



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0720192-3 A2



(22) Data de Depósito: 24/10/2007
(43) Data da Publicação: 31/12/2013
(RPI 2243)

(51) Int.Cl.:
C07K 14/415
C12N 15/82
A01H 5/00

(54) Título: MÉTODO PARA GERAR OU AUMENTAR
UMA RESISTÊNCIA A PELO MENOS UM FUNGO
BIOTRÓFICO EM UMA PLANTA OU UMA PARTE DE
UMA PLANTA, SEQUÊNCIA DE POLIPEPTÍDIO
ARTIFICIAL, SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLÉICO
ARTIFICIAL, CASSETE DE EXPRESSÃO
RECOMBINANTE, VETOR RECOMBINANTE, E,
MICROORGANISMO RECOMBINANTE

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 24/10/2006 EP 06122870.6

(73) Titular(es): Basf Plant Science Gmbh

(72) Inventor(es): Caroline Höfle, Holger Schultheiss, Markus
Frank

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007061436 de
24/10/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/049865de
02/05/2008

“MÉTODO PARA GERAR OU AUMENTAR UMA RESISTÊNCIA A PELO MENOS UM FUNGO BIOTRÓFICO EM UMA PLANTA OU UMA PARTE DE UMA PLANTA, SEQUÊNCIA DE POLIPEPTÍDEO ARTIFICIAL, SEQUÊNCIA DE ÁCIDO NUCLÉICO ARTIFICIAL, CASSETE DE EXPRESSÃO RECOMBINANTE, VETOR RECOMBINANTE, E, MICROORGANISMO RECOMBINANTE”

A presente invenção se refere a métodos para gerar ou aumentar resistência a pelo menos um patógeno biotrófico em uma planta ou uma parte de uma planta aumentando a quantidade de proteína ou função de pelo menos uma proteína, inibidor de Bax-1 (BI-1), em pelo menos uma parte da planta. Além disso, a invenção se refere a sequências de polipeptídeos e sequências de ácidos nucleicos que codificam para uma proteína BI1, e o cassetes de expressão, vetores e organismos que compreendem tais sequências ou uma tal proteína, em particular a plantas recombinantes, a culturas, partes ou material de propagação recombinante derivado destes, e ao uso dos mesmos para a produção de gêneros alimentícios, rações, grãos, produtos farmacêuticos ou químicos finos.

O cultivo de plantas cultiváveis agrícolas serve principalmente para a produção de gêneros alimentícios para humanos e rações para animais. Os últimos 25 anos viram aumentos de produção pronunciados em produção de culturas. Este foi o resultado de uma boa combinação de técnicas alteradas de produção, variedades recentemente desenvolvidas, fertilização e, finalmente, mas não menos importante, proteção aumentada de culturas. À luz de uma sempre crescente população mundial, salvaguardar produção de alimentos ganha importância progressivamente. Foi estimado que 7 bilhões de pessoas vão habitar a Terra em 2010. Para alimentar todas essas pessoas, sem crescer a proporção de pessoas subnutridas, produção de alimentos teria que ser aumentada em 60% (Entrup N.L. et al., Lehrbuch des Pflanzenbaues [Textbook of crop production], Thomas Mann Verlag, Gelsenkirchen, 2000).

Proteção eficiente de cultura é um fator decisivo neste contexto. Monoculturas em particular, que são a regra hoje em dia, são altamente susceptíveis a uma propagação tipo epidérmica de doenças. O resultado são produções marcadamente reduzidas. Até o momento, os organismos patogênicos foram controlados principalmente usando pesticidas. Hoje em dia, em contraste, a possibilidade de modificar diretamente a disposição genética de uma planta ou patógeno é aberta ao homem.

Fungos são distribuídos ao redor do mundo de forma que eles podem formar um grupo heterogêneo com uma variedade de espécies. Eles são eucariotos, não contêm clorofila e, portanto são heterotróficos. Por conseguinte, eles recorrem a fontes externas de carbono que eles exploram como parasitas, saprófitos ou simbiontes. Saprófitos vivem exclusivamente em material vegetal morto. Fungos parasíticos se alimentam de tecido vivo devem concluir seu desenvolvimento antes da planta morrer. Parasitas facultativos podem se alimentar tanto de tecido vivo como morto. Simbiontes, tal como micorriza, vivem em estreita associação com as plantas. Fungos têm um ou mais núcleos por célula e são homocarióticos ou heterocarióticos. Fungos têm uma parede celular firme durante pelo menos um estágio em sua história de vida. Esta parede celular normalmente consiste de quitina ou, em alguns casos tal como os Oomycota, de celulose. A parte vegetativa do fungo (talo) normalmente é haplóide, em raros casos diplóide. O talo de fungos inferiores (Myxomycota, entre outros) consiste de células amebóides ou plasmódios (protoplasma polinuclear nu). Eumycota têm células germinativas, como no caso de leveduras (por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae*), ou formam um micélio que consiste de hifas parecidas com fios. Como o resultado de agregação de hifas, órgãos específicos para propagação (corpos de frutificação) ou para sobreviver a condições ambientais desfavoráveis (esclerótia) podem ser formados. Propagação e multiplicação normalmente é como forma de esporos; assexualmente por meio de conídios,

uredósporos, esporangiósporos, clamidósporos e zoósporos, e sexualmente com oósporos, ascósporos, zigósporos e basidiósporos.

Aproximadamente 100 000 diferentes espécies fúngicas são conhecidas até o momento. Dentre estas, entretanto, apenas 5% são patógenos vegetais. Os Basidiomycota são uma divisão dos fungos verdadeiros que são caracterizados pelo desenvolvimento de uma estrutura particular, o basídio, na qual os basidiósporos amadurecem. Os Basidiomycota também incluem os cogumelos geralmente conhecidos. Os Basidiomycota são predominantemente heterotáticos e auto-estéreis. Reprodução ocorre por somatogamia. Durante somatogamia, dois micélios ou esporídios mononucleares haplóides compatíveis coalescem. O micélio dicariótico resultante constitui a fase dominante do ciclo de vida por um período prolongado. Os únicos dois gêneros fitopatogênicos dos Basidiomycota são as fuligens (Ustilages) e as ferrugens (Uredinales). Fuligens atacam apenas angiospermas e costumam ser de grande importância econômica. Hoje em dia elas são controladas de forma bem sucedida por substâncias ativas adequadas e rígido controle de grãos. As ferrugens são ainda de alguma maneira mais importantes hoje em dia. Elas são biotróficas e podem ter um ciclo de desenvolvimento complicado com até cinco diferentes estágios de esporos (espermácio, aecidiósporo, uredósporo, teleutósporo e basidiósporo). Ferrugens que desenvolvem todos os estágios de esporos são referidas como ferrugens macrocíclicas. Se alguns estágios estão ausentes, estas ferrugens são referidas como sendo macrocíclicas. "Ferrugens imperfeitas" carecem dos basidiósporos. Algumas ferrugens mudam seus hospedeiros durante seu desenvolvimento. Estas são referidas como heteroécias. Alternância de hospedeiro pode estar ligada a alternância de fase nuclear. Em contraste, ferrugens autoécias completam todo o seu desenvolvimento em um hospedeiro. Um exemplo tradicional de uma ferrugem macrocíclica heteroécia é ferrugem negra de cereais, *Puccinia graminis*. *P. graminis*, em

seu estágio dicariótico, ataca predominantemente trigo. O haplonte é patogênico para bérberis (Börner H., Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz [Plant disease and plant protection], Ulmer Verlag Stuttgart, 1997; Sitte P. et al., Strasburger - Lehrbuch der Botanik [Textbook of Botany], Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1998; Entrup N.L. et al., Lehrbuch des Pflanzenbaues [Textbook of crop production], Thomas Mann Verlag, Gelsenkirchen, 2000).

Durante a infecção de plantas por fungos patogênicos, diferentes fases são normalmente observadas. As primeiras fases da interação entre fungos fitopatogênicos e suas plantas hospedeiras potenciais são decisivas para a colonização da planta pelo fungo. Durante o primeiro estágio da infecção, os esporos se tornam acoplados à superfície das plantas, germinam, e o fungo penetra na planta. O acoplamento dos esporos requer ou um metabolismo ativo, o que é o caso em *Colletotrichum graminicola*, ou ele é passivo, como é o caso com *Magnaporthe grisea*. No último caso, umidade leva à secreção de um "adesivo de mucilagem", por meio do qual o esporo se acopla (Howard R.J. et al., Annu. Rev. Microbiol. 50, 491 (1996)). Germinação de esporo é induzida ou por indutores inespecíficos tal como água, nutrientes, etileno ou, mais raramente, como é o caso em *Phyllosticta ampellicida*, por superfícies hidrofóbicas (Kuo K. et al., Fungal Genet. Biol. 20, 18 (1996)). Alguns fungos desenvolvem dois tubos germinativos, como é o caso em oídio de cereais, *Blumeria graminis*, enquanto que outros fungos desenvolvem apenas um tubo germinativo (Green J.R. et al., The powdery mildews, a comprehensive treatise; The formation and function of infection and feeding structures, APS Press, 2002). Fungos podem penetrar na planta através de portas existentes tal como estômatos, lenticelas, hidatódios e lesões, ou ainda eles penetram na epiderme vegetal diretamente como o resultado da força mecânica e com o auxílio de enzimas que digerem parede celular. Estruturas específicas de infecção são desenvolvidas para penetração da planta. Estes órgãos de pressão são referidos como apressórios e permitem

que o fungo estabeleça uma alta pressão acima de um ponto distinto. É estimado que apressório de *M. grisea* atinja uma pressão de 80 bar (Howard R.J. et al., Annu. Rev. Microbiol. 50, 491 (1996)). A maioria das ferrugens, em contraste, penetra na planta através dos estômatos. A ferrugem de soja *Phakopsora pachyrhizi* penetra diretamente na epiderme vegetal e, portanto parece oídio de cereais, *B. graminis*, em seu comportamento de penetração (Koch E. et al., Phytopath. p. 106, 302 (1983); Tucker S.L. et al., Annu. Rev. Phytopathol. 39, 385 (2001); Green J.R. et al., The powdery mildews, a comprehensive treatise; The formation and function of infection and feeding structures, APS Press, 2002).

Fungos fitopatogênicos nem sempre colonizam toda a planta; em contraste, algumas vezes são apenas áreas ou tecidos específicos que são colonizados. Seguindo a invasão bem sucedida da planta, fungos fitopatogênicos seguem diferentes estratégias nutricionais. Patógenos pertotróficos ou necrotróficos matam as células hospedeiras por meio de enzimas ou toxinas extracelulares e se alimentam degradando as células mortas. Alguns gêneros com nutrição pertotrófica são os *Fusaria* sp., *Alternaria* sp. e *Cochliobolus*. A maioria dos fungos usa esta estratégia de alimentação. Os fungos fitopatogênicos biotróficos, tal como mofo e muitas ferrugens, dependem, para sua nutrição, no metabolismo de células vivas. Uma posição intermediária é ocupada pelos fungos patogênicos hemibiotróficos, os quais incluem os gêneros *Phytophthora* e *Peronospora*. A maioria destes é biotrofo no começo de seu desenvolvimento e apenas mudam para um estilo de vida pertotrófico durante os estágios tardios de seu desenvolvimento (Prell H.H., Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen [Interactions between plants and phytopathogenic fungi], Gustav Fischer Verlag, Jena, 1996). As plantas desenvolveram mecanismos de defesa para evitar infecção. Outra posição intermediária é ocupada, por exemplo, por ferrugem da soja, que penetra na epiderme

diretamente, em consequência do que a célula penetrada se torna necrótica; depois da penetração, o fungo muda para um estilo de vida obrigatoriamente biotrófico. O subgrupo dos patógenos fúngicos biotróficos que segue essencialmente uma tal estratégia de infecção irá, para os propósitos da presente descrição, ser referido como sendo "heminecrotrofico".

Deve ser enfatizado que plantas, durante seu desenvolvimento, são expostas a ataque constante por um grande número de organismos fitopatogênicos. Contudo, colonização da planta por organismos fitopatogênicos é a exceção ao invés da regra. Antes que um patógeno possa atacar a planta, ele tem que superar uma série de barreiras. Frequentemente, o patógeno desenvolveu fatores específicos de patogenicidade que são adaptados à planta, conhecidos como fatores de virulência, a fim de superar estas barreiras. Em um tal caso, a planta se torna uma planta hospedeira para o patógeno, i.e. o último é virulento na planta. Existe uma compatibilidade básica entre a planta e o patógeno. Isto significa que os pré-requisitos fisiológicos e bioquímicos que são requeridos para a colonização já estão em existência ou foram produzidos (Prell H.H., *Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen* [Interactions between plants and phytopathogenic fungi], Gustav Fischer Verlag, Jena, 1996). No caso de interação compatível, o patógeno se desenvolve às custas da planta, assim causando a formação de sintomas de doença tal como emurchecimento, necroses e cloroses. Entretanto, se compatibilidade básica existe, a planta pode ainda se defender contra o patógeno quando uma mutação de resistência ocorreu na planta. A resistência da planta, assim adquirida, é referida como resistência de hospedeiro. Se é dirigida apenas contra um certo patógeno individual e pode ser superada prontamente pelo último. Os patógenos em questão são principalmente, mas não sempre, patógenos biotróficos. Resistência de patógeno pode ser subdividida em resistências horizontais não específicas para raça que, na maioria dos casos, envolve diversos genes, e resistência

específica para raça. A última é efetiva apenas contra certas raças individuais de um patógeno, enquanto que a planta se defende a priori contra a maioria de patógenos. Este fenômeno é referido como incompatibilidade básica ou resistência de não hospedeiro. Em contraste a resistência de hospedeiro, 5 resistência de não hospedeiro é baseada em uma série de causas e não em genes individuais. Primeiramente, o patógeno pode carecer dos fatores de patogenicidade necessários, ou ainda a planta é capaz de reconhecer, e se defender com sucesso, contra o patógeno. Outro termo que é importante em particular para agricultura é tolerância. Uma planta é tolerante a um patógeno 10 quando ela pode ser atacada, mas o ataque não leva ao desenvolvimento de sistemas de doença e redução de produção (Prell H.H., *Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen* [Interactions between plants and phytopathogenic fungi], Gustav Fischer Verlag, Jena, 1996). Para os propósitos da descrição da presente invenção, gerar, ou aumentar, uma 15 resistência deve compreender um aumento ou geração de qualquer tipo de resistência, mas também de tolerância, i.e. em particular todos os casos de uma tolerância ou resistência aumentada que podem levar a perdas reduzidas de produção como causadas pelo patógeno.

Em conexão com respostas de resistência de plantas, o termo 20 fatores de resistência inclui estruturas, substâncias e processos que previnem ou inibem ataque da planta por patógenos potenciais. Se os fatores de resistência já estão constitutivamente presentes na planta, eles são referidos como fatores de resistência pré-formados. Fatores de resistência induzidos são apenas formados quando uma resposta de reconhecimento entre a planta e o 25 patógeno potencial ocorreu. Reconhecimento pode ser descrito como uma resposta sinal/sensora (modelo elicitor/receptor, Keen N.T. et al., *Phytopathology* 62, 768 (1972)). O sinal são substâncias vegetais ou substâncias produzidas pelo patógeno, conhecidas como elicitores, que se ligam a um sensor ou receptor que é específico para o elicitor em questão.

Esta ligação desperta um ou mais efetores, que podem ser, por exemplo, cadeias de transdução de sinal e induzem a resposta de resistência. Uma série completa de substâncias atuam como elicitores. Estas incluem proteínas, glicoproteínas, glucanas e lipídios (Garcia Brugger et al., MPMI 19, 711 (2006)). Produtos de degradação de parede celular vegetal que são liberados por enzimas do patógeno ou ainda por lesão da planta também podem induzir uma resposta de resistência. Neste contexto, um fator de avirulência do patógeno e o gene de resistência correspondente da planta é freqüentemente mencionado ("Gene-for-gene hypothesis", Flor, J. Agric. Res. 74, 241 (1947)). O patógeno pode prevenir reconhecimento pela planta por meio de modificações estruturais do elicitor, mascaramento da seqüência de reconhecimento ou por competição com outra substância pelos sítios de ligação no elicitor ou receptor.

Fatores de resistência pré-formados formam a primeira defesa contra colonização por organismos patogênicos. Estes fatores podem ser fatores morfológicos ou ainda substâncias do metabolismo secundário da planta (fitoanticipinas). Fatores morfológicos que previnem colonização são folhas peludas, densidade estomatal e formato, e a natureza da cutícula e da parede celular.

Reconhecimento, do patógeno, pela planta também pode levar à indução de fatores de resistência, i.e. respostas de resistência morfológicas e fisiológicas. Muitas destas respostas são o resultado de uma cascata de sinais. Moléculas sinais tal como Ca^{2+} , NO, compostos reativos de oxigênio e fitormônios tal como etileno e jasmonato estão envolvidos nas cascatas e contribuem para a reticulação das vias de sinalização. Respostas de resistência nas quais estruturas morfológicas na célula vegetal são modificadas são a formação de aposições da parede celular (papilas), camadas de cortiça e abscisão, tilas e a impregnação da parede celular. O começo de penetração por um fungo patogênico pode desencadear a formação de papilas. Lignina,

calose, suberina e proteínas ricas em hidroxiprolina são depositadas na parede celular interior oposta ao sítio potencial de penetração e são reticuladas com uma outra. Calose pode ser corada pela intercalação de anilina azul. Em adição, a papila formada acumula fenóis, espécies reativas de oxigênio e hidrolases (Hückelhoven R. et al., *Plant Physiol.* 119, 1251 (1999); Assaad F.F. et al., *Mol. Biol. of the Cell*, 15, 5118 (2004)). O desenvolvimento de papilas leva a uma parede celular substancialmente espessada e pode prevenir penetração do fungo patogênico. Processos fisiológicos que contribuem para resistência induzida são despolarização da membrana celular, o metabolismo oxidativo, a reação hipersensível, a formação de fitoalexinas e a expressão de proteínas relacionadas à patogênese (proteínas PR). Uma das primeiras respostas para entrar em contato com um elicitor é a despolarização da membrana celular. Isto resulta em um efluxo pronunciado de íons Cl^- e K^+ , ligado com perda pronunciada de água. É assumido que despolarização desencadeia uma concentração aumentada de Ca^{2+} , que é uma molécula sinal importante (Ward J.M. et al., *Plant Cell* 7, 833 (1995)) e desempenha um papel na reação hipersensível (HR) (Wendehenne D. et al., *Plant Cell* 14, 1937 (2002)). HR em plantas é uma forma de morte celular programada. Ela permite que a planta pare o fungo mesmo depois de penetração do último negando a este uma fonte de nutrientes. O curso de HR parece depender da combinação de planta e patógeno. Entretanto, biossíntese de proteínas, um citoesqueleto intacto e ácido salicílico parecem ser necessários para induzir HR (Heath M., *Plant Mol. Biol.* 44, 321 (2000)).

Uma resposta muito rápida ao patógeno é o metabolismo oxidativo, a formação de espécies reativas de oxigênio, tal como o ânion superóxido O_2^- , o radical hidroxila OH e peróxido de hidrogênio. Estes compostos são formados por várias oxidases. O radical hidroxila atua localmente, enquanto que H_2O_2 pode se difundir através das membranas. Ambos oxidam ácidos graxos poliinsaturados e podem assim destruir

membranas (Grant J.J. et al., Plant Physiol. 124, 21 (2000)). H_2O_2 também é suspeito de realizar uma função em regulação gênica. Em adição, os compostos auxiliam as respostas de defesa reticulando os componentes de parede celular, aumentando lignificação e exercendo um efeito tóxico em patógenos (Garcia-Brugger A. et al., MPMI 19, 711 (2006)). Finalmente mas não menos importante, o ataque de patógeno leva à expressão de genes que codificam para proteínas PR e para fitoalexinas. Proteínas PR são um grupo heterogêneo de proteínas que têm um efeito tóxico em fungos penetrantes. O termo fitoalexinas se refere a substâncias antimicrobianamente ativas de baixo peso molecular cuja síntese é desencadeada por estresse biótico ou abiótico (Prell H.H., Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen [Interactions between plants and phytopathogenic fungi], Gustav Fischer Verlag, Jena, 1996; van Loon L.C. et al., Physiol. Mol. Plant Physiol. 55, 85 (1999)). As respostas descritas procedem parcialmente não apenas quando o patógeno interage com uma planta hospedeira, mas também quando ele reage com uma planta não hospedeira. Decisiva para defesa de patógeno é a qualidade do reconhecimento e a quantidade e velocidade da resposta de resistência (Thordal-Christensen H., Current Opinion in Plant Biology 6, 351 (2003)).

Uma doença vegetal que se tornou crescentemente importante em tempos recentes é ferrugem da soja. A doença é causada pelas ferrugens patogênicas *Phakopsora pachyrhizi* (Sydow) e *Phakopsora meibomia* (Arthur). Elas pertencem à classe Basidiomycota, ordem Uredinales, família Phakopsoraceae. As duas espécies são muito intimamente relacionadas uma com a outra. As seqüências intergênicas de seus genes de rRNA mostram 80% de similaridade (Frederick R.D. et al., Phytopathology 92, 217 (2002)). As espécies são distinguidas por características morfológicas dos teliósporos (Ono Y. et al., Mycol. Res. 96, 825 (1992)). Ambas as ferrugens infectam um amplo espectro de plantas hospedeiras. *P. pachyrhizi*, também referida como

ferrugem da soja Asiática, é o patógeno mais agressivo em soja (*Glycine max*), e é, portanto, pelo menos atualmente, de grande importância para agricultura. *P. pachyrhizi* é capaz de infectar 31 espécies de 17 famílias de Leguminosae em condições naturais e é capaz de crescer em 60 espécies adicionais em condições controladas (Sinclair et al. (eds.), *Proceedings of the soybean rust workshop* (1995), National Soybean Research Laboratory, Publication No. 1 (1996); Rytter J.L. et al., *Plant Dis.* 87, 818 (1984)). *P. meibomia* foi encontrado na Bacia do Caribe e em Porto Rico, e não causou dano substancial ainda.

P. pachyrhizi foi originalmente descoberto no Japão em 1902. A partir de então, *P. pachyrhizi* se espalhou por grandes partes da Ásia e pela Índia e Austrália e, finalmente, atingiu África em 1996. Em 2001, o fungo chegou à América do Sul e atingiu os Estados Unidos da América pela primeira vez em 2004 (Sconyers E.L. et al., www.ers.usda.gov/Features/SoyBeanRust/ (2005)). Na América do Sul em particular, *P. pachyrhizi* causou grandes perdas de produção de até 80%. É estimado que 1,5 milhão de toneladas da colheita de 2005/2006 de soja Brasileira apenas tenham sucumbido à infecção com ferrugem da soja. *P. pachyrhizi* é uma ferrugem cíclica que forma três tipos de esporos. A formação de teliósporos foi observada na Ásia na direção do fim do período de vegetação (Yeh C.C. et al., *Phytopathology* 71, 1111 (1981)). A formação de basidiósporos, em contraste, é conhecida apenas em condições laboratoriais. A forma de esporo mais importante são os uredósporos, que são formados pelo período inteiro de vegetação e que servem para espalhar a doença. Estes esporos são formados em grandes quantidades são capazes de se espalhar por amplas distâncias com o auxílio de vento e chuva. *P. pachyrhizi* é um biotrofo obrigatório. Se um uredósporo chega a um hospedeiro adequado, ele germina com um único tubo germinativo. Na extremidade deste tubo germinativo, um apressório se desenvolve e

rapidamente atinge o tamanho do esporo. Com o apressório, o fungo é capaz de estabelecer uma grande pressão e de penetrar nas células epidérmicas diretamente com o auxílio de uma hifa de penetração. A hifa de penetração de *P. pachyrhizi* cresce através da célula epidérmica e, uma vez que ela atinge o espaço intracelular na folha, forma o primeiro septo. Ela agora continua a crescer na folha como uma hifa primária. Tão cedo quanto 24-48 h depois da infecção, a primeira célula-mãe haustorial é dividida por um septo, e um haustório saciforme é formado em uma célula de mesófilo da folha. A parede celular da célula de mesófilo é penetrada, mas o plasmalema é apenas dobrado, de forma que a célula permanece viva e pode atuar como uma fonte de nutrientes. Os nutrientes vão da membrana da célula hospedeira viva através da matriz extrahaustorial até o haustório. A célula epidérmica que foi penetrada no começo se torna necrótica logo depois de penetração. Esta maneira de infecção de um patógeno biotrófico, como é usado por *P. pachyrhizi*, portanto será referida como "heminecrotrófica" para os propósitos da descrição da presente invenção. Os primeiros uredósporos são encontrados apenas 11-12 dias depois da infecção, e o ciclo pode começar mais uma vez (Koch E. et al., *Phytopath*, p. 106, 302 (1983)).

A planta cultivável soja *Glycine max* (L.) Merr. pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, gênero *Glycine* Willd. e subgênero soja (Moench). Soja é plantada em mais do que 35 países. Algumas das áreas de produção mais importantes estão localizadas nos Estados Unidos da América, China, Coréia, Argentina e Brasil. Ela é considerada como sendo uma das plantas cultiváveis mais antigas e foi domesticada pela primeira vez na China entre os séculos 11 e 17 (Hymowitz T., *Econ. Bot.* 24, 408 (1970)). Ela foi introduzida nos Estados Unidos da América em 1765; os Estados Unidos da América são atualmente uma das maiores áreas de produção de soja. Espécies selvagens de soja podem ser encontradas na China, Coréia, Japão, Taiwan e na antiga URSS. Evidência

morfológica, citológica e molecular sugere que G. soja é o ancestral da forma cultivada G. max. Sendo uma planta subtropical, sojas preferem uma temperatura anual média de 5,9-27°C; elas não são resistentes a congelamento (OECD, Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean); Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No. 15, ENV/JM/MONO(2000)9). Sojas são atualmente uma importante fonte de óleo e proteína. Este uso extensivo de soja em produção de alimentos realça a importância de controle eficiente de ferrugem da soja.

Plantas de soja são infectadas por *P. pachyrhizi* por uredósporos dispersos pelo vento. Os primeiros sintomas discerníveis são pequenas lesões amarelo a marrom avermelhado na superfície superior da folha, que depois se espalham mais até que toda a folha finalmente se torna clorótica e morre. Mediante infecção avançada, as lesões são encontradas em toda a planta. Os primeiros urédios têm um diâmetro de 100-200 µm e são encontrados na parte de baixo da folha 10-14 dias depois da infecção; eles podem produzir esporos por três a seis semanas. Télidos são formados subepidermicamente e ocorrem principalmente na periferia das lesões. Os esporos primeiro são amarelos a marrons e depois se tornam pretos. Os primeiros sintomas freqüentemente são primeiro observados nas folhas mais velhas. O rápido desenvolvimento da doença se correlaciona com o começo de florescimento (R1+) e finalmente destrói toda a folhagem. O fato de que a maioria da área fotossinteticamente ativa é destruída e de que água e nutrientes são extraídos pelo fungo leva a produtividade reduzida da planta (Sconyers E.L. et al., www.ers.usda.gov/Features/SoyBeanRust/ (2005)).

A fim de germinar, *P. pachyrhizi* requer umidade na forma de orvalho ou os semelhantes na superfície superior da folha. O fungo é encorajado em particular por chuva freqüente e temperaturas de entre 15 e 29°C (Sconyers E.L. et al., www.ers.usda.gov/Features/SoyBeanRust/ (2005)). Freqüentemente, a doença começa em localizações distintas e

subseqüentemente se espalha rapidamente pelo campo inteiro. O fungo é autoécio, i.e. ele não requer nenhuma alternância de hospedeiro para seu desenvolvimento, e ele pode persistir prontamente em suas numerosas plantas hospedeiras alternativas. Nos Estados Unidos da América, videira Kudzu (Pueraria lobata), que se origina no Japão, é considerada como sendo uma planta hospedeira potencial na qual *P. pachyrhizi* pode hibernar e fornecer inóculo novo na próxima primavera.

P. pachyrhizi pode ser atualmente controlado no campo apenas por meio de fungicidas. Plantas de soja com resistência ao espectro inteiro dos isolados não estão disponíveis. Ao buscar por plantas resistentes, quatro genes dominantes Rpp1-4, que mediam resistência de soja a *P. pachyrhizi*, foram descobertos; entretanto, esta resistência é apenas específica de isolado (Hartwig E.E. et al., Crop Science, 23, 237 (1983); Hartwig E.E., Crop Science 26, 1135 (1986)). Uma vez que a resistência foi apenas baseada em genes individuais, ela foi perdida rapidamente. Apenas a resistência mediada por Rpp4 até agora foi derrubada apenas em condições de casa de vegetação (Posada-Buitrago M.L. et al., Fungal Genetics and Biology 42, 949 (2005). A utilização de fontes potenciais de resistência de representantes do subgênero de soja perene é limitada (Hartman G.I. et al., Plant Disease 76, 396 (1992)). Até agora, todos os cruzamentos levaram apenas a progênie estéril (Singh R. et al., Wendl. Theor. Appl. Genet. 74, 391 (1987)).

O controle eficiente de ferrugem da soja com fungicidas requer pouca aplicação na folhagem das plantas, uma vez que infecção ocorre primeiro nas folhas inferiores. Um tratamento duplo mostrou ser efetivo. Uma desvantagem dos fungicidas usados é que, como o resultado de seu mecanismo específico de ação, resistências podem se desenvolver prontamente. Uma alternativa potencial ao uso de fungicidas é o uso de plantas de soja resistentes a glifosato. Em um experimento em casa de vegetação, plantas de soja foram tratadas com o herbicida três dias antes de

inoculação, e uma redução de lesões causadas por ferrugem de 46-70% foi observada (Feng C.C.P. et al., PNAS 102, 17290 (2005)). Se este efeito também será mantido em experimentos de campo permanece por ser visto.

Nos anos recentes, *P. pachyrhizi* ganhou em importância como
5 peste em produção de soja. Houve, portanto uma demanda na arte anterior por desenvolver métodos de controlar o fungo. Agora, não pode ser esperado que melhoramento vegetal contribua uma vez que as fontes disponíveis de resistência não estão acessíveis. Tratamento com fungicidas tem uma
10 eficiência limitada e é efetivo apenas quando a doença ainda está para invadir. Isto é porque em particular o patossistema soja/*P. pachyrhizi* é o método de escolha para uma abordagem recombinante. Para que uma abordagem seja bem sucedida, é inicialmente importante ter conhecimento detalhado do curso de infecção e da resposta da planta, em particular durante os primeiros
15 estágios da infecção. Genes candidatos potenciais que conferem resistência devem ser identificados, e seu efeito na interação entre planta e patógeno deve ser caracterizado. A transformação estável de plantas é muito consumidora de tempo e custosa, que é o porquê transformação transiente, que torna possível uma caracterização da interação planta/patógeno no nível celular, é preferida. O método de escolha aqui é a transformação transiente de folhas com a pistola
20 de genes. Em plantas, resistência de não hospedeiro é particularmente efetiva e durável e baseada no fato de que quantidade e velocidade da resposta de resistência é aumentada em comparação com a resposta de compatibilidade. Assim, a caracterização de genes decisivos em resistência de não hospedeiro pode servir para identificar genes candidatos potenciais para a geração de
25 plantas resistentes. Assim, para também estudar a resposta de uma planta não hospedeira a ferrugem da soja, o sistema cevada (*Hordeum vulgare*)/*P. pachyrhizi* foi escolhido uma vez que cevada é uma planta modelo que foi descrita em detalhe. Além disso, o patossistema cevada/ com *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Bgh) e com *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*

(Bgt), que é incompatível, foi estudado em grande detalhe. Embora Bgh e *P. pachyrhizi* difiram em alguns respeitos, eles compartilham pelo menos fenotipicamente algumas etapas no começo do processo de infecção. Assim, a análise em cevada pode fornecer informação sobre os mecanismos da resistência de não hospedeiro a *P. pachyrhizi* em comparação com a resistência de hospedeiro de cevada. Assim, genes candidatos foram testados em folhas de cevada transientemente transformadas para seu efeito na resistência a *P. pachyrhizi*. A transformação transiente com a pistola de genes fornece um método de estudar, no patossistema cevada/*P. pachyrhizi*, uma série de genes que podem estar envolvidos na resposta de resistência.

Morte celular programada (PCD) é um processo importante no desenvolvimento e resposta a estresse de plantas e animais. Algumas mudanças morfológicas e bioquímicas na célula, tal como condensação de cromatina, contração do citoplasma e fragmentação de DNA, parecem ser compartilhadas por plantas e animais (Lam E. et al., *Nature* 411, 848 (2001)). Uma clara distinção entre PCD e HR, que é causada por estresse biótico ou abiótico, não é possível (Heath M., *Plant Mol. Biol.* 44, 321 (2000)). Um ativador de PCD em animais é BAX. BAX desenvolve canais na membrana mitocondrial externa e causa a liberação de citocromo c. Isto desencadeia uma cascata de caspase, e assim a proteólise de proteínas a qual a célula necessita para sobreviver (Green D.R. et al., *Science* 281, 1309 (1998)). A superexpressão de BAX em tabaco (*N. tabacum*, Lacomme C. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 96, 7956 (1999)) e *Arabidopsis thaliana* (Kawai-Yamada M. et al., *Plant Cell* 16, 21 (2004)) causa PCD e assim sugere mecanismos similares em plantas e animais. Entretanto, nenhum homólogo de BAX foi identificado em plantas. Entretanto, um regulador antagonístico de BAX de PCD, o inibidor de Bax-1 (BI-1), é conservado em plantas, animais e outros organismos tal como levedura. Proteínas similares foram identificadas desde então em *A. thaliana*, *H. vulgare*, *Brassica napus*, *Brassica oleracea*, *Oryza*

sativa e *N. tabacum* (Hückelhoven R., Apoptosis 9, 299 (2004)). Em experimentos com proteínas de fusão BI-1/GFP, uma localização de BI-1 na membrana do retículo endoplasmático (ER) e na membrana nuclear foi observada (Eichmann R. et al., Mol. Plant Microbe Interact. 17, 484 (2004)).

5 A proteína tem um tamanho de 25-27 kDa e tem 6-7 domínios transmembrana. A extremidade C-terminal, que provavelmente está localizada no citoplasma (Bolduc N. et al., Planta 216, 377 (2003)), é essencial para a função de BI-1 (Kawai-Yamada et al., Plant Cell 16, 21 (2004)). É possível que os domínios de transmembrana formem um canal
10 iônico (Bolduc N. et al., Planta 216, 377 (2003)). Assim, BI-1 pode ter uma função em regular o nível citosólico de Ca^{2+} e/ou o estado redox da célula como o resultado da função de armazenamento de ER para Ca^{2+} (Xu Q. et al., Mol. Cell 18, 1084 (1998); Balduc N. et al., FEBS Lett. 532, 111 (2003); Hückelhoven R. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 29, 5555 (2003);
15 Matsumura H. et al., Plant J. 33, 425 (2003)). Em células animais, não existe nenhuma interação física direta entre BI-1 e Bax. Entretanto, BI00-1 interage com outros reguladores de PCD (Xu Q. et al., Mol. Cell 18, 1084 (1998)). É provável que BI-1, em plantas, também interaja com outros reguladores de PCD, assim influenciando as respostas de resistência. Em Arabidopsis, BI-1 é
20 capaz de suprimir BAX e o H_2O_2 induziu PCD (Baek et al., Plant Mol. Biol. 56, 15 (2004); Kawai-Yamada M. et al., Plant Cell 16, 21 (2004)). Portanto, ele provavelmente regula os processos em um nível menor do que a resposta a estresse oxidativo (Kawai-Yamada M. et al., Plant Cell 16, 21 (2004)).

A expressão de BI-1 é induzida por estresse biótico e abiótico
25 tal como ataque por patógenos ou ferimento, mas também em tecidos de envelhecimento (Balduc N. et al., FEBS Lett. 532, 111 (2003); Hückelhoven R., Apoptosis 9, 299 (2004)). Em Arabidopsis, os níveis de mRNA de BI-1 são aumentados depois de choque térmico (Watanabe N. et al., Plant J. 45, 884 (2006)). Expressão de BI-1 é induzida em tomate (*Lycopersicum*

esculentum) por H_2O_2 , e em *Arabidopsis* por H_2O_2 e ácido salicílico (Hückelhoven R., *Apoptosis* 9, 299 (2004); Kawai-Yamada M. et al., *Plant Cell* 16, 21 (2004)). Isto sugere que BI-1 tem uma função em defesa de patógeno, pois isto é onde ambas as substâncias desempenham um papel importante (Prell H.H., *Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen* [Interactions between plants and phytopathogenic fungi], Gustav Fischer Verlag, Jena, 1996).

Por conseguinte, a infecção de cevada com Bgh ou Bgt desperta uma expressão aumentada de BI-1 (Hückelhoven R. et al., *Plant Mol. Biol.* 47, 739 (2001); Eichmann R. et al., *Mol. Plant Microbe Interact.* 17, 484 (2004)). Em arroz, a expressão é bifásica depois de infecção com *M. grisea*. Primeiro ela é levemente aumentada, mas é reduzida 12 horas depois da infecção apenas para subir de novo (Matsumura H. et al., *Plant J.* 33, 425 (2003)). A expressão aumentada de BI-1 em células de *Arabidopsis* depois de tratamento com fumonisina B1 (Watanabe N. et al., *Plant J.* 45, 884 (2006)), e a redução da expressão de BI-1 depois do tratamento de células de arroz com extrato elicitor de *M. grisea*, demonstra que os padrões de expressão podem diferir consideravelmente, dependendo do fator indutor e da planta. Os padrões de expressão sugerem um papel de BI-1 na regulação do PCD ou HR induzido por estresse e na resposta de resistência a patógenos. A influência no HR pode aumentar a resistência de uma planta, especialmente se os patógenos são fungos pertotróficos ou hemibiotróficos. Superexpressão de BI-1 em cenoura (*Daucus carota* ssp. *sativa*) leva a resistência das plantas a *Botrytis cinerea* (Imani J. et al., *Mol. Plant Physiol.* in press). Em tomates, a expressão do inibidor de PCD p35 protege contra *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes* e *Pseudomonas syringae* (Lincoln J.E. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 99, 15217 (2002)).

Contra este histórico, houve uma demanda contínua na arte anterior por plantas cultiváveis com uma resistência aumentada a patógenos.

Há apenas poucas abordagens que conferem, a plantas, uma resistência a um espectro mais amplo de patógenos, especialmente patógenos fúngicos. Resistência sistêmica adquirida (SAR) – um mecanismo de defesa em várias interações planta/patógeno– pode ser conferida por aplicação de substâncias mensageiras endógenas tal como jasmonato (JA) ou ácido salicílico (SA) (Ward J.M. et al., *Plant Cell* 3, 1085 (1991); Uknes et al., *Plant Cell* 4(6), 645 (1992)). Efeitos similares também podem ser causados por compostos sintéticos tal como ácido 2,6-dicloroisonicotínico (DCINA) ou éster S-metil do ácido benzo(1,2,3)tiadiazole-7-carbotióico (BTH; Bion[®]) (Friedrich et al., *Plant J.* 10(1), 61 (1996); Lawton et al., *Plant J.* 10, 71 (1996)). Também, expressão de proteínas "relacionadas à patogênese" (PR), que foi aumentada no contexto de SAR, pode causar parcialmente resistência a patógenos.

Em cevada, o locus Mlo foi descrito como um regulador negativo de defesa de patógeno. A perda, ou perda de função, do gene Mlo causa uma resistência aumentada inespecífica para raça para um grande número de isolados de mofo (Büschges R. et al., *Cell* 88, 695 1997); Jorgensen J.H., *Euphytica* 26, 55 (1997); Lyngkjaer M.F. et al., *Plant Pathol* 44, 786 (1995)).

O gene Mio foi descrito (Büschges R. et al., *Cell* 88, 695 (1997); Patente Internacional 98/04586; Schulze-Lefert P. et al., *Trends Plant Sci.* 5, 343 (2000)). Vários homólogos de Mlo de outras espécies de cereal foram isolados. Métodos usando estes genes para obter resistência a patógeno foram descritos (Patente Internacional 98/04586; Patente Internacional 00/01722; Patente Internacional 99/47552). A desvantagem é que plantas deficientes em Mlo também iniciam o mecanismo de defesa mencionado acima na ausência de um patógeno, que se manifesta na morte espontânea de células vegetais (Wolter M. et al., *Mol. Gen. Genet.* 239, 122 (1993)). Como o resultado, plantas resistentes a mlo sofrem uma perda de produção de até 5% (Jörgensen J.H. *Euphytica* 63, 141 (1992)). A morte espontânea das

células foliares, além disso, causa uma hipersusceptibilidade desvantajosa a patógenos necrotróficos e hemibiotróficos tal como *Magnaporthe grisea* (M. grisea) ou *Cochliobolus sativus* (*Bipolaris sorokiniana*) (Jarosch B. et al., Mol Plant Microbe Interact. 12, 508 (1999); Kumar J. et al., Phytopathology 91, 127 (2001)).

Apoptose, também referida como morte celular programada, é um mecanismo essencial para manter homeostase de tecido, e, como tal, age contra divisão celular como um mecanismo negativamente regulador. No organismo multicelular, apoptose é um componente natural de ontogênese, e envolvida, entre outras coisas, em desenvolvimento de órgãos e na remoção de células senescentes, infectadas ou mutadas. Como o resultado de apoptose, células indesejadas são eliminadas de uma maneira eficiente. Interferência com, ou inibição de, apoptose contribui para a patogênese de uma variedade de doenças, dentre as quais carcinogênese. Os principais efetores de apoptose são cisteína proteases específicas de aspartato, que são conhecidas pelo nome de caspases. Elas geralmente podem ser ativadas por pelo menos duas vias de sinal apoptótico: primeiramente pela ativação da família de receptor de TNF (fator de necrose tumoral); secundariamente, as mitocôndrias desempenham um papel central. Ativação da via de sinal de apoptose mitocondriana é regulada por proteínas da família Bcl-2. Esta família de proteínas consiste de proteínas antiapoptóticas e proapoptóticas tal como, por exemplo, Bax. No caso de um estímulo apoptótico, a proteína Bax passa por uma mudança de conformação alostérica, que leva ao ancoramento da proteína na membrana mitocondrial externa, e a sua oligomerização. Como o resultado destes oligômeros, moléculas proapoptóticas são liberadas das mitocôndrias no citosol e causam uma cascata de sinal apoptótico e, no final das contas, a degradação de substratos celulares específicos, resultando em morte celular. O inibidor de Bax-1 (BI1) foi isolado através de sua propriedade de inibir o efeito proapoptótico de BAX (Xu Q. et al., Mol Cell 1(3), 337 (1998)). BI1 é

uma proteína altamente conservada. Ela é encontrada predominantemente como um constituinte integral de membranas intracelulares. Bcl-2 interage com bcl-2 e bcl-xl. A superexpressão de Bcl-2 em células de mamíferos suprime o efeito proapoptótico de BAX, etoposida e estaurosporina, mas não de antígeno Fas (Roth W. et al., Nat. Med. 8, 216 (2002)). A inibição de Bcl-2 por RNA antisentido, em contraste, induz apoptose (Xu Q. et al., Mol Cell 1(3), 337 (1998)). Os primeiros homólogos vegetais de Bcl-2 foram isolados de arroz e Arabidopsis (Kawai et al., FEBS Lett 464, 143 (1999); Sanchez et al., Plant J. 21, 393 (2000)). Estas proteínas vegetais suprimem a morte celular induzida por BAX em levedura. A homologia de sequência de aminoácidos com Bcl-2 humano é aproximadamente 45%. Em plantas recombinantes, o homólogo de Arabidopsis AtBcl-2 é capaz de suprimir o efeito proapoptótico de BAX murino (Kawai-Yamada M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98(21), 12295 (2001)). O homólogo de Bcl-2 de arroz (*Oryza sativa*) OsBcl-2 é expresso em todos os tecidos vegetais (Kawai et al., FEBS Lett 464, 143(1999)). Além disso são descritos genes de Bcl-2 de cevada (*Hordeum vulgare*; GenBank Acc.-No.: AJ290421), arroz (GenBank Acc.-No.: AB025926), Arabidopsis (GenBank Acc.-No.: AB025927), tabaco (GenBank Acc.-No.: AF390556) e colza (GenBank Acc.-No.: AF390555, Bolduc N. et al., Planta 216, 377-386 (2003)). A expressão de Bcl-2 em cevada é aumentada como o resultado de infecção com mofo (Hückelhoven R. et al., Plant Mol. Biol. 47(6), 739 (2001)).

Patente Internacional WO 00/26391 descreve a superexpressão, em plantas, dos genes antiapoptóticos Ced-9 de *C. elegans*, sfiAP de *Spodoptera frugiperda*, bcl-2 de humanos e bcl-xl de galinha para aumentar a resistência a fungos necrotróficos ou hemibiotróficos. Homólogos vegetais de Bcl-2 não são descritos. Expressão está sob o controle de promotores constitutivos. Além disso, é descrita a expressão de uma proteína Bcl-2 de Arabidopsis sob o promotor constitutivo forte 35S CaMV em células

de arroz e uma resistência por meio disto induzida para substâncias indutoras de morte celular de *Magnaporthe grisea* (Matsumura H. et al., Plant J. 33, 425 (2003)).

Originalmente, a arte anterior descreveu que expressão constitutiva de um inibidor da morte celular programada em plantas pode causar resistência a fungos necrotróficos.

Entretanto, a pessoa versada na arte foi defrontada em particular com o problema de fornecer métodos para a defesa de patógeno em plantas, em particular contra patógenos biotróficos.

Surpreendentemente, o problema é resolvido pelos métodos inventivos, seqüências peptídicas, seqüências de ácidos nucleicos, cassetes de expressão, vetores e organismos definidos nas principais reivindicações, usando uma proteína BI1. As reivindicações dependentes definem formas de uso específicas, especialmente preferidas da presente invenção.

O papel de BI-1 foi testado em três experimentos independentes no sistema de transformação transiente. No controle, 53% (média dos experimentos) das células transformadas que interagiram com *P. pachyrhizi* foram penetradas, enquanto que apenas 37% das células transformadas BI-1 foram penetradas (FIG. 8; Tabela FIG. 10). Os dados foram baseados em três experimentos independentes. Folhas de cevada foram transformadas com a construção de gene repórter pGY1-GFP e o vetor branco a fim de atuarem como controles. A taxa de penetração nas células transformadas BI-1 difere significativamente do WT ($P < 0,05$). Depois da avaliação, as células que foram transientemente transformadas com BI-1, portanto surpreendentemente mostram uma resistência à penetração significativamente aumentada para *P. pachyrhizi* ($P < 0,05$; Fig. 8; Tabela FIG. 10). Um aspecto notável da observação no microscópio foi que as células formadoras de BI-1 tiveram uma aparência marcadamente mais vital do que células, que expressaram GFP ou ADF3.

Assim, mesmo a superexpressão transiente do inibidor de morte celular BI-1 em cevada revelou, surpreendentemente, a tendência a uma resistência aumentada das células vegetais a penetração por ferrugem da soja. Para confirmar isto, a interação entre plantas transgênicas de cevada cv. "Golden Promise" (GP) que contêm uma construção de superexpressão de GFP-BI-1 foi estudada sob o microscópio em comparação com tipo selvagem (WT) desta variedade. Para gerar as plantas transgênicas, uma fusão GFP-BI-1 sob o controle do promotor constitutivo CaMV 35S foi usada, assim assegurando expressão suficiente da proteína.

Em experimentos preliminares, folhas do WT cv. "Golden Promise" e da linhagem transgênica de cevada (cv. "Golden Promise") #6(1)E8L1(T1)' foram inoculadas com *P. pachyrhizi* e, 24 horas depois da inoculação, fixadas em solução descolorante. Depois de descoloração ter sido completada, as folhas foram coradas com anilina azul. Anilina azul intercala na estrutura de calose e assim cora preferencialmente papilas onde calose passa por acúmulo e reticulação com outras substâncias poliméricas. Células que, como o resultado de uma resposta hipersensível (HR), passaram por um processo similar como apoptose em células de mamíferos, depois de marcação com anilina azul, também mostram uma fluorescência de luz. O número de esporos, os esporos germinados com tubos germinativos que já haviam formado um apressório e, como resposta celular, os apressórios com papilas subjacentes e a HR foram contados nas folhas de cevada inoculadas. Aglomerações de esporos maiores onde uma partilha dos apressórios para os esporos não foi mais possível não foram incluídas. Tanto quanto possível, pelo menos 100 esporos com apressórios foram contados por folha. Mesmo neste experimento, uma formação significativamente aumentada de papilas e uma HR significativamente diminuída das células foi observada na linhagem transgênica ($P < 0,01$; Tabela FIG. 11 A/B, FIG. 12).

Tanto Bgh (Hückelhoven R., FEMS Microbiol. Letters 245,

9(2005)) como *P. pachyrhizi* (Koch E. et al., *Phytopath*, p. 106, 302 (1983)) são patógenos biotróficos. Uma HR das células infectadas pode, portanto parar o desenvolvimento dos fungos uma vez que ela os desprova de sua fonte de alimento. Se a HR é prevenida, as células podem se tornar mais sensíveis a

5 infecção por patógenos biotróficos. Apesar disto, células de cevada que foram transientemente transformadas com uma construção de superexpressão de BI-1 surpreendentemente mostram uma resistência aumentada à penetração por *P. pachyrhizi*. Isto é surpreendente porque uma sensibilidade aumentada

10 ao fungo biotrófico teria sido esperada. Entretanto, a HR não é a única reação de resistência na resistência de cevada e trigo ao patógeno incompatível *P. pachyrhizi*, e talvez não aquela decisiva. Assim, a defesa de trigo contra *P. pachyrhizi* é formação de papilas (Hoppe H.H. et al., *Pro. Intern. Congress of SABRAO* (Bangkok 1985) 1986). Cevada responde com formação de papilas e com HR das células infectadas, dependendo da variedade. Além

15 disso, cevada com o alelo *mlo5* responde com formação aumentada de papilas. A defesa de cevada a Bgt também é afetada por formação de papilas, mas principalmente por uma HR de células infectadas (Hückelhoven R. et al., *Mol. Plant Pathol.* 2, 199 (2001). Em contraste a *P. pachyrhizi*, a superexpressão transiente de BI-1 em cevada leva a uma taxa aumentada de

20 penetração das células por Bgt (Eichmann R. et al., *Mol. Plant Microbe Interact.* 17, 484 (2004)). Da mesma maneira, plantas de cevada com o alelo *mlo5*, que confere ampla resistência a Bgh demonstram, no caso de superexpressão transiente de BI-1, maior sensibilidade das células a penetração por Bgh (Hückelhoven R. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 29,

25 5555 (2003). Embora a resistência de cevada com o alelo *mlo5* seja baseada não em uma HR das células infectadas, mas em uma mais eficiente acumulação de compostos antimicrobianos, H_2O_2 e uma formação aumentada de papilas, a inibição da HR também parece afetar as outras respostas de resistência (Hückelhoven R. et al., *Plant Physiol.* 119, 1251 (1999)). Sem

causar limitação por teoria, estas observações de uma resistência reduzida à penetração como o resultado de inibição de HR sugere que regulação reticulada das respostas de resistência. A suspeita de que as respostas de resistência são sujeitas a regulação reticulada é confirmada pela análise microscópica de plantas transgênicas de cevada que foram inoculadas com *P. pachyrhizi*. Estas plantas de cevada contêm uma construção de superexpressão de BI-1 e respondem a infecção com formação aumentada de papilas. Enquanto que apenas 16-26% das células infectadas mostram HR nas folhas das plantas transgênicas, HR foi observada em aproximadamente 50% das células infectadas nas folhas WT. Conseqüentemente, na variedade de cevada "Golden Promise", a HR das células também parece ser um importante mecanismo de resistência contra *P. pachyrhizi*, que é um biotrofo, embora *P. pachyrhizi* não utilize as células epidérmicas como uma fonte de alimento, pelo menos não em soja, mas apenas forme haustórios no mesófilo (Koch E. et al., *Phytopath*, p. 106, 302 (1983)). Em geral, entretanto, o fungo não atingiu este estágio na planta não hospedeira cevada. Inibição da HR torna possível para Bgt penetrar nas células, e o fungo pode se estabelecer com sucesso (Eichmann R. et al., *Mol. Plant Microbe Interact.* 17, 484 (2004)). Fatores específicos de fungo adicionais parecem ser necessários para este processo. Parece que estes fatores específicos de Bgt são capazes de suprimir ou a resposta de resistência alternativa da célula vegetal ou o reconhecimento pela última. Estes fatores provavelmente estão ausentes em *P. pachyrhizi*. Assim, a célula vegetal talvez seja capaz de reconhecer *P. pachyrhizi* e, uma vez que BI-1 suprime a HR, capaz de induzir uma resposta de resistência alternativa, formação de papilas. Reconhecimento de *P. pachyrhizi* pela planta é confirmado pela observação de formação aumentada de papilas em cevada com o alelo mlo5. Entretanto, a razão pela qual a planta é capaz de reconhecer o patógeno *P. pachyrhizi*, que é especializado para plantas hospedeiras de uma ordem completamente diferente, permanece inexplicada (Sinclair J. B. et

al. (eds.), Proceedings of the soybean rust workshop (1995), National Soybean Research Laboratory, Publication No. 1 (1996)). A "característica de reconhecimento" de *P. pachyrhizi* pode ser um elicitor inespecífico ('padrões moleculares associados à patogênese' PAMP) tal como o INF1 de *P. infestans*,
 5 que desencadeia uma HR em *Nicotiana* sp. (Kamoun S. et al., Plant Cell 10, 1413 (1998)). PAMPs são reconhecidos pela planta como moléculas exógenas e desencadeiam uma resposta de resistência. Nem todas as folhas da planta transgênica mostram formação aumentada de papilas, embora a construção de gene BI-1 tenha sido identificada nelas por meio de PCR. Isto pode ser uma
 10 consequência de um tipo de inserção desfavorável da construção, que previne uma expressão efetiva de BI-1 e/ou leva a efeitos antagonísticos por outros genes. Uma vez que a identificação foi realizada no nível de DNA, nenhum comentário pode ser feito sobre a expressão de BI-1. Também deve ser lembrado que mesmo pequenos danos aos grãos ou às folhas podem ter um
 15 efeito decisivo, ou prevenir, o desenvolvimento da planta. Assim, alguns grãos da linhagem #6(2)E15L7P2 (T2) não germinaram.

Conseqüentemente, um primeiro assunto da invenção se refere a um método de gerar ou aumentar uma resistência na planta, ou uma parte de uma planta, a um patógeno que é preferivelmente um biotrofo. O método
 20 compreende uma etapa na qual a quantidade de uma proteína, inibidor de Bax-1 (BI-1), ou sua função na planta ou pelo menos uma parte de uma planta é aumentada. Uma parte de uma planta é compreendida como significando a planta inteira, um ou mais de seus órgãos, um tecido ou pelo menos uma célula. O método, além disso, compreende a etapa de selecionar uma planta
 25 ou uma parte de uma planta na qual a proteína BII ou sua função tenha sido aumentada de uma maneira tal que ela mostra resistência aumentada em comparação com uma planta inicial, na qual o aumento na quantidade de função da proteína BII em comparação com a planta inicial ou sua parte é aumentada.

Em uma forma de realização preferida, a resistência é uma resistência a pelo menos um patógeno biotrófico, preferivelmente um fungo biotrófico, e especialmente preferivelmente um fungo heminecrotrofico como definido neste lugar. Em formas de realização preferidas da presente invenção, o fungo biotrófico é selecionado a partir do grupo Basidiomycota, preferivelmente os Uredinales (fuligens), especialmente preferivelmente os Melompsoraceae, e em particular o gênero *Phacopsora*. Em formas de realização especialmente preferidas, o patógeno é *Phacopsora pachyrhizi* e/ou *P. meibomia* (juntos também referidos como "ferrugem da soja" ou "ferrugem da fava da soja"). Preferência sendo dada ao primeiro. Quando o patógeno é selecionado a partir do grupo dos patógenos ou fungos biotróficos, é preferido em algumas formas de realização que o patógeno seja outro do que oídio ou míldio.

Em formas de realização preferidas, a etapa de aumentar a quantidade ou função da proteína BII é realizada por métodos biotecnológicos. O termo métodos "biotecnológicos" compreende, entre outras coisas, a expressão recombinante da proteína em uma célula, preferivelmente em ligação operável com, e dirigida por, um promotor heterólogo. O aumento mencionado acima, entretanto, também pode ser realizado, por exemplo, substituindo apenas o promotor endógeno ou, por exemplo, o silenciamento de fatores que geralmente inibem a expressão da proteína BII endógena. Por conseguinte, o termo "método biológico" compreende todos os métodos que são abertos a biologia molecular moderna, em particular os métodos de tecnologia de gene recombinante, que são conhecidos pelo trabalhador versado e que serão discutidos em maior detalhe no percurso da descrição.

A planta na qual a resistência é gerada é preferivelmente selecionada a partir do grupo das plantas monocotiledôneas, em particular compreendendo trigo, aveia, milho, cevada, centeio, milho, arroz, sorgo,

triticale, espelta ou cana-de-açúcar; ou do grupo das plantas dicotiledôneas, em particular compreendendo *Arabidopsis*, algodão, trigo sarraceno, batata, repolho, agrião, linhaça, colza, tomate, berinjela, pimentão, girassol, tabaco, Tagetes, alface, *Calendula*, melão, abóbora/moranga, abobrinha, beterraba açucareira, ornamentais, árvores e legumes. Uma vez que ferrugem da soja ataca mais do que 70 espécies leguminosas, a planta é especialmente preferivelmente selecionada, entre os legumes, pelo menos em casos onde o patógeno é um patógeno heminecrotrofico ou um patógeno de ferrugem ou ferrugem da soja.

Conseqüentemente, a planta é selecionada especialmente preferivelmente entre os legumes, compreendendo plantas do gênero *Phaseolus* (compreendendo feijão francês, feijão anão, feijão trepador (*Phaseolus vulgaris*), feijão de lima (*Phaseolus lunatus* L.), feijão tepari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray), feijão da Espanha (*Phaseolus coccineus*)); o gênero *Glycine* (compreendendo *Glycine soja*, soja (*Glycine max* (L.) Merrill)); ervilha (*Pisum*) (compreendendo ervilhas-forrageiras (*Pisum sativum* L. convar. *sativum*), também chamadas ervilhas lisas ou tortas; ervilha medulosa (*Pisum sativum* L. convar. *medullare* Alef. emend. C.O. Lehm), ervilha doce (*Pisum sativum* L. convar. *axiphium* Alef. emend. C.O. Lehm), também chamada ervilha de cheiro, ervilha de vagem ou ervilha de quebrar, (*Pisum granda sneida* L. convar. *sneidulo* p. *shneiderium*)); amendoim (*Arachis hypogaea*), trevo (*Trifolium spec.*), luzerna (*Medicago*), videira Kudzu (*Pueraria lobata*), luzerna comum, alfafa (*M. sativa* L.), grão-de-bico (*Cicer*), lentilhas (*Lens*) (*Lens culinaris* Medik.), tremoços (*Lupinus*); ervilhacas (*Vicia*), favarola, fava (*Vicia faba*), ervilha-do-campo (*Lathyrus*) (compreendendo chícharo (*Lathyrus sativus*), chícharo selvagem (*Lathyrus tuberosus*)); gênero *Vigna* (compreendendo *vigna* (*Vigna aconitifolia* (Jacq.) Maréchal), feijão azuki (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & H. Ohashi), feijão rajado (*Vigna mungo* (L.) Hepper), feijão mungo (*Vigna radiata* (L.) R.

Wilczek), amendoim bambarra (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.), feijão arroz (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & H. Ohashi), *Vigna vexillata* (L.) A. Rich., *Vigna unguiculata* (L.) Walp., nas três subspecies feijão-asparago, caupi, feijão de corda)); feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), o gênero *Macrotyloma* (compreendendo amendoim de geocarpa (*Macrotyloma geocarpum* (Harms) Maréchal & Baudet), faveira (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.)); feijão alado (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.), feijão inhame Africano (*Sphenostylis stenocarpa* (Hochst. ex A. Rich.) Harms), feijão preto egípcio, dólico, labe labe (*Lablab purpureus* (L.) Sweet), feijão jacatupé (*Pachyrhizus*), feijão-guar (*Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taub.); e o gênero *Canavalia* (compreendendo feijão de porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), feijão espada (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.)).

Em qualquer das formas de realização da presente invenção que são descritas neste lugar, é especialmente preferido que a quantidade ou função da proteína BII seja aumentada pelo menos na epiderme, preferivelmente essencialmente de uma maneira tecido específica na epiderme; em particular, é preferido que a quantidade ou função da proteína BII seja especificamente aumentada na epiderme e/ou essencialmente não aumentada no mesófilo.

Por epiderme, o trabalhador versado quer dizer o tecido epidérmico predominante de partes vegetais aéreas primárias, por exemplo, do broto, das folhas, flores, frutos e grãos. As células epidérmicas secretam exteriormente uma camada água-repelente, a cutícula. As raízes são circundadas pela rizoderme, que, de muitas maneiras, parece a epiderme, mas também mostra diferenças pronunciadas. Enquanto que a camada mais externa do meristema apical dá origem à epiderme, a formação da rizoderme é muito menos clara. Dependendo da espécie, ela pode ser considerada, em termos filogenéticos, ou como parte da caliptra ou como parte do córtex primário. A epiderme tem diversas funções: ela protege a planta contra

dessecação e regula a taxa de transpiração. Ela protege a planta contra uma ampla variedade de influências externas químicas e físicas, contra ser ingerida por animais e contra ataque por parasitas. Ela está envolvida em troca gasosa, na secreção de certo metabólitos e na absorção de água. Ela compreende receptores para estímulos luminosos e mecânicos. Ela assim atua como um transformador de sinal entre o ambiente e a planta. Em conformidade com suas várias funções, a epiderme compreende diversas células diferenciadas diferentemente. A isto devem ser adicionadas variantes espécie-específicas e diferentes organizações das epidermides nas partes individuais de uma planta. Essencialmente, ela consiste de três categorias de células: as células epidérmicas "atuais", as células dos estômatos e dos tricomas (Grego: trichoma, pêlo), apêndices epidérmicos de variados formatos, estruturas e funções.

As células epidérmicas "atuais", i.e. as menos especializadas, respondem pelo volume das células do tecido epidérmico. Em vista de topo, elas parecem ou poligonais (forma de chapa ou placa) ou alongadas. As paredes entre elas freqüentemente são onduladas ou sinuosas. Não se sabe o que induz este formato durante desenvolvimento; hipóteses existentes oferecem apenas explicações insatisfatórias para tal. Células epidérmicas alongadas podem ser encontradas em órgãos ou partes de órgãos que são eles mesmos alongados, assim, por exemplo, em caules, pecíolos, veias foliares e nas folhas da maioria das monocotiledôneas. A superfície superior e superfície inferior de laminas podem ser cobertas em epidermides com diferentes estruturas, sendo possível para o formato das células, a espessura da parede e a distribuição e número de células especializadas (estômatos e/ou tricomas) por unidade de área variar. Um alto grau de variação também é encontrado dentro de famílias individuais, por exemplo, na Crassulaceae. Na maioria dos casos, a epiderme consiste de uma única camada, embora epidermides de múltiplas camadas armazenando água tenham sido

encontradas entre espécies de uma pluralidade de famílias (Moraceae: a maioria das espécies de *Ficus*; Piperaceae: *Peperonia*, Begoniaceae, Malvaceae e os semelhantes). Células epidérmicas, entretanto secretam uma cutícula do lado de fora que cobre todas as superfícies epidérmicas como

5 uma película ininterrupta. Ela pode ser ou lisa ou estruturada por saliências, protuberâncias, pregas e sulcos. Entretanto, o dobramento da cutícula, que pode ser observado ao olhar a superfície, nem sempre é causado por protuberâncias cuticulares. De fato, há casos onde dobramento cuticular é meramente a expressão das saliências subjacentes da parede celular.

10 Apêndices epidérmicos de várias formas, estruturas e funções são referidos como tricomas e, no presente contexto, da mesma maneira vêm sob o termo “epiderme”. Eles ocorrem na forma de pêlos protetores, pêlos de sustentação e pêlos glandulares na forma de escamas, diferentes papilas e, no caso de raízes, como pêlos absorventes. Eles são formados exclusivamente por células

15 epidérmicas. Frequentemente, um tricoma é formado por apenas uma tal célula, entretanto, ocasionalmente, mais do que uma célula está envolvida em sua formação.

O termo “epiderme” da mesma maneira compreende papilas. Papilas são saliências da superfície epidérmica. O exemplo de livro texto são

20 as papilas em superfícies florais de amor-perfeito (*Viola tricolor*) e as superfícies superiores das folhas de muitas espécies de florestas pluviais tropicais. Elas concedem uma consistência tipo veludo à superfície. Algumas células epidérmicas podem formar depósitos de água. Um exemplo típico são as vesículas de água nas superfícies de muitas espécies de

25 *Mesembryanthemum* e outras suculentas. Em algumas plantas, por exemplo, no caso de campânula (*Campanula persicifolia*), as paredes externas da epiderme são espessadas como uma lente.

O volume de todos os tecidos é o parênquima. Os tecidos parenquimáticos incluem o mesófilo que, em folhas, pode ser diferenciado em

parênquima paliçádico e parênquima esponjoso.

Por conseguinte o trabalhador versado entende, por mesófilo, um tecido parenquimático. Células parenquimáticas estão sempre vivas, na maioria dos casos isodiamétricas, raramente alongadas. A seiva dos brotos, os tecidos de armazenamento dos frutos, grãos, a raiz e outros órgãos subterrâneos também são parênquimas, como é o mesófilo.

Nas folhas da maioria das samambaias e fanerógamas, especialmente no caso das dicotiledôneas e muitas monocotiledôneas, o mesófilo é subdividido em parênquima paliçádico e parênquima esponjoso.

Uma folha "típica" é de organização dorsoventral. Na maioria dos casos, o parênquima paliçádico está na superfície superior da folha imediatamente abaixo da epiderme. O parênquima esponjoso preenche o espaço fundamental. Ele é entremeado por um sistema intercelular volumoso cujo espaço gasoso está em contato direto com o espaço externo através dos estômatos.

O parênquima paliçádico consiste de células cilíndricas alongadas. Em algumas espécies, as células são irregulares, ocasionalmente bifurcadas (formato de Y: parênquima paliçádico ramificado). Tais variantes são encontradas em samambaias, coníferas e algumas angiospermas (por exemplo, em espécies de Ranunculaceae e Caprifoliaceae [exemplo: sabugueiro]). Além da forma de organização mais espalhada que acabou de ser descrita, as seguintes variantes foram encontradas:

- parênquima paliçádico na superfície abaxial da folha. Particularmente notável em folhas escamosas. Exemplo: árvore-da-vida (Thuja), e nas folhas de alho selvagem (*Allium ursinum*).

- parênquima paliçádico em ambas as superfícies foliares (adaxial e abaxial). Frequentemente em plantas que crescem em habitats secos (xerófitas). Exemplo: alface-brava-menor (*Lactuca serriola*);

- parênquima paliçádico plicado: Em folhas organizadas cilíndricamente e em acículas de coníferas.

A variabilidade das células do parênquima esponjoso, e a própria organização do parênquima esponjoso, são ainda mais variados do que aqueles do parênquima paliádico. Ele é mais freqüentemente referido como aerênquima uma vez que ele compreende uma multiplicidade de espaços intercelulares interconectados.

O mesófilo pode compreender o que é conhecido como o tecido de assimilação, mas os termos mesófilo e tecido de assimilação não são para serem usados sinonimicamente. Há folhas livres de cloroplasto cuja organização difere apenas em um pequeno grau de folhas verdes comparáveis. Como uma consequência, elas compreendem mesófilo, mas assimilação não ocorre; inversamente, assimilação também ocorre em, por exemplo, secções do broto.

Na presente descrição, a epiderme é caracterizada em termos bioquímicos. Em uma forma de realização preferida, a epiderme pode ser caracterizada pela atividade de um ou mais dos seguintes promotores:

- WIR5 (=GstA1); acc. X56012; Dudler & Schweizer,
- GLP4, acc. AJ310534; Wei Y., Zhang Z., Andersen C.H., Schmelzer E., Gregersen P.L., Collinge D.B., Smedegaard-Petersen V. e Thordal-Christensen H., *Plant Molecular Biology* 36, 101 (1998),
- GLP2a, acc. AJ237942, Schweizer P., Christoffel A. e Dudler R., *Plant J.* 20, 541 (1999);
- Prx7, acc. AJ003141, Kristensen B.K., Ammitzböll H., Rasmussen S.K. e Nielsen K.A., *Molecular Plant Pathology*, 2(6), 311 (2001);
- GerA, acc. AF250933; Wu S., Druka A., Horvath H., Kleinhofs A., Kannangara G. e von Wettstein D., *Plant Phys Biochem* 38, 685 (2000);
- OsROC1, acc. AP004656
- RTBV, acc. AAV62708, AAV62707; Klöti A., Henrich C., Bieri S., He X., Chen G., Burkhardt P.K., Wünn J., Lucca P., Hohn T.,

Potrykus I. e Fütterer J., PMB 40, 249 (1999);

- Promotor ChtC2 de quitinase de batata (Ancillo et al., Planta. 217(4), 566, (2003));

- Promotor AtProT3 (Grallath et al., Plant Physiology. 137(1), 117 (2005))

- Promotores SHN de Arabidopsis (Fatores de transcrição AP2/EREBP envolvidos em produção de cutina e cera) (Aarón et al., Plant Cell. 16(9), 2463 (2004));

- GSTA1 de trigo (Dudler et al., WP2005306368 e Altpeter et al., Plant Molecular Biology. 57(2), 271 (2005)).

Em formas de realização preferidas, a epiderme é caracterizada pelo fato de que todos os promotores mencionados acima estão ativos no tecido ou na célula. Em outras formas de realização preferidas, a epiderme é caracterizada pelo fato de que apenas alguns dos promotores estão ativos, por exemplo, preferivelmente 2, 3, 5 ou mais preferivelmente 7 ou mais, mas pelo menos a partir de apenas um daqueles detalhados acima.

Em uma forma de realização preferida, o mesófilo é caracterizado em termos bioquímicos. O mesófilo pode ser caracterizado pela atividade de um ou mais dos seguintes promotores:

- PPCZm1 (=PEPC); Kausch A.P., Owen T.P., Zachwieja S.J., Flynn A.R. e Sheen J., Plant Mol. Biol. 45, 1 (2001);

- OsrbcS, Kyozuka et al., PlaNt Phys 102, 991 (1993); Kyozuka J., McElroy D., Hayakawa T., Xie Y., Wu R. e Shimamoto K., Plant Phys. 102, 991 (1993);

- OsPPDK, acc. AC099041;

- TaGF-2.8, acc. M63223; Schweizer P., Christoffel A. e Dudler R., Plant J. 20, 541 (1999);

- TaFBPase, acc. X53957;

- TaWIS1, acc. AF467542; Patente Norte-Americana

200220115849;

- HvBIS1, acc. AF467539; Patente Norte-Americana

200220115849;

- ZmMIS1, acc. AF467514; Patente Norte-Americana

5 200220115849;

- HvPR1a, acc. X74939; Bryngelsson et al., Mol. Plant Microbe Interact. 7 (2), 267 (1994);

- HvPR1b, acc. X74940; Bryngelsson et al., Mol. Plant Microbe Interact. 7(2), 267 (1994);

10 - HvB1,3gluc; acc. AF479647;

- HvPrx8, acc. AJ276227; Kristensen et al., Molecular Plant Pathology, 2(6), 311 (2001);

- HvPAL, acc. X97313; Wei Y., Zhang Z., Andersen C.H., Schmelzer E., Gregersen P.L., Collinge D.B., Smedegaard-Petersen V. e Thordal-Christensen H. Plant Molecular Biology 36, 101 (1998).

Em formas de realização preferidas, o mesófilo é caracterizado pelo fato de que todos os promotores mencionados acima estão ativos no tecido ou na célula. Em outra forma de realização, o mesófilo compreende o fato de que apenas alguns dos promotores estão ativos, por exemplo, preferivelmente 2, 3, 5 ou especialmente preferivelmente 7 ou mais, mas pelo menos a partir de apenas um daqueles detalhados acima.

Em formas de realização preferidas, todos os promotores mencionados acima estão ativos em uma planta usada ou produzida em conformidade com a invenção ou na epiderme e no mesófilo em uma planta de acordo com a invenção. Em uma forma de realização, apenas alguns dos promotores mencionados acima estão ativos, por exemplo, preferivelmente 2, 5, ou especialmente preferivelmente 7 ou mais; entretanto, pelo menos um dos promotores detalhados acima está ativo em cada caso.

Em formas de realização preferidas, o aumento na quantidade

de proteína ou função da proteína BII ocorre de uma maneira constitutiva ou tecido-específica. Em formas de realização especialmente preferidas, um aumento essencialmente tecido-específico na quantidade de proteína ou função protéica ocorre de uma maneira essencialmente epiderme-específica, por exemplo, por expressão recombinante de uma sequência de ácidos nucleicos codificando para dita proteína BI sob o controle de um promotor específico para epiderme. Em particular, o aumento na a expressão ou função da proteína BII ocorre na epiderme, onde, entretanto, a expressão da proteína BI-1 no mesófilo permanece essencialmente não modificada, ou ela é reduzida, e onde outros tecidos não são afetados.

Como descrito no presente texto, em uma forma de realização, a expressão ou função da proteína de acordo com a invenção ou do BI-1 caracterizada no presente texto é aumentada pelo menos na epiderme de uma planta. Um aumento em expressão pode ser atingido como descrito a seguir. Por expressão ou função aumentada, o presente texto significa tanto a ativação como melhoria da expressão ou função da proteína endógena incluindo uma expressão de novo, mas também um aumento em ou melhoria como o resultado da expressão de uma proteína ou fator transgênico.

Em uma forma de realização especialmente preferida, o aumento na quantidade de proteína ou função de pelo menos uma proteína BII vegetal pode ser combinado com um fenótipo mlo-resistente ou com a inibição ou redução, em comparação com uma planta de controle, da expressão de MLO, RacB e/ou NaOx na planta ou uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número considerável das células epidérmicas, e/ou com o aumento na expressão ou função de PEN2 e/ou PEN1 na planta, por exemplo, constitutivamente, ou uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou em um número considerável de células epidérmicas, com a condição de que a expressão de

uma proteína BII vegetal na epiderme foliar permaneça essencialmente não modificada, ou seja, reduzida.

O locus Mlo foi descrito em cevada como regulador negativo de defesa de patógeno. A perda, ou perda de função, do gene Mlo causa uma resistência não específica de raça aumentada para diversos isolados de mofo (Büschges R. et al., Cell 88, 695 (1997); Jorgensen J.H., Euphytica 26, 55 (1977); Lyngkjaer M.F. et al., Plant Pathol. 44, 786 (1995)). Um fenótipo mlo-resistente pode ser obtido como descrito na arte anterior. Métodos usando estes genes para obter uma resistência a patógenos são descritos, entre outras coisas, em Patente Internacional 98/04586; Patente Internacional 00/01722; Patente Internacional 99/47552.

Em uma forma de realização da presente invenção, a atividade, expressão ou função de MLO, RacB e/ou NaOx na planta ou uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas, pode ser vantajosamente inibida ou reduzida em comparação com uma planta de controle ou uma parte desta. Reduzindo a atividade ou função de MLO, RacB e/ou NaOx na planta ou uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas, é preferido para aumentar a resistência, ou força de resistência, a patógenos biotróficos em plantas produzidas em conformidade com a invenção. A atividade ou função de MLO, RacB e/ou NaOx pode ser reduzida ou inibida analogamente àquela que foi descrita para MLO em Patente Internacional 98/04586; Patente Internacional 00/01722; Patente Internacional 99/47552 e nas outras publicações mencionadas a seguir, cujo conteúdo é com isto expressamente incorporado na presente descrição, em particular para descrever a atividade e inibição de MLO. A descrição das publicações mencionadas acima descreve processos, métodos e especialmente formas de realização preferidas para reduzir ou inibir a

atividade ou função de MLO; os exemplos detalham especificamente como isto pode ser realizado.

A redução da atividade ou função, se apropriado a expressão, de RacB é descrita em detalhe em Patente Internacional 2003/20939, que é com isto expressamente incorporada na presente descrição.

A descrição da publicação mencionada acima descreve processos e métodos para reduzir ou inibir a atividade ou função de proteínas; os exemplos detalham especificamente como isto pode ser realizado. É especialmente preferido realizar a redução ou inibição da atividade ou função de RacB como descrito nas formas de realização e nos exemplos que são especialmente preferidos em Patente Internacional 2003/20939 e nos organismos especificados nesta como sendo especialmente preferidos, em particular em uma planta ou uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas. A redução da atividade ou função, se apropriado a expressão, de RacB é descrita em detalhe em Patente Internacional 2003/20939. Em Patente Internacional 2003/20939, o trabalhador versado pode encontrar as seqüências que codificam para proteínas RacB e também pode identificar RacB por meio do método fornecido em Patente Internacional 2003/20939.

A redução da atividade ou função, se apropriado da expressão, de NaOX é descrita em detalhe em Patente Internacional 2004/09820 (= PCT/EP/03/07589) que é com isto expressamente incorporada na presente descrição. A descrição da publicação mencionada acima descreve processos e métodos para reduzir ou inibir a atividade ou função de NaOx; os exemplos detalham especificamente como isto pode ser realizado. É especialmente preferido realizar a redução ou inibição da atividade ou função de NaOx como descrito nas formas de realização e nos exemplos que são especialmente preferidos em Patente Internacional 2004/09820 (= PCT/EP/03/07589) e nos

organismos especificados nesta como sendo especialmente preferidos, em particular em uma planta ou uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas. Em Patente Internacional 2004/09820 (= PCT/EP/03/07589), o trabalhador versado pode encontrar as seqüências que codificam para proteínas NaOx e também pode identificar NaOx por meio do método fornecido em Patente Internacional 2004/09820 (= PCT/EP/03/07589).

Em uma forma de realização da presente invenção, a atividade, expressão ou função de PEN1, PEN2 e/ou SNAP34 pode ser vantajosamente aumentada na planta, por exemplo, constitutivamente, ou em uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas. O aumento em atividade, que também compreende uma expressão de novo, de PEN1, PEN2 e/ou SNAP34 na planta, por exemplo, constitutivamente, ou em uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas preferivelmente irá aumentar a resistência ou força de resistência a patógenos biotróficos nas plantas produzidas em conformidade com a invenção. O aumento na atividade ou função, se apropriado na expressão, de PEN2 é descrito em detalhe em Patente Internacional 03/074688, que é com isto expressamente incorporada na presente descrição. A descrição da publicação mencionada acima descreve processos e métodos para reduzir ou inibir a atividade ou função de PEN2; os exemplos detalham especificamente como isto pode ser realizado. A redução ou inibição da atividade ou função de PEN2 é especialmente preferivelmente realizada em conformidade com as formas de realização e exemplos que são especialmente preferidos em Patente Internacional 03/074688 e nos organismos detalhados nesta como sendo especialmente preferidos, em particular em plantas, por exemplo,

constitutivamente, ou em uma parte desta, por exemplo, em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou uma parte considerável das células epidérmicas. Em Patente Internacional 03074688, o trabalhador versado irá encontrar as seqüências que codificam para proteínas PEN2 e também pode identificar PEN2 por meio do método fornecido em Patente Internacional 03/074688.

A expressão de PEN1 e SNAP34 pode ser aumentada analogamente aos métodos descritos em Patente Internacional 03/074688. Devido a seu conhecimento especializado geral e à arte anterior com a qual ele é familiar, o trabalhador versado pode isolar e superexpressar seqüências de ácidos nucleicos e seqüências protéicas de PEN1 e SNAP34. SEQ ID No: 39 descreve a seqüência de ácidos nucleicos que codifica para PEN1 de cevada; a seqüência protéica é descrita em SEQ ID No: 40. SEQ ID No: 41 descreve as seqüências de ácidos nucleicos que codificam para PEN1 de *Arabidopsis thaliana*; a seqüência protéica é descrita em SEQ ID No: 42. PEN1 de *Arabidopsis thaliana* é publicado sob os números de acesso NM 202559 e NM 112015. O homólogo de cevada é descrito em números de acesso AY246907 e AY246906 como ROR2. Eles são membros da família bastante grande das proteínas syntaxina. Assim, o trabalhador versado pode usar comparações simples de homologia para identificar proteínas syntaxina adicionais que são expressas como genes potenciais de resistência no método de acordo com a invenção.

SEQ ID No: 43 descreve a seqüência de ácidos nucleicos que codifica para SNAP34 de cevada; a seqüência protéica é descrita em SEQ ID No: 44. O homólogo de SNAP-34 de cevada também é publicado como AY 247208 (SNAP-34). Homólogos cuja função é desconhecida e que podem desempenhar um papel na resistência são publicados como AY 247209 (SNAP-28) e AY 247210 (SNAP-25). Os seguintes genes de *Arabidopsis* mostram um grau maior de homologia com SNAP34 de cevada do que

SNAP-28 de cevada ou SNAP-25 para SNAP-34 e podem ser assim vantajosamente co-superexpressos como genes mediadores de resistência potenciais:

AAM 62553 - Arabidopsis SNAP25a

5 NP 200929 - Arabidopsis SNAP33b

NP 172842 - Arabidopsis SNAP30

NP 196405 - Arabidopsis SNAP29

Por conseguinte, a invenção também se refere a uma planta na qual um polipeptídeo que é codificado por uma molécula de ácido nucleico compreendendo as seqüências mostradas em SEQ ID No: 39, 41 ou 43 ou uma das seqüências mostradas nas publicações de bancos de dados mencionadas acima ou que compreende uma das seqüências de aminoácidos mostradas nas publicações de bancos de dados mencionadas acima ou em SEQ ID No: 40, 42 ou 44, ou que é um equivalente funcional deste ou que tem pelo menos 50%, preferivelmente 70%, mais preferivelmente 80%, ainda mais preferivelmente 90%, 95% ou mais homologia com as seqüências mencionadas acima no nível de molécula de ácido nucleico codificante ou, preferivelmente, no nível de aminoácido é superexpresso pelo menos além disso na epiderme, ou se refere a uma planta na qual o polipeptídeo caracterizado acima é ativado, ou sua atividade ou função aumentada, constitutivamente ou em uma parte, por exemplo em um tecido, mas especialmente vantajosamente pelo menos na epiderme ou um número substancial de células epidérmicas.

Uma redução da expressão ou atividade de uma proteína pode ser causada pelos métodos com os quais o trabalhador versado é familiar, por exemplo, mutagênese, por exemplo, EMS, se apropriado TILLING, iRNA; ribozima, silenciamento, nocaute, e os semelhantes. Métodos de redução são descritos em particular em Patente Internacional 2003/20939, métodos podem ser prontamente adaptados às seqüências descritas nesta, que é a causa do

conteúdo de Patente Internacional 2003/20939 ser explicitamente incorporado neste lugar.

A diminuição ou redução da expressão de uma proteína, da atividade ou da função pode ser realizada de muitas maneiras.

5 "Diminuição", "diminuir", "redução" ou "reduzir" é para ser entendido no amplo sentido em conexão com a presente invenção e compreende a prevenção ou bloqueio parcial ou essencialmente completo da funcionalidade de uma proteína, como o resultado de diferentes mecanismos biológicos celulares.

10 Uma redução para os propósitos da invenção também compreende uma redução quantitativa de uma proteína até uma ausência essencialmente completa da proteína (i.e. carecendo de detectabilidade de atividade ou função ou carecendo de detectabilidade imunológica da proteína). Neste contexto, a expressão de uma certa proteína ou da atividade,
15 ou função, em uma célula ou um organismo é preferivelmente reduzida em mais do que 50%, especialmente preferivelmente em mais do que 80%, muito especialmente preferivelmente em mais do que 90%.

Os métodos de dsRNAi, co-supressão por meio de RNA sentido e "VIGS" ("silenciamento gênico induzido por vírus") são também
20 referidos como "silenciamento gênico pós transcricional" (PTGS). Métodos de PTGS, como a redução da função ou atividade com variantes negativas dominantes, são especialmente vantajosos, pois os requerimentos para homologia entre o gene endógeno a ser suprimido e a seqüência de ácidos nucleicos recombinantemente expressa sentido ou dsRNA (ou entre o gene
25 endógeno e sua variante negativa dominante, respectivamente) são menores do que, por exemplo, no caso de uma abordagem antisentido tradicional. Tais critérios de homologia são mencionados na descrição do método de dsRNAi e geralmente podem ser aplicados a métodos de PTGS ou abordagens negativas dominantes.

"Introdução" compreende, dentro do contexto da presente invenção, todos os métodos que são capazes de introduzir um composto, diretamente ou indiretamente, na epiderme ou em uma parte substancial das células epidérmicas, compartimento ou tecidos das mesmas, ou que são adequados para gerá-los nestas. Isto compreende métodos diretos e indiretos. A introdução pode levar a uma presença transiente de um composto (por exemplo, um dsRNA) ou ainda a uma presença estável. Introduzir compreende, por exemplo, métodos tal como transfecção, transdução ou transformação.

Em construções de expressão da presente invenção, uma molécula de ácido nucleico descrita neste lugar, cuja expressão (transcrição e, se apropriado, tradução) gera uma molécula de ácido nucleico correspondente, está preferivelmente em ligação operável com pelo menos um elemento de controle genético (por exemplo, um promotor) que assegura expressão em um organismo, preferivelmente em plantas, preferivelmente uma expressão epiderme-específica. Se a construção de expressão deve ser introduzida diretamente na planta, elementos de controle genético específicos de planta (por exemplo, promotores) são preferidos, onde, como pode ser visto a partir do que foi dito acima, a atividade epiderme-específica do promotor é obrigatória para a maioria das formas de uso, como descrito neste lugar acima.

Ligação operável é compreendida como significando, por exemplo, o arranjo seqüencial de um promotor e a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa e, se apropriado, elementos reguladores adicionais tal como, por exemplo, um terminador, de uma maneira tal que cada um dos elementos reguladores pode cumprir sua função na expressão recombinante da seqüência de ácidos nucleicos, dependendo do arranjo das seqüências de ácidos nucleicos para fazer RNA sentido ou RNA antisentido. Isto não necessariamente requer ligação direta no sentido químico. Seqüências de

controle genético tal como, por exemplo, seqüências acentuadoras, também podem exercer sua função na seqüência alvo a partir de posições que são de alguma maneira distantes, ou de fato a partir de outras moléculas de DNA (localização cis ou trans). Arranjos preferidos são aqueles nos quais a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa recombinantemente está posicionada depois da seqüência que atua como promotor, de forma que as duas seqüências são covalentemente ligadas uma com a outra. A distância entre a seqüência de promotor e a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa recombinantemente é preferivelmente menor do que 200 pares de bases, especialmente preferivelmente menor do que 100 pares de bases, muito especialmente preferivelmente menor do que 50 pares de bases.

A geração de uma ligação operável pode ser realizada por meio de técnicas atuais de recombinação e clonagem, como é a geração de um cassete de expressão. Tais técnicas são descritas, por exemplo, em Maniatis T., Fritsch E.F. e Sambrook J., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY) (1989), em Silhavy T.J., Berman M.L. e Enquist L.W., *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY) (1984), em Ausubel F.M. et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) e em Gelvin et al. in *Plant Molecular Biology Manual* (1990). Entretanto, também é possível posicionar, entre as duas seqüências, seqüências adicionais que têm, por exemplo, a função de um ligante com certos sítios de clivagem de enzima de restrição, ou de um peptídeo sinal. A inserção de seqüências também pode levar à expressão de proteínas de fusão. Preferivelmente, o cassete de expressão, consistindo de uma ligação de promotor e seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa, pode existir como integrada em um vetor e pode ser inserida em um genoma vegetal, por exemplo, por transformação. Os elementos de controle preferivelmente mediam uma expressão epiderme-específica.

Para os propósitos da presente invenção, "aproximadamente" em conexão com números ou tamanhos significa um intervalo de números ou tamanhos ao redor do valor numérico ou do tamanho. Em geral, o termo "aproximadamente" significa um intervalo de em cada caso 10% acima e abaixo do valor detalhado.

Para os propósitos da presente invenção, "planta" significa todos os gêneros e espécies de plantas superiores e inferiores do reino vegetal. O termo inclui as plantas maduras, grãos, frutos e plântulas, e partes, material de propagação, órgãos vegetais, tecido, protoplastos, calo e outras culturas, por exemplo, culturas celulares, derivadas a partir destes, e quaisquer outros tipos de associações de células vegetais para as unidades funcionais ou estruturais. Plantas maduras significam plantas em qualquer estágio de desenvolvimento depois do estágio de plântula. Plântula significa uma planta imatura jovem em um estágio de desenvolvimento inicial.

"Planta" compreende todas as plantas anuais e perenes, monocotiledôneas e dicotiledôneas e inclui como forma de exemplo, mas não por limitação, aquelas dos gêneros Cucurbita, Rosa, Vitis, Juglans, Fragaria, Lotus, Medicago, Onobrychis, Trifolium, Trigonella, Vigna, Citrus, Linum, Geranium, Manihot, Daucus, Arabidopsis, Brassica, Raphanus, Sinapis, Atropa, Capsicum, Datura, Hyoscyamus, Lycopersicon, Nicotiana, Solarium, Petunia, Digitalis, Majorana, Cichorium, Helianthus, Lactuca, Bromus, Asparagus, Antirrhinum, Heterocallis, Nemesis, Pelargonium, Paniceum, Pennisetum, Ranunculus, Senecio, Salpiglossis, Cucumis, Browallia, Glycine, Pisum, Phaseolus, Lolium, Oryza, Zea, Avena, Hordeum, Secale, Triticum, Sorghum, Picea e Populus.

O termo "planta" preferivelmente compreende as plantas cultiváveis monocotiledôneas e dicotiledôneas. Preferidas dentro do escopo da invenção são plantas que são empregadas como gêneros alimentícios ou rações, muito especialmente preferidas são gêneros e espécies agricolamente

importantes de monocotiledôneas e dicotiledôneas, como detalhado nas reivindicações.

"Resistência a patógeno" significa a redução ou diminuição de sintomas de doença de uma planta como o resultado de ataque por pelo menos um patógeno. Os sintomas podem ser múltiplos na natureza, mas preferivelmente compreendem aqueles que levam diretamente ou indiretamente a um efeito negativo em qualidade de planta, quantidade de produção, a adequabilidade para uso como gênero alimentício ou ração, ou ainda que tornam semeadura, plantio, colheita ou processamento da cultura mais difícil. Para os propósitos da presente invenção, "tolerância a patógeno" é, em particular, para ser considerada como sendo compreendida por "resistência a patógeno".

"Conferir", "existir", "gerar" ou "aumentar" uma resistência significa que os mecanismos de defesa de uma espécie ou variedade particular de planta apresenta resistência aumentada para um ou mais patógenos, como o resultado da aplicação do método de acordo com a invenção, em comparação com tipo selvagem da planta ("planta inicial") à qual este método de acordo com a invenção não foi aplicado, em condições de outra maneira essencialmente idênticas (tal como, por exemplo, condições climáticas, condições de cultura, tipo de estresse, espécie de patógeno e os semelhantes). Neste contexto, a resistência aumentada preferivelmente se manifesta em uma manifestação reduzida dos sintomas de doença, onde sintomas de doença — em adição aos efeitos adversos mencionados acima — também compreendem, por exemplo, a eficiência de penetração de um patógeno na planta ou células vegetais, ou a eficiência de proliferação nas mesmas. Neste contexto, os sintomas de doença são preferivelmente reduzidos em pelo menos 5%, 10% ou pelo menos 20%, especialmente preferivelmente em pelo menos 40% ou 60%, muito especialmente preferivelmente em pelo menos 70% ou 80%, mais preferivelmente em pelo menos 90% ou 95%.

"Seleção" significa, em relação a plantas onde – ao contrário de, ou em comparação com, a planta inicial – resistência a pelo menos um patógeno existe ou é aumentada, todos aqueles métodos que são adequados para reconhecer uma resistência a patógeno existente ou crescente. Isto pode ser, por exemplo, sintomas da infecção com patógeno (por exemplo, desenvolvimento de necroses no caso de infecção fúngica), mas também pode compreender os sintomas descritos acima, que afetam a qualidade da planta, a quantidade da produção, a adequabilidade para uso como ração ou gênero alimentício, e os semelhantes.

Para os propósitos da invenção, "patógeno" significa como forma de exemplo, mas não por limitação, vírus ou viróides, bactérias, fungos, pestes animais tal como, por exemplo, insetos ou nematóides. Fungos, em particular fungos biotróficos ou heminecrotroóficos como definido neste lugar, são especialmente preferidos. Entretanto, pode ser assumido que a expressão mesófilo-específica de uma proteína BII também cause uma resistência a outros patógenos uma vez que uma resistência a fatores de estresse em total está sendo gerada.

Patógenos que podem ser mencionados como forma de exemplo, mas não por limitação, são os seguintes:

1. Patógenos fúngicos de patógenos tipo fungo:

Patógenos fúngicos ou patógenos tipo fungo (tal como, por exemplo, Chromista) preferivelmente pertencem ao grupo compreendendo Plasmodiophoromycota, Oomycota, Ascomycota, Chytridiomycetes, Zygomycetes, Basidiomycota e Deuteromycetes (Fungos imperfeitos).

Patógenos que podem ser mencionados como forma de exemplo, mas não por limitação, são aqueles detalhados em Tabelas 1 a 4, e as doenças que estão associadas com eles.

Tabela 1: Doenças causadas por fungos fitopatogênicos biotróficos

Doença	Patógeno
Ferrugem da folha	<i>Puccinia recondita</i>
Ferrugem amarela	<i>P. striiformis</i>
Oídio	<i>Erysiphe graminis</i> / <i>Blumeria graminis</i>
Ferrugem (milho comum)	<i>Puccinia sorghi</i>
Ferrugem (Southern corn)	<i>Puccinia polysora</i>
Mancha foliar do fumo	<i>Cercospora nicotianae</i>
Ferrugem (soja)	<i>Phakopsora pachyrhizi</i> , <i>P. meibomia</i>
Ferrugem (milho tropical)	<i>Physopella pallescens</i> , <i>P. zea</i> = <i>Angiopsora zea</i>

Tabela 2: Doenças causadas por fungos necrotróficos e/ou hemibiotróficos e Oomycetes

Doença	Patógeno
Mancha de gluma	<i>Septoria (Stagonospora) nodorum</i>
Mancha foliar	<i>Septoria tritici</i>
Fusarioses de espiga	<i>Fusarium</i> spp.
Mancha ocular	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>
Fuligem (inóculo de carvão)	<i>Ustilago</i> spp.
Requeima	<i>Phytophthora infestans</i>
Cárie	<i>Tilletia caries</i>
Mal-do-pé	<i>Gaeumannomyces graminis</i>
Antracnose foliar Antracnose do colmo	<i>Colletotrichum graminicola</i> (teleomorfo: <i>Glomerella graminicola</i> Politis); <i>Glomerella tucumanensis</i> (anamorfo: <i>Glomerella falcata</i> Went)
Podridão de espigas e grãos de <i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
Mela e mancha das bainhas ("Wurzeltöter")	<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn = <i>Rhizoctonia microsclerotia</i> J. Matz (telomorfo: <i>Thanatephorus cucumeris</i>)
Podridão negra dos feixes vasculares	<i>Acremonium strictum</i> W. Gams = <i>alosporium acremonium</i> Auct. non Corda
Podridão preta do grão	<i>Lasioidiplodia theobromae</i> = <i>Botryodiplodia theobromae</i>
Bordo branco	<i>Marasmiellus</i> sp.
Mancha marrom (mancha preta, podridão do colmo)	<i>Physoderma maydis</i>
Podridão de grãos de <i>Cephalosporium</i>	<i>Acremonium strictum</i> = <i>Cephalosporium acremonium</i>
Podridão de carvão	<i>Macrophomina phaseolina</i>
Podridão de espigas de <i>Cortium</i>	<i>Thanatephorus cucumeris</i> = <i>Cortium sasakii</i>
Mancha foliar de <i>Curvularia</i>	<i>Curvularia clavata</i> , <i>C. eragrostidis</i> , = <i>C. maculans</i> (teleomorfo: <i>Cochliobolus eragrostidis</i>), <i>Curvularia inaequalis</i> , <i>C. intermedia</i> (teleomorfo: <i>Cochliobolus intermedius</i>), <i>Curvularia lunata</i>

Doença	Patógeno
	(teleomorfo: <i>Cochliobolus lunatus</i>), <i>Curvularia pallescens</i> (teleomorfo: <i>Cochliobolus pallescens</i>), <i>Curvularia senegalensis</i> , <i>C. tuberculata</i> (teleomorfo: <i>Cochliobolus tuberculatus</i>)
Mancha foliar de <i>Didymella</i>	<i>Didymella exitalis</i>
Podridão de espigas e do colmo de <i>Diplodia</i>	<i>Diplodia frumenti</i> (teleomorfo: <i>Botryosphaeria festucae</i>)
Podridão de espigas e do colmo de <i>Diplodia</i> , podridão de grãos e queima de plântulas	<i>Diplodia maydis</i> = <i>Stenocarpella maydis</i>
Mancha ou listra foliar de <i>Diplodia</i>	<i>Stenocarpella macrospora</i> = <i>Diplodia leaf macrospora</i>
Míldio penugento marrom	<i>Sclerophthora rayssiae</i> var. <i>zeae</i>
Míldio de pendão louco	<i>Sclerophthora macrospora</i> = <i>Sclerospora macrospora</i>
Míldio verde de espiga (míldio de <i>graminicola</i>)	<i>Sclerospora graminicola</i>
Podridão seca de espigas (podridão de sabugo, grãos e do colmo)	<i>Nigrospora oryzae</i> (teleomorfo: <i>Khuskia oryzae</i>)
Podridões das espigas (menores)	<i>Alternaria alternata</i> = <i>A. tenuis</i> , <i>Aspergillus glaucus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Aspergillus</i> spp., <i>Botrytis cinerea</i> (teleomorfo: <i>Botryotinia fuckeliana</i>), <i>Cunninghamella</i> sp., <i>Curvularia pallescens</i> , <i>Doratomyces stemonitis</i> = <i>Cephalotrichum stemonitis</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Gonatobotrys simplex</i> , <i>Pithomyces maydis</i> , <i>Rhizopus microsporus</i> Tiegh., <i>R. stolonifer</i> = <i>R. nigricans</i> , <i>Scopulariopsis brumptii</i>
Ergotismo (dente do cavalo)	<i>Claviceps gigantea</i> (anamorfo: <i>Sphacelia</i> sp.)
Mancha ocular	<i>Aureobasidium zeae</i> = <i>Kabatiella zeae</i>
Podridão de espiga e do colmo de <i>Fusarium</i>	<i>Fusarium subglutinans</i> = <i>F. moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>
Podridão de grão, raiz e do colmo de <i>Fusarium</i> , podridão de semente e queima de plântulas	<i>Fusarium moniliforme</i> (teleomorfo: <i>Gibberella fujikuroi</i>)
Podridão do colmo de <i>Fusarium</i> , podridão de raízes de plântulas	<i>Fusarium avenaceum</i> (teleomorfo: <i>Gibberella avenacea</i>)
Podridão de espiga e do colmo de <i>Gibberella</i>	<i>Gibberella zeae</i> (anamorfo: <i>Fusarium graminearum</i>)
Podridão cinzenta de espiga	<i>Botryosphaeria zeae</i> = <i>Physalospora zeae</i> (anamorfo: <i>Macrophoma zeae</i>)
Cercosporiose (mancha foliar de <i>Cercospora</i>)	<i>Cercospora sorghi</i> = <i>C. sorghi</i> var. <i>maydis</i> , <i>C. zeae-maydis</i>
Podridão de raiz de	<i>Exserohilum pedicellatum</i> = <i>Helminthosporium</i>

Doença	Patógeno
Helminthosporium	pedicellatum (teleomorfo: Setosphaeria pedicellata)
Podridão de espiga de Hormodendrum (podridão de Cladosporium)	Cladosporium cladosporioides = Hormodendrum cladosporioides, C. herbarum (teleomorfo: Mycosphaerella tassiana)
Manchas foliares, menores	Alternaria alternata, Ascochyta maydis, A. tritici, A. zeicola, Bipolaris victoriae = Helminthosporium victoriae (teleomorfo: Cochliobolus victoriae), C. sativus (anamorfo: Bipolaris sorokiniana = H. sorokinianum = H. sativum), Epicoccum nigrum, Exserohilum prolatum = Drechslera prolata (teleomorfo: Setosphaeria prolata) Graphium penicillioides, Leptosphaeria maydis, Leptothyrium zeae, Ophiosphaerella herpotricha, (anamorfo: Scolecosporiella sp.), Paraphaeosphaeria michotii, Phoma sp., Septoria zeae, S. zeicola, S. zeina
Queima foliar do milho do norte (helminthosporiose, podridão da coroa, risca)	Setosphaeria turcica (anamorfo: Exserohilum turcicum = Helminthosporium turcicum)
Mancha foliar do milho do norte podridão de espigas de Helminthosporium (raça 1)	Cochliobolus carbonum (anamorfo: Bipolaris zeicola = Helminthosporium carbonum)
Podridão de espiga de Penicillium (olho azul, mofo azul)	Penicillium spp., P. chrysogenum, P. expansum, P. oxalicum
Podridão do colmo e de raiz de Phaeocystostroma	Phaeocystostroma ambiguum, = Phaeocystosporella zeae
Mancha foliar de Phaeosphaeria	Phaeosphaeria maydis = Sphaerulina maydis
Podridão de espiga de Physalospora (podridão de espiga de Botryosphaeria)	Botryosphaeria festucae = Physalospora zeicola (anamorfo: Diplodia frumenti)
Bainha foliar violeta	Bactérias e fungos hemiparasíticos
Podridão do colmo e de raiz de Pyrenochaeta	Phoma terrestris = Pyrenochaeta terrestris
Podridão de raiz de Pythium	Pythium spp., P. arrhenomanes, P. graminicola
Podridão do colmo de Pythium	Pythium aphanidermatum = P. butleri L.
Mancha avermelhada dos grãos (bolor de espiga, podridão das folhas e sementes)	Epicoccum nigrum
Podridão de espiga de Rhizoctonia (podridão de esclerócio)	Rhizoctonia zeae (teleomorfo: Waitea circinata)
Podridão de raiz e do colmo de Rhizoctonia	Rhizoctonia solani, Rhizoctonia zeae

Doença	Patógeno
Podridões de raiz (menores)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Cercospora sorghi</i> , <i>Dictochaeta fertilis</i> , <i>Fusarium acuminatum</i> (teleomorfo: <i>Gibberella acuminata</i>), <i>F. equiseti</i> (teleomorfo: <i>G. intricans</i>), <i>F. oxysporum</i> , <i>F. pallidroseum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>G. cyanogena</i> , (anamorfo: <i>F. sulphureum</i>), <i>Microdochium bolleyi</i> , <i>Mucor</i> sp., <i>Periconia circinata</i> , <i>Phytophthora cactorum</i> , <i>P. drechsleri</i> , <i>P. nicotianae</i> var. <i>parasitica</i> , <i>Rhizopus arrhizus</i>
Mancha foliar de Rostratum (doença foliar de Helminthosporium, podridão de espiga e podridão do colmo)	<i>Setosphaeria rostrata</i> , (anamorfo: <i>xserohilum rostratum</i> = <i>Helminthosporium rostratum</i>)
Míldio de Java	<i>Peronosclerospora maydis</i> = <i>Sclerospora maydis</i>
Míldio das Filipinas	<i>Peronosclerospora philippinensis</i> = <i>Sclerospora philippinensis</i>
Míldio de sorgo	<i>Peronosclerospora sorghi</i> = <i>Sclerospora sorghi</i>
Míldio espontâneo	<i>Peronosclerospora spontanea</i> = <i>Sclerospora spontanea</i>
Míldio de cana-de-açúcar	<i>Peronosclerospora sacchari</i> = <i>Sclerospora sacchari</i>
Podridão de espiga de Sclerotium (murcha do sul)	<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. (teleomorfo: <i>Athelia rolfsii</i>)
Podridão de sementes-queima de plântulas	<i>Bipolaris sorokiniana</i> , <i>B. zeicola</i> = <i>Helminthosporium carbonum</i> , <i>Diplodia maydis</i> , <i>Exserohilum pedicellatum</i> , <i>Exserohilum turcicum</i> = <i>Helminthosporium turcicum</i> , <i>Fusarium avenaceum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>Gibberella zeae</i> (anamorfo: <i>F. graminearum</i>), <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>R. zeae</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Spicaria</i> sp.
Mancha foliar de Selenophoma	<i>Selenophoma</i> sp.
Mal do pé	<i>Gaeumannomyces graminis</i>
Podridão da casca	<i>Myrothecium gramineum</i>
Bolor da silagem	<i>Monascus purpureus</i> , <i>M. ruber</i>
Carvão comum	<i>Ustilago zeae</i> = <i>U. maydis</i>
Carvão falso	<i>Ustilaginoidea virens</i>
Carvão do topo	<i>Sphacelotheca reiliana</i> = <i>Sporisorium holcisorghi</i>
Queima foliar e podridão do colmo de milho do sul	<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (anamorfo: <i>Bipolaris maydis</i> = <i>Helminthosporium maydis</i>)
Mancha foliar do Sul	<i>Stenocarpella macrospora</i> = <i>Diplodia macrospora</i>
Podridões do colmo (menores)	<i>Cercospora sorghi</i> , <i>Fusarium episphaeria</i> , <i>F. merismoides</i> , <i>F. oxysporum</i> Schlechtend, <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. solani</i> (teleomorfo: <i>Nectria haematococca</i>), <i>F. tricinctum</i> , <i>Mariannaea elegans</i> , <i>Mucor</i> sp., <i>Rhopoglyphus zeae</i> , <i>Spicaria</i>

Doença	Patógeno
	sp.
Podridões de órgãos de armazenamento	Aspergillus spp., Penicillium spp. und weitere Pilze
Mancha de piche	Phyllachora maydis
Podridão de espiga e podridão de raiz de Trichoderma	Trichoderma viride = T. lignorum teleomorfo: Hypocrea sp.
Podridão branca de espiga, podridão de raiz e do colmo	Stenocarpella maydis = Diplodia zeae
Queima foliar amarela	Ascochyta ischaemi, Phyllosticta maydis (teleomorfo: Mycosphaerella zeae-maydis)
Mancha foliar zonada	Gloeocercospora sorghi

Tabela 4: Doenças causadas por fungos e Oomycetes com classificação imprecisa considerando comportamento biotrófico, hemibiotrófico ou necrotrófico

Doença	Patógeno
Mancha foliar de Hyalothyridium	Hyalothyridium maydis
Murcha tardia	Cephalosporium maydis

Os seguintes são especialmente preferidos:

- 5 - Plasmodiophoromycota tal como Plasmodiophora brassicae (hérnia das crucíferas), Spongospora subterranea, Polymyxa graminis,
- Oomycota tal como Bremia lactucae (míldio de alface), Peronospora (míldio) em boca-de-dragão (P. antirrhini), cebola (P. destructor), espinafre (P. effusa), soja (P. manchurica), tabaco (“mofo azul”;
- 10 P. tabacina) alfafa e trevo (P. trifolium), Pseudoperonospora humuli (míldio de lúpulo), Plasmopara (míldio em videiras) (P. viticola) e girassol (P. halstedii), Sclerophthora macrospora (míldio em cereais e gramíneas), Pythium (por exemplo tombamento de beterraba Beta causado por P. debaryanum), Phytophthora infestans (requeima em batata e em tomate e os
- 15 semelhantes), Albugo spec.
- Ascomycota tal como Microdochium nivale (molde da neve de centeio e trigo), Fusarium graminearum, Fusarium culmorum (esterilidade parcial de espiga principalmente em trigo), Fusarium oxysporum (murcha de Fusarium de tomate), Blumeria graminis (oídio de cevada (f.sp. hordei) e trigo
- 20 (f.sp. tritici)), Erysiphe pisi (oídio de ervilha), Nectria galligena (Nectria

canker de árvores frutíferas), *Uncinula necator* (oídio de videira), *Pseudopeziza tracheiphila* (bronzamento das bagas de videira), *Claviceps purpurea* (ergotismo em, por exemplo, centeio e gramíneas), *Gaeumannomyces graminis* (mal-do-pé em trigo, centeio e outras gramíneas),

5 *Magnaporthe grisea*, *Pyrenophora graminea* (estria foliar de cevada), *Pyrenophora teres* (mancha reticular de cevada), *Pyrenophora tritici-repentis* (queima foliar de trigo), *Venturia inaequalis* (sarna da maçã), *Sclerotinia sclerotium* (podridão de esclerotínia, podridão do caule), *Pseudopeziza medicaginis* (mancha foliar de alfafa, trevo branco e vermelho).

10 - Basidiomycetes tal como *Typhula incarnata* (queima de molde cinzento da neve em cevada, centeio, trigo), *Ustilago maydis* (carvão coberto em milho), *Ustilago nuda* (carvão nú em cevada), *Ustilago tritici* (carvão nú em trigo, espelta), *Ustilago avenae* (carvão nú em aveia), *Rhizoctonia solani* (podridão de raiz de *rhizoctonia* de batata), *Sphacelotheca*

15 spp. (carvão do topo de sorgo), *Melampsora lini* (ferrugem de linhaça), *Puccinia graminis* (ferrugem do colmo de trigo, cevada, centeio, aveia), *Puccinia recondita* (ferrugem da folha em trigo), *Puccinia dispersa* (ferrugem marrom em centeio), *Puccinia hordei* (ferrugem da folha de cevada), *Puccinia coronata* (ferrugem da folha de aveia), *Puccinia striiformis* (ferrugem amarela

20 de trigo, cevada, centeio e um grande número de gramíneas), *Uromyces appendiculatus* (ferrugem marrom de feijão), *Sclerotium rolfsii* (podridões de raiz e do colmo de muitas plantas).

- Deuteromycetes (Fungos imperfeitos) tal como *Septoria* (*Stagonospora*) *nodorum* (septoriose das glumas) de trigo (*Septoria tritici*),

25 *Pseudocercospora herpotrichoides* (mancha ocular de trigo, cevada, centeio), *Rhynchosporium secalis* (mancha foliar em centeio e cevada), *Alternaria solani* (pinta preta de batata, tomate), *Phoma betae* (pé negro em beterraba Beta), *Cercospora beticola* (mancha foliar em beterraba Beta), *Alternaria brassicae* (mancha preta em colza, repolho e outras crucíferas),

Verticillium dahliae (murcha de verticílio), *Colletotrichum lindemuthianum* (antracnose do feijão), *Phoma lingam* (pé negro de repolho e colza), *Botrytis cinerea* (mofo cinzento de videira, morango, tomate, lúpulo e os semelhantes).

Especialmente preferidos são patógenos biotróficos, dentre os quais em particular patógenos heminecrotróficos, i.e. *Phakopsora pachyrhizi* e/ou aqueles patógenos que têm um mecanismo de infecção essencialmente similar como *Phakopsora pachyrhizi*, como descrito neste lugar. Particularmente preferidos são patógenos do grupo Uredinales (ferrugens), dentre os quais em particular os Melompsoraceae. Especialmente preferidos são *Phakopsora pachyrhizi* e/ou *Phakopsora meibomia*.

2. Patógenos bacterianos:

Os patógenos e as doenças associadas com eles que são mencionados em Tabela 5 podem ser mencionados como forma de exemplo mas não por limitação.

15 Tabela 5: Doenças bacterianas

Doença	Patógeno
Queima foliar e podridão bacteriana do colmo	<i>Pseudomonas avenae</i> subsp. <i>avenae</i>
Mancha foliar bacteriana	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>holcicola</i>
Podridão bacteriana do colmo	<i>Enterobacter dissolvens</i> = <i>Erwinia dissolvens</i>
Podridão bacteriana e podridão do topo	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>zeae</i>
Risca bacteriana	<i>Pseudomonas andropogonis</i>
Mancha chocolate	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i>
Murcha bacteriana de Goss e queima (sardas foliares e murcha)	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i> = <i>Corynebacterium michiganense</i> pv. <i>andnebraskense</i>
Mancha de Holcus	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>
Bainha foliar violeta	Bactérias hemiparasíticas
Podridão de semente-queima de plântulas	<i>Bacillus subtilis</i>
Murcha de Stewart (murcha bacteriana)	<i>Pantoea stewartii</i> = <i>Erwinia stewartii</i>
Enfezamento do milho (enfezamento pálido, enfezamento do milho, enfezamento do milho de Mesa Central ou Rio Grande)	<i>Spiroplasma kunkelii</i>

3. Patógenos virais:

“Patógenos virais” inclui todos os vírus de plantas tal como, por exemplo, vírus do mosaico de tabaco ou pepino, vírus da mancha anelar, vírus da necrose, vírus do mosaico do milho e os semelhantes.

Os patógenos e doenças associadas com eles que são mencionados em Tabela 6 podem ser mencionados como forma de exemplo, mas não por limitação.

Tabela 6: Doenças virais

Doença	Patógeno
Estriado do trigo americano (mosaico estriado do trigo)	Vírus do mosaico estriado do trigo americano (AWSMV)
Mosaico estriado da cevada	Vírus do mosaico estriado da cevada (BSMV)
Nanismo amarelo da cevada	Vírus do nanismo amarelo da cevada (BYDV)
Mosaico do capim bromo	Vírus do mosaico do capim bromo (BMV)
Mancha clorótica de cereal	Vírus da mancha clorótica de cereal (CCMV)
Bandeamento clorótico de nervura do milho (mosaico do milho brasileiro)	Vírus do bandeamento clorótico de nervura do milho (CCVBV)
Necrose letal do milho	Complexo viral de Vírus da mancha clorótica do milho (MCMV) e Vírus do mosaico do milho (MDMV) A ou B ou Vírus do mosaico estriado do trigo (WSMV)
Mosaico do pepino	Vírus do mosaico do pepino (CMV)
Listra clorótica de Cynodon	Vírus da listra clorótica de Cynodon (CCSV)
Mosaico de Johnsongrass	Vírus do mosaico de Johnsongrass (JGMV)
Enfezamento vermelho do milho	Associado a organismo tipo Mycoplasma (MLO)
Nanismo clorótico do milho	Vírus do nanismo clorótico do milho (MCDV)
Mancha clorótica do milho	Vírus da mancha clorótica do milho (MCMV)
Mosaico do nanismo do milho	Vírus do mosaico do nanismo do milho (MDMV) linhagens A, D, E e F
Mancha foliar do milho	Vírus da mancha foliar do milho (MLFV)
Mosaico em desenho do milho	Vírus do mosaico em desenho do milho (MLV)
Mosaico do milho (estria foliar de milho, nanismo estriado)	Vírus do mosaico do milho (MMV)
Enfezamento pálido e mosqueado do milho	Vírus do enfezamento pálido e mosqueado do milho
Mancha anelar clara de milho	Vírus da mancha anelar clara de milho (MPRV)
Estria grossa do milho	Vírus da estria grossa do milho (MRGV)
Risca do milho (doença do listrado fino)	Vírus da risca do milho (MRFV)
Vermelhão e estria vermelha do milho	Mollicute
Estria vermelha do milho	Vírus da estria vermelha do milho (MRSV)
Mancha anelar do milho	Vírus da mancha anelar do milho (MRMV)
Mal do rio IV do milho	Vírus do mal do rio cuarto (MRCV)
Nanismo rugoso do milho	Vírus do nanismo rugoso do milho (MRDV)

(nanismo rugoso)	(Vírus da doença do perfilhamento de cereal)
Nanismo esterilizante do milho	Vírus do nanismo esterilizante do milho (linhagens de vírus do estriado amarelo da cevada)
Listrado do milho	Vírus do listrado do milho (MSV)
Listrado do milho (listra clorótica do milho, folha branca do milho)	Vírus do listrado do milho
Enfezamento do milho	Vírus do enfezamento do milho
Aborto do pendão do milho	Vírus do aborto do pendão do milho (MTAV)
Enação das nervuras do milho	Vírus da enação das nervuras do milho (MVEV)
Orelha do wallaby do milho	Vírus da orelha do wallaby do milho (MWEV)
Mancha branca da folha do milho	Vírus da mancha branca da folha do milho
Mosaico das linhas brancas do milho	Vírus do mosaico das linhas brancas do milho (MWLMV)
Vermelhão do milheto	Vírus do vermelhão do milheto (MRLV)
Mosaico do norte de cereal	Vírus do mosaico do norte de cereal (NCMV)
Pseudo-roseta da aveia (zakuklivanie)	Vírus da pseudo-roseta da aveia
Nanismo esterilizante da aveia	Vírus do nanismo esterilizante da aveia (OSDV)
Nanismo do arroz	Vírus do nanismo do arroz (RBSDV)
Estriado do arroz	Vírus do estriado do arroz (RSV)
Mosaico do sorgo	Vírus do mosaico do sorgo (SrMV) (auch: vírus do mosaico da cana-de-açúcar (SCMV) Stämme H, I e M)
Doença de Fiji da cana de açúcar	Vírus da doença de Fiji da cana de açúcar (FDV)
Mosaico da cana-de-açúcar	Vírus do mosaico da cana-de-açúcar (SCMV) linhagens A, B, D, E, SC, BC, Sabi e MB (anteriormente MDMV-B)
Mosaico manchado do trigo	Vírus do mosaico manchado do trigo (WSMV)

4. Pestes animais

4. 1 Insetos patogênicos:

Os seguintes podem ser mencionados como forma de exemplo, mas não por limitação: insetos tal como, por exemplo, besouros, lagartas, piolhos ou ácaros.

Insetos preferidos são aqueles dos gêneros Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Mallophaga, Homoptera, Hemiptera, Orthoptera, Thysanoptera, Dermaptera, Isoptera, Anoplura, Siphonaptera, Trichoptera, etc. Especialmente preferidos são insetos coleópteros e lepidópteros tal como, por exemplo, a broca do milho europeu (ECB), *Diabrotica barberi*, *Diabrotica undecimpunctata*, *Diabrotica virgifera*, *Agrotis*

ipsilon, *Crymodes devastator*, *Feltia ducens*, *Agrotis gladiaria*, *Melanotus* spp., *Aeolus mellillus*, *Aeolus mancus*, *Horistonotus uhlerii*, *Sphenophorus maidis*, *Sphenophorus zae*, *Sphenophorus parvulus*, *Sphenophorus callosus*, *Phyllogphaga* spp., *Anuraphis maidiradicis*, *Delia platura*, *Colaspis brunnea*,
 5 *Stenolophus lecontei* e *Clivinia impressifrons*.

Outros exemplos são: besouro da folha da cevada (*Oulema melanopus*), cloropídeo (*Oscinella frit*), larva rosca (*Agrotis lineatus*) e afídeos (tal como, por exemplo, o pulgão da aveia *Rhopalosiphum padi*, o pulgão da amora preta *Sitobion avenae*).

10 4.2. Nematóides:

Os patógenos e as doenças associadas com eles mencionados em Tabela 7 podem ser mencionados como forma de exemplo, mas não por limitação.

Tabela 7: Nematóides parasíticos

Lesão	Nematóide patogênico
Broca	<i>Dolichodorus</i> spp., <i>D. heterocephalus</i>
Doença de nematóide de bulbos e caules; nematóide de bulbos	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
Nematóide cavernícola	<i>Radopholus similis</i>
Doença de nematóide de cisto	<i>Heterodera avenae</i> , <i>H. zae</i> , <i>Punctodera chalconensis</i>
Nematóide adaga	<i>Xiphinema</i> spp., <i>X. americanum</i> , <i>X. mediterraneum</i>
Galha falsa	<i>Nacobbus dorsalis</i>
Nematóide da flecha de Columbia	<i>Hoplolaimus columbus</i>
Nematóide da flecha	<i>Hoplolaimus</i> spp., <i>H. galeatus</i>
Lesão	<i>Pratylenchus</i> spp., <i>P. brachyurus</i> , <i>P. crenatus</i> , <i>P. hexincisus</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. penetrans</i> , <i>P. scribneri</i> , <i>P. thornei</i> , <i>P. zae</i>
Nematóide de estilete	<i>Longidorus</i> spp., <i>L. breviannulatus</i>
Nematóide anelado	<i>Criconemella</i> spp., <i>C. ornata</i>
Doença de galha	<i>Meloidogyne</i> spp., <i>M. chitwoodi</i> , <i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i>
Nematóide espiralado	<i>Helicotylenchus</i> spp.
Nematóide sting	<i>Belonolaimus</i> spp., <i>B. longicaudatus</i>
Nematóide das raízes em coto	<i>Paratrichodorus</i> spp., <i>P. christiei</i> , <i>P. minor</i> , <i>Quinisulcius acutus</i> , <i>Trichodorus</i> spp.
Enfezamento	<i>Tylenchorhynchus dubius</i>

G. pallida (nematóide de cisto em batata, tomate e outras Solanaceae), *Heterodera schachtii* (nematóide da beterraba em beterraba açucareira e forragem, colza, repolho e os semelhantes), *Heterodera avenae* (nematóide de cisto de aveia em aveia e outras espécies de cereal), *Ditylenchus dipsaci* (nematóide dos caules ou bulbos, nematóide dos caules de centeio, aveia, milho, trevo, tabaco, beterraba), *Anguina tritici* (nematóide dos grãos, nematóide da galha de trigo (espelta, centeio), *Meloidogyne hapla* (nematóide da galha de cenoura, pepino, alface, tomate, batata, beterraba açucareira, luzerna).

10 Exemplos de patógenos fúngicos ou virais preferidos para as variedades individuais são:

1. Cevada:

Patógenos fúngicos, bacterianos e virais: *Puccinia graminis* f.sp. *hordei*, vírus do nanismo amarelo da cevada (BYDV),

15 Insetos/nematóides patogênicos: *Ostrinia nubilalis* (broca do milho europeu); *Agrotis ipsilon*; *Schizaphis graminum*; *Blissus leucopterus leucopterus*; *Acrosternum hilare*; *Euschistus servus*; *Delia platura*; *Mayetiola destructor*; *Petrobia latens*.

2. Soja:

20 Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (*Phomopsis sojae*), *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *Sclerotium rolfsii*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina*, *Peronospora manshurica*,
25 *Colletotrichum dematium* (*Colletotrichum truncatum*), *Corynespora cassiicola*, *Septoria glycines*, *Phyllosticta sojicola*, *Alternaria alternata*, *Pseudomonas syringae* p.v. *glycinea*, *Xanthomonas campestris* p.v. *phaseoli*, *Microspora diffusa*, *Fusarium semitectum*, *Phialophora gregata*, vírus do mosaico da soja, ferrugem da soja, *Glomerella glycines*, vírus da mancha

anelar do fumo, vírus do listrado do tabaco, Phakopsorapachyrhizi, Pythium aphanidermatum, Pythium ultimum, Pythium debaryanum, vírus do vira cabeça do tomateiro, Heterodera glycines Fusarium solani; particularmente ferrugem da soja.

5 Insetos/nematóides patogênicos: Pseudoplusia includedens; Anticarsia gemmatilis; Plathypena scabra; Ostrinia nubilalis; Agrotis ipsilon; Spodoptera exigua; Heliothis virescens; Helicoverpa zea; Epilachna varivestis; Myzus persicae; Empoasca fabae; Acrosternum hilare; Melanoplus femurrubrum; Melanoplus differentialis; Hylemya platura; Sericothrips
10 variabilis; Thrips tabaci; Tetranychus turkestan; Tetranychus urticae;

3. Colza:

 Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: Albugo candida, Alternaria brassicae, Leptosphaeria maculans, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Mycosphaerella brassicicola, Pythium ultimum, Peronospora
15 parasitica, Fusarium roseum, Alternaria alternata.

4. Alfafa:

 Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: Clavibacter michiganese subsp. insidiosum, Pythium ultimum, Pythium irregulare, Pythium splendens, Pythium debaryanum, Pythium aphanidermatum,
20 Phytophthora megasperma, Peronospora trifoliorum, Phoma medicaginis var. medicaginis, Cercospora medicaginis, Pseudopeziza medicaginis, Leptotrochila medicaginis, Fusarium, Xanthomonas campestris p.v. alfalfae, Aphanomyces euteiches, Stemphylium herbarum, Stemphylium alfalfae.

5. Trigo:

25 Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: Pseudomonas syringae p.v. atrofaciens, Urocystis agropyri, Xanthomonas campestris p.v. translucens, Pseudomonas syringae p.v. syringae, Alternaria alternata, Cladosporium herbarum, Fusarium graminearum, Fusarium avenaceum, Fusarium culmorum, Ustilago tritici, Ascochyta tritici, Cephalosporium

gramineum, *Collotetrachum graminicola*, *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*, *Puccinia striiformis*, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Septoria* (*Stagonospora*) *nodorum*, *Septoria tritici*, *Septoria avenae*, *Pseudocercospora herpotrichoides*,
 5 *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia cerealis*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium ultimum*, *Bipolaris sorokiniana*, vírus do nanismo amarelo da cevada, vírus do mosaico do capim bromo, vírus do mosaico do trigo transmitido pelo solo, vírus do mosaico estriado do trigo, vírus do mosaico estriado fusiforme do trigo, vírus do
 10 mosaico estriado do trigo americano, *Claviceps purpurea*, *Tilletia tritici*, *Tilletia laevis*, *Ustilago tritici*, *Tilletia indica*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium arrhenomannes*, *Pythium graminicola*, *Pythium aphanidermatum*, vírus das planícies altas, vírus do mosaico estriado do trigo europeu, *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* (ferrugem do colmo do trigo), *Blumeria* (*Erysiphe*) *graminis* f.sp. *tritici* (oídio do trigo).

Insetos/nematóides patogênicos: *Pseudaletia unipunctata*; *Spodoptera frugiperda*; *Elasmopalpus lignosellus*; *Agrotis orthogonia*; *Elasmopalpus Zignosellus*; *Oulema melanopus*; *Hypera punctata*; *Diabrotica undecimpunctata howardi*; pulgão do trigo russo; *Schizaphis graminum*;
 20 *Macrosiphum avenae*; *Melanoplus femurrubrum*; *Melanoplus differentialis*; *Melanoplus sanguinipes*; *Mayetiola destructor*; *Sitodiplosis mosellana*; *Meromyza americana*; *Hylemya coarctata*; *Frankliniella fusca*; *Cephus cinctus*; *Aceria tulipae*;

6. irassol:

25 Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: *Plasmophora halstedii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, Amarelamento do Áster, *Septoria helianthi*, *Phomopsis helianthi*, *Alternaria helianthi*, *Alternaria zinniae*, *Botrytis cinerea*, *Phoma macdonaldii*, *Macrophomina phaseolina*, *Erysiphe cichoracearum*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus stolonifer*,

Puccinia helianthi, *Verticillium dahliae*, *Erwinia carotovorum* p.v. *Carotovora*, *Cephalosporium acremonium*, *Phytophthora cryptogea*, *Albugo tragopogonis*.

- Insetos/nematóides patogênicos: *Suleima helianthana*;
 5 *Homoeosoma electellum*; *Zygogramma exclamationis*; *Bothyrus gibbosus*;
Neolasioptera murtfeldtiana;

7. Milho:

- Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, *Erwinia stewartii*, *Fusarium moniliforme*,
 10 *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*), *Stenocarpella maydi* (*Diplodia maydis*), *Pythium irregulare*, *Pythium debaryanum*, *Pythium graminicola*,
Pythium splendens, *Pythium ultimum*, *Pythium aphanidermatum*, *Aspergillus flavus*, *Bipolaris maydis* 0, T (*Cochliobolus heterostrophus*),
Helminthosporium carbonum I, II & III (*Cochliobolus carbonum*),
 15 *Exserohilum turcicum* I, II & III, *Helminthosporium pedicellatum*,
Physoderma maydis, *Phyllosticta maydis*, *Kabatiella maydis*, *Cercospora sorghi*, *Ustilago maydis*, *Puccinia sorghi*, *Puccinia polysora*, *Macrophomina phaseolina*,
Penicillium oxalicum, *Nigrospora oryzae*, *Cladosporium herbarum*, *Curvularia lunata*, *Curvularia inaequalis*, *Curvularia pallescens*,
 20 *Clavibacter michiganese* subsp. *nebraskense*, *Trichoderma viride*, vírus do mosaico do milho A & B, vírus do mosaico estriado do trigo, vírus do nanismo clorótico do milho, *Claviceps sorghi*, *Pseudonomas avenae*, *Erwinia chrysanthemi* p.v. *Zea*, *Erwinia carotovora*, *Cornstunt spiroplasma*, *Diplodia macrospora*,
Sclerophthora macrospora, *Peronosclerospora sorghi*,
 25 *Peronosclerospora philippinesis*, *Peronosclerospora maydis*, *Peronosclerospora sacchari*, *Spacelotheca reiliana*, *Physopella zeae*,
Cephalosporium maydis, *Cephalosporium acremonium*, vírus da mancha clorótica do milho, vírus das planícies altas, vírus do mosaico do milho, vírus da risca do milho, vírus do listrado do milho (MSV), vírus do listrado do

milho, vírus do nanismo rugoso do milho.

Insetos/nematóides patogênicos: *Ostrinia nubilalis*; *Agrotis ipsilon*; *Helicoverpa zea*; *Spodoptera frugiperda*; *Diatraea grandiosella*; *Elasmopalpus lignosellus*; *Diatraea saccharalis*; *Diabrotica virgifera*; *Diabrotica longicornis barberi*; *Diabrotica undecimpunctata howardi*; *Melanotus* spp.; *Cyclocephala borealis*; *Cyclocephala immaculata*; *Popillia japonica*; *Chaetocnema pulicaria*; *Sphenophorus maidis*; *Rhopalosiphum maidis*; *Anuraphis maidiradicis*; *Blissus leucopterus leucopterus*; *Melanoplus femurrubrum*; *Melanoplus sanguinipes*; *Hylemya platura*; *Agromyza parvicornis*; *Anaphothrips obscurus*; *Solenopsis milesta*; *Tetranychus urticae*.

8. Sorgo:

Patógenos fúngicos, bacterianos ou virais: *Exserohilum turcicum*, *Colletotrichum graminicola* (*Glomerella graminicola*), *Cercospora sorghi*, *Gloeocercospora sorghi*, *Ascochyta sorghina*, *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Xanthomonas campestris* p.v. *holcicola*, *Pseudomonas andropogonis*, *Puccinia purpurea*, *Macrophomina phaseolina*, *Perconia circinata*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternate*, *Bipolaris sorghicola*, *Helminthosporium sorghicola*, *Curvularia lunata*, *Phoma insidiosa*, *Pseudomonas avenae* (*Pseudomonas alboprecipitans*), *Ramulispora sorghi*, *Ramulispora sorghicola*, *Phyllachara sacchari*, *Sporisorium reilianum* (*Sphacelotheca reiliana*), *Sphacelotheca cruenta*, *Sporisorium sorghi*, mosaico de cana-de-açúcar H, vírus do mosaico do milho A & B, *Claviceps sorghi*, *Rhizoctonia solani*, *Acremonium strictum*, *Sclerophthora macrospora*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora philippinensis*, *Sclerospora graminicola*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium graminicola*.

Insetos/nematóides patogênicos: *Chilo partellus*; *Spodoptera frugiperda*; *Helicoverpa zea*; *Elasmopalpus lignosellus*; *Feltia subterranea*; *Phyllophaga crinita*; *Eleodes*, *Conoderus* und *Aeolus* spp.; *Oulema*

melanopus; Chaetocnema pulicaria; Sphenophorus maidis; Rhopalosiphum maidis; Siphaflava; Blissus leucopterus leucopterus; Contarinia sorghicola; Tetranychus cinnabarinus; Tetranychus urticae.

9. Algodão:

5 Insetos/nematóides patogênicos: Heliothis virescens; Helicoverpa zea; Spodoptera exigua; Pectinophora gossypiella; Anthonomus grandis grandis; Aphis gossypii; Pseudatomoscelis seriatus; Trialeurodes abutilonea; Lygus lineolaris; Melanoplus femurrubrum; Melanoplus differentialis; Thrips tabaci (traça da cebola); Franklinkiella fusca; 10 Tetranychus cinnabarinus; Tetranychus urticae.

10. Arroz:

Insetos/nematóides patogênicos: Diatraea saccharalis; Spodoptera frugiperda; Helicoverpa zea; Colaspis brunnea; Lissorhoptrus oryzophilus; Sitophilus oryzae; Nephotettix nigropictus; Blissus leucopterus 15 leucopterus; Acrosternum hilare.

11. Colza:

Insetos/nematóides patogênicos: Brevicoryne brassicae; Phylotreta cruciferae; Mamestra conjugata; Plutella xylostella; Delia ssp..

Os processos e métodos de acordo com a invenção 20 primeiramente se referem por preferência à soja, partes vegetais, células e/ou sementes desta. Igualmente, os processos e métodos de acordo com a invenção se referem por preferência à ferrugem da soja.

Para os propósitos da invenção, "proteína B11" significa polipeptídeos que têm pelo menos uma seqüência com pelo menos 50%, 25 preferivelmente pelo menos 80%, especialmente preferivelmente pelo menos 90%, muito especialmente preferivelmente pelo menos 95% e especialmente preferivelmente 100% de homologia com um motivo consenso de B11 selecionado a partir do grupo consistindo de

a) H(L/I)KXVY

- b) AXGA(Y/F)XH
- c) NIGG
- d) P(V/P)(Y/F)E(E/Q)(R/Q)KR
- e) (E/Q)G(A/S)S(V/I)GPL
- f) DP(S/G)(L/I)(I/L)
- g) V(G/A)T(A/S)(L/I)AF(A/G)CF(S/T)
- h) YL(Y/F)LGG, preferivelmente EYLYLGG
- i) L(L/V)SS(G/W)L(S/T)(I/M)L(L/M)W
- j) DTGX(I/V)(I/V)E.

5
10 Especialmente preferido neste contexto é o motivo consenso de BI f) YL(Y/F)LGG, muito especialmente preferido é (EYLYLGG). Este motivo é característico para proteínas BII vegetais. Sequências com homologia para pelo menos 2 ou 3 destes motivos (a a j) são especialmente preferivelmente encontradas em uma proteína BII, muito especialmente preferivelmente pelo menos 4 ou 5, mais preferivelmente todos os motivos a a j. Ademais motivos de sequência típica de BII podem ser derivados pelo trabalhador versado sem dificuldade a partir do alinhamento de sequências de proteínas BII como mostrado em FIG. 1 ou 6.

20 Especialmente preferidas para o uso nos métodos descritos neste lugar são proteínas BII que são codificadas por um polipeptídeo que compreende pelo menos uma sequência selecionada a partir do grupo consistindo de:

- a) as sequências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46;
- 25 b) sequências com pelo menos 50%, mais preferivelmente 60%, 70%, 80%, 85% ou 90%, especialmente preferivelmente 95, 97 ou 99% ou mais identidade com uma das sequências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46; e
- c) sequências que compreendem pelo menos uma sequência

parcial de pelo menos 10 resíduos de aminoácidos contíguos de uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46,

d) e/ou que compreendem pelo menos uma seqüência parcial de pelo menos 20 resíduos de aminoácidos contíguos, onde a seqüência parcial tem 80%, preferivelmente 85% ou 90%, especialmente preferivelmente 95, 97 ou 99% ou mais identidade com a seqüência parcial correspondente de uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46.

Compreendidas em conformidade com a invenção pelo termo proteína BI são em particular mutações naturais ou artificiais dos polipeptídeos BI1 como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 38 e em particular 46, e polipeptídeos homólogos ou similares de outros organismos, preferivelmente plantas, que além disso têm propriedades essencialmente idênticas. Mutações compreendem substituições, adições, deleções, inversões ou inserções de um ou mais resíduos de aminoácidos.

Também são assim compreendidas formas de uso utilizando proteínas BI1 de organismos não vegetais tal como por exemplo humanos (GenBank Acc.-No.: P55061), rato (GenBank Acc.-No.: P55062) ou *Drosophila* (GenBank Acc.-No.: Q9VSH3). Motivos que são conservados entre proteínas BI1 vegetais e não vegetais podem ser prontamente identificados por alinhamentos de seqüências (cf. alinhamento em Bolduc N. et al., Planta 216, 377 (2003); Fig. 1 e 6).

Assim, a presente invenção também compreende por exemplo aqueles polipeptídeos que são obtidos por modificação de um polipeptídeo como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 38 e 46.

As seqüências de outras plantas que são homólogas às seqüências de BI1 descritas dentro do escopo da presente invenção podem ser encontradas por exemplo por

a) busca em banco de dados em bibliotecas de organismos cuja sequência genômica ou cDNA é conhecida por completo ou em parte, usando as sequências de BII fornecidas como sequência de busca, ou

b) triagem de bibliotecas gênicas ou bibliotecas de cDNA usando as sequências de BII fornecidas como sonda.

Triagem de bibliotecas de cDNA ou bibliotecas genômicas (por exemplo usando uma das sequências de ácidos nucleicos descritas sob SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 37 e 45 ou partes destas como sonda) é um método de identificar sequências homólogas ou similares ou idênticas, cujo método é conhecido pelo trabalhador versado. Neste contexto, as sondas derivadas das sequências de ácidos nucleicos como mostrado em SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 37 e 45 têm um comprimento de pelo menos 20 bp, preferivelmente pelo menos 50 bp, especialmente preferivelmente pelo menos 100 bp, muito especialmente preferivelmente pelo menos 200 bp, mais preferivelmente pelo menos 400 bp. Uma fita de DNA que é complementar às sequências descritas sob SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 37 e 45 também pode ser empregada para triar as bibliotecas.

Homologia entre duas sequências de ácidos nucleicos é compreendida como significando, no presente contexto, a identidade da sequência de ácidos nucleicos sobre em cada caso o comprimento inteiro da sequência que, por sua vez, é calculado por alinhamento com o auxílio do algoritmo de programa GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA; Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25, 3389 (1997)) estabelecendo os seguintes parâmetros:

Peso de lacuna: 50

Peso de comprimento: 3

Pareamento médio: 10

Mal pareamento médio: 0

Por exemplo uma sequência que tem pelo menos 80% de homologia com sequência SEQ ID NO: 1 no nível de ácido nucleico é

compreendida como significando uma seqüência que, mediante alinhamento com a seqüência SEQ ID NO: 1 pelo algoritmo de programa acima com o ajuste de parâmetros acima, tem pelo menos 80% de homologia.

Homologia entre dois polipeptídeos é compreendida como significando a identidade da seqüência de aminoácidos sobre em cada caso o comprimento inteiro da seqüência que é calculado por alinhamento com o auxílio do algoritmo de programa GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA), estabelecendo os seguintes parâmetros:

10	Peso de lacuna: 8	Peso de comprimento: 2
	Pareamento médio: 2,912	Mal pareamento médio:-2,003

Por exemplo uma seqüência que tem pelo menos 80% de homologia com seqüência SEQ ID NO: 2 no nível de proteína é compreendida como significando uma seqüência que, mediante comparação com a seqüência SEQ ID NO: 2 pelo algoritmo de programa acima com o ajuste de parâmetros acima, tem pelo menos 80% de homologia.

Proteínas BI1 também compreendem aqueles polipeptídeos que são codificados por seqüências de ácidos nucleicos que hibridizam em condições padrão com uma das seqüências de ácidos nucleicos de BI1 descritas por SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 37 e 45, a seqüência de ácidos nucleicos que é complementar a estas ou partes das acima, e que têm propriedades essencialmente idênticas que as proteínas descritas sob SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 38 e 46.

"Condições de hibridização padrão" é para ser entendido no amplo sentido e significa condições estridentes de hibridização ou ainda menos estridentes. Tais condições de hibridização são descritas, entre outros, por Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. et al., em Molecular Cloning (A Laboratory Manual), 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, pages 9.31-9.57) ou em Current Protocols in Molecular Biology, John

Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Por exemplo, as condições durante a etapa de lavagem podem ser selecionadas a partir do intervalo de condições delimitado por condições de baixa estringência (aproximadamente 2X SSC a 50°C) e condições de alta estringência (aproximadamente 0,2X SSC a 50°C, preferivelmente a 65°C) (20X SSC: 0,3M de citrato de sódio, 3M de NaCl, pH 7,0). Em adição, a temperatura durante a etapa de lavagem pode ser aumentada de condições de baixa estringência em temperatura ambiente, aproximadamente 22°C, para condições de maior estringência a aproximadamente 65°C. Ambos os parâmetros concentração salina e temperatura podem ser variados simultaneamente, ou ainda um dos dois parâmetros pode ser mantido constante enquanto apenas o outro é variado. Desnaturantes, por exemplo formamida ou SDS, também podem ser empregados durante a hibridização. Na presença de formamida a 50%, hibridização é preferivelmente efetuada a 42°C.

"Propriedades essenciais" significa, em relação a uma proteína BI, uma ou mais das seguintes propriedades:

a) Conferir ou aumentar a resistência a patógeno para pelo menos um patógeno enquanto aumentando a quantidade de proteína ou função de dita proteína BI em pelo menos um tecido da planta, preferivelmente pelo menos na epiderme da planta.

b) Não aparecimento de uma morte celular induzida espontaneamente quando aumentando a quantidade de proteína ou a função de dita proteína BI.

c) A propriedade de inibir significativamente a apoptose induzida por BAX no caso de cotransfecção transiente de Bax com dita proteína BI1, por exemplo em células HEK293. Métodos adequados foram descritos (Bolduc N. et al., Planta 216, 377 (2003)).

d) A presença de cinco a sete domínios transmembrana putativos dentro de dita proteína BI.

e) Localização preferencial em membranas celulares, em particular na membrana nuclear, na membrana ER e/ou na membrana tilacóide.

Neste contexto, a manifestação quantitativa de ditas propriedades de uma proteína BI1 pode desviar para cima ou para baixo em comparação com o valor obtido para a proteína BI1 como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 38 ou 46.

Para os propósitos da presente invenção, o termo “aumentar a quantidade ou função de proteína BI1” é para ser entendido no amplo sentido e pode ser baseado em diferentes mecanismos biológicos da célula.

"Quantidade de proteína" significa a quantidade de uma proteína BI1 no organismo, tecido, célula ou compartimento celular detalhado.

"Aumentar a quantidade de proteína" significa o aumento quantitativo da quantidade de uma proteína BI1 no organismo, tecido, célula ou compartimento celular detalhado, por exemplo por meio de um dos métodos descritos a seguir, em comparação com o tipo selvagem do mesmo gênero e espécie, ao qual este método não foi aplicado, mas nas condições de outra maneira idênticas (tal como, por exemplo, condições de cultura, idade das plantas e os semelhantes). Neste contexto, o aumento equivale a pelo menos 10%, preferivelmente pelo menos 30% ou pelo menos 50%, especialmente preferivelmente pelo menos 70% ou 100%, muito especialmente preferivelmente pelo menos 200% ou 500%, mais preferivelmente pelo menos 1000%. A quantidade de proteína pode ser determinada por meio de uma variedade de métodos com os quais o trabalhador versado é familiar. Exemplos que podem ser mencionados, mas não por limitação, são: o método do micro-biureto (Goa J., Scand J. Clin. Lab. Invest. 5, 218 (1953)), o método de Folin-Ciocalteu (Lowry O.H. et al., J Biol Chem 193, 265 (1951)) ou a medida da absorção de CBB G-250 (Bradford

M.M., *Analyt. Biochem.* 72, 248 (1976)). Além disso, uma quantificação pode ser realizada através de métodos imunológicos tal como, por exemplo, Western blot. A geração de anticorpos BI1 adequados e o procedimento de Western blots de BI1 é descrito (Bolduc N. et al., *FEBS Lett* 532, 111 (2002)). Uma quantificação indireta pode ser realizada através de Northern blots, onde, como uma regra, a quantidade de mRNA se correlaciona bem com a quantidade de proteína resultante. Métodos adequados foram descritos (Bolduc N. et al., *Planta* 216, 377 (2003); Matsumura H. et al., *Plant J.* 33, 425 (2003)).

"Função" preferivelmente significa a propriedade de uma proteína BI1 de reduzir a morte celular induzida espontaneamente e/ou a propriedade de inibir o efeito indutor de apoptose de Bax. Tais funções estão entre as propriedades essenciais de uma proteína BI1.

Dentro do escopo da presente invenção, "aumentar" a função significa, por exemplo, o aumento quantitativo do efeito inibidor na morte celular apoptótica induzida por Bax, que pode ser determinada quantitativamente por métodos com os quais o trabalhador versado é familiar (veja neste lugar acima). Neste contexto, o aumento equivale a pelo menos 10%, preferivelmente pelo menos 30% ou pelo menos 50%, especialmente preferivelmente pelo menos 70% ou 100%, muito especialmente preferivelmente pelo menos 200% ou 500%, mais preferivelmente pelo menos 1000%. Métodos de aumentar a função compreendem, além do método descrito acima de aumentar a quantidade de proteína (que, como uma regra, também aumenta a função) além disso – como forma de exemplo, mas não por limitação – em particular a introdução de mutações em uma proteína BI1 ou a inibição de um inibidor putativo de BI1, e os semelhantes.

A quantidade de proteína BI1 pode ser aumentada por exemplo, mas não por limitação, por um dos métodos seguintes:

a) expressão recombinante ou superexpressão de uma proteína

BI1 introduzindo um cassete de expressão recombinante compreendendo uma sequência de ácidos nucleicos codificando para uma proteína BI1 sob o controle de um promotor específico de tecido, onde dito promotor tem atividade preferivelmente essencialmente especificamente na epiderme foliar e/ou na atividade no mesófilo.

b) modificação (por exemplo substituição) das regiões regulares (por exemplo a região promotora) de um gene BI1 endógeno, por exemplo substituição por um promotor específico de tecido por meio de recombinação homóloga, onde dito promotor tem atividade preferivelmente essencialmente especificamente na epiderme foliar e/ou nenhuma atividade no mesófilo.

c) inserção de uma sequência de ácidos nucleicos, codificando para uma proteína BI1, no genoma vegetal depois de um promotor específico de tecido por meio de recombinação homóloga, onde dito promotor tem atividade preferivelmente essencialmente especificamente na epiderme foliar e/ou nenhuma atividade no mesófilo.

d) aumentar a expressão de uma proteína BI1 endógena introduzindo um fator de transcrição (por exemplo fator de transcrição artificial da classe das proteínas dedo de zinco) que é adequado para induzir a expressão de dita proteína BI. É preferida a introdução de um cassete de expressão recombinante compreendendo uma sequência de ácidos nucleicos codificando para dito fator de transcrição sob o controle de um promotor específico de tecido, onde dito promotor tem atividade preferivelmente essencialmente especificamente na epiderme foliar e/ou nenhuma atividade no mesófilo.

Para os propósitos da presente invenção, o termo "introduzir/introdução" geralmente compreende todos os métodos que são adequados para transferir o composto a ser introduzido, ou diretamente ou indiretamente, para uma planta ou para uma célula, compartimento, tecido,

órgão ou grão desta, ou gerá-lo nesta. Isto compreende métodos diretos e indiretos. A introdução pode levar a uma presença transiente de dito composto ou ainda a uma presença estável ou induzível. "Introduzir" compreende por exemplo métodos tais como transfecção, transdução ou transformação.

5 Nos cassetes de expressão recombinante que são empregadas dentro do escopo da presente invenção, uma molécula de ácido nucleico (por exemplo codificando para uma proteína BI1) está em ligação operável com pelo menos um promotor específico de tecido, onde dito promotor tem atividade preferivelmente essencialmente especificamente na epiderme foliar
10 e/ou nenhuma atividade no mesófilo, e onde o promotor é heterólogo em relação à seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa, i.e. não ocorre naturalmente em combinação com a mesma. Os cassetes de expressão recombinante de acordo com a invenção podem compreender opcionalmente elementos de controle genético adicionais.

15 Ligação operável deve ser entendida como significando, por exemplo, o arranjo seqüencial de dito promotor com a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa e, se apropriado, elementos reguladores adicionais tal como, por exemplo, um terminador de uma maneira tal que cada um dos elementos reguladores pode cumprir sua função quando a seqüência de ácidos
20 nucleicos é expressa recombinantemente. Para esta finalidade, ligação direta no sentido químico não é necessariamente requerida. Seqüências de controle genético tais como, por exemplo, seqüências acentuadoras, também podem exercer sua função na seqüência alvo a partir de posições que são mais afastadas, ou efetivamente a partir de outras moléculas de DNA. Arranjos
25 preferidos são aqueles nos quais a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa recombinantemente está posicionada depois da seqüência atuando como promotor, de forma que as duas seqüências são covalentemente ligadas uma a outra. A distância entre a seqüência de promotor e a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa recombinantemente é preferivelmente menor

do que 200 pares de bases, especialmente preferivelmente menor do que 100 pares de bases, muito especialmente preferivelmente menor do que 50 pares de bases. Ligação operável, e um cassete de expressão recombinante, podem ser geradas por meio de técnicas costumeiras de recombinação e clonagem como são descritas acima. Entretanto, seqüências adicionais que, por exemplo, atuam como um ligante com sítios de clivagem específicos para enzimas de restrição, ou como um peptídeo sinal, também podem ser posicionadas entre as duas seqüências. A inserção de seqüências também pode levar à expressão de proteínas de fusão.

Preferivelmente, o cassete de expressão, consistindo de uma ligação de promotor e seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa, pode existir em uma forma integrada em vetor e ser inserida em um genoma vegetal, por exemplo por transformação.

Entretanto, um cassete de expressão recombinante também denota aquelas construções nas quais o promotor está posicionado antes de um gene BII endógeno, por exemplo por meio de recombinação homóloga, assim controlando a expressão da proteína BII. Analogamente, a seqüência de ácidos nucleicos a ser expressa (por exemplo codificando para uma proteína BII) pode ser colocada depois de um promotor endógeno de uma maneira tal que o mesmo efeito é manifestado. Ambas as abordagens levam o cassetes de expressão recombinantes inventivas.

Por "promotor específico de tecido com atividade essencialmente especificamente na epiderme foliar" deve geralmente ser entendido, para os propósitos da presente invenção, aqueles promotores que são adequados para assegurar ou aumentar expressão recombinante de uma seqüência de ácidos nucleicos em pelo menos um tecido vegetal com a condição de que

a) a expressão é manifestada pelo menos na epiderme e preferivelmente não no mesófilo, ou permanece essencialmente não

modificada no mesófilo, onde tecidos outros do que os dois tecidos mencionados não são levados em consideração, e

b) a expressão recombinante sob o controle de dito promotor em dito tecido vegetal equivale a pelo menos cinco vezes, preferivelmente pelo menos dez vezes, especialmente preferivelmente pelo menos cem vezes, a expressão de uma planta comparativa.

Seqüências de controle genético além disso também abrangem as regiões 5' não traduzidas, íntrons ou região 3' não codificante genes, tal como, por exemplo, o íntron de actina-1, ou os íntrons de Adh1-S 1, 2 e 6 (referência geral: The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, New York (1994)). Foi demonstrado que elas podem desempenhar um papel signficante na regulação de expressão gênica. Assim, foi demonstrado que seqüências 5' não traduzidas podem acentuar a expressão transiente de genes heterólogos. Exemplos de acentuadores de tradução que podem ser mencionados são a seqüência líder 5' do vírus do mosaico do tabaco (Gallie et al., Nucl. Acids Res. 15, 8693 (1987)) e as semelhantes. Além disso, elas podem promover especificidade de tecido (Rouster J. et al., Plant J 15, 435 (1998)).

O cassete de expressão recombinante vantajosamente pode compreender uma ou mais daqueles que são conhecidos como seqüências acentuadoras, operavelmente ligada(s) ao promotor, o que torna possível uma expressão recombinante aumentada da seqüência de ácidos nucleicos. Seqüências vantajosas adicionais, tal como elementos reguladores adicionais ou terminadores, também podem ser inseridas na extremidade 3' das seqüências de ácidos nucleicos a serem expressas recombinantemente. Uma ou mais cópias das seqüências de ácidos nucleicos a serem expressas recombinantemente podem estar presentes na construção gênica.

Sinais de poliadenilação que são adequados como seqüências de controle são sinais de poliadenilação vegetais, preferivelmente aqueles que

correspondem essencialmente a sinais de poliadenilação de T-DNA de *Agrobacterium tumefaciens*, em particular o terminador OCS (octopina sintase) e o terminador NOS (nopalina sintase).

Seqüências de controle são além disso para serem entendidas como aquelas que tornam possível recombinação homóloga ou inserção no genoma de um organismo hospedeiro ou que permite remoção do genoma. No caso de recombinação homóloga, por exemplo o promotor natural de um gene BII1 pode ser trocado por um dos promotores tecido-específicos. Métodos tal como a tecnologia cre/lox permitem uma remoção tecido-específica, se apropriado induzível, do cassete de expressão recombinante do genoma do organismo hospedeiro (Sauer B., *Methods*. 14(4), 381 (1998)). Neste método, seqüências flanqueadoras específicas (seqüências lox), que posteriormente permitem remoção por meio de cre recombinase, são acopladas ao gene alvo.

Um cassete de expressão recombinante e os vetores derivados destas podem compreender elementos funcionais adicionais. O termo elemento funcional é para ser entendido no amplo sentido e se refere a todos aqueles elementos que têm um efeito na geração, amplificação ou função dos cassetes de expressão recombinante, vetores ou organismos recombinantes de acordo com a invenção. Os seguintes podem ser mencionados como forma de exemplo, mas não por limitação:

a) Marcadores de seleção que conferem uma resistência a um inibidor de metabolismo tal como 2-desoxiglicose-6-fosfato (Patente Internacional 98/45456), antibióticos ou biocidas, preferivelmente herbicidas, tal como, por exemplo, canamicina, G 418, bleomicina ou higromicina, ou ainda fosfinotricina e os semelhantes. Especialmente preferidos marcadores de seleção são aqueles que conferem resistência a herbicidas. Exemplos que podem ser mencionados são: seqüências de DNA que codificam para fosfinotricina acetiltransferases (PAT) e que inativam inibidores de glutamina sintase (genes *bar* e *pat*), genes de 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase

(genes de EPSP sintase), que conferem resistência a Glyphosat[®] (N-(fosfonometil)glicina), o gene *gox*, que codifica enzimas degradadoras de Glyphosat[®] (Glifosato oxidoreductase), o gene *deh* (codificando a desalogenase que inativa Dalapon[®]), e genes *bxn*, que codificam enzimas nitrilase degradadoras de bromoxinil, o gene *aasa*, que confere resistência ao antibiótico apectinomicina, o gene de estreptomicina fosfotransferase (SPT), que possibilita resistência a estreptomicina, o gene de neomicina fosfotransferase (NPTII), que confere resistência a canamicina ou geneticidina, o gene de higromicina fosfotransferase (HPT), que media resistência a higromicina, o gene de acetolactato sintase (ALS), que confere resistência a herbicidas de sulfoniluréia (por exemplo variantes mutadas de ALS com, por exemplo, a mutação S4 e/ou Hra), e o gene de acetolactato sintase (ALS), que confere resistência a herbicidas de imidazolinona.

b) Genes repórteres que codificam para proteínas prontamente quantificáveis e, através de sua cor ou atividade enzimática, tornam possível uma verificação da eficácia de transformação, o sítio de expressão ou o tempo de expressão. Muito especialmente preferidos neste contexto são genes codificando para proteínas repórteres (Schenborn E., Groskreutz D., Mol. Biotechnol. 13(1), 29 (1999)) tal como a proteína fluorescente verde (GFP) (Sheen et al., Plant Journal 8(5), 777 (1995); Haseloff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94(6), 2122 (1997); Reichel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(12), 5888 (1996); Tian et al., Plant Cell Rep. 16, 267 (1997); WO 97/41228; Chui W.L. et al., Curr. Biol. 6, 325 (1996); Leffel S.M. et al., Biotechniques 23(5), 912 (1997)), cloranfenicol transferase, uma luciferase (Ow et al., Science 234, 856 (1986); Millar et al., Plant Mol. Biol. Rep. 10, 324 (1992)), o gene de aequorina (Prasher et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 126(3), 1259 (1985)), β -galactosidase, gene de locus R (codificando uma proteína que regula a produção de pigmentos antocianina (coloração vermelha) em tecido vegetal e assim torna possível a análise direta

da atividade de promotor sem adição de substâncias auxiliares adicionais ou substratos cromogênicos; Dellaporta et al. in *Chromosome Structure and Function: Impact of New Concepts*, 18th Stadler Genetics Symposium, 11 (1988)), com β -glucuronidase sendo muito especialmente preferida (Jefferson et al., EMBO J. 6, 3901 (1987)).

c) Origens de replicação, que asseguram amplificação dos cassetes de expressão recombinante ou vetores de acordo com a invenção em, por exemplo, E. coli. Exemplos que podem ser mencionados são ORI (origem de replicação de DNA), a pBR322 ori ou a P15A ori (Sambrook et al., Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989).

d) Elementos que são necessários para transformação vegetal mediada por *Agrobacterium*, tal como, por exemplo, a borda direita ou esquerda do T-DNA ou a região vir.

Para selecionar células que passaram com sucesso por recombinação homóloga, ou ainda para selecionar células transformadas, é, como uma regra, necessário introduzir adicionalmente um marcador selecionável que confere resistência a um biocida (por exemplo herbicida), um inibidor de metabolismo tal como 2-desoxiglicose-6-fosfato (Patente Internacional 98/45456) ou um antibiótico para as células que passaram com sucesso por recombinação. O marcador de seleção permite a seleção das células transformadas a partir de umas não transformadas (McCormick et al., Plant Cell Reports 5, 81 (1986)).

A introdução de um cassete de expressão recombinante de acordo com a invenção em um organismo ou células, tecidos, órgãos, partes ou grãos deste (preferivelmente em plantas ou células vegetais, tecido, órgãos, partes ou grãos) pode ser efetuada vantajosamente usando vetores que compreendem os cassetes de expressão recombinante. O cassete de expressão recombinante pode ser introduzida no vetor (por exemplo um plasmídeo)

através de um sítio de clivagem de restrição adequado. O plasmídeo formado é primeiro introduzido em *E. coli*. *E. coli* corretamente transformadas são selecionadas, cultivadas, e o plasmídeo recombinante é obtido pelos métodos familiares ao trabalhador versado. Análise de restrição e sequenciamento podem servir para verificar a etapa de clonagem.

Exemplos de vetores podem ser plasmídeos, cosmídeos, fagos, vírus ou ainda agrobactérias. Em uma forma de realização vantajosa, o cassete de expressão é introduzida por meio de plasmídeos vetores. Vetores preferidos são aqueles que tornam possível integração estável do cassete de expressão recombinante no genoma hospedeiro.

A geração de um organismo transformado (ou de uma célula ou tecido transformado) requer introduzir o DNA, RNA ou proteína em questão na célula hospedeira relevante.

Diversos métodos estão disponíveis para este procedimento, que é referido como transformação (ou transdução ou transfecção) (Keown et al., *Methods Enzymol.* 185, 527 (1990); Jenes B. et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Vol. 1, Engineering and Utilization, edited by Kung S.D. and Wu R., Academic Press, p. 128-143 (1993), e em Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42, 205 (1991)).

Por exemplo, o DNA ou RNA pode ser introduzido diretamente por microinjeção ou por bombardeamento com micropartículas revestidas com DNA. Também, a célula pode ser permeabilizada quimicamente, por exemplo usando polietilenoglicol, de forma que DNA pode entrar na célula por difusão. O DNA também pode ser introduzido por fusão de protoplastos com outras unidades contendo DNA tais como minicélulas, células, lisossomos ou lipossomos. Outro método adequado de introduzir DNA é eletroporação, onde as células são permeabilizadas reversivelmente por um pulso elétrico. Métodos adequados foram descritos (por exemplo por Bilang et al., *Gene* 100, 247 (1991); Scheid et al., *Mol. Gen.*

Genet. 228, 104 (1991); Guerche et al., Plant Science 52, 111 (1987); Neuhauser et al., Theor. Appl. Genet. 75, 30 (1987); Klein et al., Nature 327, 70 (1987); Howell et al., Science 208, 1265 (1980); Horsch et al., Science 227, 1229 (1985); DeBlock et al., Plant Physiol 91, 694 (1989)).

5 Em plantas, os métodos descritos acima de transformar e regenerar plantas a partir de tecidos vegetais ou células vegetais são explorados para transformação transiente ou estável. Métodos adequados são especialmente transformação de protoplasto por absorção de DNA induzida por polietilenoglicol, o método biolístico com a pistola de genes, que é
10 conhecido como o método de bombardeamento de partículas, eletroporação, incubação de embriões secos em solução contendo DNA, e microinjeção.

Em adição a estas técnicas de transformação “diretas”, transformação também pode ser efetuada por infecção bacteriana por meio de *Agrobacterium tumefaciens* ou *Agrobacterium rhizogenes*. A Transformação
15 mediada por *Agrobacterium* é melhor adequada para células vegetais dicotiledôneas. Os métodos são descritos, por exemplo, por Horsch R.B. et al., Science 225, 1229 (1985).

Quando agrobactérias são usadas, o cassete de expressão deve ser integrada em plasmídeos específicos, ou em um vetor bifuncional ou
20 intermediário, ou em um vetor binário. Se um plasmídeo Ti ou Ri é para ser usado para a transformação, pelo menos a borda direita, mas na maioria dos casos a borda direita e esquerda, do T-DNA de plasmídeo Ti ou Ri está ligada à cassete de expressão a ser introduzida na forma de uma região flanqueadora.

Vetores binários são preferivelmente usados. Vetores binários
25 são capazes de replicação tanto em *E. coli* como em *Agrobacterium*. Como uma regra, eles compreendem um gene marcador de seleção e um ligante ou poliligante flanqueado pela sequência de borda direita e esquerda de T-DNA. Eles podem ser transferidos diretamente para *Agrobacterium* (Holsters et al., Mol. Gen. Genet. 163, 181 (1978)). O gene marcador de seleção permite uma

seleção de agrobactérias transformadas e é, por exemplo, o gene *nptII*, que confere resistência a canamicina. A agrobactéria que atua como organismo hospedeiro neste caso deve já conter um plasmídeo com a região *vir*. O último é requerido para transferir o T-DNA para a célula vegetal. Uma agrobactéria transformada desta maneira pode ser usada para transformar células vegetais. O uso de T-DNA para transformar células vegetais foi estudado e descrito intensivamente (Patente Européia 120 516; Hoekemain: The Binary Plant Vector System, Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblasterdam, Chapter V; An et al., EMBO J. 4, 277 (1985)). Vários vetores binários são conhecidos, alguns dos quais estão disponíveis comercialmente tais como, por exemplo, pBI101.2 ou pBIN19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12, 8711 (1984); Clontech Laboratories, Inc. USA). Promotores adicionais que estão disponíveis para expressão em plantas foram descritos (Rogers et al., Methods Enzymol. 153, 253 (1987); Schardl et al., Gene 61, 1(1987); Berger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 8402 (1989)).

Técnicas de transformação diretas são adequadas para qualquer organismo e tipo celular. O plasmídeo usado não precisa satisfazer quaisquer requerimentos particulares no caso da injeção ou eletroporação de DNA ou RNA em células vegetais. Plasmídeos simples tais como aqueles da série pUC podem ser usados. Se plantas completas estão para ser regeneradas a partir das células transformadas, é necessário para um gene marcador selecionável adicional estar localizado no plasmídeo.

Células estavelmente transformadas, i.e. aquelas que compreendem o DNA introduzido integrado no DNA da célula hospedeira, podem ser selecionadas a partir de células de não transformadas quando um marcador selecionável é parte do DNA introduzido. Exemplos de genes que podem atuar como marcadores são todos aqueles que são capazes de conferir resistência a antibióticos ou herbicidas (tal como canamicina, G 418, bleomicina, higromicina ou fosfinotricina) (veja acima). Células

transformadas que expressam tais genes marcadores são capazes de sobreviver na presença de concentrações de um antibiótico ou herbicida correspondente que mata um tipo selvagem não transformado. Exemplos de marcadores de seleção adequados são mencionados acima. Logo que uma célula vegetal transformada foi gerada, uma planta completa pode ser obtida usando métodos conhecidos pelo trabalhador versado. Material inicial neste contexto é, por exemplo, culturas de calo. O desenvolvimento de broto e raiz pode ser induzido de uma maneira conhecida nestas biomassas celulares até agora indiferenciadas. As plântulas obtidas podem ser cultivadas e reproduzidas. O trabalhador versado é familiar com métodos de regenerar partes vegetais de plantas inteiras começando de células vegetais. Por exemplo, métodos descritos por Fennell et al., *Plant Cell Rep.* 11, 567 (1992); Stoeger et al., *Plant Cell Rep.* 14, 273 (1995); Jahne et al., *Theor. Appl. Genet.* 89, 525 (1994) são usados neste contexto. As plantas obtidas podem ser reproduzidas e/ou hibridizadas de uma maneira costumeira. Duas ou mais gerações devem ser cultivadas a fim de assegurar que a integração genômica seja estável e hereditária.

O método de acordo com a invenção pode ser vantajosamente combinado com métodos adicionais que causam resistência a patógeno (por exemplo a insetos, fungos, bactérias, nematóides e os semelhantes), resistência a estresse ou outra melhoria das propriedades vegetais. Exemplos são mencionados, entre outros, por Dunwell J.M., *J. Exp. Bot.* 51 (Spec No), 487 (2000).

Em relação a, por exemplo uma seqüência de ácidos nucleicos, um cassete de expressão ou um vetor compreendendo dita seqüência de ácidos nucleicos ou um organismo transformado com dita seqüência de ácidos nucleicos, cassete de expressão ou vetor, o termo "recombinante" significa todas aquelas construções que são o resultado de métodos recombinantes e nos quais ou

a) a seqüência de ácidos nucleicos de BI1 ou

b) uma seqüência de controle genético, por exemplo promotor, que é operavelmente ligado com a seqüência de ácidos nucleicos de BI1, ou

c) (a) e (b)

5 não estão localizadas em seu ambiente genético natural ou foram modificadas por métodos recombinantes, um exemplo da modificação sendo uma substituição, adição, deleção, inversão ou inserção de um ou mais resíduos de nucleotídeos. Ambiente genético natural se refere ao locus cromossômico natural no organismo de origem, ou à presença em uma
10 biblioteca genômica. No caso de uma biblioteca genômica, o ambiente genético natural da seqüência de ácidos nucleicos é preferivelmente mantido, pelo menos em parte. O ambiente flanqueia a seqüência de ácidos nucleicos pelo menos em um lado e tem uma seqüência de pelo menos 50 bp, preferivelmente pelo menos 500 bp, especialmente preferivelmente pelo
15 menos 1000 bp, muito especialmente preferivelmente pelo menos 5000 bp, de comprimento. Um cassete de expressão naturalmente ocorrente - por exemplo a combinação naturalmente ocorrente do promotor de BI1 com o gene BI1 correspondente - se torna um cassete de expressão recombinante quando ela é modificada por métodos não naturais sintéticos “artificiais” tal como, por
20 exemplo, mutagenização. Tais métodos foram descritos (Patente Norte-Americana 5.565.350; Patente Internacional 00/15815; veja também acima).

A invenção também se refere a organismos recombinantes transformados com pelo menos uma das seqüências de ácidos nucleicos de acordo com a invenção, cassete de expressão de acordo com a invenção ou
25 vetor de acordo com a invenção, e a células, culturas celulares, tecidos, partes - tal como, por exemplo, folhas, raízes e os semelhantes no caso de organismos vegetais - ou material de propagação derivado de tais organismos. O termo organismo é para ser entendido no amplo sentido e se refere a organismos procarióticos e eucarióticos, preferivelmente bactérias, leveduras,

fungos, organismos animais e organismos vegetais. Organismos hospedeiros ou iniciais que são preferidos como organismos recombinantes são principalmente plantas em conformidade com a definição acima.

A invenção além disso se refere ao uso dos organismos recombinantes de acordo com a invenção e das células, culturas celulares, partes - tal como, por exemplo, raízes, folhas e os semelhantes no caso de organismos vegetais recombinantes – derivados destes, e a material de propagação recombinante tal como grãos ou frutos, para a produção de gêneros alimentícios ou rações, produtos farmacêuticos ou químicos finos.

Além disso é uma molécula de ácido nucleico que é antisentido para o ácido nucleico de acordo com a invenção, um anticorpo monoclonal que se liga especificamente ao polipeptídeo de acordo com a invenção, e um fungicida que compreende o ácido nucleico de acordo com a invenção, o vetor de acordo com a invenção, em particular um vetor infeccioso, por exemplo viral, de acordo com a invenção, o polipeptídeo de acordo com a invenção em uma forma que é adequada para aplicação a plantas, por exemplo em forma encapsulada ou em um organismo infeccioso que é preferivelmente adequado para transferir ácidos nucleicos ou para expressar genes em uma célula, tal como uma agrobactéria ou um vírus.

Em uma forma de realização, a invenção se refere ao uso de uma molécula de ácido nucleico codificando BI-1 ou de uma proteína BI-1 para a geração de uma planta resistente a patógeno, preferivelmente para a geração de uma planta resistente a fungo ou para a geração de um fungicida que causa isto, ou para controlar ou tratar plantas que são atacadas, ou sujeitas a serem atacadas, por patógenos.

Seqüências

1. SEQ ID NO: 1	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para uma proteína BI1 de cevada (<i>Hordeum vulgare</i>)
2. SEQ ID NO: 2	Seqüência de aminoácidos codificando para uma proteína BI1 de cevada (<i>Hordeum vulgare</i>).

3. SEQ ID NO: 3	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para uma proteína BI1 de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
4. SEQ ID NO: 4	Seqüência de aminoácidos codificando para uma proteína BI1 de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
5. SEQ ID NO: 5 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para uma proteína BI1 de tabaco.
6. SEQ ID NO: 6 :	Seqüência de aminoácidos codificando para uma proteína BI1 de tabaco.
7. SEQ ID NO: 7 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para uma proteína BI1 de arroz.
8. SEQ ID NO: 8:	Seqüência de aminoácidos codificando para uma proteína BI1 de arroz.
9. SEQ ID NO: 9 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para uma proteína BI1 de colza.
10. SEQ ID NO: 10 :	Seqüência de aminoácidos codificando para uma proteína BI1 de colza.
11. SEQ ID NO: 11 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de soja.
12. SEQ ID NO: 12:	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de soja.
13. SEQ ID NO: 13 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de soja.
14. SEQ ID NO: 14:	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de soja.
15. SEQ ID NO: 15 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de trigo.
16. SEQ ID NO: 16 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de trigo.
17. SEQ ID NO: 17 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
18. SEQ ID NO: 18 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
19. SEQ ID NO: 19 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de trigo.

20. SEQ ID NO: 20 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de trigo.
21. SEQ ID NO: 21 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
22. SEQ ID NO: 22 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
23. SEQ ID NO: 23 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
24. SEQ ID NO: 24 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
25. SEQ ID NO: 25 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de trigo.
26. SEQ ID NO: 26 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de trigo.
27. SEQ ID NO: 27 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
28. SEQ ID NO: 28 :	Seqüência de aminoácidos codificando para parte de uma proteína BI1 de milho.
29. SEQ ID NO: 29 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o promotor de patatina de batata.
30. SEQ ID NO: 30 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o promotor Germin 9f-3.8 de trigo.
31. SEQ ID NO: 31 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o promotor CAB-2 de Arabidopsis
32. SEQ ID NO: 32 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o promotor PPCZm1 de milho.
33. SEQ ID NO: 33 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o vetor de expressão recombinante pUbiBI-1
34. SEQ ID NO: 34 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o vetor de expressão recombinante pLo114UbiBI-1
35. SEQ ID NO: 35 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o vetor de expressão recombinante pOXoBI-1
36. SEQ ID NO: 36 :	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para o vetor de expressão recombinante pLo114OXoBI-1

37. SEQ ID NO: 37:	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para proteína BI-1 de trigo
38. SEQ ID NO: 38:	Seqüência de aminoácidos codificando para proteína BI-1 de trigo
39. SEQ ID NO: 39:	Seqüência de ácidos nucleicos para PEN1 (= ROR2) de cevada
40. SEQ ID NO: 40:	Seqüência de aminoácidos codificando para PEN1 (= ROR2) de cevada
41. SEQ ID NO: 41:	Seqüência de ácidos nucleicos para PEN1 (= ROR2) de Arabidopsis thaliana
42. SEQ ID NO: 42:	Seqüência de aminoácidos codificando para PEN1 (= ROR2) de Arabidopsis thaliana
43. SEQ ID NO: 43:	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para SNAP34 de cevada
44. SEQ ID NO: 44:	Seqüência de aminoácidos codificando para SNAP34 de cevada
45. SEQ ID NO: 45:	Seqüência de ácidos nucleicos codificando para BI-1 de soja
46. SEQ ID NO: 46:	Seqüência de aminoácidos codificando para BI-1 de soja
47. SEQ ID NO: 47:	Iniciador GFP 1 (veja neste lugar abaixo)
48. SEQ ID NO: 48:	Iniciador GFP 2 (veja neste lugar abaixo)

Figuras

1. Fig. 1a-d: Alinhamento de seqüências protéicas de várias proteínas BI-1 de plantas. AtBI-1: Arabidopsis; BnBI-1: Brassica napus (colza); GmBI2: Glycine max (soja; variante 1); GmBI3: Glycine max (soja; variante 2); HVBI-1: Hordeum vulgare (cevada); NtBI-1: Nicotiana tabacum (tabaco); OsBI-1: Oryza sativa (arroz); TaBI11: Triticum aestivum (trigo, variante 1); TaBI18: Triticum aestivum (trigo, variante 2); TaBI5 neu: Triticum aestivum (trigo, variante 3); ZmBI14: Zea mays (milho, variante 1); ZmBI16: Zea mays (milho, variante 2); ZmBI33: Zea mays (milho, variante 3); ZmBI8: Zea mays (milho, variante 4); Consenso: seqüência consenso derivada do alinhamento.

2. Fig. 2: Mapa de vetor para o vetor pUbiBI-1 (Ubi: promotor de ubiquitina; seqüência de ácidos nucleicos de BI-1 codificando para proteína BI1 de cevada; ter: terminador de transcrição). Também é indicada a localização dos sítios de clivagem de várias enzimas de restrição.

3. Fig. 3: Mapa de vetor para o vetor pLO114UbiBI-1

(Ubi: promotor de ubiquitina; seqüência de ácidos nucleicos de BI-1 codificando para proteína BI1 de cevada; ter: terminador de transcrição). Também é indicada a localização dos sítios de clivagem de várias enzimas de restrição.

4. Fig. 4: Mapa de vetor para o vetor pOxoBI-1 (Oxo: promotor TaGermin 9f-2.8; seqüência de ácidos nucleicos de BI-1 codificando para proteína BI1 de cevada; ter: terminador de transcrição). Também é indicada a localização dos sítios de clivagem de várias enzimas de restrição.

5. Fig. 5: Mapa de vetor para o vetor pLO114OxoBI-1 (Oxo: promotor TaGermin 9f-2.8; seqüência de ácidos nucleicos de BI-1 codificando para proteína BI1 de cevada; ter: terminador de transcrição). Também é indicada a localização dos sítios de clivagem de várias enzimas de restrição.

6. Fig. 6: Alinhamento das seqüências protéicas de proteínas BI-1 de cevada (*Hordeum vulgare*, GenBank Acc.-No.: CAC37797), arroz (*Oryza sativa*, GenBank Acc.-No.: Q9MBD8), *Arabidopsis thaliana* (GenBank Acc.-No.: Q9LD45) e humanos (*Homo sapiens*, GenBank Acc.-No.: AAB87479). Aminoácidos mostrados contra o fundo negro são idênticos em todas as espécies. Aminoácidos mostrados contra um fundo cinza são apenas idênticos em plantas. Barras indicam os sete domínios transmembrana previstos em HvBI-1.

7. Fig. 7: Diagrama da taxa de transformação como uma função das condições durante a transformação de folhas de soja (A) e folhas de cevada (B) com a pistola de genes.

Para a transformação, em cada caso 1,6 µg de DNA foram usados por bombardeamento; partículas de diâmetro 0,6 µm foram usadas para folhas de cevada e com diâmetro de 1 µm para soja. O número de células transformadas foi determinado 24 horas depois da transformação.

8. Fig. 8: Diagrama da taxa de penetração de *P. pachyrhizi* em células de cevada que foram transientemente transformadas com uma construção de superexpressão de BI-1 em comparação com o controle. Os dados foram baseados em três experimentos independentes. Como forma de controle, folhas de cevada foram transformadas com a construção de gene repórter pGY1-GFP e com o vetor branco. Nas células transformadas com BI-1, a taxa de penetração difere significativamente do WT ($P < 0,05$).

9. Fig. 9: PCR para detectar a construção de GFP-BI-1 nas linhagens transgênicas de cevada #6(1)E4L3P5 (T2), 1#6(2)E15L7P1 (T2), #6(2)E15L7P2 (T2) e #6(1)E8L1(T1) ('Golden Promise'). O PCR foi realizado com DNA genômico das plantas com os iniciadores específicos para GFP. Em plantas transgênicas positivas, o GFP inteiro, que é de 740 bp em tamanho é amplificado. O controle negativo usado foi DNA genômico do WT 'Golden Promise' (WT) ou água (NTC). O GFP de plasmídeo pGY1-GFP foi amplificado como o controle positivo (PC).

10. Fig. 10: Dados obtidos para a taxa de penetração de *P. pachyrhizi* em células de cevada que foram transientemente transformadas com uma construção de superexpressão de BI-1. Os dados mostrados são aqueles de Fig. 8 (veja também exemplos a seguir).

11. Fig. 11 A/B: Esporos contados e respostas celulares na interação entre ferrugem da soja e linhagens transgênicas de cevada com a construção de superexpressão de GFP-BI-1 #6(1)E4L3P5(T2), 1#6(2)E15L7P1(T2), #6(2)E15L7P2(T2) e #6(1)E8L1(T1) CV. 'Golden Promise'. O WT atuou como o controle. Folhas de plantas de 7 dias de idade foram inoculadas com ferrugem da soja, fixadas depois 24 horas e coradas com anilina azul para contagem.

12. Fig. 12: Fração relativa de formação de papilas e HR seguindo inoculação com *P. pachyrhizi* em folhas de cevada das linhagens

transgênicas (CV. 'Golden Promise') #6(1)E4L3P5 (T2), 1#6(2)E15L7P1 (T2), #6(2)E15L7P2 (T2) e #6(1)E8L1(T1) em comparação com o WT. As folhas primárias foram removidas sete dias depois de semear os grãos de cevada inoculados com *P. pachyrhizi* e avaliadas 24 horas depois da inoculação. Os dados mostrados são os valores médios do WT e das linhagens individuais. As barras de erro representam o desvio padrão. Um teste t de Student revela que a formação relativa de papilas e HR nas linhagens transgênicas são significativamente diferentes do WT, $P < 0,001$.

Exemplos

10 Métodos gerais:

A síntese química de oligonucleotídeos pode ser efetuada, por exemplo, da maneira conhecida usando o método de fosfoamidita (Voet, Voet, 2nd Edition, Wiley Press New York, pages 896-897). As etapas de clonagem realizadas para os propósitos da presente invenção tal como, por exemplo, clivagens de restrição, eletroforese em gel de agarose, purificação de fragmentos de DNA, transferência de ácidos nucleicos para membranas de nitrocelulose e náilon, ligação de fragmentos de DNA, transformação de células *E. coli*, culturas bacterianas, multiplicação de fagos e análise de sequência de DNA recombinante, são realizadas como descrito por Sambrook et al. Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989), ISBN 0-87969-309-6. O seqüenciamento de moléculas recombinantes de DNA é realizado com um seqüenciador de DNA de fluorescência a laser MWG-Licor seguindo o método de Sanger (Sanger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5463 (1977)).

25 Exemplo 1 : Inoculação com *P. pachyrhizi*

Material adequado de esporos (Uredósporos) do patógeno *Phakopsora pachyrhizi* foi obtido a partir de BASF Aktiengesellschaft. Para esta finalidade, esporos de plantas de soja que haviam sido inoculadas 2-3 semanas antes foram usados diretamente ou agitados em papel alumínio e

armazenados no escuro em temperatura ambiente em um dessecador (TROPAGel, Tropack, Lahnau).

Para preparar uma suspensão de esporos, os esporos foram lavados das folhas com Tween/H₂O (0,1%). Os esporos foram contados usando um hematocitômetro Thoma sob o microscópio luminoso. Para realizar a inoculação, as folhas foram fixadas em 1% de H₂O ágar usando um anel metálico. Vários métodos foram finalmente usados para a inoculação. Para a inoculação de líquido pulverizável, a suspensão de esporos foi colocada em um frasco de líquido pulverizável operado com ar pressurizado e foram distribuídos uniformemente nas plantas até que a superfície superior da folha tivesse sido cuidadosamente umedecida. Para obter uma maior densidade de esporos, folhas que haviam sido previamente pulverizadas com Tween/H₂O foram adicionalmente inoculadas a seco em uma 'coluna de precipitação'. Para esta finalidade, a coluna é colocada sobre as placas com as folhas umedecidas. Os esporos jovens de plantas de soja infectadas são enchidos na coluna através de uma aba de entrada. Como o resultado da corrente de ar, os esporos são fluidizados, primorosamente distribuídos, e caem nas folhas.

Para obter maiores densidades de inoculação sem agregação de esporos, as folhas foram, como uma alternativa, cobertas com uma camada de uma suspensão de esporos e, depois de 15 minutos, removidas da suspensão (método da alporquia). Depois deste período, adesão suficiente dos esporos precipitados já foi assegurada. As folhas inoculadas foram incubadas em uma câmara com em média 25°C e uma umidade atmosférica de 71,2%.

Para verificar o curso da infecção sob o microscópio, amostras foliares foram tomadas 0 horas após inoculação (hpi), 6 hpi, 24 hpi e 48 hpi, e coradas por diferentes métodos.

a) Coloração por Coomassie

Para realizar a coloração por Coomassie, o material foliar

infectado foi coletado e descolorido durante a noite em temperatura ambiente. Para o microscópio, o material foliar foi convertido em solução de Coomassie, e a solução foi enxaguada depois de 5 minutos usando um pouco de água. A amostra foi vista sob o microscópio imediatamente posteriormente.

b) Coloração por Calcofluor

Para preparar a solução corante de Calcofluor, 0,03% de Calcofluor White (Sigma-Aldrich) foi dissolvido em 50 mM de Tris/HCl pH 8,0 nd 0,01% de Tween 20. Para corar as estruturas fúngicas extracelulares, a folha infectada foi imersa na solução corante por 30 segundos e então lavada com água por 10 segundos. As estruturas fúngicas coradas fluorescem azul pálido sob excitação por UV.

c) Coloração por anilina azul

O material foliar foi transferido para tubos Falcon ou placas com solução descolorante e incubado durante a noite em RT. Posteriormente, a solução descolorante foi removida e as folhas foram lavadas 2× com água. Para a coloração, as folhas foram cobertas por 1,5-2 h em solução corante de anilina azul e subseqüentemente observadas diretamente sob o microscópio.

d) Coloração por aglutinina de germe de trigo Alexa Fluor 488 (coloração de WGA)

Para a coloração por WGA de *P. pachyrhizi*, folhas de cevada inoculadas foram colocadas em 10% (w/v) KOH por 30-45 minutos em RT. Folhas de soja inoculadas foram dissecadas em secções de 1 cm² e fervidas por 5 minutos em 10% (w/v) de KOH. Posteriormente, as folhas de cevada e as de soja foram lavadas 5 vezes por 3-5 minutos com 1 x de tampão PBS. Para a coloração, o material foliar foi colocado em solução corante de WGA e deixado infiltrar por 10 minutos sob uma pressão residual de 100 mbar. Posteriormente, o material foi observado diretamente sob o microscópio ou armazenado na solução corante a 4°C no escuro.

Exemplo 2 : Transformação biolística transiente de células vegetais

Para a superexpressão transiente do inibidor de Bax (para construções e outros métodos, veja patente WO 2004/081217) por transformação biolística, 30-100 mg de partículas de ouro foram pesados, ressuspensos em 1 ml de EtOH com 70% de força e agitados por 3-5 minutos. Depois de incubação por 1 hora em temperatura ambiente, peletização foi efetuada por centrifugação (1 min, 10 000 rpm, microcentrífuga Eppendorf). Posteriormente, as partículas foram lavadas 3× com água estéril e subsequente absorvidas em glicerol estéril a 50% (v/v) e armazenadas a 4°C. Quando 30 mg de partículas de ouro foram pesados, na solução continha aproximadamente 25 mg/ml de ouro. Antes de uso, as partículas foram agitadas de novo a fim de distribuí-las cuidadosamente e sonicadas por 15 segundos em um sonicador.

Em geral, partículas de ouro suficientes para pelo menos três bombardeamentos foram preparadas. Até a etapa de precipitação, a mistura foi agitada vigorosamente por alguns segundos em um agitador de tubos depois de cada etapa. Para a precipitação de DNA em partículas de ouro para 3 bombardeamentos, um 12,5 µl da solução de particular de ouro e glicerol agitada cuidadosamente foram removidos e tratados com o DNA desejado (pGY1-BI-1, pGY1-GFP, pGY1, veja Patente Internacional 2004/081217). 1,6 µg/µl de DNA foram empregados por bombardeamento no plasmídeo. Posteriormente, 12,5 µl de 2,5 M de solução de CaCl₂ e 5 µl de 0,1 M de solução de espermidina foram adicionados. A mistura foi agitada por 3 minutos, tratada com 70 µl de etanol a 70% (v/v) e cuidadosamente invertida. Depois de adição de 70 µl de etanol a 100%, a mistura foi misturada de novo invertendo cuidadosamente e incubada a -20°C por até 1 hora. As partículas foram peletizadas por centrifugação (1 min, 11000 rpm, microcentrífuga Eppendorf, Wesseling-Berzdorf), ressuspensas em 18 µl de etanol a 100% e distribuídas tão uniformemente quanto possível nos macrocarreadores (Bio-

Rad, Munich), que haviam sido previamente lavados com etanol a 100% e secos, dentro de um raio de aprox. 1 cm. Os macrocarreadores foram então incubados em temperatura ambiente até que todo o etanol tivesse evaporado.

5 A transformação biolística transiente de folhas de cevada e soja foi realizada usando o sistema Biolistic Particle Delivery System PDS-1000/He (Bio-Rad, Munich). O material usado para a transformação foi preferivelmente folhas de cevada de plantas de cevada de 7 dias de idade (cv. 'Hanna') ou as primeiras duas folhas (estágio de duas folhas) de plantas de soja (cv. 'Oxford'). As folhas a serem transformadas foram colocadas em 1%
10 (w/v) água-ágar e fixadas usando um anel metálico.

A fim de determinar a proporção ótima entre pressão aplicada e pressão residual na câmara de vácuo para a transformação, várias combinações de pressão/pressão residual foram testadas. Pressões residuais de 15-27 polegadas de Hg (50,8 KPa – 91,4 KPa) e discos de ruptura
15 classificados em 650-1800 psi (4,5- 12,4 MPa) foram usados. Depois do bombardeamento, a câmara foi ventilada, o carreador junto com as folhas foi removido, e as folhas foram incubadas por pelo menos 24 horas em temperatura ambiente antes de serem observadas sob o microscópio ou coradas.

20 Partículas de ouro foram usadas para a transformação balística das folhas. Emergiu que bombardeamento com partículas de 0,6 µm de diâmetro foi melhor adequado a cevada uma vez que ele causou menos lesão de tecido. No caso da transformação transiente de soja, a maior taxa de transformação foi obtida com as partículas de 1 µm.

25 Para que a transformação transiente seja bem sucedida, as proporções entre a pressão para acelerar as partículas, a pressão residual na câmara de vácuo e a distância entre amostra e partículas devem ser adaptadas uma a outra. Para atingir isto, várias condições foram testas para folhas de cevada e folhas de soja. No caso de soja, uma pressão de 900 psi (6,2 MPa)

com uma pressão residual na câmara de vácuo de 25 polegadas de Hg (0,08 MPa) e uma distância de amostra de 9 cm se mostrou bem sucedida (FIG. 7A). No caso de folhas de cevada, os maiores números de células foram obtidos com uma pressão de 1100 psi (7,58 MPa), uma pressão residual na câmara de vácuo de 25 polegadas de Hg (0,08 MPa) e uma distância entre folhas e partículas de 9 cm (FIG. 7B).

Para estudar os efeitos de BI-1 na interação entre *P. pachyrhizi* e cevada, foi feito uso da transformação biolística transiente. As folhas primárias de plantas de cevada (cv. 'Hanna') de sete dias de idade foram bombardeadas com construções de superexpressão de BI-1 (pGY1-BI-1, Hückelhoven R. et al., 2001). Estes plasmídeos contêm um promotor Camv 35S, que assegura expressão constitutiva dos genes. Uma construção de CaMV 35S/GFP como gene repórter foi bombardeada nas células junto com os plasmídeos de expressão (Schweizer P. et al., MPMI 12, 647 (1999)). O vetor branco pGY-1 junto com a construção GFP/gene repórter foi usado como o controle. A inoculação com *P. pachyrhizi* foi efetuada 24 horas depois da transformação por precipitação de uma suspensão de esporos (método da alporquia, $2-3 \times 10^4$ esporos/ml). Depois de incubação por 18 horas, as interações foram avaliadas sob o microscópio seguindo coloração pelo Calcofluor das estruturas fúngicas extracelulares. As estruturas contadas foram células que formam GFP que haviam sido penetradas pelo fungo e células que formam GFP que haviam sido atacadas pelo fungo, mas puderam se defender com sucesso contra ele (ou onde o fungo morreu antes de penetração). Em adição, o número total de células que formam GFP foi contado. Para realizar a avaliação, as taxas relativas de penetração foram calculadas com base no número total de células transformadas que interagiram com ferrugem da soja.

No controle, 53% das células transformadas que interagiram com *P. pachyrhizi* foram penetradas (média dos experimentos), enquanto

que apenas 37% das células transformadas com BI-1 foram penetradas (veja Tabela FIG. 10 e FIG. 8). De acordo com a avaliação, a resistência a penetração das células que haviam sido transformadas transientemente com BI-1 é significativamente aumentada sobre *P. pachyrhizi*. Observação sob o microscópio revelou que as células que formam BI-1 tiveram uma aparência marcadamente mais vital do que células que apenas expressaram GFP.

Exemplo 3 : Transformação estável de cevada, e detecção do transgene GFP:BI-1

Para estudar o efeito de BI-1 em interação de cevada com *Phakopsora pachyrhizi* em maior detalhe, plantas de cevada estavelmente transformadas que superexpressaram uma proteína de fusão GFP:BI-1 foram geradas. A transformação estável mediada por agrobactéria usada para este propósito é uma técnica que foi estabelecida por anos e cujos métodos já foram publicados em diversos artigos de revisão (Cheng Z. et al., *Plant Mol. Biol.* 60, 583 (2004); Taylor et al., *DNA & Cell Biology*. 21(12), 963 (2002); Rakoczy-Trojanowska, *Cellular & Molecular Biology Letters*. 7(3), 849 (2002); Grabowska A., *Acta Physiologiae Plantarum*. 26(4), 451 (2004); Chesnokov V., *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*. 1, 26 (2004). Mesmo a transformação de espécies monocotiledôneas tal como, por exemplo, cevada, que ainda era difícil nos anos 90, agora é uma técnica padrão (Travella S. et al., *Plant Cell Reports* 23(12), 780 (2005); Murray F. et al., *Plant Cell Reports* 22(6), 397 (2004)).

Uma vez que não era sabido das plantas transgênicas resultantes se elas eram linhagens homozigotas, a presença da construção de superexpressão teve que ser detectada primeiro. Para esta finalidade, o DNA genômico foi isolado de uma folha de todas as plantas. Isto foi feito usando o Kit DNeasy 96 Plant (Quiagen, Hilden; seguindo as instruções do fabricante).

A construção de superexpressão GFP-BI-1 foi detectada com iniciadores específicos para GFP por meio de PCR para a presença da

construção. A Phusion Hot Start (Finnzymes, Espoo) foi usada para a amplificação in-vitro de DNA por PCR (Mullis & Faloona, 1987).

Iniciador 1: 5'-ATGGTGAGCAAGGGCGAGGA-3' (SEQ ID NO: 47)

Iniciador 2: 5'TTGAACAACGATGTGCAAGACTCCTTGTACAGC

5 TCGTCCATGC-3') (SEQ ID NO: 48)

Abordagem de PCR para detectar o transgene GFP:BI-1:

	DMSO	0,6 µl
	Tampão (5x) (F-519 GC)	4 µl
	DNA	3 µl
10	Mistura de dNTP (10 mM cada)	0,4 µl
	Iniciador 1 (20 pmol)	1 µl
	Iniciador 2 (20 pmol)	1 µl
	Hot Start Phusion F 540L	0,2 µl
	Água	9,8 µl

15 O PCR foi realizado em um termociclador com tampa térmica auto-ajustável (Tgradient; Biometra, Göttingen).

Programa de PCR:

	1.	Desnaturação inicial	98°C	30seg
	2.	Desnaturação	98°C	10seg 35 ciclos de etapas 2-4
20	3.	Anelamento	58°C	30seg
	4.	Alongamento	72°C	30seg
	5.	Alongamento	72°C	5 min
	6.	Armazenamento	4°C	

25 Usando métodos padrão, o DNA foi separado e analisado por eletroforese em gel em um gel de agarose 1% ([w/v], INVITROGEN, Karlsruhe; em 1 x tampão TAE) (Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY) 1989).

Em um total de seis plantas das linhagens transgênicas

#6(2)E15L7P2 (T2) e #6(1)E8L1(T1), não foi possível detectar o fragmento de GFP de 740 bp, e assim a construção. Os dados destas plantas [plantas 5, 10 e 19 de linhagem #6(1)E8L1(T1) e planta 3, 11 e 12 de linhagem #6(2)E15L7P2 (T2)] portanto não foram levados em consideração nos cálculos que seguem (veja FIG. 9).

Exemplo 4: Interação de *P. pachyrhizi* com cevada transgênica superexpressando inibidor de Bax-1

Para verificar o efeito que aumenta resistência como o resultado de superexpressão transiente de BI-1, a interação entre *P. pachyrhizi* e plantas transgênicas de cevada cv. 'Golden Promise' (GP), que contêm uma construção de superexpressão de GFP-BI-1 foi estudada sob o microscópio em comparação com tipo selvagem (WT) desta variedade. Para gerar as plantas transgênicas, uma fusão GFP-BI-1 sob o controle do promotor constitutivo CaMV 35S foi usada, assim assegurando uma expressão suficiente da proteína.

Em cada caso 20 plantas de tipo selvagem e de quatro linhagens transgênicas #6(1)E4L3P5 (T2), #6(2)E15L7P1 (T2), #6(2)E15L7P2 (T2) e #6(1)E8L1(T1) foram cultivadas. Apenas 14 plantas germinaram a partir dos grãos de linhagem #6(2)E15L7P2 (T2). Uma vez que houve apenas uma quantidade limitada de grão disponível, os experimentos foram realizados com um número menor de plantas desta linhagem. Sete dias depois de semeadura, a folha primária foi removida, inoculada com o *P. pachyrhizi* com o auxílio da coluna de precipitação e fixada em solução descolorante 24 horas depois da inoculação. Depois de descoloração das folhas ter sido completa, elas foram coradas com anilina azul. Anilina azul se intercala na estrutura de calose e assim cora preferencialmente papilas onde calose se acumula e reticula com outras substâncias poliméricas. Células que, como o resultado de uma resposta de hipersensibilidade (HR), passaram por um processo que parece apoptose em células de mamíferos, também mostram

uma fluorescência de luz depois de marcação com anilina azul. O número de esporos, os esporos germinados com tubo germinativo que já haviam formado um apressório e, como resposta celular, os apressórios com as papilas que se situam abaixo, e a HR, foram contados nas folhas de cevada inoculadas.

5 Acumulações maiores de esporos onde uma alocação dos apressórios para os esporos não foi mais possível, não foram incluídas na conta. Tanto quanto possível, pelo menos 100 esporos com apressórios foram contados por folha (veja Tabela em FIG. 11).

A análise das folhas sob o microscópio revelou a formação de papilas, que foi freqüentemente marcadamente aumentada nas linhagens transgênicas. Em contraste, um aparecimento de HR nas células infectadas foi observado menos freqüentemente nas plantas transgênicas. Em tipo selvagem, uma média de 36% das células infectadas desenvolveu papilas como resposta de defesa, 45% das células responderam com uma HR. Em

15 contraste, a formação de papilas nas linhagens transgênicas equivaleu a entre 50 e 60%. A HR, que equivaleu a 16-26%, também foi marcadamente menos pronunciada em comparação com tipo selvagem (FIG. 12). De acordo com análise com o assim chamado “teste de Student” (Teste t), a formação relativa de papilas nas linhagens transgênicas é significativamente aumentada sobre o

20 WT e a HR é significativamente reduzida ($P < 0,001$). De acordo com as observações nestes experimentos, BI-1 previne a morte celular programada e promove formação de papilas, pelas células, como defesa alternativa.

Exemplo 5: Interação de *P. pachyrhizi* com soja transgênica superexpressando inibidor de Bax -1

25 Plantas de soja que superexpressam NtBI-1 foram geradas por métodos conhecidos propriamente ditos e foram inoculadas com *P. pachyrhizi* como descrito acima. As plantas de soja transformadas com NtBI-1 mostraram uma infecção por ferrugem da soja marcadamente reduzida em comparação com as plantas de soja tipo selvagem – a redução equivaleu em

média à região em torno de 30%.

Da mesma maneira, plantas de soja transformadas com NTBI-1 e com SELDA foram geradas e inoculadas com *P. pachyrhizi* como descrito acima. As plantas de soja transformadas com NtBI-1 + SELDA da mesma maneira mostraram uma infecção por ferrugem da soja marcadamente reduzida em comparação com as plantas de soja tipo selvagem - a redução aqui equivaleu em média à região em torno de 15%.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> BASF Plant Science GmbH

<120> Métodos para aumentar a resistência de plantas a fungos

<130> PF 58494

<150> EP 06122870.6

<141> 2006-10-24

<160> 48

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 744

<212> DNA

<213> Hordeum vulgare

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(741)

<223> codifica a proteína BI1

<400> 1

atg gac gcc ttc tac tcg acc tcg tcg gcg gcg gcg agc ggc tgg ggc	48
Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Ala Ala Ser Gly Trp Gly	
1 5 10 15	
cac gac tcc ctc aag aac ttc cgc cag atc tcc ccc gcc gtg cag tcc	96
His Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val Gln Ser	
20 25 30	
cac ctc aag ctc gtt tac ctg act cta tgc ttt gca ctg gcc tca tct	144
His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Phe Ala Leu Ala Ser Ser	
35 40 45	
gcc gtg ggt gct tac cta cac att gcc ctg aac atc gcc ggg atg ctg	192
Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu	
50 55 60	
aca atg ctc gct tgt gtc gga act atc gcc tgg atg ttc tcg gtg cca	240
Thr Met Leu Ala Cys Val Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro	
65 70 75 80	
gtc tat gag gag agg aag agg ttt ggg ctg ctg atg ggt gca gcc ctc	288
Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu	
85 90 95	
ctg gaa ggg gct tcg gtt gga cct ctg att gag ctt gcc ata gac ttt	336
Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe	
100 105 110	
gac cca agc atc ctc gtg aca ggg ttt gtc gga acc gcc atc gcc ttt	384
Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe	
115 120 125	
ggg tgc ttc tct ggc gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag tac ctg	432
Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu	
130 135 140	

tac ctc ggt ggc ctg ctc tcg tct ggc ctg tcg atc ctg ctc tgg ctg 480
 Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu
 145 150 155 160
 cag ttt gtc acg tcc atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc atg ttt 528
 Gln Phe Val Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe
 165 170 175
 gag gtt tac ttt ggc ctg ttg atc ttc ctg ggg tac atg gtg tac gac 576
 Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp
 180 185 190
 acg cag gag atc atc gag agg gcg cac cat ggc gac atg gac tac atc 624
 Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile
 195 200 205
 aag cac gcc ctc acc ctc ttc acc gac ttt gtt gcc gtc ctc gtc cga 672
 Lys His Ala Leu Thr Leu Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg
 210 215 220
 gtc ctc atc atc atg ctc aag aac gca ggc gac aag tcg gag gac aag 720
 Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys
 225 230 235 240
 aag aag agg aag agg ggg tcc tga 744
 Lys Lys Arg Lys Arg Gly Ser
 245

<210> 2
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Hordeum vulgare

<400> 2
 Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Ala Ala Ser Gly Trp Gly
 1 5 10 15
 His Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val Gln Ser
 20 25 30
 His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Phe Ala Leu Ala Ser Ser
 35 40 45
 Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu
 50 55 60
 Thr Met Leu Ala Cys Val Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro
 65 70 75 80
 Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu
 85 90 95
 Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe
 100 105 110
 Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe
 115 120 125
 Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu
 130 135 140
 Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu

145		150		155		160
Gln Phe Val Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe						
		165		170		175
Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp						
		180		185		190
Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile						
		195		200		205
Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg						
		210		215		220
Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys						
		225		230		235
Lys Lys Arg Lys Arg Gly Ser						
		245				

<210> 3
 <211> 1067
 <212> DNA
 <213> Arabidopsis thaliana

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(741)
 <223> codificar a proteína BI1

<400> 3	
atg gat gcg ttc tct tcc ttc ttc gat tct caa cct ggt agc aga agc	48
Met Asp Ala Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser	
1 5 10 15	
tgg agc tat gat tct ctt aaa aac ttc cgt cag att tct cca gcc gtt	96
Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val	
20 25 30	
cag aat cat ctt aaa cgg gtt tat ttg acc tta tgt tgt gct ctt gtg	144
Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val	
35 40 45	
gcg tct gcc ttt gga gct tac ctc cat gtg ctc tgg aat atc ggc ggt	192
Ala Ser Ala Phe Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly	
50 55 60	
att ctt aca acg att gga tgt att gga act atg att tgg ctc ctt tca	240
Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Ile Gly Thr Met Ile Trp Leu Leu Ser	
65 70 75 80	
tgt cct cct tat gaa cac caa aaa agg ctt tct ctt ctg ttt gtg tct	288
Cys Pro Pro Tyr Glu His Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Val Ser	
85 90 95	
gct gtt ctt gaa ggt gct tct gtt ggc ccc ttg atc aaa gtg gca att	336
Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Ile	
100 105 110	
gat gtt gac cca agc atc ctt atc act gca ttt gtt gga act gcg ata	384
Asp Val Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile	

115	120	125	
gcg ttt gtc tgt ttc tca gca gca gca atg tta gca aga cgc agg gag			432
Ala Phe Val Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu			
130	135	140	
tat ctc tac ctt gga gga ctg ctt tca tct ggc ttg tct atg cta atg			480
Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met			
145	150	155	160
tgg ctc cag ttt gcc tct tca atc ttt ggt ggc tct gca tct atc ttt			528
Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe			
165	170	175	
aag ttt gag ttg tac ttt gga ctt ttg atc ttt gtg gga tac atg gtg			576
Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val			
180	185	190	
gtg gac aca caa gag att ata gaa aag gca cac ctc ggt gac atg gac			624
Val Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp			
195	200	205	
tat gta aaa cat tcg ttg acc ctt ttc act gac ttt gta gct gtg ttt			672
Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe			
210	215	220	
gtt cgg att ctc atc ata atg ttg aag aac tca gca gat aaa gaa gag			720
Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Glu			
225	230	235	240
aag aag aag aaa agg aga aac tgaggggatg taaagtaaata ttaactttat			771
Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn			
245			
ggttggtatc gtgtgtggcc actttgaaga tattacttgt tagcactctc tattggtgac			831
cagacatggt tccactaaaa aggatctgct tgtttcactt ctgcacaagt accatcttca			891
gattgtaaat gactcgagtg ttgttcttct ttccataaac tttgttctt taagagtttg			951
gttctactga ttgcatctta ccaagctaag aataatgtag gaaaatgata atcctgttta			1011
aattttctaa aatgtgtgca ttccagaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa			1067
<210> 4			
<211> 247			
<212> PRT			
<213> Arabidopsis thaliana			
<400> 4			
Met Asp Ala Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser			
1	5	10	15
Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val			
20	25	30	
Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val			
35	40	45	
Ala Ser Ala Phe Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly			
50	55	60	

Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Ile Gly Thr Met Ile Trp Leu Leu Ser
 65 70 75 80
 Cys Pro Pro Tyr Glu His Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Val Ser
 85 90 95
 Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Ile
 100 105 110
 Asp Val Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile
 115 120 125
 Ala Phe Val Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu
 130 135 140
 Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met
 145 150 155 160
 Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe
 165 170 175
 Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val
 180 185 190
 Val Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp
 195 200 205
 Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe
 210 215 220
 Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Glu
 225 230 235 240
 Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn
 245

<210> 5

<211> 1160

<212> DNA

<213> *Nicotiana tabacum*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(747)

<223> codifica a proteína BI1

<400> 5

atg gag tct tgc aca tcg ttc ttc aat tca cag tcg gcg tcg tct cgc 48
 Met Glu Ser Cys Thr Ser Phe Phe Asn Ser Gln Ser Ala Ser Ser Arg
 1 5 10 15
 aat cgc tgg agt tac gat tct ctt aag aac ttc cgc cag atc tct ccc 96
 Asn Arg Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro
 20 25 30
 ttt gtt caa act cat ctc aaa aag gtc tac ctt tca tta tgt tgt gct 144
 Phe Val Gln Thr His Leu Lys Lys Val Tyr Leu Ser Leu Cys Cys Ala
 35 40 45
 tta gtt gct tcg gct gct gga gct tac ctt cac att ctt tgg aac att 192
 Leu Val Ala Ser Ala Ala Gly Ala Tyr Leu His Ile Leu Trp Asn Ile

50	55	60	
ggt ggc tta ctt acg aca ttg gga tgt gtg gga agc ata gtg tgg ctg Gly Gly Leu Leu Thr Thr Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Val Trp Leu 65 70 75 80			240
atg gcg aca cct ctg tat gaa gag caa aag agg ata gca ctt ctg atg Met Ala Thr Pro Leu Tyr Glu Glu Gln Lys Arg Ile Ala Leu Leu Met 85 90 95			288
gca gct gca ctg ttt aaa gga gca tct att ggt cca ctg att gaa ttg Ala Ala Ala Leu Phe Lys Gly Ala Ser Ile Gly Pro Leu Ile Glu Leu 100 105 110			336
gct att gac ttt gac cca agc att gtg atc ggt gct ttt gtt ggt tgt Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile Val Ile Gly Ala Phe Val Gly Cys 115 120 125			384
gct gtg gct ttt ggt tgc ttc tca gct gct gcc atg gtg gca agg cgc Ala Val Ala Phe Gly Cys Phe Ser Ala Ala Met Val Ala Arg Arg 130 135 140			432
aga gag tac ttg tat ctt gga ggt ctt ctt tca tct ggt ctc tct atc Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile 145 150 155 160			480
ctt ttc tgg ttg cac ttc gcg tcc tcc att ttt ggt ggt tct atg gcc Leu Phe Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Met Ala 165 170 175			528
ttg ttc aag ttc gag gtt tat ttt ggg ctc ttg gtg ttt gtg ggc tat Leu Phe Lys Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr 180 185 190			576
atc att ttt gac acc caa gat ata att gag aag gca cac ctt ggg gat Ile Ile Phe Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp 195 200 205			624
ttg gac tac gtg aag cat gct ctg acc ctc ttt aca gat ttt gtt gct Leu Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala 210 215 220			672
gtt ttt gtg cga ata tta atc ata atg ctg aag aat gca tcc gac aag Val Phe Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys 225 230 235 240			720
gaa gag aag aag aag aag agg aga aac taatgcataa gcggttatcc Glu Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn 245			767
aaagactctg taactctaga atctggcatt ttcttggttca taaacttctg tagaccttcg			827
acaagtatgt tgttaatagt ttggtaacgc ctcagattaa gctgcgaggc tctgttatgc			887
cgcattgcaa tgtggttatg gtggtacata gatgggttttg tttccgaagc ataccatcaa			947
ataacatgca tgtttacact atatcgataa cctacgagtg tactacttat ttctgctccc			1007
ttttgctgtg ttaggttggt catgattgta tagttgattt tccgttatgt tagaccatct			1067
tctttcttga cgtttaattt ctcatattga tgggagaaat gaaaattcac accgtcgccc			1127
caacttgttt aagactgagg cgcaattgta gtt			1160

<210> 6
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> *Nicotiana tabacum*

<400> 6
 Met Glu Ser Cys Thr Ser Phe Phe Asn Ser Gln Ser Ala Ser Ser Arg
 1 5 10 15
 Asn Arg Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro
 20 25 30
 Phe Val Gln Thr His Leu Lys Lys Val Tyr Leu Ser Leu Cys Cys Ala
 35 40 45
 Leu Val Ala Ser Ala Ala Gly Ala Tyr Leu His Ile Leu Trp Asn Ile
 50 55 60
 Gly Gly Leu Leu Thr Thr Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Val Trp Leu
 65 70 75 80
 Met Ala Thr Pro Leu Tyr Glu Glu Gln Lys Arg Ile Ala Leu Leu Met
 85 90 95
 Ala Ala Ala Leu Phe Lys Gly Ala Ser Ile Gly Pro Leu Ile Glu Leu
 100 105 110
 Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile Val Ile Gly Ala Phe Val Gly Cys
 115 120 125
 Ala Val Ala Phe Gly Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Val Ala Arg Arg
 130 135 140
 Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile
 145 150 155 160
 Leu Phe Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Met Ala
 165 170 175
 Leu Phe Lys Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr
 180 185 190
 Ile Ile Phe Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp
 195 200 205
 Leu Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala
 210 215 220
 Val Phe Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys
 225 230 235 240
 Glu Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn
 245

<210> 7
 <211> 1056
 <212> DNA
 <213> *Oryza sativa*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(747)
 <223> codifica a proteína BI1

<400> 7

atg gac gcc ttc tac tcg acc tcg tcg gcg tac gga gcg gcg gcg agc	48
Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Tyr Gly Ala Ala Ala Ser	
1 5 10 15	
ggc tgg ggc tac gac tcg ctg aag aac ttc cgc cag atc tcc ccc gcc	96
Gly Trp Gly Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala	
20 25 30	
gtc cag tcc cac ctc aag ctc gtt tac ctg aca cta tgc gtc gcc ctg	144
Val Gln Ser His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Val Ala Leu	
35 40 45	
gct gcg tcg gcg gtg ggc gca tac ctg cac gtc gcc ttg aac atc ggc	192
Ala Ala Ser Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Ala Leu Asn Ile Gly	
50 55 60	
ggg atg ttg act atg ctc ggg tgc gtg ggg agc atc gcc tgg ttg ttc	240
Gly Met Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe	
65 70 75 80	
tcg gtg cct gtc ttt gag gag agg aag agg ttt ggg att ctc ttg gcc	288
Ser Val Pro Val Phe Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Ile Leu Leu Ala	
85 90 95	
gct gcc ctg ctg gaa ggg gct tca gtt ggg cct ctg atc aag ctt gct	336
Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala	
100 105 110	
gta gac ttt gac tca agc att ctc gta aca gca ttt gtt gga act gcc	384
Val Asp Phe Asp Ser Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala	
115 120 125	
att gca ttt ggg tgc ttc act tgc gct gcc atc gtt gcc aag cgt agg	432
Ile Ala Phe Gly Cys Phe Thr Cys Ala Ala Ile Val Ala Lys Arg Arg	
130 135 140	
gag tac ctc tac ctt ggt ggt ttg ctc tct tct ggc ctc tcc atc ctg	480
Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu	
145 150 155 160	
ctc tgg ctg cag ttt gcc gca tcc atc ttt ggc cac tcc acc ggc agc	528
Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile Phe Gly His Ser Thr Gly Ser	
165 170 175	
ttc atg ttt gag gtt tac ttt ggc ctg ttg atc ttc ctg ggg tac atg	576
Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met	
180 185 190	
gtg tat gac acg cag gag atc atc gag agg gct cac cac ggt gac atg	624
Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met	
195 200 205	
gac tac atc aag cac gca ctc acc ctc ttc act gac ttc gtg gcc gtc	672
Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val	
210 215 220	
ctt gtc cgg atc ctc gtc atc atg ctc aag aac gcg tct gac aag tcg	720

Leu Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys Ser
 225 230 235 240

gag gag aag aag agg aag aag agg tct tgagagcttc tcttcccgt 767
 Glu Glu Lys Lys Arg Lys Lys Arg Ser
 245

ttgcacataa gaaaaaacca ccgcggctat tgcctctacg tattatgaca gagccgcact 827
 tcaactgggt tttatggtga atacaagttc ttttgcattt tggtgatacg gtgtgaatct 887
 tctcaggttt gtcgtcgtag tagctttgca aatactagca tgctacatga cacggatctt 947
 tctgtaatgg tggtcgcgtt gatcgaaacg tgaaaacaca tcttcatttg cgactaattt 1007
 gtttgccttt tggtgattga tgatgatcct ttccccaaaa aaaaaaaaaa 1056

<210> 8
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

<400> 8

Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Tyr Gly Ala Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Gly Trp Gly Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala
 20 25 30
 Val Gln Ser His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Val Ala Leu
 35 40 45
 Ala Ala Ser Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Ala Leu Asn Ile Gly
 50 55 60
 Gly Met Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe
 65 70 75 80
 Ser Val Pro Val Phe Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Ile Leu Leu Ala
 85 90 95
 Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala
 100 105 110
 Val Asp Phe Asp Ser Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala
 115 120 125
 Ile Ala Phe Gly Cys Phe Thr Cys Ala Ala Ile Val Ala Lys Arg Arg
 130 135 140
 Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu
 145 150 155 160
 Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile Phe Gly His Ser Thr Gly Ser
 165 170 175
 Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met
 180 185 190
 Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met
 195 200 205

Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val
 210 215 220

Leu Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys Ser
 225 230 235 240

Glu Glu Lys Lys Arg Lys Lys Arg Ser
 245

<210> 9

<211> 973

<212> DNA

<213> Brassica napus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(741)

<223> codifica a proteína BI1

<400> 9

atg gat tca ttc tcg tcc ttc ttc gat tct caa cct ggt agc aga agc	48
Met Asp Ser Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser	
1 5 10 15	
tgg agc tat gat tct ctc aaa aac ctc cgt cag att tct ccc tcc gtc	96
Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Leu Arg Gln Ile Ser Pro Ser Val	
20 25 30	
cag aat cat ctc aag agg gtt tat ctc act ctg tgt tgt gct ctc gtt	144
Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val	
35 40 45	
gcg tct gcg ttt gga gct tac ctc cac gtg ctc tgg aac ata ggt ggt	192
Ala Ser Ala Phe Gly Ala Ser Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly	
50 55 60	
att ctc act acc att gga tgc ttt gga agc atg att tgg ctg ctc tcc	240
Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Phe Gly Ser Met Ile Trp Leu Leu Ser	
65 70 75 80	
tgt cct cct tat gaa caa caa aag agg ctt tcc ctt ctg ttt ctg tct	288
Cys Pro Pro Tyr Glu Gln Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Leu Ser	
85 90 95	
gct gtt ctc gaa ggt gct tca gtt ggt ccc ttg atc aaa gtg gca gtt	336
Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Val	
100 105 110	
gat ttt gac cca agc atc ctc atc act gcg ttt gtc gga act gcg ata	384
Asp Phe Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile	
115 120 125	
gcc ttt atc tgt ttc tca ggg gca gcg atg ttg gca aga cgc aga gag	432
Ala Phe Ile Cys Phe Ser Gly Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu	
130 135 140	
tac ctc tac ctc gga gga ctg ctt tca tct ggc ttg tcc atg ctt atg	480
Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met	
145 150 155 160	
tgg ctt cag ttt gcc tct tcc atc ttt ggt ggc tct gca tcc atc ttt	528

Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe
 165 170 175
 aag ttt gag ctc tac ttt gga ctc ttg atc ttt gtg gga tac atg gtg 576
 Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val
 180 185 190
 gtg gac act caa gat att ata gag aag gcc cac ctc ggt gac atg gat 624
 Val Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp
 195 200 205
 tac gtg aaa cat tcg ttg acc ctt ttc acc gat ttt gta gct gtg ttt 672
 Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe
 210 215 220
 gtt cgt gtt ctc atc att atg ctg aag aac tcg gca gat aaa gaa gat 720
 Val Arg Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Asp
 225 230 235 240
 aaa aag aag agg agg agg aac tgagactaaa aagtgagaaa gaaagctaaa 771
 Lys Lys Lys Arg Arg Arg Asn
 245
 tagagtgggt gttatgtgtg tttcaaaaaa taaaaaagag tgggtgttat aagtacagac 831
 atgatagcgt tgggtgttttt tacttgtttg gaacagtttt ggtaacaaca cacgttacgt 891
 atttgtgtat tcctcttagt gactccagat tgtgaatgga tcagtatctt gaaactgtgt 951
 tgaaaattat cagttgggag ct 973

<210> 10
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Brassica napus

<400> 10
 Met Asp Ser Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser
 1 5 10 15
 Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Leu Arg Gln Ile Ser Pro Ser Val
 20 25 30
 Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val
 35 40 45
 Ala Ser Ala Phe Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly
 50 55 60
 Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Phe Gly Ser Met Ile Trp Leu Leu Ser
 65 70 75 80
 Cys Pro Pro Tyr Glu Gln Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Leu Ser
 85 90 95
 Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Val
 100 105 110
 Asp Phe Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile
 115 120 125
 Ala Phe Ile Cys Phe Ser Gly Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu

130		135		140
Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met				
145		150	155	160
Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe				
	165		170	175
Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val				
	180		185	190
Val Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp				
	195		200	205
Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe				
	210		215	220
Val Arg Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Asp				
	225		230	235
Lys Lys Lys Arg Arg Arg Asn				
	245			

<210> 11

<211> 747

<212> DNA

<213> Glycine max

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(744)

<223> codifica a proteina BI1

<400> 11

cga ttg caa gca atg gac gcc ttc aat tcc ttc ttc gat tca aga aac	48
Arg Leu Gln Ala Met Asp Ala Phe Asn Ser Phe Phe Asp Ser Arg Asn	
1 5 10 15	
cga tgg aat tac gat act ctc aaa aac ttc cgt cag att tct ccg gtc	96
Arg Trp Asn Tyr Asp Thr Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Val	
20 25 30	
gtg cag aat cac ctg aag cag gtt tat ttt act ctg tgt ttt gcc gtg	144
Val Gln Asn His Leu Lys Gln Val Tyr Phe Thr Leu Cys Phe Ala Val	
35 40 45	
gtt gct gcg gct gtc ggg gct tac ctt cat gtc ctc ttg aac att ggg	192
Val Ala Ala Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Leu Asn Ile Gly	
50 55 60	
ggg ttt ctt act aca gtg gca tgc atg gga agc agc ttt tgg tta ctc	240
Gly Phe Leu Thr Thr Val Ala Cys Met Gly Ser Ser Phe Trp Leu Leu	
65 70 75 80	
tcc aca cct cct ttt gaa gag agg aag agg gtg act ttg ttg atg gcc	288
Ser Thr Pro Pro Phe Glu Glu Arg Lys Arg Val Thr Leu Leu Met Ala	
85 90 95	
gca tca ctg ttt cag ggt tcc tct att gga ccc ttg att gat ttg gct	336
Ala Ser Leu Phe Gln Gly Ser Ser Ile Gly Pro Leu Ile Asp Leu Ala	
100 105 110	

```

att cat atc gat cca agc ctt atc ttt agt gca ttt gtg gga aca gcc 384
Ile His Ile Asp Pro Ser Leu Ile Phe Ser Ala Phe Val Gly Thr Ala
      115                120                125

ttg gcc ttt gca tgc ttc tca gga gca gct ttg gtt gct agg cgt agg 432
Leu Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Leu Val Ala Arg Arg Arg
      130                135                140

gag tac ctg tac ctt ggt ggc ttg gtt tct tct gga ttg tcc atc ctt 480
Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Val Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu
145                150                155                160

ctc tgg ttg cac ttt gct tct tcc atc ttt gga ggc tca aca gct ctc 528
Leu Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Thr Ala Leu
      165                170                175

ttt aag ttt gag ttg tac ttt ggg ctt ttg gtg ttt gta ggt tac att 576
Phe Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr Ile
      180                185                190

gta gta gac acc caa gaa ata gtt gag agg gca cac ttg ggc gat ctg 624
Val Val Asp Thr Gln Glu Ile Val Glu Arg Ala His Leu Gly Asp Leu
      195                200                205

gac tat gta aag cat gcc ttg acc ttg ttt acc gat ttg gtc gca gtt 672
Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Leu Val Ala Val
      210                215                220

ttt gtc cgg att ctt gtt att atg ttg aag aat tcg act gag agg aat 720
Phe Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn Ser Thr Glu Arg Asn
225                230                235                240

gag aag aaa aag aag aga aga gat tga 747
Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asp
      245

```

```

<210> 12
<211> 248
<212> PRT
<213> Glycine max

```

```

<400> 12
Arg Leu Gln Ala Met Asp Ala Phe Asn Ser Phe Phe Asp Ser Arg Asn
 1                5                10                15

Arg Trp Asn Tyr Asp Thr Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Val
      20                25                30

Val Gln Asn His Leu Lys Gln Val Tyr Phe Thr Leu Cys Phe Ala Val
      35                40                45

Val Ala Ala Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Leu Asn Ile Gly
      50                55                60

Gly Phe Leu Thr Thr Val Ala Cys Met Gly Ser Ser Phe Trp Leu Leu
      65                70                75                80

Ser Thr Pro Pro Phe Glu Glu Arg Lys Arg Val Thr Leu Leu Met Ala
      85                90                95

Ala Ser Leu Phe Gln Gly Ser Ser Ile Gly Pro Leu Ile Asp Leu Ala

```

100					105					110					
Ile	His	Ile	Asp	Pro	Ser	Leu	Ile	Phe	Ser	Ala	Phe	Val	Gly	Thr	Ala
		115					120					125			
Leu	Ala	Phe	Ala	Cys	Phe	Ser	Gly	Ala	Ala	Leu	Val	Ala	Arg	Arg	Arg
	130					135					140				
Glu	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Gly	Gly	Leu	Val	Ser	Ser	Gly	Leu	Ser	Ile	Leu
145					150				155					160	
Leu	Trp	Leu	His	Phe	Ala	Ser	Ser	Ile	Phe	Gly	Gly	Ser	Thr	Ala	Leu
				165					170					175	
Phe	Lys	Phe	Glu	Leu	Tyr	Phe	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Val	Gly	Tyr	Ile
			180					185					190		
Val	Val	Asp	Thr	Gln	Glu	Ile	Val	Glu	Arg	Ala	His	Leu	Gly	Asp	Leu
		195					200					205			
Asp	Tyr	Val	Lys	His	Ala	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Asp	Leu	Val	Ala	Val
	210					215					220				
Phe	Val	Arg	Ile	Leu	Val	Ile	Met	Leu	Lys	Asn	Ser	Thr	Glu	Arg	Asn
225				230					235						240
Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Arg	Arg	Asp								
				245											

<210> 13

<211> 1510

<212> DNA

<213> Glycine max

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(777)

<223> codifica a proteína BI-1

<400> 13

atc	acg	aaa	act	ata	cga	ttc	gat	tcc	ttg	ttt	tcg	atg	gac	act	ttc	48
Ile	Thr	Lys	Thr	Ile	Arg	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Thr	Phe	
1					5				10				15			
ttc	aag	tcc	cca	tct	tct	tct	tct	tcg	aga	agc	cgc	tgg	agt	tac	gat	96
Phe	Lys	Ser	Pro	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Arg	Trp	Ser	Tyr	Asp	
			20					25					30			
act	ctc	aag	aat	ttc	cgc	gag	atc	tct	ccg	ctc	gtt	cag	aat	cac	atc	144
Thr	Leu	Lys	Asn	Phe	Arg	Glu	Ile	Ser	Pro	Leu	Val	Gln	Asn	His	Ile	
		35					40				45					
aaa	ctg	gtt	tat	ttt	acg	tta	tgt	tgc	gct	gtg	gtg	gct	gct	gct	gtt	192
Lys	Leu	Val	Tyr	Phe	Thr	Leu	Cys	Cys	Ala	Val	Val	Ala	Ala	Ala	Val	
	50					55					60					
gga	gct	ttc	ctt	cat	gtt	ctg	tgg	aac	att	ggc	ggt	ttt	ctc	acc	acg	240
Gly	Ala	Phe	Leu	His	Val	Leu	Trp	Asn	Ile	Gly	Gly	Phe	Leu	Thr	Thr	
65					70				75						80	
ttg	gct	tcc	att	ggg	agc	atg	ttt	tgg	ttg	cta	tct	aca	ccc	cct	ttt	288

1
2
3
4

tcccccttgtag tagttagtag ttagctatgt gtttgctgta atggtaaagt tcaggatttc 1417
 ttttaaacaat tttcatatgt atttgctaata aatcataata tatagtataa acatcattcc 1477
 ttgggtttaaa aaaagaaaaa aaaaaaaaaa aaa 1510

<210> 14
 <211> 259

<212> PRT

<213> Glycine max

<400> 14

Ile	Thr	Lys	Thr	Ile	Arg	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Ser	Met	Asp	Thr	Phe
1				5					10					15	

Phe	Lys	Ser	Pro	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Arg	Trp	Ser	Tyr	Asp
			20					25					30		

Thr	Leu	Lys	Asn	Phe	Arg	Glu	Ile	Ser	Pro	Leu	Val	Gln	Asn	His	Ile
		35					40					45			

Lys	Leu	Val	Tyr	Phe	Thr	Leu	Cys	Cys	Ala	Val	Val	Ala	Ala	Ala	Val
	50					55					60				

Gly	Ala	Phe	Leu	His	Val	Leu	Trp	Asn	Ile	Gly	Gly	Phe	Leu	Thr	Thr
65					70					75					80

Leu	Ala	Ser	Ile	Gly	Ser	Met	Phe	Trp	Leu	Leu	Ser	Thr	Pro	Pro	Phe
				85					90					95	

Glu	Glu	Gln	Lys	Arg	Leu	Ser	Leu	Leu	Met	Ala	Ser	Ala	Leu	Phe	Gln
			100				105						110		

Gly	Ala	Ser	Ile	Gly	Pro	Leu	Ile	Asp	Leu	Ala	Phe	Ala	Ile	Asp	Pro
		115				120					125				

Gly	Leu	Ile	Ile	Gly	Ala	Phe	Val	Ala	Thr	Ser	Leu	Ala	Phe	Ala	Cys
130					135						140				

Phe	Ser	Ala	Val	Ala	Leu	Val	Ala	Arg	Arg	Arg	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Leu
145					150				155						160

Gly	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Trp	Leu	Ser	Ile	Leu	Met	Trp	Leu	His	Ser
				165				170						175	

Asp	Ser	Ser	Leu	Phe	Gly	Gly	Ser	Ile	Ala	Leu	Phe	Lys	Phe	Glu	Leu
			180					185					190		

Tyr	Phe	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Val	Gly	Tyr	Val	Ile	Val	Asp	Thr	Gln
		195					200					205			

Glu	Ile	Ile	Glu	Arg	Ala	His	Phe	Gly	Asp	Leu	Asp	Tyr	Val	Lys	His
210						215					220				

Ala	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Asp	Leu	Ala	Ala	Ile	Phe	Val	Arg	Ile	Leu
225					230					235					240

Ile	Ile	Met	Leu	Lys	Asn	Ser	Ser	Glu	Arg	Asn	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys
				245					250					255	

Arg Arg Asp

<210> 15
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(651)
 <223> codifica a proteína BI-1

<400> 15
 gtc gca atg ccg ggt cga cga ttt cgt ctg acc tat gct ttg cct ggc 48
 Val Ala Met Pro Gly Arg Arg Phe Arg Leu Thr Tyr Ala Leu Pro Gly
 1 5 10 15
 ctc atc tgc cgt ggg tgc tta cct gca cat tgc cct gaa cat tgg cgg 96
 Leu Ile Cys Arg Gly Cys Leu Pro Ala His Cys Pro Glu His Trp Arg
 20 25 30
 gat gct gac aat gct cgc gtg tat cgg aac cat cgc ctg gat gtt ctc 144
 Asp Ala Asp Asn Ala Arg Val Tyr Arg Asn His Arg Leu Asp Val Leu
 35 40 45
 ggt gcc agt cta cga gga gag gaa gag gtt tgg gct gct gat ggg tgc 192
 Gly Ala Ser Leu Arg Gly Glu Glu Glu Val Trp Ala Ala Asp Gly Cys
 50 55 60
 agc ctc ctg gaa ggg gct tca gtt gga cct ctg att gag ctt gcc ata 240
 Ser Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile
 65 70 75 80
 gac ttt gac cca agt atc ctc gtg aca ggg ttt gtc gga acc gcc atc 288
 Asp Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile
 85 90 95
 gcc ttc ggg tgc ttc tct ggc gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag 336
 Ala Phe Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu
 100 105 110
 tac ctg tac ctc ggt ggt ctg ctc tcc tcc ggc ctg tcg atc ctg ctc 384
 Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu
 115 120 125
 tgg ctg cag ttt gcc acg tcc atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc 432
 Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe
 130 135 140
 atg ttt gag gtt tac ttt ggc ctg ttg atc ttc ctg gga tac atg gtg 480
 Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val
 145 150 155 160
 tac gac acg cag gag atc atc gag agg gcg cac cac ggc gac atg gat 528
 Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp
 165 170 175
 tac atc aag cac gcg ctc acc ctc ttc acc gac ttc gtc gcc gtt ctc 576
 Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu
 180 185 190

gtc cgc gtc ctc atc atc ttg ctc aag aac gca gcg gac aag gtc gga 624
 Val Arg Val Leu Ile Ile Leu Lys Asn Ala Ala Asp Lys Val Gly
 195 200 205

ggc caa gaa gag gag gaa gag aag tcc 651
 Gly Gln Glu Glu Glu Glu Glu Lys Ser
 210 215

<210> 16

<211> 217

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 16

Val Ala Met Pro Gly Arg Arg Phe Arg Leu Thr Tyr Ala Leu Pro Gly
 1 5 10 15

Leu Ile Cys Arg Gly Cys Leu Pro Ala His Cys Pro Glu His Trp Arg
 20 25 30

Asp Ala Asp Asn Ala Arg Val Tyr Arg Asn His Arg Leu Asp Val Leu
 35 40 45

Gly Ala Ser Leu Arg Gly Glu Glu Glu Val Trp Ala Ala Asp Gly Cys
 50 55 60

Ser Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile
 65 70 75 80

Asp Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile
 85 90 95

Ala Phe Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu
 100 105 110

Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu
 115 120 125

Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe
 130 135 140

Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val
 145 150 155 160

Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp
 165 170 175

Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu
 180 185 190

Val Arg Val Leu Ile Ile Leu Leu Lys Asn Ala Ala Asp Lys Val Gly
 195 200 205

Gly Gln Glu Glu Glu Glu Glu Lys Ser
 210 215

<210> 17

<211> 412

<212> DNA

<213> Zea mays

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)..(410)
 <223> codifica a proteína BI1

<400> 17

```

tt gtt att gac ttg gat tcg agg att ctc gtc act gcg ttc gtc ggg      47
  Val Ile Asp Leu Asp Ser Arg Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly
    1             5             10             15

acc gca gtt gct ttt gca tgc ttc tct ggc gct gcc atc atc gcc aag      95
Thr Ala Val Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys
                20             25             30

cgc agg gaa tac ctg tac ctc ggc ggt ctg ctt tca tct ggc ctc tcc      143
Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser
                35             40             45

att ctt ctc tgg ctg cag ttt gct act tca atc ttt ggc cac acc agc      191
Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Thr Ser
                50             55             60

gcg acc ttc atg ttt gag ctc tac ttt ggc ctc ctg gtt ttc ctg gga      239
Ala Thr Phe Met Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Leu Gly
                65             70             75

tat atg gtg ttt gac acc cag gag atc atc gag agg gcg cac cgt ggg      287
Tyr Met Val Phe Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His Arg Gly
                80             85             90             95

gac atg gac tac atc aag cac gcg ctg act ctc ttc acc gac ttt gtt      335
Asp Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val
                100            105            110

gcg gtt ctt gtt cga atc ctt gtc atc atg atg aag aat gca cag gag      383
Ala Val Leu Val Arg Ile Leu Val Ile Met Met Lys Asn Ala Gln Glu
                115            120            125

aaa tcc caa gac gag aag aag agg aag aa                                412
Lys Ser Gln Asp Glu Lys Lys Arg Lys
                130            135

```

<210> 18
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Zea mays

<400> 18

```

Val Ile Asp Leu Asp Ser Arg Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly Thr
  1             5             10             15

Ala Val Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg
    20             25             30

Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile
    35             40             45

Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Thr Ser Ala
    50             55             60

Thr Phe Met Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Leu Gly Tyr

```

65		70		75		80									
Met	Val	Phe	Asp	Thr	Gln	Glu	Ile	Ile	Glu	Arg	Ala	His	Arg	Gly	Asp
			85						90					95	
Met	Asp	Tyr	Ile	Lys	His	Ala	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Val	Ala
			100					105					110		
Val	Leu	Val	Arg	Ile	Leu	Val	Ile	Met	Met	Lys	Asn	Ala	Gln	Glu	Lys
		115					120					125			
Ser	Gln	Asp	Glu	Lys	Lys	Arg	Lys								
	130					135									

<210> 19
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(342)

<400> 19	
gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag tac ctg tac ctc ggt ggc ctg	48
Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu	
1 5 10 15	
ctc tcc tcc ggc ctg tcg atc ctg ctc tgg ctg cag ttt gcc acg tcc	96
Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser	
20 25 30	
atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc atg ttt gag gtt tac ttt ggc	144
Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly	
35 40 45	
ctg ttg atc ttt ctg gga tac atg gtg tac gac acg cag gag atc atc	192
Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile	
50 55 60	
gag agg gcg cac cac ggc gac atg gac tac atc aag cac gcg ctc acc	240
Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr	
65 70 75 80	
ctc ttc acc gac ttt gtc gcc gtc ctc gtc cgg atc ctc atc atc atg	288
Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg Ile Leu Ile Ile Met	
85 90 95	
ctc aag aac gca ggc gac aag tcg gag gac aag aag aag agg aag agg	336
Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Arg Lys Arg	
100 105 110	
agg tcc tga	345
Arg Ser	

<210> 20
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Triticum aestivum

<400> 20

Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser
 20 25 30

Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly
 35 40 45

Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile
 50 55 60

Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr
 65 70 75 80

Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg Ile Leu Ile Ile Met
 85 90 95

Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Arg Lys Arg
 100 105 110

Arg Ser

<210> 21

<211> 403

<212> DNA

<213> Zea mays

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(402)

<223> codifica a proteina BII

<400> 21

ggc agc atc gcc tgg ctc ttc tcg gtg ccc gtc tac gag gag agg aag 48
 Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys
 1 5 10 15

agg tac tgg ctg ctg atg gcg gct gcc ctc ctg gaa ggg gcg tcg gtt 96
 Arg Tyr Trp Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val
 20 25 30

gga ccc ctc atc aag ctc gcc gtg gaa ttt gac cca agc atc ctg gtg 144
 Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val
 35 40 45

aca gcg ttc gtg ggg act gcc att gcg ttc gcg tgc ttc tct tgc gcg 192
 Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Cys Ala
 50 55 60

gcc atg gtg gcc aag cgc agg gag tac ctc tac ctg ggc ggg ctg ctc 240
 Ala Met Val Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu
 65 70 75 80

tct tct ggc ctc tcc atc ctg ctc tgg ctg cag ttc gcc gcc tcc atc 288
 Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile
 85 90 95

ttc ggc cac caa tcc act agc agc ttc atg ttt gag gtc tac ttt ggg 336

Phe Gly His Gln Ser Thr Ser Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly
 100 105 110

ctg ctc atc ttc ctg ggc tac atg gtg tac gac acg cag gag gtc atc 384
 Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Val Ile
 115 120 125

gag agg gcg cac cac ggc g 403
 Glu Arg Ala His His Gly
 130

<210> 22
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Zea mays

<400> 22
 Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys
 1 5 10 15

Arg Tyr Trp Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val
 20 25 30

Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val
 35 40 45

Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Cys Ala
 50 55 60

Ala Met Val Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu
 65 70 75 80

Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile
 85 90 95

Phe Gly His Gln Ser Thr Ser Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly
 100 105 110

Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Val Ile
 115 120 125

Glu Arg Ala His His Gly
 130

<210> 23
 <211> 410
 <212> DNA
 <213> Zea mays

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)..(410)
 <223> codifica a proteina BI1

<400> 23
 gc tgg aac atc ggc gtg agg ctg aca atg ctc ggt tgc atc ggc agc 47
 Trp Asn Ile Gly Val Arg Leu Thr Met Leu Gly Cys Ile Gly Ser
 1 5 10 15

atc gac tgg ctc ttc tcg gtg ccc gtc tac gag gag agg aag agg tat 95

Ile	Asp	Trp	Leu	Phe	Ser	Val	Pro	Val	Tyr	Glu	Glu	Arg	Lys	Arg	Tyr		
				20					25					30			
ggg	ctg	ctg	atg	gcg	gct	gcc	ctc	ctg	gaa	ggc	gct	tcg	gtc	gga	ccc	143	
Gly	Leu	Leu	Met	Ala	Ala	Ala	Leu	Leu	Glu	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Pro		
			35					40					45				
ctc	gtc	aag	ctc	gcc	gtg	gaa	ttt	gac	cca	agc	atc	ctg	gtg	acg	gcg	191	
Leu	Val	Lys	Leu	Ala	Val	Glu	Phe	Asp	Pro	Ser	Ile	Leu	Val	Thr	Ala		
		50					55					60					
ttc	gtg	ggg	act	gcc	atc	gcg	ttc	gcg	tgc	ttc	tcc	ggc	gcg	gcc	atg	239	
Phe	Val	Gly	Thr	Ala	Ile	Ala	Phe	Ala	Cys	Phe	Ser	Gly	Ala	Ala	Met		
	65					70					75						
gtg	gcc	agg	cgc	agg	gag	tac	ctc	tac	ctg	ggc	ggg	ctg	ctc	tcg	tcg	287	
Val	Ala	Arg	Arg	Arg	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser		
	80				85					90					95		
ggg	ctc	tcc	atc	ctg	ctc	tgg	ctg	cag	ctc	gcc	gcc	tcc	atc	ttc	ggc	335	
Gly	Leu	Ser	Ile	Leu	Leu	Trp	Leu	Gln	Leu	Ala	Ala	Ser	Ile	Phe	Gly		
				100				105						110			
cac	tcc	gca	acc	agc	ttc	atg	ttc	gag	gtc	tac	ttc	ggg	ctg	ctc	atc	383	
His	Ser	Ala	Thr	Ser	Phe	Met	Phe	Glu	Val	Tyr	Phe	Gly	Leu	Leu	Ile		
			115					120					125				
ttc	ctg	ggc	tac	gtg	gtg	tac	gac	acg								410	
Phe	Leu	Gly	Tyr	Val	Val	Tyr	Asp	Thr									
		130					135										

<210> 24
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Zea mays

<400> 24
 Trp Asn Ile Gly Val Arg Leu Thr Met Leu Gly Cys Ile Gly Ser Ile
 1 5 10 15
 Asp Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr Gly
 20 25 30
 Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu
 35 40 45
 Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe
 50 55 60
 Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Met Val
 65 70 75 80
 Ala Arg Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly
 85 90 95
 Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Leu Ala Ala Ser Ile Phe Gly His
 100 105 110
 Ser Ala Thr Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe
 115 120 125
 Leu Gly Tyr Val Val Tyr Asp Thr

130

135

<210> 25

<211> 463

<212> DNA

<213> Triticum aestivum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(462)

<223> codifica a proteína BI1

<400> 25

ttc tca ggt acg ttc cgc aat tcc cgg agc gac gat ttc gtg ctc tgc	48
Phe Ser Gly Thr Phe Arg Asn Ser Arg Ser Asp Asp Phe Val Leu Cys	
1 5 10 15	
gaa ctt cag cga gag ctc ccc cga tgc cgg gac gca acc ttg acg gtc	96
Glu Leu Gln Arg Glu Leu Pro Arg Cys Arg Asp Ala Thr Leu Thr Val	
20 25 30	
gta tac gtg atc cca ata gtg ggc cga ata aaa tct gcc gcg ggt gct	144
Val Tyr Val Ile Pro Ile Val Gly Arg Ile Lys Ser Ala Ala Gly Ala	
35 40 45	
tac ctg cac att gcc ctg aac atc ggt ggg atg ctg aca atg ctt gcg	192
Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu Thr Met Leu Ala	
50 55 60	
tgt atc gga acc att gcc tgg atg ttc tct gtg cca gtc tat gag gag	240
Cys Ile Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu	
65 70 75 80	
agg aag agg ttt ggg ctg ctg atg ggt gca gcc ctc ctg gaa ggg gct	288
Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala	
85 90 95	
tcg gtt gga cct ctg att gag ctt gcc ata gac ttt gac cca agc atc	336
Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile	
100 105 110	
ctc gtg aca ggg ttt gtt gga acc gcc atc gcc ttt ggg tgc ttc tct	384
Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Gly Cys Phe Ser	
115 120 125	
ggc gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag tac ctg tac ctc gga ggc	432
Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly	
130 135 140	
ctg ctc tcc tcc ggc ctg acg atc ctg ctc t	463
Leu Leu Ser Ser Gly Leu Thr Ile Leu Leu	
145 150	

<210> 26

<211> 154

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 26

Phe Ser Gly Thr Phe Arg Asn Ser Arg Ser Asp Asp Phe Val Leu Cys

1	5	10	15
Glu Leu Gln Arg	Glu Leu Pro Arg	Cys Arg Asp Ala Thr	Leu Thr Val
20	25	30	
Val Tyr Val Ile	Pro Ile Val Gly	Arg Ile Lys Ser	Ala Ala Gly Ala
35	40	45	
Tyr Leu His Ile	Ala Leu Asn Ile	Gly Gly Met Leu	Thr Met Leu Ala
50	55	60	
Cys Ile Gly Thr	Ile Ala Trp Met	Phe Ser Val Pro	Val Tyr Glu Glu
65	70	75	80
Arg Lys Arg Phe	Gly Leu Leu Met	Gly Ala Ala Leu	Leu Glu Gly Ala
85	90	95	
Ser Val Gly Pro	Leu Ile Glu Leu	Ala Ile Asp Phe	Asp Pro Ser Ile
100	105	110	
Leu Val Thr Gly	Phe Val Gly Thr	Ala Ile Ala Phe	Gly Cys Phe Ser
115	120	125	
Gly Ala Ala Ile	Ile Ala Lys Arg	Arg Glu Tyr Leu	Tyr Leu Gly Gly
130	135	140	
Leu Leu Ser Ser	Gly Leu Thr Ile	Leu Leu	
145	150		

<210> 27
 <211> 388
 <212> DNA
 <213> Zea mays

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)..(386)
 <223> codifica a proteína BI1

<400> 27	
tc tgg aac atc ggc ggg acg ctg aca atg ctc ggt tgc gtc ggc agc	47
Trp Asn Ile Gly Gly Thr Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser	
1 5 10 15	
atc gcc tgg ctc ttc tcg gtg ccc gtc tac gag gag agg aag agg tat	95
Ile Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr	
20 25 30	
ggg ctg ctg atg gcg gct gcc ctc ctg gaa ggc gct tcg gtc gga ccc	143
Gly Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro	
35 40 45	
ctc gtc aag ctc gcc gtg gaa ttt gac cca agc atc ctg gtg acg gcg	191
Leu Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala	
50 55 60	
ttc gtg ggg act gcc atc gcg ttc gcg tgc ttc tcc ggc gcg cca tgg	239
Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Pro Trp	
65 70 75	
tgg cag gcc agg gag tac ctc tac ctg ggc ggc tgc tct cgt cga ggc	287

Trp Gln Ala Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Cys Ser Arg Arg Gly
80 85 90 95

tct cca tcc tgc tct ggc tgc agc tcg ccg cct cca tct tcg gca ctc 335
Ser Pro Ser Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Pro Pro Ser Ser Ala Leu
100 105 110

cgc aac agc ttc atg ttc gag gtc tac ttc ggg ctg ctc att ctt ctg 383
Arg Asn Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Leu Leu
115 120 125

ggc ta 388
Gly

<210> 28
<211> 128
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 28
Trp Asn Ile Gly Gly Thr Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile
1 5 10 15

Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr Gly
20 25 30

Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu
35 40 45

Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe
50 55 60

Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Pro Trp Trp
65 70 75 80

Gln Ala Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Cys Ser Arg Arg Gly Ser
85 90 95

Pro Ser Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Pro Pro Ser Ser Ala Leu Arg
100 105 110

Asn Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Leu Leu Gly
115 120 125

<210> 29
<211> 1737
<212> DNA
<213> Solanum tuberosum

<220>
<221> promotor
<222> (1)..(1737)
<223> promotor patatina

<400> 29
aagcttatgt tgccatatag agtagtttgt gatggtatac ttcataaaact ttaacttatg 60
ttaaatttgt aatgataaaa tttttattgt aaattaaaaa ttacttataa aattgggcat 120
tataacatat gaaagacaaa ttgtgttaca tatttttactt ttgactttta tatgaatatt 180
tcaattttaa tcattgtttt attttctctt tctttttaca ggtataaaag gtgaaaattg 240
aagcaagatt gattgcaagc tatgtgtcac cacgttattg atactttgga agaaattttt 300

```

acttatatgt ctttggttag gagtaatat t gatatgttt tagtttagatt ttcttgtcat 360
ttatgcttta gtataatttt agttattttt attatatgat catgggtgaa ttttgataca 420
aatatTTTTg tcattaaata aattaattta tcacaacttg attactttca gtgacaaaaa 480
atgtattgtc gtagtaccct tttttgttga atatgaataa ttttttttat tttgtgacaa 540
ttgtaattgt cactacttat gataatat t agtgacatat atgtcgtcgg taaaagcaaa 600
cactttcagt gacaaaataa tagattttaat cacaaaatta ttaacctttt ttataataat 660
aaatTTtatcc ctaatttata catttaagga caaagtattt tttttatata taaaaaatag 720
tcttttagtga cgatcgtagt gttgagtcta gaaatcataa tgttgaatct agaaaaatct 780
catgcagtgt aaaataaacc tcaaaaagga cgttcagtc atagaggggg tgtatgtgac 840
accccaacct cagcaaaaaga aaacctccct tcaacaagga catttgcggt gctaaacaat 900
ttcaagtctc atcacacata ttttatttat ataatactaa taaagaatag aaaaggaaag 960
gtaaaccatca ttaaatcgtc tttgtatat ttttagtgaca actgattgac gaaatctttt 1020
tcgtcacaca aaatTTTTtag tgacgaaaca tgatttatag atgatgaaat tatttgtccc 1080
tcataatcta atttgttgta gtgatcatta ctcttttgtt tgtttttatt gtcatgttag 1140
tccattaaaa aaaaatatct ctcttcttat gtacgtgaat ggttggaacg gatctattat 1200
ataatactaa taaagaatag aaaaaggaaa gtgagtgagg ttcgaggagg agaactctgtt 1260
taatatcaga gtcgatcatg tgtcaatttt atcgatatga ccctaacttc aactgagttt 1320
aaccaattcc gataaggcga gaaatatcat agtattgagt ctagaaaaat ctcatgtagt 1380
gtggggtaaa cctcagcaag gacgttgagt ccatagaggg ggtgtatgt gacaccccaa 1440
cctcagcaaa agaaaacctc ccctcaagaa ggacatttgc ggtgctaaac aatttcaagt 1500
ctcatcacac atatatatat attatataat actaataaat aatagaaaaa ggaaaggtaa 1560
acatcactaa cgacagttgc ggtgcaaaact gagtgaggta ataaacatca ctaactttta 1620
ttggttatgt caaactcaaa gtaaaatttc tcaacttgtt tacgtgccta tatataccat 1680
gcttggtata tgctcaaagc accaacaaaa tttaaaaaca ctttgaacat ttgcaaa 1737

```

<210> 30

<211> 1317

<212> DNA

<213> *Triticum aestivum*

<220>

<221> promotor

<222> (1)..(1317)

<223> promotor de gene germina 9f-3.8

<400> 30

```

gaattcaagc tatcactctc gaaccaagca cattgatgta aggtatcatt ggattccaga 60
tgtcgtgagt tccaagttgc tgaaacttga gaagatccat accgacgaca atgggttcaga 120
tatgatgacc aagatatgtc gaaataagaa gctacaagca tgttgcaagg tagcgggcat 180
ggcgggtgcc ccatcatgag tcggaggggg agattttgtt ggatatcctc ctcatgtggg 240
ttctgaggag atgaccattt gaggcctttt agccagccca aagaggtgca gaagcccact 300
acccattagg gttatgacct agggtcattt tggactttgc acatgagtgg atggggatgc 360
tttaccctcc atccagcagc caccaccaag ggtgacgaaa atcagttcat cctccaagag 420
agaagaagag agaaaaccaa gagagcaagg gaagaagagg aagattgaag gaagaagaaa 480
agggagctcc tccccaaagg tgtgatggtc catatccact atcttgtctc cttcaaactt 540
cggttccacc atctttggta agattgttct aatccctagt tcttgagccc caaatcttgt 600
tgtgttcac cagatttcag aaatcttgat gtatgagatc ctctagtgtc gtctagagaa 660
gaatttgttg tatccacat ttgataatag tggaagagga tttgggtggc ttcggcccat 720
ggtttttccc ctcaagttga ggggttttcc acgtaaaatc tgggtgtctc ttgttgatgc 780
ttggtgttgt ccagaaactt actcctacca caagacacta ggggccagtt cttttgggaa 840
attctcccag aattgacct ctccccagct tctcccagaa ttgtcactcc atttttcttt 900
acaattccta gctagttaag gtctaattag ttaggaattg taaaaaata tcaagtggca 960
attctgggag aagctgggga ggggttcaat tctggaagaa ttgccccaaa gaactggccc 1020
taggctgagg agtgtcttgc ctgctgctta acattttctg cctccatata tgttgttgca 1080
tatgtttcct tccgtgctaa gcaacgatcc ttgagttagt acatgatgtg gtgctgagat 1140
tactttgttt tcgctgcagt tatcagttaa ccacaagtgc atttgcgtgc taattcccaa 1200
caatatgcc aacgcaactc atccaccata gctcagcagc aaccaccaat gccatagaca 1260
ctctcggtaa acaacctgta gcttatcagt ctagctaagc gtgctgcata gcaagca 1317

```

<210> 31

<211> 959

<212> DNA
 <213> Arabidopsis thaliana

<220>
 <221> promotor
 <222> (1)..(959)
 <223> CAB-2 promotor

<400> 31
 gaattcatgt gtgagggcaa ttagtgattg taaaaataaa attgtgtttt gtaaaaaact 60
 ttactgtcg aaattattta gggatgatgaa aaaatcagta aactacgaat gatagcttaa 120
 agagtttcta tcaaagtgat tgaggaatag tttgttgcaa attaaacctc taacaaaatg 180
 ttttctgttg tggtttttca tctctacaaa ttttgaattt tatgatgaat tagaaagata 240
 gaatgagtta ctttagattt taaaagggtg ttcaagttaa caaacacagat tactagaatc 300
 atgattaaaa atttacaagc tacatattgt ctaaaccaat gatgttgaac ataccagatg 360
 atagtttttc agtgtttgaa caatcaattg gatagttttt atgtttctgc aaaatatgca 420
 aataatcagt gtttttgagt ctttgcattt tgatttaaaa gcaaaaacaa ctgagtttca 480
 aggttaaatt aattacatta ttcattgagat ttatcagggt agtggataaa ctgacaatgg 540
 aatcaatggt attgtaaatt ggtagtgatg ttggacttct aatgttactc tctatgatgt 600
 ttcggtcatc ggtatcacac tatctttact tttatttaaa ggaaagatca cacaataaag 660
 ttatctctat tcagaactat taagctgctt ccaaaagact tgcaacatgt ggtctcgaaa 720
 tgctttggct gcaatgaaaa aatcatagca aaagctagtg gactagagac tgccacataa 780
 gaatagtaaa cgtaaacc accaaatctcaa aaatccaatg agtaaagaga tatagattac 840
 ttcattagata acaaacgtta ctgcgaattt tcctatataa tccaacccta ctaaccatt 900
 ttcaatcact ctactcaca agttagtac caaaaaaaaa aaaaacacaa aaagtttca 959

<210> 32
 <211> 445
 <212> DNA
 <213> Zea mays

<220>
 <221> promotor
 <222> (1)..(445)
 <223> PPCZm1 promotor

<400> 32
 gaattccaaa aatagacacg gcaattttct tattcacaga aaaaatataa ctacaactaa 60
 tccccaaagtc cacagggatt agggatcaat ctgcaaaaact aaaagtactt ttacagttgt 120
 acttggcatg agtcatgtga ccatgagaga ggcgcacggt tcagcaaagc aacataaaat 180
 tctccaaacg ggccccgcca cacacgatca ccatcaccct cgggctcccg acccagtaca 240
 aatagacacg cacactccca actccccacc catctccgcc gcgcacaccg cccaatcagc 300
 caatctcctc ctctcctcc gctctcagac gagcagcggg tgccatcact ctccacttcc 360
 cacgcccgtc gcgggctcgc aggcggcaga gaattgtctg tgccgcccgg tgggaatttg 420
 attcggtcgg attccgtgcg ccgcg 445

<210> 33
 <211> 5455
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial

<220>
 <223> Descrição da sequência artificial: vetor de expressão recombinante pUbiBI-1

<400> 33
 ggggatcctc tagagtcgac ctgcaggcgg ccgcactagt gattaggatt ccaacgcgag 60
 ccaggacaag cgaggaacct tgcgtgcgag gcgagggcgc cccgctccga ttcgattcga 120
 cgcgacggcg caggcgacgg gatggacgcc ttctactcga cctcgtcggc ggcggcgagc 180
 ggctggggcc acgactccct caagaacttc cgccagatct ccccgccgt gcagtcaccac 240
 ctcaagctcg ttacactgac tctatgctt gcactggcct catctgccgt ggggtgcttac 300

ctacacattg	ccttgaacat	cggcgggatg	ctgacaatgc	tcgotttgtg	cggaaactatc	360
gcctggatgt	tctcggtgcc	agtctatgag	gagaggaaga	ggtttgggct	gctgatgggt	420
gcagccctcc	tggaaggggc	ttcggttgga	cctctgattg	agcttgccat	agactttgac	480
ccaagcatcc	tcgtgacagg	gtttgtcgga	accgccatcg	cctttgggtg	cttctctggc	540
gccgccatca	tcgccaaagc	cagggagtac	ctgtacctcg	gtggcctgct	ctcgtctggc	600
ctgtcgatcc	tgctctggct	gcagtttgct	acgtccatct	ttggccactc	ctctggcagc	660
ttcatgtttg	aggtttactt	tggcctgttg	atcttcctgg	ggtacatggt	gtacgacacg	720
caggagatca	tcgagagggc	gcaccatggc	gacatggact	acatcaagca	cgccctcacc	780
ctcttcaccg	actttgttgc	cgccctcgct	cgagtcctca	tcacatgctg	caagaacgca	840
ggcgacaagt	cggaggacaa	gaagaagagg	aagagggggg	cctgaacgtw	tctcccgcac	900
atgtagatcc	agtcaccgcg	tcgacctgca	ggcatgcccc	ctgaaatcac	cagtctctct	960
ctacaaatct	atctctctca	taataatgtg	tgagtagtct	ccagataaag	gaatttaggt	1020
tcttataggg	tttcgctcat	gtgttgagca	tataagaaac	ccttagtatg	tatttgtatt	1080
tgtaaaatac	ttctatcaat	aaaatttcta	attcctaaaa	ccaaaatcca	gtgggtaccg	1140
agctcgaatt	caagcttggc	actggccgtc	gttttacaac	gtcgtgactg	ggaaaaccct	1200
ggcgttaccc	aacttaatcg	ccttgacgca	catccccctt	tcgccagctg	gcgtaatagc	1260
gaagaggccc	gcaccgatcg	cccttcccaa	cagttgcgca	gcctgaatgg	cgaatggcgc	1320
ctgatgcggt	atttttctct	tacgcactcg	tgccggtatt	cacacgcgat	atggtgcact	1380
ctcagtacaa	tctgctctga	tgccgcatag	ttaaagccagc	cccgaacccc	gccaacaccc	1440
gctgacgcgc	cctgacgggc	ttgtctgctc	ccggcatccg	cttacagaca	agctgtgacc	1500
gtctccggga	gctgcactgt	tcagaggttt	tcaccgtcat	caccgaaacg	gcgtagacga	1560
aagggcctcg	tgatacgcct	atttttatag	gttaatgtca	tgataataat	ggtttcttag	1620
acgtcaggtg	gcacttttct	gggaaatgtg	cgcggaaccc	ctattttgtt	atttttctaa	1680
atacattcaa	atatgtatcc	gctcatgaga	caataaccct	gataaatgct	tcaataatat	1740
tgaaaaagga	agagtatgag	tattcaacat	ttccgtgtcg	cccttatctc	cttttttgcg	1800
gcattttgce	ttcctgtttt	tgctcaccca	gaaacgcctg	tgaaagtaaa	agatgctgaa	1860
gatcagtttg	gtgcacgagt	gggttacatc	gaactggatc	tcaacagcgg	taagatcctt	1920
gagagttttc	gccccgaaga	acgttttcca	atgatgagca	cttttaaagt	tctgctatgt	1980
ggcgcggtat	tatcccggtat	tgacgccggg	caagagcaac	tcggtcgcgc	catcacatat	2040
tctcagaatg	acttggttga	gtactcacca	gtcacagaaa	agcatcttac	ggatggcatg	2100
acagtaagag	aattatgcag	tgctgccata	accatgagtg	ataacactgc	ggccaactta	2160
cttctgacaa	cgatcggagg	accgaaggag	ctaaccgctt	ttttgcacaa	catgggggat	2220
catgtaactc	gccttgatcg	ttgggaaccg	gagctgaatg	aagccatacc	aaacgacgag	2280
cgtgacacca	cgatgcctgt	agcaatggca	acaacgttgc	gcaaactatt	aactggcgaa	2340
ctacttactc	tagcttcccg	gcaacaatta	atagactgga	tgagggcgga	taaagttgca	2400
ggaccacttc	tgcgctcggc	ccttccggct	ggctggttta	ttgctgataa	atctggagcc	2460
ggtagcgtg	ggctctcgcg	tatcattgca	gcaactgggc	cagatggtaa	gccctcccgt	2520
atcgtagtta	tctacacgac	ggggagttag	gcaactatgg	atgaacgaaa	tagacagatc	2580
gctgagatag	gtgcctcact	gattaagcat	tggttaactgt	cagaccaagt	ttactcatat	2640
atactttaga	ttgattttaa	acttcatttt	taattttaaa	ggatctaggt	gaagatcctt	2700
tttgataatc	tcatgaccaa	aatcccttaa	cgtgagtttt	cgttccactg	agcgtcagac	2760
cccgtagaaa	agatcaaagg	atcttcttga	gatccttttt	ttctgcgcgt	aatctgctgc	2820
ttgcaaacaa	aaaaaccacc	gctaccagcg	gtggttttgt	tgccggatca	agagctacca	2880
actctttttc	cgaaggtaac	tggttcagc	agagcgcaga	taccaaatac	tgttcttcta	2940
gtgtagccgt	agttaggcca	ccacttcaag	aactctgtag	caccgcctac	atacctcgct	3000
ctgctaattc	tgttaccagt	ggctgctgcc	agtggcgata	agtcgtgtct	taccgggttg	3060
gactcaagac	gatagttacc	ggataaggcg	cagcggtcgg	gctgaacggg	gggttcgctg	3120
acacagccca	gcttgagcgc	aacgacctac	accgaactga	gatacctaca	gcgtgagcct	3180
tgagaaagcg	ccacgcttcc	cgaagggaga	aaggcggaca	ggtatccggt	aagcggcagg	3240
gtcggaacag	gagagcgcac	gagggagcct	ccagggggaa	acgcctggta	tctttatagt	3300
cctgtcgggt	ttcgccacct	ctgacttgag	cgtcgatttt	tgtgatgctc	gtcagggggg	3360
cggagccctat	ggaaaaacgc	cagcaacgcg	gcctttttac	ggttcctggc	cttttgctgg	3420
ccttttgctc	acatgtttct	tcttgcgtta	tcccctgatt	ctgtggataa	cctgattacc	3480
gccttttgagt	gagctgatac	cgctcgccgc	agccgaacga	ccgagcgcag	cgagtcagtg	3540
agcgaggga	cgaagagcgc	cccaatacgc	aaaccgcctc	tccccgcgcg	ttggccgagt	3600
cattaatgta	gctggcacga	caggtttccc	gactggaag	cgggcagtga	gcgcaacgca	3660
attaatgtga	gttagctcac	tcattaggca	ccccaggctt	tacactttat	gcttccggct	3720
cgtatgttgt	gtggaattgt	gagcggataa	caatttcaca	caggaaacag	ctatgaccat	3780
gattacgaat	tcccatgcct	cgaggatcta	acatgcttag	atacatgaag	taacatgctg	3840
ctacggttta	ataattcttg	agttgatttt	tactgggtact	tagatagatg	tatatacatg	3900
cttagatata	tgaagtaaca	tgctcctaca	gttcctttta	tcattattga	gtacctatat	3960
attctaataa	atcagtatgt	tttaaattat	tttgattttta	ctggtactta	gatagatgta	4020
tatatacatg	ctcaaacatg	cttagatata	tgaagtaaca	tgctgctacg	gttttagtcat	4080

```

tattgagtgc ctataatttc taataaatca gtatgtttta aattattttg attttactgg 4140
tacttagata gatgtatata tacatgctca aacatgctta gatacatgaa gtaatatgct 4200
actacggttt aattgttctt gagtacctat atattctaat aaatcagtat gttttaaatt 4260
atttcgattt tactgggtact tagatagatg tatatataca tgcttagata catgaagtaa 4320
catgctacta cggtttaatt gttcttgaat acctatatat tctaataaat cagtatgttt 4380
taaattattt cgatttttact ggtacttaga tagatgtata tatacatgct cgaacatgct 4440
tagatacatg aagtaacatg ctacatatat attataataa atcagtatgt cttaaattat 4500
tttgatttta ctgggtactta gatagatgta tatacatgct caaacatgct tagatacatg 4560
aagtaacatg ctactacggg ttaatcatta ttgagtacct atatatctta ataaatcagt 4620
atgttttcaa ttgttttgat tttactggta cttagatata tgtatatata catgctcgaa 4680
catgcttaga tacgtgaagt aacatgctac tatggttaat tggtcttgag tacctatata 4740
ttctaataaaa tcagtatggt ttaaattatt tcgattttac tgggtacttag atagatgtat 4800
atatacatgc tcgaacatgc ttagatacat gaagtaacat gctactacgg tttaatcggt 4860
cttgagtacc tatatattct aataaatcag tatgtcttaa attatcttga ttttactggg 4920
acttagatag atgtatatac atgcttagat acatgaagta acatgctact atgatttaaat 4980
cggtcttgag tacctatata ttctaataaaa tcagtatggt ttttaattatt ttgattttac 5040
tgggtacttag atagatgtat atatacatgc tcgaacatgc ttagatacat gaagtaacat 5100
gctactacgg tttaatcatt cttgagtacc tatatattct aataaatcag tatgttttta 5160
attattttga tattactggg acttaacatg tttagatata tcatatagca tgcacatgct 5220
gctactgttt aatcattcgt gaataacctat atattctaat atatcagtat gtcttctaatt 5280
tattatgatt ttgatgtact tgtatgggtg catatgctgc agctatgtgt agattttgaa 5340
taccacagtg gatgagcatg catggcgctt tcatagttca tatgctgttt atttcctttg 5400
agactgttct tttttgttga tagtcaccct gttgtttggg gattcttatg cacc 5455

```

<210> 34

<211> 12633

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Descrição da sequência artificial: vetor de expressão recombinante pLol14UbiBI-1

<400> 34

```

aattcactgg ccgtcggtttt acaacgactc agagcttgac aggaggcccg atctagtaaac 60
atagatgaca ccgcgcgcga taattttatcc tagtttgccg gctatatattt gttttctatc 120
gcgtattaaa tgtataattg cgggactcta atcataaaaa cccatctcat aaataacgtc 180
atgcattaca tgtaatttat tacatgctta acgtaattca acagaaatta tatgataatc 240
atcgcaagac cggcaacagg attcaatctt aagaaacttt attgccaaat gtttgaacga 300
tcgggggatca tccgggtctg tggcgggaac tccacgaaaa tatccgaacg cagcaagatc 360
tagagcttgg gtcccgcctca gaagaactcg tcaagaaggc gatagaaggc gatgcgctgc 420
gaatcgggag cggcgatacc gtaaagcacg aggaagcggg cagcccatcc gccgccaagc 480
tcttcagcaa tatcacgggt agccaacgct atgtcctgat agcgggtccgc cacaccacgc 540
cggccacagt cgatgaatcc agaaaagcgg ccattttcca ccatgatatt cggcaagcag 600
gcatcgccat gggtcacgac gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gagcctggcg 660
aacagttcgg ctggcgcgag cccctgatgc tcttcgtcca gatcatcctg atcgacaaga 720
ccggcttcca tccgagtacg tgctcgctcg atgcgatgtt tcgcttggtg gtcgaatggg 780
caggtagccg gatcaagcgt atgcagccgc cgcattgcat cagccatgat ggatactttc 840
tcggcaggag caaggtgaga tgacaggaga tcttgccccg gcacttcgcc caatagcagc 900
cagtcccttc ccgcttcagt gacaacgctg agcacagctg cgcaaggaaac gcccgctcgtg 960
gccagccacg atagccgcgc tgccctcgcc tcgagttcat tcagggcacc ggacaggtcg 1020
gtcttgacaa aaagaaccgg gcgcccctgc gctgacagcc ggaacacggc ggcatcagag 1080
cagccgattg tctgttgtgc ccagtcatag ccgaatagcc tctccacca agcggccgga 1140
gaacctgcgt gcaatccatc ttgttcaatc atgcgaaacg atccagatcc ggtgcagatt 1200
atttgattg agagtgaata tgagactcta attgataacc gaggggaatt tatggaacgt 1260
cagtggagca tttttgacaa gaaatatttg ctagctgata gtgaccttag gcgacttttg 1320
aacgcgcaat aatggtttct gacgtatgtg cttagctcat taaactccag aaaccgcggg 1380
ctgagtggct ccttcaacgt tgcggttctg tcagttccaa acgtaaaacg gcttgtcccg 1440
cgtcatcggc gggggtcata acgtgactcc cttaattctc cgctcatgat cagattgtcg 1500
tttccgcct tcagtttaaa ctatcagtggt ttgacaggat cctgcttggt aataattgtc 1560
attagattgt ttttatgcat agatgcactc gaaatcagcc aatttttagac aagtatcaaa 1620
cggatgttaa ttcagtacat taaagacgtc cgcaatgtgt tattaagttg tctaagcgtc 1680

```

aattttgttta	caccacaata	tatcctgcc	ccagccagcc	aacagctccc	cgaccggcag	1740
ctcggcacaa	aatcaccacg	cgttaccacc	acgcccggccg	gcccgcattggt	gttgaccgtg	1800
ttcgccggca	ttgccgagtt	cgagcgtttcc	ctaatactcg	accgcaccgcg	gagcgggcag	1860
gaggccggcca	aggcccagagg	cgtgaagttt	ggcccccgcc	ctaccctcac	cccggcacag	1920
atcgcgcacg	cccgcgagct	gatcgaccag	gaaggccgca	ccgtgaaaga	ggcggtgca	1980
ctgcttggcg	tgcategctc	gaccctgtac	cgcgcacttg	agcgcagcga	ggaagtgcg	2040
cccaccgagg	ccaggcggcg	cgggtgccttc	cgtgaggacg	cattgaccga	ggccgacgcc	2100
ctggcgggccg	ccgagaatga	acgccaagag	gaacaagcat	gaaaccgcac	caggacggcc	2160
aggacgaacc	gtttttcatt	accgaagaga	tcgaggcgga	gatgatcgcg	gccgggtacg	2220
tgttcgagcc	gcccgcgcac	gtctcaaccg	tgcggctgca	tgaatcctg	gccggtttgt	2280
ctgatgccaa	gctggcgccc	tggccggcca	gcttggccgcg	tgaagaaacc	gagcgcgcgc	2340
gtctaaaaag	gtgatgtgta	tttgatgtaa	acagcttgcg	tcattgcggtc	gctgcgtata	2400
tgatgcgatg	agtaataaaa	caaatacgca	aggggaacgc	atgaaggtta	tcgctgtact	2460
taaccagaaa	ggcgggtcag	gcaagacgac	catcgcaacc	catctagccc	gcgccctgca	2520
actcgccggg	gccgatgttc	tgtagtcga	ttccgatccc	cagggcagtg	cccgcgattg	2580
ggcggcccg	cggaagatc	aaccgctaac	cgttgtcggc	atcgaccgcc	cgacgattga	2640
ccgcgacgtg	aaggccatcg	gccggcgcg	cttcgtagt	atcgaccggag	cgccccaggc	2700
ggcggacttg	gctgtgtccg	cgatcaaggc	agccgacttc	gtgctgattc	cgggtgcagcc	2760
aagcccttac	gacatatggg	ccaccgcgca	cctggtggag	ctggttaagc	agcgcattga	2820
ggtcacggat	ggaaggctac	aagcggcctt	tgtcgtgtcg	cgggcgatca	aaggcacgcg	2880
ctacggcggt	gaggttgccg	aggcgtggc	cgggtacgag	ctgcccattc	ttgagtcccg	2940
tatcacgcag	cgcgtgagct	accaggcac	tggccgcgc	ggcacaaccg	ttcttgaatc	3000
agaacccgag	ggcgacgctg	cccgcgaggt	ccaggcgctg	gccgctgaaa	ttaaatcaaa	3060
actcatttga	gttaatgagg	taaagagaaa	atgagcaaaa	gcacaaacac	gctaagtgcc	3120
ggccgtccga	gcgcacgcag	cagcaaggct	gcaacgttg	ccagcctggc	agacacgcca	3180
gccatgaagc	gggtcaactt	tcagttgccc	gcggaggatc	acaccaagct	gaagatgtac	3240
gcggtacgcc	aaggcaagac	cattaccgag	ctgctatctg	aatacatcgc	gcagctacca	3300
gagtaaatga	gcaaataaat	aaatgagtag	atgaatttta	gcggctaaag	gaggcggcat	3360
ggaaaatcaa	gaacaaccag	gcaccgacgc	cgtggaatgc	cccatgtgtg	gaggaacggg	3420
cggttggcca	ggcgtaagcg	gctgggttgt	ctgcggccc	tgcaatggca	ctggaacccc	3480
caagcccagag	gaatcggcgt	gagcgggtcg	aaaccatccg	gcccggtaca	aatcggcgcg	3540
gcgctgggtg	atgacctggt	ggagaagttg	aaggccgcgc	aggccgccc	gcggcaacgc	3600
atcgaggcag	aagcacgccc	cgggtgaatcg	tggcaagcgg	ccgctgatcg	aatccgcaaa	3660
gaatcccggc	aaccgcccgc	agccggtgcg	ccgtcgatta	ggaagccgcc	caagggcgac	3720
gagcaaccag	attttttcgt	tccgatgtc	tatgacgtgg	gcacccgcga	tagtcgcagc	3780
atcatggaag	tggccgtttt	ccgtctgtcg	aagcgtgacc	gacgagctgg	cgaggtgatc	3840
cgtacagagc	ttccagacgg	gcacgtagag	gtttcccgag	ggccggcccg	catggccagt	3900
gtgtgggatt	acgacctggt	actgatggcg	gtttcccatc	taaccgaatc	catgaaccca	3960
taccgggaag	ggaaggga	caagcccgcg	cgcgtgttcc	gtccacacgt	tgccgacgta	4020
ctcaagttct	gccggcgagc	cgatggcgga	aagcagaaa	acgacctggt	agaaacctgc	4080
attcggttaa	acaccacgca	cgttgccatg	cagcgtacga	agaaggccaa	gaacggccgc	4140
ctggtgacgg	tatccgaggg	tgaagccttg	attagccgct	acaagatcgt	aaagagcgaa	4200
accgggccc	cggagtacat	cgagatcgag	ctagctgatt	ggatgtaccg	cgagatcaca	4260
gaaggcaaga	acccggacgt	gctgacggtt	caccccgatt	actttttgat	cgatcccggc	4320
atcggccgtt	ttctctaccg	cctggcacgc	cgcgcgcgag	gcaaggcaga	agccagatgg	4380
ttgttcaaga	cgatctacga	acgcagtggc	agcgcggag	agttcaagaa	gttctgtttc	4440
accgtgcgca	agctgatcgg	gtcaaatgac	tgcgcggagt	acgatttgaa	ggaggaggcg	4500
gggcaggctg	gcccgatcct	agtcatgcgc	taccgcaacc	tgatcgaggg	cgaagcatcc	4560
gccggttcc	aatgtacgga	gcagatgcta	gggcaaatg	ccctagcagg	ggaaaaaggt	4620
cgaaaaggtc	tctttcctgt	ggatagcacg	tacattggga	acccaaagcc	gtacattggg	4680
aaccggaacc	cgtacattgg	gaacccaaag	ccgtacattg	ggaaccggtc	acacatgtaa	4740
gtgactgata	taaaagagaa	aaaaggcgat	ttttccgcct	aaaactcttt	aaaacttatt	4800
aaaactctta	aaacccgcct	ggcctgtgca	taactgtctg	gccagcgcac	agccgaagag	4860
ctgcaaaaag	cgcctaccct	tcggtcgtcg	cgtccctac	gccccgcgcg	ttcgcgtcgg	4920
cctatcgccg	ccgctggccg	ctcaaaaatg	gctggcctac	ggccaggcaa	tctaccaggg	4980
cgcggacaag	ccgcgcgctc	gccactcgac	cgcgcgcgc	cacatcaagg	caccctgcct	5040
cgcgcgtttc	ggtgatgacg	gtgaaaacct	ctgacacatg	cagctcccgg	agacggtcac	5100
agcttgtctg	taagcggatg	ccgggagcag	acaagcccgt	cagggcgcg	cagcgggtgt	5160
tggcgggtgt	cggggcgcag	ccatgaccca	gtcacgtagc	gatagcggag	tgtatactgg	5220
cttaactatg	cggcacgaga	gcagattgta	ctgagagtgc	accatattgcg	gtgtgaaata	5280
ccgcacagat	gcgtaaggag	aaaataccgc	atcaggcgct	cttccgcttc	ctcgctcact	5340
gactcgctgc	gctcggctcg	tcggctgcgg	cgagcgggat	cagctcactc	aaaggcggta	5400
atacggttat	ccacagaatc	aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	5460

cacaaaggcca	ggaaccgttaa	aaagggcgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgcccc	5520
cctgacgagc	atcacaaaaa	tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaaccc	gacaggacta	5580
taaagatacc	aggcgtttcc	ccctggaagc	tcctctgtgc	gctctcctgt	tcogaccctg	5640
ccgcttaccg	gatacctgtc	cgcctttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	ttctcatagc	5700
tcacgctgta	ggtatctcag	ttcgggtgtag	gtcgttcgct	ccaagctggg	ctgtgtgcac	5760
gaaccccccg	ttcagcccca	ccgctgcgcc	ttatccggta	actatcgtct	tgagtccaac	5820
ccggtaagac	acgacttata	gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	tagacagagc	5880
aggtatgtag	gcgggtgtac	agagttcttg	aagtggctgg	ctaactacgg	ctacactaga	5940
aggacagtat	ttggatatctg	cgtctgtctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggg	6000
agctcttgat	ccggcaaaaa	aaccaccgct	ggtagcggtg	gtttttttgt	ttgcaagcag	6060
cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	tacggggtct	6120
gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcatgcatga	tatatctccc	6180
aattttgtgta	gggcttatta	tgcacgctta	aaaataataa	aagcagactt	gacctgatag	6240
tttggtctgtg	agcaattatg	tgcttagtgc	atctaacgct	tgagttaagc	cgcgccgcga	6300
agcggcgctcg	gcttgaacga	atttctagct	agacattatt	tgccgactac	cttggtgatc	6360
tcgccttttca	cgtagtggac	aaattcttcc	aactgactcg	cgcgcgaggg	caagcgatct	6420
tctctttgtc	caagataaagc	ctgtctagct	tcaagtatga	cgggctgata	ctgggccggc	6480
aggcgctcca	ttgccagtc	ggcagcgaca	tccttcggcg	cgattttgcc	ggttactgcg	6540
ctgtaccaaa	tgcgggacaa	cgtaagcaact	acatttcgct	catcgccagc	ccagtcgggc	6600
ggcgagttcc	atagcgttaa	ggtttcattt	agcgctcaa	atagatcctg	ttcaggaacc	6660
ggatcaaaga	gttcctccgc	cgtcggacct	accaaggcaa	cgctatgttc	tcttgctttt	6720
gtcagcaaga	tagccagatc	aatgtcgatc	gtggctggct	cgaagatacc	tgcaagaatg	6780
tcattgcgct	gccattctcc	aaattgcagt	tcgcgcttag	ctggataacg	ccacggaatg	6840
atgtcgtcgt	gcacacaact	ggtgacttct	acagcgcgga	gaatctcgct	ctctccaggg	6900
gaagcgcgaag	tttccaaaag	gtcgttgatc	aaagctcgcc	gcgttgtttc	atcaagcctt	6960
acggtcaccg	taaccagcaa	atcaatatca	ctgtgtggct	tcaggccgcc	atccactcg	7020
gagccgtaca	aatgtacggc	cagcaacgtc	ggttcgagat	ggcgctcgat	gacgccaaact	7080
acctctgata	gttgagtcca	tacttcggcg	atcaccgctt	cccccatgat	gtttaacttt	7140
gttttagggc	gactgccttg	ctgcgtaaca	tcgttgctgc	tccataacat	caaacatcga	7200
cccacggcgt	aacgcgcttg	ctgcttggat	gcccgaggca	tagactgtac	cccaaaaaaa	7260
cagtcataac	aagccatgaa	aaccgccact	gcgggggttc	catggacata	caaatggacg	7320
aacggataaa	ccttttcacg	cccttttaaa	tatccgatta	ttctaataaa	cgctcttttc	7380
tcttaggttt	acccgccaat	atatcctgtc	aaacactgat	agtttaaact	gaaggcgggg	7440
aacgacaact	agatctagta	ggaacacgtc	atgacctaga	ttacgccaa	cttgcatgcc	7500
tgagggtcga	ctctagagga	tcgatccccg	ggtaggtcag	tcctttatgt	tacgtcctgt	7560
agaaaccca	acccgtgaaa	tcaaaaaact	cgacggcctg	tgggcattca	gtctggatcg	7620
cgaaaactgt	ggaattggtc	agcgttggtg	ggaaagcgcg	ttacaagaaa	gccgggcaat	7680
tgctgtgcca	ggcagtttta	acgatcagtt	cgccgatgca	gatattcgta	attatgcggg	7740
caacgtctgg	tatcagcgcg	aagtctttat	accgaaaggt	tgggcaggcc	agcgatatcg	7800
gctgcgtttc	gatgcggtca	ctcattacgg	caaagtgtgg	gtcaataatc	aggaagtgat	7860
ggagcatcag	ggcggctata	cgcattttga	agccgatgtc	acgccgtatg	ttattgccgg	7920
gaaaagtgtg	cgtaagtttc	tgctcttacc	tttgatata	atataataat	tatcataaat	7980
tagtagtaat	ataatatttc	aaatattttt	ttcaaaataa	aagaatgtag	tatatagcaa	8040
tgctttttct	tgagtttata	agtggtgata	ttttaattta	taacttttct	aatatatgac	8100
caaaattttg	gtatgtcgag	gtatcacctg	ttgtgtgaac	aacgaactga	actggcagac	8160
tatccgcgcg	ggaatggtga	ttaccgacga	aaacggcaag	aaaaagcagt	cttacttcca	8220
tgattttcttt	aactatgccg	gaatccatcg	cagcgtaatg	ctctacacca	cgcggaacac	8280
ctgggtggac	gatatcacccg	tggtgacgca	tgctcgcgaa	gactgtaacc	acgcgtctgt	8340
tgactggcag	gtggtggcca	atggtgatgt	cagcgttgaa	ctgcgtgatg	cggatcaaca	8400
ggtggttgca	actggacaag	gcactagcgg	gactttgcaa	gtggtgaatc	cgcacctctg	8460
gcaaccgggt	gaaggttata	tctatgaact	gtgcgtcaca	gccaaaagcc	agacagagtg	8520
tgatactcac	ccgcttcgcg	tcggcatccg	gtcagtgcca	gtgaaggcg	aacagttcct	8580
gattaaccac	aaaccgttct	actttactgg	ctttggtcgt	catgaagatg	cggacttcgc	8640
tggaagagga	ttcgataacg	tgctgatggt	gcacgaccac	gcattaatgg	actggattgg	8700
ggccaactcc	taccgtacct	cgcattaccc	ttacgctgaa	gagatgctcg	actgggcaga	8760
tgaacatggc	atcgtggtga	ttgatgaaac	tgctgctgtc	ggctttaacc	tctcttttag	8820
cattggtttc	gaagcgggca	acaagccgaa	agaactgtac	agcgaagagg	cagtcaacgg	8880
ggaaactcag	caag					

```

caccgaatac ggcgtggata cgttagccgg gctgcactca atgtacaccg acatgtggag 9300
tgaagagtat cagtgtgcat ggctggatat gtatcaccgc gtctttgatc gcgtcagcgc 9360
cgctcgtcggg gaacaggtat ggaatttcgc cgattttgcg acctcgcaag gcatattgcg 9420
cgttggcggg aacaagaaag ggatcttcac tgcgcaccgc aaaccggaag cggcggcttt 9480
tctgctgcaa aaacgctgga ctggcatgaa cttcgggtgaa aaaccgcagc agggaggcaa 9540
acaatgagag ctccaatttc cccgatccgg caaacatttg gcaataaagn ttcttaagat 9600
tgaatcctgt tgccgggtctt gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat tacgttaagc 9660
atgtaataat taacatgtaa tgcgatgacg tattttatgag atgggttttt atgattagag 9720
tcccgcgaatt atacatttaa tacgcgatag aaaacaaaat atanccgcgc aactaggata 9780
aattatcgcg cgcggtgtca tctatgttac tagatcggga attcccatgc ctcgaggatc 9840
taacatgctt agatacatga agtaacatgc tgctacgggt taataattct tgagttgatt 9900
tttactggta cttagataga tgtatataca tgcttagata catgaagtaa catgctccta 9960
cagttccttt aatcattatt gagtacctat atattctaataaatcagtat gttttaaaatt 10020
atthttgattt tactgggtact tagatagatg tatatataca tgctcaaaca tgcttagata 10080
catgaagtaa catgctgcta cggtttagtc attattgagt gcctataatt tctaataaat 10140
cagtatgttt taaattattht tgattttact ggtacttaga tagatgtata tatacatgct 10200
caaacatgct tagatacatg aagtaatatg ctactacggg ttaattgttc ttgagtacct 10260
atatattcta ataaatcagt atgttttaaa ttatttccgat tttactggta cttagataga 10320
tgtatatata catgcttaga tacatgaagt aacatgctac tacggtttaa ttgttcttga 10380
atacctatat attctaataa atcagtatgt tttaaattat ttcgatttta ctggtactta 10440
gatagatgta tatatacatg ctccaacatg cttagataga tgaagtaaca tgctacatat 10500
atattataat aaatcagtat gtcttaaaatt atthttgattt tactgggtact tagatagatg 10560
tatatacatg ctcaaacatg cttagataga tgaagtaaca tgctactacg gtttaaatcat 10620
tattgagtac ctatatattc taataaatca gtatgttttc aattgttttg atthttactgg 10680
tacttagata tatgtatata tacatgctcg aacatgctta gatacgtgaa gtaacatgct 10740
actatggta attgttcttg agtacctata tattctaata aatcagtatg ttttaaaatta 10800
tttcgatttt actggtactt agatagatgt atatatacat gctcgaacat gcttagatac 10860
atgaagtaac atgtactac ggtttaactg ttcttgagta cctatatatt ctaataaatc 10920
agtatgtctt aaattatctt gattttactg gtacttagat agatgtatat acatgcttag 10980
atacatgaag taacatgcta ctatgattta atcgttcttg agtacctata tattctaata 11040
aatcagtatg tttttaatta ttttgatttt actggtactt agatagatgt atatatacat 11100
gctcgaacat gcttagatac atgaagtaac atgtactac ggtttaaatca ttcttgagta 11160
cctatatatt ctaataaatc agtatgtttt taattatttt gatattactg gtacttaaca 11220
tgthttagata catcatatag catgcacatg ctgctactgt ttaatcattc gtgaataacct 11280
atatattcta atatatcagt atgtcttcta attattatga ttttgatgta ctgtgatggg 11340
ggcatatgct gcagctatgt gtagattttg aatacccagt gtgatgagca tgcatggcgc 11400
cttcatagtt catatgctgt ttatttctt tgagactgtt cttttttgtt gatagtcacc 11460
ctgttgthtt gtgattctta tgcaccggg gatcctctag agtcgacctg caggcggcgg 11520
cactagtgat taggattcca acgcgagcca ggacaagcga ggaacctgc gtgcgaggcg 11580
aggccgcccc gctccgattc gattcgacgc gcaggcgag gcgcagggat ggacgccttc 11640
tactcgacct cgtcggcggc ggcgagcggc tggggccacg actccctcaa gaacttccgc 11700
cagatctccc ccgcctgca gtcccacctc aagctcgtht acctgactct atgctttgca 11760
ctggcctcat ctgccgtggg tgcttaccta cacattgccc tgaacatcgg cgggatgctg 11820
acaatgctcg cttgtgtcgg aactatcgcc tggatgttct cgggtgccagt ctatgaggag 11880
aggaagaggt ttgggctgct gatgggtgca gccctcctgg aaggggcttc ggthtgacct 11940
ctgattgagc ttgccataga ctttgaccga agcatcctcg tgacagggtt tgcggaacc 12000
gccatgcct ttgggtgctt ctctggcgc ccatcatcg ccaagcgcag ggagtacctg 12060
tacctcgggtg gectgctctc gtctggcctg tcatcctgc tctggctgca gthttgtcacg 12120
tccatcttht gccactctc tggcagcttc atgtttgagg ttactthtgg cctgttgatc 12180
ttcctgggg acatggtgta cgacacgcag gagatcatcg agaggcgca ccatggcgac 12240
atggactaca tcaagcacgc cctcacctc ttcaccgact ttgttgccgt cctcgtccga 12300
gtcctcatca tcatgctcaa gaacgcaggc gacaagtcgg aggacaagaa gaagaggaag 12360
agggggctct gaacgtwtct ccgcacatg tagataaccg caccgcgtcg acctgcaggc 12420
atgcccgtg aatcaccag tctctctcta caaatctatc tctctcataa taatgtgtga 12480
gtagthccca gataaggaa ttagggtht tataggtht cgctcatgtg ttgagcatat 12540
aagaaacct tagtatgtat ttgtattgt aaaaacttc tatcaataaa atthtctaatt 12600
cctaaaacca aaatccagt ggtaccgagc tgcg 12633

```

<210> 35

<211> 5598

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Descrição da sequência artificial: vetor de expressão recombinante pOXoBI-1

<400> 35

```

. ggggatcctc tagagtcgac ctgcaggcgg ccgcactagt gattaggatt ccaacgcgag 60
. ccaggacaag cgaggaacct tgcgtgcgag gcgaggccgc cccgctccga ttcgattcga 120
. cgcgccaggcg caggcgccagg gatggacgcc ttctactcga cctcgtcggc gccggcgagc 180
. ggctggggcc acgactccct caagaacttc cgccagatct cccccgccgt gcagtccac 240
. ctcaagctcg tttacctgac tctatgcttt gcactggcct catctgccgt ggggtgcttac 300
ctacacattg ccctgaacat cggcgggatg ctgacaatgc tcgcttggtg cggaactatc 360
gcctggatgt tctcgggtgcc agtctatgag gagaggaaga ggtttgggct cgtgatgggt 420
gcagccctcc tggagggggc ttcgggttga cctctgattg agcttgccat agactttgac 480
ccaagcatcc tcgtgacagg gtttgctcga accgccatcg cttttgggtg cttctctggc 540
gccgccatca tcgccaaagcg caggagtagc ctgtacctcg gtggcctgct ctcgctcggc 600
ctgtcgatcc tgctctggct gcagtttgct acgtccatct ttggccactc ctctggcagc 660
ttcatgtttg aggtttactt tggcctggtg atcttctctg ggtacatggt gtacgacacg 720
caggagatca tcgagagggc gcaccatggc gacatggact acatcaagca cgccctcacc 780
ctcttcaccg actttgttgc cgtctctcgc cgagtccctc tcatcatgct caagaacgca 840
ggcgacaagt cggaggacaa gaagaagagg aagagggggt cctgaacgtw tctcccgcac 900
atgtagatac cgtcacccgc tcgacctgca ggcatgcccg ctgaaatcac cagtctctct 960
ctacaaatct atctctctca taataatgtg tgagtagttc ccagataagg gaattagggg 1020
tcttataggg tttcgctcat gtgttgagca tataagaaac ccttagtatg tatttgattt 1080
tgtaaaatac ttctatcaat aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatcca gtgggtaccg 1140
agctcgaatt caagcttggc actggccgtc gttttacaac gtcgtagact ggaaaaccct 1200
ggcgttaccc aacttaatcg ccttgccagc catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc 1260
gaagaggccc gcaccgatcg ccttcccaa cagttgcgca gcctgaatgg cgaatggcgc 1320
ctgatcggtt attttctcct tacgcattcg tgggtatttt cacaccgcat atggtgcact 1380
ctcagtacaa tctgctctga tgccgcatag ttaagccagc cccgacaccc ccgaacaccc 1440
gctgacgcgc cctgacgggc ttgtctgctc ccggcatccg cttacagaca agctgtgacc 1500
gtctccggga gctgcatgtg tcagaggttt tcaccgcatc caccgaaacg cgcgagacga 1560
aagggcctcg tgatagcctt atttttatag gttaatgtca tgataataat ggtttcttag 1620
acgtcagggt gcacttttct gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttggtt attttcttaa 1680
atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat 1740
tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc cttttttgcg 1800
gcattttgcc ttctgtttt ttgtcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa 1860
gatcagttgg gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt 1920
gagagtttct gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt 1980
ggcgcggtat tatcccgtat tgacgcggg caagagcaac tcggtcgcgc catacactat 2040
tctcagaatg acttggttga gtactacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg 2100
acagtaagag aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataactctgc ggccaactta 2160
cttctgacaa cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgacaaa catgggggat 2220
catgtaactc gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag 2280
cgtgacacca cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaactatt aactggcgaa 2340
ctacttactc tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca 2400
ggaccacttc tgcgctcggc ccttcggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc 2460
ggtgagcgtg ggtctcgcgg tatcattgca gcaactgggc cagatggtaa gccctcccgt 2520
atcgtagtta tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc 2580
gctgagatag gtgcctcact gattaagcat tggttaactg cagaccaagt ttactcatat 2640
atactttaga ttgatttaaa acttcatttt taattttaaa ggatctaggt gaagatcctt 2700
tttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac 2760
cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc 2820
ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttggt tgccggatca agagctacca 2880
actctttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgttcttcta 2940
gtgtagccgt agttaggcca ccacttgaag aactctgtag caccgcctac atacctcgtc 3000
ctgctaattc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg 3060
gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg ggggttcgtgc 3120
acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagctt 3180
tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggg aagcggcagg 3240
gtcggaaacg gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggtt tctttatagt 3300
cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcagggggg 3360
cggagccctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac ggttctctgc cttttgctgg 3420

```

```

ccttttgcctc acatgtttctt tectgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc 3480
gccttttgagt gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg 3540
agcgaggaag cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tcccgcgcgc ttggccgatt 3600
cattaatgca gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca 3660
attaatgtga gttagctcac tcattaggca cccaggett tacactttat gcttcgggt 3720
cgtatgttgt gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat 3780
gattacgaat tcccatgcct cgagcagaaa gatataatat gtaaaaaaat ggggtctatat 3840
atatggaagg tttcaggaag acaaagggtc tagaaacttc caaaaaaat ccagaatata 3900
ttttggaaga aataccctct tgggttgcc ccggcgcagc ccctagtggg ccaaaaagcc 3960
acgatctaata cccggtctaa ttggtctaat agtttagact tctaattaga cgggctctta 4020
tgccgggtcta attggtctaa ttagattaaa atcctaatta aatatgaacg caactagggt 4080
tcccctctct ctagtcttct cggagctctt tttcatggac cttgaagtat tgccggatca 4140
ctaactcgga actcgtggat acttcagagt gcacatctac tttgaatctt gattggtaga 4200
tcatctcgga gaaattctca cagttgggag gtataaccag ttgccgaaat tgccatgctt 4260
cactcacagc caggatcagc ccattgtcca aggcaaccct tgtagctaca tgccgaggcc 4320
tgactacttg gggcctcgcg cctgcattt ttgcatgttc atgtgacacg ttaaattgttg 4380
agagaaatag attactaaat atcaccatt tcttattct agatgagtat cctacaatat 4440
gtataccgaa aaatgtattt taaactgtgg taggtgagaa agatctatta aaaagaactc 4500
tacgtatact ccccccctcc aatccccatc caggtttgta agacactttc gtcttttttt 4560
gccgaatttt aaccgtaaat ttgactagta aaaataagtt atactgaatg taataaatat 4620
cgtacattcg gatgttgag acagggagag gctggctggt gcgctggatg gatcacggtc 4680
agaaagtctg acttgcaacg ccacaggccc gttgattgcc actgacaacc aagttttcgt 4740
tgtttcgcctg gtgccatatt ttccgcgac gaatatttaa actgcgagga gaaaggcaag 4800
cagggcgcca tatcagcact tgatcactca ctgatcgatc agtagtagcc accttctctg 4860
cgccgacgtg ttatatatta ttggcaacaa gtcacgatt gagaacagaa acaaaacaag 4920
aagagaacta tttgagagag agtagttacg ccgcagcgag tagcctccca tttctgacga 4980
tcatgccata cgataaacg gccggcgcg agaccagtta gcaaggttga aatgccaaaca 5040
catgctcgcg tcatttctcg gctttttcat tttgcatgtc gtcatgcagg ccttgacac 5100
tgacatttct ctcttttgct gttgaatgaa gaccctaacc ttccaccatc agcacgccc 5160
tcaacttgat aagcctagac gaaaccata tgcattgatt atgagtaatg gtgtgcacga 5220
atattatgaa cccgtttcca agagcaatac tccattgaga tacacctcct cttgtatct 5280
gttcgttggt cccatttcca tagcagccgg cagtggcctt gactctgact gccacgcaag 5340
taatatatct ttaataaaact cgctgccttg cttcgtgtgt ccatttgcaa atgcatgcag 5400
tgacgacatg cacatgcata gcttaattag ctccatgcat ccactgcttc cattaatccc 5460
ctatataaag gactccatat gcctcaccat tcactcatcc accacagctt agcagcagca 5520
acaaccagtg ccatagacac tctccatcaa caaactctag ctgatcaatc ctagctaagc 5580
ttattacata gcaagccc                                     5598

```

<210> 36

<211> 12776

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Descrição da sequência artificial: vetor de expressão recombinante pLol14OXoBI-1

<400> 36

```

aattcactgg ccgtcgtttt acaacgactc agagcttgac aggaggcccg atctagtaac 60
atagatgaca ccgcgcgcga taatttatcc tagtttgccg gctatatattt gttttctatc 120
gcgtattaaa tgtataattg cgggactcta atcataaaaa cccatctcat aaataacgtc 180
atgcattaca tgtaattat tacatgctta acgtaattca acagaaatta tatgataatc 240
atcgcaagac cggcaacagg attcaatctt aagaaacttt attgccaaat gtttgaacga 300
tcggggatca tccgggtctg tggcgggaac tccacgaaaa tatccgaacg cagcaagatc 360
tagagcttgg gtcccgtcga gaagaactcg tcaagaaggc gatagaaggc gatgcgtgc 420
gaatcgggag cggcgatacc gtaaagcacg aggaagcggg cagcccatte gccccaagc 480
tcttcagcaa tatcacgggt agccaacgct atgtcctgat agcgggtccgc cacaccacgc 540
cggccacagt cgatgaatcc agaaaagcgg ccattttcca ccatgatatt cggcaagcag 600
gcatcgccat gggtcacgac gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gagcctggcg 660
aacagttcgg ctggcgcgag cccctgatgc tcttcgtcca gatcatcctg atcgacaaga 720
ccggcttcca tccgagtaag tgctcgtctg atgcgatgtt tcgcttggtg gtcgaatggg 780
caggtagccg gatcaagcgt atgcagccgc cgcattgcat cagccatgat ggatactttc 840

```

tccggcaggag	caagggtgaga	tgacaggaga	tccctgccccg	gcacttcgcc	caatagcagc	900
cagtcoccttc	ccgcttcagt	gacaacgtcg	agcacagctg	cgcaaggaaac	gcccgtcgtg	960
gccagccacg	atagccgcgc	tgccctcgcc	tgcagttcat	tcaggggcacc	ggacaggctcg	1020
gtcttgacaa	aaagaaccgg	gcgccccctgc	gctgacagcc	ggaacacggc	ggcatcagag	1080
cagccgattg	tctgttgtgc	ccagtcatag	ccgaatagcc	tctccaccca	agcggccgga	1140
gaacctgcgt	gcaatccatc	ttgtttcaatc	atgcgaaacg	atccagatcc	ggtgcagatt	1200
atcttgattg	agagtgaata	tgagactcta	attggatacc	gaggggaatt	tatggaacgt	1260
cagtggagca	tttttgacaa	gaaatattttg	ctagctgata	gtgaccttag	gcgacttttg	1320
aacgcgcaat	aatggtttct	gacgtatgtg	cttagctcat	taaaactccag	aaacccgcgg	1380
ctgagtggct	ccttcaacgt	tgcggttctg	tcagttccaa	acgtaaaacg	gcttgtcccg	1440
cgctacggcg	gggggtcata	acgtgactcc	cttaattctc	cgctcatgat	cagattgtcg	1500
tttcccgcc	tcagtttaaa	ctatcagtg	ttgacaggat	cctgcttggt	ataaattgtc	1560
attagattgt	ttttatgcat	agatgcactc	gaaatcagcc	aatttttagac	aagtatcaaa	1620
cggatgttaa	ttcagtacat	taaagacgtc	cgcaatgtgt	tattaagttg	tctaagcgtc	1680
aatttgttta	caccacaata	tatcctgcca	ccagccagcc	aacagctccc	cgaccggcag	1740
ctcggcacia	aatcaccacg	cgttaccacc	acgccggccg	gccgcattgt	gttgaccgtg	1800
ttcgccggca	ttgccgagtt	cgagcgttcc	ctaatacatcg	accgcacccg	gagcggggcg	1860
gaggccgcca	aggcccagag	cgtgaagttt	ggcccccgcc	ctaccctcac	cccggcacag	1920
atcgcgacg	cccgcgagct	gacgcagcag	gaaggccgca	ccgtgaaaga	ggcgggtgca	1980
ctgcttggg	tgcatcgctc	gacctgtac	cgcgcatctg	agcgacgcga	ggaagtgcag	2040
cccaccgagg	ccaggcggcg	cggtgccttc	cgtgaggacg	cattgaccga	ggccgacgcc	2100
ctggcgggcg	ccgagaatga	acgccaagag	gaacaagcat	gaaaccgcac	caggacggcc	2160
aggacgaacc	gtttttcatt	accgaagaga	tcgaggcgga	gatgatcgcg	gccgggtacg	2220
tgttcgagcc	gcccgcgcac	gtctcaaccg	tgcggtcgca	tgaaatcctg	gccggtttgt	2280
ctgatgccaa	gctggcggcc	tggccggcca	gcttgccgcg	tgaagaaacc	gagcgccgcc	2340
gtctaaaaag	gtgatgtgta	tttgagtaaa	acagcttgcg	tcattgcggtc	gctgcgtata	2400
tgatgcgatg	agtaataaaa	caaatacgca	aggggaacgc	atgaaggtta	tcgctgtact	2460
taaccagaaa	ggcgggtcag	gcaagacgac	catcgcaacc	catctagccc	gcgccctgca	2520
actcgccggg	gccaatgttc	tgtagtcga	ttccgatccc	cagggcagtg	cccgcgattg	2580
ggcgcccggtg	cggaagatc	aaccgctaac	cgttgtcggc	atcgaccgcc	cgacgattga	2640
ccgcgacgtg	aaggccatcg	gccggcgcg	cttcgtagtg	atcgacggag	cgccccaggc	2700
ggcggaactg	gctgtgtccg	cgatcaaggc	agccgacttc	gtgctgattc	cggtgcagcc	2760
aagcccttac	gacatatggg	ccaccgccga	cctggtggag	ctgggttaagc	agcgcatgga	2820
ggtcacggat	ggaaggctac	aagcggcctt	tgctgtgtcg	cgggcgatca	aaggcacgcg	2880
catcggcggg	gaggttgccg	aggcgctggc	cggttacgag	ctgcccattc	ttgagtcccg	2940
tatcacgcag	cgcgtgagct	acccaggcac	tgccgcgcgc	ggcacaaccg	ttcttgaatc	3000
agaaccggag	ggcgacgctg	cccgcgaggt	ccaggcgctg	gccgtgaaa	ttaaatcaaa	3060
actcatttga	gttaatgag	taaagagaaa	atgagcaaaa	gcacaaacac	gctaagtgcc	3120
ggcgtccga	gcgacgcag	cagcaaggct	gcaacgttgg	ccagcctggc	agacacgcca	3180
gccatgaagc	gggtcaactt	tcagttgccg	gcggaggatc	acaccaagct	gaagatgtac	3240
gcggtacgcc	aaggcaagac	cattaccgag	ctgctatctg	aatacatcgc	gcagctacca	3300
gagtaaatga	gcaaatgaat	aaatgagtag	atgaatttta	gcggctaaag	gaggcggcat	3360
ggaaaatcaa	gaacaaccag	gcaccgacgc	cgtggaatgc	cccatgtgtg	gaggaacggg	3420
cggttgccca	ggcgtaagcg	gctgggttgt	ctgcccggcc	tgcaatggca	ctggaacccc	3480
caagcccag	gaatcggcgt	gagcgtcgc	aaaccatccg	gcccgggtaca	aatcggcgcg	3540
gcgctgggtg	atgacctggg	ggagaagttg	aaggccgcgc	aggccgccc	gcccgaacgc	3600
atcgagcgag	aagcacgccc	cgtgtaatcg	tggaagcgcg	ccgctgatcg	aatccgcaaa	3660
gaatcccggc	aaccgcggcg	agccggtgcg	ccgtcgatta	ggaagccgcc	caagggcgac	3720
gagcaaccag	atcttttctg	tccgatgctc	tatgacgtgg	gcacccgcga	tagtcgcagc	3780
atcatggacg	tgcccgtttt	ccgtctgtcg	aagcgtgacc	gacgagctgg	cgaggtgatc	3840
cgctacgagc	ttccagacgg	gcacgtagag	gtttccgcag	ggccggccgg	catggccagt	3900
gtgtgggatt	acgacctggg	actgatggcg	gtttcccatc	taaccgaatc	catgaaccga	3960
taccgggaag	ggaagggaga	caagcccggc	cgctgtttcc	gtccacacgt	tgccggacgta	4020
ctcaagttct	gccggcgagc	cgatggcgga	aagcagaaag	acgacctggt	agaaacctgc	4080
attcggttaa	acaccacgca	cgttgccatg	cagcgtaaga	agaaggccaa	gaaccggccg	4140
ctggtgacgg	tatccgaggg	tgaagccttg	attagccgct	acaagatcgt	aaagagcgaa	4200
accgggcggc	cggagtacat	cgagatcgag	ctagctgatt	ggatgtaccg	cgagatcaca	4260
gaaggcaaga	acccggacgt	gctgacgggt	caccccgatt	actttttgat	cgatcccggc	4320
atcggccggt	ttctctaccc	cctggcacgc	cgcgccgcag	gcaaggcaga	agccagatgg	4380
ttgttcaaga	cgatctacga	acgcagtggc	agcgccggag	agttcaagaa	gttctgtttc	4440
accgtgcgca	agctgatcgg	gtcaaataac	ctgccggagt	acgatttgaa	ggaggaggcg	4500
gggcaggctg	gcccgatcct	agtcattgcg	taccgcaacc	tgatcgaggg	cgaagcatcc	4560
gccggttcct	aatgtacgga	gcagatgcta	gggcaaattg	ccctagcagg	ggaaaaaggt	4620

cgaaaaggtc	tcttttctgt	ggatagcacg	tacattggga	acccaaagcc	gtacattggg	4680
aaccggaacc	cgtacattgg	gaacccaaag	ccgtacattg	ggaaccggtc	acacatgtaa	4740
gtgactgata	taaaagagaa	aaaaggcgat	ttttccgcct	aaaactcttt	aaaacttatt	4800
aaaactctta	aaaccgcct	ggcctgtgca	taactgtctg	gccagcgcac	agccgaagag	4860
ctgcaaaaag	cgctaccct	tcggctcgctg	cgctccctac	gccccgcgc	ttcgcgctcg	4920
cctatcgcg	ccgctggcgc	ctcaaaaatg	gctggcctac	ggccaggcaa	tctaccaggg	4980
cgcgagacaag	ccgcgccgct	gccactcgac	cgccggcgcc	cacatcaagg	caccctgcct	5040
cgcgcggtttc	ggtgatgacg	gtgaaaacct	ctgacacatg	cagctcccgg	agacgggtcac	5100
agcttgtctg	taagcggatg	ccgggagcag	acaagcccgt	cagggcgcg	cagcgggtgt	5160
tggcgggtgt	cggggcgag	ccatgaccca	gtcacgtagc	gatagcggag	tgtatactgg	5220
cttaactatg	cggcactaga	gcagattgta	ctgagagtgc	accatatgcg	gtgtgaaata	5280
ccgcacagat	cgctaaggag	aaaataccgc	atcaggcgct	cttcgccttc	ctcgctcact	5340
gactcgctgc	gctcggctcg	tcggctgcgg	cgagcggtat	cagctcactc	aaaggcggta	5400
atacggttat	ccacagaatc	aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	5460
caaaaggcca	ggaaccgtaa	aaaggccgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgcccc	5520
cctgacgagc	atcacaaaaa	tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaaccc	gacaggacta	5580
taaagatacc	aggcgtttcc	ccctggaagc	tcctcgtg	gctctcctgt	tcggaccctg	5640
ccgcttaccg	gatacctgtc	cgcttttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	ttctcatagc	5700
tcacgctgta	ggtatctcag	ttcggtgtag	gtcgctcgct	ccaagctggg	ctgtgtgcac	5760
gaaccccccg	ttcagccccg	ccgctgcgc	ttatccggta	actatcgtct	tgagtcacac	5820
ccggtaagac	acgacttata	gccactggca	cgagccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	5880
aggatatgtag	gcggtgctac	agagttcttg	aagtgggtgg	ctaactacgg	ctacactaga	5940
aggacagtat	ttggtatctg	cgctctgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggg	6000
agctcttgat	ccggcaaaca	aaccaccgct	ggtagcgggt	gtttttttgt	ttgcaagcag	6060
cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	tacggggtct	6120
gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcattgcatga	tatatctccc	6180
aatttgtgta	gggcttatta	tgcacgctta	aaaataataa	aagcagactt	gacctgatag	6240
tttggtctgtg	agcaattatg	tgcttagtgc	atctaaccgt	tgagttaagc	cgcgccgcga	6300
agcggcgctg	cgttgaaacga	atttctagct	agacattatt	tgccgactac	cttggtgatc	6360
tcgcctttta	cgtagtggaac	aaattcttcc	aactgatctg	cgcgcgaggc	caagcgatct	6420
tcttcttgct	caagataagc	ctgtctagct	tcaagtatga	cggtgtgata	ctgggcccgc	6480
aggcgctcca	ttgcccagtc	ggcagcgaca	tccttcggcg	cgatttttgc	ggttactgcg	6540
ctgtacaaaa	tgccgggacaa	cgtaagcact	acatttcgct	catcgccagc	ccagtcgggc	6600
ggcgagttcc	atagcgttaa	ggtttcattt	agcgctcaa	atagatcctg	ttcaggaacc	6660
ggatcaaaga	gttcctccgc	cgctggacct	accaaggcaa	cgctatgttc	tcttgctttt	6720
gtcagcaaga	tagccagatc	aatgtcgatc	gtggctggct	cgaagatacc	tgcaagaatg	6780
tcattgcgct	gccattctcc	aaattgcagt	tcgcgcttag	ctggataacg	ccacggaatg	6840
atgtcgtcgt	gcacaacaat	ggtgacttct	acagcgcgga	gaatctcgct	ctctccaggg	6900
gaagccgaag	tttccaaaag	gtcgttgatc	aaagctgcc	gcgttgtttc	atcaagcctt	6960
acggtcacgc	taaccagcaa	atcaatatca	ctgtgtggct	tcaggccgc	atccactgcg	7020
gagccgtaca	aatgtacggc	cagcaacgtc	ggttcgagat	ggcgctcgat	gacgccaact	7080
acctctgata	ggtgagtcga	tacttcggcg	atcacgcgtt	cccccatgat	gtttaacttt	7140
gttttagggc	gactgccctg	ctgcgtaaca	tcgttgctgc	tcataacat	caaacatcga	7200
cccacggcgt	aacgcgcttg	ctgcttggtg	gcccagggca	tagactgtac	ccccaaaaaa	7260
cagtcataac	aagccatgaa	aaccgccact	gcgggggttc	catggacata	caaatggacg	7320
aacggataaa	ccttttcacg	cccttttaaa	tatccgatta	ttctaataaa	cgctcttttc	7380
tcttaggttt	acccgccaat	atatcctgtc	aaacactgat	agtttaaaact	gaaggcggga	7440
aacgacaatc	agatctagta	ggaaacagct	atgaccatga	ttacgccaaag	cttgcatgcc	7500
tgcaggtcga	ctctagagga	tcgatccccg	ggtaggtcag	tcctttatgt	tacgtcctgt	7560
agaaacccca	acccgtgaaa	tcaaaaaact	cgacggcctg	tgggcattca	gtctggatcg	7620
cgaaaactgt	ggaattgggtc	agcgttggtg	ggaaagcgcg	ttacaagaaa	gccgggcaat	7680
tgctgtgccca	ggcagtttta	acgatcagtt	cgccgatgca	gatattcgta	attatgcggg	7740
caacgtctgg	tatcagcgcg	aagtctttat	accgaaagg	tgggcaggcc	agcgtatcgt	7800
gctgcgtttc	gatgcgggtca	ctcattacgg	caaagtgtgg	gtcaataatc	aggaagtgat	7860
ggagcatcag	ggcggctata	cgccatttga	agccgatgtc	acgccgatg	ttattgccgg	7920
gaaaagtgtg	cgtaagtttc	tgcttctacc	tttgatatat	atataataat	tatcataaat	7980
tagtagtaat	ataatatattc	aaatatTTTT	ttcaaaaataa	aagaatgtag	tatatagcaa	8040
ttgctttttc	gtagtttata	agtgtgtata	ttttaatttta	taacttttct	aatatatgac	8100
caaaatttgt	tgatgtgcag	gtatcacctg	ttgtgtgaac	aacgaactga	actggcagac	8160
tatcccgccg	ggaattgggtg	ttaccgacga	aaacggcaag	aaaaagcagt	cttacttcca	8220
tgatttcttt	aactatgccg	gaatccatcg	cagcgtaatg	ctctacacca	cgccgaacac	8280
ctgggtggac	gatatacccg	tggtgacgca	tgctcgcgcaa	gactgttaacc	acgcgtctgt	8340
tgactggcag	gtggtggcca	atggtgatgt	cagcgttgaa	ctgcgtgatg	cggatcaaca	8400

ggtgggttgca	actggacaag	gcactagcgg	gacttttgcaa	gtgggtgaatc	cgcacctctg	8460
gcaaccgggt	gaaggttatc	tctatgaact	gtgcgtcaca	gccaaaagcc	agacagagtg	8520
tgatatctac	ccgcttcgcg	tcggcatccg	gtcagtgcca	gtgaagggcg	aacagttcct	8580
gattaaccac	aaaccgttct	actttactgg	ctttggtcgt	catgaagatg	cggacttgcg	8640
tggcaaagga	ttcgataacg	tgctgatggg	gcacgaccac	gcattaatgg	actggattgg	8700
ggccaactcc	taccgtacct	cgcattaccc	ttacgctgaa	gagatgctcg	actgggcaga	8760
tgaacatggc	atcgtgggtg	ttgatgaaac	tgctgctgtc	ggctttaacc	tctcttttagg	8820
cattggtttc	gaagcgggca	acaagccgaa	agaactgtac	agcgaagagg	cagtcaacgg	8880
ggaaactcag	caagcgcact	tacaggcgat	taaagagctg	atagcgcgtg	acaaaaacca	8940
cccaagcgtg	gtgatgtgga	gtattgccaa	cgaaccggat	acccgtccgc	aaggtgcacg	9000
ggaatatattc	gcgccactgg	cggaagcaac	gcgtaaactc	gacccgacgc	gtccgatcac	9060
ctgcggtcaat	gtaatgttct	gcgacgctca	caccgatacc	atcagcgatc	tctttgatgt	9120
gctgtgcctg	aaccgttatt	acggatggta	tgtccaaagc	ggcgattttg	aaacggcaga	9180
gaaggtaactg	gaaaaagaac	ttctggcctg	gcaggagaaa	ctgcatcagc	cgattatcat	9240
caccgaatac	ggcgtggata	cgttagccgg	gctgcactca	atgtacaccg	acatgtggag	9300
tgaagagtat	cagtgtgcat	ggctggatat	gtatcaccgc	gtctttgatc	gcgtcagcgc	9360
cgtcgtcggg	gaacaggtat	ggaatttcgc	cgattttgcg	acctcgcaag	gcatattgcg	9420
cgttggcggg	aacaagaaa	ggatcttcac	tcgcgaccgc	aaaccgaagt	cggcggcttt	9480
tctgctgcaa	aaacgctgga	ctggcatgaa	cttcgggtgaa	aaaccgcagc	agggaggcaa	9540
acaatgagag	ctcgaatttc	cccgatcggg	caaacaattg	gcaataaagn	ttcttaagat	9600
tgaatccctgt	tgccggtctt	gcgatgatta	tcataataat	tctgttgaat	tacgttaagc	9660
atgtaataat	taacatgtaa	tgcatgacgt	tatttatgag	atgggttttt	atgattagag	9720
tcccgcgaatt	atacatttaa	tacgcgatag	aaaacaaaat	atancgcgca	aactaggata	9780
aattatcgcg	cgcggtgtca	tctatgttac	tagatcggga	attcccatgc	ctcgagcaga	9840
aagatataat	atgtaaaaaa	atgggtctat	atatatggaa	ggtttcagga	agacaaaggt	9900
tctagaaaact	tccaaaaaaa	atccagaata	tattttggaa	gaaataccct	cttgggttgg	9960
ccccggcgca	gcccctagt	ggccaaaaag	ccacgatcta	atcccggtct	aattggtcta	10020
atagtttaga	cttctaatta	gacgggctct	tatgccgggtc	taattgggtct	aattagatta	10080
aaatcctaag	tataactgaa	cgaactagg	cttcccctct	ctctagtttt	ctcggagctc	10140
tttttcatgg	acottgaagt	attgccggat	cactacttcg	gaactcgtgg	atacttcaga	10200
gtgcacatct	actttgaatc	ttgattggta	gatcatctcg	gagaaattct	cacagttggg	10260
aggtataacc	agttgccgaa	attgccatgc	ttcactcaca	gccaggatca	gcccattgtc	10320
caaggcaacc	cttgtagcta	catgccgagg	cctgactact	tggggcctcg	cgccctgcat	10380
ttttgcatgt	tcatgtgaca	cgttaaatgt	tgagagaaat	agattactaa	atatcaccca	10440
tttcgttatt	ctagatgagt	atcctacaat	atgtataccg	aaaaatgtat	tttaaactgt	10500
ggtaggtgag	aaagatctat	taaaaagaac	tctacgtata	ctccccctc	ccaatcccca	10560
tccaggtttg	taagacactt	tcgtcttttt	ttgccgaatt	ttaaccgtaa	atttgactag	10620
taaaaataag	ttatactgaa	tgtaataaat	atcgtaacatt	cggatgttgg	agacagggag	10680
aggctggctg	tgccgctgga	tggatcacgg	tcagaaagtc	tgacttgcaa	gccacaggc	10740
ccgttgattg	ccactgacaa	ccaagttttc	gttggttcgc	tggtgccata	ttttccgcga	10800
tcgaatatatt	aaactgcgag	gagaaaggca	agcagggcgc	catatcagca	cttgatcact	10860
cactgatcga	tcagtagtag	ccaccttctc	tgcgccgacg	tgttatatat	tattggcaac	10920
aagtcatcga	ttgagaacag	aaacaaaaca	agaagagAAC	tatttgagag	agagtagtta	10980
cgcgcgacgc	agtagcctcc	catttctgac	gatcatgcca	tacgataaac	cggccggcgg	11040
cgagaccagt	tagcaagggt	gaaatgccaa	cacatgtcgc	gtcattttct	cggctttttc	11100
attttgcatg	tcgtcatgca	ggccctggac	actgacattt	ctctcttttg	ctggtgaatg	11160
aagaccctaa	cctttcacca	tcagcacgcc	cctcaacttg	ataagcctag	acgaaaccca	11220
tatgcatgat	tgatgagtaa	tgggtgtgac	gaatatttat	aaccgtttct	aaagagcaat	11280
actccattga	gatacacctc	ctccttgat	ctgttcgttg	gtcccatttc	catagcagcc	11340
ggcagtggcc	ttgactctga	ctgccacgca	agtaatatat	ctttaataaa	ctcgctgect	11400
tgcttcgtgt	gtccatttgc	aaatgcatgc	agtgaagaca	tgcacatgca	tagcttaatt	11460
agctccatgc	atccactgct	tccattaatc	ccctatataa	aggactccat	atgcctcacc	11520
attcactcat	ccaccacagc	ttagcagcag	caacaaccag	tgccatagac	actctccatc	11580
aacaaaactct	agctgatcaa	tcctagctaa	gcttattaca	tagcaagccc	ggggatcctc	11640
tagagtcgac	ctgcaggcgg	ccgcactagt	gattaggatt	ccaacgcgag	ccaggacaag	11700
cgaggaaacct	tgcgtgcgag	gcgaggccgc	cccgctccga	ttcgattcga	cgcgcaggcg	11760
caggcgagg	gatggacgcc	ttctactcga	cctcgtcggc	ggcggcgagc	ggctggggcc	11820
acgactccct	caagaacttc	cgccagatct	ccccgcgcgt	gcagtcaccac	ctcaagctcg	11880
tttacctgac	tctatgcttt	gcactggcct	catctgcgcgt	gggtgcttac	ctacacattg	11940
ccctgaacat	cggcgggatg	ctgacaatgc	tcgcttgtgt	cggaactatc	gcctggatgt	12000
tctcggtgcc	agtctatgag	gagagggaag	ggtttgggct	gctgatgggt	gcagccctcc	12060
tggaaagggc	ttcggttgga	cctctgattg	agcttgccat	agactttgac	ccaagcatcc	12120
tcgtgacagg	gtttgtcgga	accgccatcg	cctttgggtg	cttctctggc	gccgccatca	12180

```

tcgccaagcg cagggagtag ctgtacctcg gtggcctgct ctggtctggc ctgtcgatcc 12240
tgcctctggct gcagtttgct acgtccatct ttggccactc ctctggcagc ttcattgttg 12300
aggtttactt tggcctgttg atcttccctg ggtacatggt gtacgacacg caggagatca 12360
tcgagagggc gcaccatggc gacatggact acatcaagca cgccctcacc ctcttcaccg 12420
actttgttgc cgtcctcgtc cgagtccctca tcatcatgct caagaacgca ggcgacaagt 12480
cggaggacaa gaagaagagg aagagggggg cctgaacgtw tctcccgcac atgtagatac 12540
cgtcaccgcg tcgacctgca ggcattgccc ctgaaatcac cagtctctct ctacaaatct 12600
atctctctca taataatgtg tgagtagttc ccagataagg gaattagggg tcttataggg 12660
tttcgctcat gtgttgagca tataagaaac ccttagtatg tatttgtatt tgtaaaatac 12720
ttctatcaat aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatcca gtgggtaccg agctcg 12776

```

```

<210> 37
<211> 744
<212> DNA
<213> Triticum aestivum

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(741)
<223> codificar a TaBI-1

```

```

<400> 37
atg gac gcc ttc tac tcg acc tcg tcg gcg gcg gcg agc ggc tgg ggc 48
Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Ala Ala Ser Gly Trp Gly
1 5 10 15

tac gac tcc ctc aag aac ttc cgc gag atc tcc ccc gcc gtg cag tcc 96
Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Glu Ile Ser Pro Ala Val Gln Ser
20 25 30

cac ctc aag ctc gtt tac ctg acc cta tgc ttt gcc ctg gcc tca tct 144
His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Phe Ala Leu Ala Ser Ser
35 40 45

gcc gtg ggt gct tac ctg cac att gcc ctg aac atc ggt ggg atg ctg 192
Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu
50 55 60

aca atg ctc gcg tgt gtt gga acc atc gcc tgg atg ttc tct gtg cca 240
Thr Met Leu Ala Cys Val Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro
65 70 75 80

gtc tat gag gag agg aag agg ttt ggg ctg ctg atg ggt gca gcc ctc 288
Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu
85 90 95

ctg gaa ggg gct tcg gtt gga cct ctg att gag ctt gcc ata gac ttt 336
Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe
100 105 110

gac cca agt atc ctc gtg aca ggg ttt gtc gga acc gcc atc gcc ttc 384
Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe
115 120 125

ggg tgc ttc tct ggc gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag tac ctg 432
Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu
130 135 140

tac ctc ggt ggt ctg ctc tcc tcc ggc ctg tcg atc ctg ctc tgg ctg 480
Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu
145 150 155 160

```

cag ttt gcc acg tcc atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc atg ttt 528
 Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe
 165 170 175

gag gtt tac ttt ggc ctg ttg atc ttc ctg gga tac atg gtg tac gac 576
 Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp
 180 185 190

acg cag gag atc atc gag agg gcg cac cac ggc gac atg gat tac atc 624
 Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile
 195 200 205

aag cac gcg ctc acc ctc ttc acc gac ttc gtc gcc gtt ctc gtc cgc 672
 Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg
 210 215 220

gtc ctc atc atc atg ctc aag aac gca ggc gac aag tcg gag gac aag 720
 Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys
 225 230 235 240

aag aag agg aag agg ggg tcc tga 744
 Lys Lys Arg Lys Arg Gly Ser
 245

<210> 38
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Triticum aestivum

<400> 38
 Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Ala Ala Ser Gly Trp Gly
 1 5 10 15
 Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Glu Ile Ser Pro Ala Val Gln Ser
 20 25 30
 His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Phe Ala Leu Ala Ser Ser
 35 40 45
 Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu
 50 55 60
 Thr Met Leu Ala Cys Val Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro
 65 70 75 80
 Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu
 85 90 95
 Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe
 100 105 110
 Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe
 115 120 125
 Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu
 130 135 140
 Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu
 145 150 155 160
 Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe
 165 170 175

Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp
 180 185 190
 Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile
 195 200 205
 Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg
 210 215 220
 Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys
 225 230 235 240
 Lys Lys Arg Lys Arg Gly Ser
 245

<210> 39
 <211> 1293
 <212> DNA
 <213> Hordeum vulgare

<220>
 <221> CDS
 <222> (173)..(1126)
 <223> codificar a Hordeum vulgare subsp. vulgare syntaxin
 (Ror2)

<400> 39
 gtaactaacc ccttcttct ccttgtcca ctccgcttct ccccatccaa gaaacagcgc 60
 caacagctcc acccatcgag gagaatcaag aaaccgcgcc ggcgtggtga tcaaggacat 120
 ccatcgatcg atcgaccgac cctgccttgc ctgagtcaac ccggcggcag cc atg aac 178
 Met Asn
 1
 aac ctc ttc tcg agc tcg tgg aag cgg gcg ggc gcg ggg ggc gac ggg 226
 Asn Leu Phe Ser Ser Ser Trp Lys Arg Ala Gly Ala Gly Gly Asp Gly
 5 10 15
 gac ctg gag tcg ggc ggc ggc ggc gtg gag atg acg gcg ccg ccg ggc 274
 Asp Leu Glu Ser Gly Gly Gly Gly Val Glu Met Thr Ala Pro Pro Gly
 20 25 30
 gcc gcg gcg ggg gcg agc ctg gac cgc ttc ttc gag gac gtg gag tcg 322
 Ala Ala Ala Gly Ala Ser Leu Asp Arg Phe Phe Glu Asp Val Glu Ser
 35 40 45 50
 atc aag gac gac ctg cgg gag ctg gag cgg atc cag cgc tcc ctc cac 370
 Ile Lys Asp Asp Leu Arg Glu Leu Glu Arg Ile Gln Arg Ser Leu His
 55 60 65
 gac ggc aac gag tcg ggc aag tcg ctc cac gac gcg tcg gcg gtg cgc 418
 Asp Gly Asn Glu Ser Gly Lys Ser Leu His Asp Ala Ser Ala Val Arg
 70 75 80
 gcg ctc cgc tcc cgc atg gac gcc gac gtg gcc gcc gcc atc aag aag 466
 Ala Leu Arg Ser Arg Met Asp Ala Asp Val Ala Ala Ala Ile Lys Lys
 85 90 95
 gcc aag gtg gtg aag ttg cgg ctc gag tcg ctc gac cgc gcc aac gcc 514

Ala	Lys	Val	Val	Lys	Leu	Arg	Leu	Glu	Ser	Leu	Asp	Arg	Ala	Asn	Ala		
100						105					110						
gcc	aac	cgg	tcc	gtg	gcc	ggg	tgc	ggg	ccg	ggg	tcg	tcc	acg	gac	cgc	562	
Ala	Asn	Arg	Ser	Val	Ala	Gly	Cys	Gly	Pro	Gly	Ser	Ser	Thr	Asp	Arg		
115					120					125					130		
acc	cgc	acc	tcc	gtc	gtg	gcc	ggg	ctg	cgc	aag	aag	ctg	cgg	gat	gcc	610	
Thr	Arg	Thr	Ser	Val	Val	Ala	Gly	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Arg	Asp	Ala		
				135					140					145			
atg	gag	tcc	ttc	tcc	tcc	ctc	cgc	tcc	cgc	atc	acc	tcc	gag	tac	cgg	658	
Met	Glu	Ser	Phe	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Arg	Ile	Thr	Ser	Glu	Tyr	Arg		
			150					155					160				
gaa	acc	gtg	gcc	cgc	cgc	tac	ttc	acg	gtg	acg	ggg	tcc	cag	ccc	gac	706	
Glu	Thr	Val	Ala	Arg	Arg	Tyr	Phe	Thr	Val	Thr	Gly	Ser	Gln	Pro	Asp		
		165				170						175					
gag	gcc	acg	ctg	gac	acg	ctg	gcg	gag	acg	ggg	gag	ggg	gag	cgg	ctc	754	
Glu	Ala	Thr	Leu	Asp	Thr	Leu	Ala	Glu	Thr	Gly	Glu	Gly	Glu	Arg	Leu		
	180					185					190						
ctg	cag	cgc	gcc	atc	gcg	gag	cag	cag	ggg	aga	ggg	gag	gtg	ctg	ggc	802	
Leu	Gln	Arg	Ala	Ile	Ala	Glu	Gln	Gln	Gly	Arg	Gly	Glu	Val	Leu	Gly		
195					200				205						210		
gtg	gtg	gcg	gag	atc	cag	gag	cgg	cac	ggc	gcc	gtg	gcg	gac	ctg	gag	850	
Val	Val	Ala	Glu	Ile	Gln	Glu	Arg	His	Gly	Ala	Val	Ala	Asp	Leu	Glu		
				215					220					225			
cgg	tcc	ctg	ctg	gag	ctg	cag	cag	gtg	ttc	aac	gac	atg	gcc	gtg	ctg	898	
Arg	Ser	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln	Gln	Val	Phe	Asn	Asp	Met	Ala	Val	Leu		
			230					235					240				
gtg	gcg	gcg	cag	ggg	gag	cag	ctg	gac	gac	atc	gag	ggc	cac	gtc	ggg	946	
Val	Ala	Ala	Gln	Gly	Glu	Gln	Leu	Asp	Asp	Ile	Glu	Gly	His	Val	Gly		
	245					250					255						
cgg	gcg	agg	tcg	ttc	gtc	gac	cgc	ggg	cgc	gag	cag	ctg	cag	gtg	gca	994	
Arg	Ala	Arg	Ser	Phe	Val	Asp	Arg	Gly	Arg	Glu	Gln	Leu	Gln	Val	Ala		
	260					265				270							
cgc	aag	cac	cag	aag	agc	tcc	cgc	aag	tgg	acc	ttc	atc	ggc	atc	ggc	1042	
Arg	Lys	His	Gln	Lys	Ser	Ser	Arg	Lys	Trp	Thr	Phe	Ile	Gly	Ile	Gly		
275					280				285						290		
atc	ctg	ctc	gtc	gtc	atc	ctc	atc	atc	gtc	atc	ccc	atc	gtg	ctc	aag	1090	
Ile	Leu	Leu	Val	Val	Ile	Leu	Ile	Ile	Val	Ile	Pro	Ile	Val	Leu	Lys		
				295					300					305			
aac	acc	aac	aag	agc	aac	aac	aac	aac	agc	cag	cag	tagtggttagg				1136	
Asn	Thr	Asn	Lys	Ser	Asn	Asn	Asn	Asn	Ser	Gln	Gln						
			310					315									
aacagcctgt	ggatctgttg	tctgtctctg	atgatcctgg	tcctggattg	cttctctggtt											1196	
gttggttggtg	attgtctttt	gtggaatttt	ttgcgattgt	aattactcca	tccatgtggt											1256	
tcgttgagcc	actcgattat	tatttcatga	ctatata													1293	

<211> 318

<212> PRT

<213> Hordeum vulgare

<400> 40

```

Met Asn Asn Leu Phe Ser Ser Ser Trp Lys Arg Ala Gly Ala Gly Gly
 1          5          10          15
.
.
.
Asp Gly Asp Leu Glu Ser Gly Gly Gly Gly Val Glu Met Thr Ala Pro
          20          25          30
.
Pro Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ser Leu Asp Arg Phe Phe Glu Asp Val
          35          40          45
.
Glu Ser Ile Lys Asp Asp Leu Arg Glu Leu Glu Arg Ile Gln Arg Ser
 50          55          60
.
Leu His Asp Gly Asn Glu Ser Gly Lys Ser Leu His Asp Ala Ser Ala
 65          70          75          80
.
Val Arg Ala Leu Arg Ser Arg Met Asp Ala Asp Val Ala Ala Ala Ile
          85          90          95
.
Lys Lys Ala Lys Val Val Lys Leu Arg Leu Glu Ser Leu Asp Arg Ala
          100          105          110
.
Asn Ala Ala Asn Arg Ser Val Ala Gly Cys Gly Pro Gly Ser Ser Thr
          115          120          125
.
Asp Arg Thr Arg Thr Ser Val Val Ala Gly Leu Arg Lys Lys Leu Arg
          130          135          140
.
Asp Ala Met Glu Ser Phe Ser Ser Leu Arg Ser Arg Ile Thr Ser Glu
          145          150          155          160
.
Tyr Arg Glu Thr Val Ala Arg Arg Tyr Phe Thr Val Thr Gly Ser Gln
          165          170          175
.
Pro Asp Glu Ala Thr Leu Asp Thr Leu Ala Glu Thr Gly Glu Gly Glu
          180          185          190
.
Arg Leu Leu Gln Arg Ala Ile Ala Glu Gln Gln Gly Arg Gly Glu Val
          195          200          205
.
Leu Gly Val Val Ala Glu Ile Gln Glu Arg His Gly Ala Val Ala Asp
          210          215          220
.
Leu Glu Arg Ser Leu Leu Glu Leu Gln Gln Val Phe Asn Asp Met Ala
          225          230          235          240
.
Val Leu Val Ala Ala Gln Gly Glu Gln Leu Asp Asp Ile Glu Gly His
          245          250          255
.
Val Gly Arg Ala Arg Ser Phe Val Asp Arg Gly Arg Glu Gln Leu Gln
          260          265          270
.
Val Ala Arg Lys His Gln Lys Ser Ser Arg Lys Trp Thr Phe Ile Gly
          275          280          285
.
Ile Gly Ile Leu Leu Val Val Ile Leu Ile Ile Val Ile Pro Ile Val
          290          295          300
.
Leu Lys Asn Thr Asn Lys Ser Asn Asn Asn Asn Ser Gln Gln

```

305

310

315

<210> 41

<211> 948

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(945)

<223> codificar a *Arabidopsis thaliana* syntaxin 121
 (SYP121) / proteina relacioanda a sintaxina (SYR1)
 (At3g11820)

<400> 41

```

atg gcg aat ccc gcg gga tca acc ggt ggt gtg aac ctc gac aag ttc      48
Met Ala Asn Pro Ala Gly Ser Thr Gly Gly Val Asn Leu Asp Lys Phe
   1             5             10             15

ttc gaa gat gtt gaa tct gtg aaa gaa gag cta aag gag cta gat cgg      96
Phe Glu Asp Val Glu Ser Val Lys Glu Glu Leu Lys Glu Leu Asp Arg
           20           25           30

ctc aac gaa aca ctc tct tca tgt cac gag cag agc aag acg ctt cac      144
Leu Asn Glu Thr Leu Ser Ser Cys His Glu Gln Ser Lys Thr Leu His
           35           40           45

aat gct aaa gcc gtt aaa gat ctc cgg tct aaa atg gac ggt gac gtt      192
Asn Ala Lys Ala Val Lys Asp Leu Arg Ser Lys Met Asp Gly Asp Val
           50           55           60

gga gtc gcg ttg aag aag gcg aag atg att aaa gtt aaa ctc gag gcg      240
Gly Val Ala Leu Lys Lys Ala Lys Met Ile Lys Val Lys Leu Glu Ala
           65           70           75           80

cta gat cgt gcc aat gct gct aat cgg agt ctc cct ggc tgt gga cct      288
Leu Asp Arg Ala Asn Ala Ala Asn Arg Ser Leu Pro Gly Cys Gly Pro
           85           90           95

ggt tct tcc tcc gat cga acc agg acc tct gtc ctc aat ggt ctc agg      336
Gly Ser Ser Ser Asp Arg Thr Arg Thr Ser Val Leu Asn Gly Leu Arg
           100          105          110

aag aaa ttg atg gac tct atg gat agt ttc aac cga ttg agg gag ctt      384
Lys Lys Leu Met Asp Ser Met Asp Ser Phe Asn Arg Leu Arg Glu Leu
           115          120          125

atc tcg tcc gag tat aga gaa act gta cag agg agg tac ttc acc gtc      432
Ile Ser Ser Glu Tyr Arg Glu Thr Val Gln Arg Arg Tyr Phe Thr Val
           130          135          140

acc ggc gag aat ccg gat gaa cga acc cta gat cga ctg att tcc act      480
Thr Gly Glu Asn Pro Asp Glu Arg Thr Leu Asp Arg Leu Ile Ser Thr
           145          150          155          160

gga gag agt gag aga ttc ttg cag aaa gca ata caa gaa caa gga aga      528
Gly Glu Ser Glu Arg Phe Leu Gln Lys Ala Ile Gln Glu Gln Gly Arg
           165          170          175

gga agg gtg tta gac acc att aac gag att caa gaa agg cat gat gcg      576
Gly Arg Val Leu Asp Thr Ile Asn Glu Ile Gln Glu Arg His Asp Ala

```

	180	185	190	
	gtt aaa gac att gag aag aat ctc agg gag ctt cac cag gtg ttt cta			624
	Val Lys Asp Ile Glu Lys Asn Leu Arg Glu Leu His Gln Val Phe Leu			
	195	200	205	
	gac atg gcc gtg ctg gta gag cac cag gga gct cag ctt gat gac atc			672
	Asp Met Ala Val Leu Val Glu His Gln Gly Ala Gln Leu Asp Asp Ile			
	210	215	220	
	gag agt cat gtg ggt cga gct agc tcc ttt atc aga ggc gga act gac			720
	Glu Ser His Val Gly Arg Ala Ser Ser Phe Ile Arg Gly Gly Thr Asp			
	225	230	235	240
	cag cta caa acc gct cgg gtt tac cag aag aac acg cga aaa tgg aca			768
	Gln Leu Gln Thr Ala Arg Val Tyr Gln Lys Asn Thr Arg Lys Trp Thr			
	245	250	255	
	tgt att gcc att att att ctc atc atc atc ata act gtt gtg gtt ctt			816
	Cys Ile Ala Ile Ile Ile Leu Ile Ile Ile Thr Val Val Val Leu			
	260	265	270	
	gct gtt tta aaa ccg tgg aac aac agc agt ggc ggc ggc ggc ggt ggt			864
	Ala Val Leu Lys Pro Trp Asn Asn Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly			
	275	280	285	
	ggt ggt ggg ggt acc act gga gga agt caa cca aat tca ggg aca cca			912
	Gly Gly Gly Gly Thr Thr Gly Gly Ser Gln Pro Asn Ser Gly Thr Pro			
	290	295	300	
	cca aat cct cct cag gca agg cgt cta ttg cgt tga			948
	Pro Asn Pro Pro Gln Ala Arg Arg Leu Leu Arg			
	305	310	315	
	<210> 42			
	<211> 315			
	<212> PRT			
	<213> Arabidopsis thaliana			
	<400> 42			
	Met Ala Asn Pro Ala Gly Ser Thr Gly Gly Val Asn Leu Asp Lys Phe			
	1	5	10	15
	Phe Glu Asp Val Glu Ser Val Lys Glu Glu Leu Lys Glu Leu Asp Arg			
	20	25	30	
	Leu Asn Glu Thr Leu Ser Ser Cys His Glu Gln Ser Lys Thr Leu His			
	35	40	45	
	Asn Ala Lys Ala Val Lys Asp Leu Arg Ser Lys Met Asp Gly Asp Val			
	50	55	60	
	Gly Val Ala Leu Lys Lys Ala Lys Met Ile Lys Val Lys Leu Glu Ala			
	65	70	75	80
	Leu Asp Arg Ala Asn Ala Ala Asn Arg Ser Leu Pro Gly Cys Gly Pro			
	85	90	95	
	Gly Ser Ser Ser Asp Arg Thr Arg Thr Ser Val Leu Asn Gly Leu Arg			
	100	105	110	
	Lys Lys Leu Met Asp Ser Met Asp Ser Phe Asn Arg Leu Arg Glu Leu			

115	120	125
Ile Ser Ser Glu Tyr Arg	Glu Thr Val Gln Arg Arg	Tyr Phe Thr Val
130	135	140
Thr Gly Glu Asn Pro Asp	Glu Arg Thr Leu Asp Arg	Leu Ile Ser Thr
145	150	155
Gly Glu Ser Glu Arg Phe	Leu Gln Lys Ala Ile Gln	Glu Gln Gly Arg
	165	170
Gly Arg Val Leu Asp Thr	Ile Asn Glu Ile Gln	Glu Arg His Asp Ala
	180	185
Val Lys Asp Ile Glu Lys	Asn Leu Arg Glu Leu His	Gln Val Phe Leu
	195	200
Asp Met Ala Val Leu Val	Glu His Gln Gly Ala Gln	Leu Asp Asp Ile
	210	215
Glu Ser His Val Gly Arg	Ala Ser Ser Phe Ile Arg	Gly Gly Thr Asp
	225	230
Gln Leu Gln Thr Ala Arg	Val Tyr Gln Lys Asn Thr	Arg Lys Trp Thr
	245	250
Cys Ile Ala Ile Ile Ile	Leu Ile Ile Ile Thr Val	Val Val Leu
	260	265
Ala Val Leu Lys Pro Trp	Asn Asn Ser Ser Gly Gly	Gly Gly Gly Gly
	275	280
Gly Gly Gly Gly Thr Thr	Gly Gly Ser Gln Pro Asn	Ser Gly Thr Pro
	290	295
Pro Asn Pro Pro Gln Ala	Arg Arg Leu Leu Arg	
	305	310

<210> 43

<211> 1275

<212> DNA

<213> Hordeum vulgare

<220>

<221> CDS

<222> (80)..(1006)

<223> codificar a Hordeum vulgare subsp. vulgare SNAP-34

<400> 43

ggccccctcca cccaccccca cccagtcgct gcggatactt gattctgcta ctcggccagc 60

gatcgatctc	gcctccgcc	atg agc gcc acc agg ccc tcc ttc ttc ccc tcc	112
	Met Ser Ala Thr	Arg Pro Ser Phe Phe Pro Ser	
	1	5	10

aac aac aac agg aac aag ccc gcc acc cgg aac ccc ttc gac tcc gac	160
Asn Asn Asn Arg Asn Lys Pro Ala Thr Arg Asn Pro Phe Asp Ser Asp	
	15
	20
	25

tcg gac gac gac ggc ggc atg gcc cgg cgc ggc ccg gcg cgg gcc tcg	208
Ser Asp Asp Asp Gly Gly Met Ala Arg Arg Gly Pro Ala Arg Ala Ser	

30				35				40									
tcc	gtc	ccg	acc	ccc	gcc	gcg	ggg	ccg	gcc	agg	gcc	tcc	tcg	gcc	ccg	256	
Ser	Val	Pro	Thr	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Arg	Ala	Ser	Ser	Ala	Pro		
45				50				55									
atc	ccc	gcc	gac	gag	gcg	gac	cag	cgg	ggc	gcc	ctg	ttc	ggc	gcg	ggc	304	
Ile	Pro	Ala	Asp	Glu	Ala	Asp	Gln	Arg	Gly	Ala	Leu	Phe	Gly	Ala	Gly		
60				65				70				75					
ccc	gcg	ccg	tcc	ggc	ttc	gcg	tcc	tcc	tcc	tcc	gcg	gcc	gcc	agg	ggc	352	
Pro	Ala	Pro	Ser	Gly	Phe	Ala	Ser	Ser	Ser	Ser	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly		
				80				85				90					
cgg	tac	agg	aac	gac	ttc	cgc	gac	tcg	ggc	ggc	gtg	gag	gcg	cag	tcc	400	
Arg	Tyr	Arg	Asn	Asp	Phe	Arg	Asp	Ser	Gly	Gly	Val	Glu	Ala	Gln	Ser		
				95				100				105					
gtg	cag	gag	ctc	gag	ggc	tac	gcg	gcc	tac	aag	gcc	gag	gag	acc	acg	448	
Val	Gln	Glu	Leu	Glu	Gly	Tyr	Ala	Ala	Tyr	Lys	Ala	Glu	Glu	Thr	Thr		
				110				115				120					
cgc	cgg	gtc	gac	ggc	tgc	ctc	cgg	gtc	gcc	gag	gag	atg	cgg	gac	acc	496	
Arg	Arg	Val	Asp	Gly	Cys	Leu	Arg	Val	Ala	Glu	Glu	Met	Arg	Asp	Thr		
				125				130				135					
gcg	tca	aag	acc	ctg	ctc	cag	gtg	cac	cag	cag	ggc	cag	cag	atc	agg	544	
Ala	Ser	Lys	Thr	Leu	Leu	Gln	Val	His	Gln	Gln	Gly	Gln	Gln	Ile	Arg		
				140				145				150				155	
cgc	acc	cac	gcc	atg	gcc	gtc	gac	atc	gac	cag	gat	ctc	tcc	agg	ggg	592	
Arg	Thr	His	Ala	Met	Ala	Val	Asp	Ile	Asp	Gln	Asp	Leu	Ser	Arg	Gly		
				160				165				170					
gaa	aag	cta	cta	ggt	gat	ctt	ggt	ggt	ttg	ttt	tcc	aag	aag	tgg	aag	640	
Glu	Lys	Leu	Leu	Gly	Asp	Leu	Gly	Gly	Leu	Phe	Ser	Lys	Lys	Trp	Lys		
				175				180				185					
cca	aag	aag	aac	ggc	gca	atc	agg	ggc	cct	atg	ctg	acc	aga	gac	gat	688	
Pro	Lys	Lys	Asn	Gly	Ala	Ile	Arg	Gly	Pro	Met	Leu	Thr	Arg	Asp	Asp		
				190				195				200					
tcc	ttc	ata	cgc	aag	ggc	agc	cat	atg	gag	cag	agg	cat	aaa	ctg	ggg	736	
Ser	Phe	Ile	Arg	Lys	Gly	Ser	His	Met	Glu	Gln	Arg	His	Lys	Leu	Gly		
				205				210				215					
ctg	tca	gat	cgt	ccg	cat	cga	tcc	aat	gca	cgc	cag	ttc	cta	tct	gaa	784	
Leu	Ser	Asp	Arg	Pro	His	Arg	Ser	Asn	Ala	Arg	Gln	Phe	Leu	Ser	Glu		
				220				225				230				235	
ccc	aca	tca	ggc	ctt	gag	aaa	gtc	gag	gtg	gag	aag	gca	aag	cag	gat	832	
Pro	Thr	Ser	Gly	Leu	Glu	Lys	Val	Glu	Val	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Asp		
				240				245				250					
gat	ggc	ctg	tct	gac	ctt	agc	gac	ata	ctg	aca	gag	ttg	aaa	gga	atg	880	
Asp	Gly	Leu	Ser	Asp	Leu	Ser	Asp	Ile	Leu	Thr	Glu	Leu	Lys	Gly	Met		
				255				260				265					
gcc	att	gac	atg	gga	act	gag	att	gag	ggg	caa	aca	aag	gat	ctt	ggt	928	
Ala	Ile	Asp	Met	Gly	Thr	Glu	Ile	Glu	Gly	Gln	Thr	Lys	Asp	Leu	Gly		
				270				275				280					
cat	qcq	qag	aaq	gac	ttt	gac	qaa	ctt	aac	tac	agg	qtc	aaq	ggg	qca	976	

His Ala Glu Lys Asp Phe Asp Glu Leu Asn Tyr Arg Val Lys Gly Ala
 285 290 295

aac gct cga aca cgt cgc ctg ctt ggc aga taggcaagaa gcatatgttg 1026
 Asn Ala Arg Thr Arg Arg Leu Leu Gly Arg
 300 305

ttcaccagag gattctgtga cactccttat cttctgcatt tgctttcgtg ggctgttaat 1086

tcagatcatt ttgtgcataa aactctgggt aggaaggtct gttggggagt tgtatcaggg 1146

tttattgtgt atatacgcta gacgggcgggt tcgttttcta tgttgcagtt gtactacatt 1206

tgctatggac agtagatacg tttgtattcg gttttcttgt tttgcaatcg ctatgctgca 1266

ggaaagcac 1275

<210> 44

<211> 309

<212> PRT

<213> Hordeum vulgare

<400> 44

Met Ser Ala Thr Arg Pro Ser Phe Phe Pro Ser Asn Asn Asn Arg Asn
 1 5 10 15

Lys Pro Ala Thr Arg Asn Pro Phe Asp Ser Asp Ser Asp Asp Asp Gly
 20 25 30

Gly Met Ala Arg Arg Gly Pro Ala Arg Ala Ser Ser Val Pro Thr Pro
 35 40 45

Ala Ala Gly Pro Ala Arg Ala Ser Ser Ala Pro Ile Pro Ala Asp Glu
 50 55 60

Ala Asp Gln Arg Gly Ala Leu Phe Gly Ala Gly Pro Ala Pro Ser Gly
 65 70 75 80

Phe Ala Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Arg Gly Arg Tyr Arg Asn Asp
 85 90 95

Phe Arg Asp Ser Gly Gly Val Glu Ala Gln Ser Val Gln Glu Leu Glu
 100 105 110

Gly Tyr Ala Ala Tyr Lys Ala Glu Glu Thr Thr Arg Arg Val Asp Gly
 115 120 125

Cys Leu Arg Val Ala Glu Glu Met Arg Asp Thr Ala Ser Lys Thr Leu
 130 135 140

Leu Gln Val His Gln Gln Gly Gln Gln Ile Arg Arg Thr His Ala Met
 145 150 155 160

Ala Val Asp Ile Asp Gln Asp Leu Ser Arg Gly Glu Lys Leu Leu Gly
 165 170 175

Asp Leu Gly Gly Leu Phe Ser Lys Lys Trp Lys Pro Lys Lys Asn Gly
 180 185 190

Ala Ile Arg Gly Pro Met Leu Thr Arg Asp Asp Ser Phe Ile Arg Lys
 195 200 205

Gly Ser His Met Glu Gln Arg His Lys Leu Gly Leu Ser Asp Arg Pro
 210 215 220
 His Arg Ser Asn Ala Arg Gln Phe Leu Ser Glu Pro Thr Ser Gly Leu
 225 230 235 240
 • Glu Lys Val Glu Val Glu Lys Ala Lys Gln Asp Asp Gly Leu Ser Asp
 . 245 250 255
 - Leu Ser Asp Ile Leu Thr Glu Leu Lys Gly Met Ala Ile Asp Met Gly
 . 260 265 270
 Thr Glu Ile Glu Gly Gln Thr Lys Asp Leu Gly His Ala Glu Lys Asp
 275 280 285
 Phe Asp Glu Leu Asn Tyr Arg Val Lys Gly Ala Asn Ala Arg Thr Arg
 290 295 300
 Arg Leu Leu Gly Arg
 305

<210> 45
 <211> 1398
 <212> DNA
 <213> Glicina max

<220>
 <221> CDS
 <222> (212)..(946)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1367>..
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1368>..
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1369>..
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1370>..
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1371>..
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1372>..
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature

<222> <1373>..<<1373>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1374>..<<1374>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1375>..<<1375>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1376>..<<1376>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1377>..<<1377>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1378>..<<1378>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1379>..<<1379>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1380>..<<1380>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1381>..<<1381>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1382>..<<1382>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1383>..<<1383>
 <223> n is a, c, g, or t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> <1384>..<<1384>
 <223> n is a, c, g, or t

<400> 45
 ggaatttccg tggcgaccca tcggacgctc gtcgcagcga tcaacactac ggccgactgg

60

aggcgacttg aatgaaaggg aggtaatctt aagtggaacc gtttgcaaaa ttaccggttc

120

ctcggtacctc gaatgcagtc taaacttggg gtcgctgaag tcacagccat atacgacact 180

agacatatatt gtgtgtctcc gattgcaagc a atg gac tcc ttc aat tcc ttc 232
Met Asp Ser Phe Asn Ser Phe
1 5

ttc gat tca aca aac cga tgg aat tac gat act ctc aaa aac ttc cgt 280
Phe Asp Ser Thr Asn Arg Trp Asn Tyr Asp Thr Leu Lys Asn Phe Arg
10 15 20

caa att tct ccg gtc gtt cag aat cac ctc aag cag gtt tat ttt act 328
Gln Ile Ser Pro Val Val Gln Asn His Leu Lys Gln Val Tyr Phe Thr
25 30 35

ctg tgt ttc gcc gtg gtt gct gcg gct gtt ggg gct tac ctt cat gtc 376
Leu Cys Phe Ala Val Val Ala Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val
40 45 50 55

ctc ttg aac att ggg ggt ttt ctt act aca gtg gca tgc gtg gga agc 424
Leu Leu Asn Ile Gly Gly Phe Leu Thr Thr Val Ala Cys Val Gly Ser
60 65 70

agt gtt tgg tta ctc tcg aca cct cct ttt gaa gag agg aaa aga gtg 472
Ser Val Trp Leu Leu Ser Thr Pro Pro Phe Glu Glu Arg Lys Arg Val
75 80 85

act ttg ttg atg gcc gca tca ctg ttt cag ggt gcc tct att gga ccc 520
Thr Leu Leu Met Ala Ala Ser Leu Phe Gln Gly Ala Ser Ile Gly Pro
90 95 100

ttg ata gat ttg gct att caa atc gat cca agc ctt atc ttt agt gca 568
Leu Ile Asp Leu Ala Ile Gln Ile Asp Pro Ser Leu Ile Phe Ser Ala
105 110 115

ttt gtg gga aca tcc ttg gcc ttt gca tgc ttc tca gga gca gct ttg 616
Phe Val Gly Thr Ser Leu Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Leu
120 125 130 135

gtt gct agg cgt agg gag tac ctg tac ctt ggt ggc ttg gtt tct tct 664
Val Ala Arg Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Val Ser Ser
140 145 150

gga ttg tcc atc ctt ctc tgg ttg cac ttt gct tct tcc atc ttt gga 712
Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly
155 160 165

ggc tca aca gct ctc ttt aag ttt gag ttg tac ttt ggg cta ttg gtg 760
Gly Ser Thr Ala Leu Phe Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val
170 175 180

ttt gta ggt tac att gta gta gac acc caa gaa ata gtt gag agg gca 808
Phe Val Gly Tyr Ile Val Val Asp Thr Gln Glu Ile Val Glu Arg Ala
185 190 195

cac ttg ggc gat ctg gac tat gta aag cat gcc ttg acc ttg ttt acc 856
His Leu Gly Asp Leu Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr
200 205 210 215

gat ttg gtc gca gtt ttt gtc cgg att ctt gtt att atg ttg aag aat 904
Asp Leu Val Ala Val Phe Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn
220 225 230

tcg act gag agg aat gag aag aaa aag aag aga aga gat tga ttttcttacc 956
Ser Thr Glu Arg Asn Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asp
235 240

aatctgctcg attaacactt cacctcgctt ggtctgtaat acataaaaac agccgtctat 1016

acagtgtttt ccacttttta agcttgctcc tctactgtg cagttaagtc gtttgtttac 1076

caatagtaca tggtgacatg ttttgagctc tctaataaga gaaatgttta cattacattt 1136

gttttaaaga tgaaaagggg agtggggaag aagtcgatgg tgaagggtccc taataaatcc
1196

ttactcccaa gactcagaat ttttcttggg gaggaagtgg aattcaggga aacacttttt
1256

tttcacacat tattgagtat attttataact agactcgcca aatcacgaat ttcattatct
1316

athtagcttc ttttttttcc ccctgtaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa nnnnnnnnnn
1376

```
nnnnnnnnnaa  aaaaaaaaaa  aa
1398
```

```
<210> 46
<211> 244
<212> PRT
<213> Glicina max
```

[illegible]

<210> 47
<211> 20
<212> DNA
<213> Sequência artificial

<220>
<223> Iniciador GFP 1

<400> 47
atggtgagca agggcgagga 20

<210> 48
<211> 43
<212> DNA
<213> Sequência artificial

<220>
<223> Iniciador GFP 2

<400> 48
ttgaacaacg atgtgcaaga ctccttgtag agtcggtcca tgc 43

PF 58494
92

REIVINDICAÇÕES

1. Método para gerar ou aumentar uma resistência a pelo menos um fungo biotrófico em uma planta ou uma parte de uma planta, onde a parte de uma planta compreende um tecido ou uma célula, caracterizado pelo fato de compreender as seguintes etapas:

a) aumentar a quantidade de proteína ou função de pelo menos uma proteína inibidora 1 Bax (BI1), na planta ou pelo menos uma parte de uma planta acima da quantidade de proteína ou função na planta inicial ou parte desta, e, se apropriado

b) selecionar a planta ou uma parte de uma planta onde uma resistência a pelo menos um fungo biotrófico foi gerada ou aumentada em comparação com a planta inicial ou parte desta.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um fungo biotrófico é selecionado a partir do grupo dos fungos heminecrotroficos.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que pelo menos um fungo biotrófico é selecionado a partir do grupo consistindo do grupo dos Basidiomycota, preferivelmente os Uredinales (ferrugens), especialmente preferivelmente os Melompsoraceae, e em particular do gênero Phakopsora.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um fungo biotrófico é selecionado a partir do grupo consistindo de Phakopsora pachyrhizi e Phakopsora meibomiaae.

5. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que pelo menos um fungo biotrófico não é um oídio ou míldio.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a proteína BI1 compreende pelo menos uma sequência que tem pelo menos 50% de homologia com pelo menos um motivo consenso de BI1 selecionado a partir do grupo consistindo

de

a) H(L/I)KXVY,

b) AXGA(Y/F)XH,

c) NIGG,

5 d) P(V/P)(Y/F)E(E/Q)(R/Q)KR,

e) (E/Q)G(A/S)S(V/I)GPL,

f) DP(S/G)(L/I)(I/L),

g) V(G/A)T(A/S)(L/I)AF(A/G)CF(S/T),

h) YL(Y/F)LGG,

10 i) L(L/V)SS(G/W)L(S/T)(I/M)L(L/M)W, e

j) DTGX(I/V)(I/V)E.

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a proteína BI1 é codificada por um polipeptídeo que compreende pelo menos uma seqüência selecionada a partir do grupo consistindo de:

a) as seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46;

b) seqüências com pelo menos 50% de identidade com uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46; e

c) seqüências que compreendem pelo menos uma seqüência parcial de pelo menos 10 resíduos de aminoácidos contíguos de uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46,

25 e/ou que compreendem pelo menos uma seqüência parcial de pelo menos 20 resíduos de aminoácidos contíguos, onde a seqüência parcial tem pelo menos 80% de identidade com a seqüência parcial correspondente de uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a etapa de aumentar a quantidade de proteína ou função de pelo menos uma proteína BI1 é atingida por um método biotecnológico.

5 9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a etapa de aumentar a quantidade de proteína ou função de pelo menos uma proteína BI1 é atingida por expressão recombinante da proteína BI1.

10 10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a etapa de aumentar a quantidade de proteína ou função de pelo menos uma proteína BI1 é atingida aumentando, por meio de biotecnologia, a proteína BI1 endógena.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de compreender

15 i. transformação estável de uma célula vegetal com um cassete de expressão recombinante compreendendo uma seqüência de ácidos nucleicos, que codifica para uma proteína BI1, em ligação operável com um promotor específico de tecido, o promotor sendo heterólogo em relação à seqüência de ácidos nucleicos que codifica para a proteína BI1;

20 ii. regeneração da planta a partir da célula vegetal; e

iii. expressão da seqüência de ácidos nucleicos que codifica para a proteína BI1 em uma quantidade, em pelo menos um tecido e por um período suficiente para gerar ou aumentar uma resistência fúngica na planta.

25 12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a planta é selecionada entre plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas.

13. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a planta é selecionada entre o grupo das plantas monocotiledôneas, em particular compreendendo trigo,

aveia, milheto, cevada, centeio, milho, arroz, sorgo, triticale, espelta ou cana-de-açúcar.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a planta é selecionada entre o grupo das plantas dicotiledôneas, em particular compreendendo Arabidopsis, algodão, trigo sarraceno, batata, repolho, agrião, linhaça, colza, tomate, berinjela, pimentão, girassol, tabaco, Tagetes, alface, Calendula, melão, abóbora/moranga, abobrinha, beterraba açucareira, ornamentais, árvores e legumes.

15. Método de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que a planta é selecionada entre o gênero Phaseolus (compreendendo feijão francês, feijão anão, feijão trepador (Phaseolus vulgaris), feijão de lima (Phaseolus lunatus L.), feijão tepari (Phaseolus acutifolius A. Gray), feijão da Espanha (Phaseolus coccineus)); o gênero Glycine (compreendendo Glicina soja, soja (Glycine max (L.) Merrill)); ervilha (Pisum) (compreendendo ervilhas-forrageiras (Pisum sativum L. convar. sativum), também chamadas ervilhas lisas ou tortas; ervilha medulosa (Pisum sativum L. convar. medullare Alef. emend. C.O. Lehm), ervilha doce (Pisum sativum L. convar. axiphium Alef emend. C.O. Lehm), também chamada ervilha de cheiro, ervilha de vagem ou ervilha de quebrar, (Pisum granda sneida L. convar. sneidulo p. shneiderium)); amendoim (Arachis hypogaea), trevo (Trifolium spec.), luzerna (Medicago), videira Kudzu (Pueraria lobata), luzerna comum, alfafa (M. sativa L.), grão-de-bico (Cicer), lentilhas (Lens) (Lens culinaris Medik.), tremoços (Lupinus); ervilhacas (Vicia), favarola, fava (Vicia faba), ervilha-do-campo (Lathyrus) (compreendendo chícharo (Lathyrus sativus), chícharo selvagem (Lathyrus tuberosus)); gênero Vigna (compreendendo vigna (Vigna aconitifolia (Jacq.) Maréchal), feijão azuki (Vigna angularis (Willd.) Ohwi & H. Ohashi), feijão rajado (Vigna mungo (L.) Hepper), feijão mungo (Vigna radiata (L.) R.

Wilczek), amendoim bambarra (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.), feijão arroz (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & H. Ohashi), *Vigna vexillata* (L.) A. Rich., *Vigna unguiculata* (L.) Walp., nas três subespécies de feijão-asparago, caupi, feijão de corda)); feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), o gênero

5 *Macrotyloma* (compreendendo amendoim de geocarpa (*Macrotyloma geocarpum* (Harms) Marechal & Baudet), faveira (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.)); feijão alado (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.), feijão inhame Africano (*Sphenostylis stenocarpa* (Hochst. ex A. Rich.) Harms), feijão preto egípcio, dólico, labe labe (*Lablab purpureus* (L.) Sweet), feijão

10 jacatupé (*Pachyrhizus*), feijão-guar (*Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taub.); e o gênero *Canavalia* (compreendendo feijão de porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), feijão espada (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.)).

16. Método de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que a planta é selecionada entre os legumes, preferivelmente a

15 tribo Phaseolae, especialmente preferivelmente o gênero *Glycine*, e em particular soja (*Glycine max*).

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a expressão da proteína BII em uma planta é aumentada pelo menos na epiderme, preferivelmente

20 essencialmente tecido-especificamente na epiderme, e/ou essencialmente não aumentada no mesófilo.

18. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a planta adicionalmente tem um fenótipo mlo-resistente, ou a expressão ou função de MLO, RacB e/ou NaOx

25 é inibida ou reduzida, em comparação com uma planta de controle, pelo menos na epiderme e/ou a expressão ou função de PEN2, SNAP34 e/ou PEN1 é aumentada pelo menos na epiderme em comparação com uma planta de controle.

19. Seqüência de polipeptídeo artificial que codifica a proteína

BI1 caracterizada pelo fato de compreender pelo menos uma seqüência selecionada a partir do grupo consistindo de

a) as seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30, 32, 38 ou 46;

5 b) seqüências com pelo menos 50% de identidade com uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30, 32, 38 ou 46; e

c) seqüências que compreendem pelo menos uma seqüência parcial de pelo menos 10 resíduos de aminoácidos contíguos de uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46,

e/ou que compreendem pelo menos uma seqüência parcial de pelo menos 20 resíduos de aminoácidos contíguos, onde a seqüência parcial tem pelo menos 80% de identidade com a seqüência parcial correspondente de uma das seqüências como mostrado em SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38 ou 46.

20. Seqüência de ácido nucléico artificial, caracterizada pelo fato de codificar uma seqüência de polipeptídeos como definida na reivindicação 19.

20 21. Cassete de expressão recombinante, caracterizado pelo fato de compreender uma seqüência de ácidos nucleicos, que codifica para uma proteína BI1, em ligação operável com um promotor, o promotor sendo heterólogo em relação à dita seqüência de ácidos nucleicos que codifica para a proteína BI1.

25 22. Cassete de expressão recombinante de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que

a. a proteína BI1 é distinguida por uma seqüência de polipeptídeos como definido na reivindicação 19, e/ou

b. o promotor é um promotor específico de tecido

selecionado a partir do grupo dos promotores específicos de epiderme.

23. Vetor recombinante, caracterizado pelo fato de compreender um cassete de expressão como definido em uma das reivindicações 21 ou 22.

5 24. Microorganismo recombinante, caracterizado pelo fato de compreender pelo menos um cassete de expressão como definido em uma das reivindicações 19 ou 20 e/ou pelo menos um vetor como definido na reivindicação 23.

10 25. Microorganismo recombinante de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de ser selecionado a partir do grupo consistindo de bactérias, fungos, em particular leveduras.

Figura 1a (Página 1 de 3)

		1	50
AtBI-1	(1)	-----MDAFSSFFDSQPGS---RSWSYDSLKNFRQISP	AVQNHHLKR
BnBI-1	(1)	-----MDSFSSFFDSQPGS---RSWSYDSLKNLRQISP	SVQNHHLKR
GmBI2	(1)	-----RLQAMDAFNSFFDS-----RNRWNYDTLKNFRQISP	VVQNHHLKQ
GmBI3	(1)	ITKTIRFDSLFSMDTFFKSPSSSSSSRSRWSYDTLKNFREIS	PLVQNHHLKL
HVBI-1	(1)	-----MDAFYSTS---SAAASGWGHDSLKNFRQISP	AVQSHHLKL
NtBI-1	(1)	-----MESCTSFFNSQSASS-RNRWSYDSLKNFRQISP	PFVQTHLKK
OsBI-1	(1)	-----MDAFYSTSSAYGAAASGWGYDSLKNFRQISP	AVQSHHLKL
TaBI11	(1)	-----	
TaBI18	(1)	-----FSGTFRNSRSDDFVLCELQRELPRCRDATLTV	
TaBI5 novo	(1)	-----	VAMPGR
ZmBI14	(1)	-----	
ZmBI16	(1)	-----	
ZmBI33	(1)	-----	
ZmBI8	(1)	-----	
Consenso	(1)	F S W YDSLKN R ISP VQ HLK	
		51	100
AtBI-1	(39)	VYLTLCALVASAFGAYLHVLWNIGGILTTIGCIGTMIWLLSC	PPYEHQK
BnBI-1	(39)	VYLTLCALVASAFGAYLHVLWNIGGILTTIGCFGSMIWLLSC	PPYEQK
GmBI2	(40)	VYFTLCFAVVAAAVGAYLHVLLNIGGFLTTVACMGSSFLLST	PPFEERK
GmBI3	(51)	VYFTLCFAVVAAAVGAYLHVLLNIGGFLTTLASIGSMFWLLST	PPFEERK
HVBI-1	(37)	VYLTLCFALASSAVGAYLHIALNIGGMLTMLACVGTIAWMF	SVPVYEERK
NtBI-1	(41)	VYLSLCCALVASAAGAYLHILWNIGGLLTLTGCVGSIVWLMAT	PLYEEQK
OsBI-1	(40)	VYLTLCVALAASAVGAYLHVALNIGGMLTMLGCVGSI	AWLFSVPVFEERK
TaBI11	(1)	-----	
TaBI18	(33)	VYVIPIVGRIKSAAGAYLHIALNIGGMLTMLACIGTIAWMF	SVPVYEERK
TaBI5 novo	(7)	RFRITYALPGLICRGCLPAHCPEHWRDADNARVYRNHRLD	VLGASLRGEE
ZmBI14	(1)	-----GSI	AWLFSVPVYEERK
ZmBI16	(1)	-----WNIGVRLTMLG	CIGSIDWLFSVPVYEERK
ZmBI33	(1)	-----WNIGGTLTMLG	CVGSI
ZmBI8	(1)	-----	
Consenso	(51)	VY TLC AL ASA GAYLHV NIGG LT LGCIGSI WL S	PVYEERK
		101	150
AtBI-1	(89)	RLSLLFVSAVLEGASVGPLIKVAIDVDPSILITAFVGT	AI
BnBI-1	(89)	RLSLLFVSAVLEGASVGPLIKVAIDVDPSILITAFVGT	AI
GmBI2	(90)	RVTLLMAASLFQGSIGPLIDLAIHIDPSLIFS	AFVGTALAFACFSGAAL
GmBI3	(101)	RLSLLMASALFQGASIGPLIDLAF	AFIDPGLIIGAFVATSLAFACFSAVAL
HVBI-1	(87)	RFGLLMGAALLEGASVGPLIELAIDFDPSILVTG	FVGT
NtBI-1	(91)	RIALLMAAALFKGASIGPLIELAIDFDPSIVIG	AFVGC
OsBI-1	(90)	RFGILLAAALLEGASVGPLIKLAVDFDSSILVT	AFVGT
TaBI11	(1)	-----	AAI
TaBI18	(83)	RFGLLMGAALLEGASVGPLIELAIDFDPSILVTG	FVGT
TaBI5 novo	(57)	EVWAADGCSLLEGASVGPLIELAIDFDPSILVTG	FVGT
ZmBI14	(17)	RYWLLMAAALLEGASVGPLIKLAVEFDPSILVT	AFVGT
ZmBI16	(30)	RYGLLMAAALLEGASVGPLVKLAVEFDPSILVT	AFVGT
ZmBI33	(30)	RYGLLMAAALLEGASVGPLVKLAVEFDPSILVT	AFVGT
ZmBI8	(1)	-----VIDLDSRILVT	AFVGT
Consenso	(101)	R LLMAAALLEGASVGPLI LAIDFDPSILVT	AFVGT

Figura 1b (Página 2 de 3)

		151	200
AtBI-1	(139)	LARRREYLYLGGLLSSGLSMLMWLQFASSIFG-GSASIFKFELYFGLLI	F
BnBI-1	(139)	LARRREYLYLGGLLSSGLSMLMWLQFASSIFG-GSASIFKFELYFGLLI	F
GmBI2	(140)	VARREYLYLGGLVSSGLSILLWLHFASSIFG-GSTALFKFELYFGLLV	F
GmBI3	(151)	VARREYLYLGGLLSSWLSILMWLHSDSSLFG-GSIALFKFELYFGLLV	F
HVBI-1	(137)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFVTSIFGHSS-GSFMFEVYFGLLI	F
NtBI-1	(141)	VARREYLYLGGLLSSGLSILFWLHFASSIFG-GSMALFKFEVYFGLLV	F
OsBI-1	(140)	VAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFAASIFGHST-GSFMFEVYFGLLI	F
TaBI11	(4)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFATSIFGHSS-GSFMFEVYFGLLI	F
TaBI18	(133)	IAKRREYLYLGGLLSSG-----LTIL	
TaBI5 novo	(107)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFATSIFGHSS-GSFMFEVYFGLLI	F
ZmBI14	(67)	VAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFAASIFGHQSTSSFMFEVYFGLLI	F
ZmBI16	(80)	VARREYLYLGGLLSSGLSILLWLQLAASIF-GHSATSFMEVYFGLLI	F
ZmBI33	(80)	WQAR-EYLYLGCSRSGSPSCSGCSSPPSS--ALRNSFMFEVYFGLLI	L
ZmBI8	(29)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFATSIFGHST-ATFMFEVYFGLLV	F
Consenso	(151)	VAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFASSIFG S ASFMFEVYFGLLI	F
		201	250
AtBI-1	(188)	VGVMVVDTQEIIIEKAHLGDMDYVKHSLTLFTDFVAVFVRILIIMLKNSAD	
BnBI-1	(188)	VGVMVVDTQDIIIEKAHLGDMDYVKHSLTLFTDFVAVFVRVLIIMLKNSAD	
GmBI2	(189)	VGIVVDTQEIVERAHLGDLDYVKHALTLFTDLVAVFVRILVIMLKNSTE	
GmBI3	(200)	VGIVVDTQEIIERAHFGDLDYVKHALTLFTDLAAIFVRILIIMLKNSSE	
HVBI-1	(186)	LGYMVYDTQEIIERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRVLIIMLKNAGD	
NtBI-1	(190)	VGIIIFDTQDIIIEKAHLGDLDYVKHALTLFTDFVAVFVRILIIMLKNASD	
OsBI-1	(189)	LGYMVYDTQEIIERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRILVIMLKNASD	
TaBI11	(53)	LGYMVYDTQEIIERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRILIIMLKNAGD	
TaBI18	(154)	L-----	
TaBI5 novo	(156)	LGYMVYDTQEIIERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRVLIIMLKNAAD	
ZmBI14	(117)	LGYMVYDTQEVIERAHHG-----	
ZmBI16	(129)	LGYYVYDT-----	
ZmBI33	(127)	LG-----	
ZmBI8	(78)	LGYMVYDTQEIIERAHRGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRILVIMMKNAQE	
Consenso	(201)	LGYMVYDTQEIIERAH GDMDYIKHALTLFTDFVAV VRILIIMLKNA D	
		251	300
AtBI-1	(238)	KEEKKKKRRN-----GDVK-I-LYGCYRVWPL-RYYLLALSIGDQTCF	
BnBI-1	(238)	KEDKKKKRRN-----D-KVRKKAK-SGCYVCFKK-----KRVG	
GmBI2	(239)	RNEKKKKRRD-----	
GmBI3	(250)	RNEKKKKRRD--ADRPTRAQASLQ-FSLWRIHN-----LFR-CWSLV-	
HVBI-1	(236)	KSEDKKKRKRK-----S-----	
NtBI-1	(240)	KEEKKKKRRN---CISGYSKTL-L-NLAFSCS---TSVDLRQVCC--FG	
OsBI-1	(239)	KSEEKKRKRKRS-ELLFPLCT-EKTAAIASTYYDRAALQLGFMVNTSSFA	
TaBI11	(103)	KSEDKKKRKRKRS-----	
TaBI18	(155)	-----	
TaBI5 novo	(206)	KVGGQEEEEEEKS-----	
ZmBI14	(135)	-----	
ZmBI16	(137)	-----	
ZmBI33	(129)	-----	
ZmBI8	(128)	KSQDEKKRK-----	
Consenso	(251)	K E KKKRR	

Figura 1c (Página 3 de 3)

```

301                                     350
AtBI-1 (278) H-KG-SACFTSAQVPSSDCK-----LECCSSFHKLLEFFKSL
BnBI-1 (269) VISTDMIALVFFTCLEQFW-----QHTLRICVFLLVTPDCEWI
GmBI2 (249) -----
GmBI3 (288) LVSYVFAVMVNVVRISFKHLHMYLPIS-CVV-HHTLV-KKKKKKKKKKKKK
HVBI-1 (248) -----
NtBI-1 (279) NASD-AARLCYAAACQCGYGGT-MVLF----PKHTIK-HACLHYIDNLRVY
OsBI-1 (287) FC-YGVNLLRFVVVVALQILACYMTRIFL-WWSR-SKRENTSSFATNLFA
Consenso (301)

```

```

351                                     400
AtBI-1 (312) VLLIASYQAKNNVGK-----SCLNFLKCVHFRKKKKKKKKKK-----
BnBI-1 (307) SILKLC-KLSVGS-----
GmBI2 (249) -----
GmBI3 (335) KKKKKKXXXXXXXXXXXXXX--XXXXXGVCGLRYSRHSNNH-EGSLW-PGLC-
HVBI-1 (248) -----
NtBI-1 (322) YLFLLPFAVLGCS-LYS-FSVMLDHLLS-RLISHIDGRNENSHRRPNLFK
OsBI-1 (334) FW-LMMILSPKKKK-----
Consenso (351)

```

```

401                                     450
AtBI-1 (348) -----
BnBI-1 (319) -----
GmBI2 (249) -----
GmBI3 (380) ACIDTVH-FGCNLCANS-YNVE-FI-EK-EEEEERLIG-PIAMCRVIWV
HVBI-1 (248) -----
NtBI-1 (369) TEAQL-----
Consenso (401)

```

```

451                                     500
GmBI3 (424) ENT-LAV-KLLVPLCS--LAMCLL-W-MSGFLLNIFICIC--S-YIV-TS
Consenso (451)

```

```

501         512
GmBI3 (464) FLGLKKEKKKKK
Consenso (501)

```

FIG.2

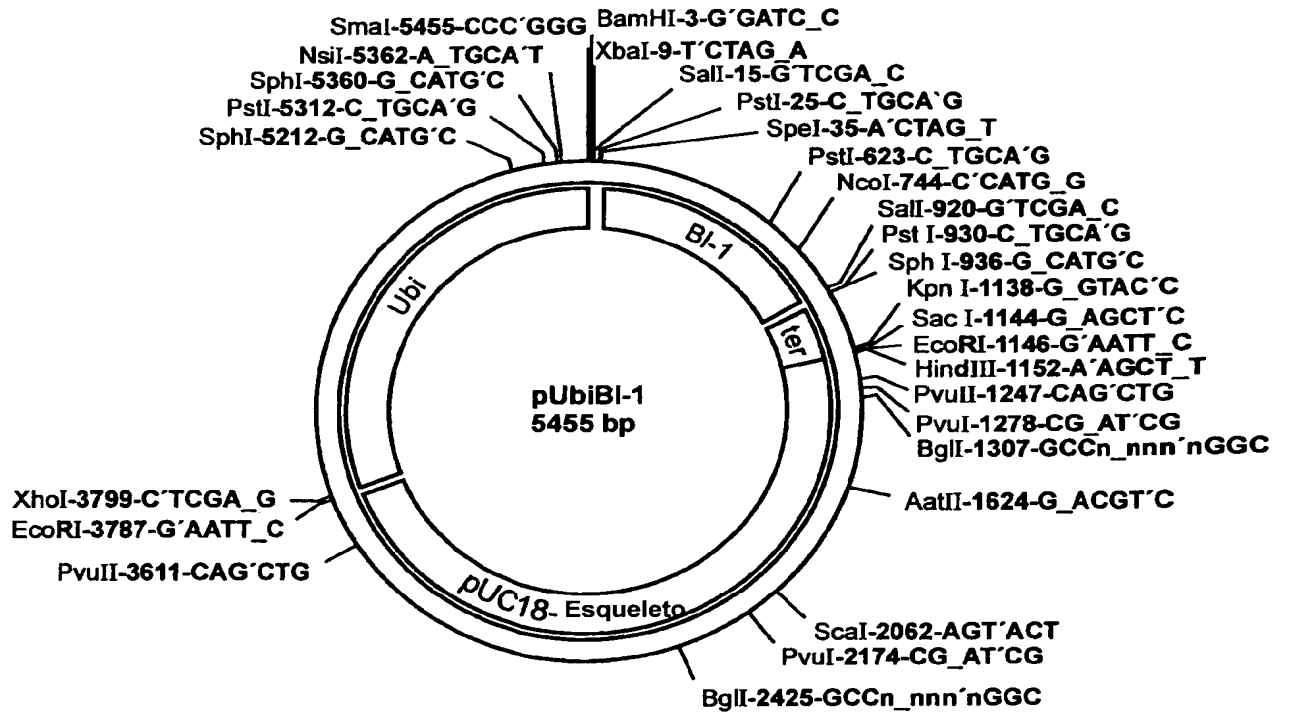


FIG.3

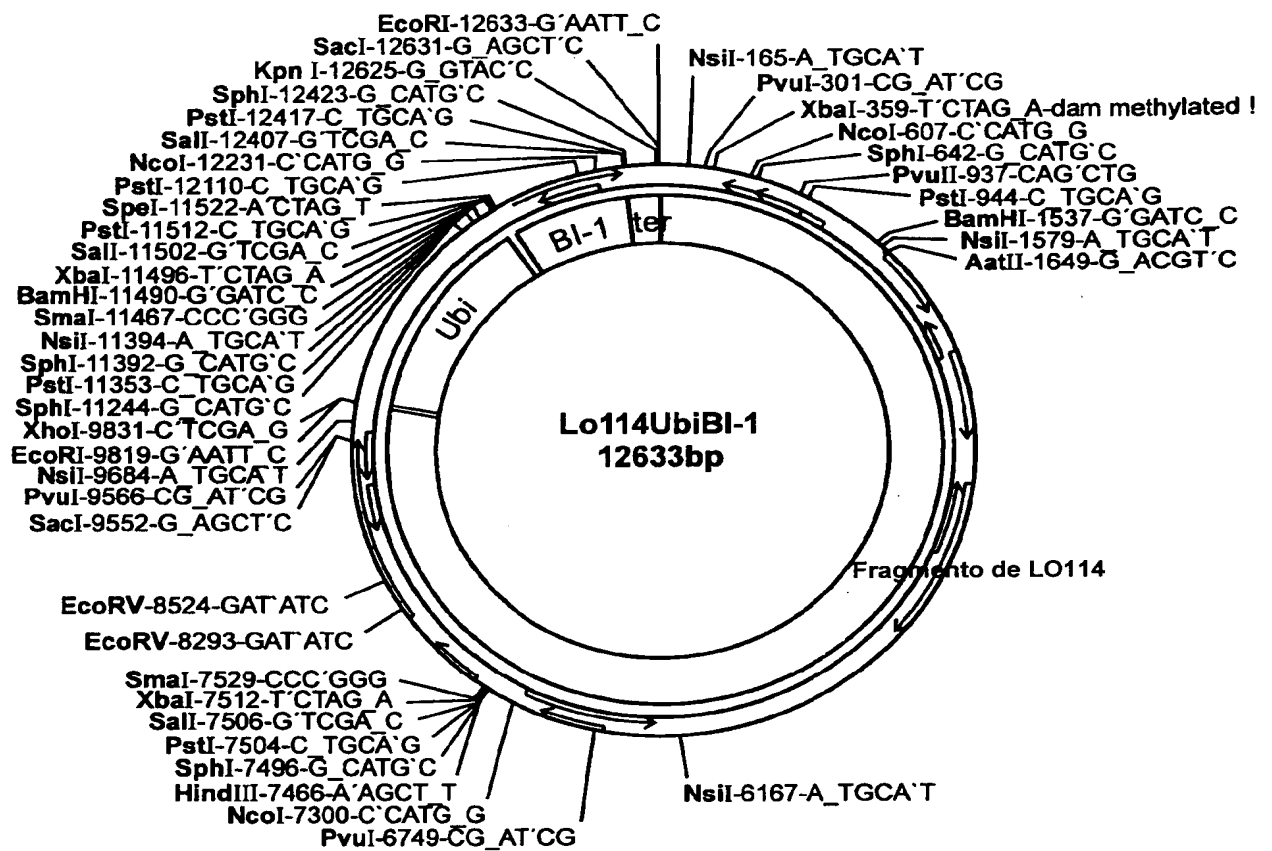
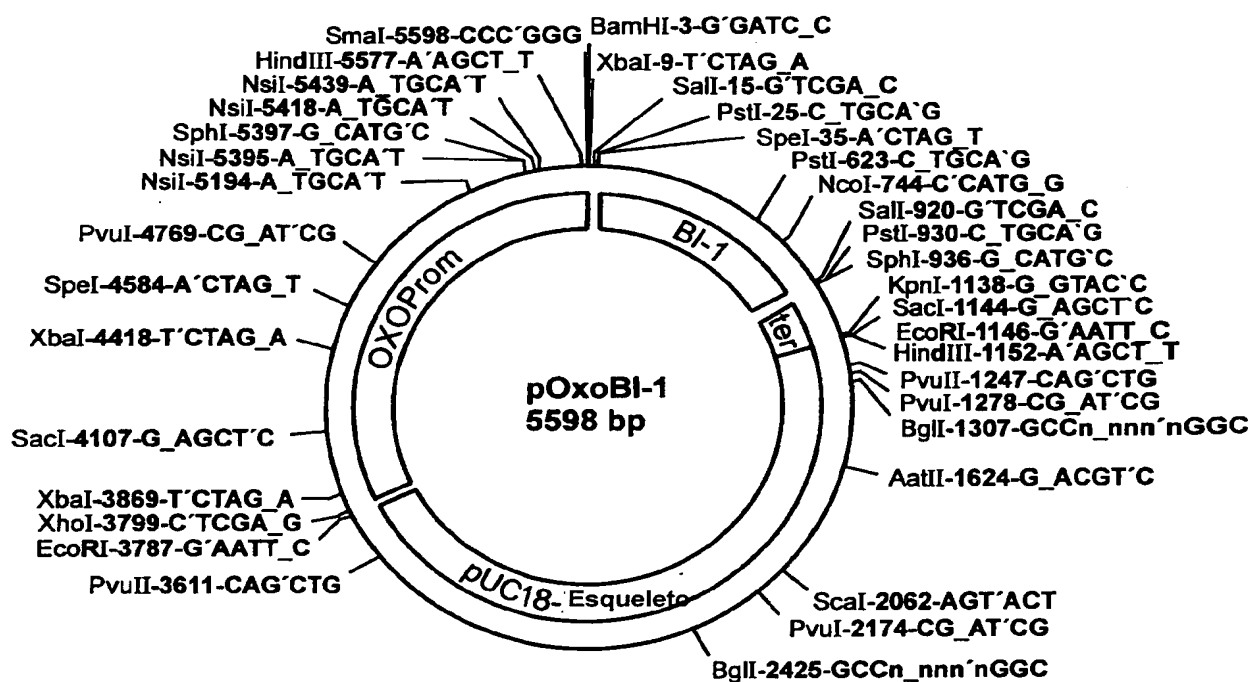


FIG.4



Figur 5

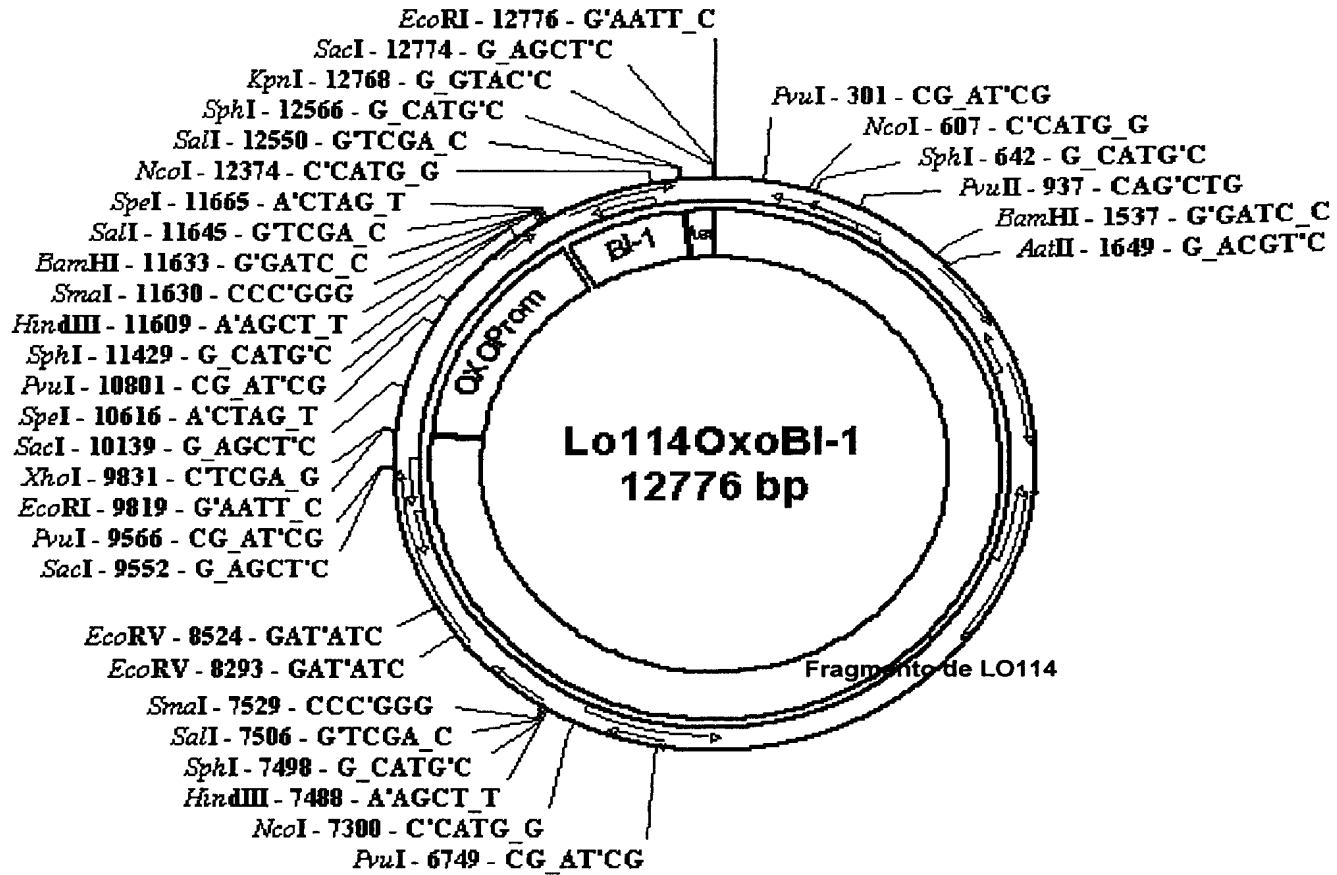


FIG.6

H. vul. NDAFYSTSS---AAASGNGHSSKNERGSSDYSSEKLAHITTCFALASSVVAHIA 57
O. sat. NDAFYSTSSAYGAAASGNGYSKNERGSSDYSSEKLAHITTCFALASSVVAHIA 60
A. tha. NDAFSSFFDS-QPGSRSSYSKNERGSSDYSSEKLAHITTCFALASSVVAHIA 59
H. sap. KNIEDRKIN-----FRALKESEHISTECHLEKVAASFALCHFVAASVVAHV 50

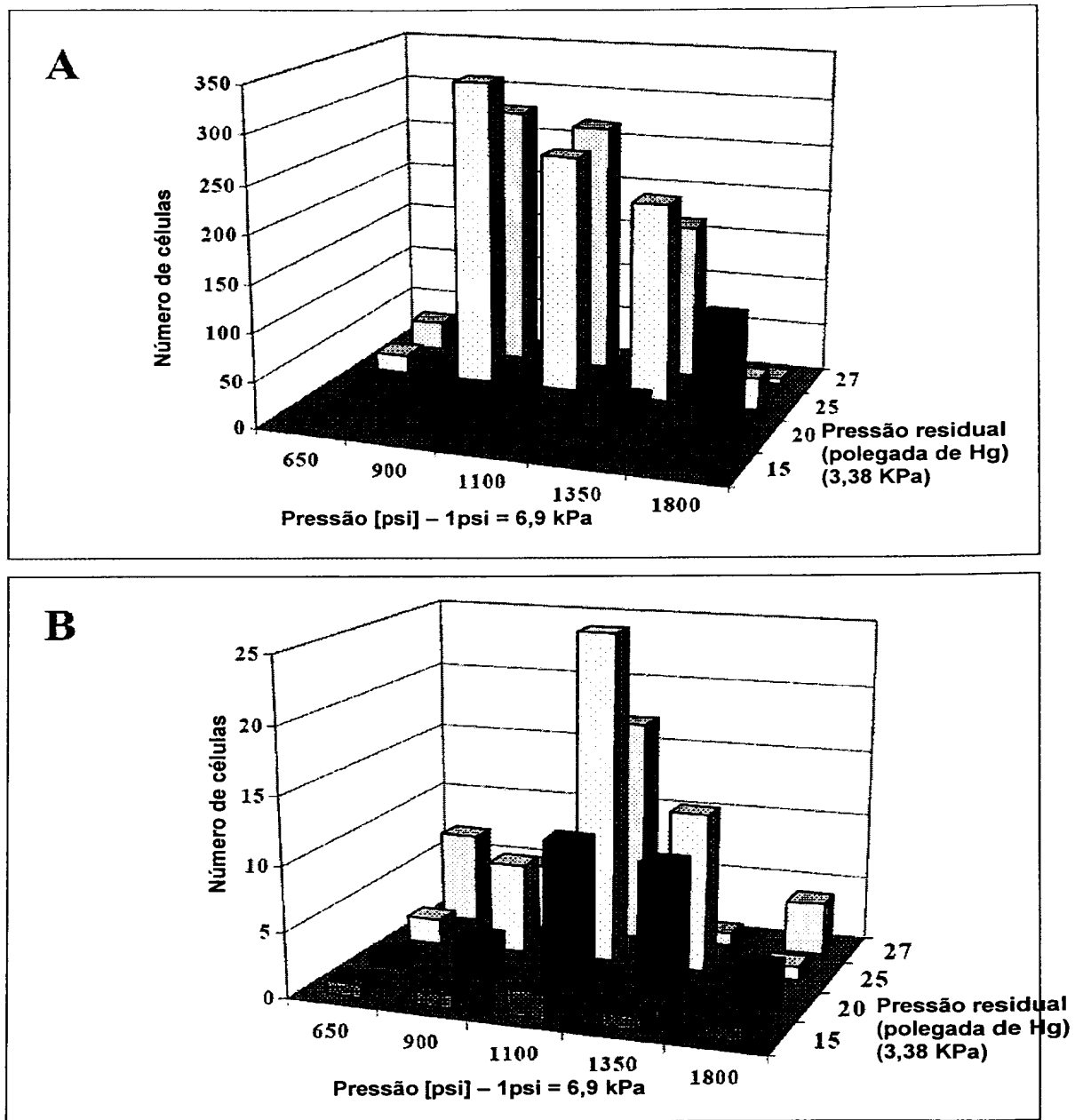
H. vul. LN--IGEMTHLACVGTIAHFSVVEVYEE--RSEFGLNGAANDDEASVDELTIELAIDFD 113
O. sat. LN--IGEMTHLCCVGSIALFSEVVFEE--RSEFGILAAALDEASVDELTIELAIDFD 116
A. tha. WN--IGEMTTICGIGTHIILLSCPEYEH--QELSLFVSIVDEASVDELTIELAIDVD 115
H. sap. THFIQAGLLSALGSLILHILMATEHSHETECELGLGAGFETETEVGLEDEALEFCIAVN 110

H. vul. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 173
O. sat. SHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 176
A. tha. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 175
H. sap. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 169

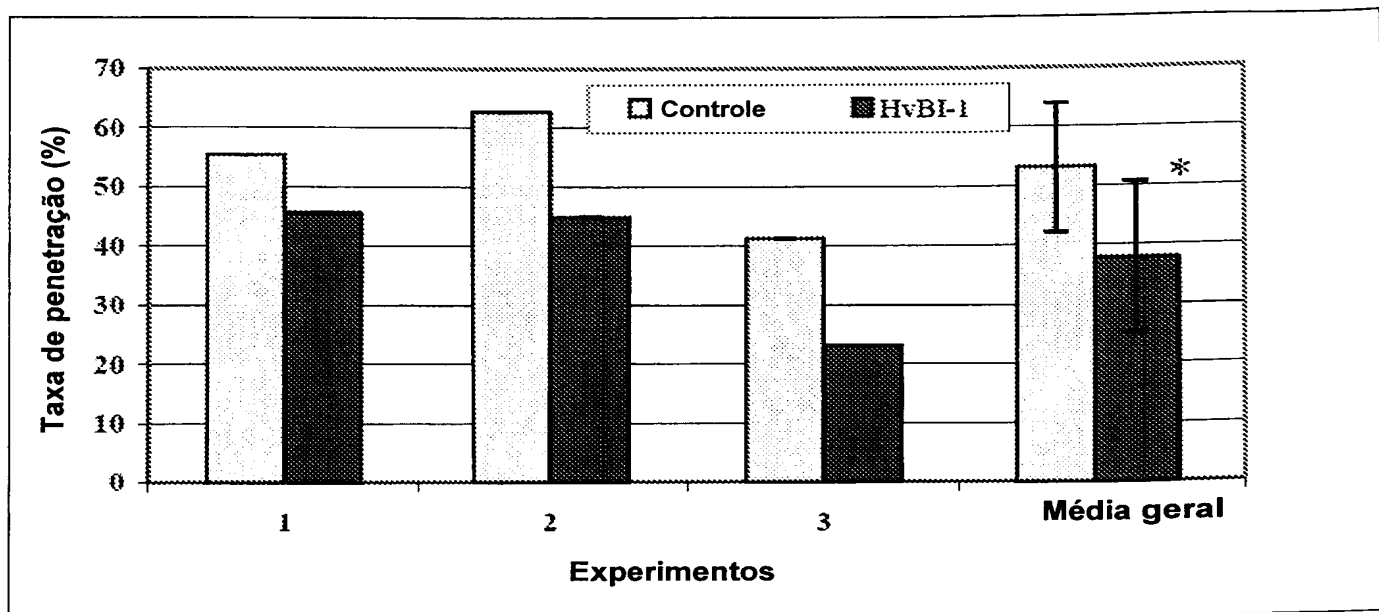
H. vul. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 233
O. sat. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 236
A. tha. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 235
H. sap. PHEVVGSTGSLAGSGSGMIIRKKEEHVDECEISGSLILNLQVTSIGCHSGS 229

H. vul. GSESDHKKRGRS 247
O. sat. SDSSEHKKRGRS- 249
A. tha. ADE-EEHKKRRN- 247
H. sap. KDS---EEKK--- 237

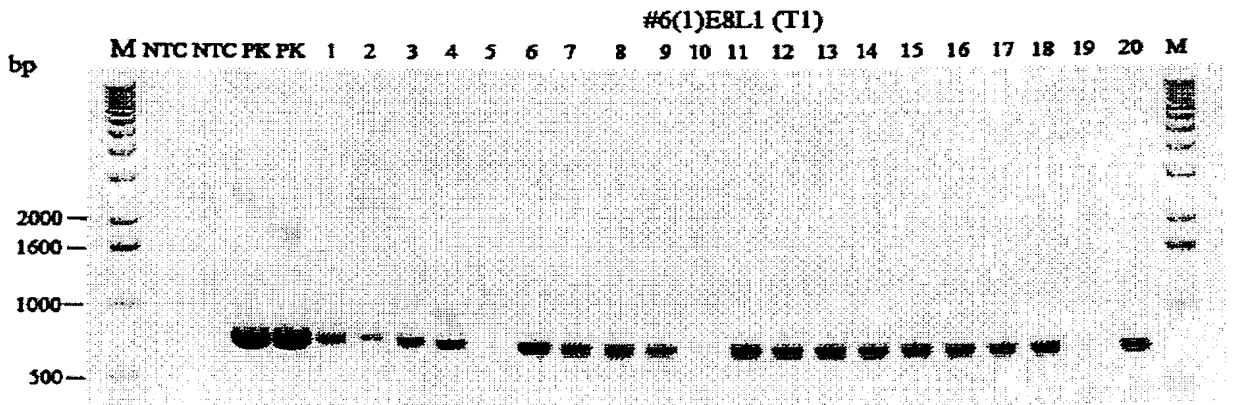
Figur 7



Figur 8



Figur 9



Figur 10

Experimento	Construções usadas	Células transformadas que interagem com ferrugem da soja	Células transformadas que são penetradas por ferrugem da soja	Taxa de penetração das células transformadas (%)
1	pGY1-GFP+pGY1	46	19	41,30
	pGY1-GFP+ pGY1-HvBI	13	3	23,08
2	pGY1-GFP+pGY1	65	36	55,38
	pGY1-GFP+ pGY1-HvBI	136	62	45,59
3	pGY1-GFP+pGY1	126	79	62,70
	pGY1-GFP+ pGY1-HvBI	203	91	44,83
		Controle		
		HvBI-1		
		Média geral tirada dos experimentos	53,13	37,83
		Desvio padrão	10,88	12,78
		Teste t	0,0309	

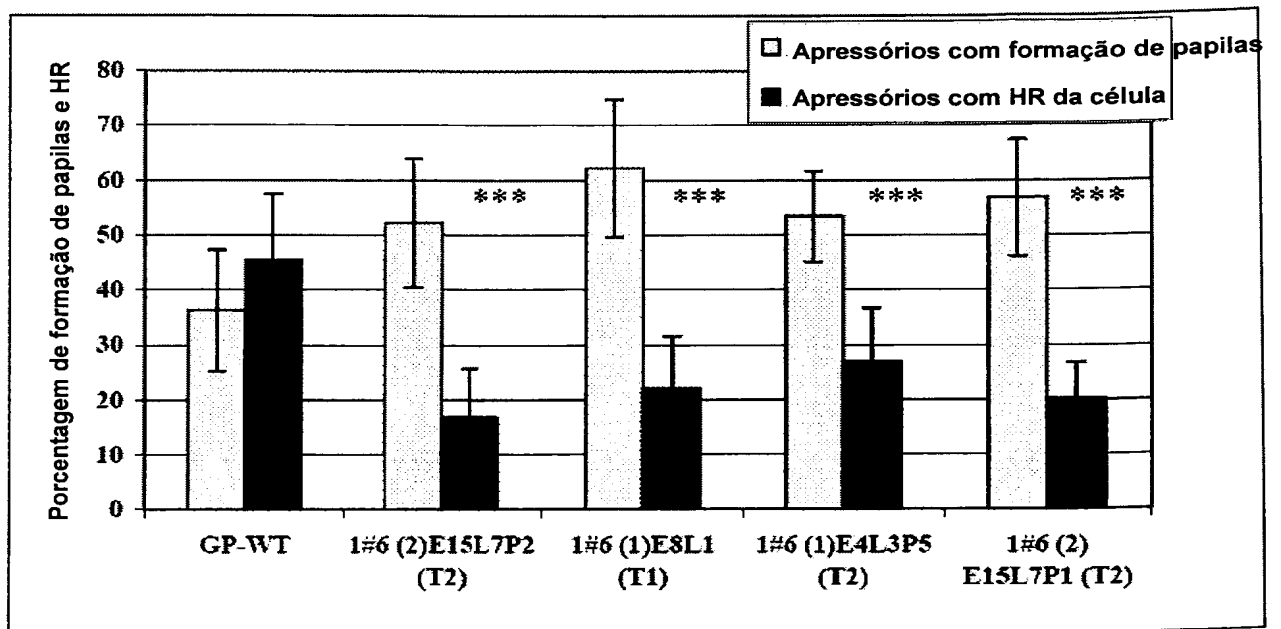
Figura 11a (Página 1 de 2)

Cevada	No. de Planta	Esporos	Esporos com apressórios	Apressórios com papilas	HR de células infectadas
1#6 (1)E8L1 (T1)	1	139	122	33	55
1#6 (1)E8L1 (T1)	2	167	136	76	23
1#6 (1)E8L1 (T1)	3	167	131	87	21
1#6 (1)E8L1 (T1)	4	194	124	81	26
1#6 (1)E8L1 (T1)	6	169	121	71	34
1#6 (1)E8L1 (T1)	7	188	123	73	28
1#6 (1)E8L1 (T1)	8	143	123	84	33
1#6 (1)E8L1 (T1)	9	156	122	82	16
1#6 (1)E8L1 (T1)	20	147	105	61	24
1#6 (1)E8L1 (T1)	18	175	138	97	25
1#6 (1)E8L1 (T1)	17	134	129	94	16
1#6 (1)E8L1 (T1)	16	176	122	50	51
1#6 (1)E8L1 (T1)	15	168	123	100	23
1#6 (1)E8L1 (T1)	14	168	124	77	11
1#6 (1)E8L1 (T1)	13	143	125	86	20
1#6 (1)E8L1 (T1)	12	153	122	83	25
1#6 (1)E8L1 (T1)	11	141	122	82	31
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	1	156	136	72	12
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	2	151	125	78	13
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	4	173	127	77	21
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	14	131	111	40	35
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	13	177	122	58	44
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	10	175	127	60	22
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	9	164	114	60	16
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	8	175	126	96	17
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	7	152	131	52	18
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	6	181	128	53	10
1#6 (2)E15L7P2 (T2)	5	207	129	74	19
GP-WT	1	159	115	54	42
GP-WT	2	150	127	54	58
GP-WT	3	169	123	21	80
GP-WT	4	175	120	68	35
GP-WT	5	162	125	52	66
GP-WT	6	160	121	53	61
GP-WT	7	137	124	45	59
GP-WT	8	160	120	43	63
GP-WT	9	161	126	30	90
GP-WT	10	125	119	46	64
GP-WT	11	165	138	43	53
GP-WT	12	146	126	55	33
GP-WT	13	139	113	34	51
GP-WT	14	147	123	47	50
GP-WT	15	151	130	25	65
GP-WT	16	209	124	33	75
GP-WT	17	210	147	29	46
GP-WT	18	151	132	72	42
GP-WT	19	207	122	50	50
GP-WT	20	199	133	52	52

Figura 11b (Página 2 de 2)

Cevada	No. de Planta	Esporos	Esporos com apressórios	Apressórios com papilas	HR de células infectadas
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	20	149	100	46	26
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	19	176	120	81	15
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	18	181	129	94	12
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	17	200	122	70	21
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	16	170	121	76	20
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	15	170	128	62	22
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	14	156	126	44	43
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	13	116	94	34	32
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	12	204	130	75	30
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	11	194	122	69	30
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	10	145	121	60	20
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	9	165	121	64	30
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	8	192	122	80	23
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	7	184	127	74	28
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	6	167	121	85	13
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	5	169	129	67	20
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	4	182	124	80	22
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	3	147	117	77	24
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	2	151	121	81	25
1#6 (2) E15L7P1 (T2)	1	174	119	59	23
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	20	153	121	74	36
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	19	150	143	82	39
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	18	152	122	82	19
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	17	143	131	81	12
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	16	179	149	76	39
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	15	153	121	46	43
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	14	155	124	58	41
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	13	145	126	67	33
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	12	160	125	67	45
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	11	169	123	65	46
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	10	157	124	57	46
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	9	180	124	68	47
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	8	168	120	78	25
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	7	153	128	76	15
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	6	165	127	78	37
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	5	144	136	68	37
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	4	134	132	53	55
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	3	188	156	75	34
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	2	158	130	77	14
1#6 (1) E4L3P5 (T2)	1	162	123	51	30

Figura 12



RESUMO

“MÉTODO PARA GERAR OU AUMENTAR UMA RESISTÊNCIA A
PELO MENOS UM FUNGO BIOTRÓFICO EM UMA PLANTA OU UMA
PARTE DE UMA PLANTA, SEQÜÊNCIA DE POLIPEPTÍDEO
5 ARTIFICIAL, SEQÜÊNCIA DE ÁCIDO NUCLÉICO ARTIFICIAL,
CASSETE DE EXPRESSÃO RECOMBINANTE, VETOR
RECOMBINANTE, E, MICROORGANISMO RECOMBINANTE”

A presente invenção se refere a métodos para gerar ou
aumentar resistência em uma planta ou uma parte de uma planta para pelo
10 menos um patógeno biotrófico aumentando a quantidade de proteína ou
função de pelo menos uma proteína, inibidor de Bax-1 (BI-1), em pelo menos
uma parte da planta. A invenção se refere adicionalmente a seqüências de
polipeptídeos e ácidos nucleicos que codificam para uma proteína BI-1, e
cassetes de expressão, vetores e organismos que incluem tais seqüências ou
15 uma tal proteína.