativam as cascatas de reações de combate à danos oxidantes (Feilke, 2014). Díaz et al. (2007), estudaram o efeito de luz intensa e calor nas espécies *Brassica fruticulosa* (selvagem) e *Brassica oleracea* (agriculturable) e ambas apresentaram elevada expressão da PTOX e do NDH, porém na

selvagem a expressão foi bem maior, além de possuir uma melhor resposta do aparato fotossintético e uma menor produção de EROs do que na espécie cultivada, demonstrando ter uma maior capacidade de aclimação em situações de estresse. Além desses trabalhos com excesso de luz, altas temperaturas e calor, muitos estudos demonstraram que a PTOX também é responsiva a estresse salino, à seca e à baixas temperaturas (Johnson e Stepien, 2016; Sun e Wen, 2011). McDonald et al. (2011), sugerem a hipótese que de fato a PTOX atua como via alternativa na transferência de elétrons e que a formação de EROs seria mais uma função da proteína, como produtora dos precursores das cascatas de resposta a malefícios foto-oxidantes gerados.

Krieger-Liszkay e Feilke (2016) propuseram um modelo para a ação da PTOX no combate aos danos causados por estresses. Eles sugerem que quando o pH no estroma está alcalino, que ocorre em condições de luz intensa, baixa disponibilidade de CO₂, seca e elevado calor e temperatura, a PTOX consegue se associar a membrana do tilacóide e assim ter acesso ao substrato PQH₂ levando a oxidação eficiente a PQ, que é necessária em muitos processos homeostáticos. Em contraste, quando o pH se torna mais ácido, condições não estressantes, a PTOX se dissocia e permanece inativa. Yu e colaboradores (2014) identificaram em plantas de arroz (*Oryza sativa*) que para o funcionamento da PTOX *in vitro* como válvula alternativa de transferência de elétrons, ocorria a dependência do pH e da concentração do substrato (PQH₂). Quando o pH está alcalino a PTOX é ativa se o substrato estiver em baixa concentração e quando o pH está ácido a PTOX é ativada com elevadas concentrações do substrato.

Esses resultados sugerem que a PTOX atua de forma distinta em espécies de plantas diferentes e que a PTOX está relacionada ao desvio alternativo de elétrons benéfico em condições de estresse. Porém, sua expressão isolada pode não ser suficiente para ocasionar a tolerância em culturas. A PTOX é útil em condições estressantes, mas é provável que não seja de utilidade universal (Sun e Wen, 2011). Dessa forma, estudos posteriores são necessários para compreender os mecanismos que envolvem a atividade da PTOX e, possivelmente, conseguir identificar marcadores moleculares com objetivo de desenvolver cultivares melhorados geneticamente.

Um estudo envolvendo 100 acessos de *A. thaliana* avaliou os SNPs da família da proteína AOX, pertencente à mesma classe da PTOX, uma Dox, tem os seus polimorfismos e as deleções favorecidos pelas condições climáticas (Costa, 2015), isso despertou o interesse em investigar a ação desse gene em condições diferentes e correlacioná-las às diferentes condições climáticas e aos polimorfismos.

1.7 Definição

Os polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) são a variação genética mais abundante entre as espécies, cerca de 90% das variações genéticas em um genoma são geradas por SNPs (Thorisson e Stein, 2003). Um SNP representa uma modificação da base nitrogenada de um nucleotídeo no DNA por uma mutação (nem toda mutação em um nucleotídeo é um SNP), e cada um pode ter quatro versões A, G, C e T (adenina, guanina, citosina e timina, respectivamente) passada de geração em geração (Stoneking, 2001). Para ser considerado um SNP pelo menos 1% da população daquela espécie deve possuir a mudança, por isso estudam-se vários indivíduos da mesma espécie, para aumentar a probabilidade daquela mudança ser de fato um polimorfismo (Weiner e Hudson, 2002). Além disso, SNPs podem estar espalhados por toda a extensão do genoma nas regiões codantes e não-codantes, com a maioria tendo um efeito silencioso. Porém, quando estão localizados dentro de um gene e alteram o aminoácido referente podem gerar uma vantagem ou uma desvantagem à espécie, que pode ser selecionada positivamente ou negativamente (Stoneking, 2001). Devido a existência de milhares de SNPs dentro de uma mesma espécie estes podem atuar como marcadores biológicos, seja na identificação de doenças em humanos ou no estabelecimento de genes de resistência para plantas (Henry e Edwards, 2009).

Os SNPs são divididos em duas categorias: SNPs indicativos e SNPs causativos. Os indicativos são aqueles que não estão dentro da região codante e não afetam a função proteica, porém estão envolvidos na ação dos genes por estarem ligados a sua resposta. Os causativos afetam diretamente a função proteica e existem de duas formas: os SNPs codantes, que mudam a sequência de aminoácidos e interfere no produto gênico; e, os SNPs não-codantes, que estão dentro das regiões regulatórias da expressão do gene e interferem na expressão do gene (Roche, 2007). Além dessas duas categorias os SNPs podem ainda ser classificados como: sinônimos, quando a mutação no nucleotídeo é silenciosa, ou seja, altera o códon mas não o aminoácido codificado; e, não-sinônimos, quando a mutação no nucleotídeo altera o aminoácido que o códon anterior à mutação codificaria (Roche, 2007).

Os polimorfismos são ainda divididos em quatro grupos: *rSNPs* (SNPs aleatórios), compõem cerca de 10% de um genoma e a maioria está em regiões silenciadas não tendo efeito perceptível no fenótipo; *gSNPs* (SNPs associados a genes), estão localizados dentro do gene seja no íntron ou éxon permitindo o estudo associado entre a expressão do gene e o fenótipo apresentado; *cSNPs* (SNPs codantes), estão presentes no éxon do gene e podem codificar ou não a alteração do aminoácido, que pode ou não modificar a função da proteína; *pSNPs* (SNPs

relevantes para o fenótipo), localizados dentro do gene e que codificam para um aminoácido diferente e que altera o papel da proteína, são os principais alvos de estudos (Albert, 2011).

A identificação dos SNPs pode ser feita de duas maneiras: através da pesquisa genômica que é mais abrangente; e, da pesquisa funcional que é mais específica (Thorisson e Stein, 2003). A pesquisa genômica consiste em projetos de larga escala que combinam esforços de muitas instituições para identificar todos os SNPs dentro do genoma de uma espécie, muitas vezes utilizando indivíduos diferentes da mesma espécie para obter um mapa amplo de dados computacionais que sirvam de base a outras pesquisas. Enquanto, a pesquisa funcional é usada por cientistas que buscam respostas para uma doença ou estresse ambiental em particular que esteja relacionado a genes específicos e tentam solucionar através da identificação dos marcadores moleculares e seu envolvimento com a condição estabelecida (Thorisson e Stein, 2003).

1.8 A Importância dos SNPs no Melhoramento Genético de Plantas

Devido as previsões de mudanças climáticas, o crescimento da população mundial e a redução das reservas energéticas o melhoramento de plantas tem por objetivo de abastecer as culturas agrônomicas com plantas que sejam resistentes à estresses bióticos e abióticos, que tenham maior produtividade e que possuam alta capacidade de captar os nutrientes do solo (Carrer, 2010; Gupta, 2008; Rafalski, 2001). Assim, o desenvolvimento de cultivares melhorados geneticamente tem se transformado em uma área ativa da pesquisa tendo como alvo culturas importantes de várias espécies de plantas, e a partir da evolução dos dados genômicos disponibilizados em bancos de dados e dos inúmeros estudos polimórficos realizados, essa área está progredindo (Clevenger, 2015; Guimarães, 2004). Para isso é necessário o desenvolvimento e uso de marcadores moleculares. Os marcadores moleculares são essenciais na escolha de genes para melhoramento genético de plantas, bem como na compreensão dos processos evolutivos e de aclimação (Rafalski, 2002). O desenvolvimento destes marcadores vem aumentando desde que a quantidade de informações genéticas disponíveis teve um crescimento substancial associado a identificação de polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) (Rafalski, 2001; Carrer, 2010).

Os marcadores moleculares estão envolvidos na clonagem, mapeamento genético, melhoramento genético, entre outros. No melhoramento genético o seu uso permite uma seleção mais precisa do cultivar ideal poupando tempo (Guimarães, 2004). São vantajosos também por não exigir estágio de desenvolvimento e nem especificidade de tecido (Carrer, 2010). O

desenvolvimento de um marcador inclui várias etapas: primeira, o desenvolvimento da população; segunda, mapeamento dos traços quantitativos no locus (QTL); terceira, a validação do QTL; e, a última, a validação do marcador (Mammadov, 2012). Atualmente, marcadores construídos com base nos dados de SNPs são os mais estudados, pois permitem a construção de mapas genéticos de alta resolução, análises detalhadas da estrutura das populações, bem como da filogenética (Rafalski, 2002).

Os marcadores do tipo SNP são baseados na identificação de sequências em que houve deleção/inserção ou mutação de apenas um nucleotídeo (Carrer, 2010). Pelo fato de serem altamente abundantes no genoma de qualquer organismo e apresentarem uma baixa taxa de mutação dentro das gerações são os mais promissores nos processos de genotipagem (Guimarães, 2004). Possuem duas características essenciais, SNPs definem a variedade intra-indivíduos e demonstram como estes interagem geneticamente com o ambiente (Henry e Edwards, 2009; Ganal, 2009). Ainda há dificuldade na identificação de SNPs raros e presentes em regiões repetidas, pois precisam de muitas replicatas o que acarreta, também, na elevação dos custos (Mammadov, 2012; Rafalski, 2002; Clevenger, 2015). Além disso, a grande maioria dos softwares que identificam os SNPs utilizam comparação com sequências etiquetas expressas (ESTs) que em grande parte não tem qualidade e acabam por indicar falsos positivos (Thomson, 2014; Rafalski, 2001). Apesar disso, as vantagens do estabelecimento de marcadores moleculares com base nos SNPs são bem mais benéficas que os demais métodos, devido sua flexibilidade, rapidez, custo-efetividade, abrangência genômica e especificidade (Thomson, 2014).

A expansão dos projetos de sequenciamento genômico, e todas as informações sobre polimorfismos que podemos retirar deles, devem servir para acelerar e ampliar a descoberta de genes envolvidos no desenvolvimento e na tolerância de espécies vegetais. Assim, impactando positivamente o ganho de conhecimento no que envolve o melhoramento de cultivares (Mammadov, 2012; Thomson, 2014). Dessa forma, com a identificação da PTOX como gene responsivo à diferentes condições de estresse há o interesse em investigar os polimorfismos existentes nesse gene, principalmente na espécie modelo de *A. thaliana*, que pode fornecer dados essenciais à descoberta de marcadores moleculares e ao desenvolvimento de cultivares tolerantes a condições desfavoráveis.

2 OBJETIVO GERAL

Identificar os polimorfismos presentes no gene PTOX em de 1190 acessos/ecotipos de *A. thaliana* que causem alterações estruturais, funcionais e na expressão da enzima em virtude das condições geográficas as quais estão submetidas.

2.1 Objetivos Específicos

- Identificar os SNPs presentes na sequência nucleotídica do gene da PTOX em 1190 acessos de *A. thaliana*.
- Correlacionar os SNPs não-sinônimos de maior incidência com as condições geográficas.
- Deduzir as estruturas tridimensionais relativas as modificações de maior ocorrência.
- Predizer o impacto dessas modificações na atividade enzimática da PTOX.
- Analisar a expressão do gene da PTOX proveniente de diversos transcriptomas disponíveis no GenBank – NCBI.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção das Sequências do Gene

Buscou-se inicialmente uma sequência isca no site do Centro Nacional de Informação Biotecnológica (NCBI - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) restringindo a pesquisa à *IMMUTANS* e Columbia-0 (ecotipo referência – Col-0). A sequência proteica de referência disponível (código – NM_118352.4) foi então submetida à ferramenta de busca TBLASTN no site TAIR (<https://www.arabidopsis.org/Blast>) para encontrar o código TAIR referente à PTOX de *A. thaliana* (AT4G22260.1). A ferramenta Pseudogenomes (<http://tools.1001genomes.org/pseudogenomes>) foi utilizada para o download das 1135 sequências genômicas no formato “.fasta”, restritas a região especificada pelo TAIR ID. Depois foi realizado o download de mais 80 sequências no formato “.fasta” através da ferramenta POLYMORPH (<http://polymorph.weigelworld.org>), também com restrição a região especificada pelo TAIR ID. As 1215 sequências do gene da PTOX foram então alinhadas através da ferramenta ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/kalign>) e anotadas manualmente para remoção de íntrons e os 1215 cDNAs para o gene PTOX foram deduzidos. Mais 20 cDNAs e sequências proteicas foram obtidas diretamente da ferramenta POLYMORPH (<http://polymorph-clark20.weigelworld.org>) restringindo ao TAIR ID. Regiões com sequenciamento de má qualidade identificadas foram substituídas pela sequência da respectiva região do cDNA da referência, Columbia-0. Os acessos/ecotipos repetidos foram removidos resultando em 1190 cDNAs.

3.2 Identificação dos Polimorfismos de Um Único Nucleotídeo (SNPs)

As sequências foram alinhadas pelo software MEGA7 (Kumar, 2015) e os polimorfismos foram identificados manualmente. Os cDNAs foram então submetidos a tradução pela ferramenta de tradução do MEGA7 e os SNPs não-sinônimos (acarretam mudança do aminoácido em relação ao aminoácido da sequência do ecotipo referência) foram identificados manualmente.

3.3 Classificação das Condições Geográficas

As coordenadas geográficas dos acessos estão disponibilizadas no site do Projeto dos 1001 Genomas (<http://1001genomes.org/accessions.html>) e foram utilizadas para identificar a localidade a qual cada acesso pertence através do aplicativo Wunderground (<http://api.wunderground.com/auto/wui/geo/GeoLookupXML/index.xml?query=Lat,Log>). O clima e a pluviosidade para a localidade específica foram determinados através do site (<https://pt.climate-data.org>) desenvolvido pelo OpenStreetMap Project, o clima foi estabelecido segundo a classificação de Köppen-Geiger (Kottek, 2006) e a pluviosidade foi classificada em baixa (menor que 300 mm³/ano), regular (entre 300 e 500 mm³/ano), boa (entre 500 e 700 mm³/ano) e elevada (maior que 700 mm³/ano). E o relevo da região foi determinado através do aplicativo Google Earth em quatro definições principais: planície, planalto, entre montanhas e montanha.

3.4 Predição, Modelagem Comparativa e Validação da Estrutura Tridimensional

A predição para a estrutura de Columbia-0 foi realizada por 2 servidores distintos, o I-TASSER (Yang, 2015; Roy, 2010; Zhang, 2008) e o PHYRE2 (Kelley, 2015). A sequência de aminoácidos é depositada nestes servidores e então com base em um ou mais moldes o modelo é construído através de diversas simulações das interações entre os átomos e a melhor estrutura é escolhida com base no menor valor de RMSD (desvio médio quadrático). O PHYRE2 utilizou o modelo 3VVA e o I-TASSER utilizou diversos pedaços de estruturas depositadas em banco de dados. A modelagem comparativa da estrutura tridimensional de Columbia-0 (Col-0) foi realizada pelo programa Modeller 9.16 (Webb e Sali, 2014). O programa utilizou o modelo de estrutura cristalizada 3VVA da AOX de *Trypanosoma brucei* (com 26% de identidade) disponibilizado no Protein Data Bank (PDB). Além dos arquivo “.py”, um “script” para rodar o comando que contém as replicatas a serem geradas pelo programa (250 no presente trabalho) e “.ali”, que contém o alinhamento com a sequência da estrutura modelo. A estrutura de menor função objetiva (cálculo realizado pelo programa para determinar a estrutura mais eficientemente minimizada, ou seja, otimizada geometricamente) foi a escolhida para dar continuidade ao estudo. As estruturas foram validadas através do servidor SAVES e MolProbity (Hoofst, 1996; Chen, 2010). As três estruturas preditas de Columbia-0, no formato “.pdb”, foram alinhadas com o modelo base (3VVA) no PyMOL (Schrödinger, LLC) e apenas uma das estruturas foi escolhida para dar continuidade ao estudo, aquela com o menor valor de RMSD para o alinhamento com o molde e abrangeu as regiões que contém os pontos polimórficos e aquela que obteve os melhores resultados na validação.

3.5 Mutagênese Para Construção das Estruturas Tridimensionais Com os Polimorfismos

A estrutura tridimensional da referência escolhida foi então submetida às modificações dos aminoácidos geradas pelos polimorfismos através da ferramenta Mutagenesis fornecida pelo software PyMOL (Schrödinger, LLC). No mesmo software foram adicionados os íons Fe obtidos da sequência do modelo da AOX de *T. brucei* através no formato “.txt” e adicionados às estruturas no formato “.txt”. As modificações escolhidas para serem deduzidas em estruturas foram as mudanças dos aminoácidos nas posições 78, 81 e 323. Quatro estruturas foram geradas: a com mudança na posição 78 teve a serina (S) substituída por uma fenilalanina (F); na 81 teve a treonina (T) substituída por uma lisina (K); na 323 teve o aspartato (D) substituído por uma asparagina (N); e, a última, teve duas modificações nas posições 78 (S – F) e 81 (T – K), devido a maior quantidade de acessos mutantes nessas posições.

3.6 Predição de Estruturas Secundárias e Função Molecular

A predição de estruturas secundárias foi realizada utilizando-se as sequências de aminoácidos do ecotipo referência, Col-0, e as sequências com as modificações específicas nas posições 78, 81, 323 e 78 e 81 juntas. As sequências foram disponibilizadas para a análise do servidor PSIPRED e as ferramentas utilizadas foram DISOPRED, PSIPRED, MEMSAT-SVM e FFPred 3 (Buchan, 2013; Jones, 1999; Nugent, 2009; Jones, 2007; Jones, 1994). Para a predição de regiões transmembranares outras duas ferramentas foram utilizadas: o TMPred (Hofmann e Stoffel, 1993) e o MBPred (Katerina, 2016).

3.7 Docking Molecular

Os arquivos escolhidos para a realização das análises de docking foram as estruturas tridimensionais da referência e as mutagênicas (S78F, T81K, D323N e S78F+T81K) no formato “.pdb” (receptores). A plastoquinona (ligante) foi obtida no Protein Data Bank (PDB) no formato “.sdf” com o código PL9 no banco de dados. O ligante foi então convertido a sua forma reduzida pela adição de dois prótons através do software Avogrado (Hanwell, 2012) e convertido no formato “.pdb” através do mesmo. Com a obtenção do ligante a interação entre os receptores e este foi analisada pelo servidor DockThor (Magalhães, 2004; Magalhães, 2014) utilizando o sítio flexível com parâmetros de caixa 11/11/11 e energia do “grid” de 0,25 Å.

Foram utilizados como centros moleculares de reação as sequências alifáticas SVL-H-M/L-YE-T/S (Josse, 2003), usando para a análise final o AA histidina da posição 151 como centro de reação. Os resultados foram fornecidos em energia total e energia intermolecular.

3.8 Dados de Expressão Gênica

Foram buscados experimentos com transcriptomas no banco de dados SRA do NCBI, obtidos por pesquisa restringida à *A. thaliana* e RNA-seq (www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/?term=Arabidopsis+thaliana+RNA-seq). Foram encontrados sete experimentos. Um deles envolve o sequenciamento do RNAm de quatro acessos de *A. thaliana* Chi, Deh, Mun e San pertencentes às elevadas altitudes do oeste do Himalaia em condições controladas e naturais do campo (Tyagi, 2016). O segundo envolve oito acessos – Bay, C24, Col-0, Cvi-0, Ita, Kas, Lp26 e Ws – submetidos a condições de escuro e de escuro e inundação (Veen, 2016). O terceiro estudou cinco ecotipos em condições de estresse por seca moderada (Clauw, 2015). Outros dois mais simples sequenciaram o RNAm da folha de Col-0 e Ler e da flor de Col-0 e Kil (Li, 2015; Lutz, 2015). O sexto avaliou os acessos Col-0 e Sij submetidos a duas temperaturas diferentes, 23°C e 27°C (Sanchez-Bermejo, 2016). O último realizou o sequenciamento dos transcriptomas da muda e da raiz de 16 ecotipos (Gan, 2011).

Os arquivos foram baixados em formato “.fastq” e salvos. Depois um arquivo com a sequência de nucleotídeos do gene da PTOX no formato “.fasta” ou “.fa” foi gerado e utilizado para fazer a indexação das sequências através do Bowtie2. Após isso, o programa TopHat (Trapnell C.) foi submetido para a identificação das “reads”. Em seguida o comando “cufflinks” foi executado para cada amostra. Então o comando “cuffmerge”, utilizando os arquivos “.gtf” e “assemblies.txt”, também foi executado para cada amostra. Depois o comando “cuffdiff” foi submetido para o experimento e forneceu o resultado da expressão do gene em fragmentos por kilobase de éxon por milhão (FPKM) para cada condição.

3.9 Análises Estatísticas

Os dados de expressão gênica foram analisados estatisticamente através da ferramenta Prism (Graphpad Prism). Os experimentos que comparavam mais de dois ecotipos e mais de duas condições foram submetidos à análise de variância por ANOVA pelos parâmetros do teste de Tukey. E quando os experimentos compararam apenas dois ecotipos ou apenas duas condições foram submetidos ao Teste t de Student.

4 RESULTADOS

4.1 SNPs Não-Sinônimos no Gene PTOX e a Correlação Com as Condições Geográficas

Nas análises de bioinformática foram identificados 59 SNPs na região codante da PTOX em 1190 genomas de diferentes ecotipos de *A. thaliana* (Tabela 1/Apêndice 1). Destes, 34 foram não-sinônimos [ocasionaram modificação no aminoácido do ecotipo referência (Col-0)] e os 25 restantes foram sinônimos (não causaram mudança no aminoácido de referência). Na Tabela 1 também estão computadas as modificações com padrão polimórfico com incidência menor que 1%. Apesar de aparentarem ser pouco significativas, foram consideradas devido haver ecotipos com um sequenciamento de má qualidade nessas regiões, que poderiam subestimar os resultados. As modificações mais frequentes foram nos nucleotídeos C e G, 33,9% e 32,2%, nessa ordem. As transições que mais ocorreram foram de C – T e G – A com uma frequência percentual de 20,3% e 16,9%, respectivamente.

Tabela 1: Distribuição dos polimorfismos encontrados no gene PTOX em 1190 ecotipos/ acessos de *A. thaliana*. Os SNPs são indicados nas linhas um, três, cinco, sete e nove seguindo o mesmo padrão de normas de den Dunnen e Antonarakis, 2001 para a indicação de modificações de aminoácidos. Por exemplo, C18T significa que o nucleotídeo de citosina (C) presente na posição 18 do gene PTOX no ecotipo da referência (Col-0) foi substituído por um nucleotídeo de timina (T) no ecotipo mutante. A quantidade de ecotipos/ acessos mutantes são indicados na linha dois, quatro, seis, oito e dez. C – citosina, G – guanina, A – adenina e T – timina. Os SNPs não-sinônimos, ou seja, aqueles que ocasionaram modificação no aminoácido referente são indicados com um asterisco (*).

SNPs	C18T	*C38T	*C77A	C78G	*C86G	*C131T	G201T	*220C	C225T	*C233T	*C242A	G258A
Acessos	3	492	1	499	1	41	391	1	377	373	379	394
SNPs	*G269A	C306T	G324A	*G340T	*A341T	*C342T	T348G	*A355G	*A362G	T366A	*G369C	T372C
Acessos	1	1	533	1	1	1	229	68	5	251	1	245
SNPs	C378T	*C383T	A384G	*T385C	*C389G	A390T	A391T	G392C	*G393T	*C396G	*T429G	*T432A
Acessos	255	2	262	2	13	14	14	14	17	15	17	28
SNPs	*G433A	G537A	T553C	C606T	G669A	G678C	*A706C	*G781T	C825T	A 849G	*G868A	G870C
Acessos	197	6	10	73	2	11	2	1	2	762	2	601
SNPs	*A874G	*G880A	*A931T	*G967A	*A968T	*G973A	A984G	*G991T	*C997T	C1035G	*A1037G	
Acessos	1	4	28	606	2	36	8	59	1	3	19	

Nas análises das sequências proteicas foram identificadas 32 modificações de aminoácidos (AA) em relação à sequência da proteína PTOX do ecotipo da referência, Col-0, que se enquadram ao resultado esperado pelos polimorfismos encontrados (Tabela 2/Apêndice 2).

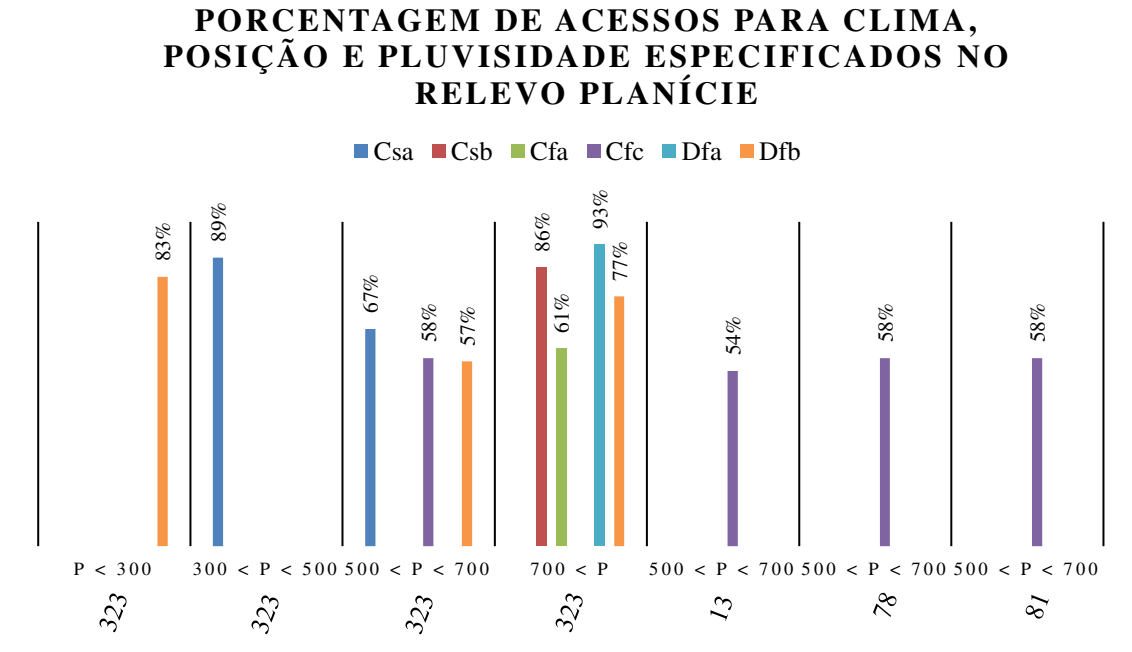
Dentre as 11 que mudaram para aminoácidos de classes diferentes, quatro revelaram um elevado índice de ocorrência: a modificação que gerou a troca de uma treonina por uma metionina na 13ª posição da sequência de AA; a de uma serina por uma fenilalanina na 78ª posição; a da treonina pela lisina na 81ª posição; e, a do aspartato pela asparagina na 323ª posição. Os percentuais dessas mudanças foram de 40,7% - 31% - 31,4% e 50% do total dos 1190 acessos, respectivamente. Na 13ª posição o AA mudou de um polar não-carregado para um apolar alifático, na 78ª de um AA polar não-carregado para um apolar aromático, na 81ª um AA polar carregado positivamente substituiu um polar não-carregado, enquanto na 323ª posição a modificação foi de um AA polar carregado negativamente para um não-carregado. Para mudanças das posições 78 e 81, foram contabilizados um total de 378 acessos e dentre estes, 364 obtêm as duas modificações, um total de 92,6% dos acessos. Apenas 5 deles foram exclusivos da mudança na posição S78F, enquanto 9 foram exclusivos na posição T81K. As quatro mudanças de maior incidência foram escolhidas para serem correlacionadas às condições geográficas (Apêndice 3).

A percentagem de acessos que mudaram o AA em relação ao AA da referência pertencentes ao relevo em planície de forma considerável foram: 59% dos pertencentes ao clima Csa (temperado úmido com verão seco e quente) na posição 323 e 61% do clima Cfa (temperado e úmido com verão quente) também na posição 323 (D – N). Em destaque com relevo em planalto, a percentagem foi: 81% dos pertencentes ao clima Csb (temperado úmido com verão seco e temperado) na posição 323 e 73%, 58% e 60% do clima Cfb (temperado e úmido com verão temperado) nas posições 13 (T – M), 78 (S – F) e 81 (T – K), nessa ordem (Kottek, 2006). Enquanto no relevo entre montanhas os mais consideráveis foram: 79% dos pertencentes ao clima Csa na posição 323 e 63%, 65% e 65% do clima Cfa nas posições 13, 78 e 81, nessa ordem. E no relevo montanha os mais relevantes foram: 79% dos pertencentes ao clima Csa, 79% do clima Csb e 79% do clima Cfb, todos para a posição 323.

Mais especificamente, dos acessos pertencentes a classificação de relevo (R) em planície, clima (C) Csa e pluviosidade (P em mm³/ano) entre 300 e 500, 89% tiveram a modificação no aminoácido da posição D323N. Aqueles com R – planície, C – Csa e 500 < P < 700, 67% mudaram na posição D323N. Os acessos do R – planície, C – Csb e 700 < P, 86% trocaram o AA na posição D323N. Para R – planície, C – Cfa e 700 < P, 61% modificaram o AA na posição D323N. Também na posição D323N aqueles pertencentes ao R – planície, C – Dfa e 700 < P tiveram 93% de incidência da modificação. Já para as condições de R – planície e C – Dfb os acessos que tiveram mudanças foram 83% nas condições de P < 300, 57% para 500 < P < 700 e 77% para 700 < P, todas na 323ª posição. Do relevo planície, clima Cfc e

pluviosidade entre 500 e 700 mm³/ano, 54% variaram o AA na posição T13M. Enquanto na 78^a, 81^a e 323^a posições, sob as mesmas condições, a variação foi de 58%, para todas (Gráfico 2).

Gráfico 2: Porcentagem de acessos que tiveram modificação do aminoácido na posição, no clima, na pluviosidade e no relevo especificados.



Para os acessos pertencentes a classificação R – planalto, C – Csb e 300 < P < 500, 87% tiveram a modificação do aminoácido na posição D323N. Em condições caracterizadas por relevo em planalto, clima Cfb e pluviosidade acima de 700 mm³/ano, 77%, 63% e 65% variaram os AA nas respectivas posições: T13M, S78F e T81K (Gráfico 3). Os acessos do relevo entre montanhas e clima Csa que tiveram mudanças foram 88% nas condições de 300 < P < 500, 75% para 500 < P < 700 e 71% para 700 < P, todas na 323^a posição. Nas 13^a, 78^a e 81^a posições, sob as condições R – entre montanhas, C – Cfa e 700 < P a variação foi de 69%, 71% e 71%, respectivamente. E para R – entre montanhas, C – Cfb e 500 < P < 700, 62% modificaram o AA na posição 13 (Gráfico 4).

Gráfico 3: Porcentagem de acessos que tiveram modificação do aminoácido na posição, no clima, na pluviosidade e no relevo especificados.

PORCENTAGEM DE ACESSOS PARA CLIMA, POSIÇÃO E PLUVIOSIDADE ESPECIFICADOS NO RELEVO PLANALTO

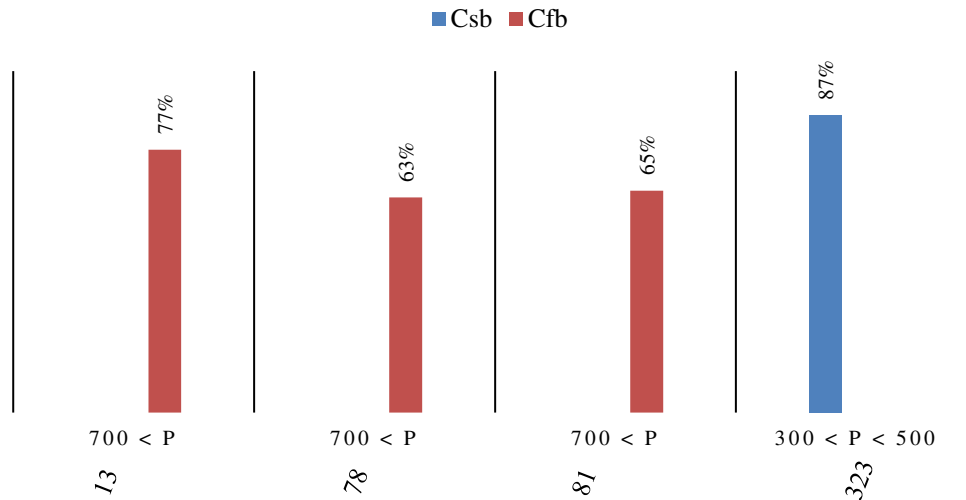
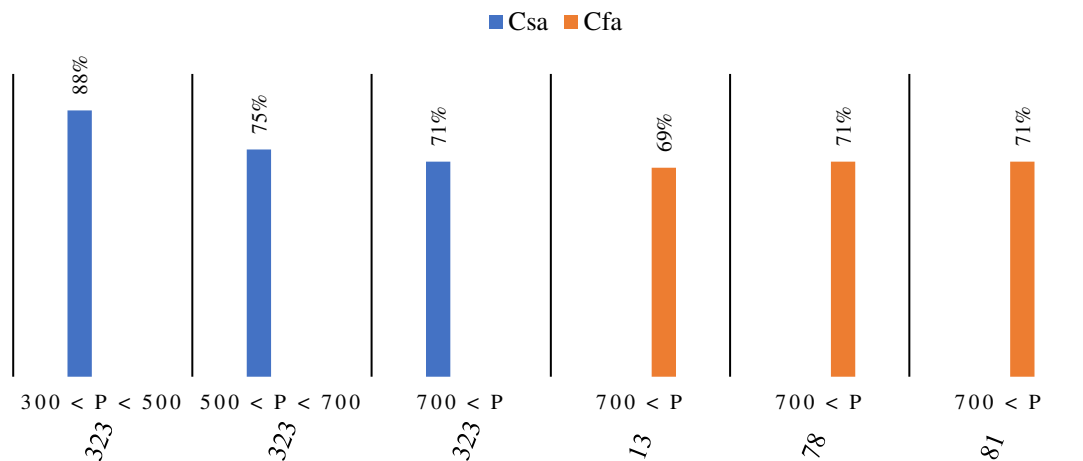


Gráfico 4: Porcentagem de acessos que tiveram modificação do aminoácido na posição, no clima, na pluviosidade e no relevo especificados.

PORCENTAGEM DE ACESSOS PARA CLIMA, POSIÇÃO E PLUVIOSIDADE ESPECIFICADOS NO RELEVO ENTRE MONTANHAS

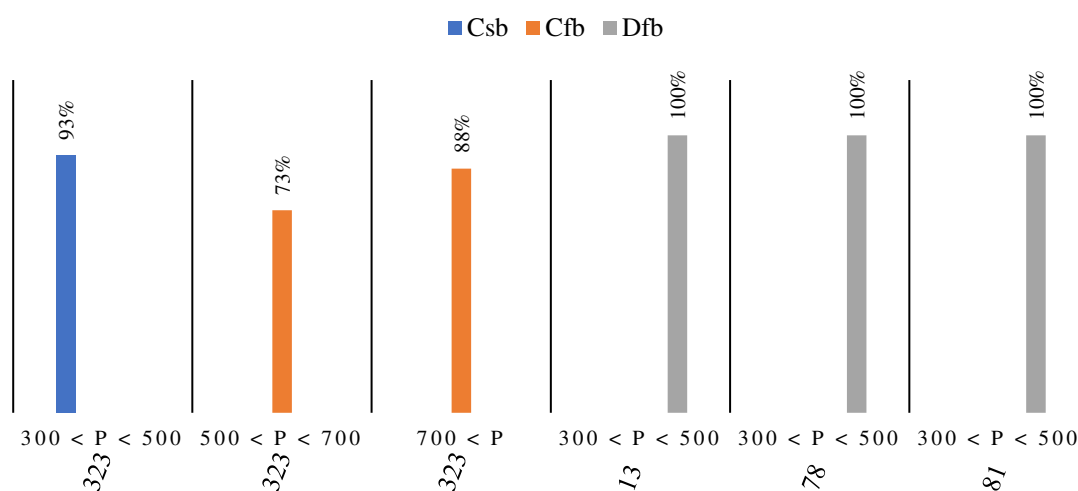


Por último, nas condições geográficas montanhosas, três condições climáticas se destacaram. O clima Csb com 300 < P < 500 teve 93% de modificação para 323ª posição. No clima Cfb os acessos que variaram foram 73% nas condições 500 < P < 700 e 88% para 700 < P, ambas na posição D323N. Nas posições T13M, S78F e T81K, sob as condições de relevo

montanhoso, clima Dfb e pluviosidade entre 300 e 500 mm³/ano a taxa de alteração foi de 100% para todas (Gráfico 5).

Gráfico 5: Porcentagem de acessos que tiveram modificação do aminoácido na posição, no clima, na pluviosidade e no relevo especificados.

PORCENTAGEM DE ACESSOS PARA CLIMA, POSIÇÃO E PLUVISIDADE ESPECIFICADOS NO RELEVO MONTANHA



4.2 Estruturas Tridimensionais e a Interação com o Plastoquinol

A predição da estrutura tridimensional da referência Columbia-0 pelo PHYRE2 abrangeu os aminoácidos do 62 ao 332 (Figura 6), com o valor do desvio médio quadrático (RMSD) de zero em relação à cobertura de 67% do molde 3VVA (Figura 7). Enquanto a predição pelo I-TASSER abrangeu do primeiro ao último aminoácido (Figura 8A) e também obteve um RMSD de zero em relação aos fragmentos utilizados como moldes. A modelagem da estrutura tridimensional pelo Modeller abrangeu dos aminoácidos 113 ao 269, e foi escolhida a estrutura com o menor valor de função objetiva, mais otimizada geometricamente (Figura 8B). A validação das estruturas pelo servidor SAVES forneceu o Z-escore (escore que quanto mais próximo de zero significa ser mais favorável estão os rotâmeros das ligações entre os átomos na estrutura) para as estruturas do PHYRE2, I-TASSER e Modeller de -4, -6 e 1, respectivamente. O servidor MolProbity forneceu os gráficos de Ramachandran para as estruturas do PHYRE2, I-TASSER e Modeller resultando em 93,4%, 66,8% e 94,9% dos resíduos em regiões favoráveis (Apêndice 4).

O alinhamento da estrutura do PHYRE2 com a do I-TASSER forneceu um RMSD de 1,893 Ångström; a do PHYRE2 com a do Modeller deu um RMSD de 1,103 Å; e a do I-TASSER com a do Modeller mostrou um RMSD de 1,663 Å. O alinhamento individual das estruturas do PHYRE2, do I-TASSER e do Modeller com a estrutura molde utilizada, 3VVA, forneceram os valores de RMSD de 0,608; 27,5 e 0,559, respectivamente. O modelo do PHYRE2 foi escolhido para a mutagênese por abranger as regiões polimórficas e ter elevada conservação estrutural com o modelo. As modificações foram realizadas de serina para fenilalanina na 78^a (Figura 8A), de treonina por lisina na 81^a (Figura 8B), de aspartato para asparagina na 323^a (Figura 8C) e um modelo com as modificações nas posições 78 e 81, devido à alta percentagem de acessos com as duas mudanças (Figura 8D). As estruturas obtiveram um valor de RMSD de 0, 0, 0, 0 Ångström quando alinhadas à referência.

Figura 6: Estrutura tridimensional predita pelo servidor PHYRE2 demonstrada por vácuo eletrostático e estrutura espacial no visualizador PyMOL. Destaque em verde, região de interação com o substrato responsável pela especificidade da proteína SVLHMLYET. Destaque em amarelo região de desordem da estrutura, AA 260 a 290. Esferas em laranja representam os íons Fe no centro de reação. E em azul estão os aminoácidos das posições 78 – S, 81 – T e 323 – D.

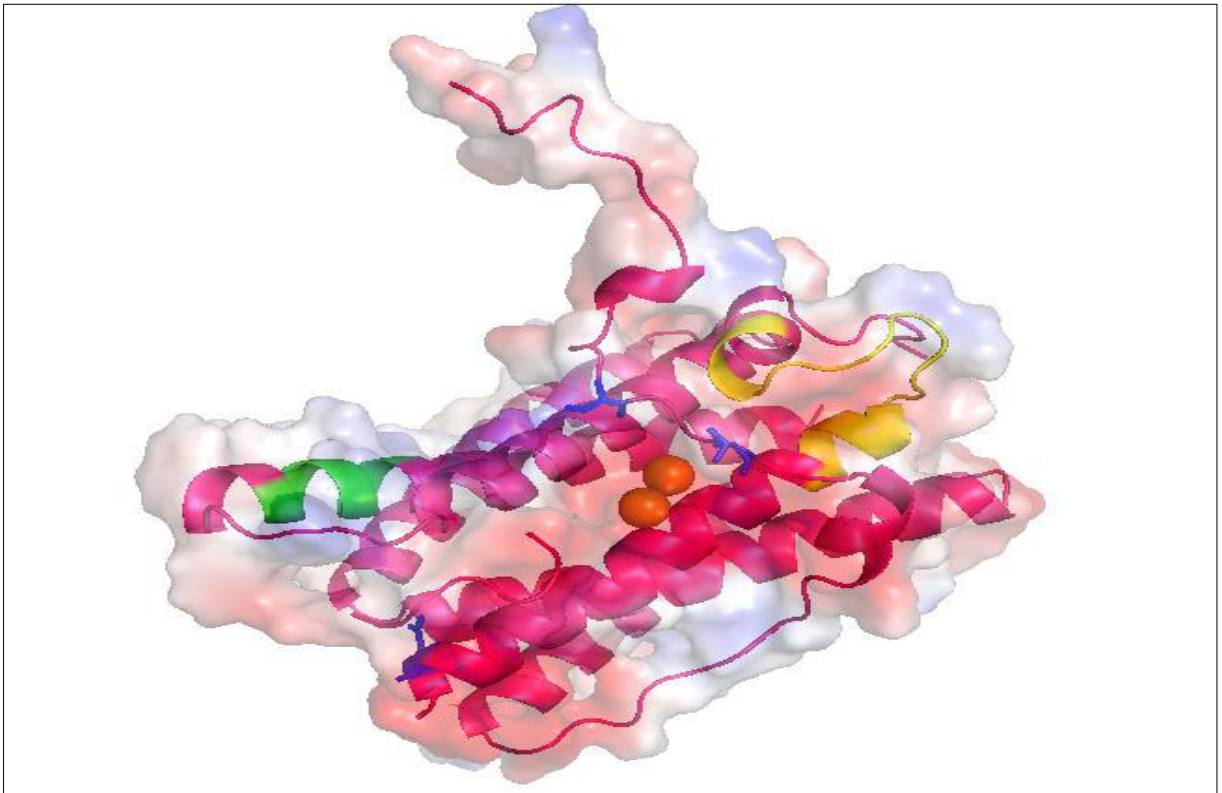


Figura 7: Parâmetros utilizados na predição pelo servidor PHYRE2. A estrutura cristalizada utilizada como molde foi a 3VVA proveniente do PDB, com 100% de confiança e uma cobertura de 67%.

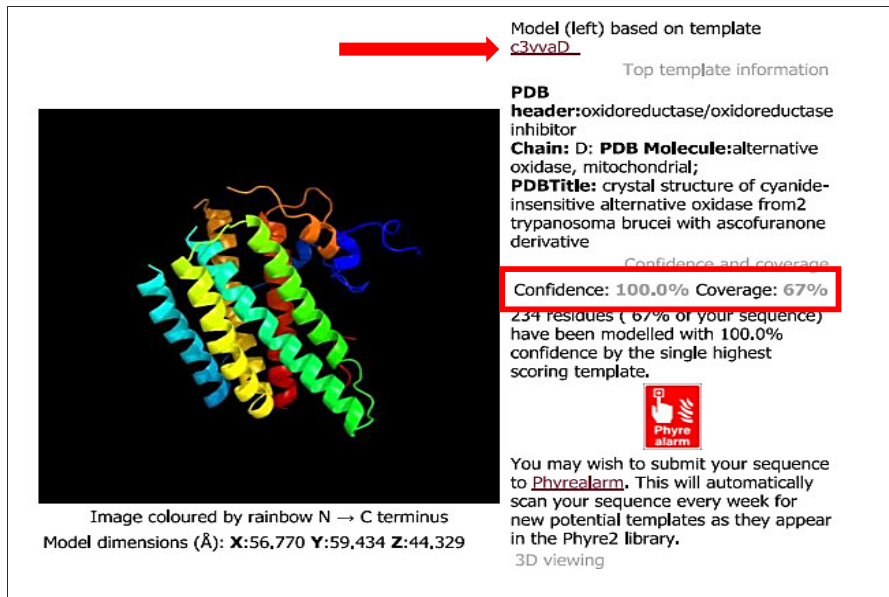


Figura 8: A - Estrutura tridimensional predita pelo servidor I-TASSER demonstrada por vácuo eletrostático e estrutura espacial no visualizador PyMOL. B - Estrutura tridimensional modelada pelo programa Modeller demonstrada por vácuo eletrostático e estrutura espacial no visualizador PyMOL. Em ambas estruturas: destaque em verde, região de interação com o substrato responsável pela especificidade da proteína SVLHMLYET; e destaque em amarelo região de desordem da estrutura, AA 260 a 290. Apenas na estrutura modelada as esferas em laranja representando os íons Fe no centro de reação. E em azul estão os aminoácidos das posições 78 – S, 81 – T e 323 – D.

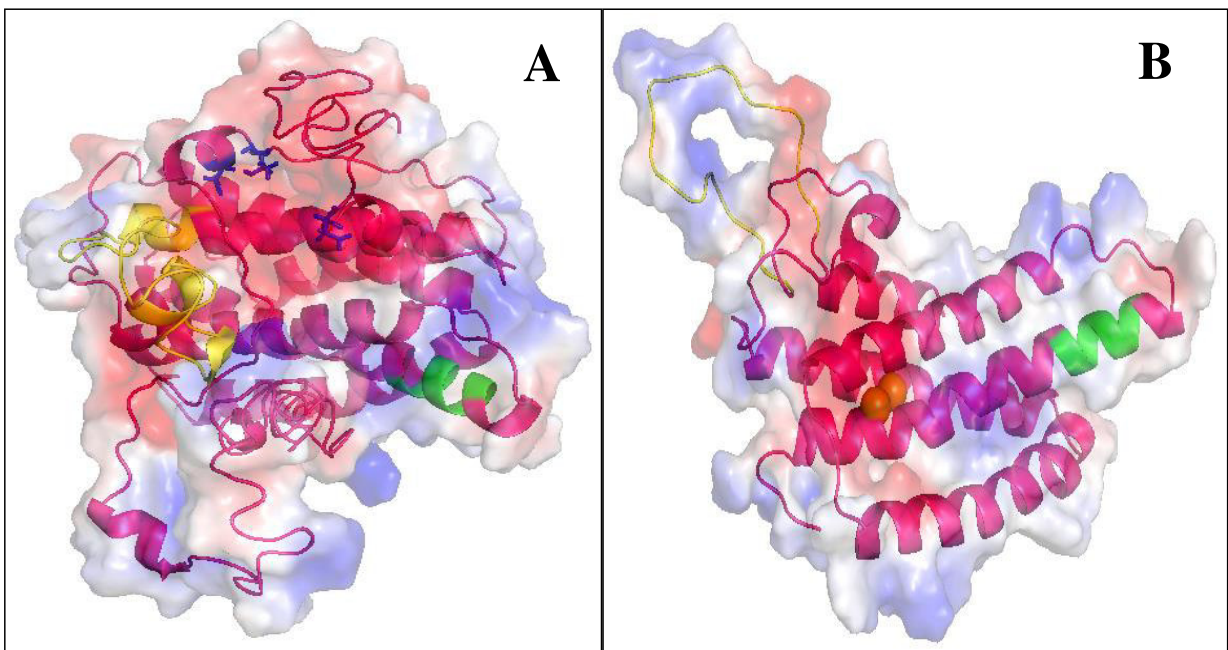
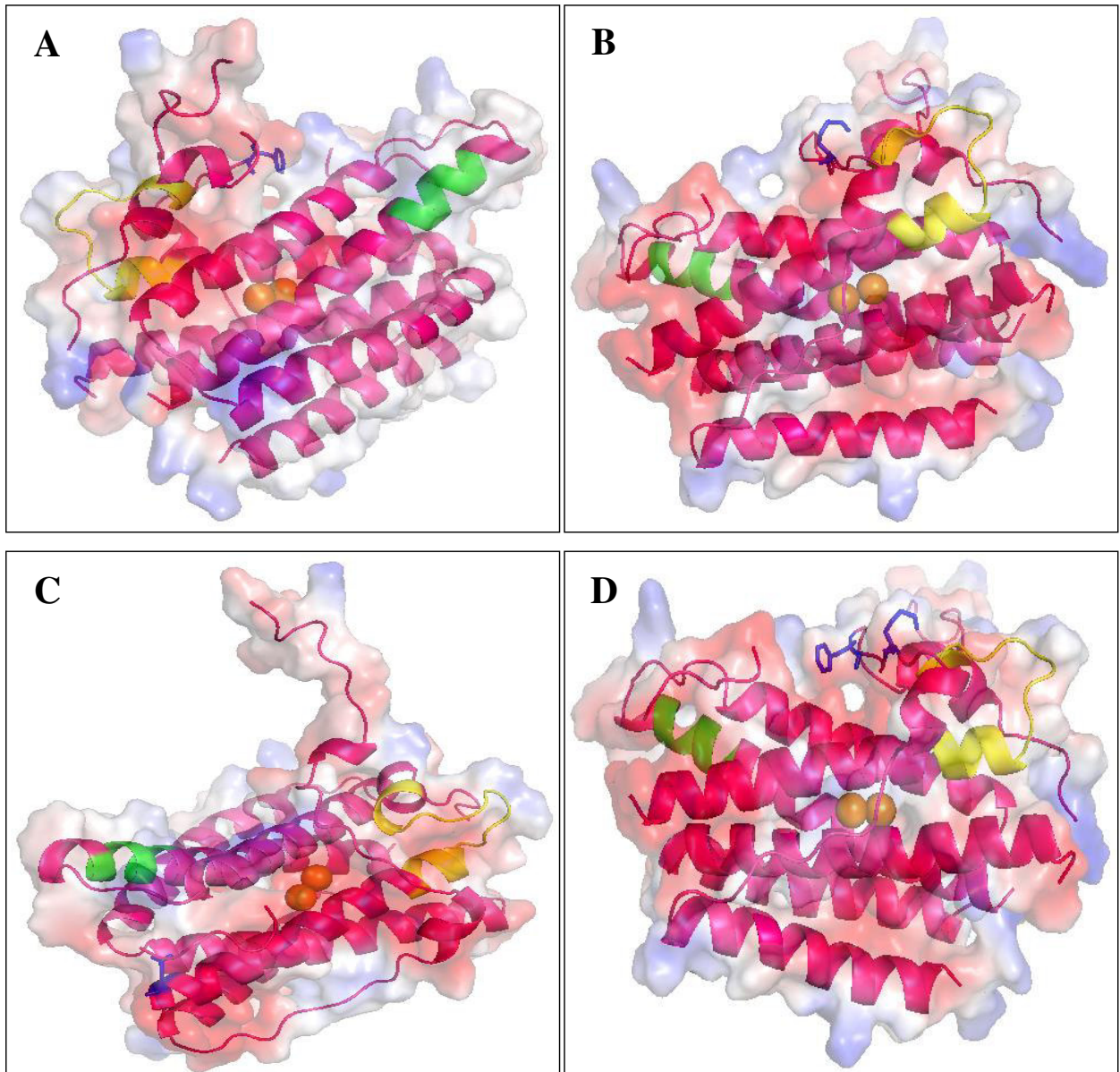
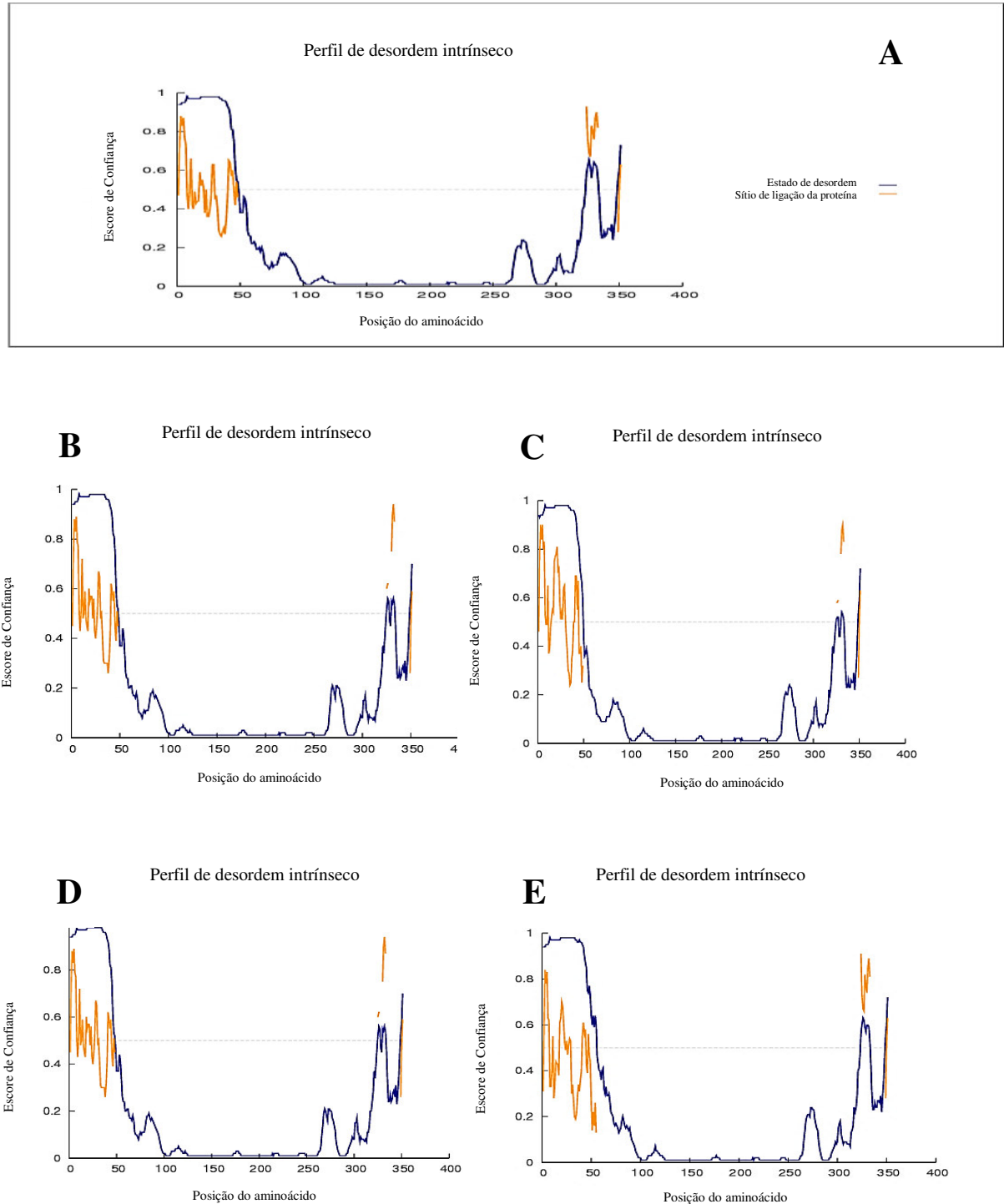


Figura 9: Estruturas tridimensionais construídas a partir de mutagênese pelo software PyMOL. A – estrutura com a mutagênese dirigida na 78ª posição; B – estrutura com a mutagênese dirigida na 81ª posição; C – estrutura com a mutagênese dirigida na 323ª posição e D – estrutura com a mutagênese dirigida nas 78ª e 81ª posições. Para todas as estruturas: destaque em verde, região de interação com o substrato responsável pela especificidade da proteína SVLHMLYET; destaque em amarelo região de desordem da estrutura, AA 260 a 290; e, esferas em laranja representando os íons Fe no centro de reação. Em destaque azul os aminoácidos que mudaram, 78F, 81K, 323N e 78F+81K.



A predição de estruturas secundárias pelo PSIPRED corroborou a localização de alfa-hélices e regiões desordenadas identificadas na visualização das estruturas tridimensionais. O programa DISOPRED previu um estado de desordem entre os aminoácidos 260 e 290 para a referência (Figura 10A) e o mesmo para as estruturas com mutagêneses nas posições 78, 81, 323 e 78 e 81 (Figura 10 B, 10C, 10D e 10E, respectivamente).

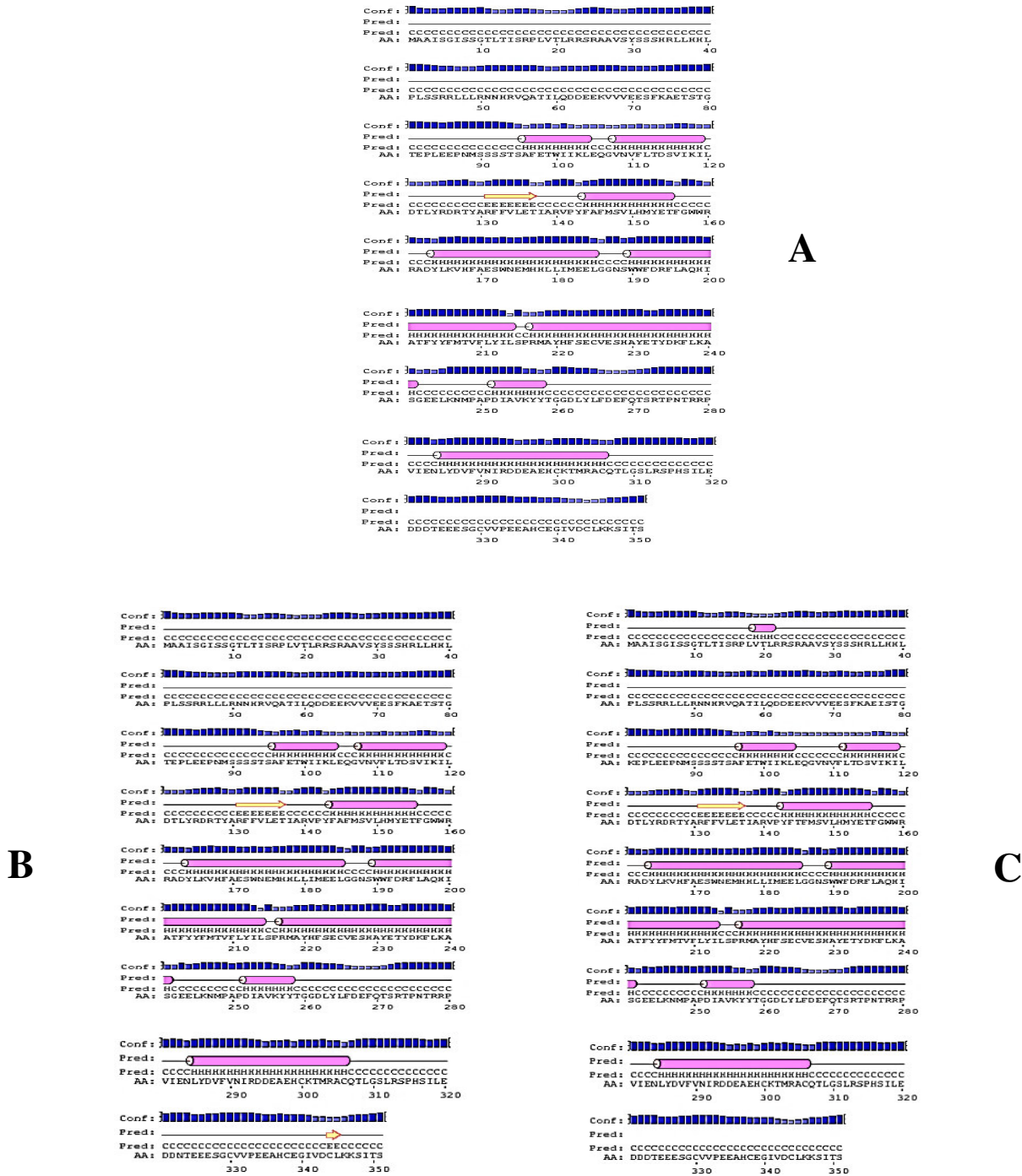
Figura 10: Perfil de desordem da proteína PTOX fornecido pela ferramenta DISOPRED do servidor PSIPRED. A análise foi realizada segundo a sequência de aminoácidos fornecida. A – perfil de desordem para proteína referência, B – perfil de desordem para a estrutura com a mutagênese na posição 78, C – perfil de desordem para estrutura com a mutagênese na posição 81, D – perfil de desordem para a estrutura com a mutagênese na posição 323 e E – perfil de desordem para a estrutura com mutagênese nas posições 78 e 81.

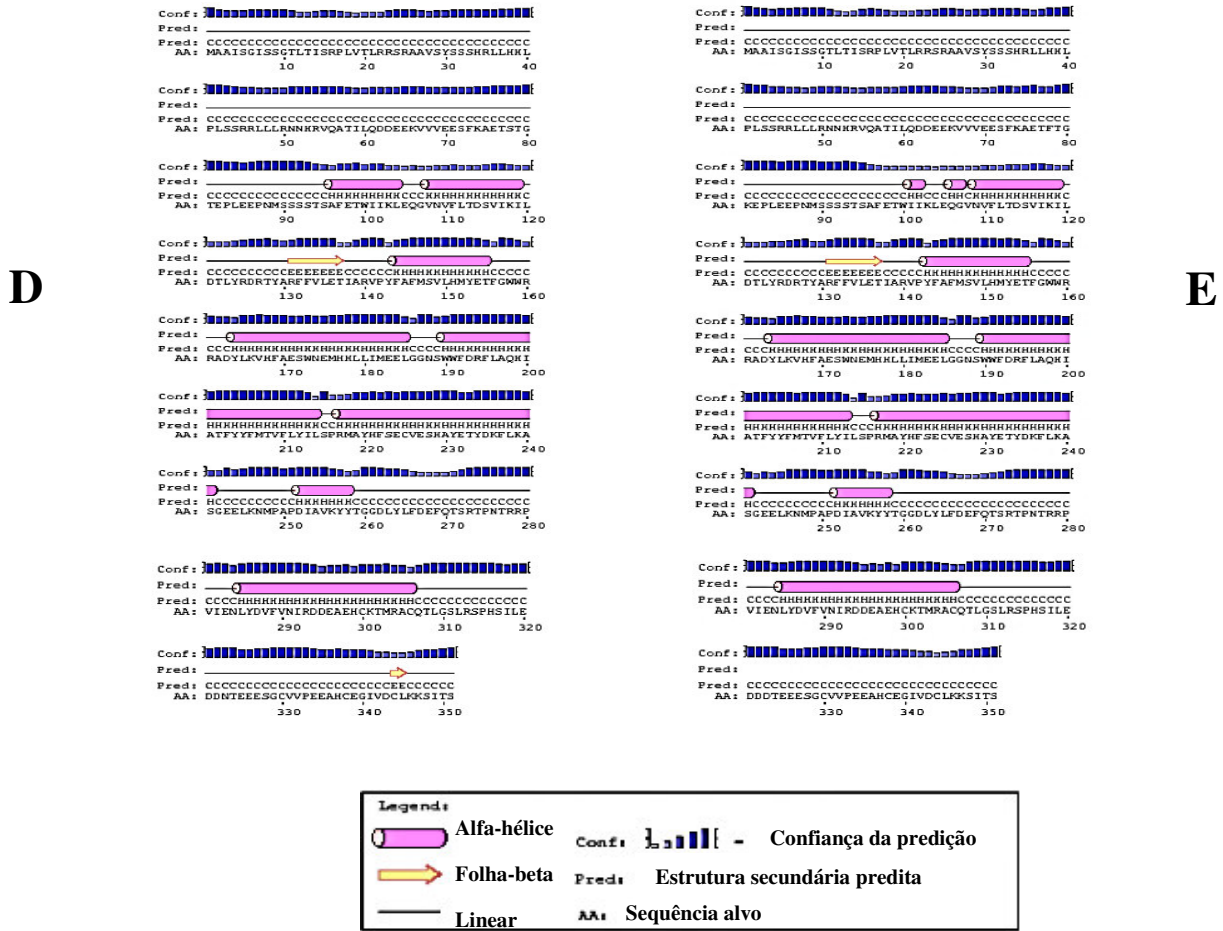


A ferramenta PSIPRED fez a predição das estruturas secundárias para as sequências de aminoácidos da proteína e sugeriu que ocorre a formação de 8 alfa-hélices e regiões de

desordem nas regiões C e N terminais e entre os aminoácidos 110 – 130 e 260 – 290 para todas as sequências fornecidas (Figura 11).

Figura 11: Predição de estruturas secundárias fornecidas pela ferramenta PSIPRED do servidor PSIPRED. A – perfil de estrutura secundária para a sequência de AA da proteína referência, B – perfil de estrutura secundária para a sequência de AA da proteína com mutagênese na posição 78, C – perfil de estrutura secundária para a sequência de AA da proteína com mutagênese na posição 81, D – perfil de estrutura secundária para a sequência de AA da proteína com mutagênese na posição 323 e E – perfil de estrutura secundária para a sequência de AA da proteína com mutagênese nas posições 78 e 81.

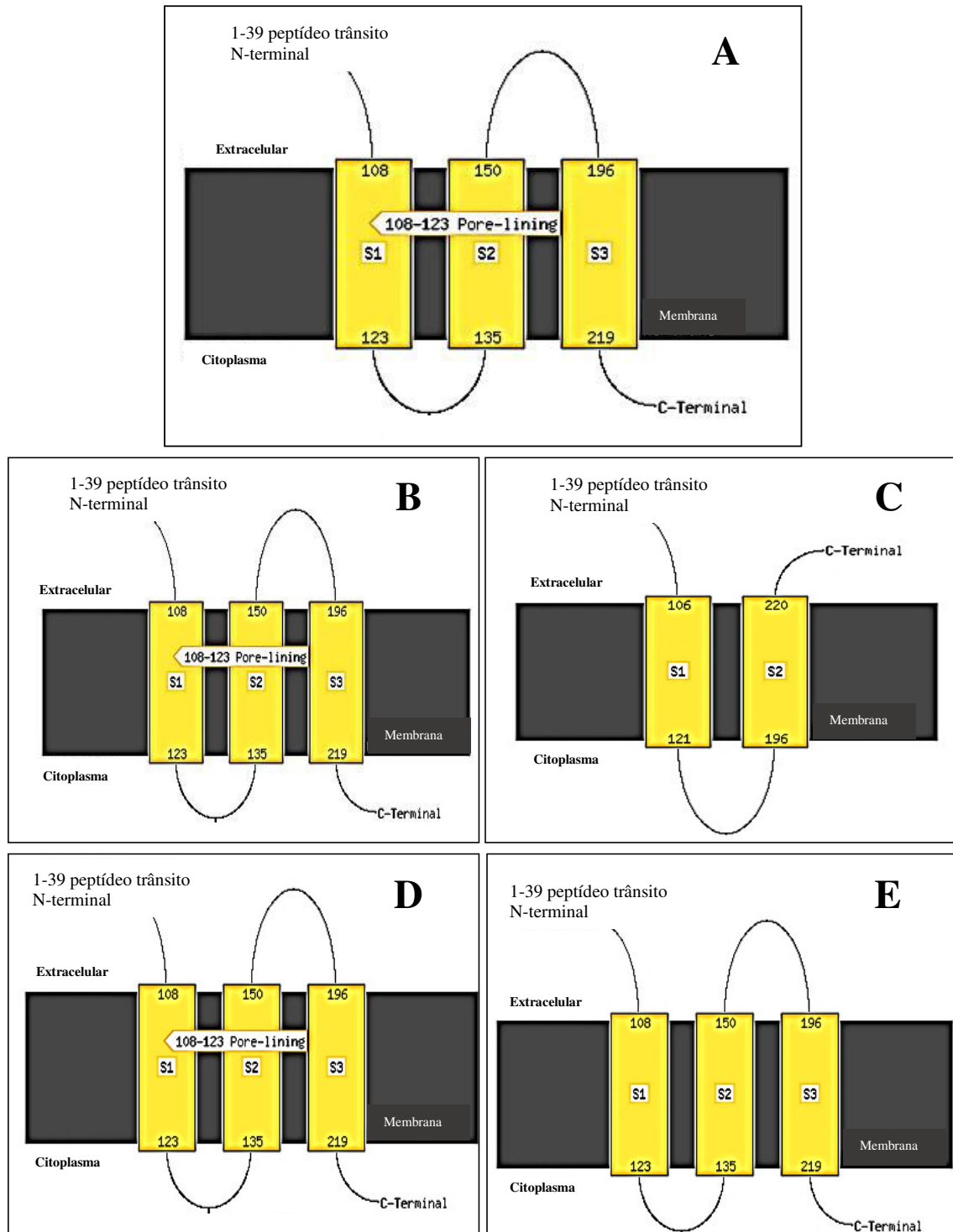




A ferramenta MEMSAT-SVM realizou a predição de possíveis regiões transmembranares da sequência proteica. Foi proposto para a referência que três α -hélices seriam transmembranares englobando os na região da sequência entre o aminoácido 100 e o 200, aproximadamente (Figura 12A). O mesmo foi proposto para as estruturas da mutagênese da 78^a, 323^a posições e das 78^a e 81^a juntas (Figuras 12B, 12D e 12E, respectivamente). Enquanto para a estrutura modificada apenas na posição 81 foi proposta que as regiões transmembranares abrangem os aminoácidos de 100 a 200, aproximadamente, porém, apenas duas α -hélices cruzariam a membrana (Figura 12C). As ferramentas TMPred e MBPred propuseram 3 alfa-hélices da região dos AA 130 – 215 e 115 – 198, respectivamente, para todas as variantes estruturais.

Figura 12: Predição de regiões transmembranares realizadas pela ferramenta MEMSAT-SVM do servidor PSIPRED. A – perfil de regiões transmembranares para a sequência de AA da referência, proposto com três α -hélices cruzando a membrana; B – perfil de regiões transmembranares para a sequência de AA modificada na posição 78, proposto com três α -hélices cruzando a membrana; C – perfil de regiões transmembranares para a sequência de AA modificada na posição 81, proposto com duas α -hélices cruzando a membrana; D – perfil de

regiões transmembranares para a sequência de AA modificada na posição 323, proposto com três α -hélices cruzando a membrana; e E – perfil de regiões transmembranares para a sequência de AA modificada nas posições 78 e 81, proposto com três α -hélices cruzando a membrana.



A ferramenta FFPred forneceu os prováveis processos biológicos em que a proteína pode estar envolvida, a predição da sua função molecular e o provável componente celular do

qual ela pode fazer parte. Na predição de processos biológicos aos quais a proteína está envolvida tiveram maiores valores os: de transporte, de regulação e de biossíntese (Tabela 3).

Tabela 3: Predição dos processos metabólicos nos quais a proteína possa atuar. A ferramenta FFpred do servidor PSIPRED utilizou as sequências de AA da referência e dos modelos que sofreram mutagênese nas posições 78, 81, 323 e 78 e 81 juntas. A comparação foi feita com dados disponibilizados no servidor, nos termos da ontologia gênica (GO Terms). O ideal é que o valor seja próximo de 1,0, que indica 100% de probabilidade. A confiabilidade máxima do resultado é determinada pelo nível elevado.

PREDIÇÃO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS – SEQUÊNCIA REFERÊNCIA			
GO Terms	Nome do Processo	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0006810	Transporte	0.858	Elevada
GO:0019222	Regulação de processos metabólicos	0.785	Elevada
GO:0034645	Processos biossintéticos de macromoléculas celulares	0.651	Elevada
PREDIÇÃO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 78			
GO Terms	Nome do Processo	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0006810	Transporte	0.853	Elevada
GO:0019222	Regulação de processos metabólicos	0.773	Elevada
GO:0034645	Processos biossintéticos de macromoléculas celulares	0.637	Elevada
PREDIÇÃO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 81			
GO Terms	Nome do Processo	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0006810	Transporte	0.828	Elevada
GO:0019222	Regulação de processos metabólicos	0.765	Elevada
GO:0034645	Processos biossintéticos de macromoléculas celulares	0.566	Elevada
PREDIÇÃO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 323			
GO Terms	Nome do Processo	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0006810	Transporte	0.853	Elevada
GO:0019222	Regulação de processos metabólicos	0.773	Elevada
GO:0034645	Processos biossintéticos de macromoléculas celulares	0.637	Elevada
PREDIÇÃO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 78 E 81			
GO Terms	Nome do Processo	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0006810	Transporte	0.857	Elevada
GO:0019222	Regulação de processos metabólicos	0.818	Elevada
GO:0034645	Processos biossintéticos de macromoléculas celulares	0.565	Elevada

A predição da função molecular indicou atividade de transporte de íons transmembrana, atividade de transportador transmembranar e atividade de transportador transmembrana substrato-específico para a proteína (Tabela 4).

Tabela 4: Predição das funções metabólicas nas quais a proteína possa atuar. A ferramenta FFpred do servidor PSIPRED utilizou as sequências de AA da referência e dos modelos que sofreram mutagênese nas posições 78, 81, 323 e 78 e 81 juntas. A comparação foi feita com dados disponibilizados no servidor, nos termos da ontologia gênica (GO Terms). O ideal é que o valor seja próximo de 1,0, que indica 100% de probabilidade. A confiabilidade máxima do resultado é determinada pelo nível elevado.

PREDIÇÃO DE FUNÇÃO MOLECULAR – SEQUÊNCIA REFERÊNCIA			
GO Terms	Nome da Função	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0015075	Atividade de transporte de íons transmembrana	0.895	Elevada
GO:0022857	Atividade de transportador transmembrana	0.881	Elevada
GO:0022891	Atividade de transportador transmembrana substrato-específico	0.874	Elevada
PREDIÇÃO DE FUNÇÃO MOLECULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 78			
GO Terms	Nome da Função	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0015075	Atividade de transporte de íons transmembrana	0.902	Elevada
GO:0022857	Atividade de transportador transmembrana	0.891	Elevada
GO:0022891	Atividade de transportador transmembrana substrato-específico	0.881	Elevada
PREDIÇÃO DE FUNÇÃO MOLECULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 81			
GO Terms	Nome da Função	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0022891	Atividade de transportador transmembrana substrato-específico	0.774	Elevada
GO:0015075	Atividade de transporte de íons transmembrana	0.760	Elevada
GO:0022857	Atividade de transportador transmembrana	0.748	Elevada
PREDIÇÃO DE FUNÇÃO MOLECULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 323			
GO Terms	Nome da Função	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0015075	Atividade de transporte de íons transmembrana	0.902	Elevada
GO:0022857	Atividade de transportador transmembrana	0.891	Elevada
GO:0022891	Atividade de transportador transmembrana substrato-específico	0.881	Elevada

PREDIÇÃO DE FUNÇÃO MOLECULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 78 E 81			
GO Terms	Nome da Função	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0015075	Atividade de transporte de íons transmembrana	0.903	Elevada
GO:0022857	Atividade de transportador transmembrana	0.891	Elevada
GO:0022891	Atividade de transportador transmembrana substrato-específico	0.871	Elevada

A predição para saber se a proteína é um componente de alguma parte celular indicou que a proteína pode ser componente: de membrana, integral à membrana, da membrana mitocondrial e da membrana de uma organela (Tabela 5).

Tabela 5: Predição dos compartimentos celulares dos quais a proteína possa ser componente. A ferramenta FFPred do servidor PSIPRED utilizou as sequências de AA da referência e dos modelos que sofreram mutagênese nas posições 78, 81, 323 e 78 e 81 juntas. A comparação foi feita com dados disponibilizados no servidor, nos termos da ontologia gênica (GO Terms). O ideal é que o valor seja próximo de 1,0, que indica 100% de probabilidade. A confiabilidade máxima do resultado é determinada pelo nível elevado.

PREDIÇÃO DE COMPONENTE CELULAR – SEQUÊNCIA REFERÊNCIA			
GO Terms	Nome do Componente	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0016020	Membrana	0.958	Elevada
GO:0016021	Componente integral da membrana	0.938	Elevada
GO:0031966	Membrana mitocondrial	0.787	Elevada
GO:0031090	Membrana de organela	0.733	Elevada
PREDIÇÃO DE COMPONENTE CELULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 78			
GO Terms	Nome do Componente	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0016020	Membrana	0.959	Elevada
GO:0016021	Componente integral da membrana	0.935	Elevada
GO:0031966	Membrana mitocondrial	0.789	Elevada
GO:0031090	Membrana de organela	0.733	Elevada
PREDIÇÃO DE COMPONENTE CELULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 81			
GO Terms	Nome do Componente	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0016020	Membrana	0.952	Elevada
GO:0016021	Componente integral da membrana	0.936	Elevada
GO:0031966	Membrana mitocondrial	0.861	Elevada
GO:0031090	Membrana de organela	0.808	Elevada

PREDIÇÃO DE COMPONENTE CELULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 323			
GO Terms	Nome do Componente	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0016020	Membrana	0.956	Elevada
GO:0016021	Componente integral da membrana	0.928	Elevada
GO:0031966	Membrana mitocondrial	0.794	Elevada
GO:0031090	Membrana de organela	0.793	Elevada
PREDIÇÃO DE COMPONENTE CELULAR – SEQUÊNCIA MODIFICADA NA POSIÇÃO 78 E 81			
GO Terms	Nome do Componente	Probabilidade	Confiabilidade SVM
GO:0016020	Membrana	0.956	Elevada
GO:0016021	Componente integral da membrana	0.928	Elevada
GO:0031090	Membrana de organela	0.794	Elevada
GO:0031966	Membrana mitocondrial	0.793	Elevada

Os resultados do docking foram maiores para S78F, T81K e S78F+T81K em comparação com a referência Columbia-0. Enquanto os resultados do docking para o D323N foram menores em comparação à referência (Tabela 6).

Tabela 6: Docking molecular. Resultados de docking entre as estruturas construídas (referência e estruturas com mutagênese na posição 78, 81, 323 e 78 e 81) e o ligante plastoquinol (PL9-Hidrogenado) realizado pelo servidor DockThor. Os valores para a energia total e para a energia intermolecular são fornecidos em Kcal/mol para os modelos ideias com RMSD de zero.

ESTRUTURA	ENERGIA TOTAL (Kcal/mol)	ENERGIA INTERMOLECULAR (Kcal/mol)	RMSD
Referência	166,004	-28,105	0
78	172,509	-20,328	0
81	170,411	-22,759	0
323	162,258	-29,098	0
78 e 81	168,337	-23,082	0

4.3 Dados de Expressão Gênica da PTOX

Os dados de expressão para o gene PTOX foram determinados através dos dados obtidos a partir de sete experimentos transcriptômicos depositados no NCBI. Os acessos Deh, Chi, Mun e San pertencentes à elevadas altitudes, 700m, 3400m, 2000m e 2400m, respectivamente, que foram tiveram amostras de tecido de folha coletados diretamente do

campo e armazenadas para posterior análise apresentaram um aumento no nível de expressão da PTOX quando comparadas aos seus mesmos acessos que foram cultivados sob condições controladas e não submetidos as condições ambientais estressantes. O nível de expressão da PTOX foi decrescente nos acessos Deh, Chi, Mun e San, respectivamente (Gráfico 6).

As mudas e raízes dos acessos Bay, C24, Col-0, Cvi-0, Ita, Kas, Lp26 e Ws revelaram um aumento no índice de expressão da PTOX quando submetidos às condições adversas do estresse sob escuro total e do estresse combinado do escuro total com inundação. As mudas de Bay e Ita tiveram uma expressão maior da PTOX sob a condição de escuro e inundação. Enquanto para as mudas de C24, Cvi-0, e Ws a expressão foi maior para o estresse apenas com escuro total (Gráfico 7). Para as raízes dos acessos Bay, Cvi-0, Ita e Lp26 a expressão foi mais induzida quando submetidas a condição combinada do escuro total com a inundação. Já para o ecotipo Kas esse aumento foi no estresse isolado de escuro total (Gráfico 8).

Os acessos An, Col-0, Cvi, Oy e Sha foram avaliados quanto a expressão da proteína PTOX sob condições controladas de cultivo e sob imposição de estresse por seca moderada. Em ambas as condições o gene foi expresso. Porém, os acessos Col-0, Oy e Sha apresentam uma expressão do gene maior que em An e Cvi, em ambas as condições. Apesar disso, as diferenças de expressão entre os ecotipos não foram estatisticamente relevantes. Bem como entre as diferentes condições também não foram relevantes (Gráfico 9).

Gráfico 6: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa entre os acessos de elevadas altitudes Chi (3400m), Deh (700m), Mun (2000m) e San (2400) do oeste do Himalaia e aqueles cultivados em condições controladas em câmara. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinham.

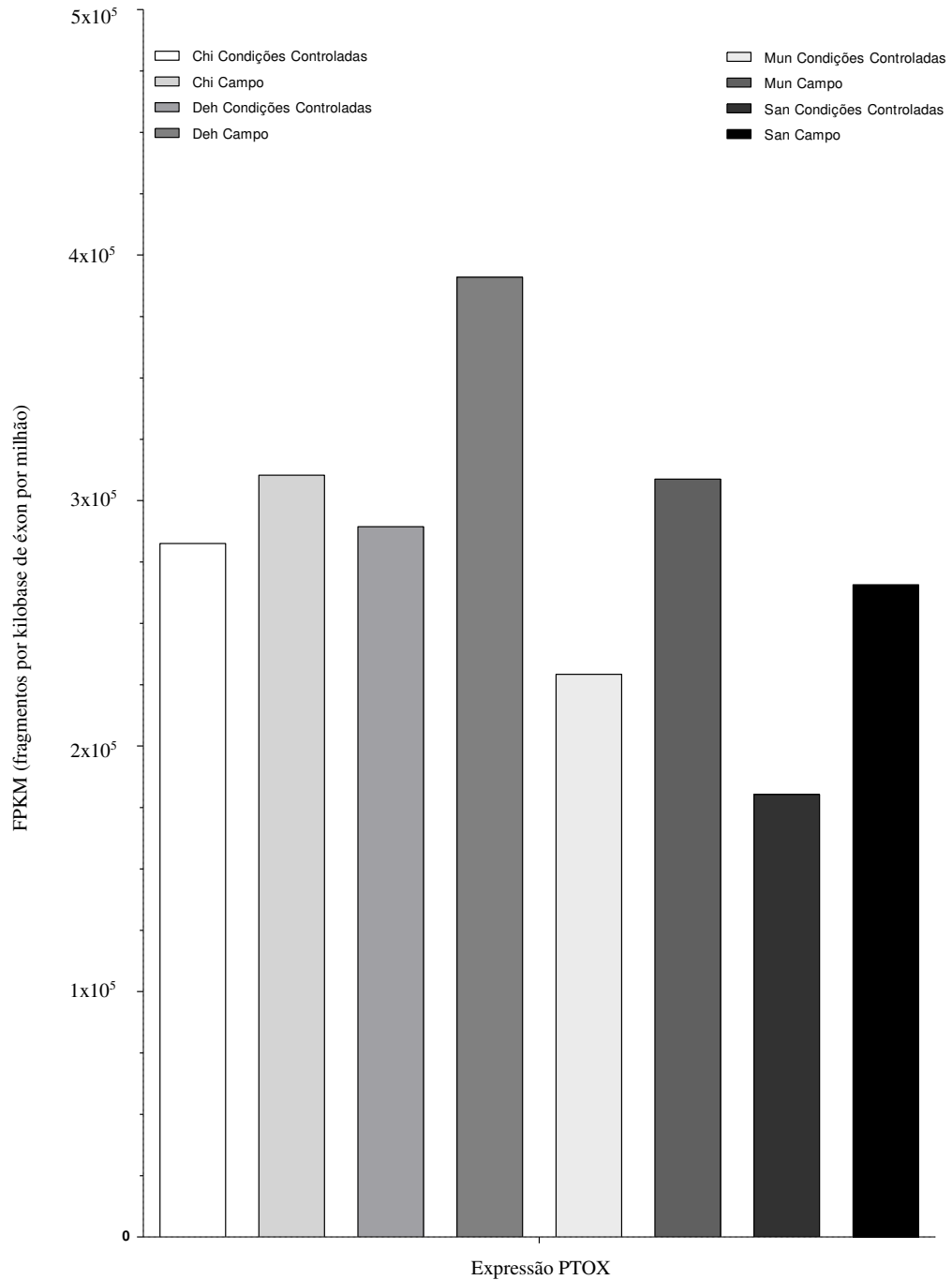


Gráfico 7: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa de mudas dos acessos Bay, C24, Col-0, Cvi-0, Ita, Kas, Lp26 e Ws submetidos aos estresses de escuro apenas, escuro e inundação e condições controladas. O gráfico compara os acessos entre si e as diferentes condições impostas. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinham.

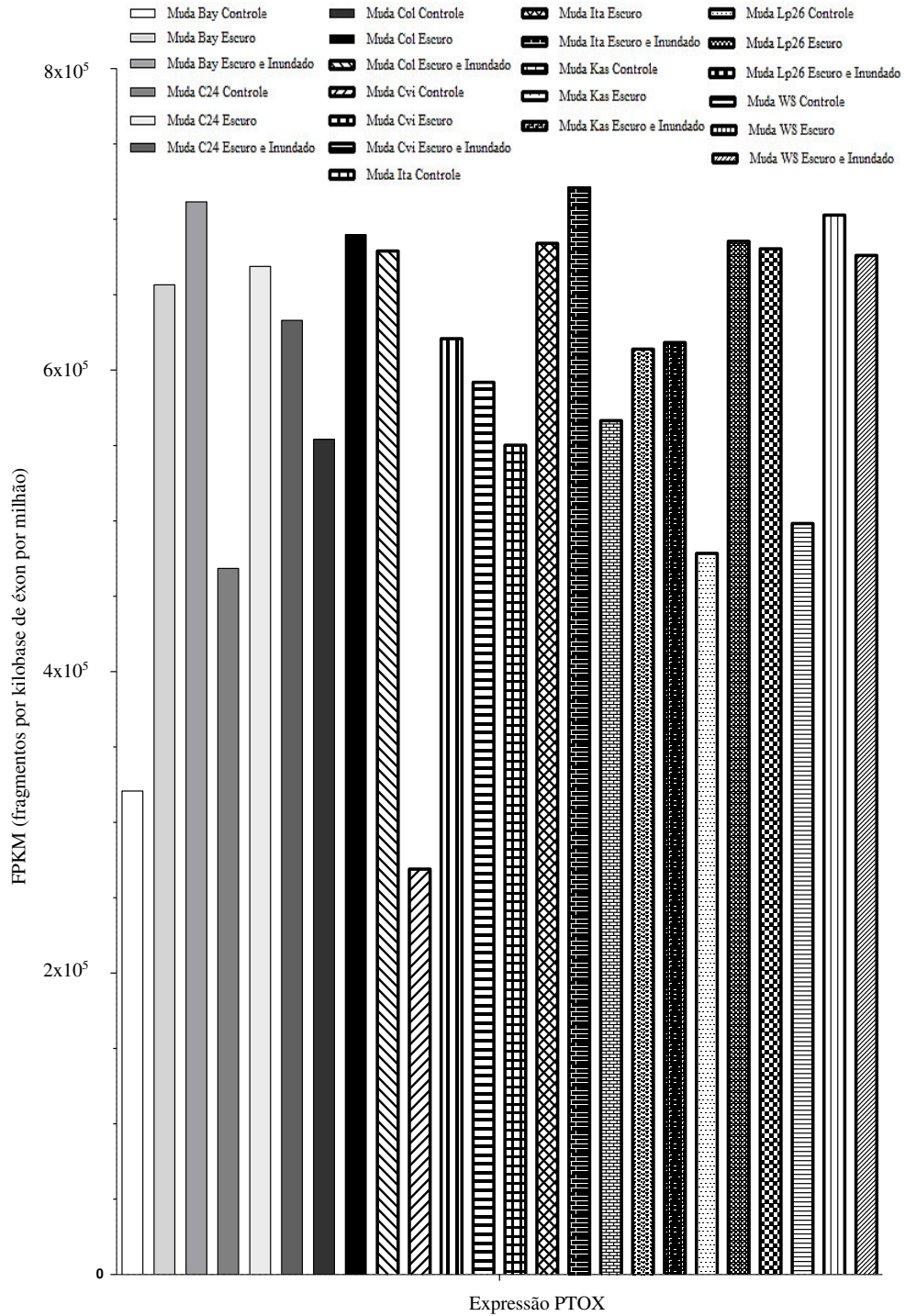


Gráfico 8: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa de raízes dos acessos Bay, C24, Col-0, Cvi-0, Ita, Kas, Lp26 e Ws submetidos aos estresses de escuro apenas, escuro e inundação e condições controladas. O gráfico compara os acessos entre si e as diferentes condições impostas. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinham.

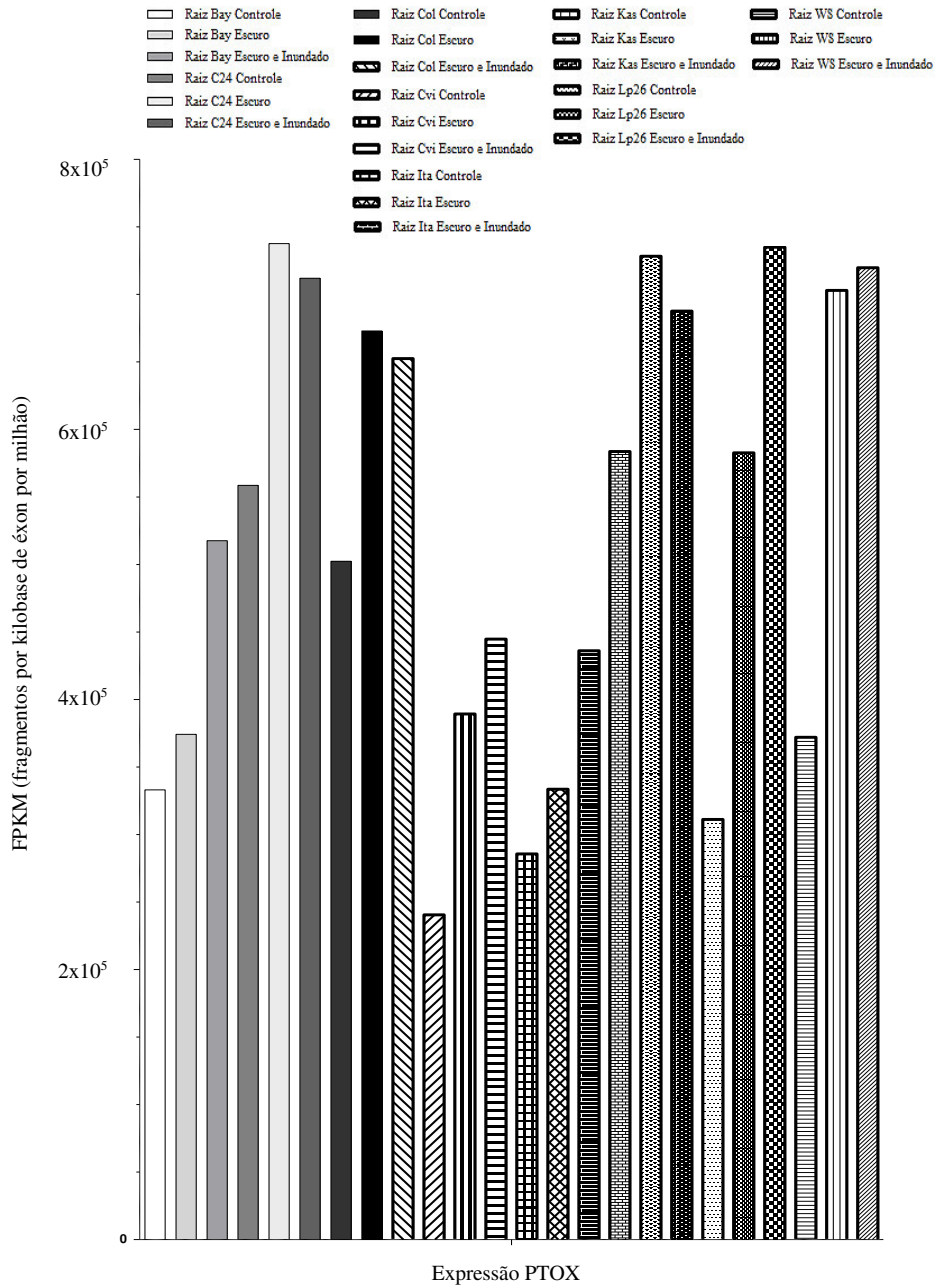
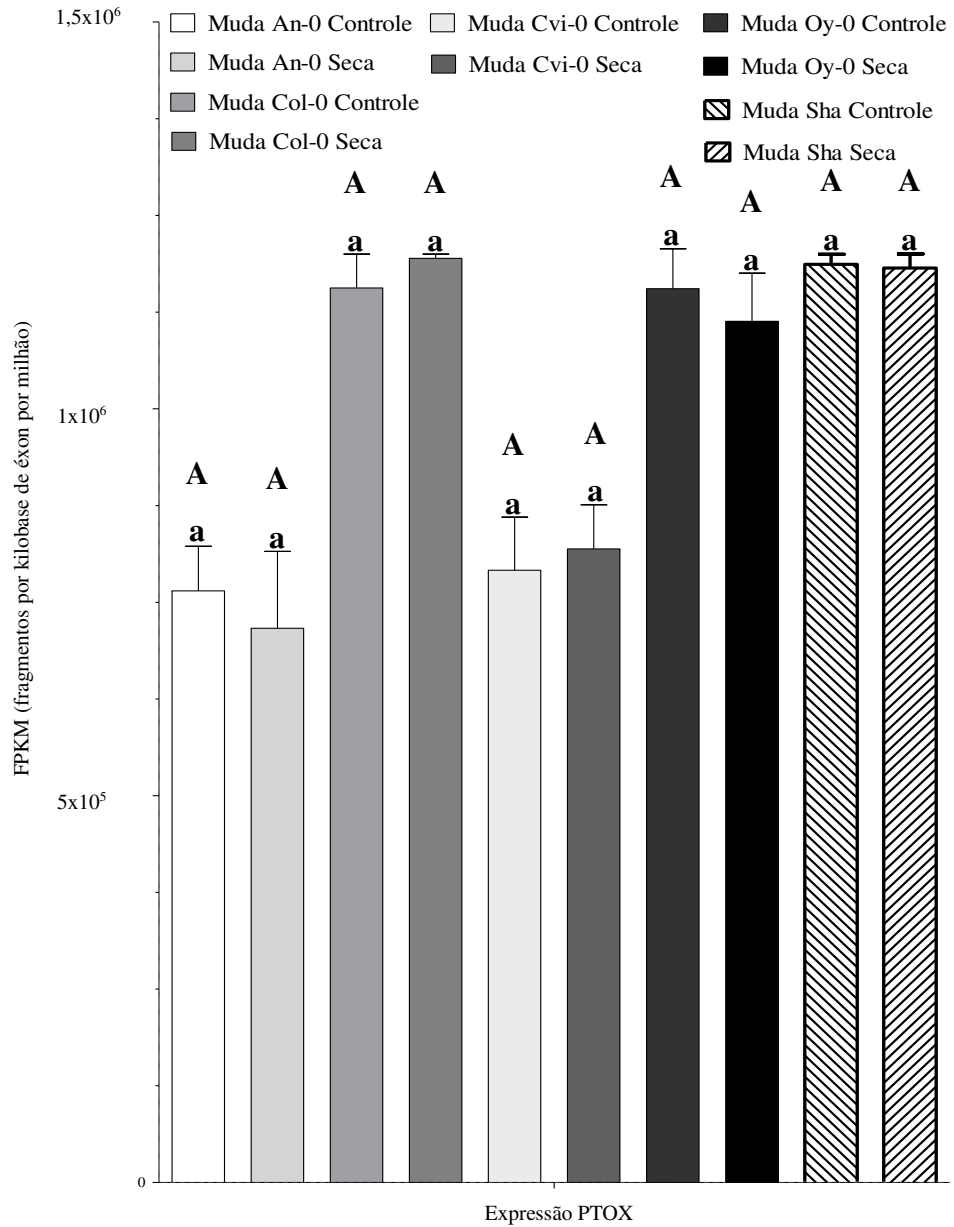


Gráfico 9: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa de mudas dos acessos An-0, Col-0, Cvi-0, Oy-0 e Sha submetidos ao estresse de seca moderada e a condições controladas. O gráfico compara os acessos entre si e as diferentes condições impostas. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinharam. Letras maiúsculas representam os acessos e minúsculas as condições, letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre estes.



Para o experimento que utilizou os acessos referência Col-0 e Ler houve a expressão do gene da PTOX, porém não houve diferença estatística entre eles (Gráfico 10). Quando comparados Col-0 e Kil ocorre a expressão do gene, porém Kil obteve um nível de expressão menor que o de Col-0 (Gráfico 11).

Gráfico 10: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa de folhas dos acessos Col-0 e Ler. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinharam. Letras maiúsculas representam os acessos e letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre estes.

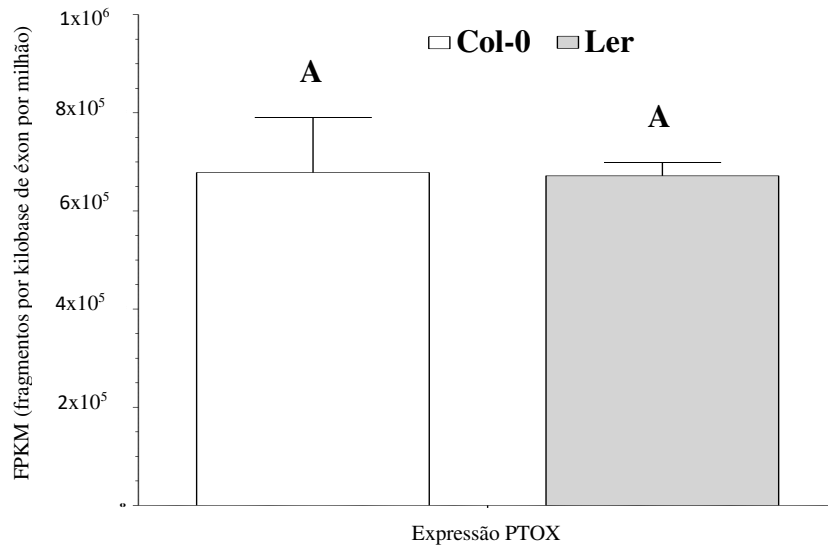
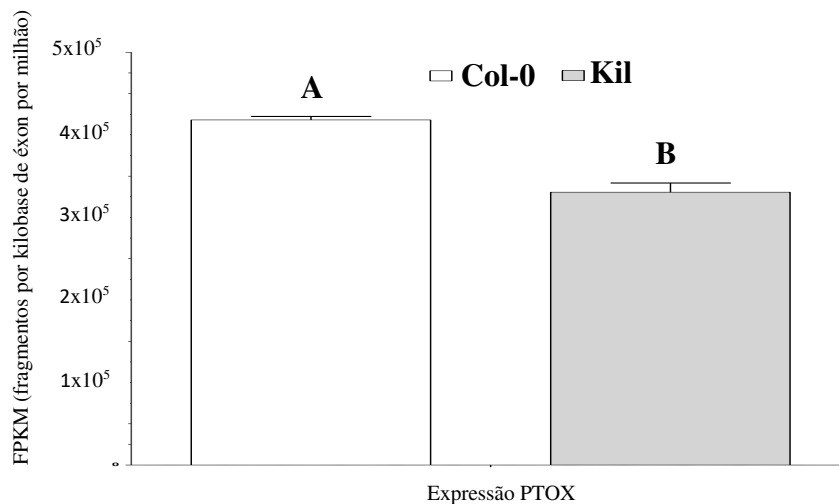


Gráfico 11: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa de folhas dos acessos Col-0 e Kil. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinharam. Letras maiúsculas representam os acessos e letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre estes.



Para as temperaturas de 23°C e 27°C houve a expressão do gene da PTOX tanto para o acesso Col-0 como para o Sij. Um leve declínio no nível expressivo foi observado com o aumento da temperatura para 27°C. Porém, não há diferença estatística para a expressão do gene entre a temperatura mais baixa e a mais elevada para os acessos e nem entre os ecotipos (Gráfico 12). A expressão do gene da PTOX para as mudas de 16 ecotipos foi elevada, mas não houve diferença estatística entre os mesmos, exceto pelo cultivar Ct que teve a menor expressão e diferenciou-se estatisticamente de 8 acessos (Gráfico 13). Para as raízes desses acessos a expressão do gene da PTOX foi elevada em 11 deles, e em 5 deles essa expressão ficou abaixo da metade dos demais. Novamente, Ct foi diferente estatisticamente dos outros 10 acessos que tiveram uma expressão elevada e também dos 5 que tiveram um nível de expressão baixo. E entre os 10 com elevada expressão e os 5 de baixa expressão há diferença estatística (Gráfico 14).

Gráfico 12: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa dos acessos Col-0 e Sij submetidos às temperaturas de 23°C e 27°C. O gráfico compara os acessos entre si e as diferentes temperaturas impostas. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinharam. Letras maiúsculas representam os acessos e minúsculas as condições, letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre estes.

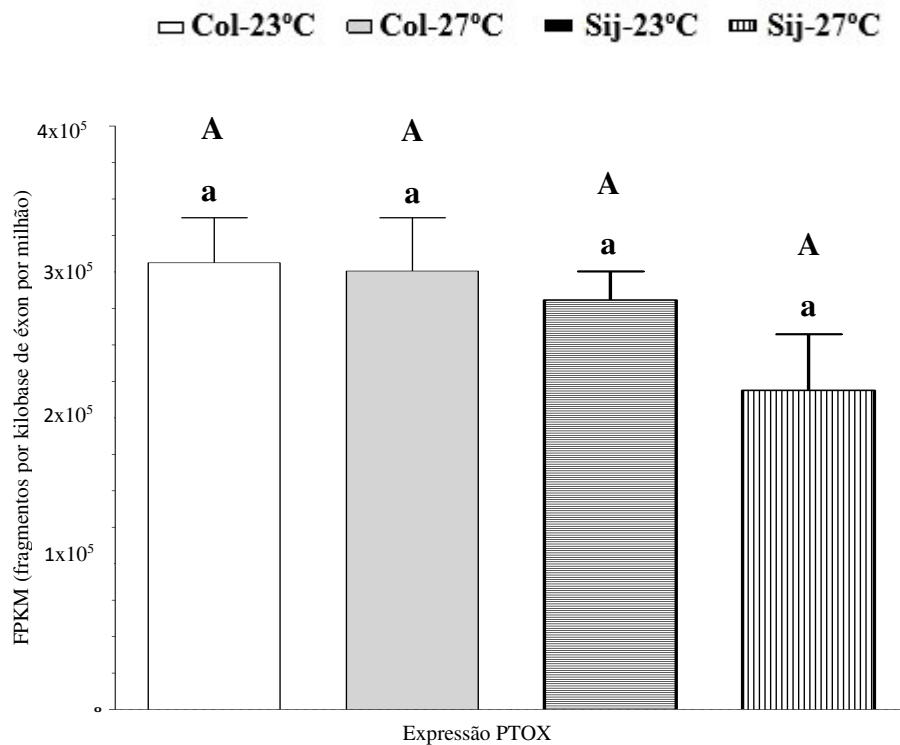


Gráfico 13: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa das mudas dos acessos Bur, Can, Col-replicata biológica, Col-replicata técnica, Ct, Edi, Kn, Ler, No, Oy-0, Rsch, Sf, Tsu, Wil, Ws, Wu e Zu. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinharam. Letras maiúsculas representam os acessos e letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre estes.

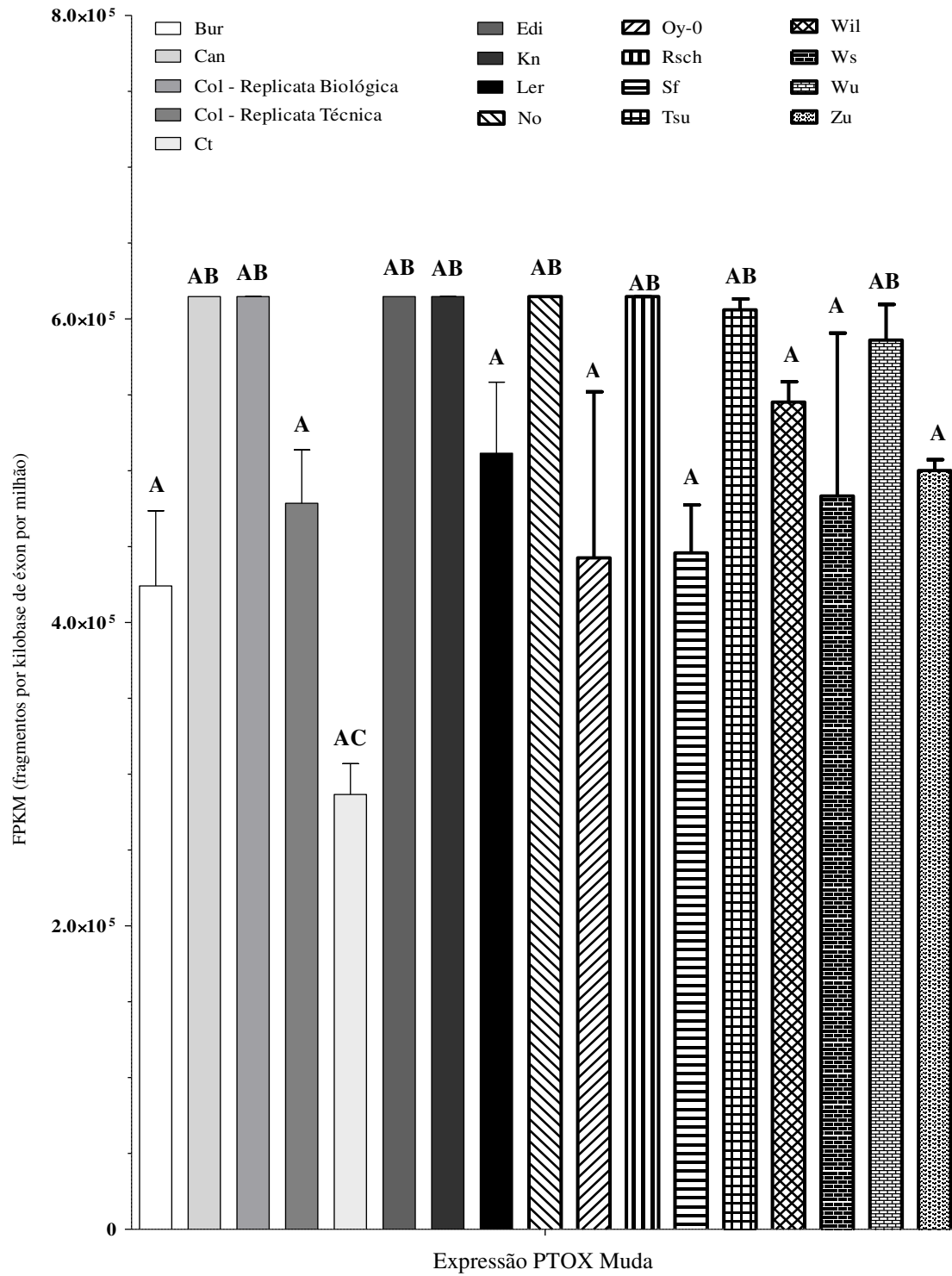
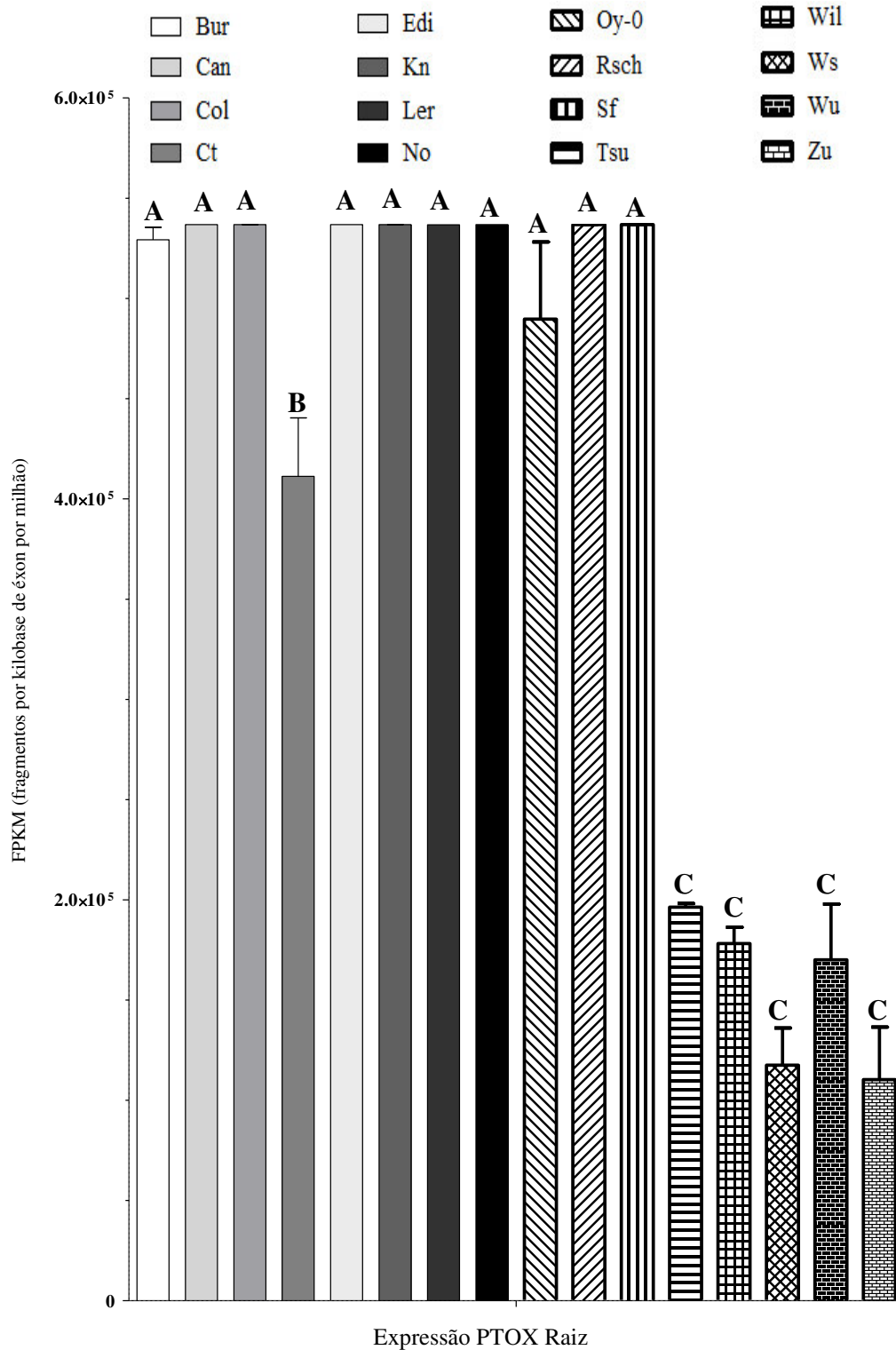


Gráfico 14: Expressão do gene da proteína PTOX. Expressão comparativa das mudas dos acessos Bur, Can, Col, Ct, Edi, Kn, Ler, No, Oy-0, Rsch, Sf, Tsu, Wil, Ws, Wu e Zu. Os resultados são fornecidos em FPKM, número de fragmentos por kilobase de éxon por milhão que alinham. Letras maiúsculas representam os acessos e letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre estes.



5 DISCUSSÃO

5.1 Correlação Entre os SNPs, a Pluviosidade e a Intensidade de Luz Incidente

Nas análises de bioinformática foram identificados 59 SNPs em 1190 genomas de diferentes ecotipos de *A. thaliana* (Tabela 1). Porém, apenas 32 puderam ser classificadas de fato como polimorfismo, por estarem presentes em pelo menos 1% da população (Thorisson e Stein, 2003). A maioria dos polimorfismos envolveram a mudança de uma citosina (C) ou de uma guanina (G), um total de 33,9% e 32,2%, respectivamente. Cal et al, também identificaram um padrão de modificação mais frequente nos nucleotídeos C e G para 19 transcriptomas de ecotipos de *A. thaliana*.

A metilação do DNA está envolvida no processo de silenciamento gênico de determinada região. Em 1107 acessos de *A. thaliana* foram identificados que os nucleotídeos C e G são os que sofrem maior incidência de metilação, assim, a redução da quantidade desses nucleotídeos pela mutação para outro pode reduzir a incidência de metilação naquele ponto do gene e assim evitar a inativação de gene. Esses SNPs podem ser selecionados evolutivamente para evitar o silenciamento de genes importantes ao metabolismo vegetal (The 1001 Epigenomes Consortium, 2016).

Nas análises das sequências proteicas foram identificadas 32 modificações de aminoácidos (AA) em relação à sequência da proteína PTOX do ecotipo da referência, Col-0 (Tabela 2). Dentre essas 32, as mudanças com incidência maior que 1% foram 16. E, destas, 11 ocasionaram a mudança da classe do AA na proteína. Nenhuma das 11 mutações ocorreram nas posições dos AA estabilizadores dos íons Fe: 136, 175, 178, 227, 296 e 299 (McDonald, 2011; Fu, 2005; Fu, 2009). Bem como, não ocorreram na região alifática da sequência – SVLHMYET – referente às posições 148 – 155, envolvidas na especificidade de interação com o plastoquinol (Josse, 2003). Indicando que essas regiões são altamente conservadas e devem estar submetidas a seleção purificadora por estarem envolvidas na ação da PTOX (Strachan e Read, 2013). Dentre as modificações mais relevantes estão as das 13^a, 78^a, 81^a e 323^a posições. A treonina da posição 13 mudou para uma metionina em 40,7% dos acessos. Segundo a predição pelo MEMSAT-SVM (Figura 11) e por McDonald (2011) e Atteia (2004), em torno dos primeiros 39 AA da região N-terminal fazem parte do peptídeo trânsito da proteína, que direciona esta ao seu compartimento celular de atuação. A mudança de um AA não carregado para um apolar alifático nesta posição pode ser vantajosa, pois favorece uma interação mais forte do peptídeo trânsito com a membrana do tilacóide, devido ambos terem características alifáticas. As demais

modificações estão dentro da estrutura funcional da proteína, a modificação na 78^a posição foi de um AA polar não-carregado para um apolar aromático, na 81^a um AA polar carregado positivamente substituiu um polar não-carregado, e na 323^a posição um AA polar carregado negativamente mudou para um não-carregado. De um total de 378 acessos que possuem modificações nas posições 78 e 81, 364 obtém ambas as modificações. Essas modificações de maior incidência e inseridas na região estrutural funcional da proteína foram escolhidas para a construção de suas estruturas tridimensionais e investigação da interação destas com o substrato.

Essas modificações principais tiveram elevada frequência para os climas Csa, Csb, Cfa e Cfb, todos característicos de regiões temperadas úmidas. Porém, nem todos os climas temperados úmidos identificados tiveram relação com a ocorrência de polimorfismos nessas posições. Já que nas quatro classificações de relevo estudadas existem esses climas mencionados, de características temperado e úmido, porém em alguns desses ecotipos com esse clima sob determinado relevo não tiveram ocorrência de mutações, não demonstrando padrão de mutação para a condição de clima temperado e úmido. Os resultados indicam que essas modificações foram selecionadas aleatoriamente ao clima e à temperatura, que para esses climas varia entre 8°C – 15°C.

No entanto, as modificações parecem estar relacionadas ao relevo e, principalmente à pluviosidade. Aqueles acessos pertencentes ao relevo planície e com pluviosidade entre boa (500 < P < 700) e elevada (700 < P) tiveram uma maior incidência das modificações (Gráfico 2). Já para o relevo de planalto com uma pluviosidade regular (300 < P < 500) favoreceu a modificação na posição 323 (D – N) e uma elevada favoreceu as modificações 13 (T – M), 78 (S – F) e 81 (T – K) (Gráfico 3). Enquanto para o relevo entre montanhas com pluviosidades de boa à elevada favoreceram as modificações nas quatro posições (Gráfico 4). Para aqueles acessos pertencentes à montanha com pluviosidade regular as modificações foram favorecidas (Gráfico 5).

Um padrão de relação inverso é identificado para as condições de pluviosidade e altitude: uma elevada altitude com uma pluviosidade regular; e, o contrário, uma baixa altitude e uma boa/elevada pluviosidade parecem ser os principais fatores a favorecerem a seleção dessas modificações, especialmente para a 323^a modificação.

O Projeto 1001 Genomas Consórcio identificou que para os 1135 genomas de *A. thaliana* haviam SNPs significativamente correlacionados com o gradiente de pluviosidade de suas localidades e que estes polimorfismos existem em regiões densamente preenchidas por genes envolvidos no desenvolvimento e metabolismo de flores e raízes, na tolerância ao estresse

salino e no combate a danos causados por moléculas tóxicas. Enquanto Lasky et al. (2012), identificou em 1003 genomas de *A. thaliana* coletados de 447 regiões da Eurásia que a seleção dos SNPs era favorecida principalmente pelas variações de temperatura e de pluviosidade através da ferramenta GWAS. O mapeamento por GWAS não é 100% confiável, pois utiliza uma referência para encontrar SNPs padrão pré-estabelecida de 25 mil SNPs fornecidos pelo servidor TAIR, o que não abrange a totalidade dos SNPs, especialmente os mais raros, além de fornecer muitos resultados falso positivos, por utilizar sequências muito curtas que podem alinhar com muitas regiões (Bergelson e Roux, 2010).

Nordborg e colaboradores (2005) avaliaram a relação entre os SNPs de 96 acessos de *A. thaliana* separados geograficamente e não houve correlação entre os polimorfismos dos ecotipos e a distância geográfica existente entre os mesmos. O mesmo foi observado para 19 acessos de *A. thaliana* distribuídos pelo leste da China (He, 2007). Coordenadas diferentes não indicam condições climáticas e geográficas diferentes, a forma de análise deve abranger as condições locais para permitir a identificação precisa da pressão de seleção positiva (Strachan e Read, 2013).

Schmid et al. (2003) comparam os padrões polimórficos de 12 acessos de *A. thaliana* e os padrões mais distintos foram entre Col-0 e Cvi-0. Na tabela 3 observa-se que Col-0 (referência) pertence a condição geográfica de pluviosidade elevada ($700 < P$), de $1033\text{mm}^3/\text{ano}$ especificamente, enquanto Cvi-0 tem o índice baixo ($P < 300$) de precipitação, em torno de $240\text{mm}^3/\text{ano}$, indicando que as variações em *A. thaliana* são favorecidas principalmente pela pluviosidade. Luo et al. (2014), encontraram que os polimorfismos de 14 acessos de *A. thaliana*, provenientes de variadas altitudes estão diretamente relacionados à altitude e à exposição à luz solar as quais estão submetidos nessas condições. Tyagi e colaboradores (2016) também avaliaram a taxa polimórfica em 4 acessos de *A. thaliana* provenientes de diferentes altitudes comparando do mais exposto à incidência da luz solar (maior altitude) ao menos exposto à luz, e identificou que a quantidade de polimorfismos foi decrescente. Isso sugere que a intensidade da luz e a altitude atuam favorecendo a seleção de alterações polimórficas.

O estudo comparativo do mapeamento de genes para os acessos Col-0, Bur-0 e C24 indicaram uma variação não relevante de expressão nessas populações (Maumus e Quenesville, 2014). De forma singular, esses três ecotipos possuem uma pluviosidade elevada, todas em torno de $1000\text{mm}^3/\text{ano}$ (Apêndice 3). Um estudo envolvendo 100 acessos de *A. thaliana* avaliou os SNPs da família da proteína AOX, pertencente à mesma classe da PTOX, uma Dox, tem os seus polimorfismos e as deleções favorecidos pelas condições climáticas (Costa, 2015). Mosca

et al. (2012), estudaram a correlação das condições geográficas com os polimorfismos presentes em quatro espécies de pinheiros, *Pinus mugo*, *Pinus sembra*, *Larix decidua* e *Abies alba*, pertencentes as regiões dos Alpes Italianos e da Macedônia da mesma faixa de altitude, e identificaram que os polimorfismos tiveram relação com a variação de temperatura e de precipitação.

Méndez-Vigo e colaboradores (2011) estudaram os polimorfismos nos genes envolvidos na floração de 182 acessos de *A. thaliana*, coletados de toda extensão da Península Ibérica e correlacionou com as condições geográficas, encontrando relação das variações com a temperatura, pluviosidade e altitude, com padrões de seleção com diferentes pluviosidades e altitudes e com temperatura baixa. Pesquisas que abordam a base da variação genética com os processos adaptativos facilitam entender os efeitos da seleção sobre as espécies, e as condições geográficas relacionadas permitem a extensão dos resultados para as demais espécies de vegetais (Savolainen e Lascoux, 2016; Kim, 2007).

5.2 SNPs Não-Sinônimos Causam Efeitos Diversos na Interação PTOX – PQH₂

Os modelos tridimensionais do Modeller e do PHYRE2 revelaram no alinhamento à estrutura modelo cristalizada da AOX um valor de RMSD bem menor que o modelo predito pelo I-TASSER. Como a AOX é da mesma classe de proteínas da PTOX, pode-se supor que quanto mais próximo estruturalmente o modelo predito for da AOX, maior a probabilidade de a estrutura estar correta, pois apesar da identidade ser baixa a estrutura é altamente conservada (Atteia, 2004; Josse, 2000; Webb e Sali, 2014). E na validação das estruturas a do Modeller obteve o melhor Z-escore para o gráfico de Ramachandran, a do I-TASSER o pior e a do PHYRE2 foi intermediária. Apesar de o modelo tridimensional gerado pelo Modeller ter um Z-escore mais favorável e um RMSD menor ainda que o do modelo do PHYRE2, o deste foi escolhido para dar prosseguimento aos trabalhos. Pois o intuito era avaliar as consequências dos polimorfismos nas estruturas e o modelo gerado pelo Modeller não abrangia nenhuma das regiões polimórficas, pois só abrangeu do AA 113 – 269. Por isso, o modelo do PHYRE2 foi escolhido para prosseguir com os processos de mutagênese. As estruturas modificadas nas posições 78 (S – F), 81 (T – K), 323 (D – N) e 78 (S – F) + 81 (T – K) alinhadas otiveram um valor de RMSD de zero para todas.

No servidor de predição de estruturas secundárias foi identificada uma região desordenada entre os AA das posições 260 – 290 e das extremidades N e C terminais (Figuras 10 e 11). Coincidentemente, na visualização das estruturas tridimensionais foi identificada uma

desordem caracterizada pela formação de uma alça entre os AA 256 – 291 (região amarela em destaque nas figuras 6 e 9) corroborando essa desordem deve fazer parte realmente da estrutura da proteína e estar envolvida na sua atividade. Essa mesma alça foi encontrada para um modelo predito da PTOX e para o modelo da Dox de *Synechococcus* sp., é provável que essa alça esteja presente em algumas subclasses das Doxs e estejam relacionadas às atividades ou ancoramento da proteína à membrana já que possui 14 AA apolares (Finnegan, 2003; Nawrocki, 2015).

A ferramenta de predição de estruturas secundárias previu a formação de oito α -hélices na estrutura da proteína da PTOX (Figura 11), que foi exatamente o número de α -hélices geradas pelo modelo tridimensional predito pelo PHYRE2. Para a predição de estruturas transmembrana a Figura 12 demonstra que três α -hélices abrangendo os AA 100 – 220 seriam transmembranares para a sequência de AA da referência e das modificadas nas posições 78, 323 e 78 e 81; e duas α -hélices abrangendo os mesmos AA seriam transmembranares para a sequência modificada na posição 81. Porém, as outras duas ferramentas de predição sugeriram que para todas as sequências existem 3 alfa-hélices cruzando a membrana, provavelmente houve um erro na predição do programa Psipred para a mudança T81K. Além disso, na Figura 11 pode-se identificar 3 α -hélices completas e o início de mais uma para a região entre os AA 100 – 220 para todas as sequências. Nawrocki et al. (2015) e McDonald et al. (2011), sugerem que a PTOX está inserida na membrana externa do tilacóide. Enquanto Johnson e Stepien (2016), através de testes *in vitro*, sugerem que a proteína se aproxima e interage com a membrana externa do tilacóide dependendo das condições de pH, no entanto foram resultados de testes *in vitro*. Porém, ambas definem que a PTOX tem de estar associada à membrana externa do tilacóide para ter acesso ao substrato e desempenhar sua atividade catalítica, provavelmente essas α -hélices transmembranares preditas são as responsáveis pelo ancoramento da proteína à membrana.

Na predição dos processos biológicos em que a proteína possa estar envolvida todas as estruturas (referência e mutagênicas) obtiveram resultados bastante similares (Tabela 3). Os dados indicaram que a proteína pode estar envolvida principalmente no transporte de moléculas, porém até o presente momento não existem trabalhos que indiquem o papel da PTOX no transporte de solutos, nem diretamente e nem indiretamente. No entanto, esse resultado ressalta a probabilidade da PTOX ter uma parte da proteína ou toda a proteína ser integral à membrana externa do tilacóide, já que muitas proteínas integrais funcionam como canais de transporte para solutos (Nelson e Cox, 2014).

O segundo processo com maior probabilidade de ocorrência é o de regulação de processos metabólicos (Tabela 3). Muitos trabalhos sugerem que a PTOX atua como válvula

de escape para o excesso de elétrons gerados em condições de estresse, além de atuar na cloro-respiração contribuindo para o gradiente de H^+ necessário para a continuidade da produção de ATP (Sun e Wen, 2011; Johnson e Stepien, 2016). Segundo Díaz (2007), a PTOX está envolvida diretamente na reciclagem do precursor do processo de transporte cíclico de elétrons e produção de energia, dessa forma, esse resultado associado às demais funções atribuídas à PTOX sugerem que de fato ela está envolvida na regulação de processos metabólicos essenciais ao funcionamento dos cloroplastos nas plantas.

O terceiro processo em que a atividade da PTOX possa ter relação é com os processos de biossíntese (Tabela 3). O envolvimento da PTOX na biossíntese de carotenoides é uma das principais funções desta proteína (Josse, 2000; Kuntz, 2004). Porém, a proteína é essencial apenas nos tecidos imaturos, nos maduros outras vias conseguem desempenhar a mesma função (Carol e Kuntz, 2001; Kambakam, 2016). O que explicaria o porquê de a atividade relacionada a processos biossintéticos ter uma menor probabilidade dentre os três processos principais relacionados.

Na predição da função molecular que a proteína pode desempenhar três principais foram identificadas e envolveram o transporte de solutos (Tabela 4). Todas as estruturas tiveram probabilidades muito similares e a mesma ordem de prioridade das funções. Exceto para a estrutura modificada na posição 81, que teve a maior probabilidade para o transporte substrato-específico. Como já mencionado, até o presente momento não existem trabalhos que indiquem o papel da PTOX no transporte de solutos, mas esses resultados também sugerem que a PTOX deve interagir com a membrana.

Na predição de qual compartimento celular a PTOX possa vir a ser um dos componentes, todos os identificados envolveram as membranas das células e organelas (Tabela 5). Todas as estruturas tiveram probabilidades similares e a mesma ordem de prioridade das partes sugeridas. Exceto para a estrutura modificada nas posições 78 e 81, que tiveram uma maior probabilidade de pertencer à membrana de uma organela do que da mitocôndria. Como Nawrocki (2015) e McDonald (2011) sugeriram a PTOX ser integralmente associada à membrana externa do tilacóide, esses resultados favorecem as evidências para a proteína ser integral à membrana. Além disso, os resultados indicam que a proteína é associada à membrana mitocondrial, provavelmente devido à semelhança estrutural com a enzima mitocondrial AOX, uma proteína de membrana, que desempenha atividade similar à PTOX na mitocôndria (Fu, 2005; Fu, 2009; Atteia, 2004).

As análises de “docking” molecular definiram as energias de ligação existentes entre as estruturas e o ligante. Observou-se que as estruturas com as modificações nas posições

S78F, T81K e S78F + T81K acarretaram num aumento da energia total e também da energia intermolecular em relação à referência. Enquanto a estrutura contendo a mudança do AA da 323^a posição levou à uma redução em ambas energias em comparação com a estrutura referência (Tabela 6). Quanto maior a redução no valor das energias total e intermolecular, mais é favorecida interação entre a proteína e o substrato e provavelmente a reação catalítica ocorrerá de forma mais eficiente (Magalhães, 2014). Segundo Nawrocki (2015), a plastoquinona reduzida é uma molécula altamente flexível, ou seja, uma mudança que permita uma associação mais forte entre a PTOX e o PQH₂ é benéfica para a estabilização do ligante e pode favorecer a redução na energia de ativação e acelerar a reação. A modificação na posição 323 demonstrou ser mais favorável para a interação entre a PTOX e o PQH₂, obteve quase 4 Kcal/mol a menos para a energia total de interação e quase 1 Kcal/mol a menos para a energia intermolecular, em relação à referência. Como a molécula do plastoquinol é altamente flexível uma redução da energia pode sim favorecer uma melhor interação da proteína com o substrato e favorecer uma catálise mais eficiente.

A modificação na posição 323 foi selecionada por ambientes de baixa altitude (planícies e depressões de até 300m) e elevada pluviosidade e ambientes de elevada altitude (planaltos e montanhas acima de 700m) e baixa pluviosidade. Isso sugere que a elevada disponibilidade de água ou a baixa incidência de luz solar pelas condições nubladas acarretam na seleção positiva da PTOX com a modificação da posição 323 que pode ser mais eficiente na catálise e assim, acelerar a reciclagem do precursor de processos metabólicos importantes no combate a situações de estresse. O mesmo se pode inferir das regiões de elevada altitude que acarretam em estresse às plantas por excesso de luz solar incidente, que gera um excesso de elétrons que precisa ser desviado e esse desvio necessita a disponibilidade do precursor gerado pela PTOX e como essa modificação pode favorecer a melhor interação com o precursor PQH₂ os acessos pertencentes a essas regiões podem ter selecionado positivamente a proteína com a modificação do AA 323. Inclusive, esses resultados sugerem que os extremos de altitude relacionados à incidência da luz solar, são os estresses mais envolvidos na seleção desse SNP. Tyagi (2016), Mosca (2012) e Méndez-Vigo (2011) já haviam identificado a correlação existente entre a seleção positiva de SNPs e variações de altitude, bem como pluviosidade. Dessa forma, o AA da posição 323 pode vim a tornar-se um marcador molecular e ser o alvo do desenho racional da proteína (Rafalski, 2001; Rafalski, 2002).

As estruturas com as modificações nas posições S78F e T81K, independentemente, obtiveram praticamente o mesmo padrão para os acessos. Ambas demonstraram ser menos favoráveis a interação entre a PTOX e o PQH₂, tendo a estrutura modificada na posição 81 os

resultados de energia menores que os resultados da estrutura modificada no AA 78, sendo menos desfavorável que esta a interação da proteína com o ligante. Porém, apesar de a estrutura contendo a modificação na posição 81 ser mais favorável energeticamente para a interação enzima – substrato que a modificada na posição 78, nenhuma das duas foram mais favoráveis que a estrutura referência. Estas modificações não aparentam seguir critérios geográficos, e sim aleatórias. Nordborg (2005) e He (2007) já haviam analisado a relação entre as condições geográficas e os SNPs de vários acessos de *A. thaliana* e não identificaram uma correlação.

Em adição, a estrutura com modificações nas posições S78F + T81K, simultaneamente, também foi menos favorável a interação da PTOX com o substrato em relação à referência. Porém, os resultados foram menores que os resultados observados para as estruturas que tiveram as modificações isoladas das posições 78 e 81, indicando que esta estrutura, contendo ambas modificações, é mais favorável a interação entre enzima e substrato que as estruturas com apenas a modificação 78 ou a 81. Curiosamente, 92,6% dos acessos modificados nas posições 78 ou 81 tem ambas mudanças. Esses resultados sugerem uma seleção evolutiva das duas mutações. Uma possibilidade é que uma das mutações tenha ocorrido primeiro e ocasionou uma menor afinidade da proteína pelo ligante com o aumento das energias total e intermolecular representadas. E então a modificação seguinte reduziu essa energia sendo mais favorável, e foi selecionada evolutivamente. Por isso, a elevada ocorrência das duas mutações nos acessos.

5.3 PTOX: Uma Expressão Constitutiva e Induzível

Para o experimento de Tyagi (2016) os acessos de *A. thaliana* crescidos em condições controladas e coletados diretamente do campo apresentaram expressão do gene da PTOX (Gráfico 6). Esses resultados ainda demonstraram que as amostras provenientes do campo sob as condições naturais (Chi – 3400m, San – 2400m, Mun – 2000m e Deh – 700m) tiveram uma maior expressão do gene em comparação as amostras cultivadas sob condições controladas em câmara. Tyagi (2016) demonstrou nesse trabalho que os genes de função biológica primária têm sua ativação principalmente relacionada ao estresse induzido pela alta intensidade de luz recebida pelos acessos, já que todas são provenientes de condições climáticas e de precipitação similares, variando apenas a altitude. Os resultados identificados no presente trabalho indicaram que a elevada altitude pode acarretar em estresse e estimular a expressão do gene da proteína PTOX.

Para corroborar essas suposições, o acesso que obteve maior expressão da proteína PTOX na elevada altitude a que estava submetido foi o Deh, que tem altitude de 700m e os acessos identificados no presente trabalho que tiveram relação com a elevada altitude têm o relevo de planalto e montanha em torno de 800m. Tallón e Quiles (2007) também obtiveram uma elevada expressão do gene da PTOX em espécies de cereal submetidas à luz solar intensa quando comparadas a condições controle. O tomate também apresentou uma elevada expressão da PTOX quando submetido a condições de estresse por luz intensa (Nawrocki, 2015; Trouillard, 2012; Shahbazi, 2007). Simkin et al. (2003a), também identificaram um alto nível de expressão para a pimenta submetida à elevada intensidade de luz solar, quando comparada à submetida a condição controle. As espécies *Brassica fruticulosa* e *Brassica oleracea* da mesma ordem da *A. thaliana* apresentaram um alto nível de expressão para as proteínas PTOX e NDH quando expostas à luz de alta intensidade (Díaz, 2007).

As mudas dos acessos Bay, C24, Col-0, Cvi-0, Ita, Kas, Lp26 e Ws tiveram todas um aumento na expressão quando submetidos às condições de estresse no escuro e no escuro inundado (Gráfico 7). Bay, Col-0, C24, Lp26 e Ws pertencem a regiões com elevada pluviosidade, e são os ecotipos que possuem uma expressão elevada da PTOX em todas as condições, e maior sob os estresses. As raízes desses acessos também tiveram um aumento de expressão do gene da PTOX nestas condições de estresse, porém bem mais evidente (Gráfico 8). Bay, Col-0, C24, Lp26 e Ws pertencem a regiões com elevada pluviosidade e são os ecotipos que possuem uma expressão elevada da PTOX em todas as condições, e maior sob os estresses. O objetivo de Veen (2016) foi caracterizar os transcriptomas desses 8 acessos sob condições de escuro e inundação e distinguir as respostas moleculares consequentes desses estresses que foram similares em ambos estresses. O aumento no nível de expressão da PTOX em condições impostas de escuro já era esperado, pelo envolvimento na clororespiração e na prevenção da ativação desnecessária do aparato fotossintético (Sun e Wen, 2011; Johnson e Stepien, 2016).

Os resultados que foram apresentados através deste trabalho indicaram que a elevada pluviosidade pode estimular a indução da expressão da enzima PTOX. O estresse por inundação imposto aos acessos está equiparado ao estresse de elevada pluviosidade, pois dificultam a troca de gases e funcionamento ideal dos sistemas fotossintéticos pela submersão de partes da planta (Veen, 2016). Cultivares transgênicos de tabaco expressando o gene da PTOX de *A. thaliana* obtiveram um alto nível de expressão quando submetidos a condições de escuro total (Joet, 2002). Um cultivar de tomate submetido ao escuro total também atingiu uma elevada expressão da proteína PTOX (Trouillard, 2012). Simkin et al. (2003a), também identificaram um aumento da expressão gênica da PTOX em pimenta submetidas ao escuro em

comparação as desenvolvidas em condições normais de fotoperíodo. Embora não existam trabalhos que indiquem o envolvimento da expressão da PTOX com o estresse por alagamento, Veen (2016) sugere que ocorre uma regulação molecular nas plantas em resposta ao estresse por inundação. Além disso, a raiz obteve um índice de expressão da PTOX maior em 5 acessos para a condição de escuro total com inundação quando comparada ao estresse isolado do escuro total, as raízes são a região mais submersa da planta em condições de alagamento e isso sugere que nelas há uma maior indução da expressão da PTOX devido o alagamento.

Dos acessos submetidos à seca moderada a expressão do gene não revelou diferença relevante em comparação a condição controle, nem entre os acessos (Gráfico 9). Dos acessos estudados Cvi-0 e Sha possuem pluviosidade baixa, mas Cvi pertence à planície e Sha à montanha. Visualmente, Sha teve um nível de expressão maior que Cvi, e pouco maior que a referência, sugerindo uma relação da altitude, da intensidade de luz recebida, com a indução da expressão da PTOX. Clauw (2015) avaliou a expressão de genes envolvidos na resposta ao estresse de seca e eles foram responsivos. No entanto, para a PTOX não houve resposta significativa ligada ao estresse. Entretanto, as espécies *Chrysanthemum morifolium* e *Spathiphyllum wallisii* submetidas a condições de seca tiveram uma elevada taxa de expressão da PTOX (Ibáñez, 2010). Para as espécies *Coffea arabica* e *Spathiphyllum wallisii* o nível de PTOX foi superelevado quando foram submetidas as condições de seca (Simkin, 2008; Gamboa, 2009). Porém, como já foi sugerido por Sun e Wen (2011) a PTOX tem padrões de expressão diferentes entre as espécies e por isso a importância de compreender-se as condições favoráveis a expressão deste gene.

Para o experimento que utilizou os acessos referência Col-0 e Ler houve a expressão do gene da PTOX, porém não houve diferença estatística entre eles (Gráfico 10). Os dois acessos pertencem a condições geográficas de elevada pluviosidade. Li, 2015 objetivou sequenciar o transcriptoma das duas espécies referências, normalmente utilizadas, Col-0 e Ler-1 e avaliou os padrões de pequenos RNAs entre elas que também foram similares. A partir do fato, de que ambas são provenientes das mesmas condições geográficas e possuem a mesma sequência de AA é esperado que a expressão comparativa entre as mesmas não seja muito diferente.

Lutz (2015) avaliaram os SNPs e a diferença de expressão de genes envolvidos na floração entre os acessos Kil (resistente a baixas temperaturas) e Col-0 quando submetidas a condições de baixas temperaturas, identificando uma relação de estímulo pela baixa temperatura. Ambas pertencem as mesmas condições de pluviosidade e altitude e quando comparadas em relação a expressão do gene da PTOX houve uma dependência da temperatura

já que Kil, resistente a baixas temperaturas, teve uma expressão menor da PTOX que Col-0, não resistente. Provavelmente, a PTOX foi mais induzida pelas condições de baixa temperatura no acesso menos resistente (Gráfico 11). No entanto, espécies características de regiões com baixas temperaturas *Pinus banksiana*, *Pinus contorta* (gimnospermas) e *Ranunculus glacialis* (angiosperma), já adaptadas, tiveram uma superexpressão da proteína PTOX quando submetidas às baixas temperaturas e variadas intensidades de luz solar, quando comparadas a expressão em Kil (Busch, 2008; Savitch, 2010; Streb, 2005).

Para as temperaturas de 23°C e 27°C houve a expressão do gene da PTOX tanto para o acesso Col-0 (pluviosidade elevada) como para o Sij (pluviosidade boa). Um leve declínio na expressão foi observado com o aumento da temperatura para 27°C. Porém, não há diferença significativa na expressão do gene entre a temperatura mais baixa e a mais elevada, nem entre os acessos nem entre as temperaturas (Gráfico 12). Os valores de expressão para o experimento de Sánchez-Bermejo (2015) foram os menores dentre todos os experimentos avaliados neste trabalho, que tiveram a referência Col-0 cultivada em temperaturas moderadas (20°C). A temperatura em torno de 25°C aparentou ser desestimulante para a expressão da PTOX. Ibáñez (2010) e Tallón e Quiles (2007) obtiveram uma elevada expressão da PTOX para *Chrysanthemum morifolium*, *Spathiphyllum wallisii* e *Avena sativa* quando submetidas a elevadas temperaturas, porém essas temperaturas foram superiores a 35°C. O elevado nível de expressão da PTOX em baixas temperaturas (4°C) sugere que os extremos de temperatura podem ser favoráveis a expressão da PTOX nas plantas (Savitch, 2010).

Gan et al. (2011), teve o objetivo de sequenciar o transcriptoma de 16 acessos de *A. thaliana* para os tecidos da muda e o das raízes. A expressão do gene da PTOX para as mudas de 16 acessos foi elevada, com diferença estatística entre os acessos Ct e Can, Col, Edi, Kn, No, Rsch, Tsu e Wu (Gráfico 13). Todos esses oito acessos têm pluviosidade de boa a elevada, enquanto Ct tem uma pluviosidade regular. Todos são pertencentes à planície e ao clima temperado. Além disso, Ct, Kn, No e Tsu possuem as modificações nas posições 78 e 81 que desfavorecem a interação da proteína com o substrato. Isso poderia induzir a expressão do gene para aumentar a atividade da proteína que deve estar prejudicada pelas modificações. Porém, Ct com as mesmas mudanças teve um padrão de expressão menor que estas outras, além disso, as outras três tiveram um padrão de expressão igual ou superior ao da referência, sem as mudanças. Isso sugere que as diferenças no padrão de expressão da PTOX da muda estejam relacionadas à diferença de precipitação, e este deve ser o principal fator envolvido nessa expressão diferencial.

A expressão do gene da PTOX para as raízes dos 16 acessos foi elevada para 11 deles, com diferença estatística entre os acessos Ct e Bur, Can, Col, Edi, Kn, Ler, No, Oy, Rsch, Sf, Tsu, Wil, Ws, Wu e Zu (Gráfico 14). Todos esses 15 ecotipos pertencem a regiões com pluviosidade de boa a elevada, enquanto Ct tem uma pluviosidade regular. Além disso, Ct, Kn, Ler, No, Oy, Tsu, Ws e Zu possuem as modificações nas posições 78 e 81 que podem desfavorecer a interação da proteína com o ligante. Isso sugere que as diferenças no padrão de expressão da PTOX nas raízes podem estar relacionadas à diferença na precipitação, e este deve ser o principal fator envolvido nessa expressão diferencial. Enquanto a diferença existente entre Bur, Can, Col, Edi, Kn, Ler, No, Ou, Rsch, Sf e os acessos Tsu, Wil, Ws, Wu e Zu não tem um padrão geográfico e de polimorfismo que possa explicar essas diferenças de expressão nas raízes. Todas pertencem ao relevo planície, clima temperado e tem pluviosidade entre boa e excelente. Além disso, em ambos os grupos existem acessos que possuem modificações nos resíduos 78 e 81.

De forma geral, a PTOX foi responsiva em situações de estresse por temperatura moderada e baixa, por condições de escuro e inundação e em elevadas altitudes, o que está associado à intensidade de luz solar a que as plantas foram expostas.

6 CONCLUSÃO

Foram identificados 16 polimorfismos não-sinônimos e 11 deles acarretaram na modificação do aminoácido por um de classe diferente. Para aqueles de maior incidência foi identificada uma correlação com as condições geográficas. Principalmente, à pluviosidade e à altitude, associada à elevada intensidade de luz solar incidente, foram relacionadas a seleção positiva dos SNPs. Foi possível prever as estruturas tridimensionais das proteínas referência e modificadas, que foram corroboradas por inúmeros servidores de predição. A estrutura com a modificação D323N parece favorecer a interação do substrato com a PTOX de forma mais forte que a referência e pode catalisar a reação de forma mais eficiente. O presente trabalho também identificou que a PTOX é expressa em várias condições de estresse: elevada altitude, escuro, alagamento e por extremos de temperatura. Os resultados indicam existir uma interdependência entre as condições geográficas e a atividade e a expressão da proteína.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, P. R. What is a functional genetic polymorphism? Defining classes of functionality. *J. Psychiatry Neurosci.* Ottawa, V. 36, n. 6, p. 363-5, 2011.
- ATTEIA, A. et al. Identification of prokaryotic homologues indicates an endosymbiotic origin for the alternative oxidases of mitochondria (AOX) and chloroplasts (PTOX). *Gene*, v. 330, n. 1–2, p. 143–148, 2004.
- BAENA-GONZÁLEZ, E. et al. Deletion of the tobacco plastid psbA gene triggers an upregulation of the thylakoid-associated NAD(P)H dehydrogenase complex and the plastid terminal oxidase (PTOX). *Plant Journal*, v. 35, n. 6, p. 704–716, 2003.
- BALSAMO, R.; et a. Leaf biomechanical properties in *Arabidopsis thaliana* polysaccharide mutants affect drought survival. *Journal of Biomechanics*, Missoula, V. 48, p. 4124-4129, oct. 2015.
- BERGELSON, J.; ROUX, F. Towards identifying genes underlying ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, Chicago, V. 11, p. 867-879, dec. 2010
- BRITO, D. Q. et al. *Arabidopsis thaliana*: planta teste em estudos multidisciplinares. *CAPTAR*. Aveiro, V. 1, n. 2, p. 205-2016, aug. 2009.
- BUCHAN, D. W. A. et al. Scalable web services for the PSIPRED Protein Analysis Workbench. *Nucleic Acids Research*. V. 41, n. W1, p. 340-348, 2013.
- BUSCH, F.; HUNER, N. P. A.; ENSMINGER, I. Increased air temperature during simulated autumn conditions impairs photosynthetic electron transport between photosystem II and photosystem I. *Plant Physiol.* V. 147, p. 402–414, 2008.
- CAMPOS, M. D. et al. Isolation and characterization of plastid terminal oxidase gene from carrot and its relation to carotenoid accumulation. *Plant Gene*, v. 5, p. 13–21, 2016.
- CAO, J. et al. Whole-genome sequencing of multiple *Arabidopsis thaliana* populations. *Nature Genetics*, Tubingen, V. 43, n. 10, p. 956-963, oct. 2011.
- CAROL, P.; KUNTZ, M. A plastid terminal oxidase comes to light: Implications for carotenoid biosynthesis and chlororespiration. *Trends in Plant Science*, v. 6, n. 1, p. 31–36, 2001.
- CARRER, H.; et al. Biotecnologia na Agricultura. *Estudos Avançados*. V. 24, n. 70, p. 149-164, 2010.
- CHEN et al. MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. *Acta Crystallographica*. V. 66, p. 12-21, 2010.
- CHIANG, M. H.; SHEN, H. L.; CHENG, W. H. Genetic analyses of the interaction between abscisic acid and gibberellins in the control of leaf development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, Taiwan, V. 236, p. 260-271, apr. 2015.

- CHU, H. D. et al. Genome-wide analysis of genes encoding methionine-rich proteins in *Arabidopsis* and soybean suggesting their roles in the adaptation of plants to abiotic stress. *International Journal of Genomics*. Vietnam, V. 2016, p.1-8, jul. 2016.
- CLAUW, P. et al. Leaf Responses to Mild Drought Stress in Natural Variants of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. Belgium, V. 167, p. 800-816, mar. 2015.
- CLEVENGER, J. A. et al. Single Nucleotide Polymorphism Identification in Polyploids: A Review, Example, and Recommendations. *Molecular Plant*. V. 8, p. 831-846, jun. 2015.
- COSTA, C. T. Expressão gênica em mutantes de *Arabidopsis thaliana* responsivos à deficiência de fosforo e nitrogênio. 2011. 115p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Unirversidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- COSTA, J. H.; SVENSSON, J. T. AOX gene diversity in *Arabidopsis* ecotypes. In: GUPTA, K. J. et al. *Alternative Respiratory Pathways in Higher Plants*. Chichester: Jhon Wiley and Sons Ltd, 2015.
- DEN DUNNEN, J. T.; ANTONARAKIS, S. E. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum Genet*. V. 109, p. 121–124, 2001.
- DELATORRE, C. A.; SILVA, A. A. *Arabidopsis thaliana*: uma pequena planta um grande papel. *Revista de Ciências Agrárias*, Porto Alegre, abr. 2008.
- DÍAZ, M. et al. Chlororespiration is involved in the adaptation of Brassica plants to heat and high light intensity. *Plant, Cell and Environment*, v. 30, n. 12, p. 1578–1585, 2007.
- FEILKE, K. et al. In vitro analysis of the plastid terminal oxidase in photosynthetic electron transport. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, v. 1837, n. 10, p. 1684–1690, 2014.
- FINNEGAN, P. M.; UMBACH, A. L.; WILCE, J. A. Prokaryotic origins for the mitochondrial alternative oxidase and plastid terminal oxidase nuclear genes. *FEBS Letters*, v. 555, n. 3, p. 425–430, 2003.
- FU, A. et al. Alternative Oxidases (AOX1a and AOX2) Can Functionally Substitute for Plastid Terminal Oxidase in *Arabidopsis* Chloroplasts. *The Plant Cell*, v. 24, n. 4, p. 1579–1595, 2012.
- FU, A.; ALURU, M.; RODERMEL, S. R. Conserved active site sequences in arabidopsis plastid terminal oxidase (PTOX). In vitro and in planta mutagenesis studies. *Journal of Biological Chemistry*, v. 284, n. 34, p. 22625–22632, 2009.
- FU, A.; PARK, S.; RODERMEL, S. Sequences required for the activity of PTOX (IMMUTANS), a plastid terminal oxidase: In vitro and in planta mutagenesis of iron-binding sites and a conserved sequence that corresponds to exon 8. *Journal of Biological Chemistry*, v. 280, n. 52, p. 42489–42496, 2005.
- GAMBOA, J.; MUNÓZ, R.; QUILES, M. J. Effects of antimycin A and n-propyl gallate on photosynthesis in sun and shade plants. *Plant Sci*. V. 177, p. 643–647, 2009.

GAN, X. et al. Multiple reference genomes and transcriptomes for *Arabidopsis thaliana*, *Nature*. Oxford, V. 477, n. 10414, p. 419-423, sep. 2011.

GANAL, M. W. et al. SNP identification in crop plants. *Plant Biology*. Gatersleben, V. 12, p. 211-217, jan. 2009.

GEPSTEIN, S.; HORWITZ, A. THE IMPACT OF ARABIDOPSIS RESEARCH ON PLANT BIOTECHNOLOGY. *Biotechnology Advances*. Haifa, V. 13, n. 3, p. 403-414, 1995.

GRAPHPAD PRISM S. One-way ANOVA with Tukey's post test was performed using GraphPad Prism version 5.00 for Windows. San Diego, California, USA.

GRAPHPAD PRISM S. Student's t test was performed using GraphPad Prism version 5.00 for Windows. San Diego, California, USA.

GUIMARÃES, C. T. Aplicação De Marcadores Moleculares No Melhoramento Genético. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 25, 2004 Cuiabá, Resumo.

GUPTA, P. K. et al. Array-based high-throughput DNA markers for crop improvement. *Heredity*. Uttar Pradesh, V. 101, p. 5-18, may. 2008.

HANWELL, M. D. et al. "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform". *Journal of Cheminformatics*. V. 4, n. 17, 2012.

HE, F. et al. Genetic diversity of the natural populations of *Arabidopsis thaliana* in China. *Heredity*. Beijing, V. 99, p. 423-431, jun. 2007.

HENRY, R.; EDWARDS, K. New tools for single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and analysis accelerating plant biotechnology. *Plant Biotechnology Journal*. V. 7, p. 311, 2009.

HEYNO, E. et al. Plastid alternative oxidase (PTOX) promotes oxidative stress when overexpressed in tobacco. *Journal of Biological Chemistry*, v. 284, n. 45, p. 31174–31180, 2009.

HIROSE, Y. et al. The Arabidopsis TAC Position Viewer: a high-resolution map of transformation-competent artificial chromosome (TAC) clones aligned with the *Arabidopsis thaliana* Columbia-0 genome. *The Plant Journal*. V. 83, p. 1114-1122, jul. 2015.

HOFMANN, K.; STOFFEL, W. TMbase - A database of membrane spanning proteins segments. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, V. 374, p. 166, 1993.

HOOFT, R. W. W. et al. Errors in protein structures. *Nature*. V. 381, p. 272, 1996.

HOWLES, P. A. et al, A temperature-sensitive allele of a putative mRNA splicing helicase down-regulates many cell wall genes and causes radial swelling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*. V. 91, p. 1-13, 2016.

IBÁÑEZ, H. et al. Chlororespiration and tolerance to drought, heat and high illumination.

Journal of Plant Physiology, v. 167, n. 9, p. 732–738, 2010.

JOËT, T. et al. Involvement of a plastid terminal oxidase in plastoquinone oxidation as evidenced by expression of the *Arabidopsis thaliana* enzyme in tobacco. *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 35, p. 31623–31630, 2002.

JOHNSON, G. N.; STEPIEN, P. Plastid terminal oxidase as a route to improving plant stress tolerance: Known knowns and known unknowns. *Plant and Cell Physiology*, v. 57, n. 7, p. 1387–1396, 2016.

JONES, D. T. Improving the accuracy of transmembrane protein topology prediction using evolutionary information. *Bioinformatics*. V. 23, p. 538-544, 2007.

JONES, D. T. Protein secondary structure prediction based on position-specific scoring matrices. *J. Mol. Biol.* V. 292, p. 195-202, 1999.

JONES, D. T.; TAYLOR, W. R.; THORTON, J. M. A Model Recognition Approach to the Prediction of All-Helical Membrane Protein Structure and Topology. *Biochem.* V. 33, p. 3038-3049, 1994.

JOSSE, E. M. et al. A plastid terminal oxidase associated with carotenoid desaturation during chromoplast differentiation. *Plant physiology*, v. 123, n. August, p. 1427–1436, 2000.

JOSSE, E. M. et al. In vitro characterization of a plastid terminal oxidase (PTOX). *European Journal of Biochemistry*, v. 270, n. 18, p. 3787–3794, 2003.

KAMBAKAM, S. et al. PTOX Mediates Novel Pathways of Electron Transport in Etioplasts of *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, v. 9, n. 9, p. 1240–1259, 2016.

KATERINA, C. et al. MBPpred: Proteome-wide detection of membrane lipid-binding proteins using profile Hidden Markov Models. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. V. 10, 2016.

KELLEY, L. A. et al. *Nature Protocols*. V. 10, p. 845-858, 2015.

KHURANA, N.; CHAUHAN, H.; KHURANA, P. Characterization of a chloroplast localized wheat membrane protein (TaRCI) and its role in heat, drought and salinity stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Gene*. New Delhi, V. 4, p. 45-54, sep. 2015.

KIM, S. et al. Recombination and linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics*. V. 39, n. 9, p. 1151-1155, sep. 2007.

KOENIG, D.; WEIGEL, D. Beyond the thale: comparative genomics and genetics of *Arabidopsis* relatives. *Genetics*, Tubingen, V. 16, p. 285-298, may. 2015.

KOORNNEEF, M.; MEINKE, D. The development of *Arabidopsis* as a model plant. *The Plant Journal*. V. 61, p. 909-921, oct. 2010.

KOTTEK, M. et al. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol. Z.* V. 15, p. 259-263, 2006.

KRIEGER-LISZKAY, A.; FEILKE, K. The Dual Role of the Plastid Terminal Oxidase PTOX: Between a Protective and a Pro-oxidant Function. *Frontiers in Plant Science*. Paris, V. 6, jan. 2016.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution* (submitted), 2015.

KUNTZ, M. Plastid terminal oxidase and its biological significance. *Planta*, v. 218, n. 6, p. 896–899, 2004.

LANG, Z.; XIE, S.; ZHU, J. K. The 1001 *Arabidopsis* DNA Methylomes: an important resource for studying natural genetic, epigenetic, and phenotypic variation. *CellPress*, 2016.

LASKY, J. R. et al. Characterizing genomic variation of *Arabidopsis thaliana*: the roles of geography and climate. *Molecular Ecology*. V. 21, p. 5512-5529, may. 2012.

LEONELLI, S. *Arabipopsis*, the botanical drosophila: from mouse cress to model organism. *ScienceDirect*, Endeavour, London, V. 31, n. 1, p.34-38, mar. 2007.

LEONELLI, S. What Makes a Model Organism?. *Journal Endeavour*, Byrne House, V. 001, jul. 2013.

LI, H. M.; CHIU, C. C. Protein transport into chloroplasts. *Annu. Rev. Plant Biol.* V. 61, p. 157-180, 2010.

LI, Q. et al. Transposable elements, mRNA expression level and strand-specificity of small RNAs are associated with non-additive inheritance of gene expression in hybrid plants. *BMC Plant Biology*. Illinois, V. 15, n. 168, p. 2-11, 2015.

LUO, Y.; WIDMER, A.; KARRENBERG, S. The roles of genetic drift and natural selection in quantitative trait divergence along an altitudinal gradient in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity*. V. 114, p. 220-228, oct. 2014.

LUTZ, U. et al. Modulation of Ambient Temperature-Dependent Flowering in *Arabidopsis thaliana* by Natural Variation of FLOWERING LOCUS M. *PLoS Genetics*. Switzerland, V. 11, n. 10, p. 1-16, oct. 2015.

MAGALHÃES, C. S. et al. A Dynamic Niching Genetic Algorithm Strategy for Docking of Highly Flexible Ligands. *Information Sciences*. V. 289, p. 206-224, 2014.

MAGALHÃES, C. S. et al. Selection-Insertion Schemes in Genetic Algorithms for the Flexible Ligand Docking Problem. *Lecture Notes in Computer Science*. V. 3102, p. 1-12, 2004.

MAMMADOV, J. et al. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. *International Journal of Plant Genomics*. Indianapolis, V. 2012, p. 11, nov. 2012.

MARTIENSSEN, R.; MCCOMBIE, W. R. The First Plant Genome. *Cell Press*. Cold Spring Harbor, V. 105, p. 571-574, jun. 2001.

- MAUMUS, F.; QUESNEVILLE, H. Ancestral repeats have shaped epigenome and genome composition for millions of years in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Communications*. V. 5, n. 4104, p. 1-9, jun. 2014.
- MCDONALD, A. E. et al. Flexibility in photosynthetic electron transport: The physiological role of plastoquinol terminal oxidase (PTOX). *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, v. 1807, n. 8, p. 954–967, 2011.
- MCDONALD, A. E.; VANLERBERGHE, G. C. Origins, evolutionary history, and taxonomic distribution of alternative oxidase and plastoquinol terminal oxidase. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics*, v. 1, n. 3, p. 357–364, 2006.
- MÉNDEZ-VIGO, B. et al. Altitudinal and Climatic Adaptation Is Mediated by Flowering Traits and *FRI*, *FLC*, and *PHYC* Genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. Madrid, V. 157, p. 1942-1955, dec. 2011.
- MEYEROWITZ, E.M. *Arabidopsis thaliana*. *Annual Review of Genetics*, Palo Alto, v. 21, p. 93-111, 1987.
- MOJICA, J. P.; et al. Genetics of water use physiology in locally adapted *Arabidopsis thaliana*, *Plant Science*, Durham, V. 251, p. 12-22, apr. 2016.
- MONNÉ, M. et al. Functional characterization and organ distribution of three mitochondrial ATP-Mg/P_i carriers in *Arabidopsis thaliana*. *Biochimica et Biophysica Acta*, Bari, V. 1847, p. 1220-1230, jul. 2015.
- MOSCA, E. et al. The geographical and environmental determinants of genetic diversity for four alpine conifers of the European Alps. *Molecular Ecology*. V. 21, p. 5530-5545, aug. 2012.
- MUZI, C. et al. Cold stress affects H⁺ -ATPase and phospholipase D activity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*. Roma, V. 108, p. 328-336, jul. 2016.
- NAWROCKI, W. J. et al. The Plastid Terminal Oxidase: Its Elusive Function Points to Multiple Contributions to Plastid Physiology. *Annual Review of Plant Biology*, v. 66, n. 1, p. 150112150216002, 2015.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1328 p.
- NORDBORG, M. et al. The Pattern of Polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Biol*. V. 3, n. 7, p. 1289-1299, jul. 2005.
- NOSHI, M. et al. *Arabidopsis* clade IV TGA transcription factors, TGA10 and TGA9, are involved in ROS-mediated responses to bacterial PAMP flg22. *Plant Science*, Nara, V. 252, p. 12-21, jun. 2016.

NUGENT, T. & JONES, D. T. Transmembrane protein topology prediction using support vector machines. *BMC Bioinformatics*. V. 10, p. 159, 2009.

OKEGAWA, Y.; KOBAYASHI, Y.; SHIKANAI, T. Physiological links among alternative electron transport pathways that reduce and oxidize plastoquinone in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, v. 63, n. 3, p. 458–468, 2010.

OLIVAS, N. H. D. et al. Genome-wide association analysis reveals distinct genetic architectures for single and combined stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*. Wageningen, p. 1-14, jul. 2016.

PAGE, D. R.; GROSSNIKLAUS, U. The art and design of genetic screens: *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, Zurich, V. 3, p. 124-136, feb. 2002.

QUILES, M. J. Stimulation of chlororespiration by heat and high light intensity in oat plants. *Plant, Cell and Environment*, v. 29, n. 8, p. 1463–1470, 2006.

RAFALSKI, A. Applications of Single Nucleotides Polymorphisms in Crop Genetics. *Plant Biology*. Delaware, V. 5, p. 94-100, 2002.

RAFALSKI, J. A. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science*. Delaware. V. 162, p. 329-333, nov. 2001.

REJEB, K. B. et al. Hydrogen peroxide produced by NADPH oxidases increases proline accumulation during salt or manitol stress in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*. V. 208, p. 1138-1148, jun. 2015b.

REJEB, K. B. et al. NADPH oxidase-dependent H₂O₂ production is required for salt-induced antioxidante defense in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, Tunisia, V. 174, p. 5-15, oct. 2015a.

RHEE, S.Y. et. al. The *Arabidopsis* Information Resource (TAIR): a model organism database providing a centralized, curated gateway to *Arabidopsis* biology, research materials and community. *Nucleic Acids Res*, V. 31, n. 1, p. 224–228, jan. 2003.

ROCHE, H. R. Genes and Health. SNPs: The great importance of small differences. 3. ed. Switzerland: Corporate Communications, p. 83-94, 2007.

ROY, A.; KUCUKURAL, A.; ZHANG, Y. I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nature Protocols*. V. 5, p. 725-738, 2010.

RUMEAU, D.; PELTIER, G.; COURNAC, L. Chlororespiration and cyclic electron flow around PSI during photosynthesis and plant stress response. *Plant, Cell and Environment*, v. 30, n. 9, p. 1041–1051, 2007.

SANCHÉZ-BERMEJO, E. et al. Genetic architecture of natural variation in 18 thermal responses of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*. 2015.

SAVITCH, L. V. et al. Regulation of energy partitioning and alternative electron transport pathways during cold acclimation of Lodgepole pine are oxygen-dependent. *Plant Cell Physiol.* V. 51, p. 1555–1570, 2010.

SAVOLAINEN, O.; LASCOUX, M. Geography matters for Arabidopsis. *Nature Genomics.* V. 537, p. 314-315, sep. 2016.

SCHMID, K. J. et al. Large-Scale Identification and Analysis of Genome-Wide Single-Nucleotide Polymorphisms for Mapping in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Research.* Cold Spring Harbor, V. 13, p. 1250-1257, 2003.

SCHRODINGER, LLC. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8

SEREN, U. et al. AraPheno: a public database for *Arabidopsis thaliana* phenotypes. *Nucleic Acids Research*, Wurzburg, dec. 2016.

SHAHBAZI, M. et al. Dual role of the plastid terminal oxidase in tomato. *Plant physiology*, v. 145, n. November, p. 691–702, 2007.

SHIRAO, M. et al. Gymnosperms have increased capacity for electron leakage to oxygen (Mehler and PTOX reactions) in photosynthesis compared with angiosperms. *Plant and Cell Physiology*, v. 54, n. 7, p. 1152–1163, 2013.

SIMKIN, A. J. et al. An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *J. Plant Physiol.* V. 165, p. 1087–1106, 2008.

SIMKIN, A. J. et al. Comparison of carotenoid content, gene expression and enzyme levels in tomato (*Lycopersicon esculentum*) leaves. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, v. 58, n. 5–6, p. 371–380, 2003b.

SIMKIN, A. J. et al. Light-dark regulation of carotenoid biosynthesis in pepper (*Capsicum annuum*) leaves. *Journal of Plant Physiology*, v. 160, p. 439–443, 2003a.

SOMERVILLE, C.; KOORNNEEF, M. A fortunate choice: the history of Arabidopsis as a model plant. *Genetics.* Califórnia, V. 3, p. 883-889, nov. 2002.

STECCANELLA, V.; HANSSON, M.; JENSEN, P. E. Linking chlorophyll biosynthesis to a dynamic plastoquinone pool. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 97, p. 207–216, 2015.

STONEKING M. From the evolutionary past... *Nature.* Leipzig, V. 409, p. 821-822, feb. 2001.

STRACHAN, T.; READ, A. Organismos-modelo, genômica comparativa e evolução. In: TOM STRACHAN E ANDREW READ. *Genética Molecular Humana.* 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, p. 298-342.

STREB, P. et al. Evidence for alternative electron sinks to photosynthetic carbon assimilation in the high mountain plant species *Ranunculus glacialis*. *Plant Cell Environ.* V. 28, p. 1123–1135, 2005.

SUN, X.; WEN, T. Physiological roles of plastid terminal oxidase in plant stress responses. *Journal of Biosciences*, v. 36, n. 5, p. 951–956, 2011.

TALLÓN, C.; QUILES, M. J. Acclimation to heat and high light intensity during the development of oat leaves increases the NADH DH complex and PTOX levels in chloroplasts. *Plant Science*, v. 173, n. 4, p. 438–445, 2007.

THE 1001 EPIGENOMES CONSORTIUM. Epigenomic diversity in a global collection of *Arabidopsis thaliana* accessions. *Cell*, Tubingen, V. 166, p. 492-505, jul. 2016.

THE 1001 GENOMES CONSORTIUM. 1,135 Genomes reveal the global pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, Tubingen, V. 166, p. 481-491, jul. 2016.

THE ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*, *Nature*, V. 408, p. 796-815, dec. 2000.

THE MULTINATIONAL COORDINATED *Arabidopsis thaliana* RESEARCH PROJECT. *Progress Report: Year Six (1997)* NSF Publication, n 97-131 (available by e-mail from pubs@nsf.gov) (also <http://www.nsf.gov/cgi-bin/getpub?nsf97131>)

THOMSON, M. J. High-Throughput SNP Genotyping to Accelerate Crop Improvement. *Plant Breed. Biotech. Philippines*, V. 2, n. 3, p. 195-212, sep. 2014.

THORISSON, G. A.; STEIN, L. D. The SNP Consortium website: past, present and future. *Nucleic Acid Research*. Cold Spring Harbor, V. 31, n. 1, p. 124-127, sep. 2003.

TRAPNELL, C.; PACHTER, L.; SALZBERG, S. L. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics*. doi:10.1093/bioinformatics/btp120.

TROUILLARD, M. et al. Kinetic properties and physiological role of the plastoquinone terminal oxidase (PTOX) in a vascular plant. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, v. 1817, n. 12, p. 2140–2148, 2012.

TU, M. et al. Expression of a grape (*Vitis vinifera*) bZIP transcription factor, VIbZIP36, in *Arabidopsis thaliana* confers tolerance of drought stress during seed germination and seedling establishment. *Plant Science*, Shaanxi, V. 252, p. 311-323, aug. 2016.

TYAGI, A. et al. High light intensity plays a major role in emergence of population level variation in *Arabidopsis thaliana* along an altitudinal gradient. *Scientific Reports*. V. 6, n. 26160, p. 1-13, may. 2016.

VEEN, H. V. et al. Transcriptomes of eight *Arabidopsis thaliana* accessions reveal core conserved, genotype- and organ-specific responses to flooding stress. *Plant Physiology*. 2015.

WANG, K.; et al. Functional differentiation in UV-B-induced DNA damage and growth of two *Arabidopsis* species. *Environmental and Experimental Botany*, Sendai, V. 131, p. 110-119, jul. 2016.

WEBB, B.; SALI, A. Comparative Protein Structure Modeling Using Modeller. *Current Protocols in Bioinformatics*. John Wiley & Sons Inc., V. 5, n. 6, p. 1-32, 2014.

WEINER, M. P., HUDSON, T. J. Introduction to SNPs: discovery of markers for disease. *BioTechniques*. V. 32, p. S4-S13, 2002.

WIGGE, A.; WEIGEL, D. Arabidopsis genome: Life without Notch. *Current Biology*. Califórnia, V. 11, p. 112-114, nov. 2001.

YANG, J. et al. The I-TASSER Suite: Protein structure and function prediction. *Nature Methods*, V. 12, p. 7-8, 2015.

YANT, L.; BOMBLIES, K. Genomic studies of adaptive in outcrossing *Arabidopsis* species. *ScienceDirect*, Norwich, V. 37, p. 9-14, 2017.

YU, Q. et al. Functional and molecular characterization of plastid terminal oxidase from rice (*Oryza sativa*). *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, v. 1837, n. 8, p. 1284–1292, 2014.

ZELLER, G.; et al. Detecting polymorphic regions in *Arabidopsis thaliana* with resequencing microarrays, *Genomes Research*, Tubingen, V. 18, p. 918-929, mar. 2008.

ZHANG, Y. I-TASSER server for protein 3D structure prediction. *BMC Bioinformatics*, V. 9, p. 40, 2008.

*C233T	159, 351, 430, 915, 1061, 1063, 1066, 1070, 1313, 1317, 2016, 5151, 5210, 5741, 5831, 5832, 5856, 5860, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6016, 6017, 6019, 6020, 6021, 6022, 6025, 6035, 6036, 6038, 6039, 6041, 6043, 6046, 6064, 6069, 6070, 6071, 6074, 6076, 6085, 6086, 6087, 6096, 6097, 6099, 6105, 6107, 6108, 6109, 6113, 6114, 6115, 6123, 6126, 6141, 6153, 6154, 6163, 6166, 6169, 6172, 6173, 6174, 6184, 6188, 6189, 6192, 6194, 6195, 6198, 6203, 6209, 6210, 6214, 6216, 6218, 6220, 6221, 6235, 6237, 6238, 6240, 6243, 6258, 6413, 6830, 6900, 6901, 6913, 6919, 6931, 6932, 6951, 6956, 6957, 6960, 6961, 6968, 6969, 6974, 6975, 6979, 6981, 6984, 6990, 6992, 7002, 7003, 7013, 7014, 7025, 7031, 7062, 7067, 7096, 7102, 7103, 7106, 7120, 7125, 7126, 7127, 7143, 7147, 7177, 7181, 7183, 7186, 7192, 7207, 7213, 7223, 7236, 7250, 7255, 7268, 7273, 7288, 7296, 7298, 7314, 7316, 7319, 7320, 7328, 7343, 7346, 7347, 7373, 7394, 7396, 7411, 7413, 7417, 7418, 7419, 7427, 7430, 7460, 7461, 7514, 7520, 7521, 7917, 8214, 8227, 8230, 8231, 8240, 8241, 8256, 8283, 8285, 8290, 8307, 8311, 8326, 8334, 8351, 8365, 8419, 8422, 8424, 8426, 8427, 9058, 9103, 9125, 9128, 9130, 9131, 9133, 9134, 9321, 9323, 9332, 9336, 9352, 9353, 9386, 9388, 9390, 9391, 9392, 9294, 9295, 9408, 9409, 9412, 9413, 9416, 9427, 9433, 9436, 9450, 9451, 9452, 9453, 9481, 9510, 9511, 9514, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9564, 9587, 9589, 9608, 9609, 9636, 9638, 9639, 9640, 9644, 9645, 9648, 9664, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672, 9673, 9676, 9677, 9678, 9679, 9680, 9681, 9682, 9683, 9684, 9685, 9686, 9687, 9689, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9701, 9703, 9704, 9710, 9713, 9716, 9719, 9720, 9722, 9723, 9728, 9730, 9731, 9732, 9733, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9769, 9770, 9772, 9774, 9775, 9777, 9778, 9779, 9780, 9781, 9783, 9784, 9785, 9786, 9788, 9789, 9790, 9791, 9793, 9795, 9796, 9798, 9799, 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9810, 9812, 9813, 9836, 9840, 9843, 9878, 9880, 9889, 9900, 9901, 9912, 9915, 9925, 9956, 9973, 9975, 9979, 9986, 10002, 10011, 10017, 10020, 10023, ICE73 ICE79, ICE97, Niel-2, TueSB30-3, TueWal-2, WalhaesB4, Yeg-1, Cdm-0, Del-10, EY15-2, HKT2-10, ICE163, ICE181, ICE21, ICE212, ICE213, ICE226, ICE228, ICE33, ICE60, ICE61, ICE63
*C242A	159, 351, 410, 430, 915, 1061, 1063, 1066, 1070, 1313, 1317, 2016, 5151, 5210, 5741, 5831, 5832, 5856, 5860, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6016, 6017, 6019, 6020, 6021, 6022, 6025, 6035, 6036, 6038, 6039, 6041, 6043, 6046, 6064, 6069, 6070, 6071, 6074, 6076, 6085, 6086, 6087, 6096, 6097, 6099, 6105, 6107, 6108, 6109, 6113, 6114, 6115, 6123, 6126, 6141, 6153, 6154, 6163, 6166, 6169, 6172, 6173, 6174, 6184, 6188, 6189, 6192, 6194, 6195, 6198, 6203, 6209, 6210, 6214, 6216, 6218, 6220, 6221, 6235, 6237, 6238, 6240, 6243, 6258, 6830, 6900, 6901, 6913, 6919, 6931, 6932, 6951, 6956, 6957, 6961, 6968, 6969, 6974, 6975, 6979, 6981, 6984, 6990, 6992, 7002, 7003, 7013, 7014, 7025, 7031, 7062, 7067, 7096, 7102, 7103, 7106, 7120, 7125, 7126, 7127, 7143, 7147, 7177, 7181, 7183, 7186, 7192, 7207, 7213, 7223, 7236, 7250, 7255, 7268, 7273, 7288, 7296, 7298, 7314, 7316, 7319, 7320, 7328, 7343, 7346, 7347, 7373, 7394, 7396, 7411, 7413, 7417, 7418, 7419, 7427, 7430, 7460, 7461, 7514, 7520, 7521, 7917, 8214, 8227, 8230, 8231, 8240, 8241, 8256, 8283, 8285, 8290, 8307, 8311, 8326, 8334, 8351, 8365, 8419, 8422, 8424, 8426, 8427, 9058, 9103, 9125, 9128, 9130, 9131, 9133, 9134, 9321, 9323, 9332, 9336, 9352, 9353, 9386, 9388, 9390, 9391, 9392, 9294, 9295, 9408, 9409, 9412, 9413, 9416, 9427, 9433, 9436, 9450, 9451, 9452, 9453, 9481, 9510, 9511, 9514, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9564, 9587, 9589, 9608, 9609, 9636, 9638, 9639, 9640, 9644, 9645, 9648, 9664, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672, 9673, 9676, 9677, 9678, 9679, 9680, 9681, 9682, 9683, 9684, 9685, 9686, 9687, 9689, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9701, 9703, 9704, 9710, 9713, 9716, 9719, 9720, 9722, 9723, 9728, 9730, 9731, 9732, 9733, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9769, 9770, 9772, 9774, 9775, 9777, 9778, 9779, 9780, 9781, 9783, 9784, 9785, 9786, 9788, 9789, 9790, 9791, 9793, 9795, 9796, 9798, 9799, 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9810, 9811, 9812, 9836, 9840, 9843, 9878, 9880, 9889, 9900, 9901, 9912, 9915, 9925, 9956, 9973, 9975, 9979, 9986, 10002, 10011, 10017, 10020, 10023, ICE73 ICE79, ICE97, Niel-2, TueSB30-3, TueWal-2, WalhaesB4, Yeg-1, Cdm-0, Del-10, EY15-2, HKT2-10, ICE181, ICE21, ICE212, ICE213, ICE226, ICE228, ICE33, ICE60, ICE61, ICE63
G258A	159, 430, 915, 1061, 1063, 1066, 1070, 1313, 1317, 2016, 2317, 5151, 5210, 5741, 5748, 5757, 5831, 5832, 5856, 5860, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6016, 6017, 6019, 6020, 6021, 6022, 6025, 6030, 6035, 6036, 6038, 6039, 6041, 6043, 6046, 6064, 6069, 6070, 6071, 6074, 6076, 6085, 6086, 6087, 6096, 6097, 6099, 6105, 6107, 6108, 6109, 6113, 6114, 6115, 6123, 6126, 6141, 6153, 6154, 6163, 6166, 6169, 6172, 6173, 6174, 6184, 6188, 6189, 6192, 6194, 6195, 6198, 6203, 6209, 6210, 6214, 6216, 6218, 6220, 6221, 6235, 6237, 6238, 6240, 6243, 6258, 6830, 6900, 6901, 6913, 6919, 6931, 6932, 6951, 6956, 6957, 6961, 6968, 6969, 6974, 6975, 6979, 6981, 6984, 6990, 6992, 7002, 7003, 7013, 7014, 7025, 7031, 7062, 7067, 7096, 7102, 7103, 7106, 7120, 7125, 7126, 7127, 7143, 7147, 7177, 7181, 7183, 7186, 7192, 7207, 7213, 7223, 7236, 7250, 7255, 7268, 7273, 7288, 7296, 7298, 7314, 7316, 7319, 7320, 7328, 7343, 7346, 7347, 7373, 7394, 7396, 7411, 7413, 7417, 7418, 7419, 7427, 7430, 7460, 7461, 7514, 7520, 7521, 7917, 8214, 8227, 8230, 8231, 8240, 8241, 8256, 8283, 8285, 8290, 8307, 8311, 8326, 8334, 8351, 8365, 8422, 8424, 8426, 8427, 9058, 9103, 9125, 9128, 9130, 9131, 9133, 9134, 9321, 9323, 9332, 9336, 9352, 9353, 9386, 9388, 9390, 9391, 9392, 9294, 9295, 9408, 9409, 9412, 9413, 9416, 9427, 9433, 9436, 9450, 9451, 9452, 9453, 9481, 9510, 9511, 9514, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9564, 9587, 9589, 9608, 9609, 9636, 9638, 9639, 9640, 9644, 9645, 9648, 9664, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672, 9673, 9676, 9677, 9678, 9679, 9680, 9681, 9682, 9683, 9684, 9685, 9686, 9687, 9689, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9701, 9703, 9704, 9710, 9713, 9716, 9719, 9720, 9722, 9723, 9728, 9730, 9731, 9732, 9733, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9769, 9770, 9772, 9774, 9775, 9777, 9778, 9779, 9780, 9781, 9783, 9784, 9785, 9786, 9788, 9789, 9790, 9791, 9793, 9795, 9796, 9798, 9799, 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9810, 9811, 9812, 9836, 9840, 9843, 9878, 9880, 9889, 9900, 9901, 9912, 9915, 9925, 9956, 9973, 9975, 9979, 9986, 10002, 10011, 10017, 10020, 10023, ICE73 ICE79, ICE97, Niel-2, TueSB30-3, TueWal-2, WalhaesB4, Yeg-1, Cdm-0, Del-10, EY15-2, HKT2-10, ICE181, ICE21, ICE212, ICE213, ICE226, ICE228, ICE33, ICE60, ICE61, ICE63
*G269A	ICE112
C306T	9355
G324A	265, 403, 424, 470, 476, 484, 504, 506, 544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 742, 763, 765, 766, 768, 772, 853, 854, 867, 868, 870, 932, 1158, 1166, 1254, 1257, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1739, 1741, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 1942, 1943, 2017, 2031, 2053, 2057, 2081, 2091, 2106, 2108, 2141, 2159, 2166, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2278, 2285, 2286, 2370, 2401, 4779, 4826, 4939, 4958, 5236, 5279, 5349, 5353, 5644, 5720, 5726, 5798, 5811, 5822, 5837, 5867, 5921, 6042, 6073, 6098, 6112, 6119, 6124, 6136, 6177, 6201, 6202, 6217, 6231, 6244, 6252, 6255, 6268, 6276, 6396, 6680, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6898, 6904, 6908, 6911, 6918, 6923, 6927, 6929, 6933, 6938, 6944, 6945, 6958, 6959, 6963, 6966, 6970, 6971, 6976, 6986, 6987, 6989, 6994, 7359, 7383, 7389, 7392, 7397, 7398, 7401, 7402, 7404, 7475, 7515, 7516, 7517, 7525, 7529, 7530, 7566, 7568, 7717, 7757, 7767, 7947, 8037, 8057, 8077, 8132, 8171, 8222, 8233, 8234, 8236, 8244, 8249, 8246, 8249, 8284, 8287, 8354, 8357, 8376, 8464, 8483, 8699, 8723, 9027, 9069, 9070, 9075, 9078, 9079, 9081, 9084, 9085, 9091, 9102, 9111, 9113, 9114, 9115, 9298, 9312, 9314, 9339, 9363, 9371, 9381, 9382, 9383, 9402, 9421, 9442, 9470, 9476, 9503, 9509, 9512, 9515, 9520, 9521, 9524, 9525, 9529, 9532, 9534, 9535, 9537, 9539, 9540, 9542, 9544, 9550, 9552, 9556, 9557, 9558, 9560, 9561, 9565, 9568, 9569, 9573, 9577, 9588, 9592, 9593, 9594, 9595, 9599, 9602, 9611, 9615, 9621, 9643, 9646, 9649, 9651, 9653, 9655, 9658, 9659, 9660, 9663, 9697, 9698, 9700, 9705, 9706, 9707, 9708, 9711, 9712, 9714, 9718, 9721, 9729, 9735, 9737, 9741, 9743, 9745, 9754, 9758, 9759, 9762, 9764, 9766, 9771, 9782, 9787, 9792, 9797, 9800, 9815, 9817, 9819, 9820, 9822, 9824, 9825, 9826, 9827, 9831, 9832, 9833, 9834, 9837, 9841, 9843, 9844, 9845, 9847, 9848, 9849, 9851, 9852, 9853, 9855, 9856, 9859, 9862, 9866, 9867, 9869, 9870, 9871, 9876, 9879, 9881, 9882, 9885, 9886, 9887, 9889, 9892, 9894, 9895, 9906, 9908, 9911, 9917, 9920, 9921, 9927, 9928, 9929, 9930, 9932, 9933, 9935, 9937, 9938, 9939, 9941, 9942, 9944, 9945, 9946, 9947, 9948, 9949, 9950, 9951, 9952, 9953, 9957, 9958, 9959, 9962, 9963, 9968, 9971, 9972, 9976, 9982, 9985, 9987, 9990, 10006, 10008, 10009, 10010, 10012, 10013, 10015, 10018, 14312, 14318, 14319, 15560, 15592, 15593, 18694, 18696, 19949, 19950, 19951, ICE71, ICE72, ICE73, ICE75, ICE93, ICE98, Istitu-1, Kastel-1, Koch-1, Lag-2-10, Leo-1, Lerik-1-3, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Qui-0, Sha, Star-8, Tuescha9, Vie-0, Agu-1, Dog-4, Don-0, Fei-0, ICE1, ICE102, ICE104, ICE112, ICE119, ICE127, ICE130, ICE134, ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE163, ICE169, ICE173, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE7, ICE70 ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE163, ICE169, ICE173, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE7, ICE70, Bay-0, C24
*G340T	9536
*A341T	9536
*C342T	9536
T348G	544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 772, 853, 854, 867, 868, 1158, 1166, 1254, 1257, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 2017, 2031, 2053, 2057, 2108, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2285, 2286, 4779, 4826, 4939, 4958, 5279, 5349, 5353, 5644, 5720, 5726, 5798, 5811, 5822, 5837, 5867, 5921, 6042, 6073, 6098, 6108, 6112, 6119, 6136, 6177, 6201, 6202, 6217, 6231, 6244, 6252, 6255, 6268, 6276, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6917, 6918, 6927, 7058, 7063, 7183, 7209, 7354, 7358, 7359, 7415, 7475, 7516, 7529, 7530, 7566, 7568, 7757, 7767, 8037, 8057, 8132, 8171, 8222, 8234, 8236, 8244, 8464, 8483, 9027, 9069, 9078, 9081, 9084, 9102, 9111, 9114, 9298, 9314, 9363, 9371, 9381, 9382, 9383, 9402, 9421, 9442, 9470, 9476, 9503, 9509, 9512, 9515, 9520, 9521, 9524, 9525, 9529, 9532, 9534, 9535, 9537, 9539, 9540, 9542, 9544, 9550, 9552, 9556, 9557, 9558, 9560, 9561, 9565, 9568, 9569, 9573, 9577, 9588, 9592, 9593, 9594, 9595, 9599, 9602, 9611, 9615, 9621, 9643, 9646, 9649, 9651, 9653, 9655, 9658, 9659, 9660, 9663, 9697, 9698, 9700, 9705, 9706, 9707, 9708, 9711, 9712, 9714, 9718, 9721, 9729, 9735, 9737, 9741, 9743, 9745, 9754, 9758, 9759, 9762, 9764, 9766, 9771, 9782, 9787, 9792, 9797, 9800, 9815, 9817, 9819, 9820, 9822, 9824, 9825, 9826, 9827, 9831, 9832, 9833, 9834, 9837, 9841, 9843, 9844, 9845, 9847, 9848, 9849, 9851, 9852, 9853, 9855, 9856, 9859, 9862, 9866, 9867, 9869, 9870, 9871, 9876, 9879, 9881, 9882, 9885, 9886, 9887, 9889, 9892, 9894, 9895, 9906, 9908, 9911, 9917, 9920, 9921, 9927, 9928, 9929, 9930, 9932, 9933, 9935, 9937, 9938, 9939, 9941, 9942, 9944, 9945, 9946, 9947, 9948, 9949, 9950, 9951, 9952, 9953, 9957, 9958, 9959, 9962, 9963, 9968, 9971, 9972, 9976, 9982, 9985, 9987, 9990, 10006, 10008, 10009, 10010, 10012, 10013, 10015, 10018, 14312, 14318, 14319, 15560, 15592, 15593, 18694, 18696, 19949, 19950, 19951, ICE71, ICE72, ICE73, ICE75, ICE93, ICE98, Istitu-1, Kastel-1, Koch-1, Lag-2-10, Leo-1, Lerik-1-3, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Qui-0, Star-8, Tuescha9, Vie-0, Agu-1, Dog-4, Don-0, Fei-0, ICE1, ICE102, ICE104, ICE112, ICE119, ICE127, ICE130, ICE134, ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE163, ICE169, ICE173, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE7, ICE70
*A355G	544, 546, 680, 681, 685, 687, 728, 853, 854, 867, 868, 932, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 2017, 2031, 2053, 2057, 2108, 2191, 2212, 2239, 2240, 2285, 2286, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6927, 7358, 7359, 7475, 7529, 7530, 7566, 7568, 7757, 7767, 8037, 8057, 8171, 8464, 8483, 9027, 9823, 9860, 9881, 9883, 9935, 15592
*A362G	6153, 6154, 6163, 6166, 6025
T366A	544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 772, 853, 854, 867, 868, 932, 1158, 1166, 1254, 1257, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 2017, 2

A384G	544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 853, 854, 867, 868, 870, 932, 1158, 1166, 1254, 1257, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 2017, 2031, 2053, 2057, 2108, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2285, 2286, 4779, 4826, 4939, 4958, 5236, 5279, 5349, 5798, 6042, 6073, 6098, 6108, 6112, 6119, 6136, 6177, 6201, 6202, 6217, 6231, 6244, 6255, 6268, 6276, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6917, 6918, 6927, 7058, 7063, 7160, 7183, 7358, 7359, 7415, 7475, 7516, 7529, 7530, 7566, 7568, 7757, 7767, 8037, 8057, 8132, 8171, 8222, 8234, 8376, 8424, 8464, 8483, 9027, 9081, 9084, 9102, 9111, 9298, 9314, 9339, 9363, 9371, 9381, 9382, 9383, 9402, 9421, 9442, 9470, 9476, 9503, 9508, 9512, 9515, 9520, 9521, 9524, 9525, 9529, 9534, 9535, 9537, 9540, 9542, 9544, 9545, 9550, 9552, 9553, 9554, 9556, 9557, 9559, 9561, 9568, 9573, 9574, 9584, 9585, 9592, 9593, 9594, 9595, 9602, 9641, 9651, 9663, 9698, 9714, 9832, 9855, 9856, 9876, 9904, 9908, 9910, 9917, 9920, 9927, 9932, 9933, 9935, 9937, 9938, 9939, 9942, 9944, 9946, 9950, 9952, 9953, 9957, 9958, 9962, 9963, 9971, 9976, 9982, 9985, 9990, 9998, 10004, 10009, 10010, 10015, 10018, 14312, 14318, 14319, 15560, 15592, 15593, 18694, 18696, 19949, 19950, 19951, ICE71, ICE72, ICE73, ICE75, ICE93, ICE98, Istisu-1, Kastel-1, Koch-1, Lag-2, Leo-1, Lerik-1-3, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Qui-0, Sha, Star-8, Tucscha9, Vie-0, Agu-1, Dog-4, Don-0, Fei-0, ICE11, ICE102, ICE104, ICE112, ICE119, ICE127, ICE130, ICE134, ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE163, ICE169, ICE173, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE7, ICE70, Bay-0
*T385C	9592, 9933
*C389G	9933, 9932, 9908, 9858, 9832, 9736, 9651, 9633, 9593, 9592, 9587, 9585, 9584
A390T	9567, 9585, 9584, 9587, 9592, 9593, 9633, 9651, 9736, 9832, 9858, 9908, 9932, 9933
A391T	9933, 9932, 9908, 9898, 9858, 9832, 9736, 9651, 9633, 9593, 9592, 9587, 9585, 9584
G392C	9579, 9584, 9585, 9587, 9592, 9593, 9634, 9651, 9736, 9858, 9898, 9908, 9932, 9933
*G393T	9933, 9932, 9908, 9858, 9832, 9831, 9736, 9651, 9634, 9633, 9598, 9593, 9592, 9587, 9585, 9584, 9579
*C396G	9567, 9579, 9584, 9585, 9587, 9592, 9593, 9533, 9534, 9551, 9736, 9858, 9898, 9932, 9933
*T429G	9991, 9985, 9948, 9947, 9946, 9932, 9921, 9949, 9736, 9634, 9600, 9592, 9587, 9584, 9578, 9558, 9544
*T432A	9544, 9556, 9558, 9578, 9584, 9587, 9592, 9600, 9634, 9667, 9736, 9810, 9849, 9858, 9921, 9926, 9946, 9947, 9948, 9951, 9963, 9964, 9966, 9971, 9985, 9986, 9991, 10011
*G433A	9535, 9540, 9541, 9544, 9545, 9547, 9551, 9555, 9558, 9559, 9561, 9564, 9571, 9574, 9576, 9578, 9581, 9582, 9584, 9587, 9589, 9592, 9597, 9599, 9600, 9601, 9608, 9624, 9634, 9635, 9636, 9638, 9639, 9640, 9641, 9644, 9645, 9647, 9656, 9657, 9661, 9664, 9665, 9666, 9667, 9668, 9670, 9672, 9673, 9676, 9680, 9681, 9682, 9686, 9687, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9704, 9707, 9710, 9713, 9719, 9723, 9725, 9727, 9728, 9730, 9731, 9733, 9736, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9770, 9777, 9789, 9781, 9784, 9786, 9788, 9789, 9791, 9793, 9794, 9795, 9799, 9801, 9802, 9803, 9805, 9809, 9810, 9811, 9812, 9813, 9814, 9816, 9821, 9823, 9828, 9830, 9838, 9846, 9849, 9854, 9858, 9860, 9868, 9874, 9877, 9880, 9883, 9891, 9899, 9900, 9901, 9903, 9911, 9912, 9914, 9915, 9918, 9920, 9921, 9924, 9925, 9926, 9932, 9935, 9938, 9939, 9942, 9943, 9946, 9947, 9948, 9950, 9951, 9952, 9953, 9955, 9956, 9957, 9958, 9960, 9963, 9964, 9965, 9966, 9969, 9970, 9971, 9972, 9973, 9975, 9976, 9978, 9979, 9980, 9983, 9985, 9986, 9987, 9988, 9991, 9993, 9995, 9996, 9998, 9999, 10001, 10002, 10008, 10010, 10011, 10014, 10017, 10018, 10020, 10023, 10027, 14313, 13315, 14319, 15592, 15593, 19949, 19950
G537A	9556, 9561, 9598, 9855, 9881, 9905
T553C	6087, 6975, 7025, 7319, 9394, 9416, 9995, 10023, Del-10, HKT2-10
C606T	763, 765, 766, 768, 772, 1890, 6217, 6231, 6917, 6929, 6938, 6963, 7218, 7323, 8354, 9371, 9607, 9610, 9611, 9612, 9613, 9615, 9616, 9619, 9620, 9621, 9622, 9625, 9626, 9627, 9629, 9630, 9632, 9633, 9643, 9691, 9721, 9735, 9743, 9745, 9758, 9766, 9951, 9952, 9953, 9957, 9958, 9971, 9972, 10008, 10009, 10010, 10015, 14312, 14319, 15560, 18694, 18696, ICE71, ICE72, Koch-1, Sha, ICE127, ICE130, ICE134, ICE150, ICE152, ICE153, ICE163, ICE169, ICE173, ICE7, ICE70
G669A	5822, 7287
G678C	630, 801, 5768, 5779, 6967, 7342, 7416, 9454, 9455, 9997, Rue3-1-31
*A706C	6961, 7328
*G781T	9577
C825T	6108, 9701
A849G	265, 403, 424, 428, 470, 476, 484, 504, 506, 531, 544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 742, 763, 765, 766, 768, 772, 853, 854, 867, 868, 870, 915, 932, 1061, 1066, 1070, 1158, 1166, 1254, 1257, 1313, 1317, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1739, 1741, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 1942, 1943, 2016, 2017, 2031, 2053, 2057, 2081, 2091, 2106, 2108, 2141, 2159, 2166, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2276, 2278, 2285, 2286, 2317, 2370, 2412, 4779, 4826, 4939, 4958, 5151, 5236, 5276, 5279, 5349, 5353, 5644, 5720, 5726, 5798, 5811, 5822, 5837, 5860, 5867, 5874, 5890, 5921, 6009, 6019, 6020, 6025, 6030, 6042, 6064, 6069, 6070, 6071, 6073, 6074, 6098, 6107, 6108, 6109, 6112, 6114, 6119, 6123, 6124, 6126, 6136, 6153, 6154, 6163, 6166, 6177, 6184, 6189, 6192, 6193, 6201, 6202, 6209, 6210, 6217, 6220, 6231, 6235, 6237, 6238, 6240, 6241, 6244, 6252, 6255, 6258, 6268, 6276, 6296, 6390, 6396, 6413, 6434, 6680, 6739, 6740, 6744, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6830, 6898, 6900, 6901, 6904, 6908, 6911, 6917, 6918, 6919, 6923, 6927, 6929, 6931, 6932, 6933, 6938, 6944, 6945, 6951, 6956, 6958, 6959, 6961, 6963, 6966, 6968, 6969, 6970, 6971, 6976, 6979, 6981, 6986, 6987, 6989, 6997, 7014, 7026, 7068, 7061, 7063, 7064, 7067, 7068, 7071, 7072, 7077, 7081, 7092, 7094, 7109, 7126, 7130, 7158, 7160, 7163, 7183, 7184, 7187, 7188, 7189, 7199, 7202, 7203, 7207, 7208, 7209, 7213, 7217, 7218, 7231, 7248, 7255, 7268, 7273, 7287, 7305, 7306, 7314, 7320, 7323, 7327, 7328, 7333, 7346, 7349, 7350, 7354, 7358, 7359, 7372, 7377, 7378, 7382, 7383, 7387, 7396, 7415, 7418, 7419, 7424, 7430, 7475, 7514, 7515, 7516, 7517, 7520, 7521, 7523, 7525, 7529, 7530, 7566, 7568, 7717, 7757, 7767, 7917, 7947, 8037, 8057, 8077, 8132, 8171, 8214, 8222, 8230, 8233, 8234, 8240, 8243, 8244, 8246, 8249, 8256, 8284, 8290, 8297, 8311, 8326, 8351, 8354, 8357, 8376, 8419, 8424, 8464, 8483, 8699, 8723, 9027, 9069, 9070, 9075, 9078, 9079, 9081, 9084, 9085, 9091, 9102, 9103, 9111, 9113, 9114, 9115, 9298, 9312, 9314, 9339, 9363, 9371, 9381, 9382, 9383, 9402, 9409, 9421, 9433, 9442, 9452, 9470, 9476, 9481, 9503, 9507, 9508, 9509, 9510, 9511, 9512, 9513, 9515, 9517, 9518, 9519, 9520, 9521, 9522, 9523, 9524, 9525, 9526, 9527, 9528, 9529, 9530, 9531, 9532, 9533, 9534, 9535, 9536, 9537, 9539, 9540, 9541, 9542, 9543, 9544, 9545, 9546, 9549, 9550, 9552, 9553, 9554, 9555, 9556, 9557, 9558, 9559, 9560, 9561, 9562, 9565, 9567, 9568, 9569, 9573, 9574, 9577, 9578, 9579, 9582, 9583, 9584, 9585, 9586, 9587, 9588, 9589, 9590, 9591, 9592, 9593, 9595, 9596, 9598, 9599, 9600, 9606, 9607, 9608, 9610, 9611, 9612, 9613, 9615, 9616, 9617, 9619, 9620, 9621, 9622, 9625, 9626, 9627, 9628, 9629, 9630, 9631, 9632, 9633, 9637, 9641, 9643, 9644, 9646, 9648, 9649, 9651, 9653, 9655, 9657, 9658, 9659, 9660, 9661, 9663, 9664, 9667, 9678, 9691, 9694, 9695, 9696, 9697, 9698, 9700, 9701, 9703, 9704, 9705, 9706, 9707, 9708, 9709, 9710, 9711, 9712, 9714, 9716, 9718, 9721, 9722, 9723, 9726, 9728, 9729, 9730, 9731, 9733, 9735, 9738, 9739, 9741, 9743, 9745, 9748, 9754, 9756, 9757, 9758, 9759, 9761, 9762, 9764, 9766, 9768, 9770, 9771, 9772, 9775, 9777, 9779, 9780, 9781, 9782, 9783, 9784, 9785, 9786, 9787, 9788, 9789, 9790, 9791, 9792, 9793, 9794, 9795, 9797, 9798, 9799, 9800, 9801, 9802, 9804, 9806, 9807, 9810, 9811, 9812, 9813, 9814, 9815, 9817, 9819, 9820, 9822, 9824, 9825, 9826, 9827, 9831, 9832, 9833, 9834, 9835, 9836, 9837, 9840, 9841, 9843, 9844, 9845, 9847, 9848, 9849, 9850, 9851, 9852, 9855, 9856, 9857, 9859, 9861, 9864, 9866, 9867, 9869, 9870, 9871, 9876, 9877, 9878, 9879, 9880, 9881, 9882, 9885, 9886, 9887, 9888, 9889, 9892, 9894, 9897, 9898, 9899, 9900, 9901, 9902, 9904, 9905, 9906, 9908, 9910, 9911, 9914, 9917, 9921, 9925, 9927, 9928, 9929, 9930, 9932, 9933, 9935, 9937, 9938, 9939, 9941, 9942, 9944, 9945, 9946, 9947, 9948, 9949, 9950, 9951, 9952, 9953, 9956, 9957, 9958, 9959, 9962, 9963, 9968, 9970, 9971, 9972, 9973, 9974, 9975, 9982, 9984, 9985, 9990, 9998, 10002, 10004, 10005, 10008, 10009, 10010, 10012, 10013, 10015, 10018, 10022, 14312, 14318, 14319, 15560, 15591, 15592, 15593, 18694, 18696, 19949, 19950, 19951, ICE71, ICE72, ICE75, ICE93, ICE98, Istisu-1, Kastel-1, Koch-1, Lag-2, Leo-1, Lerik-1-3, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Qui-0, Sha, Star-8, Tucscha9, TueWal-2, Vie-0, WalhaesB4, Agu-1, Cdm-0, Dog-4, Don-0, EY15-2, Fei-0, ICE1, ICE102, ICE104, ICE112, ICE119, ICE127, ICE130, ICE134, ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE163, ICE169, ICE173, ICE181, ICE212, ICE213, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE70, ICE71, ICE73, ICE76, ICE77, ICE70, Bay-0, C24
*G868A	9982, ICE93
G870C	265, 403, 424, 470, 476, 484, 504, 506, 544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 742, 763, 765, 766, 772, 853, 854, 867, 868, 870, 932, 1158, 1166, 1254, 1257, 1313, 1317, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1739, 1741, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 1942, 1943, 2017, 2031, 2053, 2057, 2081, 2091, 2106, 2108, 2141, 2159, 2166, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2276, 2278, 2285, 2286, 2370, 2412, 4779, 4826, 4939, 4958, 5151, 5236, 5276, 5279, 5349, 5353, 5644, 5720, 5726, 5798, 5811, 5822, 5837, 5860, 5867, 5921, 6009, 6025, 6030, 6042, 6064, 6069, 6070, 6071, 6073, 6098, 6108, 6112, 6119, 6124, 6136, 6153, 6154, 6163, 6166, 6177, 6184, 6201, 6202, 6209, 6210, 6217, 6220, 6231, 6235, 6237, 6238, 6240, 6241, 6244, 6252, 6255, 6258, 6268, 6276, 6296, 6396, 6413, 6434, 6680, 6739, 6740, 6744, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6830, 6898, 6900, 6901, 6904, 6908, 6911, 6917, 6918, 6919, 6923, 6927, 6929, 6931, 6932, 6933, 6938, 6944, 6945, 6951, 6956, 6958, 6959, 6961, 6963, 6966, 6968, 6969, 6970, 6971, 6976, 6979, 6981, 6986, 6987, 6989, 6997, 7014, 7026, 7033, 7058, 7061, 7063, 7064, 7068, 7071, 7072, 7077, 7081, 7092, 7094, 7109, 7126, 7130, 7158, 7160, 7163, 7183, 7189, 7202, 7203, 7208, 7209, 7217, 7218, 7231, 7248, 7287, 7305, 7306, 7314, 7320, 7323, 7327, 7328, 7333, 7349, 7350, 7354, 7358, 7359, 7372, 7377, 7378, 7382, 7383, 7387, 7415, 7424, 7475, 7515, 7516, 7517, 7523, 7525, 7529, 7530, 7566, 7568, 7717, 7757, 7767, 7947, 8037, 8057, 8077, 8132, 8171, 8214, 8222, 8230, 8233, 8234, 8243, 8244, 8246, 8249, 8284, 8297, 8351, 8354, 8357, 8376, 8424, 8464, 8483, 8699, 8723, 9027, 9069, 9070, 9075, 9078, 9079, 9081, 9084, 9085, 9091, 9102, 9103, 9111, 9113, 9114, 9115, 9298, 9312, 9314, 9339, 9363, 9371, 9381, 9382, 9402, 9421, 9433, 9442, 9470, 9476, 9481, 9503, 9508, 9509, 9512, 9513, 9515, 9517, 9519, 9520, 9521, 9524, 9525, 9526, 9527, 9528, 9529, 9530, 9531, 9532, 9533, 9534, 9535, 9536, 9537, 9539, 9540, 9541, 9542, 9543, 9544, 9545, 9546, 9549, 9550, 9552, 9553, 9554, 9555, 9556, 9557, 9558, 9559, 9560, 9561, 9562, 9565, 9567, 9568, 9569, 9573, 9574, 9577, 9578, 9579, 9582, 9583, 9584, 9585, 9586, 9587, 9588, 9589, 9590, 9591, 9592, 9593, 9595, 9596, 9598, 9599, 9600, 9606, 9607, 9608, 9610, 9611, 9612, 9613, 9615, 9616, 9617, 9619, 9620, 9621, 9622, 9625, 9626, 9627, 9628, 9629, 9630, 9631, 9632, 9633, 9637, 9641, 9643, 9644, 9646, 9648, 9649, 9651, 9653, 9655, 9657, 9658, 9659, 9660, 9661, 9663, 9664, 9667, 9678, 9691, 9694, 9695, 9696, 9697, 9698, 9700, 9701, 9703, 9704, 9705, 9706, 9707, 9708, 9709, 9710, 9711, 9712, 9714, 9716, 9718, 9721, 9722, 9723, 9726, 9728, 9729, 9730, 9731, 9733, 9735, 9738, 9739, 9741, 9743, 9745, 9748, 9754, 9756, 9757, 9758, 9759, 9761, 9762, 9764, 9766, 9768, 9770, 9771, 9772, 9775, 9777, 9779, 9780, 9781, 9782, 9783, 9784, 9785, 9786, 9787, 9788, 9789, 9790, 9791, 9792, 9793, 9794, 9795, 9797, 9798, 9799, 9800, 9801, 9802, 9804, 9806, 9807, 9810, 9811, 9812, 9813, 9814, 9815, 9817, 9819, 9820, 9822, 9824, 9825, 9826, 9827, 9831, 9832, 9833, 9834, 9835, 9836, 9837, 9840, 9841, 9843, 9844, 9845, 9847, 9848, 9849, 9850, 9851, 9852, 9855, 9856, 9857, 9859, 9861, 9864, 9866, 9867, 9869, 9870, 9871, 9876, 9877, 9878, 9879, 9880, 9881, 9882, 9885, 9886, 9887, 9888, 9889, 9892, 9894, 9897, 9898, 9899, 9

*G967A	265, 403, 424, 470, 476, 484, 504, 506, 531, 544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 742, 763, 765, 766, 768, 772, 853, 854, 867, 868, 870, 932, 1158, 1166, 1254, 1257, 1313, 1317, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1739, 1741, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 1942, 1943, 2017, 2031, 2053, 2057, 2081, 2091, 2106, 2108, 2141, 2159, 2166, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2276, 2278, 2285, 2286, 2370, 2412, 4779, 4939, 4958, 5151, 5236, 5276, 5279, 5349, 5353, 5644, 5720, 5726, 5798, 5811, 5822, 5837, 5860, 5867, 5921, 6009, 6025, 6030, 6042, 6064, 6069, 6070, 6071, 6073, 6098, 6108, 6112, 6119, 6124, 6136, 6153, 6154, 6163, 6166, 6177, 6184, 6201, 6202, 6209, 6210, 6217, 6220, 6231, 6235, 6237, 6238, 6240, 6244, 6252, 6255, 6268, 6276, 6296, 6680, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6898, 6900, 6901, 6904, 6908, 6911, 6917, 6918, 6923, 6927, 6929, 6933, 6938, 6944, 6945, 6958, 6959, 6963, 6966, 6968, 6969, 6970, 6971, 6976, 6981, 6986, 6987, 6989, 6997, 7014, 7026, 7033, 7058, 7061, 7063, 7064, 7068, 7071, 7072, 7077, 7081, 7092, 7094, 7109, 7119, 7126, 7130, 7158, 7160, 7163, 7164, 7183, 7199, 7202, 7203, 7208, 7209, 7217, 7218, 7231, 7248, 7287, 7305, 7306, 7314, 7320, 7323, 7327, 7328, 7333, 7344, 7349, 7350, 7354, 7358, 7359, 7372, 7377, 7378, 7382, 7383, 7387, 7415, 7424, 7461, 7475, 7515, 7516, 7523, 7525, 7529, 7530, 7566, 7568, 7717, 7757, 7767, 7947, 8037, 8057, 8077, 8132, 8171, 8214, 8222, 8230, 8233, 8234, 8243, 8244, 8246, 8249, 8284, 8297, 8351, 8354, 8357, 8376, 8419, 8424, 8464, 8483, 8699, 8723, 9027, 9069, 9070, 9075, 9078, 9079, 9081, 9084, 9085, 9091, 9102, 9103, 9111, 9113, 9114, 9115, 9298, 9312, 9314, 9339, 9363, 9371, 9381, 9382, 9383, 9402, 9421, 9433, 9442, 9470, 9476, 9481, 9503, 9508, 9509, 9512, 9513, 9515, 9517, 9519, 9520, 9521, 9524, 9525, 9526, 9527, 9528, 9529, 9530, 9531, 9532, 9533, 9534, 9535, 9536, 9537, 9539, 9540, 9542, 9543, 9544, 9545, 9546, 9549, 9550, 9552, 9553, 9554, 9555, 9556, 9557, 9558, 9559, 9560, 9561, 9562, 9565, 9567, 9568, 9569, 9573, 9574, 9577, 9578, 9579, 9582, 9583, 9584, 9585, 9586, 9588, 9590, 9591, 9592, 9593, 9594, 9595, 9596, 9598, 9599, 9600, 9602, 9606, 9607, 9610, 9611, 9612, 9613, 9615, 9616, 9617, 9619, 9620, 9621, 9622, 9625, 9626, 9627, 9628, 9629, 9630, 9631, 9632, 9633, 9637, 9641, 9642, 9643, 9646, 9649, 9651, 9653, 9655, 9658, 9659, 9660, 9663, 9691, 9697, 9698, 9700, 9701, 9704, 9705, 9706, 9707, 9708, 9709, 9710, 9711, 9712, 9714, 9716, 9718, 9721, 9722, 9729, 9735, 9737, 9741, 9743, 9745, 9754, 9757, 9758, 9759, 9762, 9764, 9766, 9771, 9782, 9787, 9792, 9797, 9800, 9815, 9817, 9819, 9820, 9822, 9824, 9825, 9826, 9827, 9831, 9832, 9833, 9834, 9835, 9836, 9837, 9840, 9841, 9843, 9844, 9845, 9847, 9848, 9849, 9850, 9851, 9852, 9853, 9855, 9856, 9857, 9859, 9861, 9862, 9864, 9866, 9867, 9869, 9870, 9871, 9876, 9879, 9880, 9881, 9882, 9885, 9886, 9887, 9888, 9890, 9894, 9895, 9897, 9898, 9899, 9902, 9904, 9905, 9906, 9908, 9910, 9911, 9917, 9920, 9921, 9927, 9928, 9929, 9930, 9932, 9933, 9935, 9937, 9938, 9939, 9941, 9942, 9944, 9945, 9946, 9947, 9948, 9949, 9950, 9951, 9952, 9953, 9957, 9958, 9959, 9963, 9968, 9971, 9972, 9976, 9984, 9985, 9998, 10004, 10009, 10010, 10012, 10013, 10015, 10018, 10022, 14312, 14318, 14319, 15560, 15591, 15592, 15593, 18694, 18696, 19949, 19950, 19951, 19952, 19951, ICE71, ICE72, ICE75, ICE98, Istisu-1, Kastel-1, Koch-1, Lag2-10, Leo-1, Lerik1-3, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Qui-0, Sha, Star-8, Tuescha9, Vic-0, Agu-1, Dog-4, Don-0, Fei-0, ICE1, ICE102, ICE104, ICE112, ICE119, ICE127, ICE130, ICE134, ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE169, ICE173, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE7, ICE70
*A968T	9982, ICE93
*G973A	1313, 1317, 5860, 6009, 6025, 6030, 6064, 6069, 6070, 6071, 6153, 6154, 6163, 6166, 6184, 6209, 6210, 6220, 6235, 6237, 6238, 6240, 6241, 6900, 6901, 6968, 6969, 6981, 7126, 7314, 7461, 8230, 9433, 9481, 9707, 9718
A984G	2278, 6904, 6945, 9521, 9560, 9831, 9984, ICE98
*G991T	2016, 2317, 5741, 5748, 5890, 6192, 6193, 6390, 6744, 6979, 7143, 7161, 7192, 7255, 7514, 7917, 8311, 9510, 9511, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9587, 9589, 9644, 9657, 9661, 9694, 9695, 9696, 9703, 9723, 9748, 9777, 9781, 9784, 9785, 9786, 9790, 9795, 9806, 9877, 9878, 9900, 9901, 9925, 9943, 9970, 9974, 9975, 10005, TueWal-2, Cdm-0, ICE163, ICE212, ICE213, ICE63
*C997T	6933
C1035G	7072, 9705, 9711
*A1037G	5720, 5822, 6987, 7058, 7061, 7094, 7119, 7209, 7287, 9517, 9569, 9585, 9590, 9596, 9847, 9862, 9890, 9949, Qui-0

APÊNDICE 2 – TABELA QUE EXPÕES OS ACESSOS/ECOTIPOS MUTANTES CORRELACIONANDO-OS ÀS MUDANÇAS DE AMINOÁCIDOS DA POSIÇÃO NA SEQUÊNCIA PROTEICA ESPECIFICADA

Tabela 2: Distribuição das modificações de aminoácidos encontradas na sequência proteica da PTOX em 1190 ecotipos/acessos de *A. thaliana*. As modificações são indicadas na coluna um seguindo as normas de den Dunnen e Antonarakis, 2001. Por exemplo, T13M significa que o aminoácido de treonina (T) presente na posição 13 da sequência proteica da PTOX no ecotipo da referência (Col-0) foi substituído por um aminoácido de metionina (M) no ecotipo mutante. Os IDs dos ecotipos/acessos mutantes são indicados na coluna dois. A – alanina, R – arginina, N – asparagina, D – aspartato, C – cisteína, Q – glutamina, E – glutamato, G – glicina, H – histidina, I – isoleucina, L – leucina, K – lisina, M – metionina, F – fenilalanina, P – prolina, S – serina, T – treonina, W – triptofano, Y – tirosina, V – valina. Os aminoácidos que mudaram para aminoácidos de classes diferentes são indicados com um asterisco (*).

PLASTOQUINOL OXIDASE (PTOX)	
VARIACÃO DE AA	ECOTIPOS MUTANTES
*T13M	351, 410, 424, 428, 430, 628, 915, 1063, 1066, 1070, 1158, 1166, 1254, 1313, 1317, 2016, 2171, 4826, 4958, 5151, 5210, 5349, 5644, 5741, 5811, 5831, 5832, 5856, 5860, 5874, 5921, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6016, 6017, 6019, 6020, 6021, 6022, 6025, 6030, 6035, 6038, 6039, 6041, 6043, 6046, 6064, 6069, 6070, 6071, 6073, 6074, 6076, 6085, 6086, 6087, 6096, 6097, 6099, 6107, 6108, 6109, 6113, 6114, 6115, 6119, 6123, 6126, 6136, 6141, 6153, 6154, 6163, 6166, 6169, 6172, 6173, 6174, 6184, 6188, 6189, 6192, 6193, 6194, 6195, 6198, 6203, 6209, 6210, 6214, 6216, 6218, 6220, 6221, 6235, 6237, 6238, 6240, 6241, 6243, 6258, 6680, 6830, 6898, 6900, 6901, 6908, 6913, 6919, 6931, 6932, 6933, 6944, 6951, 6956, 6957, 6960, 6961, 6966, 6969, 6970, 6971, 6974, 6975, 6976, 6979, 6981, 6984, 6989, 6990, 6992, 6997, 7002, 7003, 7013, 7014, 7025, 7031, 7062, 7067, 7071, 7092, 7096, 7102, 7103, 7106, 7120, 7125, 7127, 7130, 7143, 7147, 7158, 7161, 7163, 7164, 7177, 7181, 7183, 7186, 7199, 7202, 7203, 7207, 7208, 7213, 7217, 7223, 7231, 7236, 7255, 7268, 7273, 7288, 7296, 7298, 7305, 7314, 7316, 7319, 7320, 7328, 7333, 7343, 7344, 7346, 7347, 7373, 7382, 7383, 7387, 7394, 7411, 7413, 7417, 7418, 7419, 7427, 7430, 7460, 7461, 7514, 7520, 7521, 7525, 7917, 7947, 8214, 8227, 8230, 8231, 8240, 8241, 8256, 8283, 8285, 8290, 8297, 8307, 8311, 8326, 8334, 8351, 8365, 8419, 8422, 8424, 8426, 8427, 9058, 9103, 9125, 9128, 9130, 9131, 9133, 9134, 9314, 9321, 9323, 9332, 9336, 9352, 9353, 9386, 9388, 9390, 9391, 9392, 9394, 9395, 9408, 9409, 9412, 9413, 9416, 9427, 9433, 9436, 9450, 9451, 9452, 9453, 9470, 9481, 9503, 9510, 9511, 9514, 9518, 9520, 9522, 9523, 9524, 9529, 9531, 9535, 9541, 9546, 9548, 9552, 9559, 9564, 9584, 9587, 9589, 9591, 9592, 9599, 9608, 9609, 9624, 9635, 9636, 9638, 9639, 9640, 9644, 9645, 9646, 9653, 9657, 9658, 9659, 9664, 9665, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672, 9673, 9676, 9677, 9678, 9679, 9680, 9681, 9682, 9683, 9684, 9685, 9686, 9687, 9689, 9692, 9693, 9694, 9695, 9697, 9698, 9700, 9701, 9703, 9704, 9710, 9712, 9713, 9716, 9720, 9722, 9723, 9727, 9728, 9730, 9731, 9732, 9733, 9736, 9738, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9769, 9770, 9771, 9772, 9774, 9775, 9777, 9778, 9779, 9780, 9781, 9783, 9784, 9785, 9786, 9788, 9789, 9790, 9791, 9793, 9794, 9795, 9796, 9797, 9798, 9799, 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9810, 9811, 9812, 9814, 9816, 9819, 9820, 9826, 9827, 9836, 9840, 9849, 9851, 9859, 9870, 9873, 9876, 9877, 9878, 9880, 9886, 9892, 9899, 9900, 9901, 9906, 9908, 9911, 9912, 9914, 9915, 9920, 9921, 9925, 9928, 9929, 9933, 9955, 9956, 9973, 9975, 9976, 9978, 9979, 9983, 9986, 10004, 10005, 10017, 10020, 10023, 15591, 15592, 19949, 19950, 19951, ICE79, ICE97, Leo-1, Nie1-2, TueSB30-3, Tuescha9, TueWal-2, WalhaesB4, Yeg-1, Agu-1, Cdm-0, Del-10, EY15-2, Fei-0, HKT2-10, ICE1, ICE112, ICE119, ICE181, ICE21, ICE212, ICE213, ICE216, ICE226, ICE228, ICE33, ICE60, ICE61, ICE63, Bay-0
*A26D	9755
S29W	9550
*S44F	TueSB30-3, Nie1-2, ICE97, 9996, 9983, 9909, 9803, 9805, 9794, 9769, 9774, 9778, 9412, 9413, 9390, 9391, 9392, 9352, 9353, 7411, 7413, 7417, 7343, 7298, 7177, 7125, 7127, 7003, 7031, 7062, 6992, 6188, 6198, 6085, 6035, 6039, 6041, 5210, 159, 350, 351
*K74Q	9597
*S78F	159, 351, 410, 430, 915, 1061, 1063, 1066, 1070, 1313, 1317, 2016, 5151, 5210, 5741, 5831, 5832, 5856, 5860, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6016, 6017, 6019, 6020, 6021, 6022, 6025, 6035, 6036, 6038, 6039, 6041, 6043, 6046, 6064, 6069, 6070, 6071, 6074, 6076, 6085, 6086, 6087, 6096, 6097, 6099, 6105, 6107, 6108, 6109, 6113, 6114, 6115, 6123, 6126, 6141, 6153, 6154, 6163, 6166, 6169, 6172, 6173, 6174, 6184, 6188, 6189, 6192, 6194, 6195, 6198, 6203, 6209, 6210, 6214, 6216, 6218, 6220, 6221, 6235, 6237, 6238, 6240, 6243, 6258, 6413, 6830, 6900, 6901, 6913, 6919, 6931, 6932, 6951, 6956, 6957, 6960, 6961, 6968, 6969, 6974, 6975, 6979, 6981, 6984, 6990, 6992, 7002, 7003, 7013, 7014, 7025, 7031, 7062, 7067, 7096, 7102, 7103, 7106, 7120, 7125, 7126, 7127, 7143, 7177, 7181, 7183, 7186, 7207, 7213, 7223, 7236, 7250, 7255, 7268, 7273, 7288, 7296, 7298, 7314, 7316, 7319, 7320, 7328, 7343, 7346, 7347, 7373, 7394, 7411, 7413, 7417, 7418, 7419, 7427, 7430, 7460, 7461, 7514, 7520, 7521, 7917, 8214, 8227, 8230, 8231, 8240, 8241, 8256, 8283, 8285, 8290, 8307, 8311, 8326, 8334, 8351, 8365, 8419, 8422, 8424, 8426, 8427, 9058, 9103, 9125, 9128, 9130, 9131, 9133, 9134, 9321, 9323, 9332, 9336, 9352, 9353, 9386, 9388, 9390, 9391, 9392, 9394, 9395, 9408, 9409, 9412, 9413, 9416, 9427, 9433, 9436, 9450, 9451, 9452, 9453, 9481, 9510, 9511, 9514, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9564, 9587, 9589, 9608, 9609, 9636, 9638, 9639, 9640, 9644, 9645, 9648, 9661, 9664, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672, 9673, 9676, 9677, 9678, 9679, 9680, 9681, 9682, 9683, 9684, 9685, 9686, 9687, 9689, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9701, 9703, 9704, 9710, 9713, 9716, 9719, 9720, 9722, 9723, 9728, 9730, 9731, 9732, 9733, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9769, 9770, 9772, 9774, 9775, 9777, 9778, 9779, 9780, 9781, 9783, 9784, 9785, 9786, 9788, 9789, 9790, 9791, 9793, 9794, 9795, 9796, 9798, 9799, 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9810, 9812, 9813, 9836, 9840, 9873, 9878, 9880, 9899, 9900, 9901, 9912, 9915, 9925, 9956, 9973, 9975, 9979, 9986, 10017, 10020, 10023, ICE73, ICE79, ICE97, Nie1-2, TueSB30-3, TueWal-2, WalhaesB4, Yeg-1, Cdm-0, Del-10, EY15-2, HKT2-10, ICE163, ICE181, ICE21, ICE212, ICE213, ICE226, ICE228, ICE33, ICE60, ICE61, ICE63
*T81K	159, 351, 410, 430, 915, 1061, 1063, 1066, 1070, 1313, 1317, 2016, 5151, 5210, 5741, 5831, 5832, 5856, 5860, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6016, 6017, 6019, 6020, 6021, 6022, 6025, 6035, 6036, 6038, 6039, 6041, 6043, 6046, 6064, 6069, 6070, 6071, 6074, 6076, 6085, 6086, 6087, 6096, 6097, 6099, 6105, 6107, 6108, 6109, 6113, 6114, 6115, 6123, 6126, 6141, 6153, 6154, 6163, 6166, 6169, 6172, 6173, 6174, 6184, 6188, 6189, 6192, 6194, 6195, 6198, 6203, 6209, 6210, 6214, 6216, 6218, 6220, 6221, 6235, 6237, 6238, 6240, 6243, 6258, 6830, 6900, 6901, 6913, 6919, 6931, 6932, 6951, 6956, 6957, 6960, 6968, 6969, 6974, 6975, 6979, 6981, 6984, 6990, 6992, 7002, 7003, 7013, 7014, 7025, 7031, 7062, 7067, 7096, 7102, 7103, 7106, 7120, 7125, 7126, 7127, 7143, 7147, 7177, 7181, 7183, 7186, 7207, 7213, 7223, 7236, 7250, 7255, 7268, 7273, 7288, 7296, 7298, 7314, 7316, 7319, 7320, 7328, 7343, 7346, 7347, 7373, 7394, 7411, 7413, 7417, 7418, 7419, 7427, 7430, 7460, 7461, 7514, 7520, 7521, 7917, 8214, 8227, 8230, 8231, 8240, 8241, 8256, 8283, 8285, 8290, 8307, 8311, 8326, 8334, 8351, 8365, 8419, 8422, 8424, 8426, 8427, 9058, 9103, 9125, 9128, 9130, 9131, 9133, 9134, 9321, 9323, 9332, 9336, 9352, 9353, 9386, 9388, 9390, 9391, 9392, 9394, 9395, 9408, 9409, 9412, 9413, 9416, 9427, 9433, 9436, 9450, 9451, 9452, 9453, 9481, 9510, 9511, 9514, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9564, 9587, 9589, 9608, 9609, 9636, 9638, 9639, 9640, 9644, 9645, 9648, 9661, 9664, 9666, 9667, 9668, 9669, 9670, 9671, 9672, 9673, 9676, 9677, 9678, 9679, 9680, 9681, 9682, 9683, 9684, 9685, 9686, 9687, 9689, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9701, 9703, 9704, 9710, 9713, 9716, 9719, 9720, 9722, 9723, 9728, 9730, 9731, 9732, 9733, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9769, 9770, 9772, 9774, 9775, 9777, 9778, 9779, 9780, 9781, 9783, 9784, 9785, 9786, 9788, 9789, 9790, 9791, 9793, 9794, 9795, 9796, 9798, 9799, 9799, 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9810, 9811, 9812, 9836, 9840, 9854, 9873, 9878, 9880, 9899, 9900, 9901, 9912, 9915, 9925, 9955, 9956, 9973, 9975, 9978, 9979, 9986, 10017, 10020, 10023, ICE73, ICE79, ICE97, Nie1-2, TueSB30-3, TueWal-2, WalhaesB4, Yeg-1, Cdm-0, Del-10, EY15-2, HKT2-10, ICE181, ICE21, ICE212, ICE213, ICE226, ICE228, ICE33, ICE60, ICE61, ICE63
S90N	ICE112
*D114F	9536
I119V	544, 546, 680, 681, 685, 687, 728, 853, 854, 867, 868, 932, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 2017, 2031, 2053, 2057, 2108, 2191, 2212, 2239, 2240, 2285, 2286, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6927, 7358, 7359, 7475, 7529, 7530, 7566, 7568, 7757, 7767, 8037, 8057, 8171, 8464, 8483, 9027, 9823, 9860, 9881, 9883, 9935, 15592
*D121G	6153, 6154, 6163, 6166, 6025
L123F	9567
*T128M	9592, 9933
*Y129Q	9592, 9933
*A130G	9933, 9932, 9908, 9858, 9832, 9736, 9651, 9633, 9593, 9592, 9587, 9585, 9584
*R131S	9933, 9932, 9908, 9858, 9832, 9831, 9736, 9651, 9634, 9633, 9598, 9593, 9592, 9587, 9585, 9584, 9579
F132L	9567, 9579, 9584, 9585, 9587, 9592, 9593, 9533, 9534, 9551, 9736, 9858, 9898, 9932, 9933

*Y143L	Mer-6, Ped-0, Pra-6, Vash, Qui-0, 9985, 9932, 9921, 9736, 9634, 9600, 9592, 9587, 9584, 9578, 9558, 9544
F144L	9544, 9556, 9558, 9578, 9584, 9587, 9592, 9600, 9634, 9667, 9736, 9810, 9849, 9858, 9921, 9926, 9951, 9963, 9964, 9966, 9971, 9985, 9986, Vash, Yeg-1, Mer-6, Ped-0, Pra-6
*A145T	9535, 9540, 9541, 9544, 9545, 9547, 9551, 9555, 9558, 9559, 9561, 9564, 9571, 9574, 9576, 9578, 9581, 9582, 9584, 9587, 9589, 9592, 9597, 9599, 9600, 9601, 9608, 9624, 9634, 9635, 9636, 9638, 9639, 9640, 9641, 9644, 9645, 9647, 9656, 9657, 9661, 9664, 9665, 9666, 9667, 9668, 9670, 9672, 9673, 9676, 9680, 9681, 9682, 9686, 9687, 9690, 9692, 9693, 9694, 9695, 9696, 9704, 9707, 9710, 9713, 9719, 9723, 9725, 9727, 9728, 9730, 9731, 9733, 9736, 9739, 9744, 9747, 9748, 9749, 9756, 9761, 9768, 9770, 9777, 9789, 9781, 9784, 9786, 9788, 9789, 9791, 9793, 9794, 9795, 9799, 9801, 9802, 9803, 9805, 9809, 9810, 9811, 9812, 9813, 9814, 9816, 9821, 9823, 9828, 9830, 9838, 9846, 9849, 9854, 9858, 9860, 9868, 9874, 9877, 9880, 9883, 9891, 9899, 9900, 9901, 9903, 9911, 9912, 9914, 9915, 9918, 9920, 9921, 9924, 9925, 9926, 9932, 9935, 9938, 9939, Agu-1, Cdm-0, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Vie-0, 9951, 9952, 9953, 9955, 9956, 9957, 9958, 9960, 9963, 9964, 9965, 9966, 9969, 9970, 9971, 9972, 9973, 9975, 9976, 9978, 9979, 9980, 9983, 9985, 9986, 9987, 10008, 10010, 10017, 10018, 10020, 10023, 10027, 14313, 13315, 14319, 15592, 15593, 19949, 19950, Bak-2, Vash, Nemrut-1, HKT2.4, Niel-2, Star-8, TueSB30-3, TueV13, TueWal-2, Yeg-1, Xan-1
*K236Q	6961, 7328
*G261C	9577
V290I	9982, ICE93
I292V	9836
*D294N	6976, 19949, 19950, 19951
*S311C	428, 915, 1070, 5831, 6019, 6020, 6074, 9107, 9109, 9114, 9123, 6126, 6189, 6258, 6296, 6413, 6434, 6932, 7096, 7102, 7213, 7268, 7273, 8240, 8326, 9450, 9452, 9739
*D323F	9982, ICE93
*D323N	265, 403, 424, 470, 476, 484, 504, 506, 531, 544, 546, 628, 680, 681, 685, 687, 728, 742, 763, 765, 766, 768, 772, 853, 854, 867, 868, 870, 932, 1158, 1166, 1254, 1257, 1313, 1317, 1552, 1612, 1622, 1651, 1652, 1676, 1684, 1739, 1741, 1756, 1757, 1793, 1797, 1819, 1820, 1829, 1834, 1835, 1851, 1852, 1872, 1890, 1942, 1943, 2017, 2031, 2053, 2057, 2081, 2091, 2106, 2108, 2141, 2159, 2166, 2171, 2191, 2212, 2239, 2240, 2276, 2278, 2285, 2286, 2370, 2412, 4779, 4939, 4958, 5151, 5236, 5276, 5279, 5349, 5353, 5644, 5720, 5726, 5798, 5811, 5822, 5837, 5860, 5867, 5921, 6009, 6025, 6030, 6042, 6064, 6069, 6070, 6071, 6073, 6098, 6108, 6112, 6119, 6124, 6136, 6153, 6154, 6163, 6166, 6177, 6184, 6201, 6202, 6209, 6210, 6217, 6220, 6231, 6235, 6237, 6238, 6240, 6244, 6252, 6255, 6268, 6276, 6296, 6680, 6739, 6740, 6749, 6750, 6805, 6806, 6814, 6898, 6900, 6901, 6904, 6908, 6911, 6917, 6918, 6923, 6927, 6929, 6933, 6938, 6944, 6945, 6958, 6959, 6963, 6966, 6968, 6969, 6970, 6971, 6976, 6981, 6986, 6987, 6989, 6997, 7014, 7026, 7033, 7058, 7061, 7063, 7064, 7068, 7071, 7072, 7077, 7081, 7092, 7094, 7109, 7119, 7126, 7130, 7158, 7160, 7163, 7164, 7183, 7199, 7202, 7203, 7208, 7209, 7217, 7218, 7231, 7248, 7287, 7305, 7306, 7314, 7320, 7323, 7327, 7328, 7333, 7344, 7349, 7350, 7354, 7358, 7359, 7372, 7377, 7378, 7382, 7383, 7387, 7415, 7424, 7461, 7475, 7515, 7516, 7523, 7525, 7529, 7530, 7566, 7568, 7717, 7757, 7767, 7947, 8037, 8057, 8077, 8132, 8171, 8214, 8222, 8230, 8233, 8234, 8243, 8244, 8246, 8249, 8284, 8297, 8351, 8354, 8357, 8376, 8419, 8424, 8464, 8483, 8699, 8723, 9027, 9069, 9070, 9075, 9078, 9079, 9081, 9084, 9085, 9091, 9102, 9103, 9111, 9113, 9114, 9115, 9298, 9312, 9314, 9339, 9363, 9371, 9381, 9382, 9383, 9402, 9421, 9433, 9442, 9470, 9476, 9481, 9503, 9508, 9509, 9512, 9513, 9515, 9517, 9519, 9520, 9521, 9524, 9525, 9526, 9527, 9528, 9529, 9530, 9531, 9532, 9533, 9534, 9535, 9536, 9537, 9539, 9540, 9542, 9543, 9544, 9545, 9546, 9549, 9550, 9552, 9553, 9554, 9555, 9556, 9557, 9558, 9559, 9560, 9561, 9562, 9565, 9567, 9568, 9569, 9573, 9574, 9577, 9578, 9579, 9582, 9583, 9584, 9585, 9586, 9588, 9590, 9591, 9592, 9593, 9594, 9595, 9596, 9598, 9599, 9600, 9602, 9606, 9607, 9610, 9611, 9612, 9613, 9615, 9616, 9617, 9619, 9620, 9621, 9622, 9625, 9626, 9627, 9628, 9629, 9630, 9631, 9632, 9633, 9637, 9641, 9642, 9643, 9646, 9649, 9651, 9653, 9655, 9658, 9659, 9660, 9663, 9691, 9697, 9698, 9700, 9701, 9704, 9705, 9706, 9707, 9708, 9709, 9710, 9711, 9712, 9714, 9716, 9718, 9721, 9722, 9729, 9735, 9737, 9741, 9743, 9745, 9754, 9757, 9758, 9759, 9762, 9764, 9766, 9771, 9782, 9787, 9792, 9797, 9800, 9815, 9817, 9819, 9820, 9822, 9824, 9825, 9826, 9827, 9831, 9832, 9833, 9834, 9835, 9836, 9837, 9840, 9841, 9843, 9844, 9845, 9847, 9848, 9849, 9850, 9851, 9852, 9853, 9855, 9856, 9857, 9859, 9861, 9862, 9864, 9866, 9867, 9869, 9870, 9871, 9876, 9879, 9880, 9881, 9882, 9885, 9886, 9887, 9888, 9889, 9894, 9895, 9897, 9898, 9899, 9902, 9904, 9905, 9906, 9908, 9910, 9911, 9917, 9920, 9921, 9927, 9928, 9929, 9930, 9932, 9933, 9935, 9937, 9938, 9939, 9951, 9952, 9953, 9957, 9958, 9959, 9963, 9968, 9971, 9972, 9976, 9984, 9985, 10004, 10009, 10010, 10015, 10018, 10022, 14312, 14318, 14319, 15560, 15591, 15592, 15593, 18694, 18696, 19949, 19950, 19951, ICE71, ICE72, ICE75, ICE98, Istisu-1, Kastel-1, Koch-1, Lag-10, Leo-1, Lerik-1-3, Mer-6, Ped-0, Pra-6, Qui-0, Sha, Star-8, Tuescha9, Vie-0, Agu-1, Dog-4, Don-0, ICE1, ICE102, ICE104, ICE112, ICE119, ICE127, ICE130, ICE134, ICE138, ICE150, ICE152, ICE153, ICE169, ICE173, ICE216, ICE29, ICE36, ICE49, ICE50, ICE7, ICE70
*E325K	1313, 1317, 5860, 6009, 6025, 6030, 6064, 6069, 6070, 6071, 6153, 6154, 6163, 6166, 6184, 6209, 6210, 6220, 6235, 6237, 6238, 6240, 6241, 6900, 6901, 6968, 6969, 6981, 7126, 7314, 7461, 8230, 9433, 9481, 9707, 9718
V331F	2016, 2317, 5741, 5748, 5890, 6192, 6193, 6390, 6744, 6979, 7143, 7161, 7255, 7514, 7917, 8311, 9510, 9511, 9518, 9522, 9523, 9541, 9548, 9587, 9589, 9644, 9657, 9661, 9694, 9695, 9696, 9703, 9723, 9748, 9777, 9781, 9784, 9785, 9786, 9790, 9795, 9806, 9877, 9878, 9900, 9901, 9925, 9970, 9974, 9975, 10005, TueWal-2, Cdm-0, ICE163, ICE212, ICE213, ICE63
*P333S	6933
K346R	5720, 5822, 6987, 7058, 7061, 7094, 7119, 7209, 7287, 9517, 9569, 9585, 9590, 9596, 9847, 9862, 9890, Qui-0

APÊNDICE 3 – TABELA QUE EXPÕE OS ACESSOS/ECOTIPOS MUTANTES CORRELACIONANDO-OS ÀS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS ESPECIFICADAS E ÀS MODIFICAÇÕES DE AMINOÁCIDOS

Tabela 3: Distribuição dos 1190 ecotipos/acessos de *A. thaliana* nas condições geográficas especificadas e identificação daqueles que tiveram mudança ou não de AA em relação à sequência de AA da referência. Os AA que permaneceram iguais à referência e aqueles que modificaram são indicados na coluna um. Os relevos estão indicados na primeira linha. Os climas são indicados na segunda linha. E a pluviosidade na terceira linha. Os IDs dos ecotipos/acessos não-mutantes ficam nas células referentes aos quadros da primeira coluna que contêm “igual à referência”, e os IDs dos ecotipos/acessos mutantes ficam nas células referentes aos quadros da primeira coluna que contêm apenas a classificação segundo den Dunnen e Antonarakis, 2001. Nas demais páginas da tabela as células continuam a representar os dados especificados na primeira e segunda colunas da primeira página da tabela. Csa – temperado úmido com verão seco e quente; Csb – temperado úmido com verão seco e temperado; Cfa – temperado úmido com verão quente; Cfb – temperado úmido com verão temperado; Cfc – temperado úmido com verão fresco; Dfa – temperado frio com verão quente; Dfb – temperado frio com verão temperado; Dfc – temperado frio com verão fresco; BWh – regiões desérticas quentes; BSk – estepe frio; BSh – estepe quente; Dsa – continental com verão quente e chuvas no inverno; Dsb – continental com verão brando e chuvoso.

	Relevo	PLANÍCIE		
	Clima	Csa		
	Pluviosidade (P) - mm³/ano	300 < P < 500	500 < P < 700	700 ≤ P
AA na posição referência e AA modificado				
T13 (igual a referência)		(9600)IP-Vis-0, (9602)IP-Vpa-1, (9825)IP-Boa-0, (9845)IP-Evs-0, (9848)IP-Glo-1, (9861)IP-Mac-0, (9902)IP-Usa-0, Mer-6	(7327)Sf-1, Istisu-5(9095), (9099)Istisu-9, (9507)IP-Coa-0, (9512)IP-Vid-1, (9515)IP-Ala-0, (9521)IP-Bar-1, (9526)IP-Cab-3, (9573)IPRds-0, (9647)Basen-1, (9656)Martí-1, (9817)IP-Ace-0, (9837)IP-Con-0, (9856)IP-Lch-0, Istisu-1, Don-0	(7068)Cerv-1, (7077)Co-1, (7081)Co, (8243)PHW-2, (9089)Nar-3, (9091)Nar-5, IP-Alo-0(9506), (9508)IP-Mos-1, (9509)IP-Reg-0, (9648)Bisig-1, (9655)Marce-1, (9661)Cimin-1, (9663)Teano-1, (9725)Epidaurus-1, (9726)Faneronomi-3, (9864)IP-Mat-0, IP-Sal-0(9891), (9930)LEC-25, (9964)Mammo-1, (9965)Mammo-2, (9969)Valsi-1, (9980)Angel-1, (9981)Angit-1, (9984)Ciste-2, ICE91, ICE92, ICE98, Lerik-3, Xan-1, ICE120, C24
T13M		(9900)IP-Tri-0	(6933)LL-0, (6970)Ts-1, (6971)Ts-5, Ct-1(7067), Sf-2(7328), IP-Rei-0(9510), (9511)IP-Vav-0, (9906)IP-Mah-6	(7319)Rome-1, (9657)Melic-1, (9658)Nicas-1, (9659)Pigna-1, (9727)Olympia-2, (9933)VED-10, (9983)Ciste-1, ICE97, ICE119
S78 (igual à referência)		(9600)IP-Vis-0, (9602)IP-Vpa-1, (9825)IP-Boa-0, (9845)IP-Evs-0, (9848)IP-Glo-1, (9861)IP-Mac-0, (9902)IP-Usa-0, Mer-6	(7327)Sf-1, Istisu-5(9095), (9099)Istisu-9, (9507)IP-Coa-0, (9512)IP-Vid-1, (9515)IP-Ala-0, (9521)IP-Bar-1, (9526)IP-Cab-3, (9573)IPRds-0, (9647)Basen-1, (9656)Martí-1, (9817)IP-Ace-0, (9837)IP-Con-0, (9856)IP-Lch-0, Istisu-1, Don-0, (6933)LL-0, (6970)Ts-1, (6971)Ts-5, (9906)IP-Mah-6	(7068)Cerv-1, (7077)Co-1, (7081)Co, (8243)PHW-2, (9089)Nar-3, (9091)Nar-5, IP-Alo-0(9506), (9508)IP-Mos-1, (9509)IP-Reg-0, (9655)Marce-1, (9663)Teano-1, (9725)Epidaurus-1, (9726)Faneronomi-3, (9864)IP-Mat-0, IP-Sal-0(9891), (9930)LEC-25, (9964)Mammo-1, (9965)Mammo-2, (9969)Valsi-1, (9980)Angel-1, (9981)Angit-1, (9984)Ciste-2, ICE91, ICE92, ICE98, Lerik-3, Xan-1, ICE120, C24, (9657)Melic-1, (9658)Nicas-1, (9659)Pigna-1, (9727)Olympia-2, (9933)VED-10, (9983)Ciste-1, ICE119
S78F		(9900)IP-Tri-0	Ct-1(7067), Sf-2(7328), IP-Rei-0(9510), (9511)IP-Vav-0	(7319)Rome-1, ICE97, (9648)Bisig-1, (9661)Cimin-1
T81 (igual à referência)		(9600)IP-Vis-0, (9602)IP-Vpa-1, (9825)IP-Boa-0, (9845)IP-Evs-0, (9848)IP-Glo-1, (9861)IP-Mac-0, (9902)IP-Usa-0, Mer-6	(7327)Sf-1, Istisu-5(9095), (9099)Istisu-9, (9507)IP-Coa-0, (9512)IP-Vid-1, (9515)IP-Ala-0, (9521)IP-Bar-1, (9526)IP-Cab-3, (9573)IPRds-0, (9647)Basen-1, (9656)Martí-1, (9817)IP-Ace-0, (9837)IP-Con-0, (9856)IP-Lch-0, Istisu-1, Don-0, (6933)LL-0, (6970)Ts-1, (6971)Ts-5, (9906)IP-Mah-6	(7068)Cerv-1, (7077)Co-1, (7081)Co, (8243)PHW-2, (9089)Nar-3, (9091)Nar-5, IP-Alo-0(9506), (9508)IP-Mos-1, (9509)IP-Reg-0, (9655)Marce-1, (9663)Teano-1, (9725)Epidaurus-1, (9726)Faneronomi-3, (9864)IP-Mat-0, IP-Sal-0(9891), (9930)LEC-25, (9964)Mammo-1, (9965)Mammo-2, (9969)Valsi-1, (9980)Angel-1, (9981)Angit-1, (9984)Ciste-2, ICE91, ICE92, ICE98, Lerik-3, Xan-1, CE120, C24, (9657)Melic-1, (9658)Nicas-1, (9659)Pigna-1, (9727)Olympia-2, (9933)VED-10, (9983)Ciste-1, ICE119
T81K		(9900)IP-Tri-0	Ct-1(7067), Sf-2(7328), IP-Rei-0(9510), (9511)IP-Vav-0	(7319)Rome-1, ICE97, (9648)Bisig-1, (9661)Cimin-1, (9658)Nicas-1, (9727)Olympia-2
D323 (igual à referência)		(9900)IP-Tri-0	Ct-1(7067), IP-Rei-0(9510), (9511)IP-Vav-0, Istisu-5(9095), (9099)Istisu-9, (9507)IP-Coa-0, (9647)Basen-1, (9656)Martí-1	(7319)Rome-1, (9089)Nar-3, IP-Alo-0(9506), (9726)Faneronomi-3, IPSal-0(9891), (9964)Mammo-1, (9965)Mammo-2, (9969)Valsi-1, (9980)Angel-1, (9981)Angit-1, ICE91, ICE92, ICE97, Xan-1, ICE120, C24, (9657)Melic-1, (9983)Ciste-1, (9648)Bisig-1, (9661)Cimin-1, (9727)Olympia-2
D323N		(9600)IP-Vis-0, (9602)IP-Vpa-1, (9825)IP-Boa-0, (9845)IP-Evs-0, (9848)IP-Glo-1, (9861)IP-Mac-0, (9902)IP-Usa-0, Mer-6	(7327)Sf-1, (9512)IP-Vid-1, (9515)IP-Ala-0, (9521)IP-Bar-1, (9526)IP-Cab-3, (9573)IP-Rds-0, (9817)IP-Ace-0, (9837)IP-Con-0, (9856)IP-Lch-0, Istisu-1, Don-0, (6933)LL-0, (6970)Ts-1, (6971)Ts-5, Sf-2(7328), (9906)IP-Mah-6	(7068)Cerv-1, (7077)Co-1, (7081)Co, (8243)PHW-2, (9091)Nar-5, (9508)IP-Mos-1, (9509)IP-Reg-0, (9655)Marce-1, (9663)Teano-1, (9725)Epidaurus-1, (9864)IP-Mat-0, (9930)LEC-25, (9984)Ciste-2, ICE98, Lerik-3, (9659)Pigna-1, (9933)VED-10, ICE119, (9658)Nicas-1

PLANÍCIE

Csb	Cfa			Cfb
700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700	700 ≤ P	300 < P < 500
(7306)Pog-0, (7332)Seattle-0, (7350)Tac-0, (9585)IP-Svi-0, ICE104		(8357)Pla-0, (9708)Kardz-1, (9714)Grivo-1, Kardz-2(9717), (9719)Koren-1, (10018)Dobra-1, Kastel-1	Col-0-REF, LI-WP-039(544), LI-WP-041(546), (630)LI-OF-065, LI-RR-096(680), (681)LI-RR-097, LI-EF-011(685), LI-EF018(687), (728)LI-SET-019, (742)LI-SET-036, KYC-33(801), CSHL-15(6739), CSHL-17(6740), HS-12(6805), HS-17(6806), (7477)WAR, (8246)NC-6, (8337)Mir-0, (9519)IP-Ang-0, (9759)Anz-0, (9895)IP-Sfb-6, (9974)Castelfed-4-212, ICE163	Stu1-1(6088)
(7383)Van-0, Fei-0	(9870)IP-Moz-0	(9713)Stara-1, (9723)Slavi-2	LI-OF-061(628), (7025)Bl-1, (7207)Kyoto, Tsu-0(7373), ICE79	Ör-1(6074), Stu-2(6087), Agu-1
(7306)Pog-0, (7332)Seattle-0, (7350)Tac-0, (9585)IP-Svi-0, ICE104, (7383)Van-0, Fei-0	(9870)IP-Moz-0	(8357)Pla-0, (9708)Kardz-1, (9714)Grivo-1, Kardz-2(9717), (10018)Dobra-1, Kastel-1	Col-0-REF, LI-WP-039(544), LI-WP-041(546), (630)LI-OF-065, LI-RR-096(680), (681)LI-RR-097, LI-EF-011(685), LI-EF018(687), (728)LI-SET-019, (742)LI-SET-036, KYC-33(801), CSHL-15(6739), CSHL-17(6740), HS-12(6805), HS-17(6806), (7477)WAR, (8246)NC-6, (8337)Mir-0, (9519)IP-Ang-0, (9759)Anz-0, (9895)IP-Sfb-6, (9974)Castelfed-4-212, LI-OF061(628)	Stu1-1(6088), Agu-1
		(9713)Stara-1, (9723)Slavi-2, (9719)Koren-1	(7025)Bl-1, (7207)Kyoto, ICE79, Tsu-0(7373), ICE163	Ör-1(6074), Stu-2(6087)
(7306)Pog-0, (7332)Seattle-0, (7350)Tac-0, (9585)IP-Svi-0, ICE104, (7383)Van-0, Fei-0	(9870)IP-Moz-0	(8357)Pla-0, (9708)Kardz-1, (9714)Grivo-1, Kardz-2(9717), (10018)Dobra-1, Kastel-1	Col-0-REF, LI-WP-039(544), LI-WP-041(546), (630)LI-OF-065, LI-RR-096(680), (681)LI-RR-097, LI-EF-011(685), LI-EF018(687), (728)LI-SET-019, (742)LI-SET-036, KYC-33(801), CSHL-15(6739), CSHL-17(6740), HS-12(6805), HS-17(6806), (7477)WAR, (8246)NC-6, (8337)Mir-0, (9519)IP-Ang-0, (9759)Anz-0, (9895)IP-Sfb-6, (9974)Castelfed-4-212, LI-OF061(628)	Stu1-1(6088), Agu-1
		(9713)Stara-1, (9723)Slavi-2, (9719)Koren-1	(7025)Bl-1, (7207)Kyoto, ICE79, Tsu-0(7373), ICE163	Ör-1(6074), Stu-2(6087)
(7332)Seattle-0		(9713)Stara-1, (9723)Slavi-2, (9719)Koren-1, Kardz-2(9717)	Col-0-REF, (7025)Bl-1, (7207)Kyoto, ICE79, Tsu-0(7373), ICE163, (630)LI-OF-065, KYC-33(801), (7477)WAR, (8337)Mir0, (9974)Castelfed-4-212	Ör-1(6074), Stu-2(6087), Stu1-1(6088)
(7306)Pog-0, (7350)Tac-0, (9585)IP-Svi-0, ICE104, (7383)Van0, Fei-0	(9870)IP-Moz-0	(8357)Pla-0, (9708)Kardz-1, (9714)Grivo-1, (10018)Dobra-1, Kastel-1	LI-WP-039(544), LI-WP-041(546), LI-RR-096(680), (681)LI-RR-097, LI-EF-011(685), LI-EF-018(687), (728)LI-SET-019, (742)LI-SET-036, CSHL-15(6739), CSHL-17(6740), HS-12(6805), HS-17(6806), (8246)NC-6, (9519)IP-Ang-0, (9759)Anz-0, (9895)IP-Sfb-6, LI-OF-061(628)	Agu-1

PLANICIE

Cib

500 < P < 700

<p>(88)CYR, (403)Zdarec3, (991)Ale-Stenar-41-1, Ale-Stenar-44-4(992), Ale-Stenar-46-14(997), Ale-Stenar-64-24(1002), Ale-Stenar-77-31(1006), (1061)Brösarp-11-135, (1062)Brösarp-15-138, (5023)UKSE06-118, (5104)UKSE06-252, (5165)UKSE06-362, (5236)UKSE06-470, UKSE06-491(5249), (5253)UKSE06-500, (5276)UKSE06-541, Bra-1(5717), (5726)Cnt-1, (5768)UKID63, UKID71(5776), App1-12(5830), (5836)Boo2-3, (5837)Bor-1, Dra1-4(5865), (5867)Dra2-1, (6008)Duk, Fly2-1(6023), Fly2-2(6024), Hov1-7(6034), Kni-1(6040), (6036)Hov3-2, (6042)Lom1-1, T1000(6090), (6091)T1010, T1020(6092), (6094)T1040, T1050(6095), T1080(6098), T1110(6100), T1120(6101), T1130(6102), (6105)T450, (6106)T460, (6109)T510, T530(6111), T540(6112), (6115)T580, (6122)T670, (6124)T690, (6125)T710, (6128)T740, T780(6131), T790(6132), (6133)T800, T810(6134), (6137)T850, T860(6138), (6140)T880, (6142)T900, (6145)T930, T960(6148), (6149)T970, T980(6150), T990(6151), (6191)TDr-4, TDr-16(6201), (6202)TDr-17, (6252)TV-4, (6255)TV-7, TV-2(6268), TV-30(6276), TV-38(6284), (6296)Udul1-11, (6390)Udul3-36, (6396)Udul4-9, (6413)Ull3-4, Bor-4(6903), (6904)Br-0, (6907)CIBC-17, (6920)Got-22, (6922)Gu-0, (6923)HR-10, (6924)HR-5, (6940)Mz-0, NFA-10(6943), (6958)Ra-0, Sq-8(6967), Ull2-3(6973), (7000)Aa-0, (7064)Cnt-1, (7094)Da-0, (7107)Durh-1, (7109)Ema-1, (7119)En-2, (7133)Fr-2, (7209)La-0, (7244)Mnz-0, Ob-0(7276), (7282)Or-0, (7287)Ove-0, (7349)Ta-0, (7354)Ting-1, (7404)Wc-1, (7415)Wu-0, (7424)Jl-3, (7516)Vär2-1, (7517)Vär2-6, Lis-2(8222), (8234)Gul1-2, (8235)Hod, (8237)Kävlinge-1, (8238)Kent, Lillo-1(8242), (8244)PHW34, San-2(8247), (8249)Vimmerby, (8306)Hov4-1, (8312)Is-0, (8343)Na-1, St-0(8387), (8420)Kelsterbach-4, (9057)Vinslöv, Dju-1(9343), (9381)Fri1, Fri2(9382), (9383)Fri3, (9399)Hamm-1, (9421)Lan1, Pak-2(9437), (9442)Sim-1, Stenk-3(9454), Stenk-4(9455), Ull-1A(9471), VarA1(9476), (9590)IP-Trs-0, (9721)Schip-1, (9737)Ullies-1, (9741)Orast-1, (9754)Sredn-1, Vajug-1(9755), (9924)PLY-20, (9926)TRE-1.</p>
<p>(428)Borky1, (1063)Brösarp-21-140, Brösarp-34-145(1066), Brösarp-45-153(1070), (1158)Aledal-6-49, (1166)Aledal-14-73, (5151)UKSE06-325, (5210)UKSE06-432, (5349)UKSE06-639, App1-14(5831), App1-16(5832), Fjäl-2(6019), Fjäl-5(6020), Fjäl-4(6021), Fjäl-1(6022), (6035)Hov1-10, Hov1-10(6038), (6039)Hovdala-2, Lis-3(6041), (6043)Löv-1, LöV-5(6046), (6096)T1060, T1070(6097), T1090(6099), T470(6107), T480(6108), T550(6113), T570(6114), T680(6123), (6126)T720, T890(6141), (6188)TDr-1, TDr-2(6189), (6192)TDr-5, (6193)TDr-7, TDr-8(6194), (6195)TDr-9, (6198)TDr-13, (6203)TDr-18, (6243)Tottarp-2, TV-10(6258), (6908)CIBC-5, (6919)Ga-0, (6944)NFA-8, (6966)Sq-1, (6974)Ull2-5, (7013)Bd-0, (7031)Bsch-0, Ca-0(7062), (7071)Chat-1, (7092)Com-1, (7106)Dr-0, En-D(7120), Er-0(7125), (7130)Et-0, (7147)Gie-0, (7161)Gd-1, (7163)Ha-0, (7164)Hau-0, (7181)Je-0, (7203)Krot-0, (7217)Lm-2, (7223)Li-2-1, (7231)Li-7, (7273)No-0, (7305)Pt-0, (7320)Rou-0, (7343)Sp-0, Sten-0(7346), Db-1(7419), (8214)Gy-0, (8230)Algutsum, (8231)Bröl-6, Liarum(8241), (8283)Dra3-1, (8290)En-1, Hovdala-6(8307), (8326)Lis-1, (8365)Rak-2, Fjäl-1(8422), (8426)Ull1-1, Ull2-13(8427), Vastervik(9058), Dod2(9352), Hadd-1(9390), Hadd-2(9391), (9392)Hadd-3, Hag-2(9394), Hal-1(9395), Kall(9408), (9409)Kia, Kor3(9412), Kor4(9413), Kru-3(9416), (9436)Puk-1, (9450)Sprol, Spro2(9451), Spro3(9452), Stenk-2(9453), Ysp-1(9481), (9701)Ivano-1, Malak-1(9720), (9736)Teiu-2, (9920)DIR-9, (9921)FOR-23, (9925)RUM-20, (10004)Boin-1, (10005)Copac-1, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE1, ICE21</p>
<p>(88)CYR, (403)Zdarec3, (991)Ale-Stenar-41-1, Ale-Stenar-44-4(992), Ale-Stenar-46-14(997), Ale-Stenar-64-24(1002), Ale-Stenar-77-31(1006), (1062)Brösarp-15-138, (5023)UKSE06-118, (5104)UKSE06-252, (5165)UKSE06-362, (5236)UKSE06-470, UKSE06-491(5249), (5253)UKSE06-500, (5276)UKSE06-541, Bra-1(5717), (5726)Cnt-1, (5768)UKID63, UKID71(5776), App1-12(5830), (5836)Boo2-3, (5837)Bor-1, Dra1-4(5865), (5867)Dra2-1, (6008)Duk, Fly2-1(6023), Fly2-2(6024), Hov1-7(6034), Kni-1(6040), (6042)Lom1-1, T1000(6090), (6091)T1010, T1020(6092), (6094)T1040, T1050(6095), T1080(6098), T1110(6100), T1120(6101), T1130(6102), (6106)T460, T530(6111), T540(6112), (6122)T670, (6124)T690, (6125)T710, (6128)T740, T780(6131), T790(6132), (6133)T800, T810(6134), (6137)T850, T860(6138), (6140)T880, (6142)T900, (6145)T930, T960(6148), (6149)T970, T980(6150), T990(6151), (6191)TDr-4, TDr-16(6201), (6202)TDr-17, (6252)TV-4, (6255)TV-7, TV-2(6268), TV-30(6276), TV-38(6284), (6296)Udul1-11, (6390)Udul3-36, (6396)Udul4-9, Bor-4(6903), (6904)Br-0, (6907)CIBC-17, (6920)Got-22, (6922)Gu-0, (6923)HR-10, (6924)HR-5, (6940)Mz-0, NFA-10(6943), (6958)Ra-0, Sq-8(6967), Ull2-3(6973), (7000)Aa-0, (7064)Cnt-1, (7094)Da-0, (7107)Durh-1, (7109)Ema-1, (7119)En-2, (7133)Fr-2, (7209)La-0, (7244)Mnz-0, Ob-0(7276), (7282)Or-0, (7287)Ove-0, (7349)Ta-0, (7354)Ting-1, (7404)Wc-1, (7415)Wu-0, (7424)Jl-3, (7516)Vär2-1, (7517)Vär2-6, Lis-2(8222), (8234)Gul1-2, (8235)Hod, (8237)Kävlinge-1, (8238)Kent, Lillo-1(8242), (8244)PHW-34, San-2(8247), (8249)Vimmerby, (8306)Hov4-1, (8312)Is-0, (8343)Na-1, St-0(8387), (8420)Kelsterbach-4, (9057)Vinslöv, Dju-1(9343), (9381)Fri1, Fri2(9382), (9383)Fri3, (9399)Hamm-1, (9421)Lan1, Pak-2(9437), (9442)Sim-1, Stenk-3(9454), Stenk-4(9455), Ull-1A(9471), VarA1(9476), (9590)IP-Trs-0, (9721)Schip-1, (9737)Ullies-1, (9741)Orast-1, (9754)Sredn-1, Vajug-1(9755), (9924)PLY-20, (9926)TRE-1, (9935)BAU-15, (9937)CATS-6, (9938)WAV-8, ICE36, Bor-4, (428)Borky1, (1158)Aledal-6-49, (1166)Aledal14-73, (5349)UKSE06-639, ÖMö1-7(6073), (6193)TDr-7, (6908)CIBC-5, (6944)NFA-8, (6966)Sq-1, (7071)Chat-1, (7092)Com-1, (7130)Et-0, (7161)Gd-1, (7163)Ha-0, (7164)Hau-0, (7203)Krot-0, (7217)Lm-2, (7231)Li-7, (7305)Pt-0, (9698)Gocecd-1, (9736)Teiu-2, (9920)DIR-9, (9921)FOR-23, (9925)RUM-20, (10004)Boin-1, (10005)Copac-1, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE1, ICE21</p>
<p>(1063)Brösarp-21-140, Brösarp-34-145(1066), Brösarp-45-153(1070), (5151)UKSE06-325, (5210)UKSE06-432, App1-14(5831), App1-16(5832), Fjäl-2(6019), Fjäl-5(6020), Fjäl-4(6021), Fjäl-6(6022), (6035)Hov1-10, Hov1-10(6038), (6039)Hovdala-2, Lis-3(6041), (6043)Löv-1, LöV-5(6046), (6096)T1060, T1070(6097), T1090(6099), T470(6107), T480(6108), T550(6113), T570(6114), T680(6123), (6126)T720, T890(6141), (6188)TDr-1, TDr-2(6189), (6192)TDr-5, TDr-8(6194), (6195)TDr-9, (6198)TDr-13, (6203)TDr-18, (6243)Tottarp-2, TV-10(6258), (6919)Ga-0, (6974)Ull2-5, (7013)Bd-0, (7031)Bsch-0, Ca-0(7062), (7106)Dr-0, En-D(7120), Er-0(7125), (7181)Je-0, (7223)Li-2-1, (7273)No-0, (7320)Rou-0, (7343)Sp-0, Sten-0(7346), Db-1(7419), (8214)Gy-0, (8230)Algutsum, (8231)Bröl-6, Liarum(8241), (8283)Dra3-1, (8290)En-1, Hovdala-6(8307), (8326)Lis-1, (8365)Rak-2, Fjäl-1(8422), (8426)Ull1-1, Ull2-13(8427), Vastervik(9058), Dod2(9352), Hadd-1(9390), Hadd-2(9391), (9392)Hadd-3, Hag-2(9394), Hal-1(9395), Kall(9408), (9409)Kia, Kor3(9412), Kor4(9413), Kru-3(9416), (9436)Puk-1, (9450)Sprol, Spro2(9451), Spro3(9452), Stenk-2(9453), Ysp-1(9481), (9701)Ivano-1, Malak-1(9720), (9925)RUM-20, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE21, (1061)Brösarp-11-135, (6036)Hov3-2, (6105)T450, (6109)T510, (6115)T580, (6413)Ull3-4, (9353)Dod3</p>
<p>(88)CYR, (403)Zdarec3, (991)Ale-Stenar-41-1, Ale-Stenar-44-4(992), Ale-Stenar-46-14(997), Ale-Stenar-64-24(1002), Ale-Stenar-77-31(1006), (1062)Brösarp-15-138, (5023)UKSE06-118, (5104)UKSE06-252, (5165)UKSE06-362, (5236)UKSE06-470, UKSE06-491(5249), (5253)UKSE06-500, (5276)UKSE06-541, Bra-1(5717), (5726)Cnt-1, (5768)UKID63, UKID71(5776), App1-12(5830), (5836)Boo2-3, (5837)Bor-1, Dra1-4(5865), (5867)Dra2-1, (6008)Duk, Fly2-1(6023), Fly2-2(6024), Hov1-7(6034), Kni-1(6040), (6042)Lom1-1, T1000(6090), (6091)T1010, T1020(6092), (6094)T1040, T1050(6095), T1080(6098), T1110(6100), T1120(6101), T1130(6102), (6106)T460, T530(6111), T540(6112), (6122)T670, (6124)T690, (6125)T710, (6128)T740, T780(6131), T790(6132), (6133)T800, T810(6134), (6137)T850, T860(6138), (6140)T880, (6142)T900, (6145)T930, T960(6148), (6149)T970, T980(6150), T990(6151), (6191)TDr-4, TDr-16(6201), (6202)TDr-17, (6252)TV-4, (6255)TV-7, TV-2(6268), TV-30(6276), TV-38(6284), (6296)Udul1-11, (6390)Udul3-36, (6396)Udul4-9, Bor-4(6903), (6904)Br-0, (6907)CIBC-17, (6920)Got-22, (6922)Gu-0, (6923)HR-10, (6924)HR-5, (6940)Mz-0, NFA-10(6943), (6958)Ra-0, Sq-8(6967), Ull2-3(6973), (7000)Aa-0, (7064)Cnt-1, (7094)Da-0, (7107)Durh-1, (7109)Ema-1, (7119)En-2, (7133)Fr-2, (7209)La-0, (7244)Mnz-0, Ob-0(7276), (7282)Or-0, (7287)Ove-0, (7349)Ta-0, (7354)Ting-1, (7404)Wc-1, (7415)Wu-0, (7424)Jl-3, (7516)Vär2-1, (7517)Vär2-6, Lis-2(8222), (8234)Gul1-2, (8235)Hod, (8237)Kävlinge-1, (8238)Kent, Lillo-1(8242), (8244)PHW-34, San-2(8247), (8249)Vimmerby, (8306)Hov4-1, (8312)Is-0, (8343)Na-1, St-0(8387), (8420)Kelsterbach-4, (9057)Vinslöv, Dju-1(9343), (9381)Fri1, Fri2(9382), (9383)Fri3, (9399)Hamm-1, (9421)Lan1, Pak-2(9437), (9442)Sim-1, Stenk-3(9454), Stenk-4(9455), Ull-1A(9471), VarA1(9476), (9590)IP-Trs-0, (9721)Schip-1, (9737)Ullies-1, (9741)Orast-1, (9754)Sredn-1, Vajug-1(9755), (9924)PLY-20, (9926)TRE-1, (9935)BAU-15, (9937)CATS-6, (9938)WAV-8, ICE36, Bor-4, (428)Borky1, (1158)Aledal-6-49, (1166)Aledal14-73, (5349)UKSE06-639, ÖMö1-7(6073), (6193)TDr-7, (6908)CIBC-5, (6944)NFA-8, (6966)Sq-1, (7071)Chat-1, (7092)Com-1, (7130)Et-0, (7161)Gd-1, (7163)Ha-0, (7164)Hau-0, (7203)Krot-0, (7217)Lm-2, (7231)Li-7, (7305)Pt-0, (9698)Gocecd-1, (9736)Teiu-2, (9920)DIR-9, (9921)FOR-23, (9925)RUM-20, (10004)Boin-1, (10005)Copac-1, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE1, ICE21</p>
<p>(1063)Brösarp-21-140, Brösarp-34-145(1066), Brösarp-45-153(1070), (5151)UKSE06-325, (5210)UKSE06-432, App1-14(5831), App1-16(5832), Fjäl-2(6019), Fjäl-5(6020), Fjäl-4(6021), Fjäl-6(6022), (6035)Hov1-10, Hov1-10(6038), (6039)Hovdala-2, Lis-3(6041), (6043)Löv-1, LöV-5(6046), (6096)T1060, T1070(6097), T1090(6099), T470(6107), T480(6108), T550(6113), T570(6114), T680(6123), (6126)T720, T890(6141), (6188)TDr-1, TDr-2(6189), (6192)TDr-5, TDr-8(6194), (6195)TDr-9, (6198)TDr-13, (6203)TDr-18, (6243)Tottarp-2, TV-10(6258), (6919)Ga-0, (6974)Ull2-5, (7013)Bd-0, (7031)Bsch-0, Ca-0(7062), (7106)Dr-0, En-D(7120), Er-0(7125), (7181)Je-0, (7223)Li-2-1, (7273)No-0, (7320)Rou-0, (7343)Sp-0, Sten-0(7346), Db-1(7419), (8214)Gy-0, (8230)Algutsum, (8231)Bröl-6, Liarum(8241), (8283)Dra3-1, (8290)En-1, Hovdala-6(8307), (8326)Lis-1, (8365)Rak-2, Fjäl-1(8422), (8426)Ull1-1, Ull2-13(8427), Vastervik(9058), Dod2(9352), Hadd-1(9390), Hadd-2(9391), (9392)Hadd-3, Hag-2(9394), Hal-1(9395), Kall(9408), (9409)Kia, Kor3(9412), Kor4(9413), Kru-3(9416), (9436)Puk-1, (9450)Sprol, Spro2(9451), Spro3(9452), Stenk-2(9453), Ysp-1(9481), (9701)Ivano-1, Malak-1(9720), (9925)RUM-20, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE21, (1061)Brösarp-11-135, (6036)Hov3-2, (6105)T450, (6109)T510, (6115)T580, (6413)Ull3-4, (9353)Dod3</p>
<p>(88)CYR, (403)Zdarec3, (991)Ale-Stenar-41-1, Ale-Stenar-44-4(992), Ale-Stenar-46-14(997), Ale-Stenar-64-24(1002), Ale-Stenar-77-31(1006), (1062)Brösarp-15-138, (5023)UKSE06-118, (5104)UKSE06-252, (5165)UKSE06-362, (5236)UKSE06-470, UKSE06-491(5249), (5253)UKSE06-500, (5276)UKSE06-541, Bra-1(5717), (5726)Cnt-1, (5768)UKID63, UKID71(5776), App1-12(5830), (5836)Boo2-3, (5837)Bor-1, Dra1-4(5865), (5867)Dra2-1, (6008)Duk, Fly2-1(6023), Fly2-2(6024), Hov1-7(6034), Kni-1(6040), (6042)Lom1-1, T1000(6090), (6091)T1010, T1020(6092), (6094)T1040, T1050(6095), T1080(6098), T1110(6100), T1120(6101), T1130(6102), (6106)T460, T530(6111), T540(6112), (6122)T670, (6124)T690, (6125)T710, (6128)T740, T780(6131), T790(6132), (6133)T800, T810(6134), (6137)T850, T860(6138), (6140)T880, (6142)T900, (6145)T930, T960(6148), (6149)T970, T980(6150), T990(6151), (6191)TDr-4, TDr-16(6201), (6202)TDr-17, (6252)TV-4, (6255)TV-7, TV-2(6268), TV-30(6276), TV-38(6284), (6296)Udul1-11, (6390)Udul3-36, (6396)Udul4-9, Bor-4(6903), (6904)Br-0, (6907)CIBC-17, (6920)Got-22, (6922)Gu-0, (6923)HR-10, (6924)HR-5, (6940)Mz-0, NFA-10(6943), (6958)Ra-0, Sq-8(6967), Ull2-3(6973), (7000)Aa-0, (7064)Cnt-1, (7094)Da-0, (7107)Durh-1, (7109)Ema-1, (7119)En-2, (7133)Fr-2, (7209)La-0, (7244)Mnz-0, Ob-0(7276), (7282)Or-0, (7287)Ove-0, (7349)Ta-0, (7354)Ting-1, (7404)Wc-1, (7415)Wu-0, (7424)Jl-3, (7516)Vär2-1, (7517)Vär2-6, Lis-2(8222), (8234)Gul1-2, (8235)Hod, (8237)Kävlinge-1, (8238)Kent, Lillo-1(8242), (8244)PHW-34, San-2(8247), (8249)Vimmerby, (8306)Hov4-1, (8312)Is-0, (8343)Na-1, St-0(8387), (8420)Kelsterbach-4, (9057)Vinslöv, Dju-1(9343), (9381)Fri1, Fri2(9382), (9383)Fri3, (9399)Hamm-1, (9421)Lan1, Pak-2(9437), (9442)Sim-1, Stenk-3(9454), Stenk-4(9455), Ull-1A(9471), VarA1(9476), (9590)IP-Trs-0, (9721)Schip-1, (9737)Ullies-1, (9741)Orast-1, (9754)Sredn-1, Vajug-1(9755), (9924)PLY-20, (9926)TRE-1, (9935)BAU-15, (9937)CATS-6, (9938)WAV-8, ICE36, Bor-4, (428)Borky1, (1158)Aledal-6-49, (1166)Aledal14-73, (5349)UKSE06-639, ÖMö1-7(6073), (6193)TDr-7, (6908)CIBC-5, (6944)NFA-8, (6966)Sq-1, (7071)Chat-1, (7092)Com-1, (7130)Et-0, (7161)Gd-1, (7163)Ha-0, (7164)Hau-0, (7203)Krot-0, (7217)Lm-2, (7231)Li-7, (7305)Pt-0, (9698)Gocecd-1, (9736)Teiu-2, (9920)DIR-9, (9921)FOR-23, (9925)RUM-20, (10004)Boin-1, (10005)Copac-1, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE1, ICE21</p>
<p>(1063)Brösarp-21-140, Brösarp-34-145(1066), Brösarp-45-153(1070), (5151)UKSE06-325, (5210)UKSE06-432, App1-14(5831), App1-16(5832), Fjäl-2(6019), Fjäl-5(6020), Fjäl-4(6021), Fjäl-6(6022), (6035)Hov1-10, Hov1-10(6038), (6039)Hovdala-2, Lis-3(6041), (6043)Löv-1, LöV-5(6046), (6096)T1060, T1070(6097), T1090(6099), T470(6107), T480(6108), T550(6113), T570(6114), T680(6123), (6126)T720, T890(6141), (6188)TDr-1, TDr-2(6189), (6192)TDr-5, TDr-8(6194), (6195)TDr-9, (6198)TDr-13, (6203)TDr-18, (6243)Tottarp-2, TV-10(6258), (6919)Ga-0, (6974)Ull2-5, (7013)Bd-0, (7031)Bsch-0, Ca-0(7062), (7106)Dr-0, En-D(7120), Er-0(7125), (7181)Je-0, (7223)Li-2-1, (7273)No-0, (7320)Rou-0, (7343)Sp-0, Sten-0(7346), Db-1(7419), (8214)Gy-0, (8230)Algutsum, (8231)Bröl-6, Liarum(8241), (8283)Dra3-1, (8290)En-1, Hovdala-6(8307), (8326)Lis-1, (8365)Rak-2, Fjäl-1(8422), (8426)Ull1-1, Ull2-13(8427), Vastervik(9058), Dod2(9352), Hadd-1(9390), Hadd-2(9391), (9392)Hadd-3, Hag-2(9394), Hal-1(9395), Kall(9408), (9409)Kia, Kor3(9412), Kor4(9413), Kru-3(9416), (9436)Puk-1, (9450)Sprol, Spro2(9451), Spro3(9452), Stenk-2(9453), Ysp-1(9481), (9701)Ivano-1, Malak-1(9720), (9925)RUM-20, (10017)Petro-1, (10020)Jl-2, Del-10, ICE21, (1061)Brösarp-11-135, (6036)Hov3-2, (6105)T450, (6109)T510, (6115)T580, (6413)Ull3-4, (9353)Dod3</p>
<p>(1063)Brösarp-21-140, Brösarp-34-145(1066), Brösarp-45-153(1070), (5151)UKSE06-325, (5210)UKSE06-432, App1-14(5831), App1-16(5832), Fjäl-2(6019), Fjäl-5(6020), Fjäl-4(6021), Fjäl-6(6022), (6035)Hov1-10, Hov1-10(6038), (6039)Hovdala-2, Lis-3(6041), (6043)Löv-1, LöV-5(6046), (6096)T1060, T1070(6097), T1090(6099), T470(6107), T480(6108), T550(6113), T570(6114), T680(6123), (6126)T720, T890(6141), (6188)TDr-1, TDr-2(6189), (6192)TDr-5, TDr-8(6194), (6195)TDr-9, (6198)TDr-13, (6203)TDr-18, (6243)Tottarp-2, TV-10(6258), (6919)Ga-0, (6974)Ull2-5, (7013)Bd-0, (7031)Bsch-0, Ca-0(7062), (7106)Dr-0, En-D(7120), Er-0(7125), (7181)Je-0, (7223)Li-2-1, (7273)No-0, (7320)Rou-0, (7343)Sp-0, Sten-0(7346), Db-1(7419), (8214)Gy-0, (8230)Algutsum, (8231)Bröl-6, Liarum(8241), (8283)Dra3-1, (8290)En-1, Hovdala-6(8307), (8326)Lis-1, (8365)Rak-2, Fjäl-1(8422),</p>

PLANÍCIE	
Cfb	Cfc
700 ≤ P	700 ≤ P
(108)LDV-18, (139)LDV-46, (159)MAR2-3, (265)PYL-6, (350)TOU-A1-88, (4779)UKSW06-179, (4807)UKSW06-207, UKSW06-240(4840), UKSW06-257(4857), (4884)UKSW06-285, (4900)UKSW06-302, UKSW06-341(4939), UKNW06-102(5395), (5577)UKNW06-403, UKNW06-488(5651), (5720)Cal-2, (5772)Set-1, (5779)UKID74, (5784)Ty-1, (5798)UKID93, (5800)UKID96, (5822)UKID116, (6897)Ag-0, Ei-2(6915), (6945)Nok-3, (6959)Rennes-1, (6982)Wt-5, (6986)Abd-0, (6987)Ak-1, (7003)Bs-1, (7008)Benk-1, (7026)Boot-1, (7028)Bch-1, (7036)Bu-0, (7058)Bur-0, (7061)Cal-0, Edi-0(7111), El-0(7117), (7138)Fi-0, (7162)Hs-0, (7165)Hn-0, (7169)Hh-0, (7218)Le-0, (7248)Mv-0, (7250)Me-0, (7258)Nw-0, Old-1(7280), Pn-0(7307), (7337)Si-0, Su-0(7342), (7353)Tha-1, (7378)Uk-1, Ven-1(7384), (8239)PHW-3, Ba4-1(8258), Ba5-1(8259), (8366)Rd-0, (8386)Sr-5, (9067)Xan-3, (9069)Xan-5, (9070)Xan-6, (9075)Lerik1-4, (9078)Lerik1-7, (9298)Edi-1, (9312)Ullapool-8, (9757)Staro-1, (9813)BI-4, (9847)IP-Fel-2, (9909)GEN-8, (9910)BRI-2, (9917)RAD-21, (9918)SAUL-24, (9932)NOZ-6, (10022)Uk-3, (10027)Uk-6, OOE3-2(15593), Ruc3-1-31	
(351)TOU-A1-89, (430)Gr-1, (4826)UKSW06-226, (4958)UKSW06-360, (5644)UKNW06-481, (5811)UKID107, Sr:3(6086), T840(6136), (6680)ANH-1, (6898)An-1, Ler-1(6932), (6960)Rennes-11, (6975)Uod-1, (6976)Uod-7, Wei-0(6979), (6989)Alst-1, Amel-1(6990), (6992)Ang-0, (6997)Appt-1, Baa-1(7002), (7096)Di-G, Do-0(7102), (7143)Gel-1, (7158)Gr-5, (7177)Jm-0, (7199)Kl-5, (7202)Kb-0, (7208)Lan-0, Ler-0(7213), (7268)Np-0, Ragl-1(7314), (7316)Rhen-1, (7344)Sg-1, (7382)Utrecht, (7387)Vind-1, Zu-0(7417), (7430)Nc-1, (8256)Bá1-2, (9314)Gol-2, (9503)11C1, (9644)Zupan-1, (9645)Gradi-1, (9747)Zabar-1, (9756)Staro-2, Ru4-16(9768), Alt1(9774), Berg-1(9775), (9777)Gn-1, Bai-10(9779), Erg2-6(9784), Gn2-3(9790), (9791)Haes-1, (9793)Ru-N2, Hnart-2(9799), Obel-15(9804), Ru-2(9806), Schl-7(9807), (9908)ESP-1-11, (9911)ARGE-1-15, (9912)CIRY-13, (9914)IST-29, (9915)MAR-4-16, (15592)OOE31, WalhaesB4, HKT2.4, Bay-0	Strand-1(10023)
(108)LDV-18, (139)LDV-46, (265)PYL-6, (350)TOU-A1-88, (4779)UKSW06-179, (4807)UKSW06-207, UKSW06-240(4840), UKSW06-257(4857), (4884)UKSW06-285, (4900)UKSW06-302, UKSW06-341(4939), UKNW06-102(5395), (5577)UKNW06-403, UKNW06-488(5651), (5720)Cal-2, (5772)Set-1, (5779)UKID74, (5784)Ty-1, (5798)UKID93, (5800)UKID96, (5822)UKID116, (6897)Ag-0, Ei-2(6915), (6945)Nok-3, (6959)Rennes-1, (6982)Wt-5, (6986)Abd-0, (6987)Ak-1, (7008)Benk-1, (7026)Boot-1, (7028)Bch-1, (7036)Bu-0, (7058)Bur-0, (7061)Cal-0, Edi-0(7111), El-0(7117), (7138)Fi-0, (7162)Hs-0, (7165)Hn-0, (7169)Hh-0, (7218)Le-0, (7248)Mv-0, (7258)Nw-0, Old-1(7280), Pn-0(7307), (7337)Si-0, Su-0(7342), (7353)Tha-1, (7378)Uk-1, Ven-1(7384), (8239)PHW-3, Ba4-1(8258), Ba5-1(8259), (8366)Rd-0, (8386)Sr-5, (9067)Xan-3, (9069)Xan-5, (9070)Xan-6, (9075)Lerik1-4, (9078)Lerik1-7, (9298)Edi-1, (9312)Ullapool-8, (9757)Staro-1, (9847)IP-Fel-2, (9909)GEN-8, (9910)BRI-2, (9917)RAD-21, (9918)SAUL-24, (9932)NOZ-6, (10022)Uk-3, (10027)Uk-6, OOE3-2(15593), Ruc3-1-31, (4826)UKSW06-226, (4958)UKSW06-360, (5644)UKNW06-481, (5811)UKID107, T840(6136), (6680)ANH-1, (6898)An-1, (6976)Uod-7, (6989)Alst-1, (6997)Appt-1, (7158)Gr-5, (7199)Kl-5, (7202)Kb-0, (7208)Lan-0, (7344)Sg-1, (7382)Utrecht, (7387)Vind-1, (9314)Gol-2, (9503)11C1, (9908)ESP-1-11, (9911)ARGE-1-15, (9914)IST-29, (15592)OOE3-1, Bay-0	
(351)TOU-A1-89, (430)Gr-1, Sr:3(6086), Ler-1(6932), (6960)Rennes-11, (6975)Uod-1, Wei-0(6979), Amel-1(6990), (6992)Ang-0, Baa-1(7002), (7096)Di-G, Do-0(7102), (7143)Gel-1, (7177)Jm-0, Ler-0(7213), (7268)Np-0, Ragl-1(7314), (7316)Rhen-1, Zu-0(7417), (7430)Nc-1, (8256)Bá1-2, (9644)Zupan-1, (9645)Gradi-1, (9747)Zabar-1, (9756)Staro-2, Ru4-16(9768), Alt1(9774), Berg-1(9775), (9777)Gn-1, Bai-10(9779), Erg2-6(9784), Gn2-3(9790), (9791)Haes-1, (9793)Ru-N2, Hnart-2(9799), Obel-15(9804), Ru-2(9806), Schl-7(9807), (9912)CIRY-13, (9915)MAR-4-16, WalhaesB4, HKT2.4, (159)MAR2-3, (7003)Bs-1, (7250)Me-0, (9813)BI-4	Strand-1(10023)
(108)LDV-18, (139)LDV-46, (265)PYL-6, (350)TOU-A1-88, (4779)UKSW06-179, (4807)UKSW06-207, UKSW06-240(4840), UKSW06-257(4857), (4884)UKSW06-285, (4900)UKSW06-302, UKSW06-341(4939), UKNW06-102(5395), (5577)UKNW06-403, UKNW06-488(5651), (5720)Cal-2, (5772)Set-1, (5779)UKID74, (5784)Ty-1, (5798)UKID93, (5800)UKID96, (5822)UKID116, (6897)Ag-0, Ei-2(6915), (6945)Nok-3, (6959)Rennes-1, (6982)Wt-5, (6986)Abd-0, (6987)Ak-1, (7008)Benk-1, (7026)Boot-1, (7028)Bch-1, (7036)Bu-0, (7058)Bur-0, (7061)Cal-0, Edi-0(7111), El-0(7117), (7138)Fi-0, (7162)Hs-0, (7165)Hn-0, (7169)Hh-0, (7218)Le-0, (7248)Mv-0, (7258)Nw-0, Old-1(7280), Pn-0(7307), (7337)Si-0, Su-0(7342), (7353)Tha-1, (7378)Uk-1, Ven-1(7384), (8239)PHW-3, Ba4-1(8258), Ba5-1(8259), (8366)Rd-0, (8386)Sr-5, (9067)Xan-3, (9069)Xan-5, (9070)Xan-6, (9075)Lerik1-4, (9078)Lerik1-7, (9298)Edi-1, (9312)Ullapool-8, (9757)Staro-1, (9847)IP-Fel-2, (9909)GEN-8, (9910)BRI-2, (9917)RAD-21, (9918)SAUL-24, (9932)NOZ-6, (10022)Uk-3, (10027)Uk-6, OOE3-2(15593), Ruc3-1-31, (4826)UKSW06-226, (4958)UKSW06-360, (5644)UKNW06-481, (5811)UKID107, T840(6136), (6680)ANH-1, (6898)An-1, (6976)Uod-7, (6989)Alst-1, (6997)Appt-1, (7158)Gr-5, (7199)Kl-5, (7202)Kb-0, (7208)Lan-0, (7344)Sg-1, (7382)Utrecht, (7387)Vind-1, (9314)Gol-2, (9503)11C1, (9908)ESP-1-11, (9911)ARGE-1-15, (9914)IST-29, (15592)OOE3-1, Bay-0	
(351)TOU-A1-89, (430)Gr-1, Sr:3(6086), Ler-1(6932), (6960)Rennes-11, (6975)Uod-1, Wei-0(6979), Amel-1(6990), (6992)Ang-0, Baa-1(7002), (7096)Di-G, Do-0(7102), (7143)Gel-1, (7177)Jm-0, Ler-0(7213), (7268)Np-0, Ragl-1(7314), (7316)Rhen-1, Zu-0(7417), (7430)Nc-1, (8256)Bá1-2, (9644)Zupan-1, (9645)Gradi-1, (9747)Zabar-1, (9756)Staro-2, Ru4-16(9768), Alt1(9774), Berg-1(9775), (9777)Gn-1, Bai-10(9779), Erg2-6(9784), Gn2-3(9790), (9791)Haes-1, (9793)Ru-N2, Hnart-2(9799), Obel-15(9804), Ru-2(9806), Schl-7(9807), (9912)CIRY-13, (9915)MAR-4-16, WalhaesB4, HKT2.4, (159)MAR2-3, (7003)Bs-1, (7250)Me-0, (9813)BI-4	Strand-1(10023)
(351)TOU-A1-89, (430)Gr-1, Sr:3(6086), Ler-1(6932), (6960)Rennes-11, (6975)Uod-1, Wei-0(6979), Amel-1(6990), (6992)Ang-0, Baa-1(7002), (7096)Di-G, Do-0(7102), (7143)Gel-1, (7177)Jm-0, Ler-0(7213), (7268)Np-0, (7316)Rhen-1, Zu-0(7417), (7430)Nc-1, (8256)Bá1-2, (9644)Zupan-1, (9645)Gradi-1, (9747)Zabar-1, (9756)Staro-2, Ru4-16(9768), Alt1(9774), Berg-1(9775), (9777)Gn-1, Bai-10(9779), Erg2-6(9784), Gn2-3(9790), (9791)Haes-1, (9793)Ru-N2, Hnart-2(9799), Obel-15(9804), Ru-2(9806), Schl-7(9807), (9912)CIRY-13, (9915)MAR-4-16, WalhaesB4, HKT2.4, (159)MAR2-3, (7003)Bs-1, (7250)Me-0, (9813)BI-4	Strand-1(10023)
(351)TOU-A1-89, (430)Gr-1, Sr:3(6086), Ler-1(6932), (6960)Rennes-11, (6975)Uod-1, Wei-0(6979), Amel-1(6990), (6992)Ang-0, Baa-1(7002), (7096)Di-G, Do-0(7102), (7143)Gel-1, (7177)Jm-0, Ler-0(7213), (7268)Np-0, (7316)Rhen-1, Zu-0(7417), (7430)Nc-1, (8256)Bá1-2, (9644)Zupan-1, (9645)Gradi-1, (9747)Zabar-1, (9756)Staro-2, Ru4-16(9768), Alt1(9774), Berg-1(9775), (9777)Gn-1, Bai-10(9779), Erg2-6(9784), Gn2-3(9790), (9791)Haes-1, (9793)Ru-N2, Hnart-2(9799), Obel-15(9804), Ru-2(9806), Schl-7(9807), (9912)CIRY-13, (9915)MAR-4-16, WalhaesB4, HKT2.4, (159)MAR2-3, (7003)Bs-1, (7250)Me-0, (9813)BI-4	Strand-1(10023)
(265)PYL-6, (4779)UKSW06-179, UKSW06-341(4939), (5720)Cal-2, (5798)UKID93, (5822)UKID116, (6945)Nok-3, (6959)Rennes-1, (6986)Abd-0, (6987)Ak-1, (7026)Boot-1, (7058)Bur-0, (7061)Cal-0, (7218)Le-0, (7248)Mv-0, (7378)Uk-1, (9069)Xan-5, (9070)Xan-6, (9075)Lerik1-4, (9078)Lerik1-7, (9298)Edi-1, (9312)Ullapool-8, (9757)Staro-1, (9847)IP-Fel-2, (9910)BRI-2, (9917)RAD-21, (9932)NOZ-6, (10022)Uk-3, OOE3-2(15593), (4958)UKSW06-360, (5644)UKNW06-481, (5811)UKID107, T840(6136), (6680)ANH-1, (6898)An-1, (6976)Uod-7, (6989)Alst-1, (6997)Appt-1, (7158)Gr-5, (7199)Kl-5, (7202)Kb-0, (7208)Lan-0, (7344)Sg-1, (7382)Utrecht, (7387)Vind-1, (9314)Gol-2, (9503)11C1, (9908)ESP-1-11, (9911)ARGE-1-15, (9914)IST-29, (15592)OOE3-1, Bay-0, Ragl-1(7314)	

PLANÍČIE		
Dfa	Dfb	
700 ≤ P	P ≤ 300	300 < P < 500
(470)BRR4, (476)BRR12, (484)BRR23, (504)BRR57, (506)BRR60, (531)BRR107, MIA-1(853), MIA-5(854), MIC-20(867), MIC-24(868), (870)MIC-31, (932)CHA-41, Brn-10(1612), (1622)Brn-24, Haz-2(1676), (1684)Haz-10, (1739)KBS-Mac-68, (1741)KBS-Mac-74, Ker-4(1756), Ker-5(1757), L-R-5(1793), L-R-10(1797), Lak-12(1819), Lak-20(1820), (1829)Mdn-1, Mdn-8(1834), Mdn-10(1835), Map-8(2031), Map-35(2053), Map-42(2057), (2159)Paw-13, (2166)Paw-20, Riv-25(2239), Riv-26(2240), (2317)Ste-40, (2370)Yng-4, (2412)Yng-53, (6744)CSHL-5, KNO-15(6814), KNO-10(6927), KEN(7475), (7515)RRS-10, (7523)Pna-17, 627RMX-1MN4(7529), 627RMX-1MN5(7530), 627ME-13Y1(7566), 627ME-1MI1(7568), (7717)KNO1.37, KNO2.41(7757), KNO2.54(7767), PT1.52(8037), PT1.85(8057), (8077)PT2.21, (8132)RMX3.22, RMX4.118(8171), (8233)Dem-4, LP3413.31(8464), IP3413.53(8483), (8699)328PNA062, (8723)11PNA1.14, (9027)RMX413.85	(9619)Basta-1, (9620)Basta-2, (9621)Basta-3, (9640)Rakit-1, (9642)Rakit-3, (9643)Sever-1	(9613)Balan-1, (9617)Karag-1, (9631)Lebja-1, (9632)Lebja-2, (9633)Lebja-4, (9634)Masl-1, (9637)Novog-2, (9641)Rakit-2, (9960)Kidr-1, ICE138, ICE70
(915)LIN-S-5, Paw-26(2171), RRS-7(7514), (7525)Rmx-A180, (7917)PNA3.10, (7947)PNA3.40		(9608)Karag-2, (9609)Adam-1, (9624)Chaba-2, (9635)Nosov-1, Novog1(9636), (9638)Novog-3, (9639)Panke-1, (9955)Stepn-2, (9956)Stepn-1, ICE60, ICE61
(470)BRR4, (476)BRR12, (484)BRR23, (504)BRR57, (506)BRR60, (531)BRR107, MIA-1(853), MIA-5(854), MIC-20(867), MIC-24(868), (870)MIC-31, (932)CHA-41, Brn-10(1612), (1622)Brn-24, Haz-2(1676), (1684)Haz-10, (1739)KBS-Mac-68, (1741)KBS-Mac-74, Ker-4(1756), Ker-5(1757), L-R-5(1793), L-R-10(1797), Lak-12(1819), Lak-20(1820), (1829)Mdn-1, Mdn-8(1834), Mdn-10(1835), Map-8(2031), Map-35(2053), Map-42(2057), (2159)Paw-13, (2166)Paw-20, Riv-25(2239), Riv-26(2240), (2317)Ste-40, (2370)Yng-4, (2412)Yng-53, (6744)CSHL-5, KNO-15(6814), KNO-10(6927), KEN(7475), (7515)RRS-10, (7523)Pna-17, 627RMX-1MN4(7529), 627RMX-1MN5(7530), 627ME-13Y1(7566), 627ME-1MI1(7568), (7717)KNO1.37, KNO2.41(7757), KNO2.54(7767), PT1.52(8037), PT1.85(8057), (8077)PT2.21, (8132)RMX3.22, RMX4.118(8171), (8233)Dem-4, LP3413.31(8464), IP3413.53(8483), (8699)328PNA062, (8723)11PNA1.14, (9027)RMX413.85, Paw-26(2171), (7525)Rmx-A180, (7947)PNA3.40	(9619)Basta-1, (9620)Basta2, (9621)Basta-3, (9642)Rakit-3, (9643)Sever1	(9613)Balan-1, (9617)Karag-1, (9631)Lebja-1, (9632)Lebja-2, (9633)Lebja-4, (9634)Masl-1, (9637)Novog-2, (9641)Rakit-2, (9960)Kidr-1, ICE138, ICE70, (9624)Chaba-2, (9635)Nosov-1, (9955)Stepn-2
(915)LIN-S-5, RRS-7(7514), (7917)PNA3.10	(9640)Rakit-1	(9608)Karag-2, (9609)Adam-1, Novog-1(9636), (9638)Novog-3, (9639)Panke-1, (9956)Stepn-1, ICE60, ICE61
(470)BRR4, (476)BRR12, (484)BRR23, (504)BRR57, (506)BRR60, (531)BRR107, MIA-1(853), MIA-5(854), MIC-20(867), MIC-24(868), (870)MIC-31, (932)CHA-41, Brn-10(1612), (1622)Brn-24, Haz-2(1676), (1684)Haz-10, (1739)KBS-Mac-68, (1741)KBS-Mac-74, Ker-4(1756), Ker-5(1757), L-R-5(1793), L-R-10(1797), Lak-12(1819), Lak-20(1820), (1829)Mdn-1, Mdn-8(1834), Mdn-10(1835), Map-8(2031), Map-35(2053), Map-42(2057), (2159)Paw-13, (2166)Paw-20, Riv-25(2239), Riv-26(2240), (2317)Ste-40, (2370)Yng-4, (2412)Yng-53, (6744)CSHL-5, KNO-15(6814), KNO-10(6927), KEN(7475), (7515)RRS-10, (7523)Pna-17, 627RMX-1MN4(7529), 627RMX-1MN5(7530), 627ME-13Y1(7566), 627ME-1MI1(7568), (7717)KNO1.37, KNO2.41(7757), KNO2.54(7767), PT1.52(8037), PT1.85(8057), (8077)PT2.21, (8132)RMX3.22, RMX4.118(8171), (8233)Dem-4, LP3413.31(8464), IP3413.53(8483), (8699)328PNA062, (8723)11PNA1.14, (9027)RMX413.85, Paw-26(2171), (7525)Rmx-A180, (7947)PNA3.40	(9619)Basta-1, (9620)Basta2, (9621)Basta-3, (9642)Rakit-3, (9643)Sever1	(9613)Balan-1, (9617)Karag-1, (9631)Lebja-1, (9632)Lebja-2, (9633)Lebja-4, (9634)Masl-1, (9637)Novog-2, (9641)Rakit-2, (9960)Kidr-1, ICE138, ICE70, (9624)Chaba-2
(915)LIN-S-5, RRS-7(7514), (7917)PNA3.10	(9640)Rakit-1	(9608)Karag-2, (9609)Adam-1, Novog-1(9636), (9638)Novog-3, (9639)Panke-1, (9956)Stepn-1, ICE60, ICE61, (9635)Nosov-1, (9955)Stepn-2
(470)BRR4, (476)BRR12, (484)BRR23, (504)BRR57, (506)BRR60, (531)BRR107, MIA-1(853), MIA-5(854), MIC-20(867), MIC-24(868), (870)MIC-31, (932)CHA-41, Brn-10(1612), (1622)Brn-24, Haz-2(1676), (1684)Haz-10, (1739)KBS-Mac-68, (1741)KBS-Mac-74, Ker-4(1756), Ker-5(1757), L-R-5(1793), L-R-10(1797), Lak-12(1819), Lak-20(1820), (1829)Mdn-1, Mdn-8(1834), Mdn-10(1835), Map-8(2031), Map-35(2053), Map-42(2057), (2159)Paw-13, (2166)Paw-20, Riv-25(2239), Riv-26(2240), (2317)Ste-40, (2370)Yng-4, (2412)Yng-53, (6744)CSHL-5, KNO-15(6814), KNO-10(6927), KEN(7475), (7515)RRS-10, (7523)Pna-17, 627RMX-1MN4(7529), 627RMX-1MN5(7530), 627ME-13Y1(7566), 627ME-1MI1(7568), (7717)KNO1.37, KNO2.41(7757), KNO2.54(7767), PT1.52(8037), PT1.85(8057), (8077)PT2.21, (8132)RMX3.22, RMX4.118(8171), (8233)Dem-4, LP3413.31(8464), IP3413.53(8483), (8699)328PNA062, (8723)11PNA1.14, (9027)RMX413.85, Paw-26(2171), (7525)Rmx-A180, (7947)PNA3.40	(9619)Basta-1, (9620)Basta2, (9621)Basta-3, (9642)Rakit-3, (9643)Sever1	(9613)Balan-1, (9617)Karag-1, (9631)Lebja-1, (9632)Lebja-2, (9633)Lebja-4, (9634)Masl-1, (9637)Novog-2, (9641)Rakit-2, (9960)Kidr-1, ICE138, ICE70, (9624)Chaba-2
(915)LIN-S-5, RRS-7(7514), (7917)PNA3.10, (2317)Ste-40, (6744)CSHL-5	(9640)Rakit-1	(9608)Karag-2, (9609)Adam-1, Novog-1(9636), (9638)Novog-3, (9639)Panke-1, (9956)Stepn-1, ICE60, ICE61, (9635)Nosov-1, (9955)Stepn-2, (9634)Masl-1, (9960)Kidr-1, (9624)Chaba-2
(470)BRR4, (476)BRR12, (484)BRR23, (504)BRR57, (506)BRR60, (531)BRR107, MIA-1(853), MIA-5(854), MIC-20(867), MIC-24(868), (870)MIC-31, (932)CHA-41, Brn-10(1612), (1622)Brn-24, Haz-2(1676), (1684)Haz-10, (1739)KBS-Mac-68, (1741)KBS-Mac-74, Ker-4(1756), Ker-5(1757), L-R-5(1793), L-R-10(1797), Lak-12(1819), Lak-20(1820), (1829)Mdn-1, Mdn-8(1834), Mdn-10(1835), Map-8(2031), Map-35(2053), Map-42(2057), (2159)Paw-13, (2166)Paw-20, Riv-25(2239), Riv-26(2240), (2317)Ste-40, (2370)Yng-4, (2412)Yng-53, (6744)CSHL-5, KNO-15(6814), KNO-10(6927), KEN(7475), (7515)RRS-10, (7523)Pna-17, 627RMX-1MN4(7529), 627RMX-1MN5(7530), 627ME-13Y1(7566), 627ME-1MI1(7568), (7717)KNO1.37, KNO2.41(7757), KNO2.54(7767), PT1.52(8037), PT1.85(8057), (8077)PT2.21, (8132)RMX3.22, RMX4.118(8171), (8233)Dem-4, LP3413.31(8464), IP3413.53(8483), (8699)328PNA062, (8723)11PNA1.14, (9027)RMX413.85, Paw-26(2171), (7525)Rmx-A180, (7947)PNA3.40	(9619)Basta-1, (9620)Basta2, (9642)Rakit-3, (9643)Sever1	(9613)Balan-1, (9617)Karag-1, (9631)Lebja-1, (9632)Lebja-2, (9633)Lebja-4, (9634)Masl-1, (9637)Novog-2, (9641)Rakit-2, (9960)Kidr-1, ICE138, ICE70

PLANÍČIE

Dfb

500 < P < 700	700 ≤ P
<p>(1257)Tos-95-393, (1552)Sku-30, Rev-3(6077), T1160(6104), T610(6118), TÄL03(6177), TÄL07(6180), (6231)TNY04, (6242)Tomegap-2, TRÄ01(6244), (6424)ZdrI1-23, (6434)ZdrI2-9, (6445)ZdrI2-21, (6938)Ms-0, (6968)Tamm-2, (7072)Chi-0, (7126)Es-0, Rsch-4(7322), (7323)Rubezhnoe-1, (8227)TH003, (8335)Lund, (8354)Per-1, Ver-1(8369), (8376)Sanna-2, (9336)Bön1, (9339)Böt1, (9363)EdJ2, (9369)EKs2, EKs3(9370), (9380)FlyA3, Hel-3(9402), HolA-11(9404), HolA-12(9405), HolA-22(9407), (9607)Panik-1, (9610)Lesno-4, (9611)Lesno-1, (9612)Lesno-2, (9615)Parti-1, (9616)Krazo-1, (9622)Bijisk-4, (9625)Kolyv-2, (9627)Kolyv-5, (9628)Kolyv-6, (9629)K-oze-1, (9630)K-oze-3, (9951)Kly-1, (9952)Kly-4, (9953)Koz-2, (9957)Borsk-2, (9958)Shigu-1, (9959)Shigu-2, ICE71, ICE72, ICE75, Koch-1, ICE127, ICE130, ICE134</p>	<p>DuckLkSP38(1651), DuckLkSP40(1652), MNF-Pot-10(1851), MNF-Pot-15(1852), (1853)MNF-Pot-21, (1872)MNF-Pot-75, (1890)MNF-Riv-21, MNF-Che-2(1925), (1942)MNF-Che-47, (1943)MNF-Che-49, (1954)MNF-Jac-12, (2017)MNF-Pin-40, (2081)MuskSP-68, (2091)MuskSP-83, (2106)MSGa-10, MSGA-12(2108), (2141)MSGa-61, Pent-7(2191), (2202)Pent-23, (2212)Pent-46, (2276)SLSP-31, (2278)SLSP-35, SLSP-69(2285), SLSP-67(2286), FM-10(6749), FM-11(6750), (6926)Kin-0, (7160)Gre-0, (7377)Tul-0, (9735)Bela-4</p>
<p>(1254)Tos-82-387, Ängsö-59-422(1313), Ängsö-74-430(1317), (5856)Dör-10, Dra-3(5860), (6009)Eden-1, (6016)Eds-1, Eds-9(6017), (6030)Grön-5, (6064)Nyl-2, Nyl-7(6069), Omm-1(6070), Rev-2(6076), Sparta-1(6085), T620(6119), (6153)TAA03, (6154)TAA04, (6163)TAA14, TAA17(6166), TÄD01(6169), TÄD02(6174), TÄD03(6173), TÄD06(6174), TB001(6184), (6220)TGR01, (6221)TGR02, (6240)TOM06, (6241)TOM07, (6969)Tamm-27, (6981)Ws-2, (6984)Zdr-1, (7103)Dra-0, (7127)Est, Kn-0(7186), Litva(7236), (7255)Mh-0, (7296)Pergof, (7347)Stw-0, (7394)Wa-1, Wil-2(7413), Kulturen-1(8240), Lu-1(8334), (8351)Ost-0, (8419)Wil-1, Adal1(9321), Adal3(9323), (9332)Bar1, Nas2(9427), Nyl13(9433), Tr-4(9470), (9744)Jasi-1</p>	<p>MNF-Pin-39(2016), (9730)Bela-1, (9733)Bela-2, OOE2-1(19949), OOE2-2(19950), (19951)OOE23</p>
<p>(1257)Tos-95-393, (1552)Sku-30, Rev-3(6077), T1160(6104), T610(6118), TÄL03(6177), TÄL07(6180), (6231)TNY04, (6242)Tomegap-2, TRÄ01(6244), (6424)ZdrI1-23, (6434)ZdrI2-9, (6445)ZdrI2-21, (6938)Ms-0, (7072)Chi-0, Rsch-4(7322), (7323)Rubezhnoe-1, (8335)Lund, (8354)Per-1, Ver-1(8369), (8376)Sanna-2, (9339)Böt1, (9363)EdJ2, (9369)EKs2, EKs3(9370), (9380)FlyA3, Hel-3(9402), HolA-11(9404), HolA-12(9405), HolA-22(9407), (9607)Panik-1, (9610)Lesno-4, (9611)Lesno-1, (9612)Lesno-2, (9615)Parti-1, (9616)Krazo-1, (9622)Bijisk-4, (9625)Kolyv-2, (9627)Kolyv-5, (9628)Kolyv-6, (9629)K-oze-1, (9630)K-oze-3, (9951)Kly-1, (9952)Kly-4, (9953)Koz-2, (9957)Borsk-2, (9958)Shigu-1, (9959)Shigu-2, ICE71, ICE72, ICE75, Koch-1, ICE127, ICE130, ICE134, (1254)Tos-82387, (6030)Grön-5, T620(6119), (6241)TOM07, Tr-4(9470)</p>	<p>DuckLkSP38(1651), DuckLkSP40(1652), MNF-Pot-10(1851), MNF-Pot-15(1852), (1853)MNF-Pot-21, (1872)MNF-Pot-75, (1890)MNF-Riv-21, MNF-Che-2(1925), (1942)MNF-Che-47, (1943)MNF-Che-49, (1954)MNF-Jac-12, (2017)MNF-Pin-40, (2081)MuskSP-68, (2091)MuskSP-83, (2106)MSGa-10, MSGA-12(2108), (2141)MSGa-61, Pent-7(2191), (2202)Pent-23, (2212)Pent-46, (2276)SLSP-31, (2278)SLSP-35, SLSP-69(2285), SLSP-67(2286), FM-10(6749), FM-11(6750), (6926)Kin-0, (7160)Gre-0, (7377)Tul-0, (9735)Bela-4, OOE2-1(19949), OOE2-2(19950), (19951)OOE23</p>
<p>Ängsö-59-422(1313), Ängsö-74-430(1317), (5856)Dör-10, Dra-3(5860), (6009)Eden-1, (6016)Eds-1, Eds-9(6017), (6064)Nyl-2, Nyl-7(6069), Omm-1(6070), Omm-5(6071), Rev-2(6076), Sparta-1(6085), (6153)TAA03, (6154)TAA04, (6163)TAA14, TAA17(6166), TÄD01(6169), (6172)TÄD04, TÄD05(6173), TÄD06(6174), TB001(6184), (6220)TGR01, (6221)TGR02, (6240)TOM06, (6969)Tamm-27, (6981)Ws-2, (6984)Zdr-1, (7103)Dra-0, (7127)Est, Kn-0(7186), Litva(7236), (7255)Mh-0, (7296)Pergof, (7347)Stw-0, (7394)Wa-1, Wil-2(7413), Kulturen-1(8240), Lu-1(8334), (8351)Ost-0, (8419)Wil-1, Adal1(9321), Adal3(9323), (9332)Bar1, Nas2(9427), Nyl13(9433), (9744)Jasi-1, (6968)Tamm-2, (7126)Es-0, (8227)TH003, (9336)Bön1</p>	<p>MNF-Pin-39(2016), (9730)Bela-1, (9733)Bela-2</p>
<p>(1257)Tos-95-393, (1552)Sku-30, Rev-3(6077), T1160(6104), T610(6118), TÄL03(6177), TÄL07(6180), (6231)TNY04, (6242)Tomegap-2, TRÄ01(6244), (6424)ZdrI1-23, (6434)ZdrI2-9, (6445)ZdrI2-21, (6938)Ms-0, (7072)Chi-0, Rsch-4(7322), (7323)Rubezhnoe-1, (8335)Lund, (8354)Per-1, Ver-1(8369), (8376)Sanna-2, (9339)Böt1, (9363)EdJ2, (9369)EKs2, EKs3(9370), (9380)FlyA3, Hel-3(9402), HolA-11(9404), HolA-12(9405), HolA-22(9407), (9607)Panik-1, (9610)Lesno-4, (9611)Lesno-1, (9612)Lesno-2, (9615)Parti-1, (9616)Krazo-1, (9622)Bijisk-4, (9625)Kolyv-2, (9627)Kolyv-5, (9628)Kolyv-6, (9629)K-oze-1, (9630)K-oze-3, (9951)Kly-1, (9952)Kly-4, (9953)Koz-2, (9957)Borsk-2, (9958)Shigu-1, (9959)Shigu-2, ICE71, ICE72, ICE75, Koch-1, ICE127, ICE130, ICE134, (1254)Tos-82387, (6030)Grön-5, T620(6119), (6241)TOM07, Tr-4(9470)</p>	<p>DuckLkSP38(1651), DuckLkSP40(1652), MNF-Pot-10(1851), MNF-Pot-15(1852), (1853)MNF-Pot-21, (1872)MNF-Pot-75, (1890)MNF-Riv-21, MNF-Che-2(1925), (1942)MNF-Che-47, (1943)MNF-Che-49, (1954)MNF-Jac-12, (2017)MNF-Pin-40, (2081)MuskSP-68, (2091)MuskSP-83, (2106)MSGa-10, MSGA-12(2108), (2141)MSGa-61, Pent-7(2191), (2202)Pent-23, (2212)Pent-46, (2276)SLSP-31, (2278)SLSP-35, SLSP-69(2285), SLSP-67(2286), FM-10(6749), FM-11(6750), (6926)Kin-0, (7160)Gre-0, (7377)Tul-0, (9735)Bela-4, OOE2-1(19949), OOE2-2(19950), (19951)OOE23</p>
<p>Ängsö-59-422(1313), Ängsö-74-430(1317), (5856)Dör-10, Dra-3(5860), (6009)Eden-1, (6016)Eds-1, Eds-9(6017), (6064)Nyl-2, Nyl-7(6069), Omm-1(6070), Omm-5(6071), Rev-2(6076), Sparta-1(6085), (6153)TAA03, (6154)TAA04, (6163)TAA14, TAA17(6166), TÄD01(6169), (6172)TÄD04, TÄD05(6173), TÄD06(6174), TB001(6184), (6220)TGR01, (6221)TGR02, (6240)TOM06, (6969)Tamm-27, (6981)Ws-2, (6984)Zdr-1, (7103)Dra-0, (7127)Est, Kn-0(7186), Litva(7236), (7255)Mh-0, (7296)Pergof, (7347)Stw-0, (7394)Wa-1, Wil-2(7413), Kulturen-1(8240), Lu-1(8334), (8351)Ost-0, (8419)Wil-1, Adal1(9321), Adal3(9323), (9332)Bar1, Nas2(9427), Nyl13(9433), (9744)Jasi-1, (6968)Tamm-2, (7126)Es-0, (8227)TH003, (9336)Bön1</p>	<p>MNF-Pin-39(2016), (9730)Bela-1, (9733)Bela-2</p>
<p>(5856)Dör-10, (6016)Eds-1, Eds-9(6017), Rev-2(6076), Sparta-1(6085), TÄD01(6169), (6172)TÄD04, TÄD05(6173), TÄD06(6174), (6221)TGR02, (6984)Zdr-1, (7103)Dra-0, (7127)Est, Kn-0(7186), Litva(7236), (7255)Mh-0, (7296)Pergof, (7347)Stw-0, (7394)Wa-1, Wil-2(7413), Kulturen-1(8240), Lu-1(8334), (8351)Ost-0, (8419)Wil-1, Adal1(9321), Adal3(9323), (9332)Bar1, Nas2(9427), Nyl13(9433), (9744)Jasi-1, (6968)Tamm-2, (7126)Es-0, (8227)TH003, (9336)Bön1</p>	<p>MNF-Pin-39(2016), (9730)Bela-1, (9733)Bela-2, (1853)MNF-Pot-21, MNF-Che-2(1925), (1954)MNF-Jac-12, (2202)Pent-23, (6926)Kin-0</p>
<p>(1257)Tos-95-393, (1552)Sku-30, TÄL03(6177), (6231)TNY04, TRÄ01(6244), (7072)Chi-0, (7323)Rubezhnoe-1, (8354)Per-1, (8376)Sanna-2, (9339)Böt1, (9363)EdJ2, Hel-3(9402), (9607)Panik-1, (9610)Lesno-4, (9611)Lesno-1, (9612)Lesno-2, (9615)Parti-1, (9616)Krazo-1, (9622)Bijisk-4, (9625)Kolyv-2, (9627)Kolyv-5, (9628)Kolyv-6, (9629)K-oze-1, (9630)K-oze-3, (9951)Kly-1, (9952)Kly-4, (9953)Koz-2, (9957)Borsk-2, (9958)Shigu-1, (9959)Shigu-2, ICE71, ICE72, ICE75, Koch-1, ICE127, ICE130, ICE134, (1254)Tos-82-387, Ängsö-59-422(1313), Ängsö-74-430(1317), (6030)Grön-5, T620(6119), Tr-4(9470), Dra-3(5860), (6009)Eden-1, (6064)Nyl-2, Nyl-7(6069), Omm-1(6070), Omm-5(6071), (6153)TAA03, (6154)TAA04, (6163)TAA14, TAA17(6166), TB001(6184), (6220)TGR01, (6240)TOM06, (6969)Tamm-27, (6981)Ws-2, (6984)Zdr-1, (7103)Dra-0, (7127)Est, Kn-0(7186), Litva(7236), (7255)Mh-0, (7296)Pergof, (7347)Stw-0, (7394)Wa-1, Wil-2(7413), Kulturen-1(8240), Lu-1(8334), (8351)Ost-0, (8419)Wil-1, Adal1(9321), Adal3(9323), (9332)Bar1, Nas2(9427), Nyl13(9433), (9744)Jasi-1, (6968)Tamm-2, (7126)Es-0, (8227)TH003, (9336)Bön1</p>	<p>DuckLkSP38(1651), DuckLkSP40(1652), MNF-Pot-10(1851), MNF-Pot-15(1852), (1872)MNF-Pot-75, (1890)MNF-Riv-21, (1942)MNF-Che-47, (1943)MNF-Che-49, (1954)MNF-Jac-12, (2017)MNF-Pin-40, (2081)MuskSP-68, (2091)MuskSP-83, (2106)MSGa-10, MSGA-12(2108), (2141)MSGa-61, Pent-7(2191), (2202)Pent-23, (2212)Pent-46, (2276)SLSP-31, (2278)SLSP-35, SLSP-69(2285), SLSP-67(2286), FM-10(6749), FM-11(6750), (7160)Gre-0, (7377)Tul-0, (9735)Bela-4, OOE2-1(19949), OOE2-2(19950), (19951)OOE23</p>

PLANÍCIE					PLANALTO			
Dfc	BWh	Bsk	BSh		Csa		Csb	
500 < P < 700	P ≤ 300	300 < P < 500	P ≤ 300	500 < P < 700	300 < P < 500	500 < P < 700	300 < P < 500	500 < P < 700
TFÄ07(6217), (6900)Bil-5, (6917)Fäb-2, Fab-4(6918), FaL1(9371), Kos-1(14312), Kos-2(14313), Radk-1(14314), Radk-2(14315), (14318)Shu-1, Shu2(14319), Valm(15560), (18694)Pien, (18696)Samm	(6911)Cvi-0, Can-0(7063)	(9534)IP-Cmo-3, Wash-1	(9879)IPPer-0, ICE49, ICE50	(9596)IP-Ver-5	(9513)IP-Adc-5, (9555)IP-Mar-1, (9556)IP-Men-2	(9560)IP-Mot-0, (9579)IP-San-10, (9835)IP-Cir-0	(9533)IP-Cem-0, (9553)IP-Ldd-0, (9595)IP-Vdt-0, (9838)IP-Cot-0, (9897)IP-Smt-1	(9551)IP-Jim-1
Eden-5(6010), Eden-6(6011), Eden-7(6012), Eden-9(6013), Gro-3(6025), TEDEN02(6209), TEDEN03(6210), TFÄ04(6214), TFÄ06(6216), TFÄ08(6218), TOM01(6235), (6237)TOM03, TOM04(6238), Bil-7(6901), Eden-2(6913), Gron12(9386), Gron14(9388)		Cdm-0			(9514)IP-Adm-0	Se-0(6961), (9541)IP-Fue-2	(9531)IP-Cdc-3, (9592)IP-Vae-2, (9820)IP-Are-0	
TFÄ07(6217), (6917)Fäb-2, Fab-4(6918), FaL1(9371), Kos-1(14312), Kos-2(14313), Radk-1(14314), Radk-2(14315), (14318)Shu-1, Shu2(14319), Valm(15560), (18694)Pien, (18696)Samm	(6911)Cvi-0, Can-0(7063)	(9534)IP-Cmo-3, Wash-1	(9879)IPPer-0, ICE49, ICE50	(9596)IP-Ver-5	(9513)IP-Adc-5, (9555)IP-Mar-1, (9556)IP-Men-2	(9560)IP-Mot-0, (9579)IP-San-10, (9835)IP-Cir-0	(9533)IP-Cem-0, (9553)IP-Ldd-0, (9595)IP-Vdt-0, (9838)IP-Cot-0, (9897)IP-Smt-1, (9531)IP-Cdc-3, (9592)IP-Vae-2, (9820)IP-Are-0	(9551)IP-Jim-1
Eden-5(6010), Eden-6(6011), Eden-7(6012), Eden-9(6013), Gro-3(6025), TEDEN02(6209), TEDEN03(6210), TFÄ04(6214), TFÄ06(6216), TFÄ08(6218), TOM01(6235), (6237)TOM03, TOM04(6238), Bil-7(6901), Eden-2(6913), Gron12(9386), Gron14(9388), (6900)Bil-5		Cdm-0			(9514)IP-Adm-0	Se-0(6961), (9541)IP-Fue-2		
TFÄ07(6217), (6917)Fäb-2, Fab-4(6918), FaL1(9371), Kos-1(14312), Kos-2(14313), Radk-1(14314), Radk-2(14315), (14318)Shu-1, Shu2(14319), Valm(15560), (18694)Pien, (18696)Samm	(6911)Cvi-0, Can-0(7063)	(9534)IP-Cmo-3, Wash-1	(9879)IPPer-0, ICE49, ICE50	(9596)IP-Ver-5	(9513)IP-Adc-5, (9555)IP-Mar-1, (9556)IP-Men-2	(9560)IP-Mot-0, (9579)IP-San-10, (9835)IP-Cir-0	(9533)IP-Cem-0, (9553)IP-Ldd-0, (9595)IP-Vdt-0, (9838)IP-Cot-0, (9897)IP-Smt-1, (9531)IP-Cdc-3, (9592)IP-Vae-2, (9820)IP-Are-0	(9551)IP-Jim-1
Eden-5(6010), Eden-6(6011), Eden-7(6012), Eden-9(6013), Gro-3(6025), TEDEN02(6209), TEDEN03(6210), TFÄ04(6214), TFÄ06(6216), TFÄ08(6218), TOM01(6235), (6237)TOM03, TOM04(6238), Bil-7(6901), Eden-2(6913), Gron12(9386), Gron14(9388), (6900)Bil-5		Cdm-0			(9514)IP-Adm-0	Se-0(6961), (9541)IP-Fue-2		
Eden-5(6010), Eden-6(6011), Eden-7(6012), Eden9(6013), TFÄ04(6214), TFÄ06(6216), TFÄ08(6218), Eden-2(6913), Gron12(9386), Gron14(9388), Kos-2(14313), Radk-1(14314), Radk-2(14315)		Cdm-0, Wash-1			(9514)IP-Adm-0	Se-0(6961), (9541)IP-Fue-2	(9838)IP-Cot-0	(9551)IP-Jim-1
TFÄ07(6217), (6917)Fäb-2, Fab-4(6918), FaL1(9371), Kos-1(14312), (14318)Shu-1, Shu2(14319), Valm(15560), (18694)Pien, (18696)Samm, Gro-3(6025), TEDEN02(6209), TEDEN03(6210), TOM01(6235), (6237)TOM03, TOM04(6238), Bil7(6901), (6900)Bil-5	(6911)Cvi-0, Can-0(7063)	(9534)IP-Cmo-3	(9879)IP-Per-0, ICE49, ICE50	(9596)IP-Ver-5	(9513)IP-Adc-5, (9555)IP-Mar-1, (9556)IP-Men-2	(9560)IP-Mot-0, (9579)IP-San-10, (9835)IP-Cir-0	(9533)IP-Cem-0, (9553)IP-Ldd-0, (9595)IP-Vdt-0, (9897)IP-Smt-1, (9531)IP-Cdc-3, (9592)IP-Vae-2, (9820)IP-Are-0	

PLANALTO						
Csb	Cfb			Dfb		Bsk
700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700	700 ≤ P	500 < P < 700	700 ≤ P	300 < P < 500
(9517)IP-Ail-0, (9539)IP-Deh-1	(9528)IP-Cal-0, (9532)IP-Cdo-0	(9549)IP-Hum-2	(7461)H55, Fell3-7(9776), (9782)Lu3-30, (9787)HI-4, (9792)Lu4-2, (9800)Ha-S-B, (9809)Tu-KB-6, (9815)Ha-HBT3-11, Star-8, TueV13	(8236)HSm	(5890)DraV1-8, (5893)DraV1-11, (5907)DraV2-9, (5950)DraV5-12, (5984)DraV6-13, (5993)DraV6-22, (8284)DraII-1	(9558)IP-Moc-11
	(9520)IP-Ara-4, (9589)IP-Tor-1		(7411)W1-0, HE-1(9769), KBG2-13(9770), (9771)Pfn-N2.2-6, Bach-7(9778), Fell2-4(9780), (9781)Kus2-2, Tu-PK-7(9783), Ha-HBT1-2(9785), HaP13(9786), (9788)KBG1-14, (9794)Tu-B1-2, (9795)Wank-2, Bach2-1(9796), (9797)Ha-HBT2-10, Ha-P2-1(9798), (9801)Ha-SP-2, Ks3-1(9802), (9803)Muh2, (9805)Pfn-10, Tu-B2-3(9808), (9810)Tu-KS-7, (9811)Tu-NK-12, (9812)Tu-W1, (9814)Fell1-10, (9816)Tu-WH, (15591)OOE1-1, Niel-2, TueSB30-3, Tuescha9, TueWal-2, Eyl5-2	(7520)Lp2-2, (7521)Lp2-6	(424)Draha2, (5874)DraII-6, (5921)DraIV3-7, (8285)DraIII-1	
(9517)IP-Ail-0, (9539)IP-Deh-1	(9528)IP-Cal-0, (9532)IP-Cdo-0, (9520)IP-Ara-4	(9549)IP-Hum-2	Fell3-7(9776), (9782)Lu3-30, (9787)HI-4, (9792)Lu4-2, (9800)Ha-S-B, (9809)Tu-KB-6, (9815)Ha-HBT3-11, Star-8, TueV13, (9771)Pfn-N2.2-6, (9797)Ha-HBT2-10, (9811)Tu-NK-12, (9814)Fell1-10, (9816)Tu-WH, (15591)OOE1-1, Tuescha9	(8236)HSm	(5890)DraV1-8, (5893)DraV1-11, (5907)DraV2-9, (5950)DraV5-12, (5984)DraV6-13, (5993)DraV6-22, (8284)DraII-1, (424)Draha2, (5874)DraII-6, (5921)DraIV3-7	(9558)IP-Moc-11
	(9589)IP-Tor-1		(7411)W1-0, HE-1(9769), KBG2-13(9770), Bach-7(9778), Fell2-4(9780), (9781)Kus2-2, Tu-PK-7(9783), Ha-HBT1-2(9785), Ha-P13(9786), (9788)KBG1-14, (9794)Tu-B1-2, (9795)Wank-2, Bach2-1(9796), Ha-P2-1(9798), (9801)Ha-SP-2, Ks3-1(9802), (9803)Muh-2, (9805)Pfn-10, Tu-B2-3(9808), (9810)Tu-KS-7, (9812)Tu-W1, Niel-2, TueSB30-3, TueWal-2, Eyl5-2, (7461)H55	(7520)Lp2-2, (7521)Lp2-6	(8285)DraIII-1	
(9517)IP-Ail-0, (9539)IP-Deh-1	(9528)IP-Cal-0, (9532)IP-Cdo-0, (9520)IP-Ara-4	(9549)IP-Hum-2	Fell3-7(9776), (9782)Lu3-30, (9787)HI-4, (9792)Lu4-2, (9800)Ha-S-B, (9809)Tu-KB-6, (9815)Ha-HBT3-11, Star-8, TueV13, (9771)Pfn-N2.2-6, (9797)Ha-HBT2-10, (9814)Fell1-10, (9816)Tu-WH, (15591)OOE1-1, Tuescha9	(8236)HSm	(5890)DraV1-8, (5893)DraV1-11, (5907)DraV2-9, (5950)DraV5-12, (5984)DraV6-13, (5993)DraV6-22, (8284)DraII-1, (424)Draha2, (5874)DraII-6, (5921)DraIV3-7	(9558)IP-Moc-11
	(9589)IP-Tor-1		(7411)W1-0, HE-1(9769), KBG2-13(9770), Bach-7(9778), Fell2-4(9780), (9781)Kus2-2, Tu-PK-7(9783), Ha-HBT1-2(9785), Ha-P13(9786), (9788)KBG1-14, (9794)Tu-B1-2, (9795)Wank-2, Bach2-1(9796), Ha-P2-1(9798), (9801)HaSP-2, Ks3-1(9802), (9803)Muh-2, (9805)Pfn-10, Tu-B2-3(9808), (9810)Tu-KS-7, (9812)Tu-W1, Niel-2, TueSB30-3, TueWal-2, Eyl5-2, (7461)H55, (9811)TuNK-12	(7520)Lp2-2, (7521)Lp2-6	(8285)DraIII-1	
	(9589)IP-Tor-1		(7411)W1-0, HE-1(9769), KBG2-13(9770), Bach-7(9778), Fell2-4(9780), (9781)Kus2-2, Tu-PK-7(9783), Ha-HBT1-2(9785), Ha-P13(9786), (9788)KBG1-14, (9794)Tu-B1-2, (9795)Wank-2, Bach2-1(9796), Ha-P2-1(9798), (9801)Ha-SP-2, Ks3-1(9802), (9803)Muh-2, (9805)Pfn-10, Tu-B2-3(9808), (9810)Tu-KS-7, (9812)Tu-W1, Niel-2, TueSB30-3, TueWal-2, Eyl5-2, (7461)H55, (9811)TuNK-12	(7520)Lp2-2, (7521)Lp2-6, (8236)HSm	(5890)DraV1-8, (5893)DraV1-11, (5907)DraV2-9, (5950)DraV5-12, (5984)DraV6-13, (5993)DraV6-22, (8284)DraII-1, (424)Draha2, (5874)DraII-6, (8285)DraIII-1	
(9517)IP-Ail-0, (9539)IP-Deh-1	(9528)IP-Cal-0, (9532)IP-Cdo-0, (9520)IP-Ara-4	(9549)IP-Hum-2	(9782)Lu3-30, (9787)HI-4, (9792)Lu4-2, (9800)Ha-S-B, (9815)Ha-HBT3-11, Star-8, (9771)Pfn-N2.2-6, (9797)Ha-HBT2-10, (15591)OOE1-1, Tuescha9, (7461)H55		(8284)DraII-1, (424)Draha2, (5921)DraIV3-7	(9558)IP-Moc-11

ENTRE MONTANHAS							
Csa			Csb			Cfa	
300 < P < 500	500 < P < 700	700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700	700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700
(9544)IP-Gua-1, (9554)IP-Lso-0, (9574)IP-Rel-0, (9822)IP-Aul-0, (9831)IP-Cas-0, (9832)IP-Cat-0, (9834)IP-Cho-0, (9843)IP-Elp-0, (9852)IP-Ini-0, (9855)IP-Lam-0, (9857)IP-Leg-0, (9862)IP-Mad-0, (9882)IP-Pil-0	(6929)Kondara, (6963)Sorbo, Bla-1(8264), Lag1-2(9100), (9102)Lag14, (9530)IP-Car-1, (9537)IP-Cum-1, (9545)IP-Her-12, Etna-2(9762)	(9649)Bivio-1, (9651)Filet-1, (9660)Sarno-1, (9869)IPMoj-0, (9962)Galdo-1, (9968)Timp-1, ICE102, ICE106, ICE107	IP-Fun-0(9542)	(9598)IP-Vim-0	(9569)IP-Pds-1, (9578)IP-Sac-0, (9963)Lago-1, (9966)Monte-1, (9982)Apost-1, Qui-0, ICE111	Kolar-1(9699), (9985)Slavi-1, (9987)Lecho-1	(9547)IP-Hor-0, (9562)IP-Mur-0
(9523)IP-Ben-0, (9552)IP-Lab-7, (9859)IP-Lro-0, IP-Pec-0(9878)	(9535)IP-Coc-1, (9559)IPMon-5, IP-Ndc-0(9873)	(9522)IP-Bea-0, (9646)Aiell-1, (9653)Giffo-1, (9929)ISS20, ICE112		(9826)IP-Bor-0	(9892)IP-Sam-0	(9710)Zerev-1-35	
(9544)IP-Gua-1, (9554)IP-Lso-0, (9574)IP-Rel-0, (9822)IP-Aul-0, (9831)IP-Cas-0, (9832)IP-Cat-0, (9834)IP-Cho-0, (9843)IP-Elp-0, (9852)IP-Ini-0, (9855)IP-Lam-0, (9857)IP-Leg-0, (9862)IP-Mad-0, (9882)IP-Pil-0, (9552)IP-Lab-7, (9859)IP-Lro-0	(6929)Kondara, (6963)Sorbo, Bla-1(8264), Lag1-2(9100), (9102)Lag14, (9530)IP-Car-1, (9537)IP-Cum-1, (9545)IP-Her-12, Etna-2(9762), (9535)IP-Coc1, (9559)IP-Mon-5	(9649)Bivio-1, (9651)Filet-1, (9660)Sarno-1, (9869)IPMoj-0, (9962)Galdo-1, (9968)Timp-1, ICE102, ICE106, ICE107, (9646)Aiell-1, (9653)Giffo-1, (9929)ISS-20, ICE112	IP-Fun-0(9542)	(9598)IP-Vim-0, (9826)IP-Bor-0	(9569)IP-Pds-1, (9578)IP-Sac-0, (9963)Lago-1, (9966)Monte-1, (9982)Apost-1, Qui-0, ICE111, (9892)IP-Sam-0	Kolar-1(9699), (9985)Slavi-1, (9987)Lecho-1	(9547)IP-Hor-0, (9562)IP-Mur-0
(9523)IP-Ben-0, Pec-0(9878)	Ndc-0(9873)	(9522)IP-Bea-0				(9710)Zerev-1-35	
(9544)IP-Gua-1, (9554)IP-Lso-0, (9574)IP-Rel-0, (9822)IP-Aul-0, (9831)IP-Cas-0, (9832)IP-Cat-0, (9834)IP-Cho-0, (9843)IP-Elp-0, (9852)IP-Ini-0, (9855)IP-Lam-0, (9857)IP-Leg-0, (9862)IP-Mad-0, (9882)IP-Pil-0, (9552)IP-Lab-7, (9859)IP-Lro-0	(6929)Kondara, (6963)Sorbo, Bla-1(8264), Lag1-2(9100), (9102)Lag14, (9530)IP-Car-1, (9537)IP-Cum-1, (9545)IP-Her-12, Etna-2(9762), (9535)IP-Coc1, (9559)IP-Mon-5	(9649)Bivio-1, (9651)Filet-1, (9660)Sarno-1, (9869)IPMoj-0, (9962)Galdo-1, (9968)Timp-1, ICE102, ICE106, ICE107, (9646)Aiell-1, (9653)Giffo-1, (9929)ISS-20, ICE112	IP-Fun-0(9542)	(9598)IP-Vim-0, (9826)IP-Bor-0	(9569)IP-Pds-1, (9578)IP-Sac-0, (9963)Lago-1, (9966)Monte-1, (9982)Apost-1, Qui-0, ICE111, (9892)IP-Sam-0	Kolar-1(9699), (9985)Slavi-1, (9987)Lecho-1	(9547)IP-Hor-0, (9562)IP-Mur-0
(9523)IP-Ben-0, Pec-0(9878)	Ndc-0(9873)	(9522)IP-Bea-0				(9710)Zerev-1-35	
(9523)IP-Ben-0, Pec-0(9878)	Ndc-0(9873), Bla-1(8264), Lag1-2(9100)	(9522)IP-Bea-0, (9962)Galdo-1, ICE106, ICE107			(9966)Monte-1, (9982)Apost-1, ICE111, (9892)IP-Sam-0	Kolar-1(9699), (9987)Lecho-1	(9547)IP-Hor-0
(9544)IP-Gua-1, (9554)IP-Lso-0, (9574)IP-Rel-0, (9822)IP-Aul-0, (9831)IP-Cas-0, (9832)IP-Cat-0, (9834)IP-Cho-0, (9843)IP-Elp-0, (9852)IP-Ini-0, (9855)IP-Lam-0, (9857)IP-Leg-0, (9862)IP-Mad-0, (9882)IP-Pil-0, (9552)IP-Lab-7, (9859)IP-Lro-0	(6929)Kondara, (6963)Sorbo, (9102)Lag1-4, (9530)IP-Car-1, (9537)IP-Cum-1, (9545)IP-Her-12, Etna-2(9762), (9535)IP-Coc1, (9559)IP-Mon-5	(9649)Bivio-1, (9651)Filet-1, (9660)Sarno-1, (9869)IPMoj-0, (9968)Timp-1, ICE102, (9646)Aiell-1, (9653)Giffo-1, (9929)ISS20, ICE112	IP-Fun-0(9542)	(9598)IP-Vim-0, (9826)IP-Bor-0	(9569)IP-Pds-1, (9578)IP-Sac-0, (9963)Lago-1, Qui-0	(9710)Zerev-1-35, (9985)Slavi-1	(9562)IP-Mur-0

ENTRE MONTANHAS		
Cfa	Cfb	
700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700
Lag1-6(9104), (9105)Lag1-7, (9106)Lag1-8, Lag2-4(9111), (9113)Lag2-6, (9114)Lag2-7, (9115)Lag2-10, (9676)Mitterberg-4-192, (9690)Castelfed-3-206, (9691)Castelfed-3-207, (9692)Castelfed-3-208, (9696)Castelfed-4-214, IP-Aru-0(9821), (9970)Altenb-2, Lag2.2	(9582)IP-Ses-0, (9705)Choto-1, (9709)Zerev-1-34	(9593)IP-Vaz-0, (9597)IP-Vig-1, (9601)IP-Voz-0, (9711)Dolna-1-39, (9844)IP-Esn-2, (9846)IP-Ezc-2, (9860)IP-Lum-0, (9874)IP-Oja-0
Lag1-5(9103), (9664)Mitterberg-1-179, (9665)Mitterberg-1-180, (9666)Mitterberg-1-182, (9667)Mitterberg-1-183, (9668)Mitterberg-2-184, Nitterberg-2-185(9669), (9670)Mitterberg-2-186, Nitterberg-3-187(9671), (9672)Mitterberg-3-188, Nitterberg-3-189(9673), Nitterberg-4-193(9677), Nitterberg-4-194(9678), Castelfed-1-195(9679), (9680)Castelfed-1-196, (9681)Castelfed-1-197, (9682)Castelfed-1-198, Castelfed-1-199(9683), Castelfed-2-200(9684), Castelfed-2-201(9685), Castelfed-2-202(9686), (9687)Castelfed-2-203, Castelfed-3-205(9689), (9693)Castelfed-3-209, Castelfed-4-210(9694), (9695)Castelfed-4-211, (9973)Mitterberg-1-181, (9975)Castelfed-4-213, (9976)Rovero-1, (9979)Voeran-1, ICE212, ICE213, ICE216	IP-Dar-0(9840)	(410)Doubravník7, (6951)Pu2-23, Pu2-7(6956), (6957)Pu2-8, (9700)Dolna-1-10, (9712)Dolna-1-40, (9716)Leska-1-44, (9748)Zagub-1, (9749)Knjas-1, (9819)IP-Amu-0, (9901)IP-Urd-1, (9986)Jablo-1, ICE63
Lag1-6(9104), (9105)Lag1-7, (9106)Lag1-8, Lag2-4(9111), (9113)Lag2-6, (9114)Lag2-7, (9115)Lag2-10, (9691)Castelfed-3-207, IP-Aru-0(9821), (9970)Altenb-2, Lag2.2, (9665)Mitterberg-1-180, (9976)Rovero-1, ICE216	(9582)IP-Ses-0, (9705)Choto-1, (9709)Zerev-1-34	(9593)IP-Vaz-0, (9597)IP-Vig-1, (9601)IP-Voz-0, (9711)Dolna-1-39, (9844)IP-Esn-2, (9846)IP-Ezc-2, (9860)IP-Lum-0, (9874)IP-Oja-0, (410)Doubravník7, (9700)Dolna-1-10, (9712)Dolna-1-40, (9819)IP-Amu-0
Lag1-5(9103), (9664)Mitterberg-1-179, (9666)Mitterberg-1-182, (9667)Mitterberg-1-183, (9668)Mitterberg-2-184, Nitterberg-2-185(9669), (9670)Mitterberg-2-186, Nitterberg-3-187(9671), (9672)Mitterberg-3-188, Nitterberg-3-189(9673), Nitterberg-4-193(9677), Nitterberg-4-194(9678), Castelfed-1-195(9679), (9680)Castelfed-1-196, (9681)Castelfed-1-197, (9682)Castelfed-1-198, Castelfed-1-199(9683), Castelfed-2-200(9684), Castelfed-2-201(9685), Castelfed-2-202(9686), (9687)Castelfed-2-203, Castelfed-3-205(9689), (9693)Castelfed-3-209, Castelfed-4-210(9694), (9695)Castelfed-4-211, (9973)Mitterberg-1-181, (9975)Castelfed-4-213, (9979)Voeran-1, ICE212, ICE213, (9676)Mitterberg-4-192, (9690)Castelfed-3-206, (9692)Castelfed-3-208, (9696)Castelfed-4-214	IP-Dar-0(9840)	(6951)Pu2-23, Pu2-7(6956), (6957)Pu2-8, (9716)Leska-1-44, (9748)Zagub-1, (9749)Knjas-1, (9901)IP-Urd-1, (9986)Jablo-1, ICE63
Lag1-6(9104), (9105)Lag1-7, (9106)Lag1-8, Lag2-4(9111), (9113)Lag2-6, (9114)Lag2-7, (9115)Lag2-10, (9691)Castelfed-3-207, IP-Aru-0(9821), (9970)Altenb-2, Lag2.2, (9665)Mitterberg-1-180, (9976)Rovero-1, ICE216	(9582)IP-Ses-0, (9705)Choto-1, (9709)Zerev-1-34	(9593)IP-Vaz-0, (9597)IP-Vig-1, (9601)IP-Voz-0, (9711)Dolna-1-39, (9844)IP-Esn-2, (9846)IP-Ezc-2, (9860)IP-Lum-0, (9874)IP-Oja-0, (9700)Dolna-1-10, (9712)Dolna-1-40, (9819)IP-Amu-0
Lag1-5(9103), (9664)Mitterberg-1-179, (9666)Mitterberg-1-182, (9667)Mitterberg-1-183, (9668)Mitterberg-2-184, Nitterberg-2-185(9669), (9670)Mitterberg-2-186, Nitterberg-3-187(9671), (9672)Mitterberg-3-188, Nitterberg-3-189(9673), Nitterberg-4-193(9677), Nitterberg-4-194(9678), Castelfed-1-195(9679), (9680)Castelfed-1-196, (9681)Castelfed-1-197, (9682)Castelfed-1-198, Castelfed-1-199(9683), Castelfed-2-200(9684), Castelfed-2-201(9685), Castelfed-2-202(9686), (9687)Castelfed-2-203, Castelfed-3-205(9689), (9693)Castelfed-3-209, Castelfed-4-210(9694), (9695)Castelfed-4-211, (9973)Mitterberg-1-181, (9975)Castelfed-4-213, (9979)Voeran-1, ICE212, ICE213, (9676)Mitterberg-4-192, (9690)Castelfed-3-206, (9692)Castelfed-3-208, (9696)Castelfed-4-214	IP-Dar-0(9840)	(6951)Pu2-23, Pu2-7(6956), (6957)Pu2-8, (9716)Leska-1-44, (9748)Zagub-1, (9749)Knjas-1, (9901)IP-Urd-1, (9986)Jablo-1, ICE63, (410)Doubravník7
(9664)Mitterberg-1-179, (9666)Mitterberg-1-182, (9667)Mitterberg-1-183, (9668)Mitterberg-2-184, Nitterberg-2-185(9669), (9670)Mitterberg-2-186, Nitterberg-3-187(9671), (9672)Mitterberg-3-188, Nitterberg-3-189(9673), Nitterberg-4-193(9677), Nitterberg-4-194(9678), Castelfed-1-195(9679), (9680)Castelfed-1-196, (9681)Castelfed-1-197, (9682)Castelfed-1-198, Castelfed-1-199(9683), Castelfed-2-200(9684), Castelfed-2-201(9685), Castelfed-2-202(9686), (9687)Castelfed-2-203, Castelfed-3-205(9689), (9693)Castelfed-3-209, Castelfed-4-210(9694), (9695)Castelfed-4-211, (9973)Mitterberg-1-181, (9975)Castelfed-4-213, (9979)Voeran-1, ICE212, ICE213, (9676)Mitterberg-4-192, (9690)Castelfed-3-206, (9692)Castelfed-3-208, (9696)Castelfed-4-214, Lag1-6(9104), (9105)Lag1-7, (9106)Lag1-8, IP-Aru-0(9821), (9970)Altenb-2, Lag2.2, (9665)Mitterberg-1-180		(6951)Pu2-23, Pu2-7(6956), (6957)Pu2-8, (9748)Zagub-1, (9749)Knjas-1, (9901)IP-Urd-1, (9986)Jablo-1, ICE63, (410)Doubravník7, (9597)IP-Vig-1, (9601)IP-Voz-0, (9846)IP-Ezc-2, (9860)IP-Lum-0, (9874)IP-Oja-0
Lag2-4(9111), (9113)Lag2-6, (9114)Lag2-7, (9115)Lag2-10, (9691)Castelfed-3-207, (9976)Rovero-1, ICE216, Lag1-5(9103)	(9582)IP-Ses-0, (9705)Choto-1, (9709)Zerev-1-34, IP-Dar-0(9840)	(9593)IP-Vaz-0, (9711)Dolna-1-39, (9844)IP-Esn-2, (9700)Dolna-1-10, (9712)Dolna-1-40, (9819)IP-Amu-0, (9716)Leska-1-44

ENTRE MONTANHAS								MONTANHA
Cfb	Ds a	Dfa	Dfb			Dfc	BSk	Csa
700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700	300 < P < 500	500 < P < 700	700 ≤ P	500 < P < 700	300 < P < 500	300 < P < 500
(5353)UKNW06-003, (5486)UKNW06-233, UKID11(5718), (5748)Kil-0, (5757)Mc-1, (7372)Tscha-1, (9540)IP-Eib-0, (9557)IP-Moa-0, (9565)IP-Orb-10, (9567)IP-Pal-0, (9571)IP-Pro-0, (9588)IP-Tol-7, (9823)IP-Bae-0, (9850)IP-Hec-0, (9853)IP-Lac-0, (9854)IP-Laf-1, (9868)IP-Moe-0, IP-Ovi-1(9875), (9890)IP-Rib-1, (9927)ARR-17, (9971)Bozen-1.1, (9972)Bozen-1.2, (9978)Vezzano-2.2	(9766)Westkar-4, ICE73	Tol-0(7356), Tol-2(7358), Tol-3(7359)		(9626)Kolyv-3, (9743)Furni-1, Bak-2, Bak-7	(9729)Stiav-2		(9833)IP-Cha-0, IPCod-0(9836), (9887)IP-Pun-0	(9606)Aitba-1, ICE150, ICE152, ICE153, (9939)Aitba-2
(5741)For-2, Ba-1(7014), (7418)Zu-1, (8311)In-0, (9524)IP-Ber-0, (9591)IP-Vad-0, Hof-1(9772), Obh-13(9789), (9827)IP-Bos-0, (9880)IP-Pib-1, (9928)BEZ-9, ICE181, ICE226, ICE228			Kz-13(6830), (6931)Kz-9	(9738)Bran-1, (9739)Toc-1	(9728)Stiav-1, Stiav-3(9731), Halca-1(9732)	(7288)Oy-0	IP-Hoy-0(9548)	IP-Alm-0(9518)
(5353)UKNW06-003, (5486)UKNW06-233, UKID11(5718), (5748)Kil-0, (5757)Mc-1, (7372)Tscha-1, (9540)IP-Eib-0, (9557)IP-Moa-0, (9565)IP-Orb-10, (9567)IP-Pal-0, (9571)IP-Pro-0, (9588)IP-Tol-7, (9823)IP-Bae-0, (9850)IP-Hec-0, (9853)IP-Lac-0, (9854)IP-Laf-1, (9868)IP-Moe-0, IP-Ovi-1(9875), (9890)IP-Rib-1, (9927)ARR-17, (9971)Bozen-1.1, (9972)Bozen-1.2, (9978)Vezzano-2.2, (9524)IP-Ber-0, (9591)IP-Vad-0, (9827)IP-Bos-0, (9928)BEZ-9	(9766)Westkar-4	Tol-0(7356), Tol-2(7358), Tol-3(7359)		(9626)Kolyv-3, (9743)Furni-1, Bak-2, Bak-7, (9738)Bran-1	(9729)Stiav-2		(9833)IP-Cha-0, (9887)IP-Pun-0	(9606)Aitba-1, ICE150, ICE152, ICE153, (9939)Aitba-2
(5741)For-2, Ba-1(7014), (7418)Zu-1, (8311)In-0, Hof-1(9772), Obh-13(9789), (9880)IP-Pib-1, ICE181, ICE226, ICE228	ICE73		Kz-13(6830), (6931)Kz-9	(9739)Toc-1	(9728)Stiav-1, Stiav-3(9731), Halca-1(9732)	(7288)Oy-0	IP-Hoy-0(9548), IPCod-0(9836),	IP-Alm-0(9518)
(5353)UKNW06-003, (5486)UKNW06-233, UKID11(5718), (5748)Kil-0, (5757)Mc-1, (7372)Tscha-1, (9540)IP-Eib-0, (9557)IP-Moa-0, (9565)IP-Orb-10, (9567)IP-Pal-0, (9571)IP-Pro-0, (9588)IP-Tol-7, (9823)IP-Bae-0, (9850)IP-Hec-0, (9853)IP-Lac-0, (9854)IP-Laf-1, (9868)IP-Moe-0, IP-Ovi-1(9875), (9890)IP-Rib-1, (9927)ARR-17, (9971)Bozen-1.1, (9972)Bozen-1.2, (9524)IP-Ber-0, (9591)IP-Vad-0, (9827)IP-Bos-0, (9928)BEZ-9	(9766)Westkar-4	Tol-0(7356), Tol-2(7358), Tol-3(7359)		(9626)Kolyv-3, (9743)Furni-1, Bak-2, Bak-7, (9738)Bran-1	(9729)Stiav-2		(9833)IP-Cha-0, (9887)IP-Pun-0	(9606)Aitba-1, ICE150, ICE152, ICE153, (9939)Aitba-2
(5741)For-2, Ba-1(7014), (7418)Zu-1, (8311)In-0, Hof-1(9772), Obh-13(9789), (9880)IP-Pib-1, ICE181, ICE226, ICE228, 9854)IP-Laf-1, (9978)Vezzano-2.2	ICE73		Kz-13(6830), (6931)Kz-9	(9739)Toc-1	(9728)Stiav-1, Stiav-3(9731), Halca-1(9732)	(7288)Oy-0	IP-Hoy-0(9548), IPCod-0(9836),	IP-Alm-0(9518)
(5741)For-2, (7418)Zu-1, (8311)In-0, Hof-1(9772), Obh-13(9789), ICE181, ICE226, ICE228, (9854)IP-Laf-1, (9978)Vezzano-2.2, (5486)UKNW06-233, UKID11(5718), (5748)Kil-0, (5757)Mc-1, (9571)IP-Pro-0, (9823)IP-Bae-0, (9868)IP-Moe-0, (9868)IP-Moe-0, IP-Ovi-1(9875)	ICE73	Tol-0(7356)	Kz-13(6830), (6931)Kz-9	(9739)Toc-1, Bak-2, Bak-7, (9738)Bran-1	(9728)Stiav-1, Stiav-3(9731), Halca-1(9732)	(7288)Oy-0	IP-Hoy-0(9548)	IP-Alm-0(9518)
(5353)UKNW06-003, (7372)Tscha-1, (9540)IP-Eib-0, (9557)IP-Moa-0, (9565)IP-Orb-10, (9567)IP-Pal-0, (9588)IP-Tol-7, (9850)IP-Hec-0, (9853)IP-Lac-0, (9890)IP-Rib-1, (9927)ARR-17, (9971)Bozen-1.1, (9972)Bozen-1.2, (9524)IP-Ber-0, (9591)IP-Vad-0, (9827)IP-Bos-0, (9928)BEZ-9, Ba-1(7014), (9880)IP-Pib1	(9766)Westkar-4	Tol-2(7358), Tol3(7359)		(9626)Kolyv-3, (9743)Furni-1	(9729)Stiav-2		(9833)IP-Cha-0, IP-Cod-0(9836), (9887)IP-Pun-0	(9606)Aitba-1, ICE150, ICE152, ICE153, (9939)Aitba-2

MONTANHA

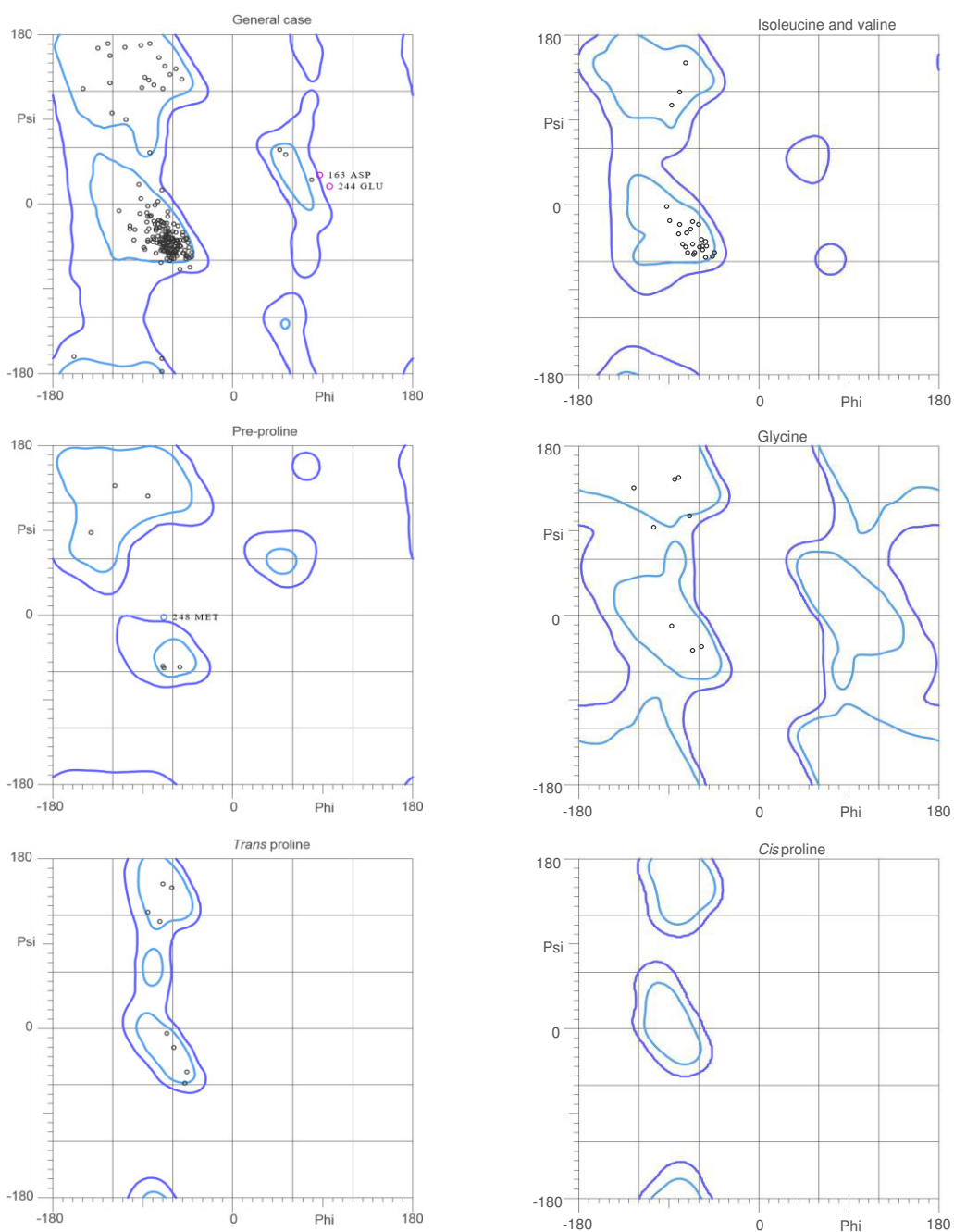
Csa		Csb		Cfa	Cfb	
500 < P < 700	700 ≤ P	300 < P < 500	500 < P < 700	500 < P < 700	300 < P < 500	500 < P < 700
(9583)IP-Sne-0, (9745)Sij1/96, (9830)IP-Bus-0	(9543)IP-Gra-0, (9764)Qar-8, Dog-4	(9079)Lerik2-1, (9081)Lerik2-3, (9084)Lerik2-6, (9085)Lerik2-7, (9527)IP-Cad-0, (9561)IP-Mun-0, (9576)IP-Rev-0, (9841)IP-Ees-0, (9867)IP-Mie-1, (9881)IP-Pie-0, (9888)IP-Pva-1, (9904)IP-Vas-0, Ped-0	(7033)Buckhorn, (9828)IP-Bra-0, (9858)IP-Loz-0, (9871)IP-Nac-0, (9885)IP-Prd-0, (9905)IP-Ven-0, ICE93, Nemrut-1, Pra-6	Yo-0(7416), (9594)IP-Vdm0, ICE7	(9536)IP-Cor-0	(9586)IP-Tam-0, (9706)Dospa-1, (9707)Podvi-1, (9718)Smolj-1, (9866)IP-Mdd-0, (9883)IP-Piq-0, (9898)IP-Som-0, (9903)IP-Val-0, ICE29
IP-Cap-1(9529)	Bik-1(9761)	(9584)IP-Stp-0, (9849)IP-Gud-3		Melni-1(9703), (9704)Melni-2	(9587)IP-Tdc-0	(9546)IP-Hom-4, (9564)IP-Nog-17, (9697)Dolen-1, Groch-1(9722), Leo-1, ICE33
(9583)IP-Sne-0, (9745)Sij1/96, (9830)IP-Bus-0, IPCap-1(9529)	(9543)IP-Gra-0, (9764)Qar-8, Dog-4	(9079)Lerik2-1, (9081)Lerik2-3, (9084)Lerik2-6, (9085)Lerik2-7, (9527)IP-Cad-0, (9561)IP-Mun-0, (9576)IP-Rev-0, (9841)IP-Ees-0, (9867)IP-Mie-1, (9881)IP-Pie-0, (9888)IP-Pva-1, (9904)IP-Vas-0, Ped-0, (9584)IP-Stp-0, (9849)IP-Gud-3	(7033)Buckhorn, (9828)IP-Bra-0, (9858)IP-Loz-0, (9871)IP-Nac-0, (9885)IP-Prd-0, (9905)IP-Ven-0, ICE93, Nemrut-1, Pra-6	Yo-0(7416), (9594)IP-Vdm0, ICE7	(9536)IP-Cor-0	(9586)IP-Tam-0, (9706)Dospa-1, (9707)Podvi-1, (9718)Smolj-1, (9866)IP-Mdd-0, (9883)IP-Piq-0, (9898)IP-Som-0, (9903)IP-Val-0, ICE29, (9546)IP-Hom-4, (9697)Dolen-1, Leo-1
	Bik-1(9761)			Melni-1(9703), (9704)Melni-2	(9587)IP-Tdc-0	(9564)IP-Nog-17, Groch-1(9722), ICE33
(9583)IP-Sne-0, (9745)Sij1/96, (9830)IP-Bus-0, IPCap-1(9529)	(9543)IP-Gra-0, (9764)Qar-8, Dog-4	(9079)Lerik2-1, (9081)Lerik2-3, (9084)Lerik2-6, (9085)Lerik2-7, (9527)IP-Cad-0, (9561)IP-Mun-0, (9576)IP-Rev-0, (9841)IP-Ees-0, (9867)IP-Mie-1, (9881)IP-Pie-0, (9888)IP-Pva-1, (9904)IP-Vas-0, Ped-0, (9584)IP-Stp-0, (9849)IP-Gud-3	(7033)Buckhorn, (9828)IP-Bra-0, (9858)IP-Loz-0, (9871)IP-Nac-0, (9885)IP-Prd-0, (9905)IP-Ven-0, ICE93, Nemrut-1, Pra-6	Yo-0(7416), (9594)IP-Vdm0, ICE7	(9536)IP-Cor-0	(9586)IP-Tam-0, (9706)Dospa-1, (9707)Podvi-1, (9718)Smolj-1, (9866)IP-Mdd-0, (9883)IP-Piq-0, (9898)IP-Som-0, (9903)IP-Val-0, ICE29, (9546)IP-Hom-4, (9697)Dolen-1, Leo-1
	Bik-1(9761)			Melni-1(9703), (9704)Melni-2	(9587)IP-Tdc-0	(9564)IP-Nog-17, Groch-1(9722), ICE33
(9830)IP-Bus-0	Bik-1(9761)	(9576)IP-Rev-0	(9828)IP-Bra-0, (9858)IP-Loz-0, ICE93, Nemrut-1	Yo-0(7416), Melni-1(9703)	(9587)IP-Tdc-0	(9564)IP-Nog-17, ICE33, (9883)IP-Piq-0, (9903)IP-Val-0
(9583)IP-Sne-0, (9745)Sij1/96, IPCap-1(9529)	(9543)IP-Gra-0, (9764)Qar-8, Dog-4	(9079)Lerik2-1, (9081)Lerik2-3, (9084)Lerik2-6, (9085)Lerik2-7, (9527)IP-Cad-0, (9561)IP-Mun-0, (9841)IP-Ees-0, (9867)IP-Mie-1, (9881)IP-Pie-0, (9888)IP-Pva-1, (9904)IP-Vas-0, Ped-0, (9584)IP-Stp-0, (9849)IP-Gud-3	(7033)Buckhorn, (9871)IP-Nac-0, (9885)IP-Prd-0, (9905)IP-Ven-0, Pra-6	(9594)IP-Vdm-0, (9704)Melni-2, ICE7	(9536)IP-Cor-0	(9586)IP-Tam-0, (9706)Dospa-1, (9707)Podvi-1, (9718)Smolj-1, (9866)IP-Mdd-0, (9898)IP-Som-0, ICE29, (9546)IP-Hom-4, (9697)Dolen-1, Leo-1, Groch-1(9722)

MONTANHA										
Cfb	Dfb				Ds a		Dsb		BSk	
$700 \leq P$	$P \leq 300$	$300 < P < 500$	$500 < P < 700$	$700 \leq P$	$300 < P < 500$	$500 < P < 700$	$P \leq 300$	$300 < P < 500$	$P \leq 300$	$300 < P < 500$
(9525)IP-Bis-0, (9550)IP-Iso-4, (9568)IP-Pan-0, (9577)IP-Ria-0, (9581)IP-Sdv-3, (9824)IP-Bes-5, (9894)IP-Sen-0, Vie-0, ICE169, ICE173	(768)Zal-1		(9121)Bak-5		(765)Sus-1, (766)Dja-1	(10008)Sij-1, (10009)Sij-2, (10010)Sij-4	(772)Neo-6	(763)Kar-1	(9758)Altai-5, (10015)Ara-1, Sha	IP-Coy-0(9839)
(8297)Ge-0, (9599)IP-Vin-0, (9851)IP-Hue-3, (9876)IP-Pad-0, (9877)IP-Pdl-0, (9886)IP-Pru-0, (9899)IP-Tau-0		Geg-14(9125), (9128)Yeg-2, (9130)Yeg-4, Yeg-5(9131), Yeg-7(9133), Yeg8(9134), Yeg-1		(7298)Pi-0, (7333)Sei-0	(7183)Kas-1, (8424)Kas-2					
(9525)IP-Bis-0, (9550)IP-Iso-4, (9568)IP-Pan-0, (9577)IP-Ria-0, (9581)IP-Sdv-3, (9824)IP-Bes-5, (9894)IP-Sen-0, Vie-0, ICE169, ICE173, (8297)Ge-0, (9599)IP-Vin-0, (9851)IP-Hue-3, (9876)IP-Pad-0, (9877)IP-Pdl-0, (9886)IP-Pru-0	(768)Zal-1		(9121)Bak-5	(7333)Sei-0	(765)Sus-1, (766)Dja-1	(10008)Sij-1, (10009)Sij-2, (10010)Sij-4	(772)Neo-6	(763)Kar-1	(9758)Altai-5, (10015)Ara-1, Sha	IP-Coy-0(9839)
(9899)IP-Tau-0		Geg-14(9125), (9128)Yeg-2, (9130)Yeg-4, Yeg-5(9131), Yeg-7(9133), Yeg8(9134), Yeg-1		(7298)Pi-0	(7183)Kas-1, (8424)Kas-2					
(9525)IP-Bis-0, (9550)IP-Iso-4, (9568)IP-Pan-0, (9577)IP-Ria-0, (9581)IP-Sdv-3, (9824)IP-Bes-5, (9894)IP-Sen-0, Vie-0, ICE169, ICE173, (8297)Ge-0, (9599)IP-Vin-0, (9851)IP-Hue-3, (9876)IP-Pad-0, (9877)IP-Pdl-0, (9886)IP-Pru-0	(768)Zal-1		(9121)Bak-5	(7333)Sei-0	(765)Sus-1, (766)Dja-1	(10008)Sij-1, (10009)Sij-2, (10010)Sij-4	(772)Neo-6	(763)Kar-1	(9758)Altai-5, (10015)Ara-1, Sha	IP-Coy-0(9839)
(9899)IP-Tau-0		Geg-14(9125), (9128)Yeg-2, (9130)Yeg-4, Yeg-5(9131), Yeg-7(9133), Yeg8(9134), Yeg-1		(7298)Pi-0	(7183)Kas-1, (8424)Kas-2					
(9581)IP-Sdv-3, (9877)IP-Pdl-0		Geg-14(9125), (9128)Yeg-2, (9130)Yeg-4, Yeg-5(9131), Yeg-7(9133), Yeg8(9134), Yeg-1	(9121)Bak-5	(7298)Pi-0		(10008)Sij-1				IP-Coy-0(9839)
(9525)IP-Bis-0, (9550)IP-Iso-4, (9568)IP-Pan-0, (9577)IP-Ria-0, (9824)IP-Bes-5, (9894)IP-Sen-0, Vie-0, ICE169, ICE173, (8297)Ge-0, (9599)IP-Vin-0, (9851)IP-Hue-3, (9876)IP-Pad-0, (9886)IP-Pru-0, (9899)IP-Tau-0	(768)Zal-1			(7333)Sei-0	(765)Sus-1, (766)Dja-1, (7183)Kas-1, (8424)Kas-2	(10009)Sij-2, (10010)Sij-4	(772)Neo-6	(763)Kar-1	(9758)Altai-5, (10015)Ara-1, Sha	

APÊNDICE 4 – GRÁFICOS DE RAMANCHANDRAN PARA AS ESTRUTURAS DE REFERÊNCIA ANALISADAS PELO SERVIDOR MolProbity

MolProbity Ramachandran analysis

Estrutura do PHYRE2 Columbia0.pdb



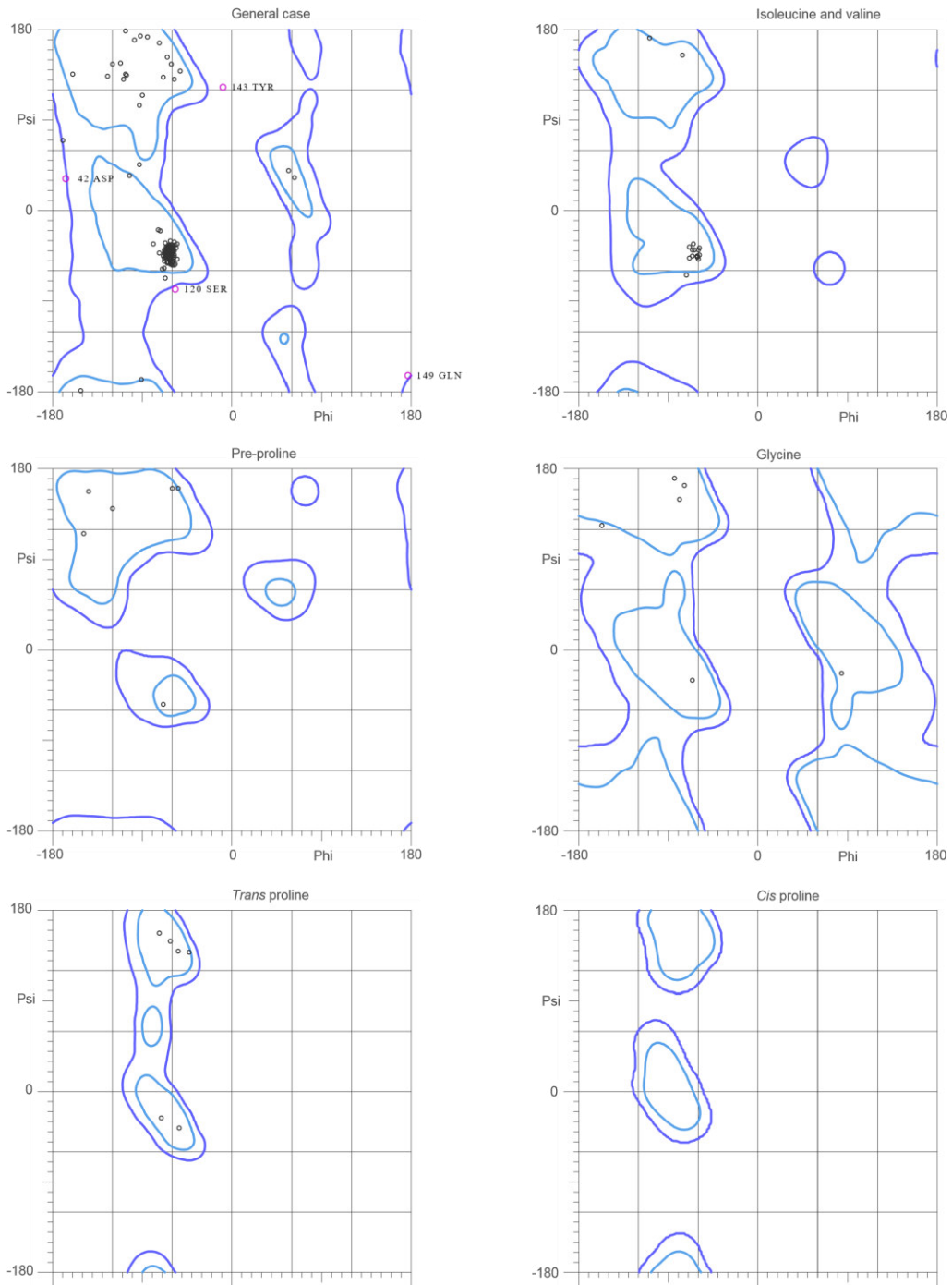
93.4% (211/226) of all residues were in favored (98%) regions.
98.7% (223/226) of all residues were in allowed (>99.8%) regions.

There were 3 outliers (phi, psi):

163 ASP (87.6, 31.1) 244 GLU (97.5, 19.6) 248 MET (-69.7, -2.8)

MolProbity Ramachandran analysis

Estrutura do Modeller Columbia0.pdb



94.9% (167/176) of all residues were in favored (98%) regions.
97.7% (172/176) of all residues were in allowed (>99.8%) regions.

There were 4 outliers (phi, psi):

42 ASP (-167.6, 32.2) 120 SER (-57.7, -78.7) 143 TYR (-9.7, 123.9) 149 GLN (177.2, -164.3)