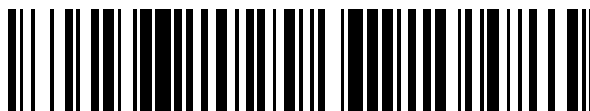


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 658**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.08.2010 PCT/IN2010/000573**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2011 WO2011024207**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2010 E 10774285 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2470663**

54 Título: **Polinucleótidos derivados de garbanzo y usos de éstos**

30 Prioridad:

29.08.2009 IN DE15652009

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.06.2017

73 Titular/es:

NATIONAL INSTITUTE OF PLANT GENOME RESEARCH (100.0%)

**Aruna Asaf Ali Marg, PO Box 10531
New Delhi 110 067, IN**

72 Inventor/es:

**CHAKRABORTY, SUBHRA;
CHAKRABORTY, NIRANJAN;
DATTA, ASIS;
ASRAF, NASHEEMAN;
BASU, SWARAJ;
NAG, PAPRI y
SINGH, MANINDRA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 620 658 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Polinucleótidos derivados de garbanzo y usos de éstos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a polinucleótidos derivados de garbanzo asociados con el crecimiento y el desarrollo y respuesta a hormonas y estrés incluyendo inmunidad en plantas.

Antecedentes de la invención

10 El fenoma definitivo de cualquier organismo está modulado por la transcripción regulada de muchos genes. La caracterización de la constitución genética es así crucial para entender la base molecular de la diversidad fenotípica, evolución y respuesta a estímulos intra- y extra-celulares. Las células vivas han evolucionado para percibir e integrar diferentes señales de su alrededor y para responder mediante la modulación de la expresión génica apropiada. Las etiquetas de secuencia expresada (EST) proporcionan un recurso invaluable para el análisis de la expresión génica asociada con órganos específicos, condiciones de crecimiento, procesos de desarrollo y respuestas a varios estreses medioambientales (White *et al.*, 2000; Ewing *et al.*, 1999; Jantasuriyarat *et al.*, 2005). Salva el hueco entre las secuencias genómicas y la función génica. Las EST han sido útiles para comparaciones intra- e intergenómicas, descubrimiento de genes, generación de polimorfismos de nucleótido único (SNP), clonación de genes de secuencias peptídicas MStag, caracterización del patrón de transcritos, identificación de variantes de corte y empalme, anotaciones erróneas en la base de datos genómica y predicción incompleta de la estructura génica (Ramírez *et al.*, 2005; Udall *et al.*, 2006). Además, el transcriptoma de células y órganos comprende un conjunto focalizado de transcritos que cumple funciones celulares discretas pero variadas. Los análisis del transcriptoma específico de órgano proporcionan información adicional acerca de la localización de la función génica y compartimentalización de ruta. Mientras la investigación sobre el transcriptoma está bastante avanzada en animales, levaduras, bacterias y plantas de referencia como *Arabidopsis* y arroz (Takabatake *et al.*, 2008; Melamed *et al.*, 2008; LeBlanc *et al.*, 2008; Wellmer *et al.*, 2006; Satoh *et al.*, 2007) existe una información relativamente menor en plantas cultivadas.

25 Las leguminosas son cultivos agrícolas y comerciales valiosos que sirven como fuentes de nutrientes importantes para la dieta humana y alimento animal. Aproximadamente un tercio de la nutrición humana proviene de las leguminosas y en muchos países en desarrollo, las leguminosas sirven como la única fuente de proteína. Muchos metabolitos secundarios en las leguminosas se han implicado en la defensa y tienen un interés particular como nuevas sustancias farmacéuticas. Cinco tribus constituyen la familia fabaceae, de las cuales un género representativo cada uno de cuatro tribus se ha usado para generar EST. Sin embargo, la tribu ciceri que tiene un único género *Cicer*, ha permanecido como la leguminosa sub-estudiada. El garbanzo es la tercera leguminosa alimentaria más importante en el mundo crecida en más de 40 países representando todos los continentes. A pesar de su importancia en la evolución de las plantas, papel en la nutrición humana y adaptación al estrés, hay muy pocos datos disponibles sobre EST y transcriptoma diferencial, dejando aparte las firmas génicas específicas de genotipo. Se crece en aproximadamente 10 mha áreas en todo el mundo y la producción global supera los 8 millones de toneladas. En muchas regiones deficientes en agua del mundo, sirve como un alimento rico en proteínas importante y un producto comercial crecientemente valioso. El garbanzo tiene una de las composiciones nutricionales más altas de las leguminosas comestibles y no contiene ningún factor anti-nutricional importante específico, en lugar de esto se usa en medicina herbal. A pesar de la importancia del garbanzo en el estudio de la evolución de las plantas, su papel en el requerimiento nutricional es los seres humanos, y la adaptación al estrés no se sabe nada acerca de los genes responsables para estos rasgos - principalmente porque es recalcitrante para el análisis genético. A diferencia de las plantas genéticamente manejables tales como tomate, maíz y *Arabidopsis*, el garbanzo produce un número limitado de semillas. Además, su genoma es grande (732 Mpb) comparado con *Arabidopsis* (125 Mpb). Consecuentemente, el garbanzo ha permanecido fuera del ámbito tanto de iniciativas modernas de secuenciación genómica como de estudios de genómica funcional a gran escala. Las secuencias genómicas de plantas anotadas completamente disponibles actualmente hacen posible estudiar los genomas de plantas cultivadas genéticamente complejas importantes desde un punto de vista agrícola tales como el garbanzo comparando las EST derivadas de ellas. Sólo muy recientemente, se ha proporcionado atención desde la perspectiva tanto genómica como proteómica a esta leguminosa alimentaria importante. Debido a su posición evolutiva como un nodo clave en las leguminosas, así como su significancia nutricional y medicinal para los seres humanos, el garbanzo es idealmente adecuado para la prospección genómica.

55 Los programas transcripcionales que regulan el desarrollo y respuesta al estrés están controlados de forma exquisita en el espacio y el tiempo. La elucidación de estos programas que subyacen el desarrollo es esencial para entender la adquisición de identidad celular y tisular. La raíz en las plantas superiores es una estructura altamente organizada que juega un papel clave en la adquisición de nutrientes y la captación de agua además de su función principal de soporte mecánico para la planta. No obstante, es esencialmente el punto de entrada para los patógenos que se encuentran en la tierra en el cuerpo de la planta. De los patógenos de las raíces presentes en la tierra, el marchitamiento vascular en la enfermedad más importante. El marchitamiento vascular causado por *Fusarium* es evolutivamente ubicuo y afecta a plantas cultivadas a lo largo de familias. En particular, el marchitamiento del garbanzo, está ampliamente extendido en aparición y de media causa una pérdida sustancial de 10 a 15% en la

5 producción cada año en el mundo. Durante el proceso de infección, el hongo invade las raíces y se disemina sistémicamente a través del sistema vascular del huésped, rompiendo las paredes celulares para formar geles que bloquean el sistema de transporte de la planta causando de esta manera los síntomas de amarilleamiento y marchitamiento. En general, los síntomas de marchitamiento aparecen como manchas cloróticas en las hojas inferiores seguido de descoloración y necrosis. La descoloración vascular ocurre desde las raíces hasta los tallos jóvenes, seguido de un amarilleamiento y marchitamiento de las hojas antes de la necrosis final. Cuando se arranca el tallo, se divide verticalmente y la descoloración interna es visible en médula y xilema. Los genotipos susceptibles tardan menos de 25 días en marchitarse mientras los resistentes no muestran ningún síntoma de marchitamiento hasta 60 días. *Fusarium*, un patógeno ubicuo que causa enfermedad no sólo en plantas sino que también es una amenaza para otros organismos vivos, incluyendo el ser humano (Nucci y Anaissie, 2007; Sander *et al.*, 1998).

La tecnología de micromatrices es una herramienta potente que puede usarse para identificar la presencia y el nivel de expresión de un gran número de polinucleótidos en un único ensayo. La potencia de la tecnología de micromatrices es que permite la identificación de la expresión génica diferencial simplemente comparando patrones de hibridación.

15 Las respuestas inmunes están controladas por cambios en la expresión génica dinámicos y variables que dan lugar a la reprogramación de muchas funciones celulares. Se ha postulado que el resultado de la respuesta de defensa parece estar modulado finamente por la intercomunicación entre varias rutas de señalización (Koomneef y Pieterse, 2008) resultando en efectos cuantitativos y/o cinéticos en la respuesta de resistencia (Katagiri, 2004). Los factores de transcripción básicos de hélice-bucle-hélice (bHLH) representan una familia de proteínas que contiene un dominio bHLH, un resto implicado en la unión a ADN y la dimerización (Murre *et al.*, 1989). Se sabe que los miembros de la superfamilia de proteínas bHLH TF realizan diversas funciones reguladoras. En animales, actúan como factores reguladores en diferentes procesos tales como neurogénesis, cardiogénesis, miogénesis, y hematopoyesis (Jones, 2004). Aún así, los miembros de la superfamilia bHLH TF se han estudiado en mamíferos, pero la investigación de bHLH de plantas está todavía en su infancia.

25 Las mejoras genéticas en plantas más allá de las capacidades actuales son necesarias urgentemente para la producción de más alimentos en el mundo, lo que implica de esta manera crecimiento y desarrollo aumentado de plantas con tolerancia incrementada al estrés. Los estreses medioambientales incluyendo enfermedad tienen efectos importantes en la producción agrícola y la seguridad alimentaria. Durante el pasado, ha habido intentos para desarrollar variedades de plantas de alto rendimiento mediante la ingeniería de la tolerancia al estrés. Aunque ha habido casos aislados de informes sobre el desarrollo de plantas con tolerancia incrementada al estrés no se ha conseguido mucho respecto a la mejora genética de plantas en términos de inmunidad. Así, hay una necesidad crítica de descubrir moléculas tales como polinucleótidos, genes, EST con importancia agrícola, sus análisis funcionales y explotación para la producción sostenible de cultivos.

Compendio de la invención

35 Un aspecto de la presente descripción se refiere a EST aisladas de garbanzo que tienen una secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 1 a 6272, en la que las EST están relacionadas con varias funciones seleccionadas de un grupo que consiste en señalización celular, transcripción, procesamiento y modificación del ARN, traducción, modificación posterior a la traducción, recambio de proteínas, unión de nucleótidos, metabolismo, transporte celular, homeostasis, respuesta a hormonas, ciclo celular, metabolismo del ADN, desarrollo, organización del citoesqueleto, redox celular, metabolismo energético, metabolismo secundario, defensa y respuesta al estrés.

Un aspecto de la presente invención se refiere a una secuencia de nucleótidos aislada como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274.

45 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un vector recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, en el que la secuencia de nucleótidos está unida de forma operativa a un promotor.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una célula huésped recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, en el que la secuencia de nucleótidos está unida de forma operativa a un promotor, en el que la célula huésped es *E. coli*, *Agrobacterium* o levadura.

Otro aspecto más de la presente invención se refiere a un método para mejorar la inmunidad frente a un patógeno fúngico en plantas, comprendiendo dicho método transformar una célula de planta con un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, seleccionar la célula de planta transformada y regenerar la célula de planta transformada en una planta transgénica que muestra una inmunidad mejorada frente al patógeno fúngico comparada con plantas no transformadas.

Un aspecto más de la presente invención se refiere a una planta transgénica que tiene inmunidad mejorada frente a un patógeno fúngico, en el que la planta transgénica sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de

nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273, una semilla transgénica obtenida de ésta y la progenie transgénica de dicha semilla.

Descripción breve del dibujo adjunto

- 5 La Figura 1 muestra análisis comparativos de genes que responden al estrés de garbanzo con genes relacionados con el estrés conocidos previamente. Venn representa la superposición entre genes ubicuos, canónicos y no canónicos y los números significan genes que responden al estrés únicos y comunes.
- 10 La Figura 2 muestra un mapa de calor y categorías funcionales de genes regulados al alza durante interacciones con *Ca-Fusarium* (A) compatibles y (B) incompatibles. La vista de árbol representa los patrones de expresión cinética de genes que presentan una respuesta de regulación significativa a infección por *Fusarium* a diferentes puntos de tiempo posteriores a la inoculación del patógeno.
- La Figura 3 muestra un mapa de calor y categorías funcionales de genes regulados a la baja durante interacciones con *Ca-Fusarium* (A) compatibles y (B) incompatibles. La vista de árbol representa los patrones de expresión cinética de genes que presentan una respuesta de regulación significativa a infección por *Fusarium* a diferentes puntos de tiempo posteriores a la inoculación del patógeno.
- 15 La Figura 4 muestra análisis comparativos de CaEST expresadas diferencialmente. Venn representa (A) patrón de expresión total diferencial exclusivo y común durante interacciones compatibles e incompatibles, (B) patrón de expresión regulado al alza diferencial exclusivo y común durante interacciones compatibles e incompatibles y (C) patrón de expresión regulado a la baja diferencial exclusivo y común durante interacciones compatibles e incompatibles.
- 20 La Figura 5 muestra análisis comparativos de genes que responden al estrés de garbanzo que tienen una expresión en micromatriz diferencial con genes relacionados con el estrés conocidos previamente. Venn representa la superposición entre genes ubicuos, canónicos y no canónicos y los números significan genes que responden al estrés únicos y comunes expresados diferencialmente.
- 25 La Figura 6 muestra que *IRF817* es un gen sin intrones y de bajo número de copias. (A) Producto amplificado por PCR de *IRF817* usando ADN genómico como molde y cebadores de extremo de ORF. El carril 1 y 2 indican escalera de 1Kb y producto de PCR, respectivamente, y (B) transferencia Southern que indica el número de copias de *IRF817*. Cada carril se cargó con 10µg de ADN genómico de garbanzo digerido con las endonucleasas de restricción indicadas y la transferencia se hibridó con ADNc de longitud completa marcado con ³²P de *IRF817* como sonda. El marcador de peso molecular en kb se indica a la izquierda.
- 30 La Figura 7 muestra el patrón de expresión específico de genotipo de *IRF817* en respuesta a estrés por patógeno según se determina por análisis de transferencia northern, Genotipos de garbanzo (A) susceptible (JG-62) y (B) resistente (WR-315). Los carriles representan varios puntos de tiempo posteriores a la infección. Se separaron 20µg de ARN total de raíz aislado de plántulas de garbanzo de 25 días recogidas a varios puntos de tiempo después de la infección por el patógeno por gel de agarosa 1,5%. La transferencia de ARN se hibridó con un fragmento de ADNc marcado con ³²P de *IRF817*. La imagen de ARNr teñido con bromuro de etidio en el panel inferior muestra una carga y calidad de ARN equivalentes.
- 35 La Figura 8 muestra el patrón de expresión específico de órgano de *IRF817* según se determina por análisis de transferencia northern. La transferencia de ARN se hibridó con un fragmento de ADNc marcado con ³²P de *IRF817*. La imagen de ARNr teñido con bromuro de etidio en el panel inferior muestra una carga y calidad de ARN equivalentes; L, hoja; R, raíz; S, tallo.
- 40 La Figura 9 muestra el nivel relativo de transcritos de *IRF817* en respuesta a varias hormonas según se determina por PCR en tiempo real. Los niveles de transcritos se normalizaron por el nivel del transcrito 18S. Las barras de error indican SD de tres experimentos de PCR en tiempo real. C indica el control.
- 45 La Figura 10 muestra la localización sub-celular de *CaIRF817*. Se bombardearon células epidérmicas de cebolla con (A) vector vacío (GFP) y (B) construcción de fusión génica (*IRF817*-GFP). La fluorescencia de GFP se detectó usando microscopio confocal láser de barrido. El panel derecho muestra la imagen de contraste de fase correspondiente.
- 50 La Figura 11 muestra que la raíz transgénica que expresa *IRF817* es inmune a estrés por patógenos. (A-D) La colonización de la raíz por el patógeno está asociada espacialmente con la ausencia de núcleos de planta intactos. Segmento de raíz con tinción doble para núcleos de planta intactos (DAPI; B y D) e hifas fúngicas (WGA-Rojo Texas; A y C). Raíz control altamente colonizada por hifas fúngicas (A) contiene sólo unos pocos núcleos teñidos con DAPI (B) mientras la raíz transgénica con menor colonización fúngica (C) contiene un alto número de núcleos teñidos con DAPI (D).
- La Figura 12 muestra un diagrama esquemático del vector de expresión de bacterias recombinante GST-*IRF817*
- 55 La Figura 13 muestra un diagrama esquemático del vector de expresión de levadura recombinante Gal4-*IRF817*

La Figura 14 muestra un diagrama esquemático del vector de expresión de plantas recombinante IRF817-GFP

La Figura 15 muestra un diagrama esquemático del vector de expresión de plantas recombinante CamV35S::IRF817

Listado de secuencias: La solicitud de patente contiene una sección larga de listado de secuencias. Una copia del listado de secuencias se proporciona en la presente memoria en formato electrónico.

5 Descripción detallada de la invención

Las etiquetas de secuencias expresadas, o EST, son secuencias cortas de clones seleccionados aleatoriamente de una biblioteca de ADNc (o ADN complementario) que son representativas de los insertos de ADNc de estos clones seleccionados aleatoriamente.

Las etiquetas de secuencias expresadas, o EST o polinucleótidos pueden usarse indistintamente aquí.

10 La presente descripción proporciona polinucleótidos asociados con transcriptoma que responde a marchitamiento vascular en garbanzo. Además, la presente invención proporciona agrupaciones de genes que están regulados en respuesta a una condición de estrés en garbanzo. Dichas agrupaciones incluyen, por ejemplo, polinucleótidos de plantas cuya expresión se altera en respuesta a una condición de estrés. La identificación de dichas agrupaciones, usando tecnología de micromatrices, ha permitido la identificación de varios genes de plantas tales como genes regulados por estrés y genes asociados con respuesta a hormonas y crecimiento y desarrollo de las plantas. Así, la descripción proporciona partes de polinucleótido aisladas de genes regulados por estrés en planta de garbanzo. Dichas secuencias incluyen, pero no están limitadas a, secuencias que codifican factores de la transcripción; enzimas, incluyendo quinasas; y proteínas estructurales, modificadores de la cromatina, moléculas de señalización, proteínas que responden a hormonas, proteínas de traducción y proteínas implicadas en modificaciones posteriores a la traducción y destino de proteínas.

15 La presente descripción proporciona etiquetas de secuencias expresadas (EST) aisladas de garbanzo. La presente descripción proporciona particularmente 6.272 secuencias génicas de ruta de respuesta inmune que proporcionarían información espacial dependiente de genotipo sobre la presencia y abundancia relativa de cada gen. El ensamblaje de las secuencias dio lugar a la identificación de un conjunto de CaUnigenes de 2.013 transcritos que comprende 25 973 cóntigos y 1.040 singletones, dos tercios de los cuales representa nuevos genes de garbanzo no descubiertos hasta ahora.

La presente descripción proporciona además 209 familias de genes y 262 SNP específicos de genotipo. Además, se identificaron varios reguladores de la transcripción nuevos indicando su posible papel en la respuesta inmune. El análisis transcriptómico reveló 649 genes no canónicos además de muchos candidatos inesperados con funciones bioquímicas conocidas, que nunca se han asociado con el transcriptoma que responde al estrés por patógenos.

30 En el presente estudio, se usaron dos genotipos JG-62 y WR-315 que se sabe que son susceptible y resistente a marchitamiento por *Fusarium*, respectivamente. La localización del hongo estaba limitada al cultivar resistente mientras ocurre una colonización extensa en el susceptible sobre el cuarto a quinto días después de la infección. Externamente, el grado de colonización micelial se manifiesta en la forma de oscurecimiento de las raíces después de 72 horas en el genotipo susceptible mientras no es evidente dicha descoloración en el resistente.

35 Para entender las redes reguladoras y rutas metabólicas que gobiernan las respuestas celulares específicas de genotipo frente a diferentes señales, hemos iniciado ESTableciendo un conjunto de datos CaUnigenes y un análisis amplio de genoma de la expresión génica en esta leguminosa alimentaria. Como una primera etapa hacia esto, hemos desarrollado EST y transcriptoma que responde al estrés de garbanzo, como una base para futuras comparaciones de transcriptoma y proteoma de mutantes genéticos, plantas infectadas por patógeno y/o pulsadas medioambientalmente.

40 La presente descripción proporciona un total de 6.272 EST de alta calidad se identificaron, anotaron funcionalmente, se analizaron computacionalmente y se clasificaron en diferentes categorías funcionales. De los 2.013 genes, 807 se identificaron como previamente no caracterizados. Además, hemos desarrollado un chip de micromatriz basado en ADNc y examinamos el estado global de expresión génica en la raíz del garbanzo durante el marchitamiento vascular para identificar los potenciales candidatos de respuesta inmune innata implicados en la compleja red reguladora que puede funcionar en este órgano. Estas firmas transcripcionales predicen frecuentemente funciones celulares previamente desconocidas. El conjunto ESTablecido de unigenes específicos de órgano que responden al estrés por patógeno y los posibles genes expresados diferencialmente identificados a partir del presente estudio proporcionarán una base para la investigación futura de la expresión y función de los genes y proteínas para construir el mapa de interactoma a nivel de sistema de garbanzo y otras leguminosas. Además, puede usarse minería génica de estas bases de datos, ayudado por el chip de micromatriz, para seleccionar genes candidatos implicados en la inmunidad de las plantas. En el futuro, también será interesante comparar la complejidad transcripcional espacial y temporal que subyace la respuesta inmune específica de órgano en otros organismos multicelulares.

El perfilado de la expresión génica dio lugar a la identificación de 1.276 genes diferenciales de los cuales 413 fueron específicos de genotipo susceptible y 221 específicos de resistente mientras 643 fueron comunes a ambos. Usando esta estrategia, encontramos que de 6.072 conjuntos de sondas que representan 1.749 unigenes presentes en la micromatriz, un total de 1.276 genes estaban significativamente regulados en al menos uno de los puntos de tiempo en uno de los genotipos. De estos, 1.055 se expresaban diferencialmente en genotipo susceptible y 863 en genotipo resistente. Además, entre los genes expresados significativamente, 413 fueron únicos para susceptible; 221 únicos para resistente y 642 comunes en ambos genotipos.

Hemos identificado patrones de expresión de genes de defensa distintivos y la identificación de varios genes de respuesta inmune nuevos no identificados previamente.

Con el fin de obtener una comprensión detallada de cómo varios genes que se sabe que realizan funciones variadas tienen un impacto global en el funcionamiento molecular de la célula en respuesta a diferentes estreses, hemos desarrollado una red múltiple basada en nuestros datos de expresión génica en micromatriz junto con interacciones proteína-proteína conocidas. La inspección visual del interactoma resultante reveló redes metabólicas y reguladoras altamente conectadas. En este estudio, hemos centrado nuestra atención en la red reguladora de respuesta inmune. Se encontró que 572 genes implicados en la red reguladora eran diferenciales en los datos de expresión génica temporales de micromatriz. De los 572 genes totales, 391 de ellos surgieron en la forma de una red de interacción de proteínas estadísticamente significativa. La red resultante estaba densamente organizada y consistía en muchas subredes coherentes a las que se asignó significancia biológica. Estos módulos de subred parecían tener papeles organizados en la respuesta al estrés e incluían transporte celular y ensamblaje, transcripción, traducción y modificaciones posteriores a la traducción.

Los datos del interactoma descritos en la presente invención también sugieren la presencia de una red reguladora multi-conectada y sub-redes que comprenden 391 candidatos estadísticamente significativos para la ruta de la respuesta inmune. De éstas, una sub-red transcripcional principal reveló la presencia de muchos factores de la transcripción como componentes reguladores esenciales.

La inmunidad y susceptibilidad en las plantas dependen de un intercambio complejo de señales y respuestas que ocurren bajo condiciones medioambientales dadas. Con el fin de resaltar cuáles de los procesos presentan afinidad común y cuáles definen inmunidad y susceptibilidad a través de su expresión, evaluamos nuestros datos mediante la construcción de un mapa de proceso. Los resultados mostraron por primera vez que, aunque el inicio de la traducción y la elongación parecían ser predominantes en el genotipo susceptible, la modificación de proteínas particularmente fosforilación, era predominante en el resistente. Esto sugiere que aparte del control transcripcional, las modificaciones en la traducción y posteriores a la traducción juegan un papel clave en la mediación de las respuestas inmunes de las plantas.

Nuestro estudio establece un catálogo completo del transcriptoma de raíz de respuesta inmune con percepción de su identidad y función. El desarrollo, análisis detallado de los conjuntos de datos CaEST y la expresión génica global por micromatriz proporciona una percepción nueva en las características comunes y diversidad de firmas de transcrito de respuesta inmune específicas de órgano y su expresión regulada dando forma a la especificidad de especie a nivel de genotipo. Éste es el primer informe sobre transcriptoma diferencial de un genoma no secuenciado durante el marchitamiento vascular.

El perfilado del transcriptoma del *Cicer arietinum* L. bajo estrés por patógeno identificó una matriz de componentes regulados diferencialmente. Entre los componentes regulados diferencialmente, se identificó una EST como gen que codifica la proteína bHLH, designado IRF817 (factor de respuesta inmune 817). Hemos investigado la estructura y organización del gen, y hemos demostrado, por primera vez, que *IRF817* está implicado en la ruta de respuesta inmune en plantas. Se encontró que la expresión de *IRF817* estaba regulada no sólo por el estrés por patógeno sino también por diferentes hormonas y no tratamientos, lo que sugiere su posible papel en el desarrollo celular y tolerancia medioambiental además de su papel en la respuesta inmune de las plantas. Se encontró que *IRF817* estaba localizado en el núcleo y que actúa como una molécula reguladora para la señalización que responde al estrés, incluyendo la inmunidad de la planta. La sobre-expresión de *IRF817* en raíces de garbanzo transgénico dio lugar a una inmunidad incrementada comparado con las plantas de tipo salvaje.

Base de datos de EST de garbanzo

En un intento de construir un conjunto de datos de EST funcional para descubrir subconjunto de genes que responden a estímulos extra e intra-celulares, específicos de órgano, dependientes de genotipo expresados en el garbanzo, en este estudio hemos construido dos bibliotecas de ADNc sustractivas por supresión, una de genotipo susceptible a marchitamiento vascular (JG-62) y la otra de genotipo resistente (WR-315). La fuente de ARN para cada biblioteca fue tejido de raíz y cuello de las plántulas de garbanzo de 25-d de edad pulsadas con patógeno de marchitamiento, *Fusarium oxysporum ciceri* race 1, frente a tejido control. En total, se generaron 6.955 EST y se secuenciaron a partir de dos bibliotecas de las cuales 2.908 fueron del genotipo susceptible y 4.047 de genotipo resistente. Aunque no se encontró secuencia quimérica, sin embargo, aproximadamente 9,8% de las secuencias se descartaron debido a la baja calidad de la secuencia, longitud de secuencia corta, secuencia de otro origen de orgánulo o la ausencia del inserto y las 6.272 EST restantes se consideraron para ensamblaje de secuencia (Tabla

1). Las EST de alta calidad que pasaron la asignación de base, longitud apropiada, enmascaramiento de vector y filtros mitocondriales se ensamblaron en contiguos usando el programa CAP3. Las 6.272 secuencias de alta calidad tenían una lectura promedio de 366pb y una longitud acumulativa de 2,29Mpb. Del total de 6.272 EST, se encontró que 1.040 se clasificaban como singletons mientras 5.232 se ensamblaron en 973 contiguos (Tabla 2). La redundancia de clones en los contiguos varió de 2 a 230. Los contiguos y singletons totales comprendieron un conjunto de unigenes de garbanzo no redundante (CaUnigen) de 2.013 transcritos diferentes. 3,9% de los unigenes (79) contenían más de 10 secuencias por contiguo. Del total de EST de alta calidad, 1.202 fueron específicas de genotipo susceptible mientras 2.168 fueron específicas de genotipo resistente y 2.902 fueron comunes a ambos. La abundancia de los transcritos, modela o resulta en la función específica de un genotipo en respuesta a estímulos en un espacio y tiempo dados. La ausencia de quimeras, alto porcentaje de secuencias de buena calidad y buen tamaño promedio del inserto sugirieron que las bibliotecas eran de alta calidad (Tabla 1).

Anotación funcional y clasificación de las EST de garbanzo

Con el fin de entender la función de las EST de respuesta inmune, el conjunto entero de 2.013 CaUnigenes se anotaron sobre la base de similitudes con las EST conocidas o potenciales en la base de datos NCBI. Usando los mejores aciertos encontrados por BLAST, se asignó una función potencial inferida a las secuencias y se clasificaron en varias categorías funcionales. Fuimos capaces de asignar función a 60% de los genes mientras el análisis de nuestros datos reveló que 18,28 % de los CaUnigenes pertenecen a la clase de homología no significativa (NSH). Además, el 18,33% y 3,47% de los unigenes concordaron con proteínas hipotéticas y desconocidas, respectivamente. Los genes se asignaron a las clases funcionales según su función bioquímica usando bases de datos de función génica como GO (www.geneontology.org), metacyc (www.metacyc.org) y COG (www.ncbi.nlm.nih.gov/COG). Sin embargo, la clasificación de los transcritos es sólo tentativa, ya que la función biológica de muchos genes identificados todavía no se ha establecido experimentalmente. La distribución de las EST en diversas clases funcionales como se muestra adicionalmente se describe más adelante.

Genes implicados en rutas reguladoras (señalización celular y transcripción y procesamiento y modificación del ARN)

Se sabe que los genes implicados en la señalización celular, transcripción y procesamiento del ARN regulan muchas respuestas celulares en un organismo. Nuestros datos mostraron la presencia de diferentes tipos de proteínas quinasas tanto en el genotipo de garbanzo susceptible como tolerante. Aunque la serina/treonina proteína quinasa (contigo86), sitio activo de la serina/treonina proteína quinasa (CaF1_JIE_03_A_05) y quinasa semejante al receptor de embriogénesis somático estaban presentes sólo en el genotipo susceptible; el dominio proteína quinasa etiquetado con flag de MAPKKK potencial y proteína quinasa (CaF1_WIE_51_C_11) se encontraron en el resistente. Las proteínas quinasas están implicadas en la respuesta a enfermedad a través de una cascada de señalización presumiblemente conservada en plantas, insectos y mamíferos mientras las quinasas relacionadas con la embriogénesis somática están asociadas con la ruta de señalización brasinoesteroide que juega un papel clave en la defensa de las plantas. Los datos de EST revelaron muchos componentes de la señalización del calcio tal como calmodulina, quinasa independiente de calmodulina dependiente de calcio, quinasa CIP y quinasa semejante a receptor regulado por calcio/calmodulina en ambos genotipos indicando una ruta elaborada de señalización de calcio en la respuesta inmune. Los subconjuntos de proteínas 14-3-3 también se identificaron tanto en el genotipo susceptible como resistente. Por ejemplo, los contiguos 527, 568, 947 y los singletons CaF1_WIE_13_A_05, CaF1_WIE_55_G_01 que representan la familia de genes 14-3-3 estaban presentes en el genotipo resistente mientras el otro miembro de esta familia de genes, el contiguo 133, estaba presente sólo en el susceptible. Se ha mostrado previamente que 14-3-3 interacciona con fusicoccina, la toxina fúngica que causa la hiperpolarización de la membrana a través de la activación de la H⁺ATPasa de la membrana plasmática. Otros componentes de la señalización que responde al estrés por patógeno identificados son proteína semejante a WD40, receptor regulador de respuesta, y proteínas con repeticiones ricas en leucina (LRR). Aunque las proteínas WD40 y LRR se encontraron en ambos genotipos, el receptor regulador de respuesta fue exclusivo del genotipo susceptible. Se sabe que las proteínas LRR juegan un papel en la señalización de la defensa. Aunque se reporta que las proteínas semejantes a WD40 están implicadas en funciones variadas incluyendo organogénesis; transporte vacuolar y señalización de luz, su papel en la respuesta inmune no se conoce.

La actividad potencialmente incrementada de varias rutas de señalización está asociada con la expresión diferencial de muchas familias de factores de la transcripción durante la patogénesis de las plantas. La clase funcional de genes asociados a la transcripción, en este estudio, constituyó aproximadamente 3,58% del total de EST que comprendían familias de factores de la transcripción incluyendo dedo de cinc, MYB, factor de la transcripción de homeodominio semejante a BEL1, homeodominio de cremallera de leucina HDZ3, PG2 de unión a caja G, dedo de cinc de tipo GATA, posible proteína de unión a AP2, bHLH y WRKY. Mientras se exploraba la fuente de las EST que codifican estos factores de la transcripción, una observación importante y digna de señalar fue que una clase particular de reguladores de la transcripción mostró predominancia o fue específico bien del genotipo susceptible o resistente. Por ejemplo, las clases Myb y HDZ fueron predominantes, mientras, el factor de la transcripción relacionado con PR y WRKY fueron exclusivos del genotipo resistente. Por otra parte, el factor de la transcripción de homeodominio semejante a BEL1, NOT2/NOT3/NOT5 y la proteína PG2 de unión a la caja G se encontraron sólo en el genotipo susceptible. Estos datos sugieren que la interacción de un amplio espectro de factores de la transcripción regula posiblemente múltiples cascadas de señalización durante el estrés inmune.

5 Varias proteínas de unión a ARN tienen el potencial de modular la expresión génica y podrían estar implicadas en procesos como metabolismo del ARN, corte y empalme del ARNm, biogénesis de ribosomas, transporte y traducción. Observamos la presencia de ARN helicasa con caja DEAD, región de unión a ribonucleoproteína de procesamiento de pre-ARNm, subunidad 10 del factor 3B de corte y empalme y región RNP-1 de unión a ARN durante el marchitamiento vascular del garbanzo. Todos estos genes fueron más abundantes en el genotipo resistente. Aunque se reportó que la ARN helicasa con caja DEAD estaba implicada en las respuestas a desarrollo y estrés el papel del factor de corte y empalme y región RNP-1 de unión a ARN en el estrés por patógenos todavía deben establecerse.

10 La presente descripción proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con señalización. Estas EST son CaF1_JIE_01_D_01 SEQ ID NO:32, CaF1_JIE_02_C_11 SEQ ID NO:97, CaF1_JIE_02_D_11 SEQ ID NO:107, CaF1_JIE_02_H_04 SEQ ID NO:136, CaF1_JIE_03_A_05 SEQ ID NO:147, CaF1_JIE_03_B_10 SEQ ID NO:155, CaF1_JIE_03_C_02 SEQ ID NO:158, CaF1_JIE_03_E_06 SEQ ID NO:178, CaF1_JIE_06_D_11 SEQ ID NO:404, CaF1_JIE_06_F_09 SEQ ID NO:419, CaF1_JIE_07_H_04 SEQ ID NO:508, CaF1_JIE_08_B_09 SEQ ID NO:533, CaF1_JIE_08_B_11 SEQ ID NO:535, CaF1_JIE_08_D_03 SEQ ID NO:548, CaF1_JIE_08_F_01 SEQ ID NO:567, CaF1_JIE_08_H_09 SEQ ID NO:595, CaF1_JIE_08_H_10 SEQ ID NO:596, CaF1_JIE_09_C_10 SEQ ID NO:625, CaF1_JIE_09_E_09 SEQ ID NO:1289, CaF1_JIE_09_F_04 SEQ ID NO:1295, CaF1_JIE_10_E_04 SEQ ID NO:1340, CaF1_JIE_12_B_05 SEQ ID NO:1434, CaF1_JIE_12_B_06 SEQ ID NO:1435, CaF1_JIE_12_E_05 SEQ ID NO:1460, CaF1_JIE_12_E_08 SEQ ID NO:1461, CaF1_JIE_14_A_04 SEQ ID NO:1522, CaF1_JIE_15_B_08 SEQ ID NO:1597, CaF1_JIE_15_B_11 SEQ ID NO:1600, CaF1_JIE_15_D_10 SEQ ID NO:1616, CaF1_JIE_18_G_02 SEQ ID NO:1821, CaF1_JIE_19_A_08 SEQ ID NO:1842, CaF1_JIE_19_F_10 SEQ ID NO:1885, CaF1_JIE_20_A_11 SEQ ID NO:1913, CaF1_JIE_20_G_02 SEQ ID NO:1966, CaF1_JIE_20_H_08 SEQ ID NO:1983, CaF1_JIE_22_G_11 SEQ ID NO:2130, CaF1_JIE_23_B_02 SEQ ID NO:2153, CaF1_JIE_23_B_03 SEQ ID NO:2154, CaF1_JIE_23_G_02 SEQ ID NO:2201, CaF1_JIE_24_F_09 SEQ ID NO:2272, CaF1_JIE_24_G_10 SEQ ID NO:2280, CaF1_JIE_25_B_04 SEQ ID NO:2300, CaF1_JIE_25_G_02 SEQ ID NO:2332, CaF1_JIE_26_D_08 SEQ ID NO:2377, CaF1_JIE_26_G_06 SEQ ID NO:2398, CaF1_JIE_26_H_11 SEQ ID NO:2409, CaF1_JIE_29_F_07 SEQ ID NO:2553, CaF1_JIE_29_G_07 SEQ ID NO:2558, CaF1_JIE_31_D_07 SEQ ID NO:2639, CaF1_JIE_31_D_09 SEQ ID NO:2640, CaF1_JIE_32_E_11 SEQ ID NO:2703, CaF1_JIE_32_F_11 SEQ ID NO:2708, CaF1_JIE_33_A_07 SEQ ID NO:2725, CaF1_JIE_33_B_01 SEQ ID NO:2729, CaF1_JIE_33_B_02 SEQ ID NO:2730, CaF1_JIE_33_B_03 SEQ ID NO:2731, CaF1_JIE_33_C_03 SEQ ID NO:2742, CaF1_JIE_33_D_01 SEQ ID NO:2749, CaF1_JIE_33_E_03 SEQ ID NO:2756, CaF1_JIE_33_H_04 SEQ ID NO:2775, CaF1_JIE_34_H_05 SEQ ID NO:2831, CaF1_JIE_34_H_06 SEQ ID NO:2832, CaF1_JIE_34_H_11 SEQ ID NO:2837, CaF1_JIE_35_C_02 SEQ ID NO:2854, CaF1_JIE_35_E_02 SEQ ID NO:2870, CaF1_JIE_35_G_11 SEQ ID NO:2885, CaF1_JIE_36_F_01 SEQ ID NO:2929, CaF1_JIE_36_G_11 SEQ ID NO:2939, CaF1_JIE_36_H_02 SEQ ID NO:2940, CaF1_JIE_37_A_06 SEQ ID NO:2951, CaF1_JIE_37_C_09 SEQ ID NO:2963, CaF1_JIE_38_B_08 SEQ ID NO:3012, CaF1_JIE_39_F_05 SEQ ID NO:3093, CaF1_JIE_39_G_11 SEQ ID NO:3104, CaF1_JIE_40_E_11 SEQ ID NO:3153, CaF1_JIE_41_D_02 SEQ ID NO:3202, CaF1_JIE_41_E_09 SEQ ID NO:3217, CaF1_JIE_41_F_02 SEQ ID NO:3221, CaF1_JIE_41_G_06 SEQ ID NO:3232, CaF1_JIE_41_G_09 SEQ ID NO:3234, CaF1_JIE_42_A_07 SEQ ID NO:3247, CaF1_JIE_42_E_02 SEQ ID NO:3260, CaF1_JIE_42_E_04 SEQ ID NO:3261, CaF1_JIE_42_E_05 SEQ ID NO:3262, CaF1_JIE_42_F_04 SEQ ID NO:3264, CaF1_WIE_01_C_02 SEQ ID NO:646, CaF1_WIE_01_E_07 SEQ ID NO:669, CaF1_WIE_01_G_01 SEQ ID NO:681, CaF1_WIE_02_D_09 SEQ ID NO:726, CaF1_WIE_02_E_09 SEQ ID NO:736, CaF1_WIE_04_A_06 SEQ ID NO:822, CaF1_WIE_04_C_06 SEQ ID NO:840, CaF1_WIE_05_A_09 SEQ ID NO:893, CaF1_WIE_05_E_05 SEQ ID NO:925, CaF1_WIE_06_A_05 SEQ ID NO:960, CaF1_WIE_06_A_06 SEQ ID NO:961, CaF1_WIE_06_C_01 SEQ ID NO:972, CaF1_WIE_08_C_05 SEQ ID NO:1123, CaF1_WIE_08_C_06 SEQ ID NO:1124, CaF1_WIE_08_D_10 SEQ ID NO:1138, CaF1_WIE_08_E_06 SEQ ID NO:1142, CaF1_WIE_08_F_06 SEQ ID NO:1150, CaF1_WIE_08_H_03 SEQ ID NO:1166, CaF1_WIE_09_A_07 SEQ ID NO:1178, CaF1_WIE_09_A_08 SEQ ID NO:1179, CaF1_WIE_09_E_11 SEQ ID NO:1208, CaF1_WIE_09_G_07 SEQ ID NO:1223, CaF1_WIE_12_C_08 SEQ ID NO:3401, CaF1_WIE_12_E_06 SEQ ID NO:3415, CaF1_WIE_13_A_05 SEQ ID NO:3456, CaF1_WIE_13_G_07 SEQ ID NO:3511, CaF1_WIE_18_D_10 SEQ ID NO:3758, CaF1_WIE_19_E_07 SEQ ID NO:3833, CaF1_WIE_19_F_02 SEQ ID NO:3837, CaF1_WIE_21_C_03 SEQ ID NO:3933, CaF1_WIE_21_C_06 SEQ ID NO:3935, CaF1_WIE_21_D_03 SEQ ID NO:3940, CaF1_WIE_21_H_03 SEQ ID NO:3972, CaF1_WIE_21_H_09 SEQ ID NO:3975, CaF1_WIE_22_A_06 SEQ ID NO:3980, CaF1_WIE_23_B_07 SEQ ID NO:4039, CaF1_WIE_24_C_11 SEQ ID NO:4112, CaF1_WIE_24_F_03 SEQ ID NO:4130, CaF1_WIE_24_F_05 SEQ ID NO:4132, CaF1_WIE_24_F_06 SEQ ID NO:4133, CaF1_WIE_24_F_08 SEQ ID NO:4135, CaF1_WIE_24_G_06 SEQ ID NO:4144, CaF1_WIE_24_G_10 SEQ ID NO:4147, CaF1_WIE_25_B_07 SEQ ID NO:4173, CaF1_WIE_25_E_06 SEQ ID NO:4200, CaF1_WIE_25_G_02 SEQ ID NO:4211, CaF1_WIE_26_C_04 SEQ ID NO:4245, CaF1_WIE_26_E_06 SEQ ID NO:4267, CaF1_WIE_27_D_01 SEQ ID NO:4329, CaF1_WIE_29_D_07 SEQ ID NO:4484, CaF1_WIE_29_G_09 SEQ ID NO:4518, CaF1_WIE_29_G_10 SEQ ID NO:4519, CaF1_WIE_31_C_09 SEQ ID NO:4625, CaF1_WIE_31_F_09 SEQ ID NO:4652, CaF1_WIE_32_C_04 SEQ ID NO:4695, CaF1_WIE_32_H_01 SEQ ID NO:4735, CaF1_WIE_33_E_05 SEQ ID NO:4779, CaF1_WIE_33_G_10 SEQ ID NO:4803, CaF1_WIE_33_G_11 SEQ ID NO:4804, CaF1_WIE_33_H_01 SEQ ID NO:4805, CaF1_WIE_33_H_02 SEQ ID NO:4806, CaF1_WIE_33_H_05 SEQ ID NO:4807, CaF1_WIE_35_G_04 SEQ ID NO:4939, CaF1_WIE_36_C_05 SEQ ID NO:4973, CaF1_WIE_36_C_09 SEQ ID NO:4976, CaF1_WIE_36_C_11 SEQ ID NO:4978, CaF1_WIE_36_H_09 SEQ ID NO:5019, CaF1_WIE_37_B_03 SEQ ID NO:5031, CaF1_WIE_37_E_09

5 SEQ ID NO:5056, CaF1_WIE_37_H_05 SEQ ID NO:5078, CaF1_WIE_37_H_10 SEQ ID NO:5082, CaF1_WIE_37_H_11 SEQ ID NO:5083, CaF1_WIE_39_G_07 SEQ ID NO:5187, CaF1_WIE_40_B_01 SEQ ID NO:5209, CaF1_WIE_41_C_01 SEQ ID NO:5290, CaF1_WIE_41_C_08 SEQ ID NO:5295, CaF1_WIE_41_F_07 SEQ ID NO:5319, CaF1_WIE_41_G_03 SEQ ID NO:5324, CaF1_WIE_41_H_01 SEQ ID NO:5330, CaF1_WIE_42_H_07 SEQ ID NO:5387, CaF1_WIE_44_E_02 SEQ ID NO:5474, CaF1_WIE_44_E_03 SEQ ID NO:5475, CaF1_WIE_44_E_04 SEQ ID NO:5476, CaF1_WIE_44_F_06 SEQ ID NO:5484, CaF1_WIE_46_G_06 SEQ ID NO:5619, CaF1_WIE_46_H_04 SEQ ID NO:5627, CaF1_WIE_47_C_03 SEQ ID NO:5653, CaF1_WIE_47_E_05 SEQ ID NO:5674, CaF1_WIE_47_G_02 SEQ ID NO:5691, CaF1_WIE_48_C_11 SEQ ID NO:5731, CaF1_WIE_48_F_07 SEQ ID NO:5755, CaF1_WIE_49_B_05 SEQ ID NO:5786, CaF1_WIE_49_G_10 SEQ ID NO:5825, CaF1_WIE_49_H_10 SEQ ID NO:5833, CaF1_WIE_50_B_03 SEQ ID NO:5840, CaF1_WIE_50_G_06 SEQ ID NO:5884, CaF1_WIE_50_G_10 SEQ ID NO:5888, CaF1_WIE_51_A_11 SEQ ID NO:5905, CaF1_WIE_51_C_02 SEQ ID NO:5915, CaF1_WIE_51_C_11 SEQ ID NO:5924, CaF1_WIE_52_F_04 SEQ ID NO:6002, CaF1_WIE_52_H_03 SEQ ID NO:6019, CaF1_WIE_53_A_02 SEQ ID NO:6028, CaF1_WIE_53_B_01 SEQ ID NO:6035, CaF1_WIE_53_H_05 SEQ ID NO:6078, CaF1_WIE_54_C_02 SEQ ID NO:6100, CaF1_WIE_54_C_09 SEQ ID NO:6106, CaFL WIE_55_B_11 SEQ ID NO:6165 y CaF1_WIE_55_G_01 SEQ ID NO:6199.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con transcripción. Estas EST son CaF1_JIE_01_B_10 SEQ ID NO:19, CaF1_JIE_01_C_05 SEQ ID NO:25, CaF1_JIE_01_E_04 SEQ ID NO:44, CaF1_JIE_01_F_11 SEQ ID NO:58, CaF1_JIE_02_D_03 SEQ ID NO:100, CaF1_JIE_02_D_07 SEQ ID NO:10, CaF1_JIE_02_H_06 SEQ ID NO:138, CaF1_JIE_03_A_02 SEQ ID NO:144, CaF1_JIE_04_B_11 SEQ ID NO:230, CaF1_JIE_04_F_01 SEQ ID NO:259, CaF1_JIE_04_G_10 SEQ ID NO:278, CaF1_JIE_05_E_06 SEQ ID NO:335, CaF1_JIE_06_C_06 SEQ ID NO:392, CaF1_JIE_07_C_04 SEQ ID NO:457, CaF1_JIE_08_A_11 SEQ ID NO:525, CaF1_JIE_11_A_04 SEQ ID NO:1363, CaF1_JIE_11_B_09 SEQ ID NO:1373, CaF1_JIE_12_B_02 SEQ ID NO:1431, CaF1_JIE_12_B_03 SEQ ID NO:1432, CaF1_JIE_12_B_04 SEQ ID NO:1433, CaF1_JIE_12_E_02 SEQ ID NO:1457, CaF1_JIE_12_E_03 SEQ ID NO:1458, CaF1_JIE_12_E_04 SEQ ID NO:1459, CaF1_JIE_14_E_06 SEQ ID NO:1555, CaF1_JIE_15_D_11 SEQ ID NO:1617, CaF1_JIE_15_E_04 SEQ ID NO:1620, CaF1_JIE_15_F_05 SEQ ID NO:1627, CaF1_JIE_16_G_01 SEQ ID NO:170, CaF1_JIE_17_C_09 SEQ ID NO:1733, CaF1_JIE_17_C_10 SEQ ID NO:1734, CaF1_JIE_17_G_01 SEQ ID NO:1759, CaF1_JIE_17_G_11 SEQ ID NO:1762, CaF1_JIE_17_H_02 SEQ ID NO:1764, CaF1_JIE_18_B_07 SEQ ID NO:1779, CaF1_JIE_19_B_03 SEQ ID NO:1845, CaF1_JIE_19_B_04 SEQ ID NO:1846, CaF1_JIE_19_F_02 SEQ ID NO:1878, CaF1_JIE_20_C_04 SEQ ID NO:1927, CaF1_JIE_20_E_01 SEQ ID NO:1945, CaF1_JIE_21_B_08 SEQ ID NO:2004, CaF1_JIE_21_C_01 SEQ ID NO:2007, CaF1_JIE_21_C_02 SEQ ID NO:2008, CaF1_JIE_21_D_01 SEQ ID NO:2017, CaF1_JIE_21_E_05 SEQ ID NO:2030, CaF1_JIE_21_G_02 SEQ ID NO:2043, CaF1_JIE_22_G_08 SEQ ID NO:2127, CaF1_JIE_24_C_01 SEQ ID NO:2240, CaF1_JIE_24_D_01 SEQ ID NO:2248, CaF1_JIE_26_A_11 SEQ ID NO:2354, CaF1_JIE_26_C_10 SEQ ID NO:2370, CaF1_JIE_26_E_10 SEQ ID NO:2387, CaF1_JIE_27_F_10 SEQ ID NO:2456, CaF1_JIE_28_C_10 SEQ ID NO:2487, CaF1_JIE_29_C_11 SEQ ID NO:2539, CaF1_JIE_29_D_11 SEQ ID NO:2545, CaF1_JIE_29_F_06 SEQ ID NO:2552, CaF1_JIE_30_F_06 SEQ ID NO:2598, CaF1_JIE_30_F_07 SEQ ID NO:2599, CaF1_JIE_31_D_03 SEQ ID NO:2637, CaF1_JIE_31_F_02 SEQ ID NO:2650, CaF1_JIE_32_G_05 SEQ ID NO:2712, CaF1_JIE_32_G_06 SEQ ID NO:2713, CaF1_JIE_33_B_09 SEQ ID NO:2737, CaF1_JIE_34_A_11 SEQ ID NO:2787, CaF1_JIE_34_E_02 SEQ ID NO:2811, CaF1_JIE_34_E_03 SEQ ID NO:2812, CaF1_JIE_34_H_03 SEQ ID NO:2830, CaF1_JIE_35_F_07 SEQ ID NO:2877, CaF1_JIE_35_G_01 SEQ ID NO:2879, CaF1_JIE_36_A_09 SEQ ID NO:2897, CaF1_JIE_36_C_03 SEQ ID NO:2908, CaF1_JIE_36_C_09 SEQ ID NO:2910, CaF1_JIE_36_F_05 SEQ ID NO:2931, CaF1_JIE_36_G_01 SEQ ID NO:2936, CaF1_JIE_38_C_09 SEQ ID NO:3018, CaF1_JIE_38_D_02 SEQ ID NO:3020, CaF1_JIE_38_F_04 SEQ ID NO:3037, CaF1_JIE_39_F_01 SEQ ID NO:3090, CaF1_JIE_39_F_03 SEQ ID NO:3092, CaF1_JIE_40_H_07 SEQ ID NO:3177, CaF1_JIE_41_D_04 SEQ ID NO:3204, CaF1_WIE_02_C_04 SEQ ID NO:716, CaF1_WIE_03_A_06 SEQ ID NO:767, CaF1_WIE_03_E_11 SEQ ID NO:798, CaF1_WIE_04_B_03 SEQ ID NO:827, CaF1_WIE_04_B_06 SEQ ID NO:830, CaF1_WIE_04_B_07 SEQ ID NO:831, CaF1_WIE_04_G_07 SEQ ID NO:875, CaF1_WIE_04_G_08 SEQ ID NO:876, CaF1_WIE_05_A_03 SEQ ID NO:889, CaF1_WIE_05_F_04 SEQ ID NO:934, CaF1_WIE_07_D_10 SEQ ID NO:106, CaF1_WIE_07_E_11 SEQ ID NO:1072, CaF1_WIE_07_F_05 SEQ ID NO:1077, CaF1_WIE_07_H_04 SEQ ID NO:1096, CaF1_WIE_08_A_11 SEQ ID NO:1108, CaF1_WIE_08_B_11 SEQ ID NO:1118, CaF1_WIE_08_C_11 SEQ ID NO:1128, CaF1_WIE_08_F_09 SEQ ID NO:1153, CaF1_WIE_08_F_11 SEQ ID NO:1155, CaF1_WIE_08_H_04 SEQ ID NO:1167, CaF1_WIE_08_H_05 SEQ ID NO:1168, CaF1_WIE_09_C_11 SEQ ID NO:1191, CaF1_WIE_09_F_08 SEQ ID NO:1216, CaF1_WIE_12_B_03 SEQ ID NO:3386, CaF1_WIE_12_E_10 SEQ ID NO:3419, CaF1_WIE_12_H_05 SEQ ID NO:3446, CaF1_WIE_13_C_11 SEQ ID NO:3478, CaF1_WIE_13_D_02 SEQ ID NO:3480, CaF1_WIE_13_D_03 SEQ ID NO:3481, CaF1_WIE_13_E_01 SEQ ID NO:3487, CaF1_WIE_16_B_05 SEQ ID NO:3606, CaF1_WIE_17_A_01 SEQ ID NO:3644, CaF1_WIE_17_B_02 SEQ ID NO:3656, CaF1_WIE_17_B_09 SEQ ID NO:3662, CaF1_WIE_17_D_10 SEQ ID NO:3682, CaF1_WIE_18_C_07 SEQ ID NO:3747, CaF1_WIE_18_E_08 SEQ ID NO:3766, CaF1_WIE_18_H_03 SEQ ID NO:3791, CaF1_WIE_19_C_08 SEQ ID NO:3820, CaF1_WIE_19_F_04 SEQ ID NO:3839, CaF1_WIE_19_H_01 SEQ ID NO:3853, CaF1_WIE_19_H_04 SEQ ID NO:3855, CaF1_WIE_19_H_07 SEQ ID NO:3858, CaF1_WIE_21_G_01 SEQ ID NO:3960, CaF1_WIE_21_H_08 SEQ ID NO:3974, CaF1_WIE_23_H_10 SEQ ID NO:4086, CaF1_WIE_24_C_08 SEQ ID NO:4109, CaF1_WIE_24_G_03 SEQ ID NO:4141, CaF1_WIE_25_C_10 SEQ ID NO:4184, CaF1_WIE_26_A_11 SEQ ID NO:4232, CaF1_WIE_26_C_02 SEQ ID NO:4243, CaF1_WIE_27_A_03 SEQ ID

ES 2 620 658 T3

NO:4301, CaF1_WIE_27_E_08 SEQ ID NO:4344, CaF1_WIE_27_F_05 SEQ ID NO:4352, CaF1_WIE_27_G_04
 SEQ ID NO:4362, CaF1_WIE_27_G_05 SEQ ID NO:4363, CaF1_WIE_28_C_08 SEQ ID NO:4400,
 CaF1_WIE_29_C_10 SEQ ID NO:4476, CaF1_WIE_29_G_06 SEQ ID NO:4515, CaF1_WIE_30_B_08 SEQ ID
 NO:4544, CaF1_WIE_30_E_03 SEQ ID NO:4567, CaF1_WIE_30_E_09 SEQ ID NO:4572, CaF1_WIE_30_F_09
 5 SEQ ID NO:4581, CaF1_WIE_30_G_08 SEQ ID NO:4591, CaF1_WIE_30_H_09 SEQ ID NO:4599,
 CaF1_WIE_31_F_11 SEQ ID NO:4654, CaF1_WIE_32_E_05 SEQ ID NO:4710, CaF1_WIE_33_A_03 SEQ ID
 NO:4748, CaF1_WIE_33_C_09 SEQ ID NO:4768, CaF1_WIE_33_F_08 SEQ ID NO:4791, CaF1_WIE_34_A_11
 SEQ ID NO:4819, CaF1_WIE_34_D_01 SEQ ID NO:4836, CaF1_WIE_34_F_11 SEQ ID NO:4861,
 CaF1_WIE_37_A_10 SEQ ID NO:5028, CaF1_WIE_38_H_03 SEQ ID NO:5139, CaF1_WIE_39_B_01 SEQ ID
 10 NO:5153, CaF1_WIE_39_C_01 SEQ ID NO:5161, CaF1_WIE_39_G_02 SEQ ID NO:5183, CaF1_WIE_39_H_04
 SEQ ID NO:5192, CaF1_WIE_39_H_07 SEQ ID NO:5195, CaF1_WIE_40_C_09 SEQ ID NO:5224,
 CaF1_WIE_40_D_05 SEQ ID NO:5229, CaF1_WIE_41_H_07 SEQ ID NO:5336, CaF1_WIE_41_H_11 SEQ ID
 NO:5340, CaF1_WIE_44_H_07 SEQ ID NO:5498, CaF1_WIE_45_A_02 SEQ ID NO:5502, CaF1_WIE_45_A_03
 SEQ ID NO:5503, CaF1_WIE_45_E_07 SEQ ID NO:5534, CaF1_WIE_45_F_04 SEQ ID NO:5540,
 15 CaF1_WIE_46_E_02 SEQ ID NO:5600, CaF1_WIE_46_F_07 SEQ ID NO:5613, CaF1_WIE_47_G_08 SEQ ID
 NO:5697, CaF1_WIE_49_B_01 SEQ ID NO:5783, CaF1_WIE_49_C_09 SEQ ID NO:5798, CaF1_WIE_50_D_04
 SEQ ID NO:5858, CaF1_WIE_51_F_10 SEQ ID NO:5946, CaF1_WIE_52_E_04 SEQ ID NO:5994,
 CaF1_WIE_52_E_05 SEQ ID NO:5995, CaF1_WIE_52_G_02 SEQ ID NO:6009, CaF1_WIE_52_G_11 SEQ ID
 NO:6017, CaF1_WIE_52_H_09 SEQ ID NO:6025, CaF1_WIE_53_F_03 SEQ ID NO:6067, CaF1_WIE_54_A_01 SEQ
 20 ID NO:6081, CaF1_WIE_55_H_03 SEQ ID NO:6211 y CaF1_WIE_56_C_04 SEQ ID NO:6234.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas
 con el procesamiento y modificación del ARN. Estas EST son CaF1_JIE_02_A_10 SEQ ID NO:78,
 CaF1_JIE_02_B_07 SEQ ID NO:85, CaF1_JIE_02_C_02 SEQ ID NO:89, CaF1_JIE_03_C_03 SEQ ID NO:159,
 CaF1_JIE_03_H_02 SEQ ID NO:203, CaF1_JIE_04_B_01 SEQ ID NO:220, CaF1_JIE_06_G_09 SEQ ID NO:428,
 25 CaF1_JIE_09_C_11 SEQ ID NO:626, CaF1_JIE_12_D_06 SEQ ID NO:1452, CaF1_JIE_14_B_10 SEQ ID NO:1534,
 CaF1_JIE_14_C_10 SEQ ID NO:1543, CaF1_JIE_16_B_02 SEQ ID NO:1658, CaF1_JIE_16_B_03 SEQ ID
 NO:1659, CaF1_JIE_16_D_04 SEQ ID NO:1678, CaF1_JIE_16_F_02 SEQ ID NO:1693, CaF1_JIE_17_C_07 SEQ
 ID NO:1731, CaF1_JIE_18_D_11 SEQ ID NO:1801, CaF1_JIE_19_B_01 SEQ ID NO:1844, CaF1_JIE_21_C_03
 SEQ ID NO:2009, CaF1_JIE_21_C_11 SEQ ID NO:2016, CaF1_JIE_22_A_02 SEQ ID NO:2062,
 30 CaF1_JIE_22_B_03 SEQ ID NO:2074, CaF1_JIE_26_E_05 SEQ ID NO:2384, CaF1_JIE_26_E_07 SEQ ID
 NO:2386, CaF1_JIE_28_F_10 SEQ ID NO:2507, CaF1_JIE_28_F_11 SEQ ID NO:2508, CaF1_JIE_30_A_10 SEQ
 ID NO:2575, CaF1_JIE_31_F_01 SEQ ID NO:2649, CaF1_JIE_32_B_03 SEQ ID NO:2680, CaF1_JIE_36_C_01
 SEQ ID NO:2906, CaF1_JIE_37_D_05 SEQ ID NO:2967, CaF1_JIE_38_D_05 SEQ ID NO:3023,
 CaF1_JIE_38_E_07 SEQ ID NO:3032, CaF1_JIE_38_F_07 SEQ ID NO:3039, CaF1_JIE_38_G_07 SEQ ID
 35 NO:3046, CaF1_JIE_40_E_03 SEQ ID NO:3148, CaF1_JIE_40_H_08 SEQ ID NO:3178, CaF1_JIE_41_F_01 SEQ
 ID NO:3220, CaF1_WIE_01_C_06 SEQ ID NO:650, CaF1_WIE_01_D_06 SEQ ID NO:659, CaF1_WIE_02_E_11
 SEQ ID NO:738, CaF1_WIE_05_A_05 SEQ ID NO:891, CaF1_WIE_06_F_08 SEQ ID NO:1002,
 CaF1_WIE_07_E_01 SEQ ID NO:1064, CaF1_WIE_07_G_03 SEQ ID NO:1086, CaF1_WIE_08_B_04 SEQ ID
 NO:1111, CaF1_WIE_10_C_04 SEQ ID NO:1254, CaF1_WIE_10_H_11 SEQ ID NO:3307, CaF1_WIE_11_G_10
 40 SEQ ID NO:3367, CaF1_WIE_12_C_03 SEQ ID NO:3396, CaF1_WIE_13_B_08 SEQ ID NO:3465,
 CaF1_WIE_14_A_01 SEQ ID NO:3524, CaF1_WIE_15_G_03 SEQ ID NO:3591, CaF1_WIE_15_H_11 SEQ ID
 NO:3599, CaF1_WIE_17_C_01 SEQ ID NO:3665, CaF1_WIE_18_F_02 SEQ ID NO:3771, CaF1_WIE_19_C_11
 SEQ ID NO:3822, CaF1_WIE_20_A_04 SEQ ID NO:3864, CaF1_WIE_20_C_10 SEQ ID NO:3876,
 CaF1_WIE_21_A_06 SEQ ID NO:3919, CaF1_WIE_21_F_04 SEQ ID NO:3955, CaF1_WIE_21_H_04 SEQ ID
 45 NO:3973, CaF1_WIE_22_D_09 SEQ ID NO:4000, CaF1_WIE_23_D_09 SEQ ID NO:4051, CaF1_WIE_26_A_08
 SEQ ID NO:4230, CaF1_WIE_26_D_11 SEQ ID NO:4261, CaF1_WIE_26_E_04 SEQ ID NO:4265,
 CaF1_WIE_26_E_05 SEQ ID NO:4266, CaF1_WIE_26_E_07 SEQ ID NO:4268, CaF1_WIE_27_F_09 SEQ ID
 NO:4356, CaF1_WIE_27_F_10 SEQ ID NO:4357, CaF1_WIE_27_G_10 SEQ ID NO:4368, CaF1_WIE_27_H_10
 SEQ ID NO:4377, CaF1_WIE_28_D_09 SEQ ID NO:4410, CaF1_WIE_28_H_02 SEQ ID NO:4437,
 50 CaF1_WIE_28_H_08 SEQ ID NO:4442, CaF1_WIE_29_A_11 SEQ ID NO:4455, CaF1_WIE_29_B_06 SEQ ID
 NO:4461, CaF1_WIE_29_B_11 SEQ ID NO:4466, CaF1_WIE_29_C_08 SEQ ID NO:4474, CaF1_WIE_29_F_03
 SEQ ID NO:4501, CaF1_WIE_29_F_10 SEQ ID NO:4508, CaF1_WIE_29_G_11 SEQ ID NO:4520,
 CaF1_WIE_31_B_11 SEQ ID NO:4619, CaF1_WIE_31_E_02 SEQ ID NO:4637, CaF1_WIE_32_H_11 SEQ ID
 NO:4745, CaF1_WIE_34_E_05 SEQ ID NO:4848, CaF1_WIE_34_G_06 SEQ ID NO:4866, CaF1_WIE_35_D_11
 55 SEQ ID NO:4916, CaF1_WIE_35_E_07 SEQ ID NO:4922, CaF1_WIE_35_G_05 SEQ ID NO:4940,
 CaF1_WIE_37_B_06 SEQ ID NO:5033, CaF1_WIE_37_B_09 SEQ ID NO:5036, CaF1_WIE_37_F_03 SEQ ID
 NO:5059, CaF1_WIE_40_H_03 SEQ ID NO:5265, CaF1_WIE_41_E_03 SEQ ID NO:5308, CaF1_WIE_41_G_01
 SEQ ID NO:5322, CaF1_WIE_41_G_02 SEQ ID NO:5323, CaF1_WIE_42_E_03 SEQ ID NO:5368,
 CaF1_WIE_42_F_05 SEQ ID NO:5374, CaF1_WIE_42_F_10 SEQ ID NO:5378, CaF1_WIE_42_G_03 SEQ ID
 60 NO:5381, CaF1_WIE_42_H_05 SEQ ID NO:5386, CaF1_WIE_43_A_02 SEQ ID NO:5389, CaF1_WIE_43_A_03
 SEQ ID NO:5390, CaF1_WIE_43_F_03 SEQ ID NO:5427, CaF1_WIE_43_F_05 SEQ ID NO:5429,
 CaF1_WIE_43_F_10 SEQ ID NO:5431, CaF1_WIE_45_G_04 SEQ ID NO:5546, CaF1_WIE_45_H_02 SEQ ID
 NO:5554, CaF1_WIE_45_H_07 SEQ ID NO:5559, CaF1_WIE_46_G_08 SEQ ID NO:5621, CaF1_WIE_48_H_11
 SEQ ID NO:5774, CaF1_WIE_50_C_02 SEQ ID NO:5850, CaF1_WIE_50_E_06 SEQ ID NO:5870,
 65 CaF1_WIE_50_H_01 SEQ ID NO:5890, CaF1_WIE_51_A_03 SEQ ID NO:5897, CaF1_WIE_51_A_09 SEQ ID

NO:5903, CaF1_WIE_52_B_03 SEQ ID NO:5967, CaF1_WIE_52_F_06 SEQ ID NO:6004, CaF1_WIE_52_G_07 SEQ ID NO:6013, CaF1_WIE_53_D_04 SEQ ID NO:6052, CaF1_WIE_55_C_11 SEQ ID NO:6174 y CaF1_WIE_55_E_11 SEQ ID NO:6190.

Genes implicados en la traducción, modificaciones posteriores a la traducción y recambio de proteínas

5 Los procesos celulares como la traducción, evento posterior a la traducción y recambio de proteínas son cruciales para la supervivencia celular en diferentes estadios del desarrollo y condiciones medioambientales variadas. En el presente estudio, esta clase constituyó aproximadamente 8,84% de las EST y comprendía predominantemente las proteínas ribosomales aparte de algunos factores de inicio de la traducción. Los genes que codifican las proteínas ribosomales principales tales como S6, S8, S9, y L24/L26 se encontraron tanto en el genotipo susceptible como resistente. El factor de la traducción homólogo de SU11 y los factores de elongación eucariotas (EF-1 α y EF-2) juegan un papel fundamental en la biosíntesis de proteínas. Su presencia en el conjunto CaUnigen es indicativa de su papel en la respuesta inmune.

15 Una respuesta particularmente sensible, rápida y reversible a estímulos medioambientales o a un cambio programado en el estado celular es la modificación posterior a la traducción de proteínas específicas. En nuestro estudio, 4,27% de los CaUnigenes corresponden a proteínas implicadas en las modificaciones y recambio de proteínas. La presencia de cisteína proteinasas y cis-trans isomerasas peptidil-prolil de tipo ciclofilina más predominantemente en el genotipo resistente indica su papel en las respuestas al estrés por patógenos. La presencia de la proteína de choque térmico, DnaJ es interesante ya que se ha mostrado que está implicada en diferentes estreses medioambientales incluyendo tratamiento de alta temperatura y salinidad. Nuestros resultados revelaron la presencia de un amplio rango de proteínas implicadas en el recambio de proteínas que incluyen la enzima E2 que conjuga ubiquitina, ubiquitina-proteína ligasa, subunidad 6 del proteasoma alfa 20S, proteína de caja F y proteína disulfuro en ambos genotipos. En plantas, la ruta ubiquitina/proteasoma de degradación de proteínas se ha implicado en la defensa. Estos resultados sugieren que la síntesis de proteínas regulada, modificación y recambio de proteínas pueden jugar un papel central en permitir que las plantas alteren su proteoma para maximizar sus oportunidades de supervivencia en condiciones adversas.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con la traducción, estructura y biogénesis ribosomal. Estas EST son CaF1_JIE_01_A_04 SEQ ID NO:3, CaF1_JIE_01_B_09 SEQ ID NO:18, CaF1_JIE_01_C_01 SEQ ID NO:21, CaF1_JIE_01_C_03 SEQ ID NO:23, CaF1_JIE_01_D_04 SEQ ID NO:35, CaF1_JIE_01_F_07 SEQ ID NO:55, CaF1_JIE_01_G_03 SEQ ID NO:60, CaF1_JIE_01_H_07 SEQ ID NO:69, CaF1_JIE_02_B_01 SEQ ID NO:80, CaF1_JIE_02_B_02 SEQ ID NO:81, CaF1_JIE_02_G_01 SEQ ID NO:124, CaF1_JIE_02_G_02 SEQ ID NO:125, CaF1_JIE_02_H_10 SEQ ID NO:141, CaF1_JIE_03_C_04 SEQ ID NO:160, CaF1_JIE_03_F_05 SEQ ID NO:187, CaF1_JIE_03_F_09 SEQ ID NO:191, CaF1_JIE_03_G_07 SEQ ID NO:198, CaF1_JIE_03_H_03 SEQ ID NO:204, CaF1_JIE_03_H_04 SEQ ID NO:205, CaF1_JIE_04_A_06 SEQ ID NO:214, CaF1_JIE_04_B_03 SEQ ID NO:222, CaF1_JIE_04_B_04 SEQ ID NO:223, CaF1_JIE_04_C_04 SEQ ID NO:234, CaF1_JIE_05_B_09 SEQ ID NO:307, CaF1_JIE_05_B_11 SEQ ID NO:309, CaF1_JIE_05_F_03 SEQ ID NO:343, CaF1_JIE_05_H_05 SEQ ID NO:364, CaF1_JIE_05_H_06 SEQ ID NO:365, CaF1_JIE_05_H_11 SEQ ID NO:370, CaF1_JIE_06_A_05 SEQ ID NO:374, CaF1_JIE_06_A_07 SEQ ID NO:376, CaF1_JIE_06_E_07 SEQ ID NO:407, CaF1_JIE_06_G_01 SEQ ID NO:421, CaF1_JIE_06_G_03 SEQ ID NO:423, CaF1_JIE_06_G_06 SEQ ID NO:426, CaF1_JIE_06_G_07 SEQ ID NO:427, CaF1_JIE_07_A_03 SEQ ID NO:438, CaF1_JIE_07_B_07 SEQ ID NO:450, CaF1_JIE_07_C_09 SEQ ID NO:462, CaF1_JIE_07_D_09 SEQ ID NO:473, CaF1_JIE_07_E_09 SEQ ID NO:482, CaF1_JIE_07_E_10 SEQ ID NO:483, CaF1_JIE_07_H_03 SEQ ID NO:507, CaF1_JIE_09_B_06 SEQ ID NO:613, CaF1_JIE_09_D_03 SEQ ID NO:629, CaF1_JIE_09_D_07 SEQ ID NO:1276, CaF1_JIE_09_H_07 SEQ ID NO:1314, CaF1_JIE_10_B_07 SEQ ID NO:1329, CaF1_JIE_10_B_08 SEQ ID NO:1330, CaF1_JIE_11_E_07 SEQ ID NO:1397, CaF1_JIE_12_B_09 SEQ ID NO:1438, CaF1_JIE_14_F_03 SEQ ID NO:1561, CaF1_JIE_14_F_04 SEQ ID NO:1562, CaF1_JIE_14_G_11 SEQ ID NO:1574, CaF1_JIE_16_C_11 SEQ ID NO:1675, CaF1_JIE_16_G_09 SEQ ID NO:1706, CaF1_JIE_17_D_04 SEQ ID NO:1739, CaF1_JIE_17_E_09 SEQ ID NO:1749, CaF1_JIE_17_E_10 SEQ ID NO:1750, CaF1_JIE_17_F_09 SEQ ID NO:1756, CaF1_JIE_17_F_10 SEQ ID NO:1757, CaF1_JIE_17_F_11 SEQ ID NO:1758, CaF1_JIE_18_B_02 SEQ ID NO:1777, CaF1_JIE_18_C_11 SEQ ID NO:1793, CaF1_JIE_18_D_01 SEQ ID NO:1794, CaF1_JIE_18_D_02 SEQ ID NO:1795, CaF1_JIE_18_E_01 SEQ ID NO:1802, CaF1_JIE_18_E_02 SEQ ID NO:1803, CaF1_JIE_18_F_09 SEQ ID NO:1818, CaF1_JIE_18_F_10 SEQ ID NO:1819, CaF1_JIE_18_H_02 SEQ ID NO:1830, CaF1_JIE_20_B_10 SEQ ID NO:1922, CaF1_JIE_20_C_06 SEQ ID NO:1929, CaF1_JIE_20_D_04 SEQ ID NO:1937, CaF1_JIE_20_E_04 SEQ ID NO:1948, CaF1_JIE_20_F_09 SEQ ID NO:1963, CaF1_JIE_20_G_07 SEQ ID NO:1971, CaF1_JIE_20_H_04 SEQ ID NO:1979, CaF1_JIE_21_B_05 SEQ ID NO:2001, CaF1_JIE_21_B_06 SEQ ID NO:2002, CaF1_JIE_21_E_07 SEQ ID NO:2031, CaF1_JIE_21_F_04 SEQ ID NO:2036, CaF1_JIE_21_G_06 SEQ ID NO:2047, CaF1_JIE_23_A_02 SEQ ID NO:2142, CaF1_JIE_23_E_04 SEQ ID NO:2182, CaF1_JIE_23_F_04 SEQ ID NO:2192, CaF1_JIE_24_A_02 SEQ ID NO:2221, CaF1_JIE_24_F_08 SEQ ID NO:2271, CaF1_JIE_24_H_09 SEQ ID NO:2289, CaF1_JIE_25_A_04 SEQ ID NO:2293, CaF1_JIE_25_B_03 SEQ ID NO:2299, CaF1_JIE_25_C_01 SEQ ID NO:2304, CaF1_JIE_25_D_09 SEQ ID NO:2316, CaF1_JIE_25_F_01 SEQ ID NO:2325, CaF1_JIE_25_F_08 SEQ ID NO:2330, CaF1_JIE_25_H_10 SEQ ID NO:2345, CaF1_JIE_27_F_01 SEQ ID NO:2448, CaF1_JIE_29_E_11 SEQ ID NO:2551, CaF1_JIE_30_A_07 SEQ ID NO:2573, CaF1_JIE_30_E_07 SEQ ID NO:2593, CaF1_JIE_31_C_03 SEQ ID NO:2632, CaF1_JIE_31_G_03 SEQ ID NO:2660, CaF1_JIE_33_H_02 SEQ ID NO:2773, CaF1_JIE_33_H_05 SEQ ID NO:2776, CaF1_JIE_34_D_05

5 SEQ ID NO:2806, CaF1_JIE_34_D_07 SEQ ID NO:2807, CaF1_JIE_34_D_10 SEQ ID NO:2809,
 CaF1_JIE_36_H_11 SEQ ID NO:2947, CaF1_JIE_37_C_05 SEQ ID NO:2961, CaF1_JIE_37_H_07 SEQ ID
 NO:2994, CaF1_JIE_38_D_06 SEQ ID NO:3024, CaF1_JIE_38_E_08 SEQ ID NO:3033, CaF1_JIE_38_G_11 SEQ
 10 ID NO:3050, CaF1_JIE_39_D_04 SEQ ID NO:3079, CaF1_JIE_40_D_02 SEQ ID NO:3140, CaF1_JIE_40_F_09
 SEQ ID NO:3160, CaF1_JIE_41_D_11 SEQ ID NO:3210, CaF1_JIE_42_G_03 SEQ ID NO:3267,
 CaF1_WIE_01_F_10 SEQ ID NO:679, CaF1_WIE_01_G_03 SEQ ID NO:683, CaF1_WIE_02_F_05 SEQ ID NO:742,
 CaF1_WIE_02_H_10 SEQ ID NO:761, CaF1_WIE_03_B_09 SEQ ID NO:773, CaF1_WIE_03_C_02 SEQ ID
 NO:776, CaF1_WIE_03_G_09 SEQ ID NO:808, CaF1_WIE_03_G_10 SEQ ID NO:809, CaF1_WIE_04_C_08 SEQ
 ID NO:842, CaF1_WIE_04_E_03 SEQ ID NO:854, CaF1_WIE_04_F_11 SEQ ID NO:871, CaF1_WIE_04_H_10 SEQ
 15 ID NO:886, CaF1_WIE_04_H_11 SEQ ID NO:887, CaF1_WIE_05_H_08 SEQ ID NO:954, CaF1_WIE_06_D_02 SEQ
 ID NO:980, CaF1_WIE_06_E_07 SEQ ID NO:992, CaF1_WIE_06_H_05 SEQ ID NO:1018, CaF1_WIE_06_H_06
 SEQ ID NO:1019, CaF1_WIE_06_H_11 SEQ ID NO:1024, CaF1_WIE_07_B_05 SEQ ID NO:1038,
 CaF1_WIE_07_B_09 SEQ ID NO:1042, CaF1_WIE_07_C_01 SEQ ID NO:1045, CaF1_WIE_07_C_09 SEQ ID
 NO:1051, CaF1_WIE_07_E_06 SEQ ID NO:1068, CaF1_WIE_07_F_08 SEQ ID NO:1080, CaF1_WIE_07_G_02
 20 SEQ ID NO:1085, CaF1_WIE_07_G_06 SEQ ID NO:1089, CaF1_WIE_07_H_01 SEQ ID NO:1094, CaF1_WIE_07-
 H_10 SEQ ID NO:1101, CaF1_WIE_08_C_08 SEQ ID NO:1126, CaF1_WIE_08_F_08 SEQ ID NO:1152,
 CaF1_WIE_09_C_10 SEQ ID NO:1190, CaF1_WIE_09_E_03 SEQ ID NO:1200, CaF1_WIE_09_E_08 SEQ ID
 NO:1205, CaF1_WIE_09_E_09 SEQ ID NO:1206, CaF1_WIE_09_F_06 SEQ ID NO:1214, CaF1_WIE_09_G_02
 SEQ ID NO:1218, CaF1_WIE_09_G_04 SEQ ID NO:1220, CaF1_WIE_09_H_04 SEQ ID NO:1227,
 25 CaF1_WIE_10_A_01 SEQ ID NO:1234, CaF1_WIE_10_C_05 SEQ ID NO:1255, CaF1_WIE_10_H_09 SEQ ID
 NO:3305, CaF1_WIE_11_A_06 SEQ ID NO:3312, CaF1_WIE_11_C_04 SEQ ID NO:3328, CaF1_WIE_11_F_07
 SEQ ID NO:3355, CaF1_WIE_11_G_01 SEQ ID NO:3360, CaF1_WIE_11_H_10 SEQ ID NO:3375,
 CaF1_WIE_12_A_04 SEQ ID NO:3379, CaF1_WIE_12_B_07 SEQ ID NO:3390, CaF1_WIE_12_B_10 SEQ ID
 NO:3393, CaF1_WIE_12_D_05 SEQ ID NO:3407, CaF1_WIE_12_E_11 SEQ ID NO:3420, CaF1_WIE_12_G_04
 30 SEQ ID NO:3434, CaF1_WIE_12_H_08 SEQ ID NO:3448, CaF1_WIE_13_D_05 SEQ ID NO:3482,
 CaF1_WIE_13_E_02 SEQ ID NO:3488, CaF1_WIE_13_E_05 SEQ ID NO:3491, CaF1_WIE_13_E_10 SEQ ID
 NO:3495, CaF1_WIE_13_F_02 SEQ ID NO:3498, CaF1_WIE_13_F_10 SEQ ID NO:3504, CaF1_WIE_13_G_03
 SEQ ID NO:3507, CaF1_WIE_13_G_08 SEQ ID NO:3512, CaF1_WIE_14_C_02 SEQ ID NO:3531,
 CaF1_WIE_14_G_01 SEQ ID NO:3551, CaF1_WIE_14_G_08 SEQ ID NO:3555, CaF1_WIE_14_H_11 SEQ ID
 35 NO:3561, CaF1_WIE_16_C_10 SEQ ID NO:3615, CaF1_WIE_16_D_09 SEQ ID NO:3618, CaF1_WIE_16_G_03
 SEQ ID NO:3631, CaF1_WIE_16_G_11 SEQ ID NO:3636, CaF1_WIE_17_A_02 SEQ ID NO:3645,
 CaF1_WIE_17_A_08 SEQ ID NO:3651, CaF1_WIE_17_B_08 SEQ ID NO:3661, CaF1_WIE_17_E_04 SEQ ID
 NO:3687, CaF1_WIE_18_C_05 SEQ ID NO:3745, CaF1_WIE_18_D_08 SEQ ID NO:3756, CaF1_WIE_18_D_09
 SEQ ID NO:3757, CaF1_WIE_18_E_02 SEQ ID NO:3761, CaF1_WIE_18_E_05 SEQ ID NO:3763,
 40 CaF1_WIE_18_F_01 SEQ ID NO:3770, CaF1_WIE_18_G_02 SEQ ID NO:3781, CaF1_WIE_19_A_08 SEQ ID
 NO:3802, CaF1_WIE_19_F_10 SEQ ID NO:3845, CaF1_WIE_19_F_11 SEQ ID NO:3846, CaF1_WIE_20_B_06
 SEQ ID NO:3868, CaF1_WIE_20_E_06 SEQ ID NO:3888, CaF1_WIE_21_C_01 SEQ ID NO:3931,
 CaF1_WIE_21_C_02 SEQ ID NO:3932, CaF1_WIE_21_F_09 SEQ ID NO:3957, CaF1_WIE_22_F_06 SEQ ID
 NO:4011, CaF1_WIE_23_A_10 SEQ ID NO:4035, CaF1_WIE_23_C_09 SEQ ID NO:4045, CaF1_WIE_24_C_09
 45 SEQ ID NO:4110, CaF1_WIE_24_D_08 SEQ ID NO:4119, CaF1_WIE_24_E_09 SEQ ID NO:4126,
 CaF1_WIE_24_G_05 SEQ ID NO:4143, CaF1_WIE_24_H_02 SEQ ID NO:4150, CaF1_WIE_24_H_05 SEQ ID
 NO:4153, CaF1_WIE_25_A_03 SEQ ID NO:4160, CaF1_WIE_25_C_11 SEQ ID NO:4185, CaF1_WIE_25_D_03
 SEQ ID NO:4187, CaF1_WIE_25_D_09 SEQ ID NO:4193, CaF1_WIE_25_H_10 SEQ ID NO:4222,
 CaF1_WIE_26_B_09 SEQ ID NO:4239, CaF1_WIE_26_B_10 SEQ ID NO:4240, CaF1_WIE_26_C_01 SEQ ID
 NO:4242, CaF1_WIE_26_C_11 SEQ ID NO:4251, CaF1_WIE_26_D_09 SEQ ID NO:4259, CaF1_WIE_26_G_03
 50 SEQ ID NO:4279, CaF1_WIE_26_G_06 SEQ ID NO:4282, CaF1_WIE_26_H_10 SEQ ID NO:4297,
 CaF1_WIE_27_C_01 SEQ ID NO:4320, CaF1_WIE_27_E_10 SEQ ID NO:4346, CaF1_WIE_27_F_04 SEQ ID
 NO:4351, CaF1_WIE_27_G_07 SEQ ID NO:4365, CaF1_WIE_27_H_02 SEQ ID NO:4371, CaF1_WIE_28_A_05
 SEQ ID NO:4381, CaF1_WIE_28_B_01 SEQ ID NO:4387, CaF1_WIE_28_D_02 SEQ ID NO:4404,
 CaF1_WIE_28_E_02 SEQ ID NO:4413, CaF1_WIE_29_A_10 SEQ ID NO:4454, CaF1_WIE_29_B_03 SEQ ID
 NO:4458, CaF1_WIE_29_B_04 SEQ ID NO:4459, CaF1_WIE_29_F_01 SEQ ID NO:4499, CaF1_WIE_29_G_07
 55 SEQ ID NO:4516, CaF1_WIE_30_C_04 SEQ ID NO:4550, CaF1_WIE_30_E_08 SEQ ID NO:4571,
 CaF1_WIE_30_F_10 SEQ ID NO:4582, CaF1_WIE_30_H_08 SEQ ID NO:4598, CaF1_WIE_31_B_01 SEQ ID
 NO:4611, CaF1_WIE_31_E_01 SEQ ID NO:4636, CaF1_WIE_31_F_01 SEQ ID NO:4645, CaF1_WIE_31_G_02
 SEQ ID NO:4655, CaF1_WIE_32_B_11 SEQ ID NO:4691, CaF1_WIE_32_E_04 SEQ ID NO:4709,
 CaF1_WIE_33_D_07 SEQ ID NO:4773, CaF1_WIE_34_A_04 SEQ ID NO:4813, CaF1_WIE_34_F_09 SEQ ID
 NO:4859, CaF1_WIE_34_H_04 SEQ ID NO:4872, CaF1_WIE_35_A_03 SEQ ID NO:4879, CaF1_WIE_35_B_04
 60 SEQ ID NO:4890, CaF1_WIE_35_B_06 SEQ ID NO:4892, CaF1_WIE_35_D_08 SEQ ID NO:4913,
 CaF1_WIE_35_D_09 SEQ ID NO:4914, CaF1_WIE_36_C_08 SEQ ID NO:4975, CaF1_WIE_36_G_01 SEQ ID
 NO:5002, CaF1_WIE_36_H_02 SEQ ID NO:5012, CaF1_WIE_38_A_08 SEQ ID NO:5090, CaF1_WIE_38_B_09
 SEQ ID NO:5098, CaF1_WIE_38_C_08 SEQ ID NO:5106, CaF1_WIE_38_C_10 SEQ ID NO:5108,
 CaF1_WIE_38_D_08 SEQ ID NO:5113, CaF1_WIE_38_F_09 SEQ ID NO:5128, CaF1_WIE_38_G_01 SEQ ID
 NO:5130, CaF1_WIE_38_G_10 SEQ ID NO:5135, CaF1_WIE_39_D_05 SEQ ID NO:5172, CaF1_WIE_39_G_03
 65 SEQ ID NO:5184, CaF1_WIE_39_H_06 SEQ ID NO:5194, CaF1_WIE_40_A_01 SEQ ID NO:5198,
 CaF1_WIE_40_A_02 SEQ ID NO:5199, CaF1_WIE_40_B_03 SEQ ID NO:5211, CaF1_WIE_40_E_03 SEQ ID
 NO:5236, CaF1_WIE_40_F_03 SEQ ID NO:5246, CaF1_WIE_40_F_08 SEQ ID NO:5250, CaF1_WIE_40_F_10

SEQ ID NO:5252, CaF1_WIE_40_H_09 SEQ ID NO:5270, CaF1_WIE_40_H_10 SEQ ID NO:5271,
 CaF1_WIE_41_B_07 SEQ ID NO:5285, CaF1_WIE_41_B_08 SEQ ID NO:5286, CaF1_WIE_41_D_06 SEQ ID
 NO:5301, CaF1_WIE_41_D_10 SEQ ID NO:5304, CaF1_WIE_41_F_09 SEQ ID NO:5320, CaF1_WIE_41_H_09
 SEQ ID NO:5338, CaF1_WIE_42_A_05 SEQ ID NO:5344, CaF1_WIE_42_A_10 SEQ ID NO:5347, CaF1_WIE
 5 42_C_05 SEQ ID NO:5355, CaF1_WIE_42_C_06 SEQ ID NO:5356, CaF1_WIE_42_C_09 SEQ ID NO:5358,
 CaF1_WIE_42_F_04 SEQ ID NO:5373, CaF1_WIE_43_B_04 SEQ ID NO:5400, CaF1_WIE_43_C_04 SEQ ID
 NO:5407, CaF1_WIE_43_G_02 SEQ ID NO:5433, CaF1_WIE_43_G_06 SEQ ID NO:5435, CaF1_WIE_44_A_05
 SEQ ID NO:5444, CaF1_WIE_44_C_06 SEQ ID NO:5459, CaF1_WIE_44_G_09 SEQ ID NO:5492,
 CaF1_WIE_45_B_09 SEQ ID NO:5516, CaF1_WIE_45_C_10 SEQ ID NO:5524, CaF1_WIE_45_D_05 SEQ ID
 10 NO:5526, CaF1_WIE_45_F_07 SEQ ID NO:5543, CaF1_WIE_45_G_07 SEQ ID NO:5549, CaF1_WIE_46_B_06
 SEQ ID NO:5576, CaF1_WIE_46_C_09 SEQ ID NO:5588, CaF1_WIE_46_D_03 SEQ ID NO:5592,
 CaF1_WIE_47_D_09 SEQ ID NO:5667, CaF1_WIE_47_E_11 SEQ ID NO:5679, CaF1_WIE_47_F_05 SEQ ID
 NO:5684, CaF1_WIE_47_G_04 SEQ ID NO:5693, CaF1_WIE_47_H_02 SEQ ID NO:5702, CaF1_WIE_48_A_08
 SEQ ID NO:5713, CaF1_WIE_48_A_09 SEQ ID NO:5714, CaF1_WIE_48_C_08 SEQ ID NO:5728,
 15 CaF1_WIE_48_C_09 SEQ ID NO:5729, CaF1_WIE_48_E_04 SEQ ID NO:5743, CaF1_WIE_48_G_07 SEQ ID
 NO:5762, CaF1_WIE_49_B_04 SEQ ID NO:5785, CaF1_WIE_49_H_06 SEQ ID NO:5829, CaF1_WIE_50_A_02
 SEQ ID NO:5834, CaF1_WIE_50_B_04 SEQ ID NO:5841, CaF1_WIE_50_C_03 SEQ ID NO:5851,
 CaF1_WIE_50_C_06 SEQ ID NO:5853, CaF1_WIE_50_D_08 SEQ ID NO:5862, CaF1_WIE_50_E_03 SEQ ID
 20 NO:5867, CaF1_WIE_50_F_05 SEQ ID NO:5877, CaF1_WIE_51_C_09 SEQ ID NO:5922, CaF1_WIE_51_H_05
 SEQ ID NO:5953, CaF1_WIE_51_H_06 SEQ ID NO:5954, CaF1_WIE_52_A_07 SEQ ID NO:5961,
 CaF1_WIE_52_B_05 SEQ ID NO:5969, CaF1_WIE_53_A_10 SEQ ID NO:6034, CaF1_WIE_53_F_02 SEQ ID
 NO:6066, CaF1_WIE_53_F_05 SEQ ID NO:6069, CaF1_WIE_53_F_07 SEQ ID NO:6071, CaF1_WIE_53_G_02
 SEQ ID NO:6075, CaF1_WIE_54_B_09 SEQ ID NO:6097, CaF1_WIE_54_D_03 SEQ ID NO:6111,
 CaF1_WIE_55_D_04 SEQ ID NO:6178, CaF1_WIE_56_A_02 SEQ ID NO:6219, CaF1_WIE_56_A_06 SEQ ID
 25 NO:6222, CaF1_WIE_56_B_01 SEQ ID NO:6227, CaF1_WIE_56_E_07 SEQ ID NO:6247, CaF1_WIE_56_F_03
 SEQ ID NO:6251, CaF1_WIE_56_H_10 SEQ ID NO:6271 y CaF1_WIE_56_H_11 SEQ ID NO:6272.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas
 con modificación posterior a la traducción, recambio de proteínas y chaperonas. Estas EST son CaF1_JIE_02_C_01
 SEQ ID NO:88, CaF1_JIE_02_C_05 SEQ ID NO:92, CaF1_JIE_02_E_08 SEQ ID NO:113, CaF1_JIE_03_B_09 SEQ
 30 ID NO:154, CaF1_JIE_03_G_08 SEQ ID NO:199, CaF1_JIE_04_E_10 SEQ ID NO:257, CaF1_JIE_04_F_08 SEQ ID
 NO:266, CaF1_JIE_04_G_03 SEQ ID NO:272, CaF1_JIE_05_B_05 SEQ ID NO:303, CaF1_JIE_07_G_07 SEQ ID
 NO:500, CaF1_JIE_07_H_01 SEQ ID NO:505, CaF1_JIE_07_H_09 SEQ ID NO:513, CaF1_JIE_07_H_11 SEQ ID
 NO:515, CaF1_JIE_08_D_04 SEQ ID NO:549, CaF1_JIE_09_E_08 SEQ ID NO:1288, CaF1_JIE_11_B_08 SEQ ID
 NO:1372, CaF1_JIE_11_D_10 SEQ ID NO:1391, CaF1_JIE_12_A_01 SEQ ID NO:1422, CaF1_JIE_12_A_03 SEQ
 35 ID NO:1424, CaF1_JIE_13_D_04 SEQ ID NO:1496, CaF1_JIE_13_D_05 SEQ ID NO:1497, CaF1_JIE_13_E_02
 SEQ ID NO:1498, CaF1_JIE_14_C_08 SEQ ID NO:154 1, CaF1_JIE_14_D_03 SEQ ID NO:1546,
 CaF1_JIE_15_A_03 SEQ ID NO:1583, CaF1_JIE_15_H_02 SEQ ID NO:1642, CaF1_JIE_17_A_07 SEQ ID
 NO:1721, CaF1_JIE_17_C_02 SEQ ID NO:1727, CaF1_JIE_17_C_03 SEQ ID NO:1728, CaF1_JIE_17_D_05 SEQ
 ID NO:1740, CaF1_JIE_17_D_06 SEQ ID NO:1741, CaF1_JIE_17_E_04 SEQ ID NO:1746, CaF1_JIE_17_F_02
 40 SEQ ID NO:1752, CaF1_JIE_18_E_11 SEQ ID NO:1810, CaF1_JIE_19_G_07 SEQ ID NO:1891,
 CaF1_JIE_19_G_08 SEQ ID NO:1892, CaF1_JIE_19_G_09 SEQ ID NO:1893, CaF1_JIE_20_A_10 SEQ ID
 NO:1912, CaF1_JIE_21_A_08 SEQ ID NO:1993, CaF1_JIE_21_E_11 SEQ ID NO:2034, CaF1_JIE_21_F_09 SEQ
 ID NO:2040, CaF1_JIE_23_C_08 SEQ ID NO:2168, CaF1_JIE_23_D_09 SEQ ID NO:2177, CaF1_JIE_23_E_10
 SEQ ID NO:2188, CaF1_JIE_23_F_09 SEQ ID NO:2197, CaF1_JIE_26_G_10 SEQ ID NO:2401,
 45 CaF1_JIE_29_B_09 SEQ ID NO:2531, CaF1_JIE_29_D_06 SEQ ID NO:2541, CaF1_JIE_29_H_02 SEQ ID
 NO:2561, CaF1_JIE_30_G_01 SEQ ID NO:2601, CaF1_JIE_30_G_11 SEQ ID NO:2607, CaF1_JIE_31_H_06 SEQ
 ID NO:2671, CaF1_JIE_32_B_11 SEQ ID NO:2685, CaF1_JIE_32_G_01 SEQ ID NO:2709, CaF1_JIE_33_B_11
 SEQ ID NO:2739, CaF1_JIE_33_C_02 SEQ ID NO:2741, CaF1_JIE_34_D_02 SEQ ID NO:2804,
 CaF1_JIE_34_D_03 SEQ ID NO:2805, CaF1_JIE_34_E_04 SEQ ID NO:2813, CaF1_JIE_34_E_05 SEQ ID
 50 NO:2814, CaF1_JIE_34_G_02 SEQ ID NO:2822, CaF1_JIE_35_A_01 SEQ ID NO:2838, CaF1_JIE_35_D_08 SEQ
 ID NO:2867, CaF1_JIE_37_A_03 SEQ ID NO:2948, CaF1_JIE_37_D_03 SEQ ID NO:2966, CaF1_JIE_37_F_02
 SEQ ID NO:2976, CaF1_JIE_37_F_07 SEQ ID NO:2978, CaF1_JIE_38_A_07 SEQ ID NO:3001,
 CaF1_JIE_39_D_06 SEQ ID NO:3080, CaF1_JIE_39_E_01 SEQ ID NO:3083, CaF1_WIE_01_F_02 SEQ ID
 NO:673, CaF1_WIE_01_F_03 SEQ ID NO:674, CaF1_WIE_01_H_09 SEQ ID NO:697, CaF1_WIE_03_C_01 SEQ
 55 ID NO:775, CaF1_WIE_03_E_02 SEQ ID NO:792, CaF1_WIE_03_G_02 SEQ ID NO:806, CaF1_WIE_04_G_02
 SEQ ID NO:872, CaF1_WIE_06_A_04 SEQ ID NO:959, CaF1_WIE_06_B_05 SEQ ID NO:967, CaF1_WIE_06_B_06
 SEQ ID NO:968, CaF1_WIE_06_B_11 SEQ ID NO:971, CaF1_WIE_06_C_06 SEQ ID NO:977,
 CaF1_WIE_06_E_04 SEQ ID NO:990, CaF1_WIE_06_G_11 SEQ ID NO:1013, CaF1_WIE_06_H_04 SEQ ID
 NO:1017, CaF1_WIE_07_A_11 SEQ ID NO:1033, CaF1_WIE_07_B_07 SEQ ID NO:1040, CaF1_WIE_07_E_03
 60 SEQ ID NO:1066, CaF1_WIE_07_F_01 SEQ ID NO:107, CaF1_WIE_07_F_02 SEQ ID NO:1074,
 CaF1_WIE_07_G_10 SEQ ID NO:1092, CaF1_WIE_07_H_05 SEQ ID NO:1097, CaF1_WIE_08_D_11 SEQ ID
 NO:1139, CaF1_WIE_08_H_10 SEQ ID NO:1172, CaF1_WIE_08_H_11 SEQ ID NO:1173, CaF1_WIE_09_A_10
 SEQ ID NO:1181, CaF1_WIE_09_F_04 SEQ ID NO:1212, CaF1_WIE_09_H_06 SEQ ID NO:1229,
 CaF1_WIE_10_A_02 SEQ ID NO:1235, CaF1_WIE_10_A_03 SEQ ID NO:1236, CaF1_WIE_10_B_07 SEQ ID
 65 NO:1249, CaF1_WIE_10_C_11 SEQ ID NO:1260, CaF1_WIE_10_E_05 SEQ ID NO:3275, CaF1_WIE_10_E_10

5 SEQ ID NO:3279, CaF1_WIE_10_E_11 SEQ ID NO:3280, CaF1_WIE_11_A_07 SEQ ID NO:3313, CaF1_WIE_11_B_07 SEQ ID NO:3322, CaF1_WIE_11_C_05 SEQ ID NO:3329, CaF1_WIE_11_F_06 SEQ ID NO:3354, CaF1_WIE_11_F_11 SEQ ID NO:3359, CaF1_WIE_12_D_04 SEQ ID NO:3406, CaF1_WIE_12_F_09 SEQ ID NO:3428, CaF1_WIE_13_H_10 SEQ ID NO:3522, CaF1_WIE_14_C_09 SEQ ID NO:3534, CaF1_WIE_14_E_10 SEQ ID NO:3544, CaF1_WIE_14_F_08 SEQ ID NO:3549, CaF1_WIE_14_F_09 SEQ ID NO:3550, CaF1_WIE_14_G_09 SEQ ID NO:3556, CaF1_WIE_15_F_08 SEQ ID NO:3590, CaF1_WIE_16_E_10 SEQ ID NO:3625, CaF1_WIE_17_D_05 SEQ ID NO:3677, CaF1_WIE_17_D_07 SEQ ID NO:3679, CaF1_WIE_17_E_07 SEQ ID NO:3690, CaF1_WIE_17_E_09 SEQ ID NO:3692, CaF1_WIE_17_H_07 SEQ ID NO:3720, CaF1_WIE_18_B_06 SEQ ID NO:3737, CaF1_WIE_18_C_01 SEQ ID NO:3741, CaF1_WIE_18_C_06 SEQ ID NO:3746, CaF1_WIE_18_C_09 SEQ ID NO:3749, CaF1_WIE_18_D_11 SEQ ID NO:3759, CaF1_WIE_18_F_03 SEQ ID NO:3772, CaF1_WIE_18_G_03 SEQ ID NO:3782, CaF1_WIE_19_B_08 SEQ ID NO:3812, CaF1_WIE_19_D_09 SEQ ID NO:3828, CaF1_WIE_19_E_03 SEQ ID NO:3830, CaF1_WIE_20_E_08 SEQ ID NO:3890, CaF1_WIE_20_F_05 SEQ ID NO:3896, CaF1_WIE_20_F_07 SEQ ID NO:3897, CaF1_WIE_21_A_10 SEQ ID NO:3922, CaF1_WIE_21_C_09 SEQ ID NO:3936, CaF1_WIE_21_D_01 SEQ ID NO:3939, CaF1_WIE_21_E_09 SEQ ID NO:3951, CaF1_WIE_21_F_11 SEQ ID NO:3959, CaF1_WIE_22_B_08 SEQ ID NO:3988, CaF1_WIE_23_H_09 SEQ ID NO:4085, CaF1_WIE_24_D_11 SEQ ID NO:4120, CaF1_WIE_24_E_06 SEQ ID NO:4124, CaF1_WIE_25_A_02 SEQ ID NO:4159, CaF1_WIE_25_E_02 SEQ ID NO:4196, CaF1_WIE_25_E_05 SEQ ID NO:4199, CaF1_WIE_26_A_02 SEQ ID NO:4225, CaF1_WIE_26_G_04 SEQ ID NO:4280, CaF1_WIE_27_B_03 SEQ ID NO:4311, CaF1_WIE_27_B_09 SEQ ID NO:4317, CaF1_WIE_27_D_06 SEQ ID NO:4332, CaF1_WIE_27_E_07 SEQ ID NO:4343, CaF1_WIE_27_F_07 SEQ ID NO:4354, CaF1_WIE_27_G_01 SEQ ID NO:4359, CaF1_WIE_27_H_03 SEQ ID NO:4372, CaF1_WIE_28_C_06 SEQ ID NO:4398, CaF1_WIE_29_B_05 SEQ ID NO:4460, CaF1_WIE_29_D_11 SEQ ID NO:4487, CaF1_WIE_29_E_02 SEQ ID NO:4489, CaF1_WIE_29_E_05 SEQ ID NO:4492, CaF1_WIE_29_G_01 SEQ ID NO:4510, CaF1_WIE_30_B_10 SEQ ID NO:4546, CaF1_WIE_30_G_02 SEQ ID NO:4585, CaF1_WIE_31_C_03 SEQ ID NO:4622, CaF1_WIE_32_A_09 SEQ ID NO:4679, CaF1_WIE_32_B_01 SEQ ID NO:4682, CaF1_WIE_32_B_05 SEQ ID NO:4685, CaF1_WIE_32_C_06 SEQ ID NO:4697, CaF1_WIE_32_E_06 SEQ ID NO:4711, CaF1_WIE_33_F_07 SEQ ID NO:4790, CaF1_WIE_33_G_06 SEQ ID NO:4799, CaF1_WIE_34_A_02 SEQ ID NO:4811, CaF1_WIE_34_B_10 SEQ ID NO:4826, CaF1_WIE_34_C_02 SEQ ID NO:4828, CaF1_WIE_34_D_03 SEQ ID NO:4838, CaF1_WIE_34_F_10 SEQ ID NO:4860, CaF1_WIE_34_G_04 SEQ ID NO:4864, CaF1_WIE_35_A_04 SEQ ID NO:4880, CaF1_WIE_35_A_05 SEQ ID NO:4881, CaF1_WIE_35_A_11 SEQ ID NO:4886, CaF1_WIE_35_C_02 SEQ ID NO:4898, CaF1_WIE_35_C_03 SEQ ID NO:4899, CaF1_WIE_35_C_11 SEQ ID NO:4906, CaF1_WIE_35_D_01 SEQ ID NO:4907, CaF1_WIE_35_F_04 SEQ ID NO:4930, CaF1_WIE_35_F_06 SEQ ID NO:4931, CaF1_WIE_35_G_10 SEQ ID NO:4945, CaF1_WIE_35_H_02 SEQ ID NO:4947, CaF1_WIE_35_H_04 SEQ ID NO:4949, CaF1_WIE_36_D_01 SEQ ID NO:4979, CaF1_WIE_36_F_01 SEQ ID NO:4996, CaF1_WIE_36_F_09 SEQ ID NO:5000, CaF1_WIE_36_F_11 SEQ ID NO:5001, CaF1_WIE_36_H_04 SEQ ID NO:5014, CaF1_WIE_36_H_05 SEQ ID NO:5015, CaF1_WIE_37_B_08 SEQ ID NO:5035, CaF1_WIE_37_E_01 SEQ ID NO:5048, CaF1_WIE_38_B_05 SEQ ID NO:5096, CaF1_WIE_38_C_07 SEQ ID NO:5105, CaF1_WIE_39_C_05 SEQ ID NO:5164, CaF1_WIE_39_G_08 SEQ ID NO:5188, CaF1_WIE_40_G_05 SEQ ID NO:5257, CaF1_WIE_40_G_10 SEQ ID NO:5262, CaF1_WIE_41_A_05 SEQ ID NO:5276, CaF1_WIE_41_A_08 SEQ ID NO:5278, CaF1_WIE_42_F_01 SEQ ID NO:5372, CaF1_WIE_42_H_11 SEQ ID NO:5388, CaF1_WIE_43_A_05 SEQ ID NO:5392, CaF1_WIE_43_B_10 SEQ ID NO:5404, CaF1_WIE_43_F_11 SEQ ID NO:5432, CaF1_WIE_44_A_06 SEQ ID NO:5445, CaF1_WIE_44_D_03 SEQ ID NO:5466, CaF1_WIE_44_D_07 SEQ ID NO:5470, CaF1_WIE_44_F_01 SEQ ID NO:5481, CaF1_WIE_44_H_02 SEQ ID NO:5495, CaF1_WIE_46_B_03 SEQ ID NO:5574, CaF1_WIE_46_E_01 SEQ ID NO:5599, CaF1_WIE_46_E_09 SEQ ID NO:5605, CaF1_WIE_47_F_03 SEQ ID NO:5682, CaF1_WIE_47_H_03 SEQ ID NO:5703, CaF1_WIE_47_H_10 SEQ ID NO:5709, CaF1_WIE_49_F_03 SEQ ID NO:5815, CaF1_WIE_50_B_05 SEQ ID NO:5842, CaF1_WIE_50_D_05 SEQ ID NO:5859, CaF1_WIE_50_F_06 SEQ ID NO:5878, CaF1_WIE_50_H_07 SEQ ID NO:5893, CaF1_WIE_51_E_07 SEQ ID NO:5937, CaF1_WIE_51_F_01 SEQ ID NO:5941, CaF1_WIE_51_H_09 SEQ ID NO:5955, CaF1_WIE_52_A_04 SEQ ID NO:5959, CaF1_WIE_52_B_09 SEQ ID NO:5973, CaF1_WIE_52_B_10 SEQ ID NO:5974, CaF1_WIE_52_C_05 SEQ ID NO:5979, CaF1_WIE_52_G_04 SEQ ID NO:6011, CaF1_WIE_53_A_05 SEQ ID NO:6030, CaF1_WIE_53_D_07 SEQ ID NO:6054, CaF1_WIE_53_D_08 SEQ ID NO:6055, CaF1_WIE_53_G_09 SEQ ID NO:6077, CaF1_WIE_54_A_03 SEQ ID NO:6083, CaF1_WIE_54_B_04 SEQ ID NO:6092, CaF1_WIE_54_D_04 SEQ ID NO:6112, CaF1_WIE_55_D_03 SEQ ID NO:6177, CaF1_WIE_55_D_08 SEQ ID NO:6180, CaF1_WIE_55_F_02 SEQ ID NO:6192, CaF1_WIE_55_F_11 SEQ ID NO:6198, CaF1_WIE_55_G_07 SEQ ID NO:6205, CaF1_WIE_55_H_11 SEQ ID NO:6218, CaF1_WIE_56_C_07 SEQ ID NO:6237, CaF1_WIE_56_E_10 SEQ ID NO:6250 y CaF1_WIE_56_G_03 SEQ ID NO:6259.

Genes que codifican proteínas de unión a nucleótidos

60 En nuestro estudio, se encontró que las proteínas de unión a GTP eran la clase principal de proteínas de unión a nucleótidos en genotipos susceptibles así como resistentes. Las proteínas de unión a GTP predominantes que responden al estrés fueron del tipo Ras, Rab y Ran. Las EST que codifican la proteína de unión a GTP monomérica pequeña semejante a ras y GMPasa estaban presentes en el genotipo susceptible mientras Rab, RAB7C, GTP ciclohidrolasa y RabGAP/TBC se encontraron sólo en el resistente. Sin embargo, las EST que codifican la GTPasa pequeña Ras y RAB1X se identificaron en ambos genotipos. Se reporta que las proteínas de unión a GTP están

asociadas con un amplio rango de procesos de crecimiento y desarrollo además de su papel en la defensa de las plantas

De acuerdo con esto, la presente descripción proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con proteínas de unión a nucleótidos. Estas EST son CaF1_JIE_01_B_11 SEQ ID NO:20, CaF1_JIE_02_G_04 SEQ ID NO:126, CaF1_JIE_02_G_10 SEQ ID NO:132, CaF1_JIE_05_D_03 SEQ ID NO:321, CaF1_JIE_13_C_08 SEQ ID NO:1493, CaF1_JIE_24_B_11 SEQ ID NO:2239, CaF1_JIE_25_F_04 SEQ ID NO:2327, CaF1_JIE_25_F_09 SEQ ID NO:2331, CaF1_JIE_25_H_01 SEQ ID NO:2340, CaF1_JIE_27_C_04 SEQ ID NO:2427, CaF1_JIE_29_C_03 SEQ ID NO:2534, CaF1_JIE_29_H_06 SEQ ID NO:2564, CaF1_JIE_32_G_03 SEQ ID NO:2710, CaF1_WIE_01_H_06 SEQ ID NO:695, CaF1_WIE_05_F_09 SEQ ID NO:937, CaF1_WIE_07_C_06 SEQ ID NO:104, CaF1_WIE_07_D_11 SEQ ID NO:1063, CaF1_WIE_10_B_02 SEQ ID NO:1244, CaF1_WIE_14_G_02 SEQ ID NO:3552, CaF1_WIE_23_G_08 SEQ ID NO:4076, CaF1_WIE_25_E_04 SEQ ID NO:4198, CaF1_WIE_25_H_03 SEQ ID NO:4217, CaF1_WIE_26_H_09 SEQ ID NO:4296, CaF1_WIE_29_B_02 SEQ ID NO:4457, CaF1_WIE_29_F_09 SEQ ID NO:4507, CaF1_WIE_34_C_03 SEQ ID NO:4829, CaF1_WIE_36_A_09 SEQ ID NO:4962, CaF1_WIE_39_F_08 SEQ ID NO:5181, CaF1_WIE_41_E_07 SEQ ID NO:5312, CaF1_WIE_44_E_07 SEQ ID NO:5478, CaF1_WIE_46_A_07 SEQ ID NO:5569, CaF1_WIE_46_A_08 SEQ ID NO:5570, CaF1_WIE_46_D_06 SEQ ID NO:5595, CaF1_WIE_49_F_06 SEQ ID NO:5817 y CaF1_WIE_52_C_06 SEQ ID NO:5980.

Genes implicados en el metabolismo

Los cambios en el desarrollo y las respuestas a estrés se correlacionan frecuentemente con o resultan en ajustes en varias rutas metabólicas. La clase funcional de metabolismo comprendía aproximadamente 14,56% de los unigenes y representaba la mayor clase aparte de NSH y proteínas hipotéticas. Los genes presentes en esta clase representaban varias rutas bioquímicas, tales como metabolismo de carbohidratos, ácidos grasos, energía y proteínas además del metabolismo del nitrógeno y nucleótidos. Los genes implicados en el metabolismo de carbohidratos comprendían alcohol deshidrogenasa (ADH), gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), enolasa, fructosa-bifosfato aldolasa, malato deshidrogenasa, fosfoenol piruvato (PEP) carboxilasa y triosafosfato isomerasa y estaban presentes en ambos genotipos. Se sabe que la mayor parte de estas enzimas muestra una expresión alterada en respuesta a estrés. Aunque se conoce muy poco acerca del papel directo de estas proteínas en defensa, muchas de estas enzimas están implicadas en el mantenimiento de un combinado de metabolitos que puede dirigir los procesos metabólicos para superar dichos estreses. La proteína inhibidora de poligalactouronasa (PGIP) estaba presente tanto en los genotipos susceptible como resistente. Las PGIP son proteínas de la pared celular, que actúan frente a poligalactouronasas fúngicas que son factores de patogenicidad importantes. Además de su función clásica, también pueden formar oligogalacturonidos de cadena larga y facilitar la activación de respuestas de defensa de la planta. Observamos la presencia de β 1,3-glucanasa, una proteína de la familia PR 2, que se mostró previamente que se expresaba en respuesta a infección por patógenos.

Se encontró que los genes implicados en la biosíntesis de lípidos, por ejemplo, acil Co-A sintetasa y proteínas de unión a acil Co-A estaban presentes en ambos genotipos. Se ha mostrado que la enzima acil Co-A sintetasa se induce en respuesta a interacciones compatibles e incompatibles entre *Xanthomonas* y *Capsicum annum* mientras las proteínas de unión a acil Co-A juegan un papel importante en el transporte intracelular y formación de conjuntos de acil Co-A. Las EST que codifican desaturasas en el conjunto de CaUnigen mostraron especificidad de sustrato variada entre los dos genotipos. Por ejemplo, oleato y esteroil desaturasas se encontraron en el genotipo susceptible y la posible proteína semejante a desaturasa estaba presente en el resistente. Las desaturasas catalizan la formación de enlaces dobles en lípidos incrementando de esta manera la fluidez de los lípidos, que podría requerirse como un ajuste asociado con la estabilidad de la membrana bajo marchitamiento progresivo. También se encontró que las EST correspondientes a otros genes del metabolismo de lípidos tales como serina C-palmitoiltransferasa, también estaban presentes en tejidos estresados. La identificación de enzimas relacionadas con el metabolismo del esteroil tales como esteroil metil transferasas y proteínas de unión a oxiesteroil sugiere la aparición de modificaciones lipídicas durante el estrés por patógeno. La presencia de HMG Co-A reductasa que cataliza la síntesis de mevalonato, un precursor específico del metabolito de defensa de la planta sesquiterpeno pfitoalexinas, es indicativo de su papel en la defensa celular.

Varios aminoácidos actúan como precursores para la síntesis de metabolitos especializados, durante varias adaptaciones celulares. Las EST que codifican enzimas implicadas en el metabolismo de aminoácidos, por ejemplo, arginina descarboxilasa, aspartato aminotransferasa, y cisteína sintasa se identificaron en ambos genotipos. La evidencia reciente sugiere que arginina descarboxilasa, implicada en la biosíntesis de putrescina, se induce en respuesta a varios estreses medioambientales. La prolina deshidrogenasa y muchas proteínas ricas en prolina se identificaron en el genotipo resistente. La prolina deshidrogenasa es la enzima limitante en la degradación de prolina y cumple funciones importantes en las respuestas al estrés.

Los genes relacionados con el metabolismo de nucleótidos tales como nucleósido difosfato quinasa (NDK), translocador de nucleótido adenina y polinucleótido fosforilasa también se identificaron en ambos genotipos. Previamente, se ha mostrado que la sobreexpresión de NDK proporciona una mayor capacidad para eliminar H_2O_2 , indicando su papel potencial en la gestión de especies de oxígeno reactivas bajo estrés.

ES 2 620 658 T3

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con metabolismo. Estas EST son CaF1_JIE_01_A_05 SEQ ID NO:4, CaF1_JIE_01_B_02 SEQ ID NO:11, CaF1_JIE_01_B_03 SEQ ID NO:12, CaF1_JIE_01_B_04 SEQ ID NO: 13, CaF1_JIE_01_B_07 SEQ ID NO:16, CaF1_JIE_01_C_07 SEQ ID NO:27, CaF1_JIE_01_C_08 SEQ ID NO:28, CaF1_JIE_01_C_09 SEQ ID NO:29, CaF1_JIE_01_D_02 SEQ ID NO:33, CaF1_JIE_01_D_07 SEQ ID NO:37, CaF1_JIE_01_E_03 SEQ ID NO:43, CaF1_JIE_01_E_06 SEQ ID NO:46, CaF1_JIE_01_E_10 SEQ ID NO:49, CaF1_JIE_01_F_04 SEQ ID NO:52, CaF1_JIE_01_F_06 SEQ ID NO:54, CaF1_JIE_01_G_04 SEQ ID NO:61, CaF1_JIE_01_G_06 SEQ ID NO:63, CaF1_JIE_01_G_08 SEQ ID NO:64, CaF1_JIE_02_A_11 SEQ ID NO:79, CaF1_JIE_02_D_02 SEQ ID NO:99, CaF1_JIE_02_E_01 SEQ ID NO:108, CaF1_JIE_02_E_06 SEQ ID NO:112, CaF1_JIE_02_E_09 SEQ ID NO:114, CaF1_JIE_02_F_03 SEQ ID NO:117, CaF1_JIE_02_F_09 SEQ ID NO:122, CaF1_JIE_02_G_07 SEQ ID NO:129, CaF1_JIE_02_H_02 SEQ ID NO:134, CaF1_JIE_03_A_04 SEQ ID NO:146, CaF1_JIE_03_C_01 SEQ ID NO:157, CaF1_JIE_03_D_01 SEQ ID NO:166, CaF1_JIE_03_E_01 SEQ ID NO:174, CaF1_JIE_03_E_02 SEQ ID NO:175, CaF1_JIE_03_E_04 SEQ ID NO:179, CaF1_JIE_03_F_01 SEQ ID NO:183, CaF1_JIE_03_F_03 SEQ ID NO:185, CaF1_JIE_03_F_08 SEQ ID NO:186, CaF1_JIE_03_F_06 SEQ ID NO:188, CaF1_JIE_03_F_07 SEQ ID NO:189, CaF1_JIE_03_G_02 SEQ ID NO:194, CaF1_JIE_03_H_11 SEQ ID NO:209, CaF1_JIE_04_C_03 SEQ ID NO:233, CaF1_JIE_04_C_06 SEQ ID NO:236, CaF1_JIE_04_D_01 SEQ ID NO:240, CaF1_JIE_04_D_03 SEQ ID NO:242, CaF1_JIE_04_D_08 SEQ ID NO:246, CaF1_JIE_04_D_10 SEQ ID NO:248, CaF1_JIE_04_E_02 SEQ ID NO:251, CaF1_JIE_04_E_09 SEQ ID NO:256, CaF1_JIE_04_F_10 SEQ ID NO:268, CaF1_JIE_04_H_05 SEQ ID NO:284, CaF1_JIE_04_H_10 SEQ ID NO:288, CaF1_JIE_05_B_03 SEQ ID NO:301, CaF1_JIE_05_B_04 SEQ ID NO:302, CaF1_JIE_05_D_09 SEQ ID NO:327, CaF1_JIE_05_E_03 SEQ ID NO:332, CaF1_JIE_05_F_04 SEQ ID NO:344, CaF1_JIE_05_F_07 SEQ ID NO:347, CaF1_JIE_05_F_11 SEQ ID NO:350, CaF1_JIE_05_G_03 SEQ ID NO:353, CaF1_JIE_06_A_01 SEQ ID NO:371, CaF1_JIE_06_B_05 SEQ ID NO:383, CaF1_JIE_06_D_01 SEQ ID NO:395, CaF1_JIE_06_D_03 SEQ ID NO:397, CaF1_JIE_06_D_05 SEQ ID NO:399, CaF1_JIE_06_D_07 SEQ ID NO:400, CaF1_JIE_06_D_09 SEQ ID NO:402, CaF1_JIE_06_E_01 SEQ ID NO:405, CaF1_JIE_06_F_11 SEQ ID NO:420, CaF1_JIE_06_G_05 SEQ ID NO:425, CaF1_JIE_06_H_01 SEQ ID NO:429, CaF1_JIE_06_H_04 SEQ ID NO:431, CaF1_JIE_06_H_09 SEQ ID NO:435, CaF1_JIE_07_A_02 SEQ ID NO:437, CaF1_JIE_07_A_09 SEQ ID NO:442, CaF1_JIE_07_B_06 SEQ ID NO:449, CaF1_JIE_07_C_02 SEQ ID NO:455, CaF1_JIE_07_C_08 SEQ ID NO:461, CaF1_JIE_07_F_01 SEQ ID NO:485, CaF1_JIE_07_F_02 SEQ ID NO:486, CaF1_JIE_07_G_09 SEQ ID NO:502, CaF1_JIE_07_G_11 SEQ ID NO:504, CaF1_JIE_07_H_07 SEQ ID NO:511, CaF1_JIE_08_A_02 SEQ ID NO:517, CaF1_JIE_08_B_05 SEQ ID NO:529, CaF1_JIE_08_C_11 SEQ ID NO:545, CaF1_JIE_08_F_02 SEQ ID NO:568, CaF1_JIE_08_G_04 SEQ ID NO:579, CaF1_JIE_08_H_04 SEQ ID NO:590, CaF1_JIE_08_H_08 SEQ ID NO:594, CaF1_JIE_09_C_04 SEQ ID NO:621, CaF1_JIE_09_D_04 SEQ ID NO:1273, CaF1_JIE_09_D_10 SEQ ID NO:1279, CaF1_JIE_09_E_01 SEQ ID NO:1281, CaF1_JIE_09_E_04 SEQ ID NO:1284, CaF1_JIE_09_F_06 SEQ ID NO:1296, CaF1_JIE_09_G_06 SEQ ID NO:130, CaF1_JIE_09_G_09 SEQ ID NO:130, CaF1_JIE_09_G_10 SEQ ID NO:130, CaF1_JIE_09_H_08 SEQ ID NO:1315, CaF1_JIE_10_A_08 SEQ ID NO:1321, CaF1_JIE_10_B_09 SEQ ID NO:1331, CaF1_JIE_10_D_03 SEQ ID NO:1337, CaF1_JIE_10_F_01 SEQ ID NO:1342, CaF1_JIE_10_H_03 SEQ ID NO:1354, CaF1_JIE_11_A_07 SEQ ID NO:1364, CaF1_JIE_11_A_08 SEQ ID NO:1365, CaF1_JIE_11_A_09 SEQ ID NO:1366, CaF1_JIE_11_D_01 SEQ ID NO:1384, CaF1_JIE_11_D_02 SEQ ID NO:1385, CaF1_JIE_11_D_03 SEQ ID NO:1386, CaF1_JIE_11_D_09 SEQ ID NO:1390, CaF1_JIE_11_E_04 SEQ ID NO:1394, CaF1_JIE_11_E_05 SEQ ID NO:1395, CaF1_JIE_11_E_10 SEQ ID NO:1400, CaF1_JIE_11_F_02 SEQ ID NO:1401, CaF1_JIE_11_F_06 SEQ ID NO:1405, CaF1_JIE_11_G_03 SEQ ID NO:1410, CaF1_JIE_11_G_06 SEQ ID NO:1413, CaF1_JIE_11_G_10 SEQ ID NO:1417, CaF1_JIE_11_H_08 SEQ ID NO:1420, CaF1_JIE_11_H_10 SEQ ID NO:1421, CaF1_JIE_12_A_11 SEQ ID NO:1429, CaF1_JIE_12_B_01 SEQ ID NO:1430, CaF1_JIE_12_C_04 SEQ ID NO:1443, CaF1_JIE_12_C_05 SEQ ID NO:1444, CaF1_JIE_12_C_11 SEQ ID NO:1448, CaF1_JIE_12_D_01 SEQ ID NO:1449, CaF1_JIE_12_D_02 SEQ ID NO:1450, CaF1_JIE_12_F_09 SEQ ID NO:1465, CaF1_JIE_12_F_10 SEQ ID NO:1466, CaF1_JIE_12_G_09 SEQ ID NO:1470, CaF1_JIE_12_G_10 SEQ ID NO:1471, CaF1_JIE_12_H_08 SEQ ID NO:1475, CaF1_JIE_13_A_01 SEQ ID NO:1477, CaF1_JIE_13_E_03 SEQ ID NO:1499, CaF1_JIE_13_E_07 SEQ ID NO:1500, CaF1_JIE_13_G_02 SEQ ID NO:1508, CaF1_JIE_13_G_04 SEQ ID NO:1509, CaF1_JIE_13_H_03 SEQ ID NO:1517, CaF1_JIE_14_B_09 SEQ ID NO:1533, CaF1_JIE_14_B_11 SEQ ID NO:1535, CaF1_JIE_14_D_06 SEQ ID NO:1548, CaF1_JIE_14_D_09 SEQ ID NO:1550, CaF1_JIE_14_D_10 SEQ ID NO:1551, CaF1_JIE_14_F_02 SEQ ID NO:1560, CaF1_JIE_14_F_06 SEQ ID NO:1564, CaF1_JIE_14_F_11 SEQ ID NO:1566, CaF1_JIE_14_H_02 SEQ ID NO:1575, CaF1_JIE_14_H_05 SEQ ID NO:1577, CaF1_JIE_14_H_06 SEQ ID NO:1578, CaF1_JIE_14_H_09 SEQ ID NO:1580, CaF1_JIE_15_A_10 SEQ ID NO:1590, CaF1_JIE_15_B_02 SEQ ID NO:1592, CaF1_JIE_15_B_05 SEQ ID NO:1594, CaF1_JIE_15_B_09 SEQ ID NO:1598, CaF1_JIE_15_B_10 SEQ ID NO:1599, CaF1_JIE_15_D_09 SEQ ID NO:1615, CaF1_JIE_15_G_02 SEQ ID NO:1632, CaF1_JIE_15_G_03 SEQ ID NO:1633, CaF1_JIE_15_G_08 SEQ ID NO:1637, CaF1_JIE_15_G_10 SEQ ID NO:1639, CaF1_JIE_15_H_01 SEQ ID NO:1641, CaF1_JIE_15_H_08 SEQ ID NO:1646, CaF1_JIE_16_B_05 SEQ ID NO:1660, CaF1_JIE_16_C_03 SEQ ID NO:1667, CaF1_JIE_16_C_04 SEQ ID NO:1668, CaF1_JIE_16_D_01 SEQ ID NO:1676, CaF1_JIE_16_D_11 SEQ ID NO:1682, CaF1_JIE_16_E_01 SEQ ID NO:1683, CaF1_JIE_16_F_08 SEQ ID NO:1698, CaF1_JIE_16_G_05 SEQ ID NO:1702, CaF1_JIE_16_H_06 SEQ ID NO:1711, CaF1_JIE_16_H_08 SEQ ID NO:1713, CaF1_JIE_16_H_11 SEQ ID NO:1715, CaF1_JIE_17_A_03 SEQ ID NO:1718, CaF1_JIE_17_A_04 SEQ ID NO:1719, CaF1_JIE_17_B_01 SEQ ID NO:1723, CaF1_JIE_17_D_03 SEQ ID NO:1738, CaF1_JIE_17_F_04 SEQ ID NO:1753, CaF1_JIE_17_G_04 SEQ ID NO:1760, CaF1_JIE_17_H_07 SEQ ID NO:1766, CaF1_JIE_17_H_09 SEQ ID NO:1767, CaF1_JIE_18_A_07 SEQ ID NO:1772, CaF1_JIE_18_C_02 SEQ ID NO:1784, CaF1_JIE_18_C_03 SEQ ID NO:1785, CaF1_JIE_18_C_04 SEQ ID NO:1786,

ES 2 620 658 T3

CaF1_JIE_18_C_10 SEQ ID NO:1792, CaF1_JIE_18_F_01 SEQ ID NO:1811, CaF1_JIE_18_F_02 SEQ ID NO:1812, CaF1_JIE_18_F_08 SEQ ID NO:1817, CaF1_JIE_19_A_05 SEQ ID NO:1840, CaF1_JIE_19_D_01 SEQ ID NO:1862, CaF1_JIE_19_E_04 SEQ ID NO:1871, CaF1_JIE_19_E_06 SEQ ID NO:1872, CaF1_JIE_19_E_10 SEQ ID NO:1875, CaF1_JIE_19_F_03 SEQ ID NO:1879, CaF1_JIE_19_F_08 SEQ ID NO:1883, CaF1_JIE_19_F_11 SEQ ID NO:1886, CaF1_JIE_19_G_06 SEQ ID NO:1890, CaF1_JIE_19_H_05 SEQ ID NO:1899, CaF1_JIE_19_H_08 SEQ ID NO:1901, CaF1_JIE_19_H_09 SEQ ID NO:1902, CaF1_JIE_20_B_08 SEQ ID NO:1920, CaF1_JIE_20_D_06 SEQ ID NO:1939, CaF1_JIE_20_D_07 SEQ ID NO:1940, CaF1_JIE_20_E_03 SEQ ID NO:1947, CaF1_JIE_20_E_08 SEQ ID NO:1952, CaF1_JIE_20_E_10 SEQ ID NO:1954, CaF1_JIE_20_F_07 SEQ ID NO:1962, CaF1_JIE_20_G_09 SEQ ID NO:1973, CaF1_JIE_20_H_01 SEQ ID NO:1976, CaF1_JIE_21_A_02 SEQ ID NO:1988, CaF1_JIE_21_A_04 SEQ ID NO:1989, CaF1_JIE_21_A_10 SEQ ID NO:1995, CaF1_JIE_21_C_10 SEQ ID NO:2015, CaF1_JIE_21_G_03 SEQ ID NO:2044, CaF1_JIE_21_G_09 SEQ ID NO:2048, CaF1_JIE_21_H_03 SEQ ID NO:2052, CaF1_JIE_21_H_05 SEQ ID NO:2054, CaF1_JIE_22_A_05 SEQ ID NO:2065, CaF1_JIE_22_A_06 SEQ ID NO:2066, CaF1_JIE_22_A_07 SEQ ID NO:2067, CaF1_JIE_22_A_09 SEQ ID NO:2069, CaF1_JIE_22_B_04 SEQ ID NO:2075, CaF1_JIE_22_B_05 SEQ ID NO:2076, CaF1_JIE_22_B_10 SEQ ID NO:2081, CaF1_JIE_22_D_01 SEQ ID NO:2090, CaF1_JIE_22_E_04 SEQ ID NO:2102, CaF1_JIE_22_E_09 SEQ ID NO:2106, CaF1_JIE_22_E_10 SEQ ID NO:2107, CaF1_JIE_22_G_01 SEQ ID NO:2120, CaF1_JIE_23_A_04 SEQ ID NO:2144, CaF1_JIE_23_A_07 SEQ ID NO:2147, CaF1_JIE_23_A_08 SEQ ID NO:2148, CaF1_JIE_23_D_10 SEQ ID NO:2178, CaF1_JIE_23_E_08 SEQ ID NO:2186, CaF1_JIE_23_F_10 SEQ ID NO:2198, CaF1_JIE_23_F_11 SEQ ID NO:2199, CaF1_JIE_23_G_04 SEQ ID NO:2203, CaF1_JIE_24_B_01 SEQ ID NO:2231, CaF1_JIE_24_D_03 SEQ ID NO:2250, CaF1_JIE_24_D_07 SEQ ID NO:2254, CaF1_JIE_24_E_07 SEQ ID NO:2262, CaF1_JIE_25_B_01 SEQ ID NO:2297, CaF1_JIE_25_B_05 SEQ ID NO:2301, CaF1_JIE_25_C_06 SEQ ID NO:2306, CaF1_JIE_25_D_05 SEQ ID NO:2312, CaF1_JIE_25_D_08 SEQ ID NO:2315, CaF1_JIE_25_F_07 SEQ ID NO:2329, CaF1_JIE_25_G_11 SEQ ID NO:2339, CaF1_JIE_26_A_01 SEQ ID NO:2347, CaF1_JIE_26_B_01 SEQ ID NO:2355, CaF1_JIE_26_B_02 SEQ ID NO:2356, CaF1_JIE_26_C_07 SEQ ID NO:2368, CaF1_JIE_26_C_11 SEQ ID NO:2371, CaF1_JIE_26_D_05 SEQ ID NO:2375, CaF1_JIE_26_E_01 SEQ ID NO:2381, CaF1_JIE_26_E_11 SEQ ID NO:2388, CaF1_JIE_26_F_01 SEQ ID NO:2389, CaF1_JIE_26_F_11 SEQ ID NO:2396, CaF1_JIE_26_G_07 SEQ ID NO:2399, CaF1_JIE_27_A_02 SEQ ID NO:2411, CaF1_JIE_27_A_04 SEQ ID NO:2413, CaF1_JIE_27_A_09 SEQ ID NO:2416, CaF1_JIE_27_A_10 SEQ ID NO:2417, CaF1_JIE_27_B_09 SEQ ID NO:2423, CaF1_JIE_27_C_06 SEQ ID NO:2429, CaF1_JIE_27_C_11 SEQ ID NO:2432, CaF1_JIE_27_D_02 SEQ ID NO:2434, CaF1_JIE_27_D_10 SEQ ID NO:2441, CaF1_JIE_27_F_05 SEQ ID NO:2452, CaF1_JIE_27_F_08 SEQ ID NO:2454, CaF1_JIE_27_F_09 SEQ ID NO:2455, CaF1_JIE_27_G_01 SEQ ID NO:2457, CaF1_JIE_28_A_08 SEQ ID NO:2472, CaF1_JIE_28_A_09 SEQ ID NO:2473, CaF1_JIE_28_A_10 SEQ ID NO:2474, CaF1_JIE_28_B_05 SEQ ID NO:2477, CaF1_JIE_28_B_09 SEQ ID NO:2479, CaF1_JIE_28_B_10 SEQ ID NO:2480, CaF1_JIE_28_C_06 SEQ ID NO:2484, CaF1_JIE_28_C_11 SEQ ID NO:2488, CaF1_JIE_28_D_10 SEQ ID NO:2495, CaF1_JIE_28_F_08 SEQ ID NO:2505, CaF1_JIE_28_F_09 SEQ ID NO:2506, CaF1_JIE_28_G_10 SEQ ID NO:2512, CaF1_JIE_28_H_08 SEQ ID NO:2517, CaF1_JIE_29_D_08 SEQ ID NO:2542, CaF1_JIE_29_D_10 SEQ ID NO:2544, CaF1_JIE_30_A_06 SEQ ID NO:2572, CaF1_JIE_30_D_08 SEQ ID NO:2589, CaF1_JIE_30_G_08 SEQ ID NO:2605, CaF1_JIE_30_H_01 SEQ ID NO:2608, CaF1_JIE_30_H_03 SEQ ID NO:2609, CaF1_JIE_30_H_04 SEQ ID NO:2610, CaF1_JIE_30_H_10 SEQ ID NO:2614, CaF1_JIE_31_A_04 SEQ ID NO:2618, CaF1_JIE_31_A_09 SEQ ID NO:2622, CaF1_JIE_31_A_10 SEQ ID NO:2623, CaF1_JIE_31_B_03 SEQ ID NO:2624, CaF1_JIE_31_B_11 SEQ ID NO:2630, CaF1_JIE_31_E_09 SEQ ID NO:2646, CaF1_JIE_31_E_10 SEQ ID NO:2647, CaF1_JIE_31_E_11 SEQ ID NO:2648, CaF1_JIE_31_F_08 SEQ ID NO:2655, CaF1_JIE_31_G_10 SEQ ID NO:2665, CaF1_JIE_32_C_04 SEQ ID NO:2688, CaF1_JIE_32_D_02 SEQ ID NO:2691, CaF1_JIE_32_D_06 SEQ ID NO:2694, CaF1_JIE_32_E_08 SEQ ID NO:2700, CaF1_JIE_32_H_11 SEQ ID NO:2720, CaF1_JIE_33_B_06 SEQ ID NO:2734, CaF1_JIE_33_B_07 SEQ ID NO:2735, CaF1_JIE_33_B_08 SEQ ID NO:2736, CaF1_JIE_33_B_10 SEQ ID NO:2738, CaF1_JIE_33_C_06 SEQ ID NO:2744, CaF1_JIE_33_C_07 SEQ ID NO:2745, CaF1_JIE_33_C_08 SEQ ID NO:2746, CaF1_JIE_33_E_04 SEQ ID NO:2757, CaF1_JIE_33_F_05 SEQ ID NO:2762, CaF1_JIE_34_C_10 SEQ ID NO:2801, CaF1_JIE_34_D_01 SEQ ID NO:2803, CaF1_JIE_34_F_05 SEQ ID NO:2819, CaF1_JIE_34_F_06 SEQ ID NO:2820, CaF1_JIE_34_H_01 SEQ ID NO:2828, CaF1_JIE_35_B_04 SEQ ID NO:2847, CaF1_JIE_35_B_07 SEQ ID NO:2850, CaF1_JIE_35_B_09 SEQ ID NO:2851, CaF1_JIE_35_B_10 SEQ ID NO:2852, CaF1_JIE_35_C_03 SEQ ID NO:2855, CaF1_JIE_35_C_06 SEQ ID NO:2858, CaF1_JIE_35_D_01 SEQ ID NO:2861, CaF1_JIE_35_G_02 SEQ ID NO:2880, CaF1_JIE_35_G_03 SEQ ID NO:2881, CaF1_JIE_35_G_04 SEQ ID NO:2882, CaF1_JIE_35_H_01 SEQ ID NO:2886, CaF1_JIE_35_H_04 SEQ ID NO:2888, CaF1_JIE_36_B_03 SEQ ID NO:2900, CaF1_JIE_36_B_07 SEQ ID NO:2903, CaF1_JIE_36_D_05 SEQ ID NO:2916, CaF1_JIE_36_D_07 SEQ ID NO:2918, CaF1_JIE_36_D_09 SEQ ID NO:2920, CaF1_JIE_36_F_08 SEQ ID NO:2933, CaF1_JIE_36_F_11 SEQ ID NO:2935, CaF1_JIE_37_A_04 SEQ ID NO:2949, CaF1_JIE_37_A_05 SEQ ID NO:2950, CaF1_JIE_37_A_08 SEQ ID NO:2953, CaF1_JIE_37_B_02 SEQ ID NO:2954, CaF1_JIE_37_C_04 SEQ ID NO:2960, CaF1_JIE_37_D_06 SEQ ID NO:2968, CaF1_JIE_37_F_09 SEQ ID NO:2980, CaF1_JIE_37_G_02 SEQ ID NO:2981, CaF1_JIE_37_G_11 SEQ ID NO:2989, CaF1_JIE_37_H_11 SEQ ID NO:2997, CaF1_JIE_38_A_09 SEQ ID NO:3003, CaF1_JIE_38_B_02 SEQ ID NO:3006, CaF1_JIE_38_B_05 SEQ ID NO:3009, CaF1_JIE_38_B_10 SEQ ID NO:3014, CaF1_JIE_38_F_06 SEQ ID NO:3038, CaF1_JIE_38_F_08 SEQ ID NO:3040, CaF1_JIE_38_F_09 SEQ ID NO:3041, CaF1_JIE_39_B_04 SEQ ID NO:3063, CaF1_JIE_39_C_03 SEQ ID NO:3070, CaF1_JIE_39_C_04 SEQ ID NO:3071, CaF1_JIE_39_E_03 SEQ ID NO:3085, CaF1_JIE_39_E_08 SEQ ID NO:3088, CaF1_JIE_39_F_06 SEQ ID NO:3094, CaF1_JIE_39_F_08 SEQ

ID NO:3095, CaF1_JIE_39_H_04 SEQ ID NO:3108, CaF1_JIE_39_H_07 SEQ ID NO:3110, CaF1_JIE_40_C_10
 SEQ ID NO:3137, CaF1_JIE_40_F_01 SEQ ID NO:3154, CaF1_JIE_40_G_07 SEQ ID NO:3166,
 CaF1_JIE_40_G_10 SEQ ID NO:3169, CaF1_JIE_40_H_03 SEQ ID NO:3173, CaF1_JIE_40_H_04 SEQ ID
 NO:3174, CaF1_JIE_41_B_02 SEQ ID NO:3187, CaF1_JIE_41_B_07 SEQ ID NO:3191, CaF1_JIE_41_B_10 SEQ
 5 ID NO:3193, CaF1_JIE_41_B_11 SEQ ID NO:3194, CaF1_JIE_41_E_01 SEQ ID NO:3211, CaF1_JIE_41_G_04
 SEQ ID NO:3231, CaF1_JIE_41_H_10 SEQ ID NO:3242, CaF1_JIE_42_A_01 SEQ ID NO:3243,
 CaF1_JIE_42_C_04 SEQ ID NO:3254, CaF1_JIE_42_C_05 SEQ ID NO:3255, CaF1_WIE_01_A_01 SEQ ID
 NO:630, CaF1_WIE_01_A_10 SEQ ID NO:638, CaF1_WIE_01_A_11 SEQ ID NO:639, CaF1_WIE_01_C_11 SEQ
 ID NO:654, CaF1_WIE_01_E_08 SEQ ID NO:670, CaF1_WIE_01_G_05 SEQ ID NO:684, CaF1_WIE_01_G_06
 10 SEQ ID NO:685, CaF1_WIE_01_G_10 SEQ ID NO:689, CaF1_WIE_01_H_10 SEQ ID NO:698,
 CaF1_WIE_02_A_02 SEQ ID NO:700, CaF1_WIE_02_C_02 SEQ ID NO:714, CaF1_WIE_02_C_06 SEQ ID
 NO:718, CaF1_WIE_02_D_06 SEQ ID NO:725, CaF1_WIE_02_E_06 SEQ ID NO:733, CaF1_WIE_02_F_02 SEQ ID
 NO:740, CaF1_WIE_02_F_03 SEQ ID NO:741, CaF1_WIE_02_H_06 SEQ ID NO:758, CaF1_WIE_03_A_05 SEQ ID
 NO:766, CaF1_WIE_03_B_08 SEQ ID NO:772, CaF1_WIE_03_C_03 SEQ ID NO:777, CaF1_WIE_03_D_04 SEQ
 15 ID NO:785, CaF1_WIE_03_E_06 SEQ ID NO:794, CaF1_WIE_03_H_03 SEQ ID NO:812, CaF1_WIE_03_H_10
 SEQ ID NO:815, CaF1_WIE_04_A_02 SEQ ID NO:818, CaF1_WIE_04_A_03 SEQ ID NO:819, CaF1_WIE_04_A_09
 SEQ ID NO:823, CaF1_WIE_04_A_10 SEQ ID NO:824, CaF1_WIE_04_C_04 SEQ ID NO:838,
 CaF1_WIE_04_C_05 SEQ ID NO:839, CaF1_WIE_04_D_03 SEQ ID NO:845, CaF1_WIE_04_D_04 SEQ ID
 NO:846, CaF1_WIE_04_D_05 SEQ ID NO:847, CaF1_WIE_04_D_06 SEQ ID NO:848, CaF1_WIE_04_E_01 SEQ
 20 ID NO:852, CaF1_WIE_04_E_05 SEQ ID NO:856, CaF1_WIE_04_E_10 SEQ ID NO:861, CaF1_WIE_04_F_07 SEQ
 ID NO:868, CaF1_WIE_04_F_10 SEQ ID NO:870, CaF1_WIE_04_G_04 SEQ ID NO:873, CaF1_WIE_04_H_05
 SEQ ID NO:883, CaF1_WIE_04_H_07 SEQ ID NO:885, CaF1_WIE_05_C_05 SEQ ID NO:907,
 CaF1_WIE_05_D_07 SEQ ID NO:917, CaF1_WIE_05_E_10 SEQ ID NO:930, CaF1_WIE_06_A_01 SEQ ID
 NO:957, CaF1_WIE_06_A_07 SEQ ID NO:962, CaF1_WIE_06_B_02 SEQ ID NO:966, CaF1_WIE_06_C_02 SEQ
 25 ID NO:973, CaF1_WIE_06_D_07 SEQ ID NO:983, CaF1_WIE_06_E_02 SEQ ID NO:988, CaF1_WIE_06_F_10 SEQ
 ID NO:1004, CaF1_WIE_06_G_09 SEQ ID NO:1011, CaF1_WIE_06_H_07 SEQ ID NO:1020, CaF1_WIE_06_H_10
 SEQ ID NO:1023, CaF1_WIE_07_A_02 SEQ ID NO:1026, CaF1_WIE_07_B_02 SEQ ID NO:1035,
 CaF1_WIE_07_C_07 SEQ ID NO:1050, CaF1_WIE_07_C_11 SEQ ID NO:1053, CaF1_WIE_07_D_01 SEQ ID
 NO:1054, CaF1_WIE_07_D_03 SEQ ID NO:1055, CaF1_WIE_07_D_04 SEQ ID NO:1056, CaF1_WIE_07_D_08
 30 SEQ ID NO:1060, CaF1_WIE_07_G_01 SEQ ID NO:1084, CaF1_WIE_07_G_05 SEQ ID NO:1088,
 CaF1_WIE_08_A_05 SEQ ID NO:1105, CaF1_WIE_08_A_06 SEQ ID NO:1106, CaF1_WIE_08_A_07 SEQ ID
 NO:1107, CaF1_WIE_08_B_03 SEQ ID NO:1110, CaF1_WIE_08_D_04 SEQ ID NO:1132, CaF1_WIE_08_E_05
 SEQ ID NO:1141, CaF1_WIE_08_G_07 SEQ ID NO:1160, CaF1_WIE_09_A_06 SEQ ID NO:1177,
 CaF1_WIE_09_D_03 SEQ ID NO:1193, CaF1_WIE_09_E_06 SEQ ID NO:1203, CaF1_WIE_09_F_01 SEQ ID
 35 NO:1209, CaF1_WIE_09_G_09 SEQ ID NO:1224, CaF1_WIE_09_H_01 SEQ ID NO:1226, CaF1_WIE_09_H_05
 SEQ ID NO:1228, CaF1_WIE_09_H_10 SEQ ID NO:1232, CaF1_WIE_10_A_09 SEQ ID NO:1241,
 CaF1_WIE_10_B_03 SEQ ID NO:1245, CaF1_WIE_10_B_05 SEQ ID NO:1247, CaF1_WIE_10_B_06 SEQ ID
 NO:1248, CaF1_WIE_10_B_11 SEQ ID NO:1251, CaF1_WIE_10_C_06 SEQ ID NO:1256, CaF1_WIE_10_D_08
 SEQ ID NO:1267, CaF1_WIE_10_D_11 SEQ ID NO:1270, CaF1_WIE_10_E_08 SEQ ID NO:3278,
 40 CaF1_WIE_10_F_02 SEQ ID NO:3281, CaF1_WIE_10_F_10 SEQ ID NO:3288, CaF1_WIE_10_G_11 SEQ ID
 NO:3297, CaF1_WIE_11_A_01 SEQ ID NO:3308, CaF1_WIE_11_A_10 SEQ ID NO:3315, CaF1_WIE_11_A_11
 SEQ ID NO:3316, CaF1_WIE_11_C_01 SEQ ID NO:3326, CaF1_WIE_11_C_08 SEQ ID NO:3332,
 CaF1_WIE_11_D_01 SEQ ID NO:3335, CaF1_WIE_11_E_04 SEQ ID NO:3346, CaF1_WIE_11_F_05 SEQ ID
 NO:3353, CaF1_WIE_11_G_04 SEQ ID NO:3363, CaF1_WIE_11_G_05 SEQ ID NO:3364, CaF1_WIE_11_H_03
 45 SEQ ID NO:3370, CaF1_WIE_11_H_06 SEQ ID NO:3372, CaF1_WIE_12_A_02 SEQ ID NO:3378,
 CaF1_WIE_12_C_06 SEQ ID NO:3399, CaF1_WIE_12_D_02 SEQ ID NO:3404, CaF1_WIE_12_D_03 SEQ ID
 NO:3405, CaF1_WIE_12_E_04 SEQ ID NO:3414, CaF1_WIE_12_F_01 SEQ ID NO:3421, CaF1_WIE_12_F_10
 SEQ ID NO:3429, CaF1_WIE_12_G_05 SEQ ID NO:3435, CaF1_WIE_12_G_07 SEQ ID NO:3437,
 CaF1_WIE_12_H_07 SEQ ID NO:3447, CaF1_WIE_13_A_01 SEQ ID NO:3452, CaF1_WIE_13_A_02 SEQ ID
 50 NO:3453, CaF1_WIE_13_A_09 SEQ ID NO:3458, CaF1_WIE_13_C_02 SEQ ID NO:3470, CaF1_WIE_13_C_07
 SEQ ID NO:3474, CaF1_WIE_13_D_01 SEQ ID NO:3479, CaF1_WIE_13_F_04 SEQ ID NO:3500,
 CaF1_WIE_13_F_05 SEQ ID NO:3501, CaF1_WIE_13_F_07 SEQ ID NO:3503, CaF1_WIE_13_G_01 SEQ ID
 NO:3506, CaF1_WIE_13_H_09 SEQ ID NO:3521, CaF1_WIE_14_A_11 SEQ ID NO:3526, CaF1_WIE_14_C_06
 SEQ ID NO:3532, CaF1_WIE_14_D_02 SEQ ID NO:3537, CaF1_WIE_14_D_10 SEQ ID NO:3541,
 55 CaF1_WIE_14_E_03 SEQ ID NO:3543, CaF1_WIE_15_A_02 SEQ ID NO:3563, CaF1_WIE_15_A_04 SEQ ID
 NO:3564, CaF1_WIE_15_A_06 SEQ ID NO:3566, CaF1_WIE_15_B_05 SEQ ID NO:3572, CaF1_WIE_15_C_01
 SEQ ID NO:3574, CaF1_WIE_15_C_02 SEQ ID NO:3575, CaF1_WIE_15_C_06 SEQ ID NO:3577,
 CaF1_WIE_15_C_08 SEQ ID NO:3578, CaF1_WIE_15_D_04 SEQ ID NO:3579, CaF1_WIE_15_E_01 SEQ ID
 NO:3582, CaF1_WIE_15_E_09 SEQ ID NO:3586, CaF1_WIE_15_F_07 SEQ ID NO:3589, CaF1_WIE_15_H_02
 60 SEQ ID NO:3594, CaF1_WIE_16_A_08 SEQ ID NO:3601, CaF1_WIE_16_B_03 SEQ ID NO:3604,
 CaF1_WIE_16_B_09 SEQ ID NO:3609, CaF1_WIE_16_B_11 SEQ ID NO:3611, CaF1_WIE_16_C_03 SEQ ID
 NO:3612, CaF1_WIE_16_D_03 SEQ ID NO:3617, CaF1_WIE_16_D_11 SEQ ID NO:3619, CaF1_WIE_16_F_11
 SEQ ID NO:3629, CaF1_WIE_16_G_04 SEQ ID NO:3632, CaF1_WIE_16_H_01 SEQ ID NO:3637,
 CaF1_WIE_16_H_04 SEQ ID NO:3638, CaF1_WIE_16_H_10 SEQ ID NO:3642, CaF1_WIE_17_A_09 SEQ ID
 65 NO:3652, CaF1_WIE_17_C_06 SEQ ID NO:3669, CaF1_WIE_17_C_07 SEQ ID NO:3670, CaF1_WIE_17_C_08
 SEQ ID NO:3671, CaF1_WIE_17_C_11 SEQ ID NO:3674, CaF1_WIE_17_D_01 SEQ ID NO:3675,

CaF1_WIE_17_D_09 SEQ ID NO:3681, CaF1_WIE_17_E_03 SEQ ID NO:3686, CaF1_WIE_17_E_05 SEQ ID
 NO:3688, CaF1_WIE_17_F_01 SEQ ID NO:3695, CaF1_WIE_17_F_03 SEQ ID NO:3697, CaF1_WIE_17_G_09
 SEQ ID NO:3712, CaF1_WIE_17_H_02 SEQ ID NO:3716, CaF1_WIE_18_A_11 SEQ ID NO:3732,
 5 CaF1_WIE_18_B_01 SEQ ID NO:3733, CaF1_WIE_18_B_05 SEQ ID NO:3736, CaF1_WIE_18_C_03 SEQ ID
 NO:3743, CaF1_WIE_18_D_07 SEQ ID NO:3755, CaF1_WIE_18_E_11 SEQ ID NO:3769, CaF1_WIE_18_F_09
 SEQ ID NO:3777, CaF1_WIE_18_F_11 SEQ ID NO:3779, CaF1_WIE_19_A_05 SEQ ID NO:3800,
 CaF1_WIE_19_A_10 SEQ ID NO:3804, CaF1_WIE_19_A_11 SEQ ID NO:3805, CaF1_WIE_19_B_02 SEQ ID
 NO:3807, CaF1_WIE_19_C_10 SEQ ID NO:3821, CaF1_WIE_19_E_05 SEQ ID NO:3831, CaF1_WIE_19_E_06
 10 SEQ ID NO:3832, CaF1_WIE_19_F_07 SEQ ID NO:3842, CaF1_WIE_19_G_01 SEQ ID NO:3847,
 CaF1_WIE_19_H_10 SEQ ID NO:3860, CaF1_WIE_20_B_08 SEQ ID NO:3869, CaF1_WIE_20_D_05 SEQ ID
 NO:3879, CaF1_WIE_20_E_04 SEQ ID NO:3886, CaF1_WIE_20_E_07 SEQ ID NO:3889, CaF1_WIE_20_F_02
 SEQ ID NO:3893, CaF1_WIE_20_G_02 SEQ ID NO:3900, CaF1_WIE_20_G_05 SEQ ID NO:3902,
 CaF1_WIE_21_A_04 SEQ ID NO:3918, CaF1_WIE_21_B_04 SEQ ID NO:3925, CaF1_WIE_21_B_06 SEQ ID
 NO:3926, CaF1_WIE_21_B_09 SEQ ID NO:3928, CaF1_WIE_21_B_11 SEQ ID NO:3930, CaF1_WIE_21_D_04
 15 SEQ ID NO:3941, CaF1_WIE_21_D_09 SEQ ID NO:3943, CaF1_WIE_21_E_07 SEQ ID NO:3949,
 CaF1_WIE_21_F_02 SEQ ID NO:3953, CaF1_WIE_21_F_03 SEQ ID NO:3954, CaF1_WIE_21_F_07 SEQ ID
 NO:3956, CaF1_WIE_21_G_02 SEQ ID NO:3961, CaF1_WIE_21_G_03 SEQ ID NO:3962, CaF1_WIE_21_G_04
 SEQ ID NO:3963, CaF1_WIE_21_G_05 SEQ ID NO:3964, CaF1_WIE_21_G_09 SEQ ID NO:3967,
 CaF1_WIE_21_H_01 SEQ ID NO:3970, CaF1_WIE_21_H_02 SEQ ID NO:3971, CaF1_WIE_22_A_03 SEQ ID
 20 NO:3979, CaF1_WIE_22_A_08 SEQ ID NO:3982, CaF1_WIE_22_F_01 SEQ ID NO:4008, CaF1_WIE_22_G_06
 SEQ ID NO:4017, CaF1_WIE_22_H_03 SEQ ID NO:4021, CaF1_WIE_22_H_10 SEQ ID NO:4028,
 CaF1_WIE_23_A_04 SEQ ID NO:4031, CaF1_WIE_23_B_05 SEQ ID NO:4038, CaF1_WIE_23_B_10 SEQ ID
 NO:4041, CaF1_WIE_23_D_07 SEQ ID NO:4049, CaF1-WIE-23-D.10 SEQ ID NO:4052, CaF1_WIE_23_F_09 SEQ
 ID NO:4067, CaF1_WIE_23_G_02 SEQ ID NO:4071, CaF1_WIE_23_H_01 SEQ ID NO:4080, CaF1_WIE_23_H_04
 25 SEQ ID NO:4082, CaF1_WIE_23_H_07 SEQ ID NO:4084, CaF1_WIE_24_E_02 SEQ ID NO:4121, CaF1_WIE_24_F
 01 SEQ ID NO:4128, CaF1_WIE_24_H_01 SEQ ID NO:4149, CaF1_WIE_24_H_04 SEQ ID NO:4152,
 CaF1_WIE_24_H_07 SEQ ID NO:4155, CaF1_WIE_24_H_08 SEQ ID NO:4156, CaF1_WIE_25_A_09 SEQ ID
 NO:4165, CaF1_WIE_25_A_10 SEQ ID NO:4166, CaF1_WIE_25_C_02 SEQ ID NO:4177, CaF1_WIE_25_C_05
 SEQ ID NO:4179, CaF1_WIE_25_D_05 SEQ ID NO:4189, CaF1_WIE_25_D_08 SEQ ID NO:4192,
 30 CaF1_WIE_25_F_02 SEQ ID NO:4205, CaF1_WIE_25_F_08 SEQ ID NO:4207, CaF1_WIE_25_G_11 SEQ ID
 NO:4216, CaF1_WIE_26_A_10 SEQ ID NO:4231, CaF1_WIE_26_C_05 SEQ ID NO:4246, CaF1_WIE_26_C_08
 SEQ ID NO:4249, CaF1_WIE_26_C_09 SEQ ID NO:4250, CaF1_WIE_26_D_01 SEQ ID NO:4252,
 CaF1_WIE_26_D_03 SEQ ID NO:4254, CaF1_WIE_26_D_06 SEQ ID NO:4256, CaF1_WIE_26_E_01 SEQ ID
 NO:4262, CaF1_WIE_26_E_02 SEQ ID NO:4263, CaF1_WIE_26_F_08 SEQ ID NO:4275, CaF1_WIE_26_G_01
 35 SEQ ID NO:4277, CaF1_WIE_26_G_02 SEQ ID NO:4278, CaF1_WIE_26_G_10 SEQ ID NO:4286,
 CaF1_WIE_27_D_10 SEQ ID NO:4336, CaF1_WIE_27_E_01 SEQ ID NO:4338, CaF1_WIE_27_F_11 SEQ ID
 NO:4358, CaF1_WIE_27_G_08 SEQ ID NO:4366, CaF1_WIE_28_A_04 SEQ ID NO:4380, CaF1_WIE_28_A_07
 SEQ ID NO:4383, CaF1_WIE_28_B_04 SEQ ID NO:4388, CaF1_WIE_28_C_01 SEQ ID NO:4393,
 CaF1_WIE_28_D_01 SEQ ID NO:4403, CaF1_WIE_28_E_06 SEQ ID NO:4416, CaF1_WIE_28_E_07 SEQ ID
 40 NO:4417, CaF1_WIE_28_E_08 SEQ ID NO:4418, CaF1_WIE_28_E_11 SEQ ID NO:4419, CaF1_WIE_28_G_03
 SEQ ID NO:4428, CaF1_WIE_28_G_04 SEQ ID NO:4429, CaF1_WIE_28_G_08 SEQ ID NO:4433,
 CaF1_WIE_28_G_11 SEQ ID NO:4435, CaF1_WIE_28_H_06 SEQ ID NO:4440, CaF1_WIE_28_H_07 SEQ ID
 NO:4441, CaF1_WIE_29_A_05 SEQ ID NO:4449, CaF1_WIE_29_C_11 SEQ ID NO:4477, CaF1_WIE_29_D_06
 SEQ ID NO:4483, CaF1_WIE_29_E_04 SEQ ID NO:4491, CaF1_WIE_29_F_07 SEQ ID NO:4505,
 45 CaF1_WIE_29_F_11 SEQ ID NO:4509, CaF1_WIE_29_G_04 SEQ ID NO:4513, CaF1_WIE_29_H_01 SEQ ID
 NO:4521, CaF1_WIE_29_H_03 SEQ ID NO:4523, CaF1_WIE_29_H_06 SEQ ID NO:4525, CaF1_WIE_29_H_08
 SEQ ID NO:4527, CaF1_WIE_30_A_03 SEQ ID NO:4533, CaF1_WIE_30_A_06 SEQ ID NO:4534,
 CaF1_WIE_30_A_08 SEQ ID NO:4536, CaF1_WIE_30_C_03 SEQ ID NO:4549, CaF1_WIE_30_E_04 SEQ ID
 NO:4568, CaF1_WIE_30_E_05 SEQ ID NO:4569, CaF1_WIE_30_F_06 SEQ ID NO:4578, CaF1_WIE_30_G_03
 50 SEQ ID NO:4586, CaF1_WIE_30_G_07 SEQ ID NO:4590, CaF1_WIE_30_G_09 SEQ ID NO:4592,
 CaF1_WIE_30_H_04 SEQ ID NO:4596, CaF1_WIE_31_A_05 SEQ ID NO:4605, CaF1_WIE_31_A_06 SEQ ID
 NO:4606, CaF1_WIE_31_B_02 SEQ ID NO:4612, CaF1_WIE_31_C_06 SEQ ID NO:4624, CaF1_WIE_31_D_01
 SEQ ID NO:4628, CaF1_WIE_31_D_04 SEQ ID NO:4629, CaF1_WIE_31_D_05 SEQ ID NO:4630,
 CaF1_WIE_31_F_03 SEQ ID NO:4647, CaF1_WIE_31_F_08 SEQ ID NO:4651, CaF1_WIE_31_H_03 SEQ ID
 55 NO:4665, CaF1_WIE_31_H_04 SEQ ID NO:4666, CaF1_WIE_32_A_02 SEQ ID NO:4672, CaF1_WIE_32_A_03
 SEQ ID NO:4673, CaF1_WIE_32_B_06 SEQ ID NO:4686, CaF1_WIE_32_C_01 SEQ ID NO:4692,
 CaF1_WIE_32_C_08 SEQ ID NO:4698, CaF1_WIE_32_F_10 SEQ ID NO:4722, CaF1_WIE_32_F_11 SEQ ID
 NO:4723, CaF1_WIE_32_G_03 SEQ ID NO:4726, CaF1_WIE_32_G_06 SEQ ID NO:4729, CaF1_WIE_32_H_02
 SEQ ID NO:4736, CaF1_WIE_32_H_04 SEQ ID NO:4738, CaF1_WIE_33_A_05 SEQ ID NO:4749,
 60 CaF1_WIE_33_B_09 SEQ ID NO:4759, CaF1_WIE_33_C_02 SEQ ID NO:4761, CaF1_WIE_33_C_03 SEQ ID
 NO:4762, CaF1_WIE_33_C_04 SEQ ID NO:4763, CaF1_WIE_33_C_07 SEQ ID NO:4766, CaF1_WIE_33_D_06
 SEQ ID NO:4772, CaF1_WIE_33_E_10 SEQ ID NO:4783, CaF1_WIE_33_F_02 SEQ ID NO:4786,
 CaF1_WIE_33_F_03 SEQ ID NO:4787, CaF1_WIE_33_F_10 SEQ ID NO:4793, CaF1_WIE_33_G_03 SEQ ID
 NO:4796, CaF1_WIE_33_H_09 SEQ ID NO:4809, CaF1_WIE_34_B_08 SEQ ID NO:4825, CaF1_WIE_34_C_04
 65 SEQ ID NO:4830, CaF1_WIE_34_C_09 SEQ ID NO:4833, CaF1_WIE_34_D_08 SEQ ID NO:4843,
 CaF1_WIE_34_E_01 SEQ ID NO:4847, CaF1_WIE_34_F_01 SEQ ID NO:4853, CaF1_WIE_34_F_02 SEQ ID

NO:4854, CaF1_WIE_34_F_06 SEQ ID NO:4857, CaF1_WIE_34_G_02 SEQ ID NO:4863, CaF1_WIE_34_G_08
 SEQ ID NO:4867, CaF1_WIE_34_G_09 SEQ ID NO:4868, CaF1_WIE_34_H_03 SEQ ID NO:4871,
 CaF1_WIE_35_A_08 SEQ ID NO:4884, CaF1_WIE_35_A_09 SEQ ID NO:4885, CaF1_WIE_35_B_01 SEQ ID
 NO:4887, CaF1_WIE_35_B_02 SEQ ID NO:4888, CaF1_WIE_35_C_06 SEQ ID NO:4902, CaF1_WIE_35_E_11
 5 SEQ ID NO:4926, CaF1_WIE_35_G_07 SEQ ID NO:4942, CaF1_WIE_35_G_08 SEQ ID NO:4943,
 CaF1_WIE_35_G_09 SEQ ID NO:4944, CaF1_WIE_36_A_01 SEQ ID NO:4955, CaF1_WIE_36_A_03 SEQ ID
 NO:4957, CaF1_WIE_36_D_11 SEQ ID NO:4987, CaF1_WIE_36_E_01 SEQ ID NO:4988, CaF1_WIE_36_H_01
 SEQ ID NO:5011, CaF1_WIE_36_H_03 SEQ ID NO:5013, CaF1_WIE_37_A_02 SEQ ID NO:5023,
 10 CaF1_WIE_37_B_10 SEQ ID NO:5037, CaF1_WIE_37_C_07 SEQ ID NO:5039, CaF1_WIE_37_D_01 SEQ ID
 NO:5043, CaF1_WIE_37_E_07 SEQ ID NO:5054, CaF1_WIE_37_F_10 SEQ ID NO:5064, CaF1_WIE_37_F_11
 SEQ ID NO:5065, CaF1_WIE_38_C_03 SEQ ID NO:5102, CaF1_WIE_38_F_07 SEQ ID NO:5126,
 CaF1_WIE_38_G_05 SEQ ID NO:5132, CaF1_WIE_38_H_01 SEQ ID NO:5137, CaF1_WIE_39_A_03 SEQ ID
 NO:5146, CaF1_WIE_39_C_09 SEQ ID NO:5168, CaF1_WIE_40_B_05 SEQ ID NO:5212, CaF1_WIE_40_B_08
 SEQ ID NO:5214, CaF1_WIE_40_D_02 SEQ ID NO:5226, CaF1_WIE_40_D_06 SEQ ID NO:5230,
 15 CaF1_WIE_40_D_07 SEQ ID NO:5231, CaF1_WIE_40_D_08 SEQ ID NO:5232, CaF1_WIE_40_D_11 SEQ ID
 NO:5235, CaF1_WIE_40_E_10 SEQ ID NO:5242, CaF1_WIE_40_H_01 SEQ ID NO:5263, CaF1_WIE_41_C_06
 SEQ ID NO:5293, CaF1_WIE_41_D_04 SEQ ID NO:5299, CaF1_WIE_41_D_09 SEQ ID NO:5303,
 CaF1_WIE_41_F_01 SEQ ID NO:5314, CaF1_WIE_41_F_05 SEQ ID NO:5317, CaF1_WIE_41_H_05 SEQ ID
 NO:5334, CaF1_WIE_42_A_02 SEQ ID NO:5341, CaF1_WIE_42_A_07 SEQ ID NO:5345, CaF1_WIE_42_C_01
 20 SEQ ID NO:5352, CaF1_WIE_42_C_04 SEQ ID NO:5354, CaF1_WIE_42_C_11 SEQ ID NO:5360,
 CaF1_WIE_42_E_02 SEQ ID NO:5367, CaF1_WIE_42_E_04 SEQ ID NO:5369, CaF1_WIE_42_G_02 SEQ ID
 NO:5380, CaF1_WIE_43_B_01 SEQ ID NO:5397, CaF1_WIE_43_B_02 SEQ ID NO:5398, CaF1_WIE_43_B_06
 SEQ ID NO:5401, CaF1_WIE_43_C_10 SEQ ID NO:5409, CaF1_WIE_43_D_05 SEQ ID NO:5413,
 25 CaF1_WIE_43_D_09 SEQ ID NO:5416, CaF1_WIE_43_E_02 SEQ ID NO:5419, CaF1_WIE_43_E_05 SEQ ID
 NO:5421, CaF1_WIE_43_E_10 SEQ ID NO:5423, CaF1_WIE_43_H_02 SEQ ID NO:5439, CaF1_WIE_44_C_02
 SEQ ID NO:5455, CaF1_WIE_44_D_02 SEQ ID NO:5465, CaF1_WIE_44_D_05 SEQ ID NO:5468,
 CaF1_WIE_44_F_03 SEQ ID NO:5482, CaF1_WIE_44_G_01 SEQ ID NO:5487, CaF1_WIE_44_G_11 SEQ ID
 NO:5493, CaF1_WIE_45_A_09 SEQ ID NO:5509, CaF1_WIE_45_B_02 SEQ ID NO:5512, CaF1_WIE_45_C_03
 SEQ ID NO:5520, CaF1_WIE_45_C_09 SEQ ID NO:5523, CaF1_WIE_45_E_02 SEQ ID NO:5530,
 30 CaF1_WIE_45_E_05 SEQ ID NO:5532, CaF1_WIE_45_E_10 SEQ ID NO:5536, CaF1_WIE_45_G_03 SEQ ID
 NO:5545, CaF1_WIE_45_G_05 SEQ ID NO:5547, CaF1_WIE_45_G_06 SEQ ID NO:5548, CaF1_WIE_45_H_05
 SEQ ID NO:5557, CaF1_WIE_45_H_09 SEQ ID NO:5561, CaF1_WIE_46_C_10 SEQ ID NO:5589,
 CaF1_WIE_46_D_10 SEQ ID NO:5597, CaF1_WIE_46_D_11 SEQ ID NO:5598, CaF1_WIE_46_F_09 SEQ ID
 NO:5615, CaF1_WIE_46_F_11 SEQ ID NO:5616, CaF1_WIE_46_H_10 SEQ ID NO:5632, CaF1_WIE_47_A_05
 35 SEQ ID NO:5636, CaF1_WIE_47_A_10 SEQ ID NO:5641, CaF1_WIE_47_A_11 SEQ ID NO:5642,
 CaF1_WIE_47_B_04 SEQ ID NO:5645, CaF1_WIE_47_B_09 SEQ ID NO:5649, CaF1_WIE_47_F_01 SEQ ID
 NO:5680, CaF1_WIE_47_F_10 SEQ ID NO:5688, CaF1_WIE_47_G_01 SEQ ID NO:5690, CaF1_WIE_47_G_05
 SEQ ID NO:5694, CaF1_WIE_48_A_10 SEQ ID NO:5715, CaF1_WIE_48_B_03 SEQ ID NO:5717,
 CaF1_WIE_48_C_04 SEQ ID NO:5726, CaF1_WIE_48_D_01 SEQ ID NO:5732, CaF1_WIE_48_D_02 SEQ ID
 40 NO:5733, CaF1_WIE_48_D_04 SEQ ID NO:5735, CaF1_WIE_48_E_01 SEQ ID NO:5740, CaF1_WIE_48_E_05
 SEQ ID NO:5744, CaF1_WIE_48_F_02 SEQ ID NO:5751, CaF1_WIE_48_G_10 SEQ ID NO:5764,
 CaF1_WIE_49_A_10 SEQ ID NO:5782, CaF1_WIE_49_B_08 SEQ ID NO:5789, CaF1_WIE_49_C_05 SEQ ID
 NO:5796, CaF1_WIE_49_D_11 SEQ ID NO:5806, CaF1_WIE_49_E_11 SEQ ID NO:5813, CaF1_WIE_49_F_01
 SEQ ID NO:5814, CaF1_WIE_49_F_04 SEQ ID NO:5816, CaF1_WIE_49_F_08 SEQ ID NO:5818,
 45 CaF1_WIE_50_B_10 SEQ ID NO:5847, CaF1_WIE_50_C_01 SEQ ID NO:5849, CaF1_WIE_50_C_09 SEQ ID
 NO:5854, CaF1_WIE_50_D_03 SEQ ID NO:5857, CaF1_WIE_50_D_11 SEQ ID NO:5864, CaF1_WIE_50_E_01
 SEQ ID NO:5865, CaF1_WIE_50_E_10 SEQ ID NO:5872, CaF1_WIE_50_F_11 SEQ ID NO:5881,
 CaF1_WIE_50_G_05 SEQ ID NO:5883, CaF1_WIE_50_H_10 SEQ ID NO:5895, CaF1_WIE_51_A_04 SEQ ID
 NO:5898, CaF1_WIE_51_A_08 SEQ ID NO:5902, CaF1_WIE_51_B_04 SEQ ID NO:5908, CaF1_WIE_51_B_06
 50 SEQ ID NO:5909, CaF1_WIE_51_B_07 SEQ ID NO:5910, CaF1_WIE_51_B_08 SEQ ID NO:5911,
 CaF1_WIE_51_B_10 SEQ ID NO:5912, CaF1_WIE_51_F_07 SEQ ID NO:5944, CaF1_WIE_51_G_04 SEQ ID
 NO:5948, CaF1_WIE_51_H_11 SEQ ID NO:5956, CaF1_WIE_52_A_05 SEQ ID NO:5960, CaF1_WIE_52_B_01
 SEQ ID NO:5965, CaF1_WIE_52_C_07 SEQ ID NO:5981, CaF1_WIE_52_C_11 SEQ ID NO:5983,
 CaF1_WIE_52_D_01 SEQ ID NO:5984, CaF1_WIE_52_D_06 SEQ ID NO:5987, CaF1_WIE_52_E_06 SEQ ID
 55 NO:5996, CaF1_WIE_52_F_11 SEQ ID NO:6007, CaF1_WIE_52_G_01 SEQ ID NO:6008, CaF1_WIE_52_G_05
 SEQ ID NO:6012, CaF1_WIE_52_H_01 SEQ ID NO:6018, CaF1_WIE_52_H_04 SEQ ID NO:6020,
 CaF1_WIE_52_H_05 SEQ ID NO:6021, CaF1_WIE_52_H_06 SEQ ID NO:6022, CaF1_WIE_52_H_07 SEQ ID
 NO:6023, CaF1_WIE_53_A_01 SEQ ID NO:6027, CaF1_WIE_53_A_09 SEQ ID NO:6033, CaF1_WIE_53_C_02
 SEQ ID NO:6043, CaF1_WIE_53_C_03 SEQ ID NO:6044, CaF1_WIE_53_C_10 SEQ ID NO:6050,
 60 CaF1_WIE_53_F_01 SEQ ID NO:6065, CaF1_WIE_53_H_08 SEQ ID NO:6079, CaF1_WIE_54_A_05 SEQ ID
 NO:6085, CaF1_WIE_54_C_10 SEQ ID NO:6107, CaF1_WIE_54_D_02 SEQ ID NO:6110, CaF1_WIE_54_E_02
 SEQ ID NO:6121, CaF1_WIE_54_E_04 SEQ ID NO:6123, CaF1_WIE_54_E_05 SEQ ID NO:6124,
 CaF1_WIE_54_G_01 SEQ ID NO:6139, CaF1_WIE_54_G_04 SEQ ID NO:6141, CaF1_WIE_54_H_10 SEQ ID
 NO:6152, CaF1_WIE_55_B_01 SEQ ID NO:6158, CaF1_WIE_55_C_04 SEQ ID NO:6168, CaF1_WIE_55_F_07
 65 SEQ ID NO:6196, CaF1_WIE_55_G_03 SEQ ID NO:6201, CaF1_WIE_55_G_08 SEQ ID NO:6206,
 CaF1_WIE_55_G_09 SEQ ID NO:6207, CaF1_WIE_55_H_08 SEQ ID NO:6215, CaF1_WIE_55_H_09 SEQ ID

NO:6216, CaF1_WIE_55_H_10 SEQ ID NO:6217, CaF1_WIE_56_B_08 SEQ ID NO:6230, CaF1_WIE_56_D_11 SEQ ID NO:6242, CaF1_WIE_56_E_05 SEQ ID NO:6245, CaF1_WIE_56_F_05 SEQ ID NO:6253, CaF1_WIE_56_F_07 SEQ ID NO:6255, CaF1_WIE_56_F_11 SEQ ID NO:6258, CaF1_WIE_56_G_06 SEQ ID NO:6261, CaF1_WIE_56_H_03 SEQ ID NO:6265, CaF1_WIE_56_H_04 SEQ ID NO:6266 y CaF1_WIE_56_H_06 SEQ ID NO:6268.

Genes implicados en el transporte y homeostasis celular

La reorganización y distribución espacial inducidas por estrés de muchos metabolitos clave en plantas requiere una maquinaria de transporte eficiente. Es muy conocido que *Arabidopsis* tiene un conjunto diverso de genes para el transporte multi-eflujo y respuesta a señales de estrés, y el arroz tiene más genes de transportadores secundarios para el transporte de carbohidratos y nutrientes (Nagata *et al*, 2008). Varios genes asociados con el transporte se identificaron en este estudio. De éstos, los complejos de adaptador de clatrina y la posible proteína transportadora de polioli 4 se expresaron en el genotipo susceptible mientras la proteína de resistencia a múltiples fármacos, proteína Sec Y, proteína de la familia de transportador ABC, transportador de cobre Ctr, proteína de unión al ion cobre SKS3 mostraron expresión sólo en el genotipo resistente. Aunque pocas de estas proteínas asociadas con el transporte mostraron especificidad de genotipo, otras como el transportador de sustrato general, canal de cloro intracelular, transportador de fosfato 5, fueron representativos de ambos genotipos. Los transportadores ABC y los genes de resistencia a múltiples fármacos se sabe que funcionan en la defensa de la planta, mientras el papel de otros de los genes mencionados anteriormente en la defensa de la planta todavía debe descubrirse. El canal de cloro se reportó que se activaba por CDPK en célula oclusiva mientras el transportador de cloro se ha encontrado que está implicado en la regulación de la turgencia hipo-osmótica. Además, el transportador de polioli se mostró que se expresaba durante la maduración de células de compañía de plátano comunes, aunque su papel en la defensa de la planta permanece ambiguo. Estos resultados sugieren que el transporte tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas puede jugar un papel crucial en la respuesta inmune.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el transporte celular/transporte de iones inorgánicos y metabolismo. Estas EST son CaF1_JIE_02_D_08 SEQ ID NO:104, CaF1_JIE_08_F_11 SEQ ID NO:575, CaF1_JIE_09_H_02 SEQ ID NO:1311, CaF1_JIE_11_B_07 SEQ ID NO:1371, CaF1_JIE_11_F_07 SEQ ID NO:1406, CaF1_JIE_13_A_04 SEQ ID NO:1479, CaF1_JIE_13_A_08 SEQ ID NO:1481, CaF1_JIE_13_H_01 SEQ ID NO:1515, CaF1_JIE_14_E_09 SEQ ID NO:1557, CaF1_JIE_15_G_09 SEQ ID NO:1638, CaF1_JIE_16_A_11 SEQ ID NO:1657, CaF1_JIE_17_F_07 SEQ ID NO:1755, CaF1_JIE_19_A_02 SEQ ID NO:1838, CaF1_JIE_24_F_11 SEQ ID NO:2274, CaF1_JIE_26_A_03 SEQ ID NO:2349, CaF1_JIE_26_D_04 SEQ ID NO:2374, CaF1_JIE_26_D_09 SEQ ID NO:2378, CaF1_JIE_26_F_04 SEQ ID NO:2391, CaF1_JIE_26_G_09 SEQ ID NO:2400, CaF1_JIE_27_C_09 SEQ ID NO:2431, CaF1_JIE_27_E_08 SEQ ID NO:2445, CaF1_JIE_28_C_09 SEQ ID NO:2486, CaF1_JIE_29_A_03 SEQ ID NO:2521, CaF1_JIE_31_B_07 SEQ ID NO:2627, CaF1_JIE_35_A_03 SEQ ID NO:2840, CaF1_JIE_36_B_04 SEQ ID NO:2901, CaF1_JIE_36_B_11 SEQ ID NO:2905, CaF1_JIE_36_H_10 SEQ ID NO:2946, CaF1_JIE_37_C_10 SEQ ID NO:2964, CaF1_JIE_38_E_05 SEQ ID NO:3031, CaF1_JIE_41_H_02 SEQ ID NO:3237, CaF1_WIE_02_H_09 SEQ ID NO:760, CaF1_WIE_03_D_08 SEQ ID NO:788, CaF1_WIE_05_E_06 SEQ ID NO:926, CaF1_WIE_06_E_03 SEQ ID NO:989, CaF1_WIE_08_C_09 SEQ ID NO:1127, CaF1_WIE_09_A_05 SEQ ID NO:1176, CaF1_WIE_09_H_11 SEQ ID NO:1233, CaF1_WIE_10_D_03 SEQ ID NO:1263, CaF1_WIE_15_B_01 SEQ ID NO:3569, CaF1_WIE_17_F_07 SEQ ID NO:3700, CaF1_WIE_17_F_10 SEQ ID NO:3703, CaF1_WIE_17_F_11 SEQ ID NO:3704, CaF1_WIE_18_C_02 SEQ ID NO:3742, CaF1_WIE_18_D_05 SEQ ID NO:3753, CaF1_WIE_19_A_07 SEQ ID NO:3801, CaF1_WIE_19_B_07 SEQ ID NO:3811, CaF1_WIE_19_F_05 SEQ ID NO:3840, CaF1_WIE_21_E_01 SEQ ID NO:3946, CaF1_WIE_21_E_08 SEQ ID NO:3950, CaF1_WIE_21_G_11 SEQ ID NO:3969, CaF1_WIE_22_F_07 SEQ ID NO:4012, CaF1_WIE_22_F_08 SEQ ID NO:4013, CaF1_WIE_23_F_07 SEQ ID NO:4065, CaF1_WIE_26_A_03 SEQ ID NO:4226, CaF1_WIE_26_B_05 SEQ ID NO:4236, CaF1_WIE_26_B_06 SEQ ID NO:4237, CaF1_WIE_26_D_04 SEQ ID NO:4255, CaF1_WIE_28_C_07 SEQ ID NO:4399, CaF1_WIE_28_D_07 SEQ ID NO:4408, CaF1_WIE_29_C_04 SEQ ID NO:4470, CaF1_WIE_29_C_07 SEQ ID NO:4473, CaF1_WIE_30_G_01 SEQ ID NO:4584, CaF1_WIE_32_A_04 SEQ ID NO:4674, CaF1_WIE_32_C_02 SEQ ID NO:4693, CaF1_WIE_32_G_09 SEQ ID NO:4732, CaF1_WIE_34_E_11 SEQ ID NO:4852, CaF1_WIE_35_C_01 SEQ ID NO:4897, CaF1_WIE_35_C_07 SEQ ID NO:4903, CaF1_WIE_35_D_03 SEQ ID NO:4909, CaF1_WIE_35_H_08 SEQ ID NO:4952, CaF1_WIE_37_A_11 SEQ ID NO:5029, CaF1_WIE_37_G_02 SEQ ID NO:5067, CaF1_WIE_37_H_02 SEQ ID NO:5075, CaF1_WIE_38_F_02 SEQ ID NO:5122, CaF1_WIE_38_F_08 SEQ ID NO:5127, CaF1_WIE_39_E_03 SEQ ID NO:5177, CaF1_WIE_40_E_04 SEQ ID NO:5237, CaF1_WIE_40_G_06 SEQ ID NO:5258, CaF1_WIE_42_D_03 SEQ ID NO:5363, CaF1_WIE_43_A_11 SEQ ID NO:5396, CaF1_WIE_45_A_04 SEQ ID NO:5504, CaF1_WIE_45_A_08 SEQ ID NO:5508, CaF1_WIE_46_F_05 SEQ ID NO:5611, CaF1_WIE_47_C_04 SEQ ID NO:5654, CaF1_WIE_47_D_07 SEQ ID NO:5665, CaF1_WIE_47_F_09 SEQ ID NO:5687, CaF1_WIE_47_G_10 SEQ ID NO:5699, CaF1_WIE_48_B_10 SEQ ID NO:5722, CaF1_WIE_48_F_05 SEQ ID NO:5754, CaF1_WIE_48_G_09 SEQ ID NO:5763, CaF1_WIE_50_B_01 SEQ ID NO:5838, CaF1_WIE_50_E_05 SEQ ID NO:5869, CaF1_WIE_51_C_05 SEQ ID NO:5918, CaF1_WIE_51_C_07 SEQ ID NO:5920, CaF1_WIE_51_D_04 SEQ ID NO:5927, CaF1_WIE_51_F_04 SEQ ID NO:5943, CaF1_WIE_51_G_10 SEQ ID NO:5950, CaF1_WIE_52_G_10 SEQ ID NO:6016, CaF1_WIE_53_F_04 SEQ ID NO:6068, CaF1_WIE_54_A_02 SEQ ID

NO:6082, CaF1_WIE_55_G_02 SEQ ID NO:6200, CaF1_WIE_55_G_06 SEQ ID NO:6204, CaF1_WIE_56_B_11 SEQ ID NO:6232 y CaF1_WIE_56_G_07 SEQ ID NO:6262.

Genes implicados en respuestas a hormonas

5 El ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y etileno juegan papeles clave en la regulación del desarrollo y respuestas a estrés a través de rutas de transducción de la señal con intercomunicación. Estas hormonas se acumulan en respuesta a infección por patógeno y a su vez dan lugar a la activación de distintos conjuntos de genes relacionados con la defensa. Observamos la presencia de genes de la ruta de señalización de etileno, por ejemplo, el transcoactivador que responde a etileno y posible proteína que responde a etileno en el genotipo susceptible mientras el receptor de etileno sólo estaba presente en el genotipo resistente. El insensible a coronatina 1 y precursor BRU1 que están asociados con JA y rutas de brasinoesteroide, respectivamente, fueron específicos del genotipo resistente. Además, encontramos proteínas relacionadas con la señalización de auxina, de las que, SAUR que responde a auxina se encontró en ambos genotipos, pero la quinasa citosólica con especificidad dual regulada por auxina sólo estaba presente en el genotipo resistente. La proteína Aux/IAA, proteína inducida por auxina IAA12 y posible proteína de la familia aldo/ceto reductasa inducida por auxina se encontraron específicamente en el genotipo susceptible. Nuestros esfuerzos futuros serán la investigación de su posible papel en la inmunidad de las plantas.

10 La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con respuesta a hormonas. Estas EST son CaF1_JIE_02_C_08 SEQ ID NO:94, CaF1_JIE_02_C_09 SEQ ID NO:95, CaF1_JIE_02_C_10 SEQ ID NO:96, CaF1_JIE_05_D_08 SEQ ID NO:326, CaF1_JIE_05_F_08 SEQ ID NO:348, CaF1_JIE_08_A_04 SEQ ID NO:518, CaF1_JIE_08_E_07 SEQ ID NO:562, CaF1_JIE_16_A_04 SEQ ID NO:1653, CaF1_JIE_16_B_08 SEQ ID NO:1662, CaF1_JIE_16_D_05 SEQ ID NO:1679, CaF1_JIE_16_H_07 SEQ ID NO:1712, CaF1_JIE_19_E_11 SEQ ID NO:1876, CaF1_JIE_19_F_07 SEQ ID NO:1882, CaF1_JIE_20_C_08 SEQ ID NO:1931, CaF1_JIE_21_E_09 SEQ ID NO:2033, CaF1_JIE_21_F_06 SEQ ID NO:2037, CaF1_JIE_21_F_07 SEQ ID NO:2038, CaF1_JIE_23_H_10 SEQ ID NO:2218, CaF1_JIE_24_E_05 SEQ ID NO:2260, CaF1_JIE_36_D_03 SEQ ID NO:2914, CaF1_JIE_36_H_03 SEQ ID NO:2941, CaF1_JIE_40_C_09 SEQ ID NO:3136, CaF1_JIE_41_C_11 SEQ ID NO:3200, CaF1_JIE_41_D_06 SEQ ID NO:3206, CaF1_WIE_05_A_10 SEQ ID NO:894, CaF1_WIE_06_F_05 SEQ ID NO:1000, CaF1_WIE_11_C_09 SEQ ID NO:3333, CaF1_WIE_11_G_03 SEQ ID NO:3362, CaF1_WIE_12_D_08 SEQ ID NO:3409, CaF1_WIE_16_B_08 SEQ ID NO:3608, CaF1_WIE_16_H_07 SEQ ID NO:3641, CaF1_WIE_20_H_03 SEQ ID NO:3908, CaF1_WIE_20_H_04 SEQ ID NO:3909, CaF1_WIE_23_G_03 SEQ ID NO:4072, CaF1_WIE_30_C_11 SEQ ID NO:4555, CaF1_WIE_44_D_01 SEQ ID NO:5464 y CaF1_WIE_55_E_01 SEQ ID NO:6182.

Genes implicados en el ciclo celular y metabolismo de ADN

35 La división celular y la progresión del ciclo celular en plantas se altera frecuentemente en respuesta a varios estreses medioambientales. Muchas proteínas relacionadas con la división celular y el ciclo celular, por ejemplo, quinetocoro potencial, proteína de división celular FtsZ y cdc2MsF identificadas en este estudio fueron predominantes en el genotipo resistente sugiriendo alteraciones en la respuesta al estrés por patógeno del ciclo celular en el garbanzo. Los genes implicados en la replicación y reparación del ADN como la proteína de reparación del ADN RadA, poliproteína putativa y poliproteína gag-pol putativa se identificaron en el genotipo susceptible mientras potencial helicasa fue común en ambos genotipos. Estos descubrimientos son interesantes porque se conoce muy poco acerca del papel de dichos genes en las respuestas inmunes de las plantas.

40 La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el control del ciclo celular y la división celular. Estas EST son CaF1_JIE_04_F_11 SEQ ID NO: 269, CaF1_JIE_05_B_01 SEQ ID NO:299, CaF1_JIE_07_F_11 SEQ ID NO:493, CaF1_JIE_24_H_06 SEQ ID NO:2286, CaF1_JIE_24_H_07 SEQ ID NO:2287, CaF1_JIE_25_B_10 SEQ ID NO:2303, CaF1_JIE_36_E_10 SEQ ID NO:2927, CaF1_WIE_03_E_10 SEQ ID NO:797, CaF1_WIE_06_F_09 SEQ ID NO:1003, CaF1_WIE_07_B_01 SEQ ID NO:1034, CaF1_WIE_11_B_09 SEQ ID NO:3323, CaF1_WIE_17_F_08 SEQ ID NO:3701, CaF1_WIE_17_H_01 SEQ ID NO:3715, CaF1_WIE_19_E_10 SEQ ID NO:3835, CaF1_WIE_20_E_02 SEQ ID NO:3884, CaF1_WIE_25_B_10 SEQ ID NO:4176, CaF1_WIE_26_B_02 SEQ ID NO:4234, CaF1_WIE_28_B_06 SEQ ID NO:4390, CaF1_WIE_35_C_05 SEQ ID NO:4901, CaF1_WIE_40_A_08 SEQ ID NO:5205, CaF1_WIE_40_A_09 SEQ ID NO:5206, CaF1_WIE_42_H_02 SEQ ID NO:5384, CaF1_WIE_44_C_07 SEQ ID NO:5460, CaF1_WIE_45_A_10 SEQ ID NO:5510, CaF1_WIE_46_F_08 SEQ ID NO:5614, CaF1_WIE_48_E_11 SEQ ID NO:5749, CaF1_WIE_54_D_07 SEQ ID NO:6115, CaF1_WIE_54_E_01 SEQ ID NO:6120, CaF1_WIE_55_G_05 SEQ ID NO:6203 y CaF1_WIE_56_H_07 SEQ ID NO:6269.

55 La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con la replicación, recombinación y reparación del ADN. Estas EST son CaF1_JIE_08_E_02 SEQ ID NO:557, CaF1_JIE_15_A_04 SEQ ID NO:1584, CaF1_JIE_15_B_04 SEQ ID NO:1593, CaF1_JIE_16_B_07 SEQ ID NO:1661, CaF1_JIE_27_G_08 SEQ ID NO:2461, CaF1_JIE_28_E_08 SEQ ID NO:2499, CaF1_JIE_39_C_02 SEQ ID NO:3069, CaF1_JIE_39_C_10 SEQ ID NO:3076, CaF1_JIE_39_D_02 SEQ ID NO:3078, CaF1_JIE_42_G_01 SEQ ID NO:3265 y CaF1_WIE_32_E_01 SEQ ID NO:4706.

Genes implicados en el desarrollo y organización del citoesqueleto

Los genes implicados en el desarrollo y organización del citoesqueleto representan el 1,24% del conjunto total de CaUnigen. Los genes candidatos implicados en el desarrollo fueron aquellos que codifican enzimas asociadas con la maduración y senescencia de los frutos, y varias proteínas de almacenamiento como albúmina y aglutinina. La mayor parte de los genes en esta clase se identificaron tanto en los genotipos susceptible como resistente, sin embargo, la aglutinina fue específica del resistente. Aunque ha habido informes sobre la asociación de los procesos de defensa y senescencia de plantas, la implicación de proteínas relacionadas con la maduración no se ha implicado nunca en respuestas inmunes. Se ha mostrado que las proteínas de almacenamiento de semillas como germina y albúmina están implicadas en respuestas a estrés, sin embargo, el papel de la aglutinina en la inmunidad de las plantas no se conoce.

Se piensa que el citoesqueleto contribuye al establecimiento de barreras efectivas en la periferia celular frente a la entrada de patógenos. Sustanciando este fenómeno, se identificaron varias proteínas estructurales que incluyen actina, polipéptido de agrupación de microtúbulos, y beta tubulina, además de genes asociados con la reorganización del citoesqueleto como factor despolimerizante de actina y genes relacionados con el desensamblaje del huso putativos. Aunque la actina estaba presente en los genotipos, los genes relacionados con el factor despolimerizante de actina a y desensamblaje del huso putativo fueron específicos del genotipo resistente.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el citoesqueleto. Estas EST son CaF1_JIE_09_A_04 SEQ ID NO:601, CaF1_JIE_09_H_01 SEQ ID NO:1310, CaF1_JIE_20_C_03 SEQ ID NO:1926, CaF1_JIE_40_B_07 SEQ ID NO:3125, CaF1_JIE_42_G_10 SEQ ID NO:3271, CaF1_WIE_01_C_03 SEQ ID NO:647, CaF1_WIE_05_H_02 SEQ ID NO:948, CaF1_WIE_16_A_11 SEQ ID NO:3603, CaF1_WIE_18_A_10 SEQ ID NO:3731, CaF1_WIE_25_G_08 SEQ ID NO:4214, CaF1_WIE_26_B_11 SEQ ID NO:4241, CaF1_WIE_26_G_08 SEQ ID NO:4284, CaF1_WIE_37_E_06 SEQ ID NO:5053, CaF1_WIE_40_D_04 SEQ ID NO:5228, CaF1_WIE_41_B_01 SEQ ID NO:5281, CaF1_WIE_41_E_04 SEQ ID NO:5309, CaF1_WIE_42_C_07 SEQ ID NO:5357, CaF1_WIE_43_B_03 SEQ ID NO:5399, CaF1_WIE_43_C_03 SEQ ID NO:5406, CaF1_WIE_46_D_04 SEQ ID NO:5593, CaF1_WIE_48_E_08 SEQ ID NO:5746, CaF1_WIE_48_E_09 SEQ ID NO:5747, CaF1_WIE_48_G_05 SEQ ID NO:5761, CaF1_WIE_48_H_08 SEQ ID NO:5771, CaF1_WIE_52_G_03 SEQ ID NO:6010, CaF1_WIE_53_E_05 SEQ ID NO:6061 y CaF1_WIE_53_E_09 SEQ ID NO:6063.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el desarrollo/almacenamiento/estado latente y senescencia. Estas EST son CaF1_JIE_06_E_08 SEQ ID NO:408, CaF1_JIE_19_C_08 SEQ ID NO:1858, CaF1_JIE_19_C_09 SEQ ID NO:1859, CaF1_JIE_22_B_06 SEQ ID NO:2077, CaF1_JIE_22_B_07 SEQ ID NO:2078, CaF1_JIE_22_F_09 SEQ ID NO:2117, CaF1_JIE_23_E_06 SEQ ID NO:2184, CaF1_JIE_25_A_02 SEQ ID NO:2291, CaF1_JIE_25_C_03 SEQ ID NO:2305, CaF1_JIE_27_G_02 SEQ ID NO:2458, CaF1_JIE_35_B_02 SEQ ID NO:2845, CaF1_JIE_40_F_02 SEQ ID NO:3155, CaF1_JIE_42_A_04 SEQ ID NO:3245, CaF1_WIE_01_E_09 SEQ ID NO:671, CaF1_WIE_02_A_05 SEQ ID NO:702, CaF1_WIE_02_C_05 SEQ ID NO:717, CaF1_WIE_03_E_09 SEQ ID NO:796, CaF1_WIE_04_B_11 SEQ ID NO:835, CaF1_WIE_04_D_09 SEQ ID NO:850, CaF1_WIE_04_H_01 SEQ ID NO:879, CaF1_WIE_06_E_08 SEQ ID NO:993, CaF1_WIE_07_B_03 SEQ ID NO:1036, CaF1_WIE_07_H_06 SEQ ID NO:1098, CaF1_WIE_07_H_09 SEQ ID NO:1100, CaF1_WIE_09_B_09 SEQ ID NO:1185, CaF1_WIE_09_B_10 SEQ ID NO:1186, CaF1_WIE_09_E_07 SEQ ID NO:1204, CaF1_WIE_09_E_10 SEQ ID NO:1207, CaF1_WIE_09_F_02 SEQ ID NO:1210, CaF1_WIE_11_B_01 SEQ ID NO:3317, CaF1_WIE_11_E_01 SEQ ID NO:3344, CaF1_WIE_12_B_02 SEQ ID NO:3385, CaF1_WIE_12_B_04 SEQ ID NO:3387, CaF1_WIE_12_F_11 SEQ ID NO:3430, CaF1_WIE_12_G_01 SEQ ID NO:3431, CaF1_WIE_12_G_11 SEQ ID NO:3441, CaF1_WIE_13_C_03 SEQ ID NO:3471, CaF1_WIE_13_C_09 SEQ ID NO:3476, CaF1_WIE_13_E_07 SEQ ID NO:3492, CaF1_WIE_13_E_09 SEQ ID NO:3494, CaF1_WIE_13_G_04 SEQ ID NO:3508, CaF1_WIE_14_G_11 SEQ ID NO:3557, CaF1_WIE_16_G_01 SEQ ID NO:3630, CaF1_WIE_17_B_04 SEQ ID NO:3658, CaF1_WIE_17_G_02 SEQ ID NO:3706, CaF1_WIE_17_G_03 SEQ ID NO:3707, CaF1_WIE_17_G_07 SEQ ID NO:3710, CaF1_WIE_17_G_11 SEQ ID NO:3714, CaF1_WIE_17_H_03 SEQ ID NO:3717, CaF1_WIE_18_A_05 SEQ ID NO:3726, CaF1_WIE_18_E_01 SEQ ID NO:3760, CaF1_WIE_18_E_06 SEQ ID NO:3764, CaF1_WIE_18_H_04 SEQ ID NO:3792, CaF1_WIE_18_H_10 SEQ ID NO:3795, CaF1_WIE_19_H_05 SEQ ID NO:3856, CaF1_WIE_19_H_06 SEQ ID NO:3857, CaF1_WIE_20_A_08 SEQ ID NO:3866, CaF1_WIE_20_C_04 SEQ ID NO:3873, CaF1_WIE_20_C_05 SEQ ID NO:3874, CaF1_WIE_20_D_03 SEQ ID NO:3877, CaF1_WIE_20_D_04 SEQ ID NO:3878, CaF1_WIE_20_E_05 SEQ ID NO:3887, CaF1_WIE_20_F_03 SEQ ID NO:3894, CaF1_WIE_21_B_03 SEQ ID NO:3924, CaF1_WIE_21_C_11 SEQ ID NO:3938, CaF1_WIE_23_A_09 SEQ ID NO:4034, CaF1_WIE_23_C_11 SEQ ID NO:4047, CaF1_WIE_23_F_04 SEQ ID NO:4063, CaF1_WIE_23_F_08 SEQ ID NO:4066, CaF1_WIE_24_A_08 SEQ ID NO:4093, CaF1_WIE_24_B_02 SEQ ID NO:4097, CaF1_WIE_24_C_03 SEQ ID NO:4106, CaF1_WIE_24_F_10 SEQ ID NO:4137, CaF1_WIE_25_A_11 SEQ ID NO:4167, CaF1_WIE_25_B_01 SEQ ID NO:4168, CaF1_WIE_25_C_03 SEQ ID NO:4178, CaF1_WIE_26_C_03 SEQ ID NO:4244, CaF1_WIE_27_A_02 SEQ ID NO:4300, CaF1_WIE_27_G_02 SEQ ID NO:4360, CaF1_WIE_28_B_05 SEQ ID NO:4389, CaF1_WIE_28_H_10 SEQ ID NO:4444, CaF1_WIE_29_A_01 SEQ ID NO:4445, CaF1_WIE_29_A_08 SEQ ID NO:4452, CaF1_WIE_29_G_03 SEQ ID NO:4512, CaF1_WIE_30_F_08 SEQ ID NO:4580, CaF1_WIE_31_B_10 SEQ ID NO:4618, CaF1_WIE_31_H_05 SEQ ID NO:4667, CaF1_WIE_32_B_08 SEQ ID NO:4688, CaF1_WIE_32_H_07 SEQ ID NO:4741, CaF1_WIE_33_C_05 SEQ ID

NO:4764, CaF1_WIE_33_D_05 SEQ ID NO:4771, CaF1_WIE_33_E_11 SEQ ID NO:4784, CaF1_WIE_33_F_01 SEQ ID NO:4785, CaF1_WIE_34_A_09 SEQ ID NO:4817, CaF1_WIE_34_H_01 SEQ ID NO:4869, CaF1_WIE_35_B_09 SEQ ID NO:4895, CaF1_WIE_35_D_06 SEQ ID NO:4912, CaF1_WIE_35_E_01 SEQ ID NO:4917, CaF1_WIE_35_E_05 SEQ ID NO:4920, CaF1_WIE_35_G_03 SEQ ID NO:4938, CaF1_WIE_35_H_05 SEQ ID NO:4950, CaF1_WIE_36_D_09 SEQ ID NO:4985, CaF1_WIE_36_G_11 SEQ ID NO:5010, CaF1_WIE_37_B_04 SEQ ID NO:5032, CaF1_WIE_37_C_11 SEQ ID NO:5042, CaF1_WIE_37_D_03 SEQ ID NO:5045, CaF1_WIE_37_D_04 SEQ ID NO:5046, CaF1_WIE_38_B_04 SEQ ID NO:5095, CaF1_WIE_38_G_08 SEQ ID NO:5133, CaF1_WIE_39_C_03 SEQ ID NO:5162, CaF1_WIE_39_C_04 SEQ ID NO:5163, CaF1_WIE_39_G_11 SEQ ID NO:5190, CaF1_WIE_40_A_10 SEQ ID NO:5207, CaF1_WIE_40_C_04 SEQ ID NO:5220, CaF1_WIE_40_F_06 SEQ ID NO:5248, CaF1_WIE_41_C_09 SEQ ID NO:5296, CaF1_WIE_41_G_10 SEQ ID NO:5328, CaF1_WIE_41_G_11 SEQ ID NO:5329, CaF1_WIE_42_A_03 SEQ ID NO:5342, CaF1_WIE_42_B_03 SEQ ID NO:5348, CaF1_WIE_43_A_04 SEQ ID NO:5391, CaF1_WIE_43_D_06 SEQ ID NO:5414, CaF1_WIE_43_D_08 SEQ ID NO:5415, CaF1_WIE_44_A_07 SEQ ID NO:5446, CaF1_WIE_44_A_08 SEQ ID NO:5447, CaF1_WIE_44_D_04 SEQ ID NO:5467, CaF1_WIE_44_F_09 SEQ ID NO:5485, CaF1_WIE_45_D_03 SEQ ID NO:5525, CaF1_WIE_45_H_11 SEQ ID NO:5563, CaF1_WIE_46_G_04 SEQ ID NO:5618, CaF1_WIE_46_H_06 SEQ ID NO:5629, CaF1_WIE_47_H_08 SEQ ID NO:5707, CaF1_WIE_50_C_11 SEQ ID NO:5855, CaF1_WIE_50_F_10 SEQ ID NO:5880, CaF1_WIE_51_B_11 SEQ ID NO:5913, CaF1_WIE_51_C_03 SEQ ID NO:5916, CaF1_WIE_51_E_06 SEQ ID NO:5936, CaF1_WIE_51_E_08 SEQ ID NO:5938, CaF1_WIE_52_C_01 SEQ ID NO:5976, CaF1_WIE_52_C_02 SEQ ID NO:5977, CaF1_WIE_52_E_02 SEQ ID NO:5993, CaF1_WIE_53_B_07 SEQ ID NO:6039, CaF1_WIE_53_C_07 SEQ ID NO:6047, CaF1_WIE_53_E_03 SEQ ID NO:6060, CaF1_WIE_54_A_06 SEQ ID NO:6086, CaF1_WIE_54_D_06 SEQ ID NO:6114, CaF1_WIE_55_A_08 SEQ ID NO:6157, CaF1_WIE_55_C_09 SEQ ID NO:6173, CaF1_WIE_55_F_09 SEQ ID NO:6197 y CaF1_WIE_56_E_09 SEQ ID NO:6249.

Genes implicados en redox celular y metabolismo energético

El estallido oxidativo es una de las respuestas celulares más tempranas después del reconocimiento exitoso de un patógeno. Varias enzimas implicadas en el estallido oxidativo se identificaron tanto en los genotipos susceptible como resistente que incluyen peroxidasa, superóxido dismutasa, glutatión-S-transferasa y quinona óxidoreductasa. La generación apoplásica de superóxido o su producto de dismutación, peróxido de hidrógeno, se ha mostrado en respuesta a una variedad de patógenos. Estas enzimas restringen el daño dependiente de ROS y pueden dar lugar a la activación de la respuesta inmune de las plantas.

La producción de energía tiene un impacto en el estado metabólico global y el suministro de energía es el factor clave para el mantenimiento de la integridad celular bajo varias condiciones de estrés. Observamos la presencia de genes que codifican diferentes proteínas implicadas en la biosíntesis de ATP como NAD(P)H deshidrogenasa alternativa y proteína semejante a transportador ADP,ATP putativa en el genotipo susceptible. Sin embargo, la oxidasa 2b alternativa y NADH deshidrogenasa se identificaron sólo en el genotipo resistente. No obstante, la subunidad A de la H⁺-ATPasa vacuolar y la subunidad beta de la ATP sintasa fueron comunes para ambos genotipos. Aunque la implicación de estas proteínas en el estrés abiótico, conservación de energía y mantenimiento del potencial redox está bien establecida, su papel exacto en la respuesta inmune de las plantas todavía debe elucidarse.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el estado redox celular. Estas EST son CaF1_JIE_01_A_09 SEQ ID NO:7, CaF1_JIE_03_B_03 SEQ ID NO:151, CaF1_JIE_03_D_04 SEQ ID NO:167, CaF1_JIE_03_E_09 SEQ ID NO:180, CaF1_JIE_03_G_05 SEQ ID NO:196, CaF1_JIE_04_A_05 SEQ ID NO:213, CaF1_JIE_04_D_05 SEQ ID NO:244, CaF1_JIE_05_C_05 SEQ ID NO:313, CaF1_JIE_07_G_05 SEQ ID NO:498, CaF1_JIE_07_G_10 SEQ ID NO:503, CaF1_JIE_07_H_05 SEQ ID NO:509, CaF1_JIE_10_C_03 SEQ ID NO:1334, CaF1_JIE_10_G_03 SEQ ID NO:1346, CaF1_JIE_10_H_08 SEQ ID NO:1358, CaF1_JIE_11_B_10 SEQ ID NO:1374, CaF1_JIE_11_F_03 SEQ ID NO:1402, CaF1_JIE_15_A_05 SEQ ID NO:1585, CaF1_JIE_15_D_04 SEQ ID NO:1611, CaF1_JIE_15_E_10 SEQ ID NO:1624, CaF1_JIE_15_F_09 SEQ ID NO:1630, CaF1_JIE_16_B_11 SEQ ID NO:1665, CaF1_JIE_16_C_09 SEQ ID NO:1673, CaF1_JIE_16_E_10 SEQ ID NO:1690, CaF1_JIE_17_B_06 SEQ ID NO:1724, CaF1_JIE_17_D_09 SEQ ID NO:1742, CaF1_JIE_20_A_09 SEQ ID NO:1911, CaF1_JIE_20_G_05 SEQ ID NO:1969, CaF1_JIE_23_C_09 SEQ ID NO:2169, CaF1_JIE_23_H_07 SEQ ID NO:2216, CaF1_JIE_23_H_08 SEQ ID NO:2217, CaF1_JIE_24_A_09 SEQ ID NO:2228, CaF1_JIE_24_D_02 SEQ ID NO:2249, CaF1_JIE_24_F_04 SEQ ID NO:2269, CaF1_JIE_24_F_05 SEQ ID NO:2270, CaF1_JIE_25_A_06 SEQ ID NO:2294, CaF1_JIE_26_A_02 SEQ ID NO:2348, CaF1_JIE_26_B_10 SEQ ID NO:2361, CaF1_JIE_26_C_02 SEQ ID NO:2364, CaF1_JIE_26_F_06 SEQ ID NO:2392, CaF1_JIE_26_F_09 SEQ ID NO:2394, CaF1_JIE_27_H_07 SEQ ID NO:2465, CaF1_JIE_27_H_10 SEQ ID NO:2468, CaF1_JIE_28_B_04 SEQ ID NO:2476, CaF1_JIE_28_E_11 SEQ ID NO:2502, CaF1_JIE_28_H_06 SEQ ID NO:2515, CaF1_JIE_28_H_07 SEQ ID NO:2516, CaF1_JIE_28_H_10 SEQ ID NO:2519, CaF1_JIE_29_B_03 SEQ ID NO:2527, CaF1_JIE_29_C_09 SEQ ID NO:2537, CaF1_JIE_29_C_10 SEQ ID NO:2538, CaF1_JIE_31_G_02 SEQ ID NO:2659, CaF1_JIE_34_E_09 SEQ ID NO:2815, CaF1_JIE_34_E_10 SEQ ID NO:2816, CaF1_JIE_36_G_02 SEQ ID NO:2937, CaF1_JIE_36_H_06 SEQ ID NO:2943, CaF1_JIE_36_H_09 SEQ ID NO:2945, CaF1_JIE_37_C_07 SEQ ID NO:2962, CaF1_JIE_37_F_04 SEQ ID NO:2977, CaF1_JIE_37_G_07 SEQ ID NO:2985, CaF1_JIE_38_A_08 SEQ ID NO:3002, CaF1_JIE_38_B_04 SEQ ID NO:3008, CaF1_JIE_39_A_10 SEQ ID NO:3061, CaF1_JIE_40_B_05 SEQ ID NO:3124, CaF1_JIE_40_E_05

ES 2 620 658 T3

SEQ ID NO:3150, CaF1_JIE_41_A_05 SEQ ID NO:3183, CaF1_JIE_41_E_03 SEQ ID NO:3212, CaF1_WIE_01_D_05 SEQ ID NO:658, CaF1_WIE_01_D_11 SEQ ID NO:664, CaF1_WIE_01_F_05 SEQ ID NO:676, CaF1_WIE_02_A_08 SEQ ID NO:704, CaF1_WIE_02_A_09 SEQ ID NO:705, CaF1_WIE_02_F_07 SEQ ID NO:744, CaF1_WIE_02_H_08 SEQ ID NO:759, CaF1_WIE_03_D_09 SEQ ID NO:789, CaF1_WIE_03_F_01 SEQ ID NO:799, CaF1_WIE_04_C_09 SEQ ID NO:843, CaF1_WIE_04_E_06 SEQ ID NO:857, CaF1_WIE_04_G_05 SEQ ID NO:874, CaF1_WIE_05_B_09 SEQ ID NO:902, CaF1_WIE_05_E_09 SEQ ID NO:929, CaF1_WIE_06_D_10 SEQ ID NO:985, CaF1_WIE_06_E_10 SEQ ID NO:995, CaF1_WIE_06_H_02 SEQ ID NO:1015, CaF1_WIE_07_D_07 SEQ ID NO:1059, CaF1_WIE_08_B_02 SEQ ID NO:1109, CaF1_WIE_08_E_03 SEQ ID NO:1140, CaF1_WIE_09_E_04 SEQ ID NO:1201, CaF1_WIE_10_H_02 SEQ ID NO:3298, CaF1_WIE_11_C_02 SEQ ID NO:3327, CaF1_WIE_12_A_07 SEQ ID NO:3381, CaF1_WIE_12_F_06 SEQ ID NO:3425, CaF1_WIE_13_A_10 SEQ ID NO:3459, CaF1_WIE_13_C_01 SEQ ID NO:3469, CaF1_WIE_13_H_05 SEQ ID NO:3518, CaF1_WIE_15_A_08 SEQ ID NO:3567, CaF1_WIE_15_B_03 SEQ ID NO:3571, CaF1_WIE_15_D_05 SEQ ID NO:3580, CaF1_WIE_17_A_11 SEQ ID NO:3654, CaF1_WIE_17_B_01 SEQ ID NO:3655, CaF1_WIE_17_E_02 SEQ ID NO:3685, CaF1_WIE_17_G_04 SEQ ID NO:3708, CaF1_WIE_17_H_05 SEQ ID NO:3718, CaF1_WIE_18_B_08 SEQ ID NO:3738, CaF1_WIE_18_B_09 SEQ ID NO:3739, CaF1_WIE_18_D_06 SEQ ID NO:3754, CaF1_WIE_18_G_07 SEQ ID NO:3785, CaF1_WIE_19_E_01 SEQ ID NO:3829, CaF1_WIE_19_E_08 SEQ ID NO:3834, CaF1_WIE_21_H_10 SEQ ID NO:3976, CaF1_WIE_22_C_04 SEQ ID NO:3994, CaF1_WIE_22_H_08 SEQ ID NO:4026, CaF1_WIE_23_G_04 SEQ ID NO:4073, CaF1_WIE_24_D_04 SEQ ID NO:4115, CaF1_WIE_24_D_07 SEQ ID NO:4118, CaF1_WIE_24_E_05 SEQ ID NO:4123, CaF1_WIE_26_A_06 SEQ ID NO:4228, CaF1_WIE_26_H_11 SEQ ID NO:4298, CaF1_WIE_27_C_07 SEQ ID NO:4325, CaF1_WIE_27_C_08 SEQ ID NO:4326, CaF1_WIE_27_D_08 SEQ ID NO:4334, CaF1_WIE_28_A_10 SEQ ID NO:4386, CaF1_WIE_28_F_11 SEQ ID NO:4425, CaF1_WIE_29_A_07 SEQ ID NO:4451, CaF1_WIE_29_C_01 SEQ ID NO:4467, CaF1_WIE_30_A_02 SEQ ID NO:4532, CaF1_WIE_30_B_01 SEQ ID NO:4539, CaF1_WIE_30_B_09 SEQ ID NO:4545, CaF1_WIE_30_F_11 SEQ ID NO:4583, CaF1_WIE_31_B_04 SEQ ID NO:4613, CaF1_WIE_31_B_05 SEQ ID NO:4614, CaF1_WIE_31_G_08 SEQ ID NO:4660, CaF1_WIE_32_F_09 SEQ ID NO:4721, CaF1_WIE_32_H_05 SEQ ID NO:4739, CaF1_WIE_32_H_10 SEQ ID NO:4744, CaF1_WIE_33_A_01 SEQ ID NO:4746, CaF1_WIE_33_E_02 SEQ ID NO:4777, CaF1_WIE_33_H_06 SEQ ID NO:4808, CaF1_WIE_34_A_10 SEQ ID NO:4818, CaF1_WIE_34_B_04 SEQ ID NO:4821, CaF1_WIE_34_C_11 SEQ ID NO:4835, CaF1_WIE_34_H_05 SEQ ID NO:4873, CaF1_WIE_35_E_10 SEQ ID NO:4925, CaF1_WIE_36_H_10 SEQ ID NO:5020, CaF1_WIE_37_C_04 SEQ ID NO:5038, CaF1_WIE_37_C_09 SEQ ID NO:5040, CaF1_WIE_37_G_07 SEQ ID NO:5069, CaF1_WIE_38_A_02 SEQ ID NO:5084, CaF1_WIE_38_A_03 SEQ ID NO:5085, CaF1_WIE_38_A_04 SEQ ID NO:5086, CaF1_WIE_38_B_01 SEQ ID NO:5093, CaF1_WIE_38_B_02 SEQ ID NO:5094, CaF1_WIE_38_C_01 SEQ ID NO:5100, CaF1_WIE_38_C_02 SEQ ID NO:5101, CaF1_WIE_38_C_04 SEQ ID NO:5103, CaF1_WIE_38_D_01 SEQ ID NO:5110, CaF1_WIE_38_D_06 SEQ ID NO:5111, CaF1_WIE_38_E_01 SEQ ID NO:5116, CaF1_WIE_38_E_09 SEQ ID NO:5121, CaF1_WIE_38_F_03 SEQ ID NO:5123, CaF1_WIE_38_F_06 SEQ ID NO:5125, CaF1_WIE_38_G_09 SEQ ID NO:5134, CaF1_WIE_39_A_06 SEQ ID NO:5148, CaF1_WIE_39_A_07 SEQ ID NO:5149, CaF1_WIE_39_B_05 SEQ ID NO:5155, CaF1_WIE_39_B_06 SEQ ID NO:5156, CaF1_WIE_39_B_07 SEQ ID NO:5157, CaF1_WIE_39_C_06 SEQ ID NO:5165, CaF1_WIE_39_C_07 SEQ ID NO:5166, CaF1_WIE_39_D_04 SEQ ID NO:5171, CaF1_WIE_39_D_07 SEQ ID NO:5173, CaF1_WIE_39_E_06 SEQ ID NO:5178, CaF1_WIE_39_F_07 SEQ ID NO:5180, CaF1_WIE_41_A_10 SEQ ID NO:5279, CaF1_WIE_41_F_03 SEQ ID NO:5315, CaF1_WIE_41_G_07 SEQ ID NO:5326, CaF1_WIE_43_E_11 SEQ ID NO:5424, CaF1_WIE_43_F_04 SEQ ID NO:5428, CaF1_WIE_45_F_09 SEQ ID NO:5544, CaF1_WIE_46_D_01 SEQ ID NO:5590, CaF1_WIE_47_B_08 SEQ ID NO:5648, CaF1_WIE_47_F_11 SEQ ID NO:5689, CaF1_WIE_47_G_09 SEQ ID NO:5698, CaF1_WIE_48_B_01 SEQ ID NO:5716, CaF1_WIE_48_B_09 SEQ ID NO:5721, CaF1_WIE_48_C_02 SEQ ID NO:5725, CaF1_WIE_49_C_10 SEQ ID NO:5799, CaF1_WIE_49_E_10 SEQ ID NO:5812, CaF1_WIE_49_G_07 SEQ ID NO:5823, CaF1_WIE_50_B_08 SEQ ID NO:5845, CaF1_WIE_50_H_05 SEQ ID NO:5892, CaF1_WIE_52_A_10 SEQ ID NO:5963, CaF1_WIE_53_B_03 SEQ ID NO:6036, CaF1_WIE_54_C_05 SEQ ID NO:6103, CaF1_WIE_54_C_06 SEQ ID NO:6104, CaF1_WIE_54_E_07 SEQ ID NO:6126, CaF1_WIE_54_E_08 SEQ ID NO:6127, CaF1_WIE_54_F_01 SEQ ID NO:6130, CaF1_WIE_56_A_03 SEQ ID NO:6220, CaF1_WIE_56_E_02 SEQ ID NO:6243 y CaF1_WIE_56_H_09 SEQ ID NO:6270.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con la producción y conversión de energía. Estas EST son CaF1_JIE_02_F_02 SEQ ID NO:116, CaF1_JIE_02_G_08 SEQ ID NO:130, CaF1_JIE_04_B_07 SEQ ID NO:226, CaF1_JIE_07_E_03 SEQ ID NO:477, CaF1_JIE_08_C_09 SEQ ID NO:543, CaF1_JIE_09_B_04 SEQ ID NO:611, CaF1_JIE_09_D_01 SEQ ID NO:627, CaF1_JIE_12_H_05 SEQ ID NO:1473, CaF1_JIE_13_A_05 SEQ ID NO:1480, CaF1_JIE_13_B_05 SEQ ID NO:1484, CaF1_JIE_16_G_11 SEQ ID NO:170, CaF1_JIE_18_G_08 SEQ ID NO:1826, CaF1_JIE_18_H_04 SEQ ID NO:1832, CaF1_JIE_20_B_03 SEQ ID NO:1915, CaF1_JIE_24_D_06 SEQ ID NO:2253, CaF1_JIE_24_F_03 SEQ ID NO:2268, CaF1_JIE_26_C_09 SEQ ID NO:2369, CaF1_JIE_32_D_10 SEQ ID NO:2697, CaF1_JIE_32_H_06 SEQ ID NO:2719, CaF1_JIE_33_E_02 SEQ ID NO:2755, CaF1_JIE_33_G_04 SEQ ID NO:2768, CaF1_JIE_33_H_10 SEQ ID NO:2779, CaF1_JIE_34_A_04 SEQ ID NO:2783, CaF1_JIE_35_B_05 SEQ ID NO:2848, CaF1_JIE_36_F_03 SEQ ID NO:2930, CaF1_JIE_38_F_02 SEQ ID NO:3036, CaF1_JIE_39_D_08 SEQ ID NO:3081, CaF1_JIE_41_E_11 SEQ ID NO:3219, CaF1_WIE_01_A_04 SEQ ID NO:632, CaF1_WIE_02_C_07 SEQ ID NO:719, CaF1_WIE_02_E_01 SEQ ID NO:728, CaF1_WIE_02_E_07 SEQ ID NO:734, CaF1_WIE_03_B_07 SEQ ID NO:771, CaF1_WIE_03_D_02 SEQ ID NO:784, CaF1_WIE_05_C_06 SEQ ID NO:908,

CaF1_WIE_06_G_06 SEQ ID NO:1009, CaF1_WIE_08_B_09 SEQ ID NO:1116, CaF1_WIE_08_D_02 SEQ ID NO:1130, CaF1_WIE_09_G_11 SEQ ID NO:1225, CaF1_WIE_10_A_05 SEQ ID NO:1238, CaF1_WIE_20_A_09 SEQ ID NO:3867, CaF1_WIE_20_F_09 SEQ ID NO:3898, CaF1_WIE_20_G_03 SEQ ID NO:3901, CaF1_WIE_22_C_11 SEQ ID NO:3998, CaF1_WIE_22_F_05 SEQ ID NO:4010, CaF1_WIE_23_C_04 SEQ ID NO:4043, CaF1_WIE_26_A_04 SEQ ID NO:4227, CaF1_WIE_27_A_10 SEQ ID NO:4308, CaF1_WIE_27_C_03 SEQ ID NO:4322, CaF1_WIE_27_H_05 SEQ ID NO:4373, CaF1_WIE_28_A_08 SEQ ID NO:4384, CaF1_WIE_28_D_06 SEQ ID NO:4407, CaF1_WIE_29_E_07 SEQ ID NO:4494, CaF1_WIE_30_C_10 SEQ ID NO:4554, CaF1_WIE_31_G_07 SEQ ID NO:4659, CaF1_WIE_35_F_01 SEQ ID NO:4927, CaF1_WIE_36_A_04 SEQ ID NO:4958, CaF1_WIE_36_A_10 SEQ ID NO:4963, CaF1_WIE_36_F_04 SEQ ID NO:4997, CaF1_WIE_36_G_07 SEQ ID NO:5007, CaF1_WIE_39_A_08 SEQ ID NO:5150, CaF1_WIE_43_D_03 SEQ ID NO:5412, CaF1_WIE_46_A_03 SEQ ID NO:5565, CaF1_WIE_46_E_11 SEQ ID NO:5607, CaF1_WIE_47_B_02 SEQ ID NO:5643, CaF1_WIE_47_E_03 SEQ ID NO:5672, CaF1_WIE_49_E_02 SEQ ID NO:5808, CaF1_WIE_52_B_02 SEQ ID NO:5966, CaF1_WIE_53_E_02 SEQ ID NO:6059 y CaF1_WIE_54_B_05 SEQ ID NO:6093.

15 Genes implicados en el metabolismo secundario

La mayor parte de los metabolitos secundarios de la ruta fenil propanoide, incluyendo ligninas, fitoalexinas isoflavonoides y otros compuestos fenólicos son instrumentales en la capacidad de las plantas para ejecutar defensas exitosas frente a patógenos invasores. En este estudio, se identificaron varios genes que están asociados con la biosíntesis de metabolitos secundarios. Las enzimas importantes en esta categoría incluyen fenil amonía liasa (PAL), chalcona sintasa, chalcona isomerasa, y chalcona-flavonona isomerasa-1 que se encontraron tanto en interacciones compatibles como incompatibles. Se sabe que estas enzimas modulan la respuesta de defensa de las plantas frente a patógenos invasores e insectos. Se encontró que algunos de los genes relacionados con el metabolismo secundario, por ejemplo, escualeno epoxidasa eran específicos del genotipo susceptible mientras pterocarpano reductasa y la proteína de la familia de unión a oxisterol eran específicos del resistente. Otros miembros de esta clase son ácido cafeico O-metiltransferasa II, isoflavona 3'-hidroxilasa, escualeno monooxigenasa 2, trans-cinamato 4-monooxigenasa e dihidroflavonol reductasa. Los estudios previos han mostrado que las plantas de arroz transgénicas que sobreexpresan dihidroflavonol reductasa pueden proporcionar tolerancia a estreses bióticos y abióticos. La ácido cafeico O-metiltransferasa cataliza una etapa clave en la biosíntesis de lignina, proporcionando de esta manera protección frente al ataque de patógenos.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el metabolismo secundario. Estas EST son CaF1_JIE_02_G_09 SEQ ID NO:131, CaF1_JIE_02_H_11 SEQ ID NO:142, CaF1_JIE_03_F_02 SEQ ID NO:184, CaF1_JIE_04_A_02 SEQ ID NO:211, CaF1_JIE_04_D_09 SEQ ID NO:247, CaF1_JIE_07_D_08 SEQ ID NO:472, CaF1_JIE_07_H_08 SEQ ID NO:512, CaF1_JIE_08_A_05 SEQ ID NO:519, CaF1_JIE_08_C_04 SEQ ID NO:538, CaF1_JIE_08_E_03 SEQ ID NO:558, CaF1_JIE_08_H_03 SEQ ID NO:589, CaF1_JIE_09_A_06 SEQ ID NO:603, CaF1_JIE_09_B_01 SEQ ID NO:608, CaF1_JIE_14_D_02 SEQ ID NO:1545, CaF1_JIE_16_E_04 SEQ ID NO:1685, CaF1_JIE_17_A_09 SEQ ID NO:1722, CaF1_JIE_18_H_07 SEQ ID NO:1833, CaF1_JIE_21_C_08 SEQ ID NO:2013, CaF1_JIE_21_E_02 SEQ ID NO:2027, CaF1_JIE_22_D_03 SEQ ID NO:2092, CaF1_JIE_22_G_07 SEQ ID NO:2126, CaF1_JIE_22_H_05 SEQ ID NO:2134, CaF1_JIE_24_C_03 SEQ ID NO:2242, CaF1_JIE_24_E_06 SEQ ID NO:2261, CaF1_JIE_27_B_02 SEQ ID NO:2419, CaF1_JIE_27_C_08 SEQ ID NO:2430, CaF1_JIE_28_C_08 SEQ ID NO:2485, CaF1_JIE_28_D_04 SEQ ID NO:2490, CaF1_JIE_30_C_11 SEQ ID NO:2585, CaF1_JIE_32_B_08 SEQ ID NO:2683, CaF1_JIE_32_G_04 SEQ ID NO:2711, CaF1_JIE_34_A_01 SEQ ID NO:2781, CaF1_JIE_34_C_09 SEQ ID NO:2800, CaF1_JIE_35_A_02 SEQ ID NO:2839, CaF1_JIE_35_D_11 SEQ ID NO:2869, CaF1_JIE_37_E_02 SEQ ID NO:2971, CaF1_JIE_37_E_07 SEQ ID NO:2974, CaF1_JIE_37_F_08 SEQ ID NO:2979, CaF1_JIE_37_G_08 SEQ ID NO:2986, CaF1_JIE_37_H_04 SEQ ID NO:2991, CaF1_JIE_37_H_09 SEQ ID NO:2996, CaF1_JIE_38_C_11 SEQ ID NO:3019, CaF1_JIE_39_B_02 SEQ ID NO:3062, CaF1_JIE_39_B_06 SEQ ID NO:3065, CaF1_JIE_39_C_05 SEQ ID NO:3072, CaF1_JIE_39_E_02 SEQ ID NO:3084, CaF1_JIE_42_B_01 SEQ ID NO:3249, CaF1_JIE_42_G_06 SEQ ID NO:3268, CaF1_JIE_42_G_07 SEQ ID NO:3269, CaF1_JIE_42_G_09 SEQ ID NO:3270, CaF1_WIE_01_D_10 SEQ ID NO:663, CaF1_WIE_01_G_11 SEQ ID NO:690, CaF1_WIE_01_H_05 SEQ ID NO:694, CaF1_WIE_01_H_11 SEQ ID NO:699, CaF1_WIE_02_G_06 SEQ ID NO:749, CaF1_WIE_03_B_01 SEQ ID NO:770, CaF1_WIE_05_A_02 SEQ ID NO:888, CaF1_WIE_05_C_08 SEQ ID NO:910, CaF1_WIE_05_E_08 SEQ ID NO:928, CaF1_WIE_06_C_11 SEQ ID NO:979, CaF1_WIE_06_D_03 SEQ ID NO:981, CaF1_WIE_06_E_01 SEQ ID NO:987, CaF1_WIE_07_G_08 SEQ ID NO:1090, CaF1_WIE_08_C_02 SEQ ID NO:1120, CaF1_WIE_08_C_04 SEQ ID NO:1122, CaF1_WIE_08_D_01 SEQ ID NO:1129, CaF1_WIE_08_G_09 SEQ ID NO:1162, CaF1_WIE_09_B_02 SEQ ID NO:1183, CaF1_WIE_10_B_09 SEQ ID NO:1250, CaF1_WIE_10_E_03 SEQ ID NO:3273, CaF1_WIE_12_A_01 SEQ ID NO:3377, CaF1_WIE_13_F_01 SEQ ID NO:3497, CaF1_WIE_13_G_06 SEQ ID NO:3510, CaF1_WIE_14_F_06 SEQ ID NO:3548, CaF1_WIE_15_E_06 SEQ ID NO:3584, CaF1_WIE_15_E_07 SEQ ID NO:3585, CaF1_WIE_17_C_04 SEQ ID NO:3667, CaF1_WIE_17_C_05 SEQ ID NO:3668, CaF1_WIE_19_D_02 SEQ ID NO:3824, CaF1_WIE_23_E_04 SEQ ID NO:405, CaF1_WIE_24_A_03 SEQ ID NO:4088, CaF1_WIE_24_C_05 SEQ ID NO:4108, CaF1_WIE_24_C_10 SEQ ID NO:4111, CaF1_WIE_24_G_11 SEQ ID NO:4148, CaF1_WIE_27_B_04 SEQ ID NO:4312, CaF1_WIE_27_C_04 SEQ ID NO:4323, CaF1_WIE_27_D_09 SEQ ID NO:4335, CaF1_WIE_28_D_04 SEQ ID NO:4405, CaF1_WIE_28_F_03 SEQ ID NO:4421, CaF1_WIE_28_G_06 SEQ ID NO:4431,

5 CaF1_WIE_29_A_06 SEQ ID NO:4450, CaF1_WIE_29_B_10 SEQ ID NO:4465, CaF1_WIE_30_B_11 SEQ ID NO:4547, CaF1_WIE_30_E_01 SEQ ID NO:4566, CaF1_WIE_31_E_04 SEQ ID NO:4639, CaF1_WIE_31_F_07 SEQ ID NO:4650, CaF1_WIE_32_A_06 SEQ ID NO:4676, CaF1_WIE_33_A_10 SEQ ID NO:4752, CaF1_WIE_34_F_07 SEQ ID NO:4858, CaF1_WIE_35_E_09 SEQ ID NO:4924, CaF1_WIE_37_A_07 SEQ ID NO:5025, CaF1_WIE_37_E_03 SEQ ID NO:5050, CaF1_WIE_40_A_11 SEQ ID NO:5208, CaF1_WIE_40_F_05 SEQ ID NO:5247, CaF1_WIE_42_H_03 SEQ ID NO:5385, CaF1_WIE_43_D_11 SEQ ID NO:5418, CaF1_WIE_47_A_09 SEQ ID NO:5640, CaF1_WIE_48_B_07 SEQ ID NO:5720, CaF1_WIE_50_A_10 SEQ ID NO:5837, CaF1_WIE_51_D_05 SEQ ID NO:5928, CaF1_WIE_51_E_01 SEQ ID NO:5933, CaF1_WIE_51_G_01 SEQ ID NO:5947, CaF1_WIE_52_D_05 SEQ ID NO:5986, CaF1_WIE_52_E_09 SEQ ID NO:5998, CaF1_WIE_53_B_09 SEQ ID NO:6041, CaF1_WIE_53_C_04 SEQ ID NO:6045, CaF1_WIE_53_C_08 SEQ ID NO:6048 y CaF1_WIE_54_H_05 SEQ ID NO:6149.

Genes de respuesta de defensa y a estrés

15 El ataque de patógenos está acompañado frecuentemente por la acumulación de niveles elevados de transcritos de proteínas relacionadas con enfermedad, los genes PR. Las EST que codifican proteínas implicadas en respuestas a estrés y de defensa representan el 3,18% del conjunto total de unigen. Los candidatos más dominantes entre los genes de respuesta de defensa fueron la proteína de respuesta de resistencia a enfermedad DRRG49C y PR10. Otros genes identificados incluyen los que codifican quitinasa, proteínas de transferencia de lípidos no específicas, taumatina y proteína relacionada con patogénesis. La implicación de estas proteínas en las respuestas de defensa de plantas es muy conocida. Una de las observaciones importantes fue que DRRG49C, taumatina y la proteína relacionada con patogénesis se expresaron sólo durante la interacción incompatible que puede dar lugar a una tolerancia incrementada al ataque de patógenos. También, encontramos la presencia de EST que codifican proteínas como dirigent e inducida por horquilla 1 en el genotipo resistente, insinuando su papel en la respuesta a estrés por patógeno. La proteína dirigent se ha mostrado recientemente que está implicada en la lignificación y por lo tanto confiere resistencia a enfermedad. Muchas otras proteínas inducidas por estrés, por ejemplo, extensina, 20 proteínas de estrés universal, acuaporina, anexina, proteína que responde a la aclimatación al frío BudCAR4 y metalotionina también se identificaron como más abundantes en el genotipo resistente lo que implica su implicación en la respuesta a estrés por patógenos además de su papel clave en estreses abióticos y otros.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con el mecanismo de defensa. Estas EST son CaF1_JIE_04_E_08 SEQ ID NO:255, CaF1_JIE_04_H_01 SEQ ID NO:280, CaF1_JIE_07_G_06 SEQ ID NO:499, CaF1_JIE_08_B_06 SEQ ID NO:530, CaF1_JIE_08_E_06 SEQ ID NO:561, CaF1_JIE_10_B_06 SEQ ID NO:1328, CaF1_JIE_11_A_03 SEQ ID NO:1362, CaF1_JIE_11_F_04 SEQ ID NO:1403, CaF1_JIE_13_F_10 SEQ ID NO:1507, CaF1_JIE_13_G_07 SEQ ID NO:1511, CaF1_JIE_13_G_08 SEQ ID NO:1512, CaF1_JIE_14_B_03 SEQ ID NO:1529, CaF1_JIE_14_F_01 SEQ ID NO:1559, CaF1_JIE_15_D_02 SEQ ID NO:1609, CaF1_JIE_20_A_02 SEQ ID NO:1905, CaF1_JIE_21_A_06 SEQ ID NO:1991, CaF1_JIE_21_D_04 SEQ ID NO:2020, CaF1_JIE_22_A_08 SEQ ID NO:2068, CaF1_JIE_22_B_09 SEQ ID NO:2080, CaF1_JIE_22_C_05 SEQ ID NO:2084, CaF1_JIE_24_E_09 SEQ ID NO:2264, CaF1_JIE_25_A_11 SEQ ID NO:2296, CaF1_JIE_25_B_07 SEQ ID NO:2302, CaF1_JIE_25_D_06 SEQ ID NO:2313, CaF1_JIE_25_D_07 SEQ ID NO:2314, CaF1_JIE_27_A_06 SEQ ID NO:2415, CaF1_JIE_27_B_11 SEQ ID NO:2424, CaF1_JIE_27_C_01 SEQ ID NO:2425, CaF1_JIE_35_C_10 SEQ ID NO:2859, CaF1_JIE_38_B_11 SEQ ID NO:3015, CaF1_JIE_42_A_11 SEQ ID NO:3248, CaF1_JIE_42_G_02 SEQ ID NO:3266, CaF1_WIE_01_A_02 SEQ ID NO:631, CaF1_WIE_01_C_08 SEQ ID NO:652, CaF1_WIE_01_F_11 SEQ ID NO:680, CaF1_WIE_02_B_07 SEQ ID NO:711, CaF1_WIE_02_F_09 SEQ ID NO:746, CaF1_WIE_04_B_01 SEQ ID NO:826, CaF1_WIE_04_B_10 SEQ ID NO:834, CaF1_WIE_04_D_02 SEQ ID NO:844, CaF1_WIE_04_D_08 SEQ ID NO:849, CaF1_WIE_04_H_02 SEQ ID NO:880, CaF1_WIE_05_D_03 SEQ ID NO:914, CaF1_WIE_05_D_09 SEQ ID NO:919, CaF1_WIE_05_E_07 SEQ ID NO:927, CaF1_WIE_05_F_03 SEQ ID NO:933, CaF1_WIE_05_G_08 SEQ ID NO:945, CaF1_WIE_05_G_09 SEQ ID NO:946, CaF1_WIE_05_H_11 SEQ ID NO:956, CaF1_WIE_06_C_03 SEQ ID NO:974, CaF1_WIE_06_C_09 SEQ ID NO:978, CaF1_WIE_06_D_08 SEQ ID NO:984, CaF1_WIE_06_F_02 SEQ ID NO:998, CaF1_WIE_08_D_09 SEQ ID NO:1137, CaF1_WIE_08_G_06 SEQ ID NO:1159, CaF1_WIE_09_D_09 SEQ ID NO:1196, CaF1_WIE_09_F_05 SEQ ID NO:1213, CaF1_WIE_10_A_10 SEQ ID NO:1242, CaF1_WIE_10_B_04 SEQ ID NO:1246, CaF1_WIE_10_E_07 SEQ ID NO:3277, CaF1_WIE_10_F_09 SEQ ID NO:3287, CaF1_WIE_10_G_07 SEQ ID NO:3294, CaF1_WIE_11_B_04 SEQ ID NO:3319, CaF1_WIE_11_D_02 SEQ ID NO:3336, CaF1_WIE_11_D_03 SEQ ID NO:3337, CaF1_WIE_11_G_08 SEQ ID NO:3365, CaF1_WIE_13_E_03 SEQ ID NO:3489, CaF1_WIE_14_D_07 SEQ ID NO:3538, CaF1_WIE_14_D_08 SEQ ID NO:3539, CaF1_WIE_14_H_01 SEQ ID NO:3558, CaF1_WIE_15_E_05 SEQ ID NO:3583, CaF1_WIE_17_E_10 SEQ ID NO:3693, CaF1_WIE_17_G_01 SEQ ID NO:3705, CaF1_WIE_18_A_03 SEQ ID NO:3724, CaF1_WIE_18_C_11 SEQ ID NO:3750, CaF1_WIE_18_E_04 SEQ ID NO:3762, CaF1_WIE_18_G_11 SEQ ID NO:3788, CaF1_WIE_19_A_09 SEQ ID NO:3803, CaF1_WIE_19_C_05 SEQ ID NO:3817, CaF1_WIE_19_C_06 SEQ ID NO:3818, CaF1_WIE_19_C_07 SEQ ID NO:3819, CaF1_WIE_19_F_06 SEQ ID NO:3841, CaF1_WIE_21_G_10 SEQ ID NO:3968, CaF1_WIE_22_B_02 SEQ ID NO:3985, CaF1_WIE_22_B_06 SEQ ID NO:3986, CaF1_WIE_22_C_01 SEQ ID NO:3991, CaF1_WIE_22_C_05 SEQ ID NO:3995, CaF1_WIE_22_E_10 SEQ ID NO:4007, CaF1_WIE_23_C_05 SEQ ID NO:4044, CaF1_WIE_23_E_02 SEQ ID NO:4054, CaF1_WIE_23_E_10 SEQ ID NO:4060, CaF1_WIE_24_B_03 SEQ ID NO:4098, CaF1_WIE_24_B_11 SEQ ID NO:4104, CaF1_WIE_24_C_01 SEQ ID NO:4105, CaF1_WIE_24_E_03 SEQ ID NO:4122, CaF1_WIE_25_B_09

5 SEQ ID NO:4175, CaF1_WIE_26_D_07 SEQ ID NO:4257, CaF1_WIE_26_D_08 SEQ ID NO:4258, CaF1_WIE_27_A_08 SEQ ID NO:4306, CaF1_WIE_27_A_09 SEQ ID NO:4307, CaF1_WIE_27_B_02 SEQ ID NO:4310, CaF1_WIE_27_D_11 SEQ ID NO:4337, CaF1_WIE_27_F_03 SEQ ID NO:4350, CaF1_WIE_27_H_08 SEQ ID NO:4376, CaF1_WIE_28_D_08 SEQ ID NO:4409, CaF1_WIE_28_E_05 SEQ ID NO:4415, CaF1_WIE_28_G_02 SEQ ID NO:4427, CaF1_WIE_29_B_01 SEQ ID NO:4456, CaF1_WIE_29_C_06 SEQ ID NO:4472, CaF1_WIE_29_D_02 SEQ ID NO:4479, CaF1_WIE_29_E_11 SEQ ID NO:4498, CaF1_WIE_30_A_09 SEQ ID NO:4537, CaF1_WIE_30_B_06 SEQ ID NO:4542, CaF1_WIE_30_C_01 SEQ ID NO:4548, CaF1_WIE_30_D_01 SEQ ID NO:4556, CaF1_WIE_30_F_01 SEQ ID NO:4575, CaF1_WIE_30_H_10 SEQ ID NO:4600, CaF1_WIE_31_A_10 SEQ ID NO:4609, CaF1_WIE_31_B_08 SEQ ID NO:4616, CaF1_WIE_31_D_09 SEQ ID NO:4633, CaF1_WIE_32_A_05 SEQ ID NO:4675, CaF1_WIE_32_C_11 SEQ ID NO:4700, CaF1_WIE_32_D_09 SEQ ID NO:4705, CaF1_WIE_32_F_06 SEQ ID NO:4718, CaF1_WIE_32_G_11 SEQ ID NO:4734, CaF1_WIE_33_F_04 SEQ ID NO:4788, CaF1_WIE_33_F_11 SEQ ID NO:4794, CaF1_WIE_33_G_05 SEQ ID NO:4798, CaF1_WIE_34_H_10 SEQ ID NO:4875, CaF1_WIE_36_A_11 SEQ ID NO:4964, CaF1_WIE_36_B_08 SEQ ID NO:4968, CaF1_WIE_36_C_10 SEQ ID NO:4977, CaF1_WIE_36_D_04 SEQ ID NO:4981, CaF1_WIE_37_E_02 SEQ ID NO:5049, CaF1_WIE_38_A_06 SEQ ID NO:5088, CaF1_WIE_38_A_09 SEQ ID NO:5091, CaF1_WIE_38_F_05 SEQ ID NO:5124, CaF1_WIE_39_A_05 SEQ ID NO:5147, CaF1_WIE_40_B_06 SEQ ID NO:5213, CaF1_WIE_40_E_11 SEQ ID NO:5243, CaF1_WIE_41_E_01 SEQ ID NO:5306, CaF1_WIE_42_F_06 SEQ ID NO:5375, CaF1_WIE_42_F_07 SEQ ID NO:5376, CaF1_WIE_43_A_10 SEQ ID NO:5395, CaF1_WIE_43_B_08 SEQ ID NO:5403, CaF1_WIE_43_B_11 SEQ ID NO:5405, CaF1_WIE_43_F_01 SEQ ID NO:5425, CaF1_WIE_43_G_11 SEQ ID NO:5438, CaF1_WIE_44_B_11 SEQ ID NO:5453, CaF1_WIE_45_B_04 SEQ ID NO:5514, CaF1_WIE_45_C_04 SEQ ID NO:5521, CaF1_WIE_45_D_07 SEQ ID NO:5527, CaF1_WIE_46_B_11 SEQ ID NO:5580, CaF1_WIE_46_E_06 SEQ ID NO:5602, CaF1_WIE_47_A_04 SEQ ID NO:5635, CaF1_WIE_47_C_07 SEQ ID NO:5655, CaF1_WIE_48_F_10 SEQ ID NO:5757, CaF1_WIE_48_F_11 SEQ ID NO:5758, CaF1_WIE_48_H_03 SEQ ID NO:5768, CaF1_WIE_48_H_09 SEQ ID NO:5772, CaF1_WIE_49_A_04 SEQ ID NO:5777, CaF1_WIE_49_A_05 SEQ ID NO:5778, CaF1_WIE_49_C_01 SEQ ID NO:5793, CaF1_WIE_49_H_09 SEQ ID NO:5832, CaF1_WIE_50_B_02 SEQ ID NO:5839, CaF1_WIE_50_B_06 SEQ ID NO:5843, CaF1_WIE_51_C_01 SEQ ID NO:5914, CaF1_WIE_51_C_08 SEQ ID NO:5921, CaF1_WIE_51_E_05 SEQ ID NO:5935, CaF1_WIE_52_B_08 SEQ ID NO:5972, CaF1_WIE_52_D_09 SEQ ID NO:5989, CaF1_WIE_53_B_05 SEQ ID NO:6038, CaF1_WIE_53_B_08 SEQ ID NO:6040, CaF1_WIE_53_D_02 SEQ ID NO:6051, CaF1_WIE_53_D_09 SEQ ID NO:6056, CaF1_WIE_54_F_09 SEQ ID NO:6136, CaF1_WIE_55_G_04 SEQ ID NO:6202, CaF1_WIE_56_A_08 SEQ ID NO:6224, CaF1_WIE_56_G_10 SEQ ID NO:6263.

La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con estrés. Estas EST son CaF1_JIE_01_D_10 SEQ ID NO:40, CaF1_JIE_02_C_06 SEQ ID NO:93, CaF1_JIE_02_F_01 SEQ ID NO:115, CaF1_JIE_02_F_06 SEQ ID NO:120, CaF1_JIE_02_G_06 SEQ ID NO:128, CaF1_JIE_07_A_08 SEQ ID NO:441, CaF1_JIE_07_C_10 SEQ ID NO:463, CaF1_JIE_07_H_06 SEQ ID NO:510, CaF1_JIE_08_A_01 SEQ ID NO:516, CaF1_JIE_08_G_05 SEQ ID NO:580, CaF1_JIE_08_H_11 SEQ ID NO:597, CaF1_JIE_14_F_05 SEQ ID NO:1563, CaF1_JIE_15_B_01 SEQ ID NO:1591, CaF1_JIE_18_D_08 SEQ ID NO:1798, CaF1_JIE_25_B_02 SEQ ID NO:2298, CaF1_JIE_25_G_06 SEQ ID NO:2336, CaF1_JIE_27_B_08 SEQ ID NO:2422, CaF1_JIE_29_G_09 SEQ ID NO:2559, CaF1_JIE_29_G_10 SEQ ID NO:2560, CaF1_JIE_31_A_03 SEQ ID NO:2617, CaF1_JIE_31_F_10 SEQ ID NO:2656, CaF1_JIE_31_G_07 SEQ ID NO:2663, CaF1_JIE_31_H_10 SEQ ID NO:2675, CaF1_JIE_32_C_02 SEQ ID NO:2686, CaF1_JIE_32_C_11 SEQ ID NO:2690, CaF1_JIE_32_F_05 SEQ ID NO:2706, CaF1_JIE_36_F_10 SEQ ID NO:2934, CaF1_JIE_36_G_10 SEQ ID NO:2938, CaF1_JIE_39_B_10 SEQ ID NO:3066, CaF1_JIE_39_D_10 SEQ ID NO:3082, CaF1_JIE_39_F_11 SEQ ID NO:3096, CaF1_JIE_41_B_05 SEQ ID NO:3189, CaF1_JIE_41_D_05 SEQ ID NO:3205, CaF1_JIE_41_F_06 SEQ ID NO:3223, CaF1_WIE_01_E_01 SEQ ID NO:665, CaF1_WIE_01_E_03 SEQ ID NO:666, CaF1_WIE_02_A_11 SEQ ID NO:706, CaF1_WIE_02_D_10 SEQ ID NO:727, CaF1_WIE_02_F_08 SEQ ID NO:745, CaF1_WIE_02_H_03 SEQ ID NO:756, CaF1_WIE_02_H_05 SEQ ID NO:757, CaF1_WIE_03_A_01 SEQ ID NO:763, CaF1_WIE_03_C_11 SEQ ID NO:782, CaF1_WIE_04_A_05 SEQ ID NO:821, CaF1_WIE_04_A_11 SEQ ID NO:825, CaF1_WIE_04_E_04 SEQ ID NO:855, CaF1_WIE_04_E_08 SEQ ID NO:859, CaF1_WIE_05_D_08 SEQ ID NO:918, CaF1_WIE_06_A_08 SEQ ID NO:963, CaF1_WIE_06_E_09 SEQ ID NO:994, CaF1_WIE_06_F_04 SEQ ID NO:999, CaF1_WIE_07_A_09 SEQ ID NO:1032, CaF1_WIE_07_C_10 SEQ ID NO:1052, CaF1_WIE_07_H_11 SEQ ID NO:1102, CaF1_WIE_08_B_08 SEQ ID NO:1115, CaF1_WIE_09_A_09 SEQ ID NO:1180, CaF1_WIE_09_C_06 SEQ ID NO:1188, CaF1_WIE_09_E_05 SEQ ID NO:1202, CaF1_WIE_10_C_09 SEQ ID NO:1259, CaF1_WIE_11_B_06 SEQ ID NO:3321, CaF1_WIE_11_H_07 SEQ ID NO:3373, CaF1_WIE_12_B_05 SEQ ID NO:3388, CaF1_WIE_14_C_08 SEQ ID NO:3533, CaF1_WIE_15_D_06 SEQ ID NO:3581, CaF1_WIE_16_E_09 SEQ ID NO:3624, CaF1_WIE_16_F_10 SEQ ID NO:3628, CaF1_WIE_17_B_06 SEQ ID NO:3660, CaF1_WIE_17_C_10 SEQ ID NO:3673, CaF1_WIE_19_A_03 SEQ ID NO:3798, CaF1_WIE_19_D_04 SEQ ID NO:3826, CaF1_WIE_19_F_08 SEQ ID NO:3843, CaF1_WIE_19_G_10 SEQ ID NO:3851, CaF1_WIE_20_D_11 SEQ ID NO:3883, CaF1_WIE_20_E_11 SEQ ID NO:3892, CaF1_WIE_20_G_07 SEQ ID NO:3904, CaF1_WIE_20_G_09 SEQ ID NO:3905, CaF1_WIE_21_C_04 SEQ ID NO:3934, CaF1_WIE_22_A_01 SEQ ID NO:3978, CaF1_WIE_22_B_07 SEQ ID NO:3987, CaF1_WIE_22_C_08 SEQ ID NO:3997, CaF1_WIE_22_H_06 SEQ ID NO:4024, CaF1_WIE_23_A_02 SEQ ID NO:4029, CaF1_WIE_25_B_02 SEQ ID NO:4169, CaF1_WIE_25_H_09 SEQ ID NO:4221, CaF1_WIE_26_E_09 SEQ ID NO:4270, CaF1_WIE_27_A_07 SEQ ID NO:4305, CaF1_WIE_27_B_07 SEQ ID NO:4315, CaF1_WIE_27_H_06

5 SEQ ID NO:4374, CaF1_WIE_28_B_09 SEQ ID NO:4392, CaF1_WIE_28_E_01 SEQ ID NO:4412, CaF1_WIE_28_H_09 SEQ ID NO:4443, CaF1_WIE_29_H_05 SEQ ID NO:4524, CaF1_WIE_30_D_04 SEQ ID NO:4559, CaF1_WIE_31_F_02 SEQ ID NO:4646, CaF1_WIE_31_G_06 SEQ ID NO:4658, CaF1_WIE_33_B_05 SEQ ID NO:4756, CaF1_WIE_34_E_09 SEQ ID NO:4850, CaF1_WIE_35_B_08 SEQ ID NO:4894, CaF1_WIE_35_B_11 SEQ ID NO:4896, CaF1_WIE_35_F_02 SEQ ID NO:4928, CaF1_WIE_36_H_06 SEQ ID NO:5016, CaF1_WIE_37_D_07 SEQ ID NO:5047, CaF1_WIE_37_G_08 SEQ ID NO:5070, CaF1_WIE_37_H_09 SEQ ID NO:5081, CaF1_WIE_40_A_03 SEQ ID NO:5200, CaF1_WIE_40_A_06 SEQ ID NO:5203, CaF1_WIE_40_B_09 SEQ ID NO:5215, CaF1_WIE_40_E_09 SEQ ID NO:5241, CaF1_WIE_40_H_06 SEQ ID NO:5267, CaF1_WIE_41_H_03 SEQ ID NO:5332, CaF1_WIE_42_D_01 SEQ ID NO:5361, CaF1_WIE_42_D_02 SEQ ID NO:5362, CaF1_WIE_42_G_01 SEQ ID NO:5379, CaF1_WIE_45_F_02 SEQ ID NO:5538, CaF1_WIE_46_B_05 SEQ ID NO:5575, CaF1_WIE_46_B_10 SEQ ID NO:5579, CaF1_WIE_46_C_06 SEQ ID NO:5585, CaF1_WIE_47_C_08 SEQ ID NO:5656, CaF1_WIE_47_D_03 SEQ ID NO:5662, CaF1_WIE_47_H_04 SEQ ID NO:5704, CaF1_WIE_48_B_05 SEQ ID NO:5719, CaF1_WIE_48_F_09 SEQ ID NO:5756, CaF1_WIE_50_B_09 SEQ ID NO:5846, CaF1_WIE_50_D_09 SEQ ID NO:5863, CaF1_WIE_51_D_06 SEQ ID NO:5929, CaF1_WIE_51_D_10 SEQ ID NO:5931, CaF1_WIE_52_B_07 SEQ ID NO:5971, CaF1_WIE_52_D_11 SEQ ID NO:5991, CaF1_WIE_52_H_08 SEQ ID NO:6024, CaF1_WIE_54_A_08 SEQ ID NO:6087, CaF1_WIE_54_C_01 SEQ ID NO:6099, CaF1_WIE_54_H_08 SEQ ID NO:6151, CaF1_WIE_54_H_11 SEQ ID NO:6153, CaF1_WIE_55_B_05 SEQ ID NO:6161, CaF1_WIE_55_B_06 SEQ ID NO:6162 y CaF1_WIE_56_D_03 SEQ ID NO:6239.

20 La presente descripción también proporciona EST derivadas de garbanzo, en las que las EST están relacionadas con fotosíntesis. Estas EST son CaF1_JIE_01_C_10 SEQ ID NO:30, CaF1_JIE_02_B_10 SEQ ID NO:86, CaF1_JIE_02_D_10 SEQ ID NO:106, CaF1_JIE_06_B_08 SEQ ID NO:385, CaF1_JIE_07_D_10 SEQ ID NO:474, CaF1_JIE_09_C_05 SEQ ID NO: 622, CaF1_JIE_09_F_03 SEQ ID NO:1294, CaF1_JIE_10_H_02 SEQ ID NO:1353, CaF1_JIE_14_A_09 SEQ ID NO:1526, CaF1_JIE_14_H_04 SEQ ID NO:1576, CaF1_JIE_15_H_10 SEQ ID NO:1648, CaF1_JIE_18_F_07 SEQ ID NO:1816, CaF1_JIE_20_D_11 SEQ ID NO:1944, CaF1_JIE_20_E_06 SEQ ID NO:1950, CaF1_JIE_22_A_01 SEQ ID NO:2061, CaF1_JIE_22_B_01 SEQ ID NO:2072, CaF1_JIE_22_G_05 SEQ ID NO:2124, CaF1_JIE_23_C_02 SEQ ID NO:2163, CaF1_JIE_23_C_04 SEQ ID NO:2165, CaF1_JIE_23_C_05 SEQ ID NO:2166, CaF1_JIE_26_C_03 SEQ ID NO:2365, CaF1_JIE_29_E_03 SEQ ID NO:2547, CaF1_JIE_33_D_02 SEQ ID NO:2750, CaF1_JIE_34_G_06 SEQ ID NO:2824, CaF1_JIE_34_G_07 SEQ ID NO:2825, CaF1_JIE_34_G_08 SEQ ID NO:2826, CaF1_JIE_34_H_09 SEQ ID NO:2835, CaF1_JIE_34_H_10 SEQ ID NO:2836, CaF1_JIE_35_B_11 SEQ ID NO:2853, CaF1_JIE_36_B_01 SEQ ID NO:2898, CaF1_JIE_36_E_11 SEQ ID NO:2928, CaF1_JIE_37_D_09 SEQ ID NO:2970, CaF1_JIE_37_G_10 SEQ ID NO:2988, CaF1_JIE_39_A_03 SEQ ID NO:3057, CaF1_JIE_40_G_09 SEQ ID NO:3168, CaF1_WIE_01_H_03 SEQ ID NO:692, CaF1_WIE_05_B_07 SEQ ID NO:900, CaF1_WIE_05_F_02 SEQ ID NO:932, CaF1_WIE_22_H_02 SEQ ID NO:4020, CaF1_WIE_25_B_08 SEQ ID NO:4174, CaF1_WIE_26_B_08 SEQ ID NO:4238, CaF1_WIE_32_E_08 SEQ ID NO:4713, CaF1_WIE_33_G_08 SEQ ID NO:4801, CaF1_WIE_37_A_01 SEQ ID NO:5022, CaF1_WIE_41_E_02 SEQ ID NO:5307, CaF1_WIE_44_B_03 SEQ ID NO:5448, CaF1_WIE_44_C_03 SEQ ID NO:5456, CaF1_WIE_47_B_03 SEQ ID NO:5644, CaF1_WIE_47_G_07 SEQ ID NO:5696, CaF1_WIE_47_H_05 SEQ ID NO:5705, CaF1_WIE_49_A_09 SEQ ID NO:5781, CaF1_WIE_49_E_07 SEQ ID NO:5810, CaF1_WIE_51_D_11 SEQ ID NO:5932, CaF1_WIE_51_F_02 SEQ ID NO:5942, CaF1_WIE_52_A_02 SEQ ID NO:5957, CaF1_WIE_52_H_11 SEQ ID NO:6026, CaF1_WIE_53_A_08 SEQ ID NO:6032 y CaF1_WIE_54_B_02 SEQ ID NO:6090.

Comparación con otras bases de datos de genomas de leguminosas y EST

45 Para investigar cuántas de las EST de garbanzo de este estudio son altamente ortólogas con otras EST de leguminosas, realizamos un análisis comparativo de nuestro conjunto de datos de CaEST con conjuntos de datos disponibles públicamente que comprenden EST de *Arachis hypogea*, *Cajanus cajan*, *Pisum sativum*, *Robinia pseudoacacia*, *Lotus japonicus*, *Medicago trunculata*, *Glycine max* y *Phaseolus vulgaris*. Excepto *Phaseolus* y *Robinia*, estas bases de datos fueron inclusivas de EST de raíz. El número más alto de EST ortólogas comunes se encontró que estaba presente en *Pisum sativum*, aunque *Cajanus cajan* y *Arachis hypogea* también mostraron una mayor similitud con CaUnigenes. El porcentaje de EST de garbanzo que concordaban con *Pisum sativum* fue 88,8% y 79,43% a una identidad de secuencia de ADN de $\geq 80\%$ y 90%, respectivamente. Un total de 87,6% y 83% de EST de *Cajanus cajan* y 85,89% y 55,54% de EST de *Arachis* fueron comunes con CaUnigenes. El garbanzo y *Pisum* muestran afiliaciones filogenéticas cercanas, siendo ambos representativos de galegoide, un grupo de leguminosas de estación fría y se refleja en sus similitudes de secuencia. Sin embargo, la alta similitud de secuencia con *Arachis* y *Cajanus* fue una sorpresa ya que estas leguminosas son parientes filogenéticamente distantes de Cicer y pertenecen a leguminosas de estación tropical (faseoloide). El análisis comparativo de las EST de garbanzo con las de *Glycine max* mostró homología de 80,32% y 31,54%. De forma interesante, *Medicago* y *Lotus* mostraron una tendencia más divergente con sólo 58,02% y 30,50% y 43,31% y 14,25% de EST, respectivamente, que tienen equivalente en el conjunto CaUnigen. Un estudio filogenético reciente basado en análisis de probabilidad penalizado indicó que *Medicago*, *Lotus* y *Cicer* están más cerca y se encuentran en el mismo clado galegoide, sin embargo, la divergencia/diferencia en el patrón de las EST puede atribuirse al hecho de que la expresión génica está moldeada por el entorno celular además del nicho ecológico del organismo correspondiente. Las EST de garbanzo mostraron una menor homología con *Robinia pseudoacacia* y fue aproximadamente 12% y 3,92% a una identidad de secuencia de ADN de 80% y 90%, respectivamente. Esto puede deberse al hecho de que *Robinia* es un árbol perenne

mientras el garbanzo es una hierba anual. El análisis comparativo detallado de las EST se muestra en la Tabla 3. Así, el estudio actual documenta una conservación sustancial, así como divergencia genómica entre cultivos de leguminosas y en el futuro puede facilitar el análisis cruzado de especies de la función génica.

Identificación de transcritos específicos de garbanzo y enriquecimiento de CaEST

5 En un intento de identificar las firmas de transcrito específicas de genotipo en garbanzo, realizamos un análisis blast de CaUnigen. Del total de 2.013 CaUnigenes, aproximadamente 18,22% secuencias que pertenecen al grupo NSH representaron secuencias específicas de garbanzo potenciales. Para verificar si estas secuencias eran de hecho específicas de garbanzo, se usó TBLASTX para compararlas con la base de datos EST_others. Cerca del 64% de la clase NSH del conjunto de datos de CaEST no mostró ninguna concordancia significativa confirmando de esta manera que estas EST representan secuencias únicas de garbanzo. Así, este conjunto de datos representa 234 nuevas EST específicas de garbanzo que nunca se habían reportado previamente. Además, comparamos nuestros CaUnigenes con las EST de garbanzo reportadas previamente. TBLASTX con un punto de corte de valor e de 10^{-10} mostró que 532 unigenes del conjunto CaUnigene de 2.013 tenían una concordancia significativa, mientras los 1.483 restantes no tenían ningún equivalente. Así, 73,67% de nuestros CaUnigenes representan nuevos genes de garbanzo todavía no identificados. La secuenciación de longitud completa de estos unigenes y sus análisis de expresión puede proporcionar una percepción adicional en las funciones específicas de especie de estos genes.

El transcriptoma que responde al estrés comparativo revela genes canónicos y no canónicos

Aunque varios estudios han catalogado los genes que responden al estrés frente a diferentes condiciones medioambientales en varias clases funcionales la genómica comparativa de transcriptoma que responde al estrés todavía no se ha hecho. Para investigar la biología comparativa de transcriptoma que responde al estrés a nivel de organismo con los datos actualmente disponibles, comparamos los CaUnigenes con genes que responden al estrés previamente reportados de otros organismos. Clasificamos los genes que se sabe que están implicados en respuestas a múltiples estreses como ubicuos, mientras los que se encontró que eran específicos de infección por *Fusarium* se clasificaron como canónicos. Todos los demás genes, que nunca se han implicado en ningún estrés, se designaron como no canónicos (Figura 1). Encontramos que aproximadamente 516 genes son ubicuos, lo que sugiere similitudes amplias en respuestas a estrés a lo largo de la mayor parte de los organismos y confirma que las rutas de intercomunicación juegan un papel en diferentes clases de estreses. Sin embargo, se encontró que sólo 41 genes eran canónicos todos los cuales mostraron una superposición con la clase ubicua. Un número significativamente grande de genes (649) se encontró que eran no canónicos. Esta diferencia en el patrón del transcriptoma de la raíz de respuesta inmune puede atribuirse al hecho de que la expresión génica en un organismo se moldea por el entorno celular y los factores epigenéticos. El metabolismo fue una de las clases funcionales más abundantes en los tres grupos, lo que sugiere que cualquier respuesta a estrés resulta en la alteración de las rutas metabólicas de un organismo. Unas pocas de las enzimas metabólicas que se encontró que se expresaban en respuesta a múltiples estreses representadas en la categoría ubicua incluyeron S-adenosilmetionina descarboxilasa, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, metionina sulfóxido reductasa, y cobre amino oxidasa. Los genes relacionados con la señalización celular también formaron una clase importante que incluyó quinasa semejante a receptor con repeticiones ricas en leucina y factor de puente múltiple entre otras. Como se esperaba, muchos genes canónicos pertenecieron a la clase funcional de redox celular, defensa y señalización incluyendo peroxidasa catiónica 2, quitinasa y proteína 14-3-3. Nuestros datos sobre transcriptoma de respuesta inmune y el análisis comparativo de éste proporcionan evidencia de diversidad molecular frente a características comunes en el perfil de expresión génica a nivel de organismo. El análisis comparativo reveló pocos genes canónicos, varios genes ubicuos a lo largo de diferentes estreses mientras la mayor parte de los genes se encontró que eran no canónicos. Una observación interesante fue que aparte del metabolismo, la mayor parte de los genes no canónicos pertenecieron a las clases funcionales de traducción, modificaciones posteriores a la traducción, transcripción, y señalización, lo que sugiere la ocurrencia de nuevas rutas de respuesta inmune aún no descubiertas. Este estudio proporciona así un catálogo completo de genes de respuesta inmune no canónicos o podría sugerir su especificidad de especie con una nueva percepción en su identidad y función.

Identificación de familias de genes

Para asignar CaUnigenes de este estudio a posibles familias de genes, usamos agrupación por ligamiento. Los cóntigos y singletones individuales se combinaron en un único conjunto de datos que se comparó consigo mismo usando TBLASTX con un punto de corte de valor e de $1E-15$. Las secuencias con informes BLAST superpuestos se asignaron a una familia de genes putativa. En total, identificamos 209 familias de genes que variaron en tamaño de 2 a 29 miembros. Este análisis proporciona percepciones en las tres áreas siguientes: en primer lugar, identifica los genes que probablemente hibriden de forma cruzada durante las hibridaciones en micromatriz. En segundo lugar, ayuda en la asignación de una posible función para los genes que no tuvieron una homología significativa con proteínas conocidas o pertenecieron a clase de UF pero se agruparon con proteínas de función conocida. Por ejemplo, la familia de genes 23 tenía dos miembros de los cuales uno mostró homología con la proteína CAP mientras el otro mostró homología con proteína hipotética. De forma similar, uno de los miembros de la familia de genes 32 mostró homología con cinamoil-CoA reductasa, mientras los otros pertenecieron a la clase NSH. También, un miembro de la familia de genes 124 mostró homología con fosfoesterasa pero el otro no tuvo ninguna concordancia significativa. Por lo tanto, sobre la base de la familia a la que dichos genes bien de NSH o UF

5 pertenecen, puede asignarse una función posible a ellos y además verificada comparando el alineamiento de
 secuencia de estas secuencias con miembros representativos de la familia de genes conocida. En tercer lugar, la
 identificación de familias de genes proporciona una base para descubrir y entender la base racional biológica de
 novedad funcional y reparto después de duplicaciones génicas. Hacia esto, fue interesante observar que en varios
 10 casos la distribución de diferentes miembros de la misma familia de genes varió entre los genotipos. Por ejemplo, se
 encontró que la histona desacetilasa HDT1 (cóntigo12) era específica del genotipo susceptible mientras el otro
 miembro de la misma familia de genes representado por el cóntigo713 estaba presente sólo en el genotipo
 resistente. Éste también fue el caso con la metionina sulfóxido reductasa A, en la que el cóntigo152 y cóntigo555
 eran específicos de los genotipos susceptible y resistente respectivamente. La proteína de la familia esterasa
 putativa (CaF1_JIE_28_D_10, CaF1_WIE_32_H_04) y desaturasa putativa (cóntigo454, CaF1_JIE_22_A_09)
 15 también mostraron la misma tendencia. Esto abre una nueva área para descubrir si la presencia de diferentes
 miembros de familias de genes da lugar a respuesta específica de genotipo frente a una clase particular de estrés.

Análisis de SNP específicos de genotipo del garbanzo

15 Los SNP entre genotipos/haplotipos una vez descubiertos se usan extensamente para muchas aplicaciones, por
 ejemplo, la generación de mapas genéticos muy densos, para construir los genotipos específicos requeridos para
 estudios genéticos cuantitativos, para aumentar la comprensión de la organización y función de genomas y abordar
 cuestiones fundamentales referidas a la evolución. Los SNP también pueden usarse para estudios de desequilibrio y
 asociación de ligamiento a lo largo del genoma que asignan genes a funciones o rasgos específicos. Además, los
 20 SNP asociados a transcrito pueden usarse para desarrollar ensayos específicos de alelo para el examen de la
 variación reguladora *cis* en una especie. En el presente estudio, se identificaron SNP entre JG-62, un genotipo
 susceptible y WR-315, un genotipo resistente de garbanzo para marchitamiento vascular. Un total de 279 cóntigos
 (28,67% del total) contenían al menos una secuencia de ambos genotipos y se explotaron para SNP potenciales.
 Identificamos 262 SNP que se clasificaron además en SNP de alta y baja calidad dependiendo del número de
 25 secuencias de cada genotipo que muestra el mismo cambio de base. Los SNP de alta calidad se confirmaron por
 dos o más secuencias de cada genotipo que muestran el mismo cambio de base, mientras los SNP de baja calidad
 se confirmaron por una secuencia de un genotipo y al menos dos del otro. Así, identificamos 136 SNP de alta
 calidad y 126 de baja calidad. En el presente análisis, sólo se tomaron en consideración las mutaciones de pares de
 bases y entre éstas las transiciones (73,3%) fueron más comunes que las transversiones (26,7%). En las
 30 transiciones, la aparición de cambios de base tanto adenina a guanina como citosina a timidina se encontró que eran
 casi iguales. Los máximos números de SNP estaban presentes en cóntigos que comprendían EST altamente
 abundantes. Por ejemplo, el cóntigo 722 representa el cóntigo más abundante y los máximos números de SNP
 estaban presentes en este cóntigo. De forma similar, el cóntigo 680 y 575 también tenían un alto porcentaje de SNP
 y fueron también muy abundantes al considerarse el número total de EST en esos cóntigos.

Redes de genes de respuesta inmune en el transcriptoma de raíz de garbanzo por análisis de micromatriz

35 Para estudiar el remodelado transcripcional en la respuesta inmune durante el marchitamiento vascular, hemos
 desarrollado una micromatriz de ADNc usando clones CaEST de bibliotecas de ADNc sustractivas de genotipos
 susceptible y resistente. Se usó muestra de tejido de raíz de WR-315 (genotipo resistente) y JG62 (susceptible)
 recogidas a cinco puntos de tiempo después de la infección por *Fusarium* para evaluar el perfil de expresión durante
 la fase temprana de interacción incompatible. Usamos el marcaje indirecto de los ADNc según el protocolo TSA que
 40 incorpora dUTP marcado fluoresceína y biotina en el ADNc naciente del ARN diana en lugar de nucleótidos
 modificados Cy3 y Cy5 ya que se sabe que niega cualquier sesgo del tinte durante el experimento de micromatriz. El
 nivel de transcrito para cada ADNc se calculó como la intensidad promedio de cuatro puntos de datos de puntos en
 duplicado de dos portaobjetos replicados. Usamos un punto de corte de veces de 2,5 y el ensayo de la *t* de Student
 con clasificación de $P \leq 0,05$ con correcciones de ensayo múltiples de tasa de falsos descubrimientos (FDR) para
 45 identificar genes expresados diferencialmente. Se encontró que un total de 1.276 unigenes expresados
 diferencialmente estaban asociados con la ruta de señalización temprana, de los cuales 459 se indujeron y 565 se
 reprimieron durante la interacción compatible mientras 375 se indujeron y 464 se reprimieron durante la interacción
 incompatible. Además, para identificar cinéticas de co-expresión entre los genes expresados diferencialmente,
 agrupamos el conjunto de datos del transcriptoma que agrupaba los genes en cuatro agrupaciones sobre la base de
 50 su cambio de veces positivo y negativo durante las interacciones compatibles e incompatibles. La agrupación 1
 representa genes regulados al alza (Figura 2A-B) mientras la agrupación 2 comprendía genes reprimidos (Figura 3A-
 B) a varios puntos de tiempo después de la infección por *Fusarium* tanto en interacciones compatibles como
 incompatibles, respectivamente. En total 22 clases funcionales se representan en estas dos agrupaciones pero se
 diferencian en el tipo de los genes representativos y su abundancia relativa.

55 Entre el total de genes diferenciales, 413 se encontraron exclusivamente en interacción compatible mientras 221
 estaban presentes sólo en la interacción incompatible y 642 fueron diferenciales para ambas (Figura 4A). En el caso
 de los perfiles de genes inducidos, 168 pertenecieron exclusivamente a la interacción compatible y 84 a la
 interacción incompatible mientras 291 estaban regulados al alza y representados en ambas (Figura 4B). Los
 patrones de expresión regulada a la baja o reprimido tenían 295 mapeados exclusivamente en interacción
 60 compatible y 194 exclusivamente en interacción incompatible mientras 270 genes mostraron regulación a la baja en
 ambas (Figura 4C). Además, la respuesta transcripcional a sensibilidad inmune de genes implicados en procesos
 biológicos importantes y funciones moleculares mostraron diferentes dinámicas en las agrupaciones de genes

reprimida frente a inducida. Las agrupaciones de genes reprimidos están enriquecidas para genes que afectan la traducción, estructura y biogénesis de ribosoma y destino de proteínas, mientras la agrupación inducida está dominada por genes que codifican proteínas hipotéticas, grupos de metabolismo y misceláneo. Los genes implicados en la categoría de metabolismo GO están sobre-representados en todas las agrupaciones pero la magnitud de la sobre-representación es mayor para la agrupación 1 que para la agrupación 2. UF, NSH y categorías misceláneas formaron de forma importante un grupo principal de genes sobrerrepresentados.

Los genes implicados en la traducción, estructura y biogénesis de ribosomas forman la mayor categoría funcional en la agrupación 1 tanto para interacciones compatibles como incompatibles que incluye genes para proteínas ribosomales, factores de inicio de la traducción y elongación. Varios genes codifican proteínas implicadas en modificaciones posteriores a la traducción y recambio de proteínas, por ejemplo, la proteína semejante a proteína disulfuro isomerasa y ubiquitina también se agruparon. Muchos de estos genes se han implicado previamente en estreses específicos en diferentes organismos (Gray 2002). En el conjunto de genes reprimidos otras clases funcionales principales incluyeron metabolismo, proteínas hipotéticas, estado de redox celular y transcripción. Éstas incluyen genes que codifican citocromo P450, tioredoxina, superóxido dismutasa y glutatión-S-transferasa que se sabe que juegan un papel crítico en el estrés de plantas. Muchos genes del metabolismo de carbohidratos como GAPDH, trifosfato isomerasa y precursor de malato deshidrogenasa estaban regulados a la baja. Los reportes previos mostraron expresión alterada de GAPDH durante estrés de plantas, sin embargo la función específica de esta enzima durante el estrés no se conoce. Además, también se sabe que GAPDH actúa como un componente esencial del complejo activador transcripcional que regula la expresión de histonas. También hemos observado genes relacionados con defensa como quitinasa 1 y PR10, y genes del metabolismo secundario como chalcona sintasa e isoflavona-3'-hidroxilasa que están reprimidos durante la infección por *Fusarium*. Estos genes se sabe que están asociados con el estrés por patógenos.

Por el contrario, los genes que codifican proteínas hipotéticas, metabolismo y grupos misceláneos forman la clase funcional dominante en agrupaciones reprimidas. El conjunto inducido de genes metabólicos incluye algunos genes del metabolismo de carbohidratos como FBF, aldolasa y familia de quinasa de carbohidrato de tipo pfkB del metabolismo de carbohidratos y oleato desaturasa implicada en el metabolismo de lípidos. El papel de estas enzimas en la inmunidad de plantas no se ha definido todavía y por lo tanto tendrá mucho interés en el futuro. Los genes relacionados con modificaciones posteriores a la traducción y recambio de proteínas como cistatina, Sec61beta y proteína de extensión ubiquitina también se indujeron de forma consistente con la noción de que las proteínas dañadas o parcialmente desnaturalizadas necesitan degradarse para evitar la acumulación de agregados de proteína. Muchos de dichos genes están implicados en la regulación del metabolismo de proteínas en respuesta a estrés. Otros genes inducidos por estrés celular incluyen genes de la ruta clásica de fenilpropanoide como chalcona reductasa y chalcona-flavonona isomerasa 1. El papel desempeñado por estos genes durante la defensa celular es un fenómeno muy conocido. Muchos genes relacionados con la señalización como serina/treonina proteína quinasa mostraron inducción durante la interacción incompatible mientras represión en la compatible. La proteína quinasa transmembrana con repeticiones ricas en leucina por nombrar una se indujo en ambos casos avalando su papel en la defensa de las plantas.

Encontramos que aproximadamente 315 genes expresados diferencialmente son ubicuos, lo que sugiere similitudes amplias en respuestas a estrés a lo largo de la mayor parte de los organismos y confirmando que las rutas de intercomunicación juegan un papel en diferentes clases de estreses. Sin embargo, se encontró que sólo 25 genes expresados diferencialmente eran canónicos todos los cuales mostraron una superposición con la clase ubicua. Se encontró que un número significativamente grande de genes expresados diferencialmente (382) eran no canónicos (Figura 5). De forma interesante, más de treinta y cinco por ciento de las agrupaciones de genes reprimidas e inducidas representaron NSH y proteínas hipotéticas en la interacción compatible mientras en el caso de la interacción incompatible aproximadamente el treinta y ocho por ciento de la agrupación inducida perteneció a las clases mencionadas anteriormente mientras la agrupación reprimida abrió el camino para aproximadamente el treinta por ciento de las proteínas hipotéticas y NSH. Estas proteínas no tienen papeles celulares conocidos y así pueden anotarse ahora como estando implicadas en la ruta de respuesta inmune.

Análisis de la expresión de EST seleccionadas por análisis de transferencia de ARN

Para confirmar la expresión diferencial de genes de respuesta inmune, cuatro genes altamente abundantes en nuestro conjunto de datos *CaEST* que muestran expresión génica inducida se seleccionaron para análisis de transferencia de ARN. Los resultados mostraron que las cuatro EST tenían una fuerte inducción en tejido de raíz a las 24 h después de la infección y el nivel de expresión génica corroboró el de los análisis de micromatriz. Los genes que codifican alcohol deshidrogenasa y quinasa de tipo pfkB, mostraron una expresión muy alta lo que sugiere que las rutas metabólicas de carbohidratos se alteran en respuesta a marchitamiento vascular. Un gen que responde a resistencia a enfermedad para la señalización de la defensa también mostró regulación al alza lo que indica su papel en la respuesta inmune. El nivel de expresión de un gen fúngico FOXY, que se encontró que era altamente abundante tanto en los genotipos susceptible como resistente fue consistente con el de los datos de micromatriz. Este gen codifica un elemento transponible y su inducción durante la interacción planta-patógeno tiene interés para el estudio de dichos elementos y su implicación en inmunidad frente a enfermedad.

Nuestro estudio está dirigido hacia la creación de un recurso génico (base de datos CaEST) de garbanzo para el análisis sistemático de firmas de genes de respuestas a estímulos específicos de órgano, dependientes de genotipo que proporcionarían una plataforma inicial para el descubrimiento de genes y genómica funcional de esta tercera leguminosa alimenticia más importante, pero sub-estudiada. Esta estrategia puede usarse en el futuro para diseccionar rutas bioquímicas diversas y superpuestas englobadas por los transcritos identificados a nivel individual. Esto también será importante en los esfuerzos a largo plazo para desarrollar modelos cuantitativos fiables para procesos de plantas. La eficiencia de la secuenciación de EST de respuesta inmune específica de genotipo sustractiva se refleja especialmente en el número de nuevos genes identificados en este estudio, que todavía tiene un tamaño moderado. Se reporta que un total de 2.013 unigenes caracterizan los transcritos de respuesta inmune de esta importante leguminosa, de los cuales aproximadamente el doce por ciento representan nuevos genes de garbanzo hasta ahora no descubiertos. Nuestro descubrimiento de un gran número de SNP en secuencias expresadas permitirá el mapeo genético de muchos genes subyacentes a características agrícolas en el garbanzo. Aunque WR315 y JG62 pueden ser presumiblemente bastante similares entre sí a nivel de la secuencia de nucleótidos, encontramos que son igualmente diferentes entre sí en su perfil de transcrito. Además, el uso de esta estrategia en nuestro presente estudio dio lugar a la identificación de 807 genes de función desconocida ahora asignados a la ruta de la respuesta inmune con una localización específica de órgano, abre una nueva área de investigación en la que la combinación de nuestro conjunto de datos CaUnigene con otras bases de datos puede usarse para dibujar las relaciones a nivel de sistema. Los resultados identificaron un conjunto de 649 genes que responden al estrés no canónicos que nunca se han asociado con respuesta inmune. Además, la búsqueda de homología de los datos de la secuencia de aminoácidos derivada del presente estudio proporciona una indicación firme de un número de componentes de la raíz a los que todavía debe adscribirse una función. Las EST identificadas en este estudio representan el mayor intento hasta ahora para definir el transcriptoma del garbanzo. El análisis de micromatriz de transcriptoma de respuesta inmune descubre nuevos reguladores de la interacción huésped-patógeno. La asignación de un papel funcional a cada uno de estos nuevos reguladores inmunes será retardador y muy valioso con el fin de conocer la significancia fisiológica de la inmunidad de las plantas. No obstante, la información de secuencia del garbanzo no está disponible y el número de EST anotadas funcionalmente es bajo en este momento, al incrementarse este número, se demostrará que los datos del transcriptoma son incluso más útiles. La identificación reciente de genes de respuesta inmune de otros organismos dará lugar eventualmente al desarrollo de un transcriptoma de respuesta inmune específico de especie comparativo en el que este informe es uno de los primeros intentos. Éste es un intento inicial en la dirección que se expandirá durante estudios transcriptómicos futuros de los procesos de las plantas. Nuestros esfuerzos futuros se centrarán en enriquecer la base de datos CaUnigene e incrementar el número de genes analizados de ésta, con el objetivo de dibujar un mapa funcional completo de transcriptoma que responde a estímulos específicos de órgano a nivel individual. Además, nos centraremos en la identificación de las dinámicas asociadas con el transcriptoma específico de órgano hacia rutas celulares metabólicas y reguladoras en diferentes condiciones fisiológicas que moldean la diversidad del fenoma.

Clonación molecular del polinucleótido *IRF817* (SEQ ID NO: 6273) que codifica una proteína bHLH (SEQ ID NO: 6274)

En nuestro estudio, desarrollamos un transcriptoma diferencial de garbanzo bajo estrés por patógenos. Varios transcritos se identificaron y clonaron. Elegimos uno de estos transcritos, designado como IRF817 (factor de respuesta inmune 817), que estaba representado como un singletón, para este estudio. La clonación de longitud completa de IRF817 usando 3' y 5' RACE basado en CaEST (CaF1_WIE_34_F_11 SEQ ID NO:4861) rindió un clon de ADNc de 0,750 kb. El análisis de la secuencia reveló que el tamaño real del transcrito de IRF817 es 750 pb con una región codificadora de 687 pb, 24 pb de 5'-UTR y 39 pb de 3'-UTR, respectivamente. El ADNc codifica una proteína que consiste en 228 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 25.193 kDa que tiene un punto isoelectrónico de 6,63. Codifica una proteína con un dominio de unión a ADN en hélice bucle hélice básico (bHLH) (aminoácido 70 a 119) y un dominio de caspasa (aminoácidos 94 a 169). El análisis *in silico* con la herramienta ExPASy ProtParam reveló la presencia de aproximadamente 14% de aminoácidos básicos, 14% ácidos y 76% neutros. La búsqueda de homología frente a la base de datos GenBank mostró que *CaGene1* tenía una homología máxima con una proteína no nombrada de *Vitis vinifera* y el factor de la transcripción bHLH de *Nicotiana*. También mostró homología con una proteína desconocida de *Medicago* y la proteína de unión a ADN resistente IAA-Leu de *Arabidopsis*. Este gen se destaca como un nuevo candidato para estudiar la respuesta inmune ya que no tiene ningún homólogo caracterizado funcionalmente cercano en una búsqueda BLAST-P. También observamos que esta secuencia de factor de la transcripción bHLH tenía un dominio de caspasa lo que le hace única. Además, su expresión puede utilizarse para generar una nueva variedad de cultivo que pueda auto-estimularse para subir el listón frente a una combinación de respuestas a estrés medioambiental.

***IRF817* es un gen de bajo número de copias en el garbanzo**

Para descubrir la organización genómica de IRF817, se realizó PCR genómica usando cebadores específicos de gen y ADN genómico de garbanzo como molde que mostró la amplificación de un amplicón de 687 pb que concordaba exactamente con el tamaño del ADNc (Figura 6A) indicando que IRF817 es un gen sin intrones en el garbanzo. Los informes previos sobre la presencia y distribución de intrones en la familia de proteínas bHLH han mostrado que 80% de los miembros de esta familia en *Arabidopsis* y arroz contienen intrones y la posición de los intrones está conservada aunque el número varía (Toledo-Ortiz et al., 2003; Li et al., 2006). Sin embargo, en este estudio la ausencia de intrón sugiere que esta familia de genes puede diferenciarse en organización genómica en las

leguminosas. Además, realizamos el southern genómico con el fin de descubrir el número de copias de IRF817. El ADN genómico extraído de garbanzo se digirió con diferentes enzimas de restricción. La transferencia se hibridó con ORF marcado con 32P de fragmento IRF817. EcoRV y NcoI, que tienen un único sitio en la región de la sonda, produjeron tres bandas, mientras HindIII y NotI que no tienen sitios de restricción produjeron una banda doble y única, respectivamente (Figura 6B). Este resultado indica que el gen que codifica IRF817 está presente en más de una copia pero en bajo número de copias en el garbanzo.

IRF 817, un regulador de la transcripción temprano independiente de genotipo

Además, investigamos la expresión de IRF817 tanto en interacciones compatibles como incompatibles por análisis de transferencia northern usando ARN total extraído de JG-62 y WR-315, respectivamente. Los resultados mostraron que el gen IRF817 tenía alguna expresión basal en ambos genotipos indicando su requerimiento en los procesos de desarrollo normal. Sin embargo, se encontró que estaba altamente regulado en estrés por patógeno después de infección por *Fusarium*. La expresión de IRF817 alcanzó un nivel máximo en 6 h posteriores a la infección permaneciendo hasta 48 h y disminuyendo sobre el día 5. Sin embargo, la expresión no mostró ninguna diferencia importante entre los genotipos susceptible y resistente (Figura 7A-B). Conjuntamente, estos datos sugieren que IRF817 tiene un papel crucial y universal para desempeñar en la fase temprana de la inmunidad.

IRF718, un gen inducible por múltiples hormonas y de expresión específica de órgano

Para examinar la especificidad de órgano del transcrito de *IRF817*, comparamos inicialmente la abundancia del transcrito en diferentes órganos (raíces, tallos, y folíolos) por análisis Northern (Figura 8). Los resultados mostraron que el gen se expresaba en los tres tipos de tejidos, sin embargo, la expresión fue máxima en raíz seguido de tallo y hoja. Así, IRF817 juega un papel regulador frente al marchitamiento vascular en múltiples órganos. Al ser la raíz el primer órgano que entra en contacto con el patógeno, mostró la expresión más alta, sugiriendo de nuevo la regulación temprana de la ruta inmune por IRF817 con el fin de evaluar el patógeno en el inicio muy temprano de la enfermedad.

A continuación, investigamos si la expresión de *IRF817* se ve afectada por cualesquiera hormonas u otra molécula, tal como NO por PCR cuantitativa en tiempo real (Figura 9). *IRF817* se indujo en respuesta a SA sobre 1 h, alcanzando rápidamente su máximo a las 6 horas después del tratamiento. El nivel de transcrito permaneció al mismo nivel de incremento hasta 6 h pero se incrementó un poco a las 12 h en el caso de tratamiento con JA. La expresión de IRF817 también se incrementó durante puntos de tiempo progresivos después del tratamiento con ACC con un nivel máximo a las 12 horas. El brasinoesteroide y NO también indujeron su expresión. En el caso de NO, hubo una regulación a la baja inicial de *IRF817* seguido de regulación al alza a las 3 y 6 horas y regulación a la baja a las 12 horas, indicando un patrón rítmico de expresión. Además, se encontró que el gen estaba regulado a la baja en respuesta a ABA excepto un ligero incremento a las 12 h. Estos resultados sugieren que *IRF817* se expresa en respuesta a casi todas las hormonas que se sabe que juegan un papel en la respuesta a estrés en plantas y rutas de desarrollo, confirmando además de esta manera su papel en la inmunidad y desarrollo de las plantas.

Regulación de IRF817 por localización sub-celular

Se piensa que un papel funcional distinto de una proteína puede ser conferido por su localización subcelular. El análisis *in silico* identificó una clara secuencia de direccionamiento nuclear localizada N-terminal en IRF817. Para confirmar adicionalmente, se llevó a cabo un experimento de co-localización en el que se encontró que IRF817-GFP se acumulaba predominantemente en el núcleo mientras GFP solo se acumulaba a lo largo de la célula (Figura 10). La localización nuclear de *IRF817* confirmó estudios previos que mostraron que las proteínas bHLH están presentes en el núcleo donde se unen a ADN y llevan a cabo sus funciones reguladoras.

La sobre-expresión del polinucleótido *IRF817* (SEQ ID NO: 6273) que codifica una proteína bHLH (SEQ ID NO: 6274) presenta inmunidad en plantas

Para investigar el papel funcional de IRF817 en plantas, expresamos constitutivamente un polinucleótido *IRF817* funcional (SEQ ID NO: 6273) que codifica una proteína bHLH (SEQ ID NO: 6274) en una variedad susceptible (JG-62) de garbanzo. Como el garbanzo es altamente recalcitrante para la regeneración y transformación genética *in vitro*, establecimos una transformación usando *Agrobacterium rhizogenes* para determinar la función del gen *in planta*. Las plántulas de garbanzo transgénicas que sobre-expresaban IRF817 se crecieron junto con las plántulas de garbanzo control no transgénicas susceptibles en condiciones idénticas. Sorprendentemente, las plántulas transgénicas que sobre-expresaban el polinucleótido *IRF817* (SEQ ID NO: 6273) presentaron una tolerancia incrementada de hasta 99% al patógeno fúngico *Fusarium* en términos de marchitamiento de las plántulas comparado con las plántulas control no transgénicas susceptibles. Inesperadamente, se observó que las plántulas de garbanzo transgénicas muestran una inmunidad mejorada frente al patógeno fúngico sobre las plántulas de garbanzo resistentes no transgénicas. Entonces, observamos microscópicamente el desarrollo, penetración y colonización del patógeno fúngico en raíz de garbanzo transgénico y control. La microscopía confocal reveló un incremento gradual de la colonización y proliferación fúngica dando lugar a una red de hifas extensa sobre y dentro de las raíces control (Figura 11A), mientras el crecimiento invasivo inter- e intracelular del patógeno se redujo significativamente en las raíces transgénicas (Figura 11C) en comparación con el control, indicando que IRF817 media resistencia fúngica en plantas. Se encontró que el hongo entraba a través de la región del cuello en los ovillos

vasculares de la raíz matando las células en la epidermis de la raíz. Se sabe que el tejido muerto se caracteriza por la ausencia de núcleos de planta intactos. Para confirmar que la colonización fúngica está asociada con células muertas, hicimos una tinción doble de segmentos de raíz de las plantas pulsadas con hongo con DAPI para núcleos de planta intactos y aglutinina de germen de trigo-Rojo Texas (WGA-Rojo Texas) para quitina fúngica. Encontramos una asociación espacial cercana de fuerte colonización fúngica (Figura 11A) y células negativas para DAPI (Figura 11B) en las raíces control, sugiriendo adicionalmente el desarrollo masivo del hongo en la raíz da lugar a la muerte de las células huésped en el control. Por el contrario, las raíces transgénicas con IRF817 mostraron células positivas para DAPI (Figura 11D) asociadas con muy pocas hifas (Figura 11C), mostrando de esta manera inmunidad frente al patógeno fúngico. Corroborando el estudio de viabilidad celular, el ensayo TUNEL reveló que, aunque en el inicio temprano de la enfermedad, se encontraron células apoptóticas en la superficie de la raíz tanto control como IRF817 al progresar la enfermedad las raíces transgénicas con IRF817 no mostraron ninguna célula apoptótica mientras las raíces control mostraron un incremento continuo en núcleos positivos para TUNEL. Conjuntamente, nuestros datos sugieren que la expresión de IRF817 da lugar a una inmunidad incrementada frente a estrés por patógeno en plantas.

15 IRF817 expresado en bacterias y levaduras fue funcionalmente activo

Para investigar adicionalmente si IRF817 interacciona específicamente con el ADN y tiene capacidad de transactivación, lo clonamos en vectores de E. coli y levadura, designados como GST-IRF817 y Gal4-IRF817 (Figura 12-13). Se encontró que las proteínas de fusión sobre-expresadas de IRF817 eran funcionalmente activas.

Una realización de la presente invención proporciona un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, en el que el polinucleótido es responsable de conferir inmunidad en la planta frente a patógeno fúngico.

La presente descripción proporciona los polinucleótidos que incluyen moléculas de ADN específicamente moléculas de ADN EST o un fragmento de éstas. Los fragmentos pueden comprender oligonucleótidos más pequeños que tienen de aproximadamente 15 a aproximadamente 250 residuos de nucleótidos, y más preferiblemente, aproximadamente 15 a aproximadamente 30 residuos de nucleótidos.

La presente descripción también proporciona los polinucleótidos que incluyen moléculas de ADN específicamente moléculas de ADN EST o un fragmento de éstas que son moléculas marcadoras.

La presente descripción también proporciona etiqueta de secuencia expresada derivada de garbanzo.

Las EST descritas en la presente descripción se clasifican en varias clases funcionales tales como control del ciclo celular y división celular; estado redox celular; transporte celular /transporte de iones inorgánicos y metabolismo; citoesqueleto; mecanismo de defensa; desarrollo/almacenamiento/latencia y senescencia; producción y conversión de energía; respuesta a hormonas; traducción, estructura y biogénesis de ribosomas; transcripción; estrés; señalización; metabolismo secundario; procesamiento y modificación del ARN; replicación, recombinación y reparación del ADN; modificación posterior a la traducción; recambio de proteínas y chaperonas; fotosíntesis; proteínas de unión a nucleótidos y metabolismo.

La presente descripción proporciona un polinucleótido de etiqueta de secuencia expresada que tiene la secuencia de nucleótidos seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 6272.

Una realización de la presente invención proporciona una secuencia de nucleótidos aislada como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274.

Otra realización de la presente invención proporciona un vector recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, en el que la secuencia de nucleótidos está unida de forma operativa a un promotor.

Otra realización más de la presente invención proporciona una célula huésped recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, en el que la célula huésped es E. coli, Agrobacterium o levadura.

Aún otra realización de la presente invención proporciona un método para mejorar la inmunidad frente a patógeno fúngico en plantas, comprendiendo dicho método transformar una célula de planta con un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, seleccionar la célula de planta transformada y regenerar la célula de planta transformada en una planta transgénica que muestra inmunidad mejorada frente al patógeno fúngico.

Una realización más de la presente invención proporciona un método para mejorar la inmunidad frente a *Fusarium* en plantas, comprendiendo dicho método transformar una célula de planta con un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, seleccionar la célula de planta transformada y regenerar la célula de planta transformada en una planta transgénica que muestra inmunidad mejorada frente a *Fusarium*.

Otra realización más de la presente invención proporciona el método para mejorar la inmunidad frente a patógeno fúngico en plantas, comprendiendo dicho método transformar una célula de planta con un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, seleccionar la célula de planta transformada y regenerar la célula de planta transformada en una planta transgénica que muestra inmunidad mejorada frente al patógeno fúngico, en el que la planta es monocotiledónea o dicotiledónea.

Otra realización más de la presente invención proporciona el método para mejorar la inmunidad frente a patógeno fúngico en plantas, comprendiendo dicho método transformar una célula de planta con un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, seleccionar la célula de planta transformada y regenerar la célula de planta transformada en una planta transgénica que muestra inmunidad mejorada frente al patógeno fúngico, en el que la planta se selecciona de un grupo que consiste en tabaco, patata dulce, mandioca, remolacha, *Arabidopsis*, especies de brassica, tomate, berenjena, pimiento, chili, banana, mango, vid, papaya, girasol, algodón, maní, guisante, soja, garbanzo, guandú, medicago, lotus, arroz, maíz, trigo, centeno, cebada, avena, sorgo, nueces, aguacate, cúrcuma, azafrán, jengibre, ajo, cebolla, y nuez moscada.

En una realización de la presente invención se proporciona una planta transgénica que tiene inmunidad mejorada frente a un patógeno fúngico, en el que la planta transgénica sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273.

En otra realización de la presente invención se proporciona una semilla transgénica obtenida de la planta transgénica que sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273, en el que la semilla sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273.

En otra realización de la presente invención se proporciona una progenie transgénica obtenida de la semilla transgénica que sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273, en el que la progenie sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273.

Ejemplos

Debe entenderse que los ejemplos siguientes descritos en la presente memoria son sólo para propósitos ilustrativos y que varias modificaciones o cambios a la vista serán sugeridos por los expertos en la técnica y deben incluirse en el espíritu y ámbito de esta solicitud y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1

Material de planta e infección *in-planta*

Las semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* .L) mantenidas en el laboratorio se esterilizaron con 70% etanol y 0,1% HgCl₂ seguido de lavado repetido en agua autoclavada. Las plántulas se crecieron en condiciones estériles en tubos de vidrio que contenían medio basal MS solidificado con 0,6% agar en una habitación de crecimiento controlada medioambientalmente y mantenida a 25 ± 2°C, 50±5% humedad relativa bajo 16 h de fotoperiodo (270 μmol m⁻² s⁻¹ de intensidad de luz). *Fusarium oxysporum ciceri* race 1 se creció en caldo de dextrosa patata (PDB) a 28°C. Las plántulas de 3 semanas de edad se inocularon con una suspensión de esporas de *Fusarium* a una concentración de 1x10⁶/ml mientras las plantas control se trataron con agua. Las muestras control se refieren al ARN preparado a partir de plántulas no estresadas recogidas de diferente periodo de tiempo durante el curso del experimento. El tejido de raíz y cuello (unión de raíz y brote) se muestreó como material experimental, se recogió a las 6, 12, 24, 48 h y 5 días después de la inoculación y se almacenó a -80°C después de congelación rápida en nitrógeno líquido.

Ejemplo 2

Construcción de bibliotecas de ADNc

Se construyeron dos bibliotecas de ADNc sustractivas por supresión, una de un genotipo susceptible (JG-62) y la otra de uno resistente (WR-315) usando el kit de sustracción de ADNc PCR select (Clontech, CA). El ARN total se aisló por el método GITC de plántulas no infectadas (usadas como conductor) y plántulas infectadas con *Fusarium* (usadas como ensayador) recogidas a diferentes puntos de tiempo como se ha mencionado anteriormente y combinadas posteriormente. El ARN poli (A)⁺ del ARN total combinado se purificó usando Dyna lechos oligo (dT) (Dyna biotech, EEUU). Los ADNc se clonaron en el vector pGEMT (Promega, Wisconsin) y se transformaron en

células de *E. coli* (DH5 α). Los clones individuales se tomaron y crecieron en placas de pocillos profundos en medio 2X YT que contenía ampicilina (75 μ g/ml) a 37°C durante 16-18 horas con agitación a 250 rpm. Todos los clones individuales se almacenaron en placas de 96 pocillos de fondo en U mezclando 220 μ l de cultivo de crecimiento y 30 μ l de 80% glicerol para el almacenamiento a largo plazo.

5 Ejemplo 3

Secuenciación, procesamiento y ensamblaje de EST en c $\acute{o$ ntigos

Los ADN plasmídicos de ambas bibliotecas de ADNc sustractivas se aislaron y purificaron por el kit de unión Perfectprep Plasmid 96 Vac Direct según las instrucciones del fabricante (Eppendorf, Alemania). La calidad de los ADN plasmídicos se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 0,8% y los plásmidos de buena calidad que tienen la concentración de ADN apropiada y que carecen de cualquier mezcla se seleccionaron para secuenciación. Los plásmidos individuales se secuenciaron usando el kit de secuenciación BigDye terminator cycle (Perkin Elmer, Applied Biosystems) con cebadores de M13 directo e inverso para secuenciación de único paso 5' y 3' respectivamente, en secuenciador ABI PRISM 3700 (Applied Biosystems, CA). Las llamadas de base de secuencia se hicieron usando Phred con un punto de corte de calidad de 15. El filtrado de vectores se realizó usando el programa de concordancia cruzada (P. Green, <http://bozeman.mbt.Washington.edu/phrap.docs/phrap.html>) seguido de recorte de las secuencias de baja calidad. Las secuencias se inspeccionaron individualmente para quimeras, lecturas cortas, secuencias de *E.coli* y mitocondriales que se eliminaron posteriormente. Las EST procesadas con 100 bases o más largas se ensamblaron en c $\acute{o$ ntigos por el programa CAP3 usando parámetros estándar. El ensamblaje final de los c $\acute{o$ ntigos y singletones constituyó el índice genico del garbanzo.

20 Análisis Blast, anotación y comparación

Las secuencias de c $\acute{o$ ntigos y singletones de EST se anotaron para homología usando los algoritmos BLASTX y BLASTN frente a bases de datos no redundantes de proteínas y nucleótidos, respectivamente. Para BLASTX, se usó un punto de corte de valor e de 10^{-15} y las secuencias con un valor e por debajo de este punto de corte se sometieron a análisis BLASTN con un punto de corte de valor e de 10^{-20} . Además, se usó BLASTN para comparar las secuencias de garbanzo de este estudio con una base de datos de secuencias de leguminosas. Esta base de datos incluyó secuencias de *Lotus japonicus* (versión de índice genico 3.0); *Medicago truncatula* (versión de índice genico 8.0); *Glycine max* (versión de índice genico 12.0) y *Phaseolus vulgaris* (versión de índice genico 1.0) de The Institute for genomic Research (TIGR; Quackenbush et al, 2001) y *Arachis hypogea*, *Cajanus cajan*, *Pisum sativum* y *Robinia pseudoacacia* disponibles en el buscador de taxonomía de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html>). Los criterios siguientes se usaron en la comparación BLASTN independiente: (1) concordancia exacta de pb = 11; (2) valor $e \leq 10^{-5}$ y (3) identidad de ADN $\geq 80\%$ y 90% . Además, se usó TBLASTX (con un punto de corte de valor e de 1015) para comparar secuencias de garbanzo con la base de datos de GenBank EST_others para la identificación de secuencias específicas de garbanzo. Las secuencias se caracterizaron funcionalmente además en el contexto con el Gene Ontology (GO), Metacyc y COG. La comparación cruzada de especies de transcriptoma que responde al estrés se llevó a cabo buscando cada gen del conjunto unigen frente a todas las clases de entradas de genes que responden al estrés en la base de datos GO (<http://www.geneontology.org>). Los genes que tenían una concordancia en más de un grupo de genes que responden al estrés se clasificaron como ubicuos y aquellos que se sabía previamente que estaban implicados en estrés por *Fusarium* como se encuentra en el grupo que responde a hongos en la base de datos GO se clasificaron como canónicos. El resto de los genes que no mostraron ninguna concordancia en ninguno de los grupos de genes que responden al estrés en la base de datos GO se clasificaron como no canónicos.

Identificación de familias de genes usando agrupación de ligamiento único

Con el fin de identificar familias de genes, los c $\acute{o$ ntigos y singletones de garbanzo se combinaron en un único conjunto de datos. Se usó TBLASTX con un punto de corte de valor e de 10^{-15} para comparar el conjunto de datos frente a sí mismo. Las secuencias con al menos una secuencia en común en sus informes BLAST se combinaron en una familia de genes putativa.

Identificación de SNP

Para la identificación de SNP, la salida del archivo ace del programa CAP3 se usó como entrada en el programa de detección de SNP PolyBayes junto con los valores base asignados por Phred para cada una de las secuencias en c $\acute{o$ ntigos. Se usaron las secuencias de comandos Perl para analizar el archivo de salida de PolyBayes. El valor de corte para la probabilidad de SNP se puso en 0,99. Sólo se consideraron mutaciones de cambio de base con el fin de evitar cualquier discrepancia en los resultados debido a cualquier error en el alineamiento. Los SNP se dividieron además en alta calidad si un mínimo de dos secuencias de cada genotipo mostró el mismo cambio de base y baja calidad si un mínimo de dos secuencias de un genotipo y una del otro mostró el mismo cambio de base.

55

Ejemplo 4**Construcción de micromatriz de ADNc**

La configuración de la micromatriz de ADNc consistió en 6.072 sondas correspondientes a 1.749 unigenes. Los clones de ADNc tanto de bibliotecas susceptibles como resistentes se amplificaron realizando PCR de colonias (tampón 1X PCR, 1,5mM MgCl₂, 5 unidades de ADN polimerasa Taq (Applied biosystems, EEUU), 0,5mM dNTP (Fermentas, Canadá), 0,2µM cebador M13 (Sigma), 20ng de ADN molde) en formato de 96 pocillos. Los productos amplificados por PCR se purificaron usando el kit de limpieza de PCR Perfectprep según las instrucciones del fabricante (Eppendorf, Alemania). La calidad de los productos de PCR se evaluó en geles de agarosa 1,0%. Cinco microlitros de los productos de PCR se reorganizaron en las placas de impresión de 384 pocillos con 5µl de 100% DMSO y se imprimieron en duplicados en los portaobjetos recubiertos con poli-L-lisina (Sigma) usando un robot de alto rendimiento (Robot ESI, SDDC2) seguido de entrecruzamiento con UV. La adición y otros controles tales como DMSO, SSC, agua y genes de garbanzo clonados previamente como ARNr 18S y actina también se imprimieron en diferentes localizaciones en la micromatriz de garbanzo que se usaron como controles negativos y positivos.

Preparación de las muestras, marcaje e hibridación en micromatriz

Con el fin de descubrir la expresión génica diferencial durante interacciones huésped-patógeno compatibles e incompatibles, se recogieron muestras de tejido de raíz de plántulas JG62 y WR 315 infectadas con *Fusarium*, respectivamente después de diferentes puntos de tiempo después de la infección. Las plantas JG62 y WR 315 tratadas con agua se tomaron como control. Se hicieron dos replicados biológicos. El ARN total se aisló usando reactivo Trizol (Invitrogen, CA). Se usaron 6 µg de ARN total para la síntesis de ADNc usando marcaje TSA indirecto y kit de detección Micromax (PerkinElmer, Boston, MA). El ARN aislado de tejido no infectado e infectado se marcó con fluoresceína y biotina, respectivamente. El ADNc marcado se purificó usando columnas de microcon YM 100 (Millipore, Bedford, MA). Los ADNc marcados con fluoresceína y biotina purificados se mezclaron e hibridaron con los portaobjetos de la micromatriz en cámaras de hibridación (Corning, EEUU) a 65°C de baño de agua durante 16 horas. Los portaobjetos se lavaron durante 10 minutos en 0,5XSSC y 0,01%SDS, 10 minutos en 0,06XSSC y 0,01%SDS y durante 5 minutos en 0,6XSSC. Los portaobjetos se procesaron posteriormente para reemplazo de fluoresceína con Cy3 y biotina con Cy5 según las instrucciones del fabricante. El experimento se llevó a cabo en duplicado.

Escaneo y análisis de los datos

Las micromatrices se escanearon usando el escáner Scan array 5000 (PerkinElmer, MA) para producir dos imágenes tiff separadas. El descubrimiento y cuantificación de las manchas se hicieron usando software Scan array express (PerkinElmer, MA). Las manchas que aparecieron mal debido a una pobre morfología, alto fondo local y burbujas se descartaron y se excluyeron de los demás análisis. Las manchas con ambas intensidades de canal menores de 500 también se eliminaron por filtración. Las manchas se cuantificaron usando un método adaptivo. El software Avadis (PerkinElmer, MA) se usó para transformación de datos adicional que consistió en corrección por el fondo y normalización. Para la corrección por el fondo, se sustrajo la intensidad de fondo local de cada mancha de su valor de intensidad de primer plano. Debido a la no linealidad de los datos, se aplicó la normalización Lowess dependiente de intensidad. También se calculó la relación de la señal Cy5/Cy3. Aunque se realizó marcaje TSA indirecto para generar la sonda marcada fluorescente que obvia la necesidad de experimentos control de intercambio de tinte, inicialmente el experimento de intercambio de tinte se realizó para evaluar la reciprocidad de las señales génicas que mostraron una alta correlación entre los portaobjetos originales y de intercambio de tinte. Se realizó un ensayo de t de una clase a lo largo de los portaobjetos con corrección múltiple de FDR de Benjamini y Hochberg en los cuatro puntos de datos replicados para cada clon. El valor P de 0,05 y las veces de inducción de 2,5 se usó como un límite para diferencias estadísticamente significativas en la expresión. La lista de genes expresados diferencialmente resultante se volcó para agrupación jerárquica usando software MEV (TIGR). Usando el perfil de expresión diferencial y los metadatos de secuencia de las CaEST correspondientes, se desarrollaron modelos de redes reguladoras de genes de respuesta inmune.

Ejemplo 5**Transferencia de geles de ARN y PCR en tiempo real**

La validación de los resultados de micromatriz se hizo por análisis northern de unos pocos transcritos. Para esto, se extrajo ARN total de tejido de raíz de plantas tratadas con agua y pulsadas con *Fusarium* recogidas después de tratamiento usando reactivo trizol (Invitrogen). Se desnaturalizaron 20µg de ARN en 50% formamida, 17% formaldehído, y 10% tampón MOPS (200 mM MOPS, pH7,0, 50 mM acetato de sodio y 1 mM EDTA) a 65°C durante 5 min y se separó en gel de agarosa al 1,2% que contenía 22 M formaldehído en tampón MOPS, se transfirió a membrana GenScreen plus (Hybond-N, Amersham Biosciences) por transferencia capilar descendente en 20X SSC. Las sondas de ADN se prepararon por marcaje de cebador aleatorio y se purificaron pasando a través de una columna Sephadex G-50 como se describe en Sambrook et al., 2001. Después de 2 hrs de prehibridación en 0,3 M NaCl, 5% formamida, 10% sulfato de dextrano y 1% SDS, a 42°C, la sonda radiomarcada se añadió y la hibridación se llevó a cabo a la misma temperatura durante 16-18 h. Después de lavado astringente, la transferencia se expuso a película de rayos X (Kodak, Rochester, NY). Además, el resultado de micromatriz se validó realizando PCR

cuantitativa en tiempo real. Las muestras de ARN total de todos los puntos de tiempo de cada genotipo se cuantificaron usando un espectrofotómetro (Nanodrop Technologies). Se usaron 5µg de ARN total para la preparación de ADNc usando el kit de transcriptasa inversa (Applied Biosystems). El ADNc se diluyó 10 veces y se realizó qRT-PCR para cada clon de interés en triplicado usando Sybr Green Mastermix (Applied biosystems) y el sistema de detección de secuencia ABI 7500 según el protocolo del fabricante (Applied Biosystems). El método de cuantificación relativa ($\Delta\Delta$ -CT) se usó para evaluar la variación cuantitativa entre los replicados examinados. La amplificación de ARN 18S se usó como control endógeno para normalizar los conjuntos de datos.

Ejemplo 6

Clonación de *IRF817* de longitud completa

El clon de ADNc de longitud completa de *IRF817* que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 se obtuvo realizando 3' y 5' RACE usando cebadores específicos de gen y kits RACE (Invitrogen). Los cebadores específicos de gen se diseñaron a partir de la secuencia del clon EST (CaF1_WIE_34_F11). 3'RACE se realizó usando cebador específico de gen (IRF817-3'F, 5'-AAGAAGAGGGGTAGATCGGATTCAT -3' SEQ ID NO: 6283) y cebador UAP proporcionado con el kit 3'RACE. 5'RACE se realizó usando dos cebadores específicos de gen (IRF817-5'R1, 5'- ATTAGGCTCAATCTTGGAGCCTGGA -3' SEQ ID NO: 6284) y IRF817-5'R2, 5'- GTTGGTGTGAAATTGATGGCTCTCTGGGG -3 SEQ ID NO: 6285) y AP del kit. Los productos amplificados se corrieron en un gel de agarosa al 1%, se purificaron con el kit de extracción de gel (Qiagen) y los productos purificados se clonaron en el vector pGEM-T Easy (Promega). Los productos 3' y 5' RACE clonados en pGEM-T se denominaron como p3'IRF817 y p5'IRF817 respectivamente. Los clones se secuenciaron usando un procedimiento estándar de secuenciación. Para la amplificación del ADNc de longitud completa, se diseñaron cebadores específicos de gen a partir de las secuencias de nucleótidos como se obtienen a partir del alineamiento de los clones p3'IRF817, p5'IRF817 y CaF1_WIE_34_F11. El ADNc de longitud completa se amplificó por PCR usando ADNc como molde y la pareja de cebadores específicos de gen IRF817-F1 (5'- ATGGTTTCCCCGAAAACACCAATTGGCTTTT-3' SEQ ID NO: 6286) y IRF817-R1 (5'- TTAGGCAACTGGTGGGCGGA -3' SEQ ID NO: 6287). El producto de PCR se corrió en un gel de agarosa al 1%, se purificó en gel usando el kit de extracción de gel (Qiagen) y posteriormente se clonó en el vector pGEM-T Easy para rendir pIRF817. La secuencia completa de ADNc se determinó por un secuenciador de ADN automatizado (ABI Prism 3700).

Ejemplo 7

Amplificación de *IRF817* a partir de ADN genómico y southern genómico

El ADN genómico se extrajo usando el Mini Kit de Plantas DNeasy (Qiagen). El clon genómico de *IRF817* se hizo usando ADN genómico como molde y la pareja de cebadores específicos de gen IRF817-F1 (5'- ATGGTTTCCCCGAAAACACCAATTGGCTTTT-3' SEQ ID NO: 6286) y IRF817-R1 (5'- TTAGGCAACTGGTGGGCGGA -3' SEQ ID NO: 6287) amplificando el ORF genómico. El southern genómico se realizó con el fin de descubrir el número de copias de *IRF817* en garbanzo. Se digirieron alícuotas de 10µg de ADN genómico con diferentes enzimas de restricción *Hind*III, *Not*I, *Nco*I y *Eco*RV. Las muestras digeridas se resolvieron en un gel de agarosa al 0,8%, se desnaturalizaron y transfirieron a una membrana Genescreenplus (Amersham Biosciences). Los ácidos nucleicos inmovilizados se hibridaron con amplicón marcado con ³²P de *IRF817* obtenido usando la pareja de cebadores IRF817-F1 (SEQ ID NO: 6286) y IRF817-R1 (SEQ ID NO: 6287).

Ejemplo 8

Transferencia Northern

El análisis por transferencia Northern se realizó para determinar el patrón de expresión de *IRF817* en respuesta a marchitamiento vascular y su expresión específica de órgano. Para esto, se separaron muestras de 20µg de ARN en un gel de formaldehído-agarosa al 1,5% y se transfirieron a una membrana Genescreenplus (Amersham). *IRF817* se amplificó a partir de su clon EST usando cebadores de M13 directo (5'-GTTTCCCAGTCACGACGTTG -3' SEQ ID NO: 6288) e inverso (5'-TGAGCGGATAACAATTTACACAG -3' SEQ ID NO: 6289). El amplicón se corrió en un gel al 1%, se purificó en gel y el producto purificado se usó para preparar sonda marcada con ³²P-dCTP por marcaje aleatorio usando el kit de marcaje aleatorio (NEB).

Ejemplo 9

Varios tratamientos y análisis por PCR cuantitativa en tiempo real de *IRF718*

Se aplicaron diferentes hormonas a plántulas de garbanzo de dos semanas de edad. El tratamiento de SA, JA, ACC, BR, 2,4-D, ABA y NO se proporcionó pulverizando 1mM, 100 µM, 500 µM, 50 µM, 50 µM, 100 µM y 1 mM respectivamente. Para control las plántulas se pulverizaron con los tampones respectivos. Los tejidos se recogieron a diferentes puntos de tiempo hasta 12 h después del tratamiento. Los tejidos recogidos se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C. Para RT-PCR cuantitativa, se extrajo ARN total usando reactivo TRIzol y se usó para la síntesis de ADNc por el kit de transcripción inversa de ADNc de alta

capacidad (Applied Biosystems). El ADNc se diluyó 10 veces y la qRT-PCR se realizó en triplicado en un sistema de detección de secuencia ABI 7500 usando SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems) y cebadores específicos de gen IRF718RT-F y IRF817RT-R. Se usó el método de cuantificación relativa ($\Delta\Delta$ -CT) para evaluar la variación cuantitativa entre los replicados examinados. La amplificación de ARN 18S se usó como un control endógeno para normalizar el conjunto de datos.

Ejemplo 10

Sobre-expresión en bacterias de *IRF817*

Para la sobre-expresión en bacterias, *IRF817* se amplificó por PCR a partir del clon del vector T usando cebadores: FP (5'-GGATCCATGGTTTCCCCGGAAAACACC-3' SEQ ID NO: 6275) y RP (5'-GCGGCCGCTTAGGCAACTGGTGGGCGGA-3' SEQ ID NO: 6276). Los productos de PCR se digirieron y clonaron en los sitios *Bam*HI y *Not*I de pGEX-4T2 (Amersham Biosciences) con el fin de producir el GST-IRF817 recombinante (Figura 12). Los recombinantes se cribaron y transformaron en la cepa de *E. coli* BL21 para sobre-expresión de la proteína de fusión usando 0,6mM - 1mM isopropiltio- β -galactósido.

Ejemplo 11

Sobre-expresión en levaduras de *IRF817*

Para la sobre-expresión en levaduras, *IRF817* se amplificó usando los cebadores: FP (5'-CCGGAATTCATGGTTTCCCCGGAAAACAC-3' SEQ ID NO: 6277) y RP (5'-CGCGGATCCTTAGGCAACTGGTGGGCGGA-3' SEQ ID NO: 6278). El producto de PCR se digirió y clonó en el sitio *Eco*RI y *Bam*HI del vector pGBKT7 (Clontech) para expresar la proteína IRF817 fusionada con GAL4 DNA-BD ((Figura 13). La construcción se transformó en la cepa de levadura AH109 (Clontech) para la sobre-expresión en células de levadura.

Ejemplo 12

Localización subcelular de *IRF817*

La localización subcelular de la proteína de fusión IRF817-GFP se estudió realizando un ensayo de expresión transitoria usando células epidérmicas de cebolla. La región codificadora de *IRF817* se amplificó por PCR usando FP (5'-GAAGATCTATGGTTTCCCCGGAAAACACCAATTGGCT-3' SEQ ID NO: 6279) y RP (5'-GGACTAGTGGCAACTGGTGGGCGGACTTCAT-3' SEQ ID NO: 6280), específico de gen, respectivamente que tiene protuberancia *Bg*III y *Spe*I. Los productos de PCR se digirieron y clonaron en marco con GFP en los sitios *Bg*II y *Spe*I del vector pCAMBIA1302 (CAMBIA) para rendir IRF817-GFP (Figura 14). El plásmido GFP vacío se usó como un control. Los plásmidos se introdujeron en piel de cebolla por bombardeo de partículas (PDS-1000/He; Bio-Rad, CA, EEUU) usando partículas de oro de 1 μ m y además se analizaron por microscopio de barrido confocal láser (Leica Microsystems, Alemania), para la localización subcelular. Se formaron imágenes de las células usando la línea de 488-nm de un láser de argón.

Ejemplo 13

Transformación de plantas

Con el fin de generar líneas transgénicas para la sobre-expresión en plantas de IRF817, ORF de IRF817 se amplificó por PCR usando cebadores específicos de gen: FP (5'-CGCGGATCCATGGTTTCCCCGGAAAACAC-3' SEQ ID NO: 6281); RP (5'-CCCGAGCTCTTAGGCAACTGGTGGGCGGA-3' SEQ ID NO: 6282). El producto de PCR se digirió y clonó en los sitios *Bam*HI y *Sac*I del vector binario pBI121 (Clontech) bajo el control del promotor CaMV 35S. La construcción resultante (Figura 15) se movilizó además en la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* EHA105.

Ejemplo 14

Generación y análisis de raíces transgénicas de garbanzo

Para la sobre-expresión constitutiva *in planta* y expresión etiquetada, se introdujeron IRF817-GFP y el vector vacío (GFP) en la cepa de *Agrobacterium rhizogenes* K599 por electroporación y se usó para inocular plántulas de *C. arietinum* (cv. JG-62) de 5-7 D de edad en el extremo de corte de radical cerca del punto de unión al cotiledón. Las plántulas transformadas que tenían raíces pilosas se mantuvieron en medio agar MS que contenía 15 mg/l de higromicina bajo luz fluorescente con un fotoperiodo de 16-h. Las plántulas con raíces transformadas de 7- 10 días de edad y las raíces de tipo salvaje se infectaron con 10^6 esporas/ml de *Fusarium oxysporum ciceri* race I. Para las reacciones simuladas, las raíces transgénicas y las raíces de tipo salvaje se trataron con agua. Las plantas resultantes se cribaron para expresión de GFP usando un microscopio confocal Leica SP2 LCM.

Para monitorizar la invasión fúngica, se fijaron segmentos de raíces con 4% paraformaldehído preparado en 1 μ M PBS. Los segmentos de raíces fijados se transfirieron a una disolución de enzima que contenía 10 mg/de ml

driselasa y 1mg/ml de BSA (Sigma, St. Louis, MO) disueltas en tampón fosfato 25 mM a temperatura ambiente durante 15 min. Después de lavar en PBS, las raíces se trataron además con 0,5% Tritón X-100 en PB durante 10 min. Las hifas en segmentos de raíz se tiñeron con el tinte específico de quitina WGA-Rojo Texas (Molecular Probes, Alemania) en PBS (10 µg/ml) seguido de desteñido en PBS (pH 7,4) antes de la formación de imágenes.

5 Se realizó un ensayo TUNEL usando un kit de detección de muerte celular *in situ* (Fluoresceína; Roche Applied Science, Alemania) según el manual de instrucciones. Además de la fijación de la raíz, los segmentos de raíz se deshidrataron y desparafinaron por paso durante 15 min a través de una serie de concentraciones crecientes de etanol en agua (de 10% a 100% en incrementos de 10%) y de nuevo de 100% a 0% en incrementos de 10%).
10 Posteriormente, los segmentos se incubaron en 50 µl de mezcla de reacción TUNEL. Las raíces tratadas con ADNasa I de grado 1 se usaron como controles positivos. Las disoluciones se infiltraron con vacío tres veces y se incubaron durante 60 min a 37°C en atmósfera humidificada en oscuridad. El desteñido de los segmentos se hizo con PBS (pH 7,4).

15 Los núcleos de las plantas se tiñeron con 5 µg/ml de DAPI durante 30 min después del ensayo TUNEL y tinción WGA. Durante la incubación en DAPI, los segmentos se infiltraron con vacío una vez durante 1 min a 25 mmHg (1 mm Hg =133 Pa) y después se lavaron con PBS.

La formación de imágenes por fluorescencia confocal se hizo con un microscopio confocal multicanal Leica SP2 (Bensheim, Alemania) con una excitación láser a 488-nm y una emisión a 505-540nm para GFP y fluoresceína; excitación a 543-nm y emisión a 560-630 nm para WGA-rojo Texas; y excitación a 595-nm y emisión a 615-nm para DAPI.

20 Tabla 1: Biblioteca de garbanzo y caracterización de EST

	Genotipo		
	Total	WR	JG
Lecturas de secuencia	6.955	4.047	2.908
Asignación de bases fallida QC	8	6	2
Secuencia de baja calidad	214	121	93
Secuencia de inserto corto	422	246	176
Sin inserto	30	30	0
E. coli	0	0	0
Mitocondrial	9	1	8
Total alta calidad	6.272	3.643	2.629

Tabla 2: Estadísticas de secuenciación y asignación en cóntigos de EST de garbanzo, El éxito en la secuenciación se determinó eliminando las EST de baja calidad, inserto corto, sin inserto y mitocondriales del número total de EST secuenciadas

Genotipo	No. Total de EST secuenciadas	Porcentaje de éxito en la secuenciación ^a	EST de buena calidad usadas para asignación de cóntigos ^b	EST en cóntigos	EST singletones
JG-62	2.908	90,4	2.629	2.316	313
WR-315	4.047	90,0	3.643	2.916	727
Total ESTs	6.955	90,2	6.272	5.232	1.040

Tabla 3: Concordancia comparativa del garbanzo con las EST de otras bases de datos de leguminosas, las EST de garbanzo aisladas en este estudio se compararon con otras bases de datos de leguminosas como *Arachis hypogea*, *Cajanus cajan*, *Pisum sativum*, *Robinia pseudoacacia*, *Lotus japonicus*, *Medicago trunculata*, *Glycine max* y *Phaseolus vulgaris* recogidas de los índices de genes NCBI y TIGR. Los criterios para BLASTn independiente fueron (1) concordancia exacta = 11; (2) punto de corte de valor e 1E5; e (3) identidad > 80% y 90% a nivel de secuencia de ADN.

Índices génicos	Identidad >80 %	Identidad >90 %
<i>Arachis hypogea</i>	1.686 (83,75)	1.118 (55,54)
<i>Cajanus cajan</i>	1.764 (87,6)	1.729 (85,89)
<i>Pisum sativum</i>	1.788 (88,8)	1.599 (79,43)
<i>Robinia pseudoacacia</i>	245 (12,17)	79 (3,92)
<i>Lotus japonicus</i>	872 (43,31)	287 (14,25)
<i>Medicago trunculata</i>	1.168 (58,02)	614 (30,50)
<i>Glycine max</i>	1.617 (80,32)	635 (31,54)
<i>phaseolus vulgaris</i>	928 (46,10)	234(11,62)

Referencias

- 5 Ewing RM, Kahla AB, Poirot O, Lopez F, Audic S, Claverie JM: Large-scale statistical analyses of rice ESTs reveal correlated patterns of gene expression. *Genome Res* 1999, 9: 950-959.
- Gray WM: Plant defense: A New Weapon In The Arsenal. *Curr Biol*, 2002: 12: 352-354.
- Jantasuriyarat C, Gowda M, Haller K, Hatfield J, Lu G, Stahlberg E, Zhou B, Li H, Kim H, Yu Y, Dean RA, Wing RA, Soderlund C, Wang GL: Large-scale identificación of expressed secuencia tags involved in rice and rice blast fungus interaction. *Plant Physiol* 2005, 138: 105-115.
- 10 Jones S: An overview of the basic helix-loop-helix proteins. *Genome Biol* 2004, 5: 226.
- Katagiri F: A global view of defense gene expression regulation - a highly interconnected signaling network. *Curr Opin Plant Biol* 2004, 7: 506-511.
- Koornneef A, Pieterse CMJ: Cross Talk in Defense Signaling. *Plant Physiol* 2008, 146: 839-844.
- 15 LeBlanc JC, Gonçalves ER, Mohn WW: Global response to desiccation stress in the soil actinomycete *Rhodococcus jostii* RHA1. *Appl Environ Microbiol* 2008, 74: 2627-2636.
- Li X, Duan X, Jiang H, Sun Y, Tang Y, Yuan Z, Guo J, Liang W, Chen L, Yin J, Ma H, Wang Zhang D: Genome-Wide Analysis of Basic/Helix-Loop-Helix Transcription Factor Family in Rice and Arabidopsis1. *Plant Physiology* 2006, 141: 1167-1184.
- 20 Melamed D, Pnueli L, Arava Y: Yeast translational response to high salinity: global analysis reveals regulation at multiple levels. *RNA* 2008, 14: 1337-1351.
- Murre C, McCaw PS, Baltimore D: A new DNA binding and dimerization motif in immunoglobulin enhancer binding, daughterless, MyoD, and myc proteins. *Cell* 1989, 56: 777-783.
- Nagata T, Iizumi S, Satoh K, Kikuchi S: Comparative molecular biological analysis of membrane transport genes in organisms. *Plant Mol Biol* 2008, 66: 565-585.
- 25 Nucci M, Anaissie E: *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 2007, 20:695-704.

- Ramírez M, Graham MA, Blanco-López L, Silvente S, Medrano-Soto A, Blair MW, Hernández G, Vance CP, Lara M: Sequencing and analysis of common bean ESTs. Building a foundation for functional genomics. *Plant Physiol* 2005, 137: 1211-1227.
- 5 Sander A, Beyer U, Amberg R: Systemic *Fusarium oxysporum* infection in an immunocompetent patient with an adult respiratory distress syndrome (ARDS) and extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Mycoses* 1998, 41:109-111
- Satoh K, Doi K, Nagata T, Kishimoto N, Suzuki K, Otomo Y, Kawai J, Nakamura M, Hirozane-Kishikawa T, Kanagawa S, et al: Gene organization in rice revealed by full-length cDNA mapping and gene expression analysis through microarray. *PLoS ONE* 2007, 2: e1235.
- 10 Takabatake T, Ishihara H, Ohmachi Y, Tanaka I, Nakamura MM, Fujikawa K, Hirouchi T, Kakinuma S, Shimada Y, Oghiso Y, Tanaka K: Microarray-based global mapping of integration sites for the retrotransposon, intracisternal A-particle, in the mouse genome. *Nucleic Acids Res* 2008, 36: e59.
- Toledo-Ortiz G, Huq E, Quail PH: The *Arabidopsis* basic/helix-loop helix transcription factor family. *Plant Cell* 2003, 15: 1749-1770.
- 15 Udall JA, Swanson JM, Haller K, Rapp RA, Sparks ME, Hatfield J, Yu Y, Wu Y, Dowd C, Arpat AB, et al: A global assembly of cotton ESTs. *Genome Res* 2006, 16: 441-450.
- Wellmer F, Alves-Ferreira M, Dubois A, Riechmann JL, Meyerowitz EM: Genome-wide analysis of gene expression during early *Arabidopsis* flower development. *PLoS Genetics* 2006, 2: 1012-1024.
- 20 White JA, Todd J, Newman T, Focks N, Girke T, de Ilarduya M, Jaworski JG, Ohlrogge JB, Benning C: A new set of *Arabidopsis* expressed sequence tags from developing seeds. The metabolic pathway from carbohydrates to seed oil. *Plant Physiol* 2000, 124: 1582-1594.

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de nucleótidos aislada como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274.
- 5 2. Un vector recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos según se reivindica en la reivindicación 1, en el que la secuencia de nucleótidos está unida de forma operativa a un promotor.
3. Una célula huésped recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos según se reivindica en la reivindicación 1, en la que la célula huésped es *E. coli*, *Agrobacterium* o levadura.
- 10 4. Un método para mejorar la inmunidad frente a patógeno fúngico en plantas, comprendiendo dicho método transformar una célula de planta con un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273 que codifica la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en SEQ ID NO: 6274, seleccionar la célula de planta transformada y regenerar la célula de planta transformada en una planta transgénica que muestra una inmunidad mejorada frente al patógeno fúngico comparado con plantas no transformadas.
- 15 5. El método según se reivindica en la reivindicación 4, en el que el patógeno fúngico es *Fusarium*.
6. El método según se reivindica en la reivindicación 4, en el que la planta es monocotiledónea o dicotiledónea.
- 20 7. El método según se reivindica en la reivindicación 4, en el que la planta se selecciona de un grupo que consiste en tabaco, patata, patata dulce, mandioca, remolacha, *Arabidopsis*, especies de brassica, tomate, berenjena, pimiento, chili, banana, mango, vid, papaya, girasol, algodón, maní, guisante, soja, garbanzo, guandú, medicago, lotus, arroz, maíz, trigo, centeno, cebada, avena, sorgo, nueces, aguacate, cúrcuma, azafrán, jengibre, ajo, cebolla, y nuez moscada.
8. Una planta transgénica que tiene inmunidad mejorada frente a un patógeno fúngico comparado con plantas no transgénicas, en el que la planta transgénica sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273.
- 25 9. Una semilla transgénica obtenida de la planta transgénica según se reivindica en la reivindicación 8, en el que la semilla sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273.
- 30 10. Una progenie transgénica obtenida de la semilla transgénica según se reivindica en la reivindicación 9, en el que la progenie sobre-expresa un polinucleótido que tiene la secuencia de nucleótidos como se muestra en SEQ ID NO: 6273.

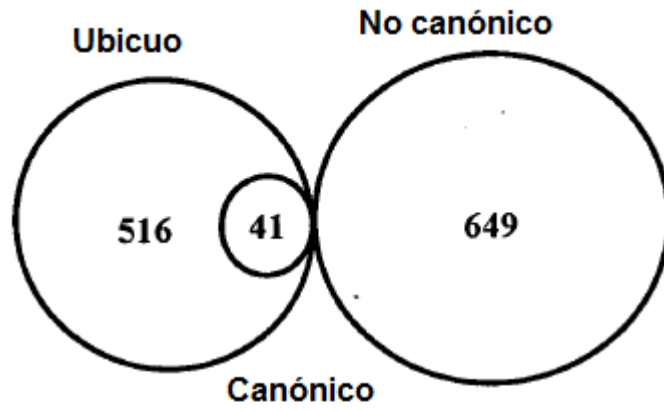


Figura 1

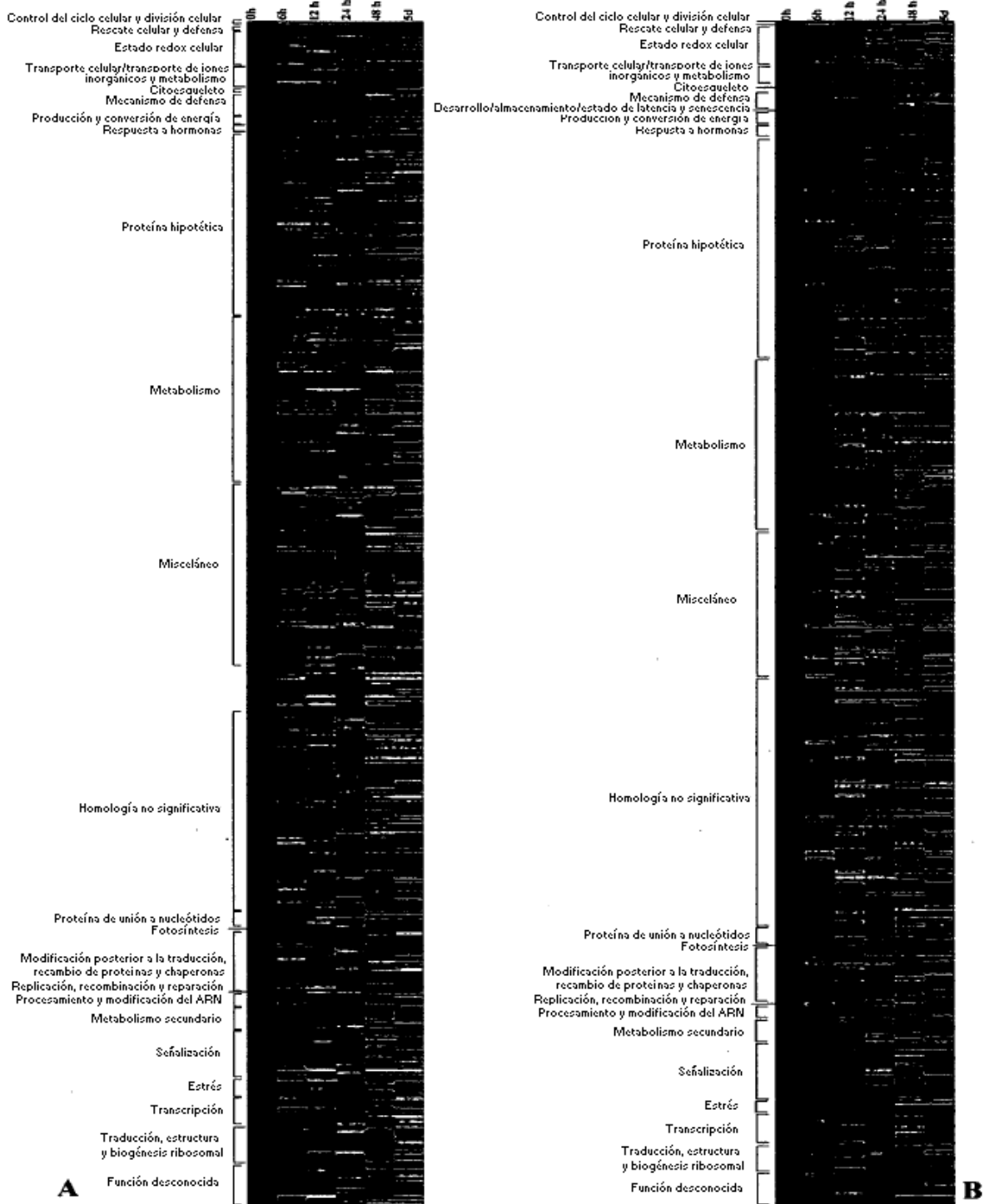


Figura 2

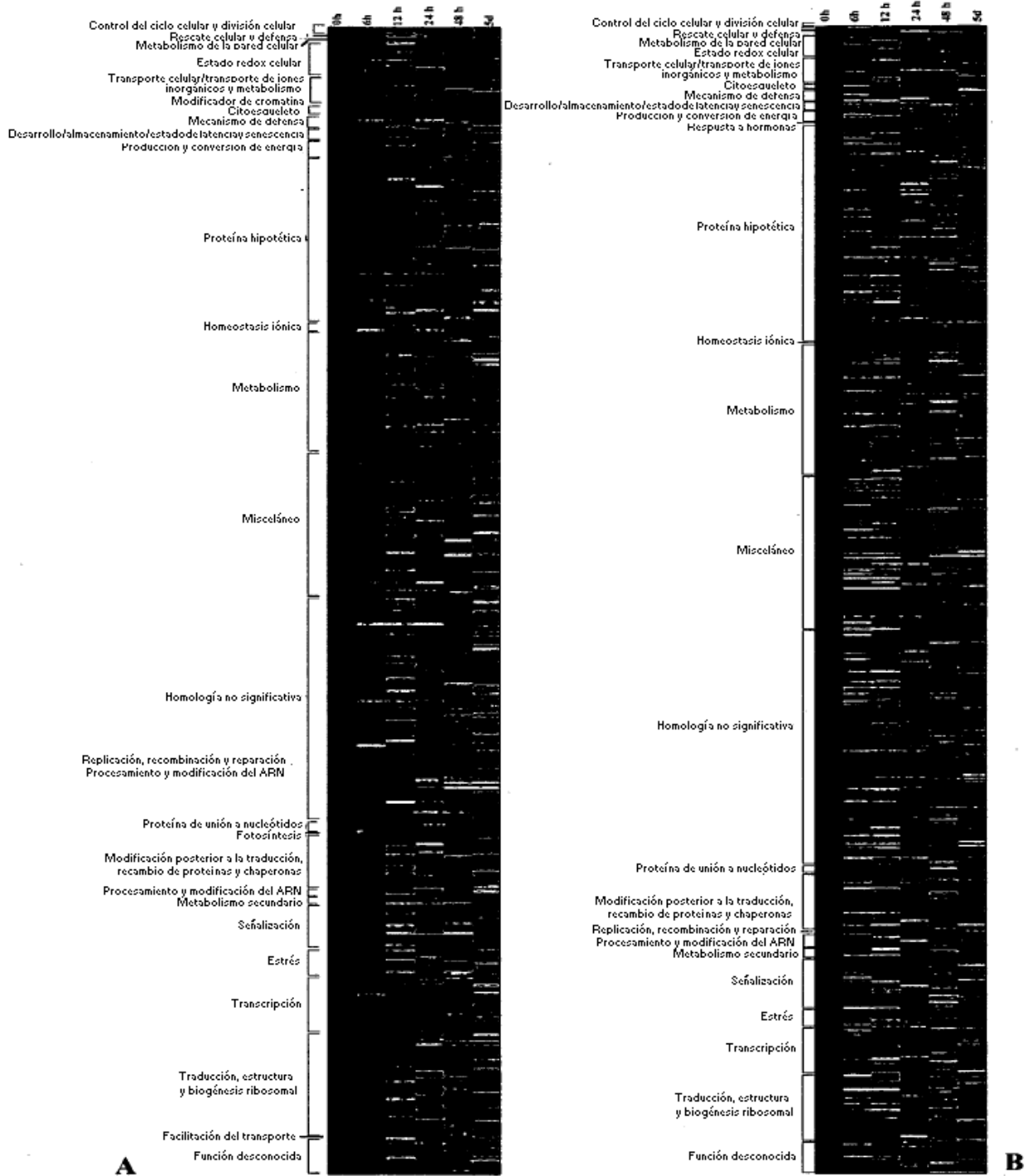


Figura 3

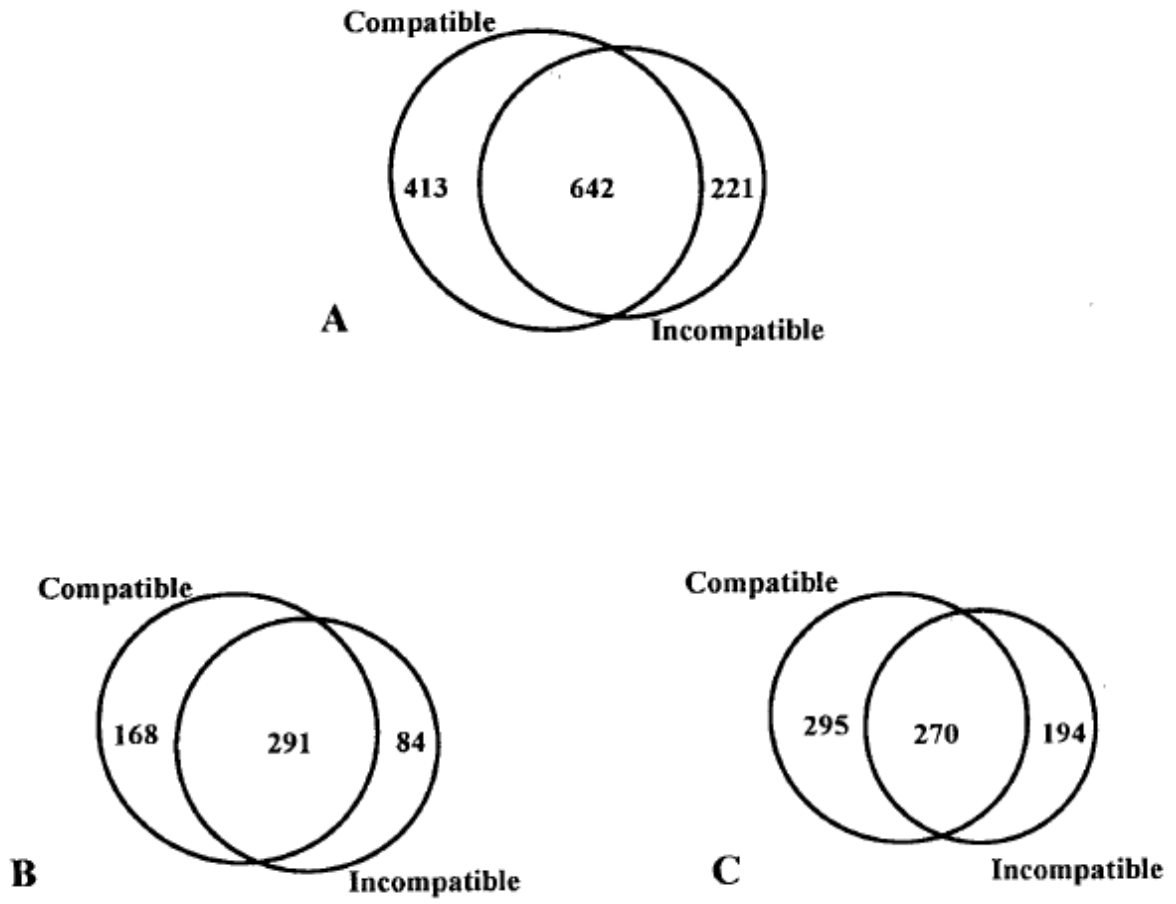


Figura 4

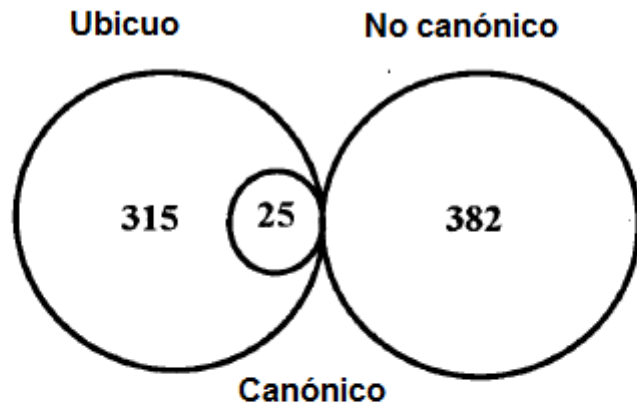


Figura 5

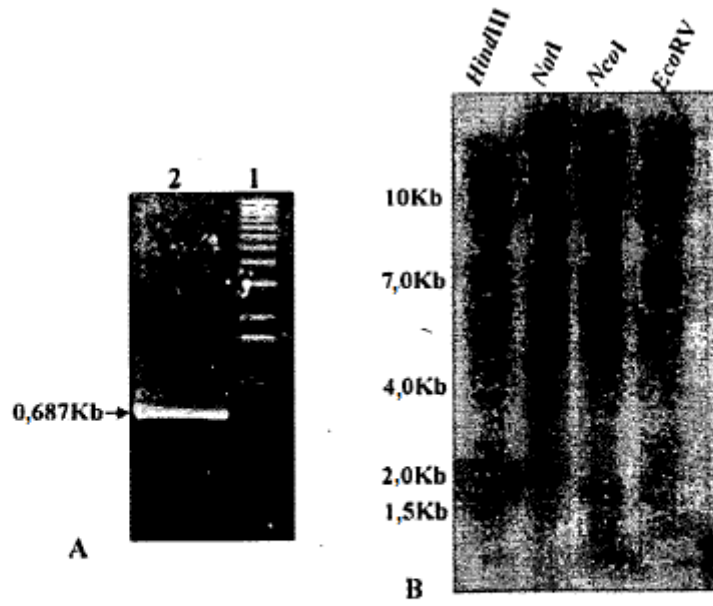


Figura 6

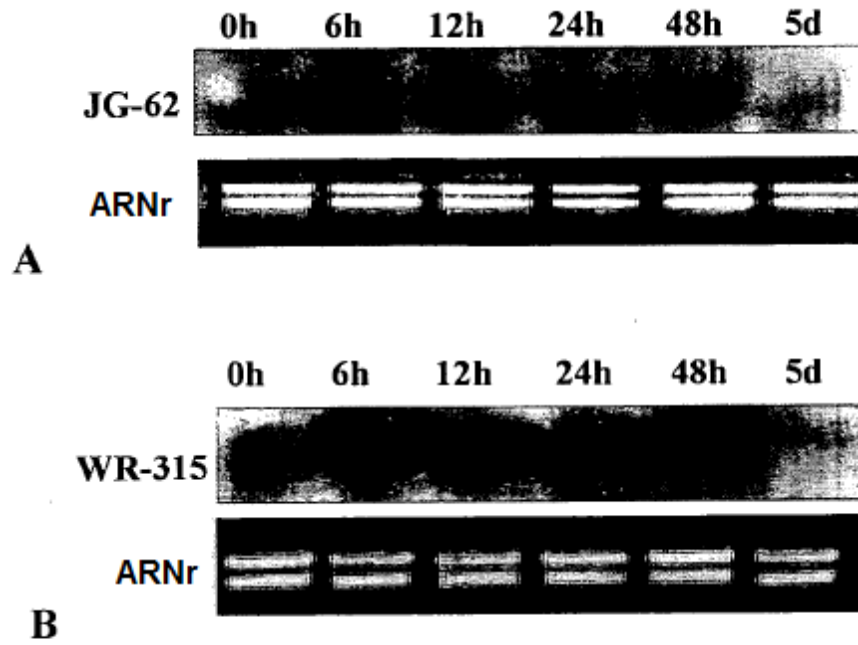


Figura 7

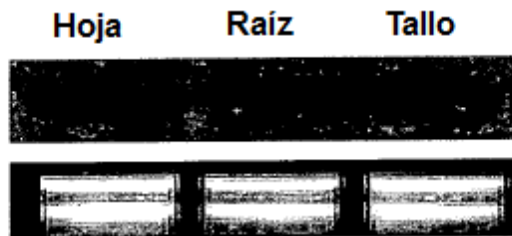


Figura 8

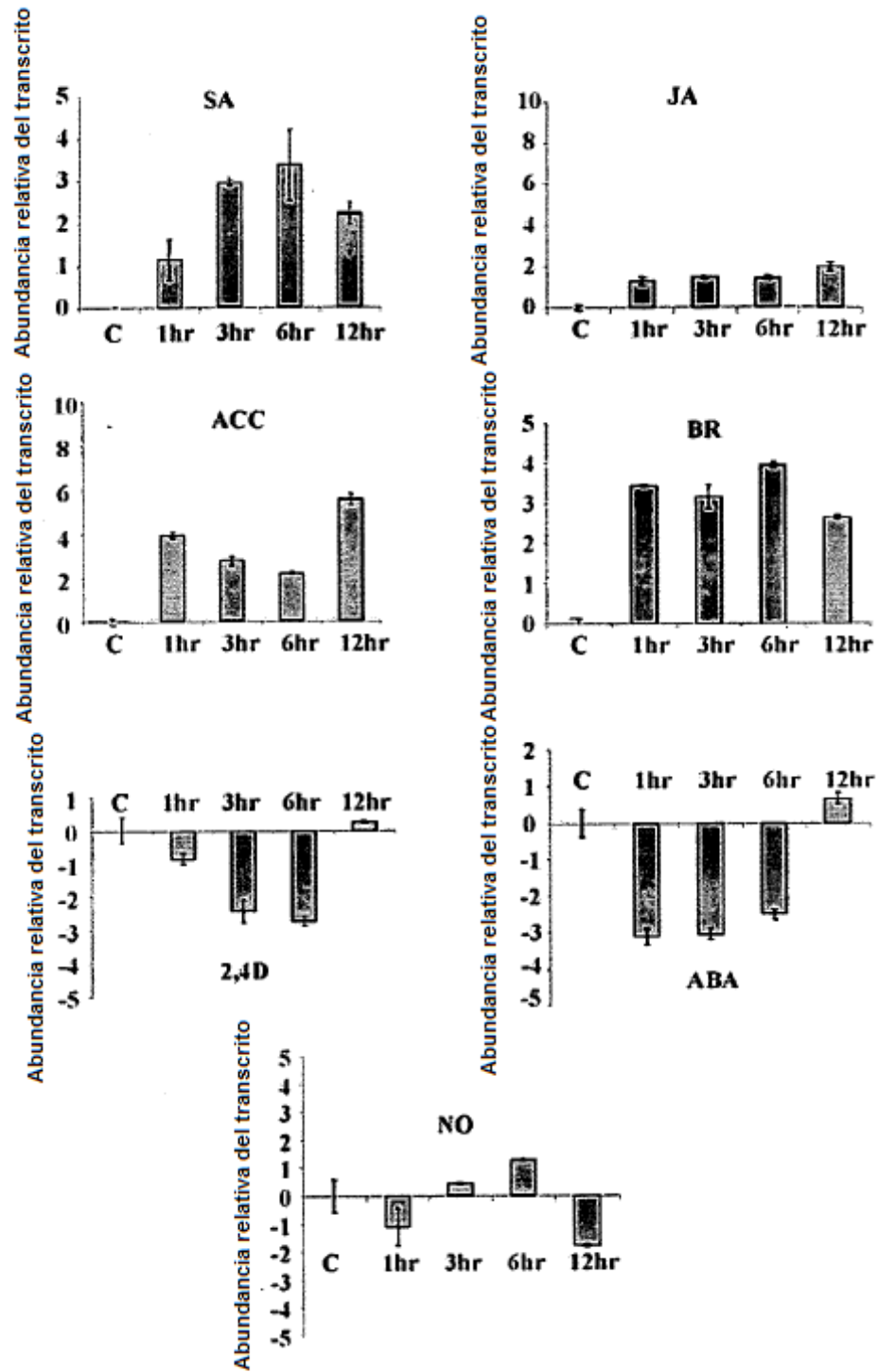


Figura 9

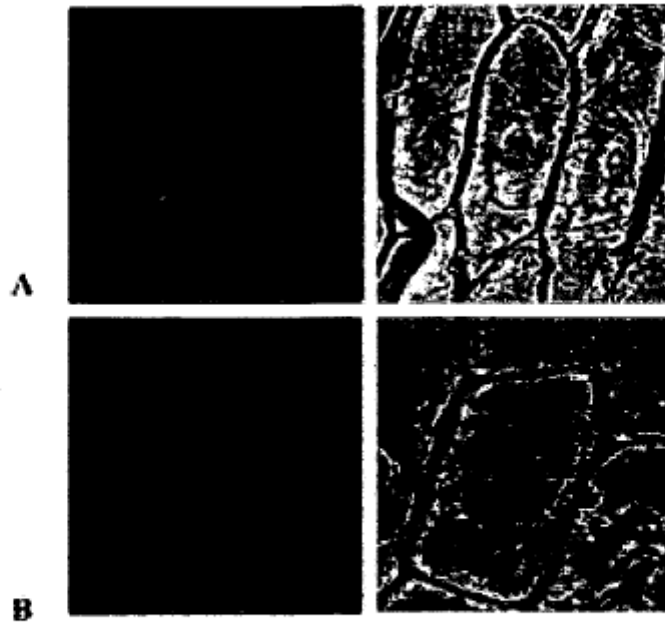


Figura 10

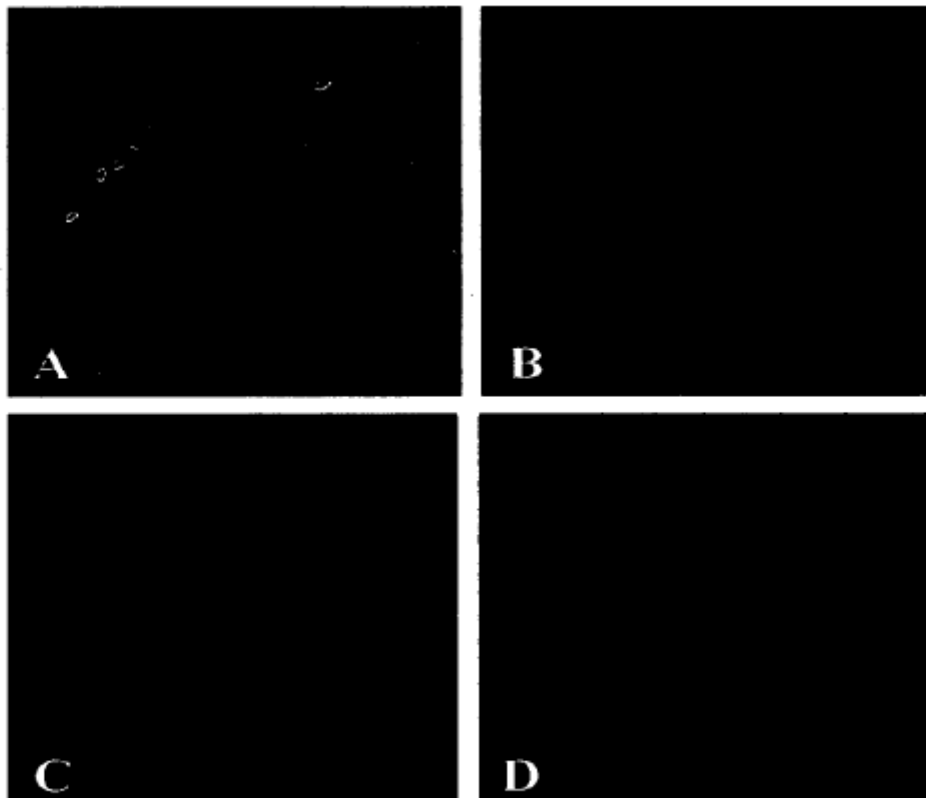


Figura 11

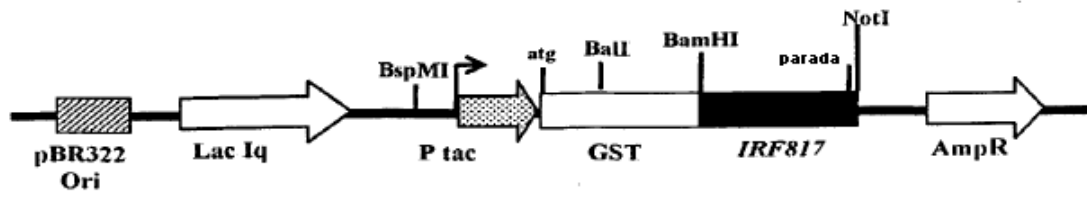


Figura 12

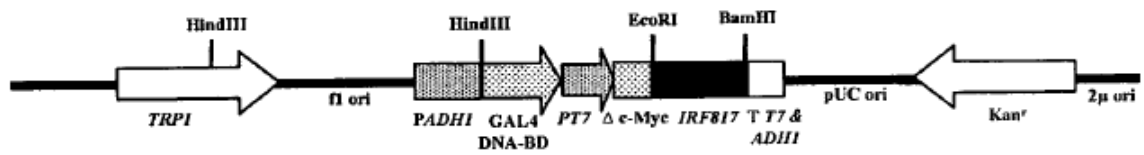


Figura 13

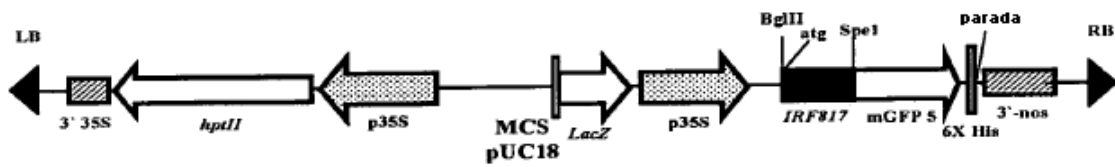


Figura 14

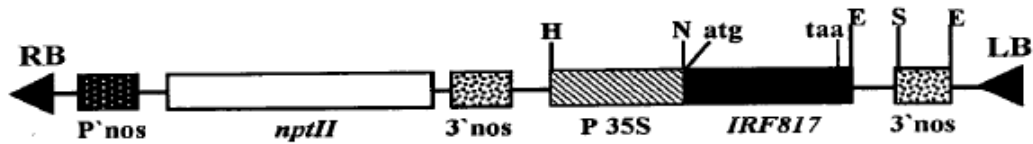


Figura 15