



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA GENÉTICA
UNIDAD IRAPUATO**

**"Análisis de los genes expresados diferencialmente
durante la transición de estado vegetativo a estado
reproductivo en *A. tequilana*"**

Tesis que presenta

IBQ JOSÉ NATZUL SANTOYO VILLA

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

En la especialidad de

Biología de plantas

Director de Tesis

Dra. June Kilpatrick Simpson Williamson

Irapuato, Guanajuato.

Abril 2016

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Genética del Desarrollo del Departamento de Ingeniería Genética en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Irapuato, bajo la dirección de la Dra. June K. Simpson Williamson y las supervisión del Dr. Luis José Delaye Arredondo y el Dr. Octavio Martínez de la Vega.

Dedicatoria

A todos los que directa e interactuante me han ayudado e impulsado a siempre seguir a delante y nunca darme por vencido y siempre alcanzar mis metas en la vida. En especial a mi familia que es el principal motor para seguir adelante.

Agradecimientos

Al CONACYT por otorgarme la beca No. 347619 para llevar a cabo mi estancia durante el desarrollo de la tesis y por los recursos del Proyecto CB-2013-220339 para llevar a cabo los experimentos durante la tesis.

A la Dra. June Simpson que es una excelente personas y asesora, por dejarme aceptarme en su grupo de trabajo y por su inmensa paciencia, sabiduría y conocimiento para ayudarme a desarrollar la tesis en el laboratorio a su cargo.

Al Dr. Luis José Delaye por disponibilidad, su apoyo, dedicación, conocimientos y asesorías que me han ayudado a realizar la tesis.

Al Dr. Octavio Martínez de la Vega, por todo su apoyo, dedicación, por toda su ayuda en la parte bioinformática, sus sugerencias y conocimientos, aportados durante la tesis.

Al Dr. Jorge Thonatiuh Ayala Sumuano por su ayuda con el análisis de expresión diferencial y aporte de conocimientos para la realización de la tesis.

A todos mis compañeros y a amigos del laboratorio me ayudaron y compartieron sus conocimientos y amistad para realizar todos los experimento y análisis. A “San Emmanuel” que siempre me ayudaba y explicaba todo de manera muy clara y entendible, Katy por toda su ayuda en el laboratorio, Jazmín por ser mi principal mentora científica, Alfredo por su aportes y conocimiento, Rocío A por sus sugerencias del tiempo real, Rocío M., Maura, Luis, Celso, Emmy, Cori, Mony, Alan, Laura, Areli y todos los que tuve el gusto de conocer durante mi estancia en el laboratorio.

A todo el personal administrativo y académico del CINCESTAV Irapuato que sin ellos y su ayuda no sería posible realizar todo este proceso.

A todos mis compañeros y amigos de la generación por el apoyo y amistad brindada durante estos años

A Damaris, Xochitl, Crista, Citlaly por la convivencia en casa y su amistad.

A mí familia que es lo más importante para mí por todo su apoyo, amor y consejos que sin ellos no sería nada.

A Rocío H. por todo su amor, su cariño y su apoyo, por siempre estar con migo y por ayudarme a en todo este tiempo y salir adelante en todo.

Índice general

Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Índice general	iii
Índice de figuras	iv
Índice de tablas.....	v
Abreviaturas	vi
Abstract	ix
I.- Introducción	1
II.-Marco teórico.....	2
III.- Justificación	14
IV.-Hipótesis	15
V.-Objetivos	16
V.1.-Objetivo general.....	16
V.2.-Objetivos específicos	16
VI.-Materiales y métodos	17
VI.1.- Material vegetal y esquema de muestreo.....	17
VI.2.- Extracción de RNA Total.....	18
VI.3.- Secuenciación	18
VI.4.- Análisis de las bibliotecas.	19
VI.5.-Ensamblado.....	19
VI.6.- Análisis de expresión diferencial.....	22
VI.7.- Búsqueda de similitud.....	22
VI.8.- Anotación funcional.....	23
VI.9.- Validación qRT-PCR.....	23
VII.-Resultados y discusión.....	26
VII.1.Toma de material vegetal y extracción de RNA.....	26
VII.2- Secuenciado y Depurado.....	29
VII.3- Ensamblado y mapeo	34
VII4.- Búsqueda de similitud y anotado	36
VII5.- Expresión diferencial.....	39
VII6.- Validación qRT-PCR.....	49
IX.-Conclusiones.....	59
X.-Perspectivas.....	62

XI.-Referencias	63
X.-Anexos	71

Índice de figuras

Figura 1. Regiones con denominación de origen del Tequila. (Adaptado de Valenzuela, 1997).	2
Figura 2. Esquema de las formas de propagación en Agave tequilana. Adaptado de Arizaga y Ezcurra, 2002.	4
Figura 3. Esquema de las rutas de inducción a la floración, (Fornara F. et. al. 2010). ...	8
Figura 4. Fases morfológicas del Agave tequilana durante la transición de estado vegetativo a reproductivo: a) fase vegetativa, b) fase comienzo del hundimiento, c) fase reproductiva Inflorescencia de 10cm y d) fase reproductiva inflorescencia de 30cm. (modificado de Delgado S. 2012).	10
Figura 5. Esquema de electroforesis capilar de secuenciación Sanger.	11
Figura 6. Meristemo de Agave tequilana.	17
Figura 7. Gel de agarosa al 1.2% del RNA extraído.	26
Figura 8. Grafica de calidad por base, de todas las secuencias R1 crudas.	31
Figura 9. Grafica de calidad por base, de todas las secuencia R2 crudas.....	31
Figura 10. Grafica de calidad por base de las secuencias R1 depuradas.....	32
Figura 11. Grafica de calidad por base de las secuencias R2 depuradas.....	33
Figura 12. Distribución de los datos de similitud.....	37
Figura 13. Porcentaje de transcritos con anotación.	38
Figura 14. Distribución de GO de las secuencias anotadas, BP (verde), CC (morado) y MF (rosa).	39
Figura 15. Distribución de genes Expresados diferencialmente DE en los 3 pares de comparación (FDR < 0.05).	40
Figura 16. Diagrama de Venn para los transcritos expresados diferencialmente (DE) y su relación a lo largo de los pares (FDR <0.05).	42
Figura 17. Análisis de enriquecimiento para los transcritos regulados positivamente en el Par1.	43
Figura 18A. Procesos biológicos (BP) en los transcritos expresados diferencialmente de manera positiva (UP) en el par1.	444
Figura 18B <i>Procesos biológicos (BP) en los transcritos expresados diferencialmente de manera negativa (DWN) en el par1</i>	45
Figura 19. Número de transcritos y su expresión a lo largo de las comparaciones durante la transición de desarrollo en A. tequilana (D=decremento; I=incremento y S= estable).....	47
Figura 20. Comparación de los patrones de expresión obtenidos por qRT-PCR y los valores <i>in silico</i> para AtqMADS2	50

Índice de tablas

Tabla 1. Nucleótidos utilizadas para el análisis qRT-PCR.....	24
Tabla 2. Calidad del RNA extraído de las muestras.....	29
Tabla 3. Estadísticos del transcriptoma ensamblado.....	34
Tabla 4. Comparación de estadísticos de distintos ensamblados de novo.....	35
Tabla 5. Porcentaje del mapeo global de las lecturas R1 y R2 hacia el transcriptoma.	36
Tabla 6. Número de transcritos con incremento o decremento y su relación entre los pares.....	42
Tabla 7. Perfiles de expresión de transcritos implicados en la inducción o represión de la floración. (I=incremento; D=decremento y S=estable)	48

Abreviaturas

- BLAST Basic Local Alignment Search Tool (por sus siglas en inglés)
- cDNA Ácido desoxirribonucleico complementario
- cm³ centímetros cúbicos
- C_T Threshold cycle
- DE Diferencialmente expresados.
- DEPC Dietilpirocarbonato
- DNA Ácido desoxirribonucleico
- dNTPs Desoxirribonucleótidos trifosfatados
- EST Expressed Sequence Tag (de sus siglas en inglés)
- FW forward
- g Gramos
- Gb Gigabases
- h Horas
- L Litros
- M Molar
- min Minutos
- ml Mililitros
- mm Milímetros
- mM Milimolar
- mmol Milimoles
- Mpb megapares de bases
- MQ Milli q (agua ultra pura)
- mRNA Ácido ribonucleico mensajero
- ng Nanogramos
- nm Nanometros
- NTC Control sin templado
- °C Grados centígrados
- Oligos Oligonucleótidos
- pb Pares de bases
- PCR Reacción en cadena de la polimerasa
- qRT-PCR Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa cuantitativo

- RNA Ácido ribonucleico
- rpm Revoluciones por minuto
- RQ Cuantificación relativa
- RT Retrotranscriptasa
- RV Revers
- SE Single ends
- STD Estándar
- VPN Virtual private network
- Δ Delta (diferencia)
- μg Microgramo
- μl Microlitros
- μM Micromolar

Resumen

Agave tequilana (*A. tequilana*) es una planta muy importante para la economía en México puesto que es la única especie de la que se puede obtener el tequila. Una vez que este ha pasado de estado vegetativo a reproductivo, desarrolla una inflorescencia o escapo floral lo cual indica que está en su punto óptimo para ser cosechado para la producción de tequila. Sin embargo, el desarrollo de esta inflorescencia hace que la planta utilice todas sus reservas acumuladas de carbohidratos lo que disminuye la eficiencia en la producción de tequila y por tal motivo se remueve manualmente. No se sabe cómo se desencadena el proceso o que ocurre a nivel genético y molecular durante esta transición de estado vegetativo a reproductivo.

Con la finalidad de estudiar a nivel genético este proceso se utilizó el análisis transcriptómico de secuenciación masiva de RNA mensajero (RNA-seq) para analizar los genes que se expresan diferencialmente durante 4 fases muy cercanas a la transición de fase vegetativa a reproductiva, las fases son: vegetativo adulto (Mv), comienzo del hundimiento (Mch), inflorescencia de 10cm (In10cm) e inflorescencia de 30cm (In30cm).

Se compararon las etapas adyacentes “Mv vs Mch”, “Mch vs In10cm” e “In10cm vs In30cm” encontrando transcritos expresados diferencialmente a lo largo de la transición, en donde los genes reportados como inductores de la floración como *FT* y *MADS2*, tienen niveles bajos de expresión en las fases meristemo vegetativo e inflorescencia de 10 cm y altos en la fase de comienzo del hundimiento e inflorescencia de 30 cm. Algunos genes reportados como represores de la floración tenían patrones inversos, como era de esperarse. También se encontraron otros genes que podrían estar induciendo o facilitando la transición a la fase reproductiva debido a que presentaban patrones similares a los de los reportados como inductores florales, algunos son pertenecientes al metabolismo de carbohidratos, de oxidación de giberelinas y algunos otros que no fueron anotados en términos de su función.

Este trabajo nos da una idea de que es lo que pasa a nivel genético y molecular en la transición de la fase vegetativa a reproductiva en *Agave tequilana*, sentando las bases para futuras investigaciones para poder predecir y controlar la transición floral en al *Agave tequilana* y realizar una cosecha óptima para una mayor y más eficiente producción de tequila.

Abstract

Agave tequilana (*A. tequilana*) is a very important crop for Mexican economy since it is the only species used for the production of tequila. Once it has grown from the vegetative to reproductive stage it develops an inflorescence or flower stalk which indicates that the plant is ready to be harvested for the production of tequila. However developing the inflorescence causes the plant to use all its accumulated reserves of carbohydrates which decreases the efficiency in the production of tequila consequently, the inflorescence has to be removed manually. It is unknown how this process is triggered or what is happening at the genetic and molecular level during the transition from vegetative to reproductive stages.

In order to study at the genetic level this process, a transcriptome analysis of massive sequencing of Messenger RNA (RNA-Seq) was used to analyze genes that are differentially expressed during 4 stages very close to the transition from the vegetative to reproductive stage. The stages are: vegetative adult (Mv), initiation of bolting (Mch), inflorescence of 10 cm (In 10 cm) and inflorescence of 30 cm (In 30 cm).

Adjacent stages were compared "Mv vs Mch", "Mch vs In10cm" and "In10cm vs In30cm", we found transcripts differentially expressed throughout the transition, where the genes reported as inducers of flowering such as FT and MADS2, have low levels of expression in vegetative meristems and inflorescence of 10 cm and high levels in the stages of the initiation of bolting and inflorescence of 30 cm, some genes reported as repressors of flowering have opposite patterns that to the inducers, as expected. Other genes that might be inducing or facilitating the transition to the reproductive phase due to the similarity of the pattern to those reported as floral inductors, include those which belong to carbohydrate metabolism, oxidation of gibberellins and others that could not be annotated in terms function.

This work give us an insight to what is happening at the genetic and molecular level during the transition from vegetative to reproductive stage in *Agave tequilana*, setting the basis for future research that will let us predict and control the floral transition in this species and allow harvesting at the optimal time leading to better and more efficient production of tequila.

I.- Introducción

La subfamilia agavácea cuenta con 9 géneros y 330 especies, es endémica de América y se extiende desde el sur de los Estados Unidos de América hasta América Central. Su centro de origen y diversidad se encuentra en México donde se localizan el 70% de las especies descritas en el mundo (García-Mendoza, 2004). En México los *Agaves* han tenido un papel muy importante en la sociedad tanto a nivel económico como cultural, desde tiempos prehispánicos y hasta hoy en día, han sido utilizados como alimento, bebida, combustible, cobijo, ornato, fibras duras extraídas de las hojas (ixtle), abono, para construcción de viviendas y elaboración de implementos agrícolas, entre otros usos (Valenzuela, 1997). La mayoría de los *Agaves* son semélparos (sólo florecen una vez) y tienen un ciclo de vida largo (en *A. tequilana* es de 6 – 12 años). Son plantas xerófitas, adaptadas a vivir en condiciones climáticas desfavorables, con largos periodos de sequía y altas temperaturas. Se pueden reproducir en forma sexual por semillas, en forma asexual por hijuelos de rizoma y por bulbilos en la inflorescencia. Los bulbilos son hijuelos pequeños que emergen de los tallos florales cuando no tiene éxito la formación de semillas, cada tallo floral produce en promedio alrededor de 20 bulbilos (Arizaga y Ezcurra, 1995). A pesar de su importancia tanto económica como culturalmente, hay pocos estudios a nivel genético y molecular en *A. tequilana*. Investigación en estas áreas es esencial para tener un mejor conocimiento de los mecanismos de regulación involucrados en estos cambios de patrón de desarrollo y para ayudar a inducir o delimitar las etapas de desarrollo y así tener un mayor rendimiento en los productos de interés, principalmente las bebidas alcohólicas de importancia económica como el tequila (García-Mendoza, 2007).

II.-Marco teórico

El género *Agave*, cuyo significado en griego: “noble” o “admirable” fue dado a conocer a la ciencia por Carlos Linneo en 1753 (Breitung, 1968). Las plantas del género *Agave* son originarias del continente americano, con la mayor concentración de especies nativas encontradas en México donde se les conoce con los nombres comunes de “magueyes” o “mezcales”. Algunas especies de *Agave* importantes en la producción de fibras son el “henequén” (*Agave fourcroydes*) y *Agave sisalana* (Gentry, 1982) donde se aprovechen las hojas. A un nivel menor, también se obtienen fibras del *Agave tequilana*, a partir del bagazo de desecho de la industria tequilera. *Agave tequilana* es la especie de agave más importante a nivel económico en la actualidad, ya que es la única especie permitida para la producción de tequila, de acuerdo a la denominación de origen de tequila (DOT) estipulada en la NOM-006-SCFI-2005 siendo el agave más cultivado y con mayor derrame monetario, donde solo puede ser utilizada esta planta si ha sido crecida en las regiones con la denominación de origen, que abarcan todo el estado de Jalisco y algunos municipios de Nayarit, Tamaulipas, Guanajuato y Michoacán como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Regiones con denominación de origen del Tequila. (Adaptado de Valenzuela, 1997).

Agave tequilana es una planta suculenta de 2.2 a 2.8 metros de altura. Su tallo o coloquialmente llamado piña es grueso y corto de 30 a 50 cm de altura y al madurar, tiene la cualidad de almacenar un alto contenido de azúcares hidrolizables en su mayoría en forma de fructanos lo que lo hace la mejor especie para la producción del tequila. Las hojas miden de 90 a 120 cm, son lanceoladas, rígidas y fibrosas, cóncavas de ascendentes a horizontales. Lo más ancho de las hojas se encuentra hacia la mitad y son angostas y gruesas hacia la base, generalmente de color glauco azulado a verde grisáceo. Los dientes generalmente son de 3 a 6 mm de largo, de color café claro a oscuro, de 1 a 2 cm de separación. La espina generalmente es corta de 1 a 2 cm de largo, posee una inflorescencia de tipo paniculada de 5 a 6 metros de altura y densamente ramosa, tiene de 20 a 25 umbelas donde brotarán las flores de color verde y estambres amarillos. Las flores son de 68 a 75 mm de largo. El ovario es de 32 a 38 mm de largo, cilíndrico con cuello corto, casi terminado en punta sobre la base. Los filamentos miden de 45 a 50 mm de largo doblados hacia adentro junto al pistilo, insertos de 7 a 5 mm cerca de la base del tubo, las anteras son de 25 mm de largo (García-Mendoza, 2004). La clasificación taxonómica de *Agave tequilana* se describe a continuación:

División: Angiospermae

Clase: Monocotyledonae

Orden: Asparagales

Familia: Asparagaceae

Subfamilia: Agavoideae

Género: *Agave*

Subgénero: *Agave*

Especie: *Agave tequilana*

Variedad: Azul

APG III 2009

La mayoría de las especies de *Agave* son monocárpicas y semélparos, es decir, producen solamente una inflorescencia al final de su ciclo de vida al cabo de la cual la planta muere (Granados, 1993). *Agave tequilana* Weber variedad azul florece entre los 6 y los 12 años de edad dependiendo de su entorno

ambiental y el manejo agronómico que se le dé, una vez iniciado este proceso la planta muere en un tiempo promedio de 10 meses (Valenzuela, 1997).

A. tequilana tiene tres formas de reproducción, se puede reproducir asexualmente por los hijuelos de rizoma y formación de bulbilos en la inflorescencia o quiote y sexualmente por semillas.

Antes de la llegada de los españoles y su implementación en la industria tequilera *A. tequilana* podía encontrarse de manera silvestre (Zamora, 1990). Ahora se encuentra mayormente en cultivos en campos de industrias tequileras, centros de investigación o como plantas de ornato en jardines.

La forma de propagación más usual en la industria es por medio de los hijuelos de rizoma ya que las semillas tienen bajo porcentaje de germinación y presentan mucha variabilidad genética. Dado que para la producción de tequila la floración se reprime, cortando el eje floral al inicio de su emergencia para evitar que la planta gaste rápidamente sus reservas metabólicas en la formación de la inflorescencia, se conoce poco sobre los procesos de reproducción sexual y los cambios genéticos que inducen la transición de fase vegetativa a reproductiva.



Figura 2. Esquema de las formas de propagación en *Agave tequilana*. Adaptado de Arizaga y Ezcurra, 2002.

Se desconoce que o cuales son los factores más importantes que determinen el comienzo de la transición de la fase vegetativa a la reproductiva, que a nivel industrial y agronómico será de suma importancia, ya que esto nos dará la posibilidad de controlar o evitar la emergencia de la inflorescencia en *A. tequilana*. Esto representaría una gran ventaja dado a que en las plantaciones la floración no se da de manera homogénea y puede variar de días hasta años en una misma plantación lo cual implique jornadas de revisión constante en el periodo de floración del *A. tequilana* que va de febrero a marzo de cada año. En efecto el agricultor tiene que optar por cosechar toda la plantación llevándose plantas que pudieran no estar en su etapa optima de madurez, lo que disminuye el porcentaje de azúcares fermentables en la producción de tequila o cosechar el mismo campo en varias temporadas lo que les eleva el costo de jornadas y manejo de suelo dando ambas como resultado mayor gasto en la producción. En cambio si se pudiera saber qué es lo que marca la transición, esto nos indicaría el punto óptimo en la madurez de la planta para que esta sea cosechada y jimada para su uso en la producción de tequila y así tener una mayor eficiencia y producción.

Aunque se han descrito la ocurrencia de plantas incapaces de producir una inflorescencia conocidos como “novillos” las cuales no presentan pérdida de azúcares, su proceso de madurez es continuo y rápido y se identifica con el hundimiento del cogollo que deja de crecer, piñas anchas y amarillentas, sin embargo no se sabe si esta característica se deba al ambiente, suelo, el fondo genético o si solo se trata de algún retraso prolongado de su desarrollo. La existencia de plantas novillos también se ha reportado en *A. angustifolia* (Valenzuela, 2003), sin embargo esta característica parece ser inestable y no ha sido posible mantener la en líneas derivadas mediante hijuelos de rizoma. La obtención de información sobre este fenómeno a nivel genético y fisiológico ayudaría mucho, no solo en entender cómo es que se da el proceso pero además para sentar las bases para posteriormente desarrollar un método de detección rápido y eficaz para identificar las plantas que están en el proceso de transición de etapa vegetativa a reproductiva, así como poder manipular esta

transición ya sea para acelerar o retrasar la y poder obtener cultivos más homogéneos para una óptima cosecha asegurando la mayor cantidad de azúcares en la mayoría de las plantas que se llevarán al proceso industrial para la producción de tequila.

La transición de la etapa vegetativa a reproductiva ha sido descrito en detalle en relación a plantas anuales las cuales como su nombre lo indica florecen una vez al año cuando encuentra las condiciones óptimas tanto ambientales como de factores endógenos para llevar a cabo este proceso. Después la planta muere (plantas monocárpicas) y segrega las características genéticas en las semillas renovando el ciclo para el siguiente año. Por otro lado están las especies perennes las cuales pueden pasar un tiempo prolongado de varios años en etapa vegetativa para después entrar a su etapa reproductiva de floración y en seguida regresar a otra etapa vegetativa/reproductiva, alternando entre estas y floreciendo varias veces (plantas policárpicas) a lo largo de su vida como es el caso de la mayoría de los árboles. Por último las especies más raras en su modalidad de reproducción sexual son las plantas perennes y monocárpicas que son las que permanecen en el estado vegetativo por varios años y luego florecen solo una vez en su vida para después morir. Entre estas especies están las plantas del género *Agave* y la subfamilia *Bambusoideae*, que pueden llegar hasta los 100 años en etapa vegetativa. Los tiempos tan prolongados de la etapa vegetativa presentan una gran desventaja para el estudio de los procesos de transición entre la etapa vegetativa y la etapa reproductiva en dichas especies y por consecuencia no han sido ampliamente estudiadas durante esta transición.

Existen otros modelos más estudiados, como el caso de *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) la cual es una planta anual monocárpica cuyo ciclo de vida es muy corto, se ha descrito en detalle el proceso del cambio de identidad de un meristemo vegetativo a un meristemo reproductivo. Son varios los factores que influyen en esto y se pueden agrupar en seis rutas principalmente:

- a) Autónoma
- b) Asociado a la edad

- c) Fotoperiodo
- d) Asociado a fitohormonas, principalmente las giberelinas
- e) Temperatura ambiente
- f) Vernalización

Fornara *et al.*, 2010

La convergencia de estas rutas permite o induce en la planta la transición de su fase vegetativa a la reproductiva. El fotoperiodo y la temperatura son los factores más importantes en *A. thaliana* y son varios los genes que se cree que podrían estar involucrados en este fenómeno los cuales convergen en los genes conocidos como determinantes de la identidad del meristemo apical: *LEAFY (LFY)*, *APETALA1 (AP1)* y tres genes relacionados a éstos, *APETALA2 (AP2)*, *CAULIFLOWER (CAL)* y *FRUITFULL (FUL)* (Weigel and Nilsson, 1995; Liljegren *et al.*, 1999). Algunos de estos genes son factores de transcripción de las familias *MADS-box*, *SQUAMOSAPROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)* y *Basic Leucine Zipper Domain (bZIP)*, que en respuesta a estímulos del medioambiente, convergen sobre los genes integradores de la floración *FLOWERING LOCUS T (FT)* y *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1 (SOC1)*, los cuales coordinan los estímulos de las diferentes rutas para regular la iniciación de la etapa reproductiva y produciendo el cambio de identidad de meristemo vegetativo a meristemo reproductivo y conduciendo a la formación de la inflorescencia, como se muestra en la Figura 3.

reproductiva en *A. tequilana*. La estrategia adoptada para estudiar la regulación de estos cambios a nivel molecular ha sido el análisis de genes candidatos (*KNOX*, *MADS-box*, *ID* y *PIN*) para descifrar su papel en estos procesos en plantas de agave.

También se ha descrito los aspectos morfológicos de la transición a la etapa de reproducción sexual en *Agave tequilana*. Delgado S. y colaboradores en 2012 describieron la morfología que nos permite identificar las plantas que están en transición, donde las hojas más jóvenes cuando entran a fase reproductiva cambian de color de azul glauco a un verde opaco y crecen de una manera más lenta respecto a las hojas más viejas. Esto produce un efecto como de hundimiento del meristemo apical o “cogollo” denominado como el “comienzo del hundimiento”, esto ocurre previo a la emergencia del meristemo floral siendo el primer indicio de que la planta ya está llevando a cabo el proceso de transición de estado vegetativo a reproductivo. En la mayoría de los casos, dentro de un predio particular esto ocurre en la misma temporada de floración (febrero-mayo para *A. tequilana*) sin embargo hay un número significativo de casos en la que se da hasta un año o más después en las siguientes temporadas de floración.



Figura 4. Fases morfológicas del *Agave tequilana* durante la transición de estado vegetativo a reproductivo: a) fase vegetativa, b) fase comienzo del hundimiento, c) fase reproductiva Inflorescencia de 10cm y d) fase reproductiva inflorescencia de 30cm. (modificado de Delgado S. 2012).

Una herramienta que ha tenido mucho auge en los últimos tiempos es la secuenciación masiva de RNA mensajero (RNA-seq) que nos permiten generar millones de lecturas con cantidades mínimas de RNA o cDNA proveniente de algún tejido o célula en particular, ya sea con algún tratamiento y/o etapa específica del desarrollo del individuo las cuales pueden ser

mapeadas a un genoma de referencia para organismos modelo y cuantificar el nivel de expresión *in silico* de los transcritos secuenciados. En caso de no contar con un genoma de referencia para el modelo de estudio se puede hacer una reconstrucción *de novo* del transcriptoma y mapear las lecturas secuenciadas hacia este para poder cuantificar el nivel de expresión (Wang *et al*, 2009).

Estas técnicas nuevas de secuenciación llamadas NGS (secuenciaciones de nueva generación por sus siglas en inglés) nos permiten identificar los transcritos presentes en una célula y su abundancia, ya sea en una etapa específica del desarrollo o en una condición fisiológica (Wang *et al*, 2009). La primera técnica de secuenciación fue la diseñada por Frederick Sanger en 1975 que tenía como base la amplificación de fragmentos utilizando dideoxynucleótidos que interrumpían la elongación de la cadena a secuenciar debido a la falta del grupo libre de hidroxilo en la posición 3'. Después los fragmentos se revelaban mediante la separación por electroforesis corriéndose por separado las reacciones que identificaban cada nucleótido obteniendo así un patrón de bandas en orden de las que se deduce la secuencia de ADN (Figura 5)

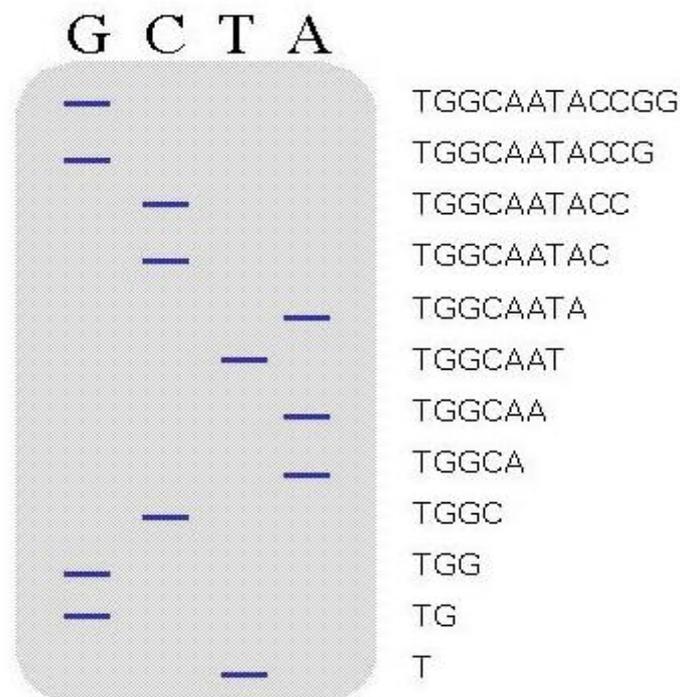


Figura 5. Esquema de electroforesis capilar de secuenciación Sanger.

Este método fue la base para el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva, y aunque existen varios instrumentos utilizados para la secuenciación en gran escala, el esquema es muy parecido para todos ellos. Primero el DNA o cDNA (si partimos de RNA mensajero) es fragmentado y se le añaden secuencias adaptadoras a los extremos, los fragmentos de DNA se amplifican clonalmente y se agrupan en clusters para su secuenciación empleando nucleótidos marcados los cuales emiten una señal que es detectada por un equipo que determina el nucleótido en cuestión, después se añaden nuevamente los nucleótidos marcados que emiten una nueva señal para que esta sea detectada y se determine la nueva base añadida, se hace un nucleótido por ciclo hasta que se secuencian todos los nucleótidos en la cadena hasta que la cadena es secuenciada completamente añadiendo un nucleótido por ciclo.

Gracias a la gran profundidad de secuenciación los datos obtenidos pueden ser utilizados para el diagnóstico de enfermedades, secuenciación *de novo* de genomas complejas y detección de genes expresados diferencialmente (Trapnell C. *et al*, 2010) entre otros.

El análisis transcriptómico o de RNAseq es de gran utilidad porque nos revela el panorama de transcritos en una etapa, fase o condición a la que se enfrenta el organismo o tejido bajo estudio y permite ver los cambios a nivel genético en diferentes condiciones o fases del desarrollo.

Pocos estudios se han llevado a cabo a nivel transcriptómico en *Agave tequilana* y los primeros se llevaron a cabo con las primeras generaciones de secuenciación como la de Sanger y por pirosecuenciación. En estos estudios, fueron secuenciados distintos tejidos en condiciones de luz y oscuridad de donde se pudieron obtener casi 300 mil lecturas (Simpson *et al*, 2011) pero no fueron aptas para determinar patrones de expresión *in silico* (Martínez-Hernández *et al* datos no publicados). Más recientemente se publicó un estudio donde se realizó un transcriptoma ensamblado *de novo* en *Agave deserti* y *Agave tequilana*, donde se encontraron en ambas especies un mínimo de 35

mil genes codificantes de proteínas putativas (Gross S. M. *et al*, 2013) y dentro de nuestro grupo tenemos datos de RNAseq de diferentes tejidos de *A. tequilana*, *A. Victoria-reginae* y *A. striata* (Avila de Dios et al datos no publicados). La experiencia en análisis transcriptómica en distintos tejidos y especies de agave nos abrió la posibilidad de llevar a cabo por la primera vez en el género agave el presente estudio de análisis de RNAseq en tejido meristemático durante el proceso de la transición entre la etapa vegetativa y la etapa reproductiva en *A. tequilana* con el fin de identificar cambios en patrones de expresión de genes específicos y así profundizar nuestro conocimiento de este fenómeno.

III.- Justificación

El análisis *in silico* de los patrones de expresión diferencial de genes durante la transición de etapa vegetativa a reproductiva en *Agave tequilana* dará un mejor conocimiento a nivel genético y fisiológico de la regulación de este proceso y abrirá la posibilidad a futuro de desarrollar un método sencillo y confiable para identificar el inicio de esta transición permitiendo así la cosecha óptima de plantas.

IV.-Hipótesis

El análisis transcriptómico de las fases de la transición entre la etapa vegetativa y la etapa reproductiva en *A. tequilana* nos permitirá identificar los genes claves en este proceso basado en cambios en sus patrones de expresión *in silico*.

V.-Objetivos

V.1.-Objetivo general

La caracterización del transcriptoma de las 4 etapas de la transición de estado vegetativo a estado reproductivo en *Agave tequilana* y la identificación de genes que putativamente jueguen un papel importante en este proceso.

V.2.-Objetivos específicos

1. Generar y ensamblar *de novo* las lecturas generadas en la secuenciación de muestras de RNA obtenidos de meristemos durante las 4 etapas de la transición vegetativa/reproductiva en *A. tequilana*.
2. Anotar las secuencias ensambladas y determinar los patrones de expresión *in silico* de los genes codificantes de proteínas identificados.
3. Identificar los genes que muestran cambios significativos en sus patrones de expresión durante la transición de estado vegetativo a reproductivo en *Agave tequilana*.
4. Seleccionar un grupo de genes y validar los patrones de expresión diferenciales observados durante la transición de la etapa vegetativa a reproductiva en *Agave tequilana* por análisis tipo qRT-PCR.

VI.-Materiales y métodos

VI.1.- *Material vegetal y esquema de muestreo*

Se tomaron muestras del meristemo de 12 plantas de *A. tequilana* de campos de producción de la tequilera Real de Pénjamo ubicada en Pénjamo Guanajuato, las cuales representaban 3 réplicas biológicas de las cuatro fases (Figura 4) descritas para la transición de la etapa vegetativa a la etapa reproductiva (meristemo vegetativo, meristemo en comienzo del hundimiento, meristemo floral de 10 cm y meristemo floral de 30 cm) (Delgado Sandoval *et al.*, 2012) en *A. tequilana*. Las plantas fueron disectadas para obtener el meristemo como se muestra en la Figura 6 con el mínimo de tejido de primordios de hoja posible.

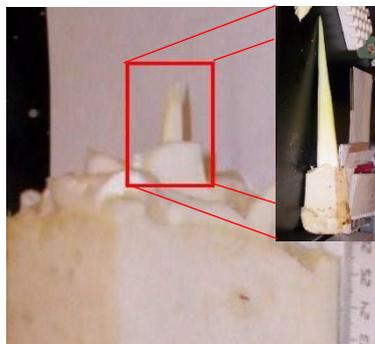


Figura 6. Meristemo de *Agave tequilana*.

Al tejido meristemático obtenido se aplicó RNazap para evitar la acción de RNasas y se congeló inmediatamente con nitrógeno líquido, después se puso en hielo seco para su transportación.

VI.2.- Extracción de RNA Total

Se molió cada uno de los meristemos congelados en un mortero de porcelana cuidando que no se descongelara adicionando constantemente nitrógeno líquido para mantener el tejido congelado. Se colocó el tejido molido bien etiquetado en tubos eppendorf de 1.5 ml conteniendo 150 mg cada uno.

Se homogeneizaron 150 mg de tejido molido en 1 mL de trizol, se agitó en aparato tipo Vortex 15 segundos y se incubó a temperatura ambiente durante 5 min. Se agregaron 200 µL de cloroformo a 4 °C, se mezcló por inversión y se incubó durante 2 min a temperatura ambiente. Se centrifugó 15 min a 12 000 rpm a 4 °C y se transfirieron 600 µL del sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 mL. Se agregaron 600 µL de etanol al 70 % preparado con agua DEPC y se mezcló. Se transfirieron 600 µL de la mezcla anterior a una columna del Kit de Life Technologies PureLink™ RNA Mini Kit AMBION y se centrifugó 15 min a temperatura ambiente a 12 000 rpm descartando el líquido drenado. Se realizaron lavados del ARN agregando Wash Buffer I y II, 700 µL de cada uno, centrifugando 15 segundos cada vez a temperatura ambiente a 12 000 rpm luego se secó el paquete celular centrifugando durante 1 minuto a temperatura ambiente a 12 000 rpm después se agregaron 100 µL agua libre de RNasa para disolver el ARN incubando durante 1 min. Se midió concentración en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 de Thermo Scientific y se corrió una alícuota de 300 ng en gel de agarosa al 1.2 % a 70 V durante 30 min para comprobar la integridad del RNA extraído. Las bandas de RNA ribosomal de 18 y 28S deben ser visibles e íntegros.

VI.3.- Secuenciación

El RNA total de cada muestra fue entregado a la Unidad de Genómica Avanzada (UGA) del Cinvestav Irapuato, donde fue sintetizado el DNA complementario (cDNA) y secuenciado por tecnología Illumina Mi-Seq en formato de lecturas pareadas (paired-end) 2X250 pb, se secuenciaron 12

bibliotecas etiquetadas de manera individual en tres corridas cubriendo así las cuatro etapas con sus 3 réplicas para cada una.

VI.4.- Análisis de las bibliotecas.

Las bibliotecas obtenidas fueron analizadas con ayuda del programa FastQ para verificar la calidad de estas de manera visual y así poder tomar los parámetros para su depurado, con el programa Trimmomatic (Bolger AM *et al.*, 2014) Versión 0.32 el cual nos permite eliminar adaptadores, remover secuencias de baja calidad, bases de baja calidad, eliminar el número de bases no deseadas en ambos extremos y eliminar lecturas con alguna determinada longitud. Para este caso no se realizó algún corte en los extremos, se eliminaron los adaptadores proporcionados por el equipo de Illumina, se eliminaron las bases o secuencias cuyo promedio en calidad phred fueron menor a 20 cada 4 nucleótidos a lo largo de la secuencia y se eliminaron las secuencias de longitud menor a 75 nucleótidos. Se hizo tratando las lecturas como SE para obtener una mayor cantidad de datos, con el siguiente comando:

```
$ "java -cp /path_to_trimmomatic-0.32.jar  
org.usadellab.trimmomatic.TrimmomaticSE  
nombre_archivo_de_entrada.fastq.gz nombre_archivo_desalida_fastq.gz  
ILLUMINACLIP:/home/june/Trimmomatic-0.32/adapters/TruSeq3-PE-  
2.fa:2:30:10 LEADING:3 TRAILING:3 SLIDINGWINDOW:4:20 CROP:235  
HEADCROP:14 MINLEN:75"
```

Se volvieron a checar de manera visual con ayuda de FastQC (versión 3) para verificar una calidad óptima para realizar el ensamblado del transcriptoma.

VI.5.-Ensamblado

Se realizó el ensamblado global para todas las bibliotecas y haciendo un solo archivo con las secuencias "forward" (R1) y "Reverse" (R2), el ensamblado se realizó en el servidor remoto de la universidad de Maryland en la plataforma

DIAG por conectividad VPN remoto, con el ensamblador Trinity (Hass B J *et al.*, 2013) versión 2013-11-10 el cual es un programa que ayuda a la reconstrucción *de novo* de datos de RNA-Seq de una manera más astringente y robusta evitando que se reconstruyan secuencias erróneas o quimeras. Se realizó el ensamblado con los parámetros por default en modo “--single” adicionando el comando “--run_as_paired” para tomar ventaja de las lecturas pareadas que pasaran el filtro y a la vez utilizar las lecturas sencillos que pasaron el filtro pero que su par no paso, para lo cual se utilizó el comando:

```
$ "qsub -P diag -q highmem.q -V -b y
/diag/software/trinityrnaseq_r20131110/Trinity.pl --seqType fq --JM
100G --single /diag/cloud/eavila/Natzul/ensamble_SE/allSEc.fastq --
run_as_paired --output /diag/cloud/eavila/Natzul/ensamble_SE --CPU 20

export PATH=$PATH:/diag/software/bin."
```

Esto nos dará como resultado el archivo en formato fasta de nuestros transcritos reconstruidos con los datos de secuenciación.

VI.5.- Mapeo y cuantificación.

Se mapearon las lecturas para cada una de las bibliotecas utilizando como referencia el ensamblado obtenido por Trinity y las bibliotecas ya curadas que pasaron por el proceso de calidad. Se utilizaron los scripts de Trinity de la versión 20140717, “bowtie_PE_separtet_then_join.pl” para mapear las lecturas R1 y R2 y generar el archivo con extensión “.bam” donde se encuentran las lecturas que mapearon correctamente de R1 y R2 de manera correcta hacia un mismo transcrito y están ordenados por nombres, este archivo será cargado en el script “align_and_stimate_abundance.pl”, en la opción “-aln_method” se indica la ruta donde se encuentra el archivo .bam que fue generado previamente, esto para cada biblioteca. Estos scripts están en el paquete de Trinity, el primero se utilizó como alineador Bowtie (Langmead *et al.*, 2009) y el segundo método de estimación RSEM (Li y Dewy, 2011) que realiza el conteo de las lecturas mapeadas con cada una de las bibliotecas, este nos arroja para cada biblioteca los conteos para cada transcrito o isoforma al igual que para cada componente o gen que fueron reconstruidos en el proceso de

ensamblado , para realizar la matriz de contingencia que contiene los conteos de todas las bibliotecas e utilizó el script “abundance_estimates_to_matrix.pl” en esta se indica el método utilizado para la estimación de los conteos y los archivos que contienen los conteos para cada biblioteca en el orden en que se requieran para que sean utilizadas para el análisis de expresión diferencial esto se hace para los resultados de los conteos de los genes y las isoformas por separado. Esto genera tres matrices: matriz de conteos crudos, matriz normalizada en transcritos por millón (TPM) y la matriz normalizada por la media truncada de valores de M (TMM). Para los análisis posteriores se utilizara la matriz de conteos crudos. Los comandos utilizados en esto pasos fueron:

1.- Mapeo:

```
$ "TRINITY_HOME/util/bowtie_PE_separate_then_join.pl --seqType fq(tipo de secuencia) -target /ruta_hacia_transcriptoma/Trinity.fasta --left /ruta_hacia_las_bibliotecas/reads_sample1_R1.fastq --right /ruta_hacia_las_bibliotecas/reads_sample1_R2.fastq -aligner bowtie -prep_rsem -trinity_mode -juts_prep_build"
```

Nota: el parámetro “--just_prep_build” se especifica solo la primera vez para la construcción de los índices que utiliza el alineamiento y la opción “Trinity_mode” crea un archivo con los identificadores de cada transcrito uno por línea para ser usado en el análisis. Esto se hace para cada biblioteca.

2.- Estimación de conteos:

```
$ "TRINITY_HOME/util/align_and_estimate_abundance.pl --transcripts /ruta_hacia_transcriptoma/Trinity.fasta --seqType fq --left /ruta_hacia_las_bibliotecas/reads_sample1_R1.fastq --right /ruta_hacia_las_bibliotecas/reads_sample1_R2.fastq --est_method RSEM -aln_method /ruta_hacia_archivo.bam --trinity_mode --prep_reference"
```

Nota: el parámetro “-prep_reference” se especifica solo en la primera vez para que sean construidos los índices necesarios para el proceso, también se puede especificar el número de núcleos a usar en el proceso con la parámetro “-thread_count” por defecto 4.

2.- Creando matrices de contingencia:

```
$ "TRINITY_HOME/util/abundance_estimates_to_matrix.pl -est_method  
RSEM /ruta_para_resultado_estimacion_de_conteos/sample1.results  
/ruta_para_resultado_estimacion_de_conteos/sample2.results ...
```

Nota: Se especifican las rutas para cada resultado en el orden en que se quiera tener la matriz de conteos, se hace por separado para los transcritos (isoformas) y los genes (componentes) con el cuidado de no mezclarlos.

VI.6.- Análisis de expresión diferencial.

Utilizando la matriz de conteos crudos, analizaron los datos para determinar los genes expresados diferencialmente haciendo las comparaciones entre las etapas adyacentes durante la transición de estado vegetativo a reproductivo en total se hicieron tres pares de comparación: par 1; "Mv vs Mch", par 2; "Mch vs ln10cm" y par 3; "ln10cm vs ln30cm".

Este análisis se realizó con el paquete de bioconductor con la librería edgeR (Robinson MD *et al.* 2010) en el programa R (versión 2011). Con el método clásico de comparaciones entre pares tomando como positivos los genes que tuvieran una tasa de falso descubrimiento (FDR) menor a 0.05

VI.7.- Búsqueda de similitud

La búsqueda de similitud se realizó con los algoritmos BLAST (Altschul et al, 1990) del paquete BLASTALL utilizando tBLASTx el cual permite buscar una secuencia de nucleótidos traducida en una base de datos de nucleótidos traducidos y tBLASTn el cual permite buscar la traducción de secuencias en nucleótidos a proteínas en una base de datos de proteínas, ya que es mejor buscar las proteínas codificadas por los genes lo que nos dará un mayor porcentaje de similitud entre los genes codificados por las secuencias. La búsqueda se hizo contra la base de datos de RefSeq (Pruitt, 2005) para

plantas con un valor de esperanza máximo de 1×10^{-5} realizando la en formato de salida tabular y xml.

VI.8.- Anotación funcional

Se utilizó el programa Blast2Go (Conesa *et al*, 2005) utilizando el archivo xml obtenido en la búsqueda de similitud, con los parámetros por default en las opciones de mapeo y anotado, para obtener los términos biológicos de Gene ontology "GO" que se cargaran en el servidor de anotación automática KASS (Moriya *et al.*, 2007) para identificar las rutas metabólicas presentes en el transcriptoma de acuerdo a la información base de Enciclopedia de Kioto de Genes y Genomas "KEGG" (Kaneisha y Goto, 2002). Esta información fue guardada en una base de datos en MySQL.

VI.9.- Validación qRT-PCR.

Del análisis de expresión se seleccionaran algunos genes candidatos dependiendo de expresión diferencial y/o importancia en el grupo de trabajo (Tabla 1). Con el programa Primer Express 3.0 se diseñaran los oligonucleótidos para cada gene y se realizó la validación para cada oligonucleótido.

Tabla 1. Nucleótidos utilizadas para el análisis qRT-PCR

Oligonucleotido	Secuencia
AtqMADS2-FW	5'-GATGCCAATAGAGCCTTACG-3'
AtqMADS2-RV	5'-TGAGGCTGGCGGTTACA-3'
AtqCwinv1-FW	5'-AAGGCAGAACCTGCATCACG-3'
AtqCwinv1-RV	5'-AAGCCTTGAGCTCTGATACC-3'
AtqTPS1-FW	5'-CAAGATGAAAGTCGGTTGGTT-3'
AtqTPS1-RV	5'-CTGAGCGAGATGGCAGAGT-3'
AtqPIN1-FW	5'-GTCCCATTCGTGTTCTCAAAGG-3'
AtqPIN1-RV	5'-TGCAATCAGCATCCCGAATA-3'
AtqPIN1So-FW	5'-GGGCTAACTGCGCTAATGTCA-3'
AtqPIN1So-RV	5'-CCCTTCTCGTGATCCATTCAG-3'
ACT2-FW	5'-GTACAACCGGTATTGTGCTGGAT-3'
ACT2-RV	5'-GCTTGGTGCAAGTGCTGTGATTTC-3'

Se llevó a cabo la extracción de RNA total descrita anteriormente en el apartado VI.2 y para la síntesis de cDNA se llevó a cabo el siguiente protocolo:

Se tomaron 500 μ m del RNA extraído para cada gene de interés en las etapas donde se encontró la expresión diferencial de los genes candidatos, se agregó 2 μ L de una mezcla de oligonucleótidos uno para el gene constitutivo actina (ACT2) y los otros oligonucleótidos de los genes de interés en proporción 1:1, en concentración de 5 μ M, Los cuales se colocaron en el termociclador de Applied Biosystems Veriti®96 a 65 °C durante 5 min. Posteriormente, se agregaron 4 μ L de regulador RT, 2 μ L de dNTPs 10 mM y 1 μ L de enzima transcriptasa reversa de la compañía Fermentas. Se amplificó en un termociclador Applied Biosystems Veriti®96 en un programa con un ciclo de 90 min a 45 °C y otro a 70 °C durante 10 min.

Con este cDNA se realizó la validación de los oligonucleótidos.

Se hicieron diluciones seriales 1:5 para los genes de interés, realizando pruebas por triplicado para cada uno, con un templado de control negativo

(NTC) utilizando cuatro diluciones y el cDNA a la concentración obtenida de la síntesis. Cada reacción conteniendo: 3.5 µL de cDNA 1:10; 5.0 µL de Sybr Green estándar (STD); 0.2 µL de oligonucleótido reverso a 5 µM; 0.2 µL de oligonucleótido sentido a 5 µM; y 1.1 µL agua mili-Q (H₂O_{MQ}).

PCR cuantitativa en tiempo real qRT-PCR

Para cada gene se realizaron tres réplicas independientes de qRT-PCR, cada una de ellas por duplicado incluyendo un control negativo NTC, también por duplicado. Se hicieron reacciones de 10 µL con los siguientes componentes: 3.5 µL de cDNA 1:10; 5.0 µL de Sybr Green STD; 0.2 µL de oligonucleótido reverso a 5 µM; 0.2 µL de oligonucleótido sentido a 5 µM; y 1.1 µL H₂O_{MQ}. Con el programa StepOne 2.2.2 para el termociclador de Applied Biosystems StepOnePlus®96, donde se programó una temperatura de alineamiento y extensión de 60 °C por 30 s.

Análisis de cuantificación

Se hace de manera gráfica en Excel, utilizando el promedio ciclo del umbral (C_T) obtenido proporcionado por el programa StepOne 2.2.2 de los dos genes de interés y del gen constitutivo actina ACT2, donde se graficó la diferencia del ciclo del umbral (ΔC_T) generado de la resta de del C_T del gene de interés menos el C_T del gene constitutivo, después se obtiene la ΔΔC_T restando el ΔC_T de cada gene menos el del gene ΔC_T constitutivo, para obtener la cuantificación relativa (RQ) mediante la fórmula $RQ=2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ y se grafica para cada gene en los estadios donde se encontró expresión diferencial de manera *in silico*.

VII.-Resultados y discusión

VII.1.Toma de material vegetal y extracción de RNA

Se tomaron muestras de 12 plantas en predios de la Tequilera de Real De Pénjamo en, Pénjamo Guanajuato. Las plantas tenían aproximadamente de cuatro a 5 años para las muestras de Mv. Estas plantas estaban totalmente en estado vegetativo y no presentaban síntomas de hundimiento del cogollo. Utilizamos plantas entre 5 y 6 años para la etapa Mch, estas plantas estaban en fase de transición y todavía no tenían desarrollado un meristemo floral. Para las etapas de In10cm e In30cm, utilizamos plantas de 6 a 7 años verificando que ya tuvieran una inflorescencia o quiole y se midió de la base de las hojas más jóvenes hacia la punta del meristemo emergente tomando las que tuvieran 10 cm de largo para las muestras In10cm y las que tuvieran entre 28 y 30 para las muestras de In30cm.

Las plantas se disectaron hasta obtener un cubo aproximadamente de 1 a 1.5 cm³ como se muestra en la Figura 6. De estas muestras se extrajo el RNA total con tres réplicas biológicas para cada estadio durante la transición, para ser mandadas a secuenciación se revisó la calidad del RNA de manera visual en un gel de agarosa, donde se deben de observar dos bandas que corresponden al RNA ribosomal (rRNA) de las subunidades 28S y 18S (Figura 7).

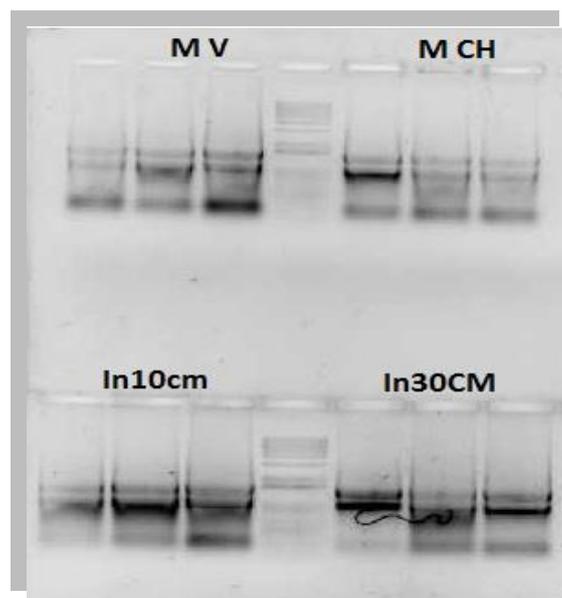


Figura 7. Gel de agarosa al 1.2% del RNA extraído.

También se revisó la calidad de manera cuantitativa dado que la concentración requerida para la secuenciación es de 50 ng/ml, además se checaron las relaciones de absorbancia a 260 nm y 280 nm que debe ser de 2 para RNA puro. Relaciones más bajas a 1.8 indicarían presencia de proteínas o trazas de fenol y para la relación entre la absorbancia a 260 nm y 230 nm relaciones más bajas a 2 indicarían la presencia carbohidratos.

Se tomaron las muestras en los estadios determinados debido a que eran etapas más cercanas a la transición de estado vegetativo a estado reproductivo de acuerdo a lo reportado (*Delgado S. et al, 2012*), esto para asegurar que se estaban tomando muestras donde pudiéramos comparar los genes y su expresión diferencial durante la transición y tratar de identificar cuales genes pudieran fungir como inductores o represores a la fase reproductiva. Así en el análisis de los genes en la etapa vegetativa para las muestras “Mv” esperábamos que estén sobre expresado de manera preferencial los genes de identidad vegetativa. En el caso de las muestras “Mch” se espera encontrar expresados diferencialmente los genes que regulen la transición de etapa vegetativa a reproductiva y que los genes que estaban expresados diferencialmente en la etapa “Mv” de nuevo cambien sus patrones de expresión. Las últimas dos etapas “In10cm” e “In30cm” se escogieron para ver el comportamiento de los genes de identidad floral y vegetativa una vez dada la señal de transición y determinar si estos patrones se mantenían más allá de la etapa de comienzo del hundimiento, seguían sobre expresados los inductores o si los represores seguían regulados. Se eligieron esas dos alturas para asegurar que se tenían etapas en estado reproductivo pero que estuvieran lo más cercano a la transición, debido a que la inflorescencia del Agave crece muy rápido una vez que esta se empieza a desarrollar (hasta 2.5 cm por día, Valenzuela, 1997). Se decidieron tomar 3 réplicas biológicas por ser un número aceptable para llevar a cabo los análisis posteriores de expresión diferencial (*Robinson MD et al. 2010*) y se eligieron las 4 etapas descritos debido a los costos y el presupuesto disponible para la secuenciación. Hubiera estado bien tener otras dos etapas, una de estado vegetativo más joven de 2 a 3 años aproximadamente para ver si los genes en estado vegetativo se comportan

igual durante toda esta fase y cambian ya hasta que llegan al comienzo del hundimiento o si van cambiando dependiendo del grado de madurez de la etapa vegetativa. Otra etapa de interés es donde la inflorescencia tuviera más de 80 cm para identificar los genes relacionados con la determinación y mantenimiento de la identidad floral.

Adicionalmente, el análisis de muestras de otros tejidos, tales como hojas jóvenes y adultas y piña hubiera permitido integrar bien todo los componentes involucrados en este proceso, especialmente dado el comportamiento del florigen (FT) (Turck F. et al., 2008) que se transcribe en las hojas y de ahí es translocado a al meristemo y de las hormonas como las giberelinas y auxinas que son muy importantes para la transición en otras especies vegetales modelo como *A. thaliana* (Mutasa-Gottgens, et al., 2009)

Los RNAs extraídos fueron de buena calidad y en concentración obtuvimos más de lo requerido para su secuenciación. La integridad (Figura 7) y las concentraciones (Tabla 2) se pueden ver de manera muy clara, además las relaciones de la absorbancia nos indican que las muestras no tenían contaminantes residuales que pudieran quedar en el proceso de extracción y que el manejo y transportación fueron los adecuados para evitar la degradación los RNAs.

Tabla 2. Calidad del RNA extraído de las muestras.

Muestra	ng/μl	260/280	260/230
MV 1	2197	2.07	2.34
MV 2	1797.6	2.09	2.28
MV 3	2254	2.07	2.28
MCH 1	1612.2	2.1	2.36
MCH 2	1891.4	2.09	2.37
MCH 3	1879.6	2.8	2.36
In10cm 1	1238.9	2.09	2.33
In10cm 2	1346.5	2.09	2.2
In10cm 3	2222.1	2.08	2.32
In30cm 1	680.8	2.05	2.37
In30cm 2	1578.8	2.1	2.08
In30cm 3	1877.9	2.9	2.32

VII.2- Secuenciado y Depurado

Las muestras fueron secuenciadas en la plataforma Illumina Mi-Seq en formato de lecturas pareadas con longitud de 31 hasta 250b (2X250), se llevaron a cabo 3 corridas comprendiendo 4 bibliotecas cada una, secuenciando en si 12 bibliotecas en total. Se secuenciaron 7.75 Gb para obtener 29.8 millones de lecturas, en promedio 0.65 Gb por biblioteca y 2.48 millones de lecturas en promedio para cada sentido. A cada base secuenciada se le asigna una

probabilidad de error, que puede ocurrir durante la secuenciación, esta se define como calidad phred (Q) que tiene una relación logarítmica con la probabilidad de error. Si una base secuenciada en la posición "x" tiene una calidad Q igual a 10 esto significa que la base secuenciada en esa posición tiene una probabilidad del 10 % que sea errónea, si Q es de 20 tiene una probabilidad de 0.1% que esta sea errónea. Las lecturas secuenciadas en sentido directo (R1) tuvieron en promedio una mejor calidad que las secuenciadas en sentido reverso (R2), el 83.9% de las secuencias en R1 tenían una Q igual o mayor a 30 y de las R2 el 76.4% de las lecturas tienen una Q igual o mayor a 30.

Algunas de estas secuencias pueden contener parte de los adaptadores usados en la secuenciación por lo que tienen que ser removidas, para realizar el ensamblado lo ideal es que las secuencias tengan como mínimo una Q igual o mayor a 20 para evitar la formación de secuencias erróneas o quimeras, por lo que se removieron las bases del final que no cumplieran con este criterio, se utilizó el programa Trimmomatic para hacer el proceso de calidad y para verificar visualmente se utilizó el programa FastQC. En Trimmomatic las lecturas pueden ser tratadas como pareadas o como únicas, pero al hacerlo como pareadas si una lectura de un par no pasa los criterios de calidad ambas son desechadas, lo que reduce el número de lecturas para posteriores análisis, en modo de únicas se examina por separado cada sentido y se eliminan sólo las lecturas que no cumplen con el criterio. Lo ideal es tener el mayor número de secuencias con la mejor calidad, al hacerlo como pareadas se eliminaban casi el 30% de cada biblioteca debido a que las secuencias R2 tienden a ser de menor calidad que las R1, por lo que se optó por hacerlo de manera separada para cada sentido donde se obtenían más de 80% incluso con las R2. Mediante FastQC se puede ver de manera gráfica la distribución de la calidad a lo largo de las lecturas, al principio las lecturas no estaban depuradas y se notaba una gran abundancia de bases con calidades inferiores a Q20, esto a lo largo de las secuencias con forme va aumentando la longitud la calidad va disminuyendo y a partir de la base 205 esta decae debajo del Q18 (Figura 8). Para las lecturas R2 esto se ve más pronunciado debido a que el proceso de secuenciación en el sentido inverso suele ser menos preciso y en estas la calidad baja hasta una Q menor a 16 en la base 160 aproximadamente (Figura 9).

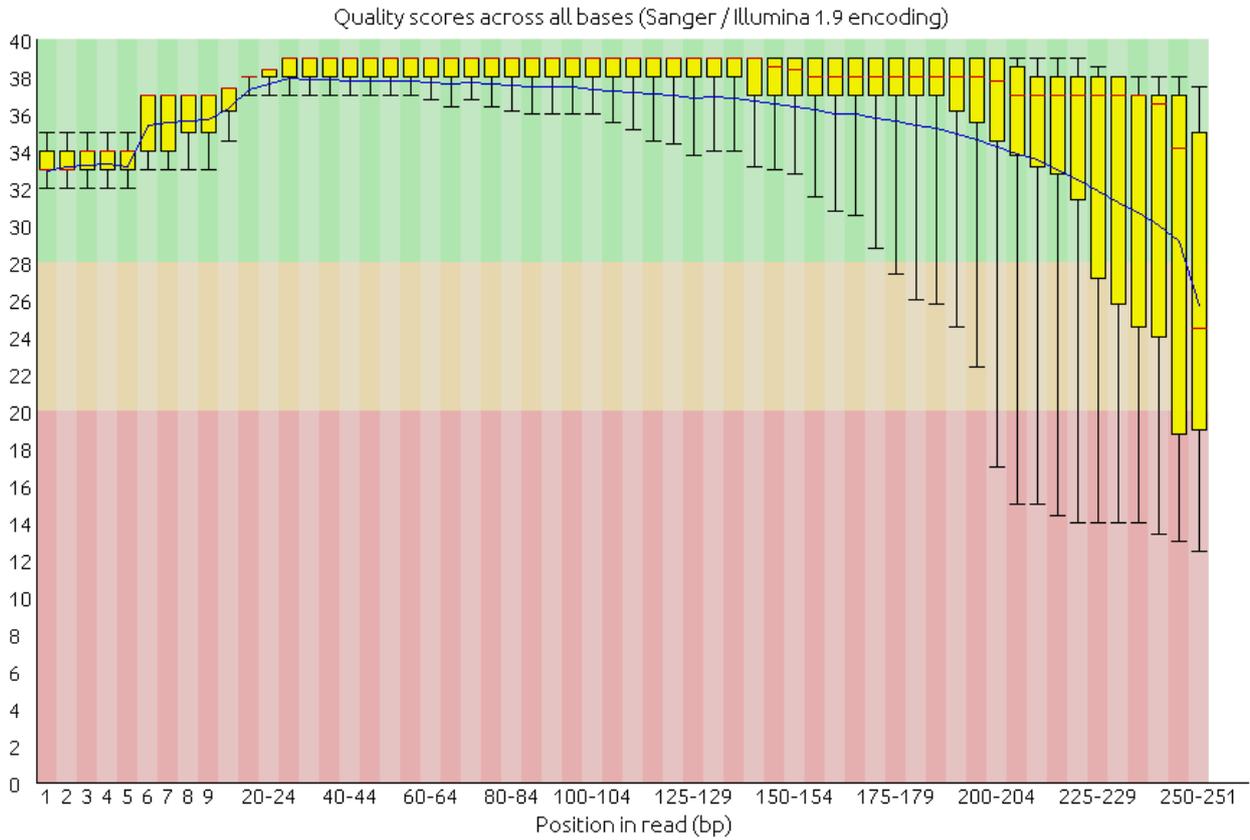


Figura 8. Grafica de calidad por base, de todas las secuencias R1 crudas.

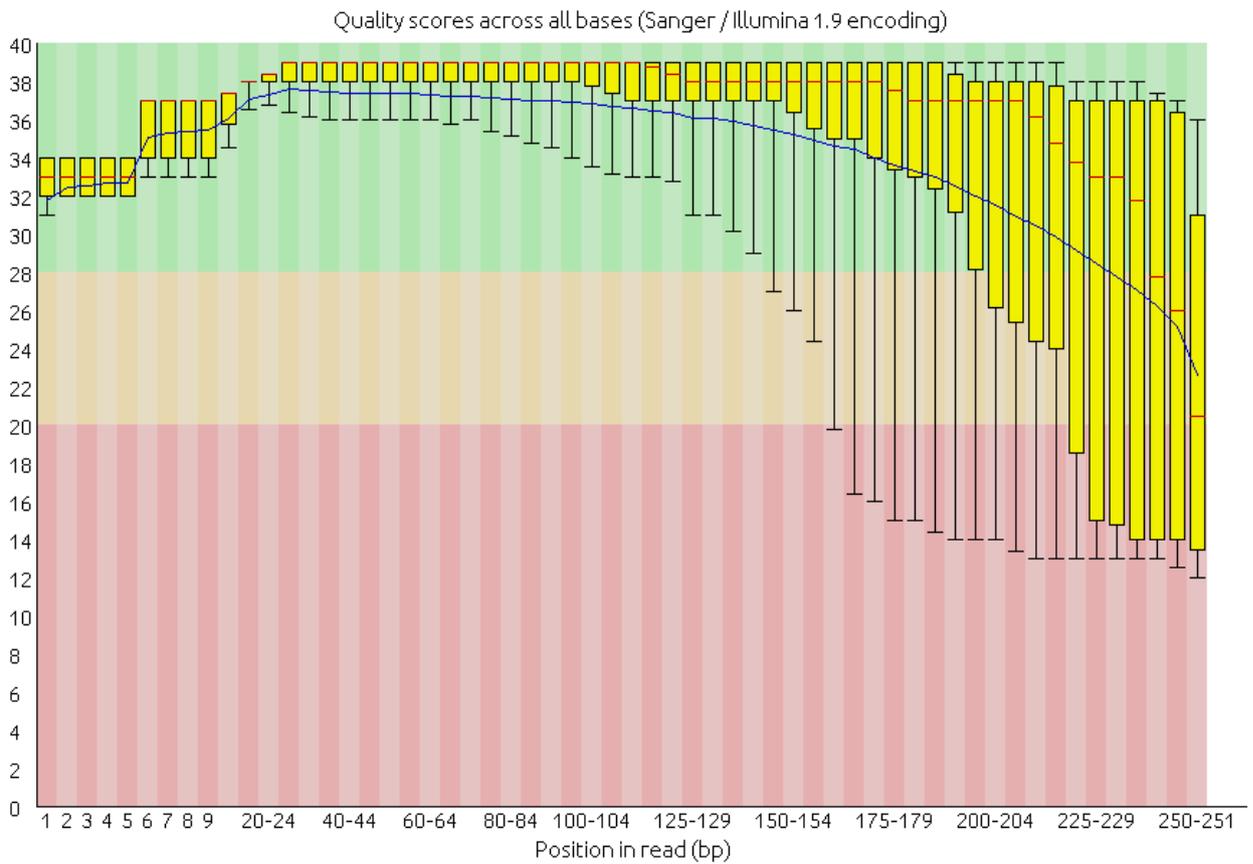


Figura 9. Grafica de calidad por base, de todas las secuencia R2 crudas.

Por tal motivo se tuvieron que depurar mediante Trimmomatic, la cual puede eliminar residuos de los adaptadores utilizados en la secuenciación, eliminar bases con baja calidad, secuencias de longitud pequeña y secuencias en donde no se cumpla el umbral deseado para la calidad en promedio para cada cierto número de bases. Las secuencias fueron tratadas para que se checara la calidad en promedio cada 4 bases a Q20 y que tuviera como mínimo una longitud => a 70 bases, para tener las secuencias de mejor calidad y tamaño para los siguientes análisis, para evitar la formación de quimeras en el ensamblado. Las secuencias R1 que pasaron el depurado fueron 28.7 millones de lecturas todas con una calidad mayor o igual a Q34 (Figura 10) en promedio a lo largo de las lecturas, lo que quiere decir que hay una probabilidad 99.9996% de que las bases hayan sido secuenciadas de manera correcta, para R1 se eliminaron solo el 3.8% lo que nos da una buena profundidad para realizar el análisis de expresión diferencial.

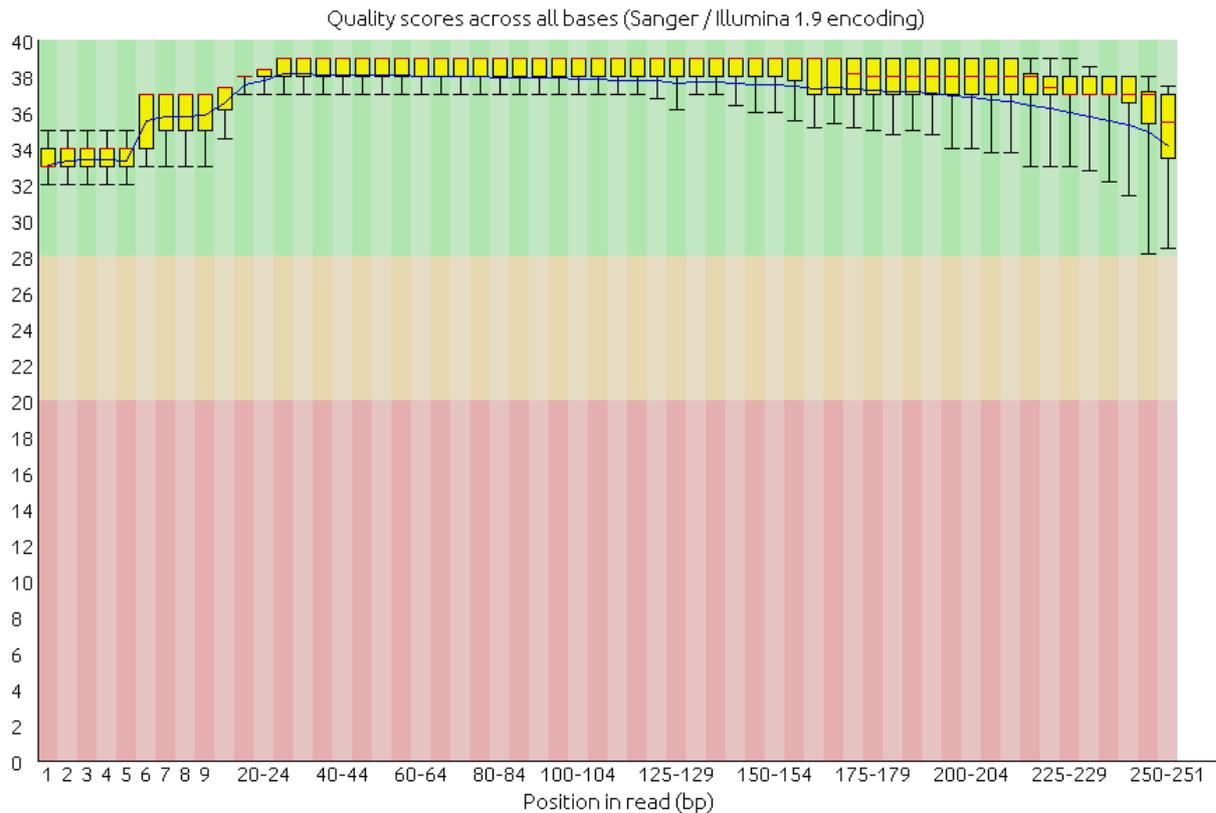


Figura 10. Grafica de calidad por base de las secuencias R1 depuradas.

Para las secuencias en sentido R2 se obtuvieron después del depurado, 27, 419,108 secuencias perdiéndose solo el 8.2% de todas las secuencias y obteniéndose una calidad mayor o igual a Q32 (Figura 11) en promedio a lo largo de las lecturas, lo que quiere decir que en promedio las lecturas tienen una certeza del 99.9993% de que las bases hayan sido secuenciadas de manera correcta.

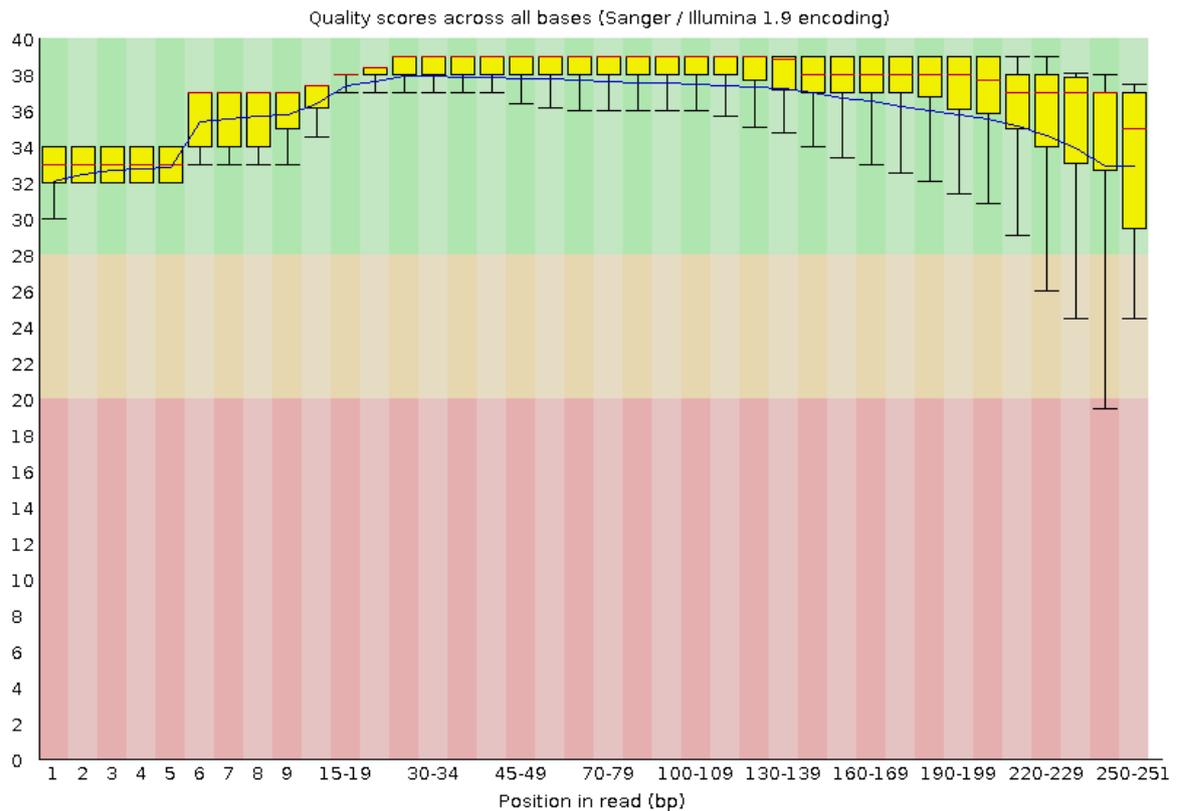


Figura 11. Grafica de calidad por base de las secuencias R2 depuradas.

En general la secuenciación fue como se esperaba de acuerdo al formato de secuenciación de Illumina 2X250 en lecturas pareadas, donde las lecturas secuenciadas en sentido directo R1 siempre son de mejor calidad que las secuenciadas en sentido reverso R2, y siendo en formato pareado esto ayuda a aumentar la longitud de 250 hasta 400 o 500 bases debido a que estas traslapan entre si lo que nos ayuda a una mejor reconstrucción en un ensamblado *de novo*. En cuanto a la calidad que fue en promedio de Q33 en general es una calidad muy buena donde tenemos la certeza de que la mayoría de las bases fueron secuenciadas de manera correcta y solo se eliminó el 6%

de las lecturas secuenciadas, teniendo la mayor cantidad posible de lecturas con una calidad aceptable, para así poder generar un ensamblado con transcritos de longitud más larga para facilitar los análisis posteriores.

VII.3- Ensamblado y mapeo

Se realizó un ensamblado de manera global con las lecturas que pasaron el proceso de depurado, reconstruyendo 221,686 secuencias que potencialmente representan transcritos funcionales en *Agave tequilana*. Para verificar la calidad de los transcritos se suele reportar algunos estadísticos, como la longitud promedio, la longitud máxima, longitud mínima, número de bases ensambladas y el estadístico llamado N50 que es la longitud mínima de las secuencias que representan el 50% de una colección de secuencias. Los estadísticos obtenidos para el ensamblado (Tabla 3) fueron de gran calidad tomando como referencia el N50 que fue de 1666 nucleótidos esto nos dice que los transcritos reconstruidos son de tamaño adecuado para poder identificar las secuencias homólogas en otras especies.

Tabla 3. Estadísticos del transcriptoma ensamblado.

Total secuencias	221686
Total bases	205 Gb
Longitud mínima	201 bases
Longitud máxima	1,5804 bases
Longitud promedio	924 bases
N50	1,669 bases

El ensamblado fue realizado tratando las lecturas como solas o single ends (SE) a pesar de tener lecturas pareadas o paired ends (PE), para poder utilizar

el mayor número posible de lecturas para una reconstrucción de un mayor número de secuencias y de mayor tamaño.

Los estadísticos obtenidos se compararon con otros trabajos de construcción de transcriptoma para reafirmar que el proceso seguido nos ha arrojado como resultado un transcriptoma de buena calidad. En el 2013 Gross S. M. y colaboradores realizaron un ensamblado *de novo* enfocado a los genes expresados diferencialmente asociados con el metabolismo ácido de crasuláceas (CAM) en *Agave tequilana* y *A. deserti* y en 2015 Tian H y colaboradores realizaron un ensamblado *de novo* con *Polygala tenuifolia* para ver los genes responsables de la síntesis de metabolitos secundarios, los estadísticos fueron muy parecidos entre estos y los obtenidos en nuestro transcriptoma (Tabla 4), por reafirmando que el transcriptoma está dentro de los parámetros obtenidos para la reconstrucción de transcriptoma realizados con secuenciación de nueva generación (NGS).

Tabla 4. Comparación de estadísticos de distintos ensamblados *de novo*.

	<i>A. tequilana</i> (Floración)	<i>A. tequilana</i> (CAM)	<i>P. tenuifolia</i> (Senega china)
Total secuencias	221686	204530	145857
Total bases	205 Gb	293.5	141.5
Longitud mínima	201	100	No reportado
Longitud máxima	15804	20000	16008
Longitud promedio	924	1001	970
N50	1669	1378	1636

Adicionalmente para verificar la fiabilidad del transcriptoma reconstruido, aparte de checar los estadísticos ya mencionados, se verificó la calidad del transcriptoma ensamblado cuantificando cuantas de las lecturas utilizadas para su construcción mapean hacia este. Se verifican las lecturas en pares R1 y R2 que alinean correctamente (es decir a un mismo transcrito). Se identifiquen las

lecturas que alinean de manera no apropiada (donde alinean en distintos transcritos) y las que alinean en solo un sentido ya sea R1 o R2. El dato que más importante es el de la lectura en pares mapeadas correctamente donde un valor entre 70% y 80% es aceptable para un ensamblado de Trinity (Hass BJ *et al.*, 2013). Esto en adición de decirnos la calidad de nuestro transcriptoma, nos proporciona datos para ver qué tan confiable puede ser nuestro análisis de expresión ya que también muestra cómo se comportaría el análisis de expresión diferencial, en el cual también se requiere de mapear las lecturas secuenciadas a nuestro transcriptoma reconstruido. En general, porcentajes menores 60% son poco recomendables. Para el ensamblado reconstruido se obtuvo el 69.53% (Tabla 5) de las lecturas mapeadas en pares de manera apropiada por lo que está en el umbral de confianza para poder verificar que nuestro transcriptoma reconstruido es de buena calidad y que se puede obtener un análisis de expresión diferencial más fiable.

Tabla 5. Porcentaje del mapeo global de las lecturas R1 y R2 hacia el transcriptoma.

Pares mapeados apropiadamente	69.53%
Pares mapeados inapropiadamente	24.12%
Mapeaos solo para R1	4.05%
Mapeaos solo para R2	2.30%

VII4.- Búsqueda de similitud y anotado

Se realizó la búsqueda de secuencias similares en aminoácidos debido a que el código genético es degenerado y tiende a ser más preciso cuando se hace la búsqueda entre organismos de esta manera, las secuencias homólogas fueron buscadas en las bases de datos de libre acceso RefSeq para plantas donde se encuentran disponibles las secuencias curadas de los organismos modelos disponibles ya sean dicotiledóneas o monocotiledóneas. Se encontró que 104,084 (46.95%) de las secuencias reconstruidas en nuestro ensamblado tuvieron al menos un hit representativo en la base de datos de plantas y estas a su vez representan 34,856 genes distintos de la base de datos. También se

realizó una búsqueda para las posibles proteínas codificadas en los transcritos del ensamblado tomándose como referencia la base de datos de Swiss-prot. En esta se encontró que 77,252 lecturas daban un hit significativo contra esta base de datos y que estas representaban 13,509 proteínas diferentes, sin embargo la mayoría de estas ya habían sido identificadas con hit representativo para la base de datos de RefSeq quedando solamente 345 secuencias sin hit anterior lo que representa solo un 0.16 % del total transcriptoma. Estos resultados hasta cierto punto son razonables debido a la reconstrucción de varias isoformas en el transcriptoma o dominios conservados en las familias genéticas. Además no todas las secuencias codifican para alguna proteína y pueden ser RNAs no codificantes o simplemente secuencias propias de la especie las cuales son específicas o su homólogo no ha sido anotado en otras especies. De las secuencias que no tuvieron hit para estas dos bases de datos se realizó una búsqueda de dominios conservados en la base de datos Pfam (Finn R. D. *et al.*, 2016) donde se encontró que había 13,259 secuencias a las cuales se le encontró por lo menos un dominio conservado. Se encontraron en estas secuencias 5,469 dominios distintos distribuidos en 1,793 secuencias del transcriptoma, que representan 0.81%. En resumen quedaron solo el 52.08% de las secuencias sin anotar, aunque también falta checar en la base de datos para secuencias no codificantes Rfam (Nawrocki E. P., *et al.*, 2014). En la Figura 12 se muestra de manera gráfica los resultados para la búsqueda de similitud.

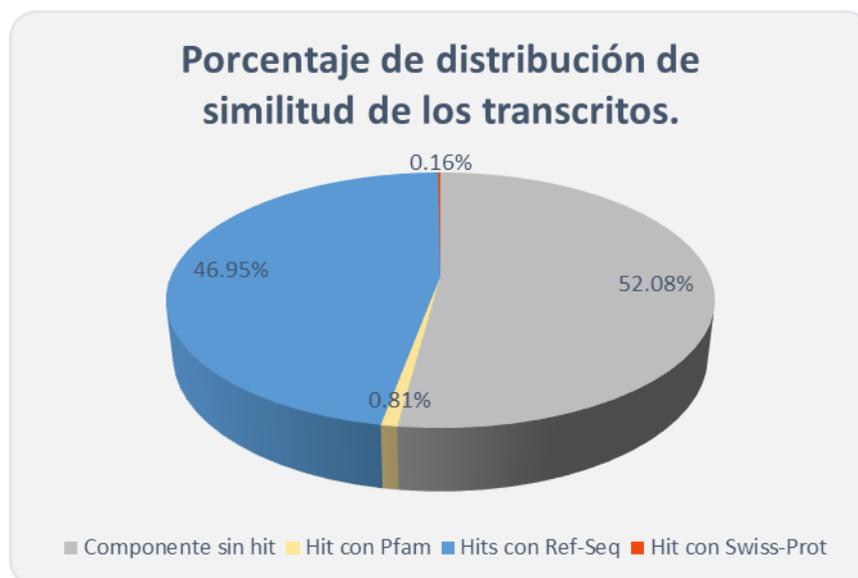


Figura 12. Distribución de los datos de similitud.

En cuanto a la anotación de las secuencias que tuvieron hit representativo para algún gen codificante se procedió a determinar la función que este podría tener mediante Blast2GO. Se determinó las categorías en las cuales podrían ser clasificadas las secuencias en cuanto a función molecular (MF), proceso biológico (BP) y componente celular (CC). De las secuencias para las que se encontraron posibles homólogos (104,085) en total se pudieron anotar 34, 856 (Figura 13).

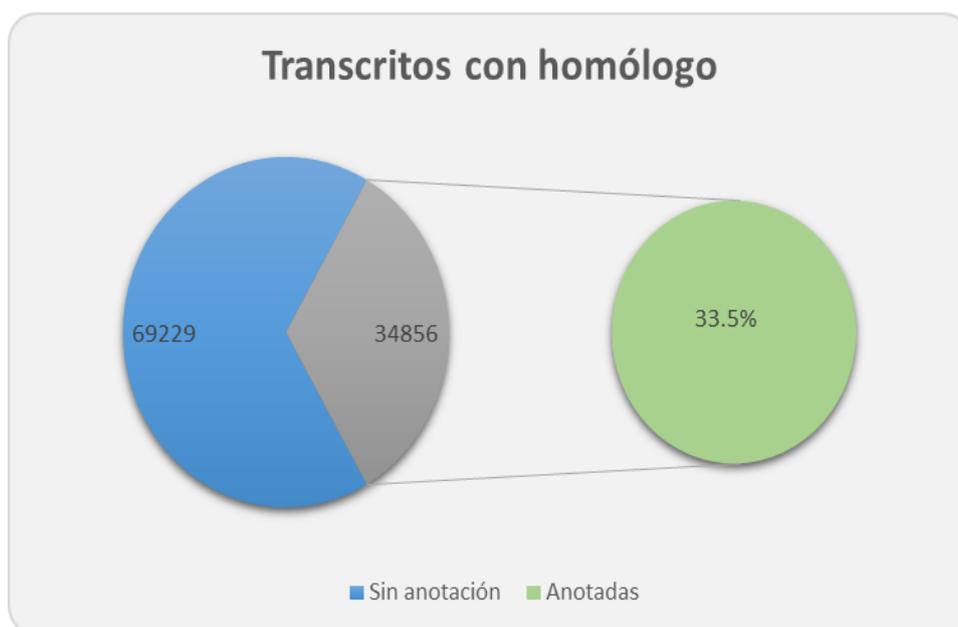


Figura 13. *Porcentaje de transcritos con anotación.*

Los resultados de las principales funciones moleculares, procesos biológicos y componentes celulares se resumen en la Figura 14.

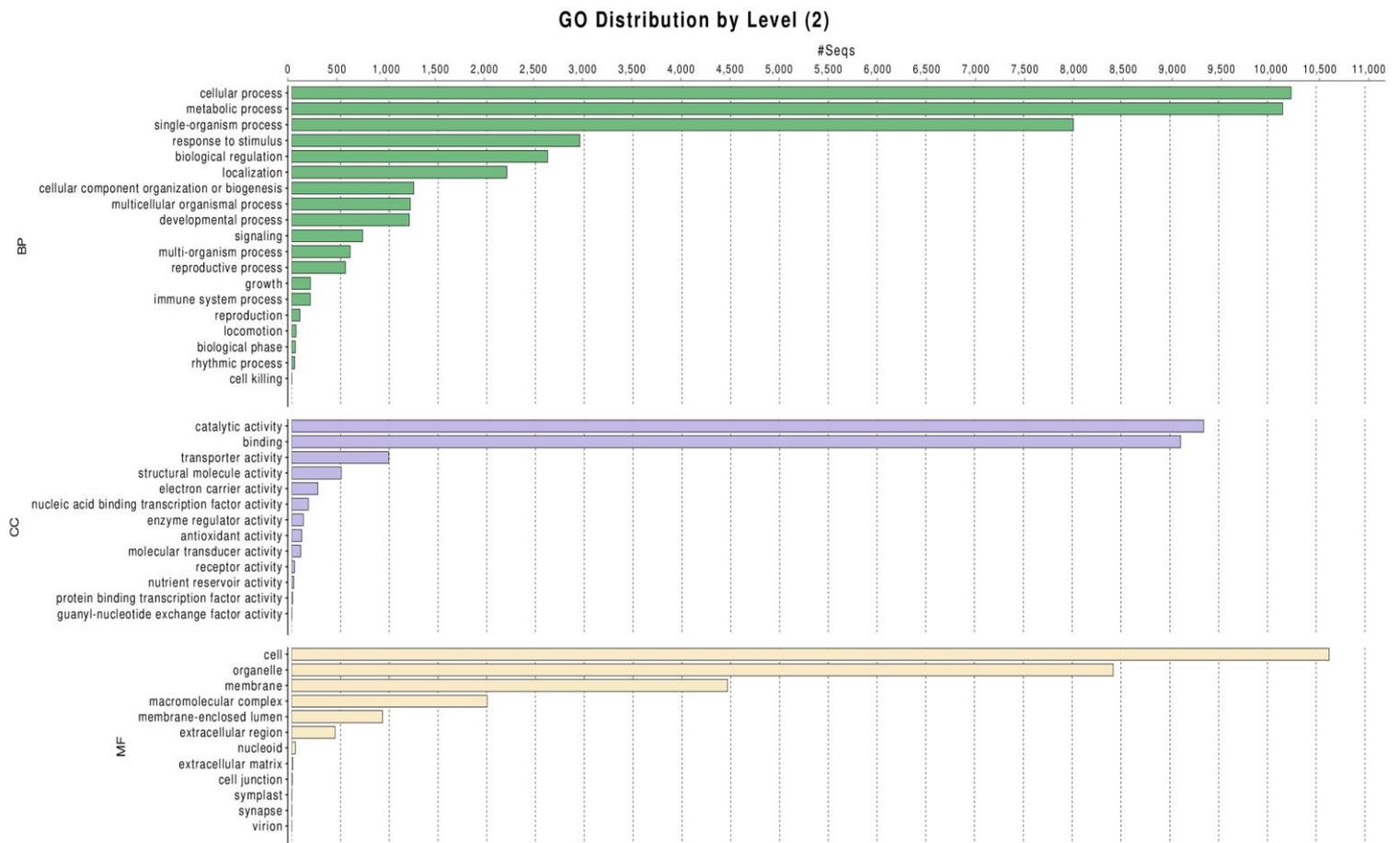


Figura 14. Distribución de GO de las secuencias anotadas, BP (verde), CC (morado) y MF (rosa).

Este paso es de suma importancia ya que mediante la anotación podremos asignar una posible función a los transcritos que se encuentren preferencialmente expresados durante el análisis de expresión diferencial. En caso de que hubiese algún transcrito expresado diferencialmente y que no tuviese ningún hit para las búsquedas anteriores se realizará una predicción de secuencias no codificantes en la base de datos de Rfam.

VII5.- Expresión diferencial

Se realizó el análisis de expresión diferencial *in silico* para poder identificar los transcritos preferentemente expresados entre las etapas de transición de estado vegetativo a estado reproductivo, el análisis se realizó con la librería edgeR del paquete estadístico R. Este se basa en una distribución binomial negativa y se realizó con el método de comparación de pares entre tratamientos. Se analizaron los pares de las fases adyacentes en la transición

de estado vegetativo a estado reproductivo yendo de la fase más joven hacia la fase más adulta, los pares comparados fueron: Par 1 “Mv vs Mch”; Par 2 “Mch vs In10cm” y Par 3 “In10cm vs In30cm”. Se utilizó la tabla de contingencia de conteos crudos para isoformas o transcritos, generada en el apartado VI.5, la cual fue normalizada por transcritos por millón (TPM). Para el análisis no se filtraron los datos por conteos por millón mínimo y se tomaron como positivo los que tuvieron una tasa de falsos descubrimientos (FDR) menor a 0.05. Se encontraron 1101 transcritos distintos expresados preferencialmente a lo largo de los pares comparados, esto quiere decir que un transcrito puede estar expresado diferencialmente en más de un par (Figura 15).

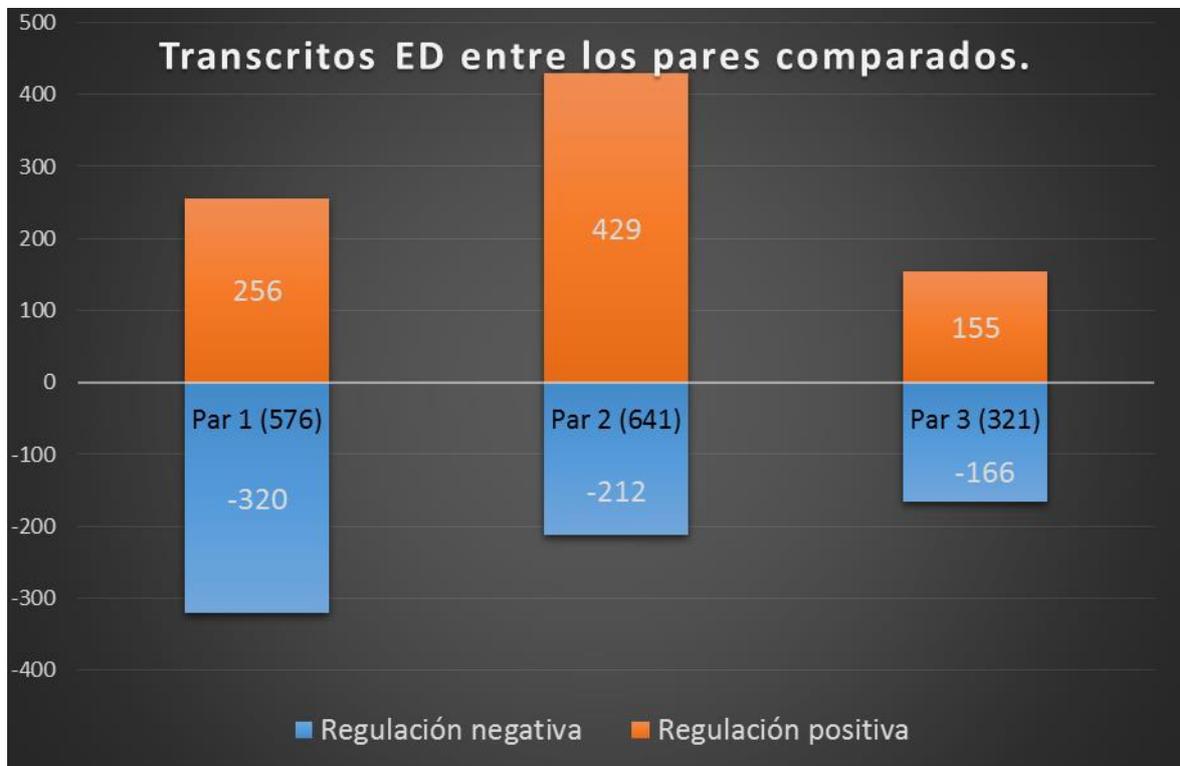


Figura 15. Distribución de genes Expresados diferencialmente DE en los 3 pares de comparación (FDR < 0.05).

De estos resultados podemos observar que en la comparación del Par1 entre la etapa vegetativa (Mv) y la primera etapa en la que podemos distinguir que indique el inicio de la formación del qurote (Mch) 576 transcritos se expresaron de manera diferencial y este número aumenta a 641 en el Par2 entre las

etapas de Mch y la emergencia del quiote (In10). Sin embargo en el último par de comparaciones el Par3 entre In10 y el quiote en desarrollo (In30) solamente observamos patrones de expresión diferencial en 321 transcritos, alrededor de la mitad de los observados en el Par2. Este patrón general concuerda con los cambios metabólicos que serán necesarios para implementar el cambio del fase vegetativa donde el SAM crece lentamente y no se producen meristemos secundarios a la fase reproductiva donde hay un crecimiento explosivo en la región del SAM y se inicia la formación de los meristemos de donde crecerán las umbelas desde las etapas iniciales (Pares 1 y 2) (Delgado-Sandoval et al. 2012). Entre las etapas In10 y In 30 el quiote ya está en desarrollo, los cambios metabólicos más importantes ya se han inducidos y la formación de nuevos meristemos alrededor del SAM ira disminuyendo. Por consecuencia los cambios a nivel de expresión son menores.

Este resultado también se refleja cuando distinguimos entre los números de transcritos diferenciales compartidos entre cada par de etapas de desarrollo y los números de transcritos específicos para cada par, como se muestra en el diagrama de Venn en la Figura 16. Alrededor de 71% de los transcritos diferenciales identificados en el análisis global son específicos para el Par1 o el Par2 o compartidos entre ellos, mientras entre el Par2 y Par3 el porcentaje es 47% y del Par1 y Par3 23%. Estas observaciones son coherentes dado que el Par1 y el Par3 no comparten una etapa intermedio y son los más separados en el tiempo de desarrollo. De manera interesante, los porcentajes de transcritos que muestran un incremento o un decremento para los grupos específicos para cada Par son muy similares para Par1 y Par2: 64 y 66% incrementado y 36 y 34% que disminuyen respectivamente. En contraste de los transcritos

específicos para el Par3 43% muestran un incremento mientras 57% disminuyen. En los grupos compartidos Par1/Par2 muestran 18% de transcritos con aumento y 82% disminuidos, Par2/Par3 46% incrementados y 54% con decremento y Par1/Par3 22% con aumento y 78% disminuidos. De los transcritos que muestran cambios diferenciales en expresión en los 3 pares 58% aumentan y 42% disminuyen (Ver Tabla 6)

Tabla 6. Número de transcritos con incremento o decremento y su relación entre los pares.

Relación entre pares	Patrón		%	
	Incremento	Decremento	Incremento	Decremento
Específico Par1	179	102	64%	36%
Específico Par2	180	93	66%	34%
Específico Par3	73	97	43%	57%
Compartido Par1/Par2	40	186	18%	82%
Compartido Par2/Par3	38	44	46%	54%
Compartido Par1/Par3	2	7	22%	78%
Compartido Par1/Par2/Par3	35	25	58%	42%

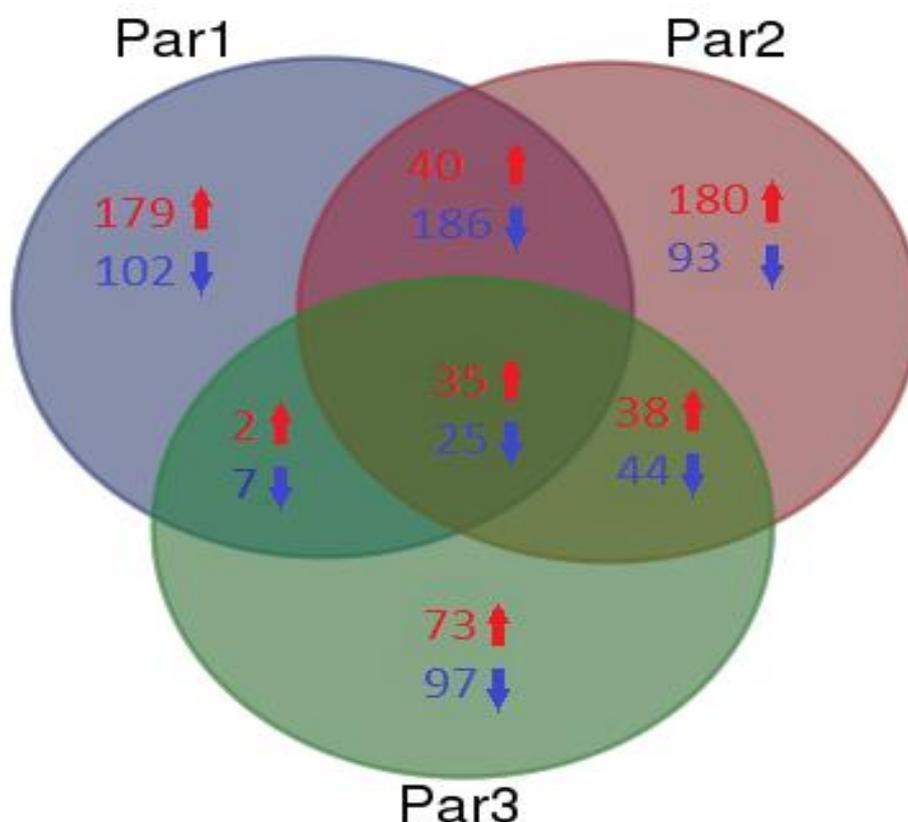


Figura 16. Diagrama de Venn para los transcritos expresados diferencialmente (DE) y su relación a lo largo de los pares (FDR <0.05).

Análisis de enriquecimiento mediante la prueba exacta de Fisher no reveló procesos enriquecidos en los pares 2 y 3, pero si en el par 1 específicamente en los genes regulados positivamente (Figura 17).

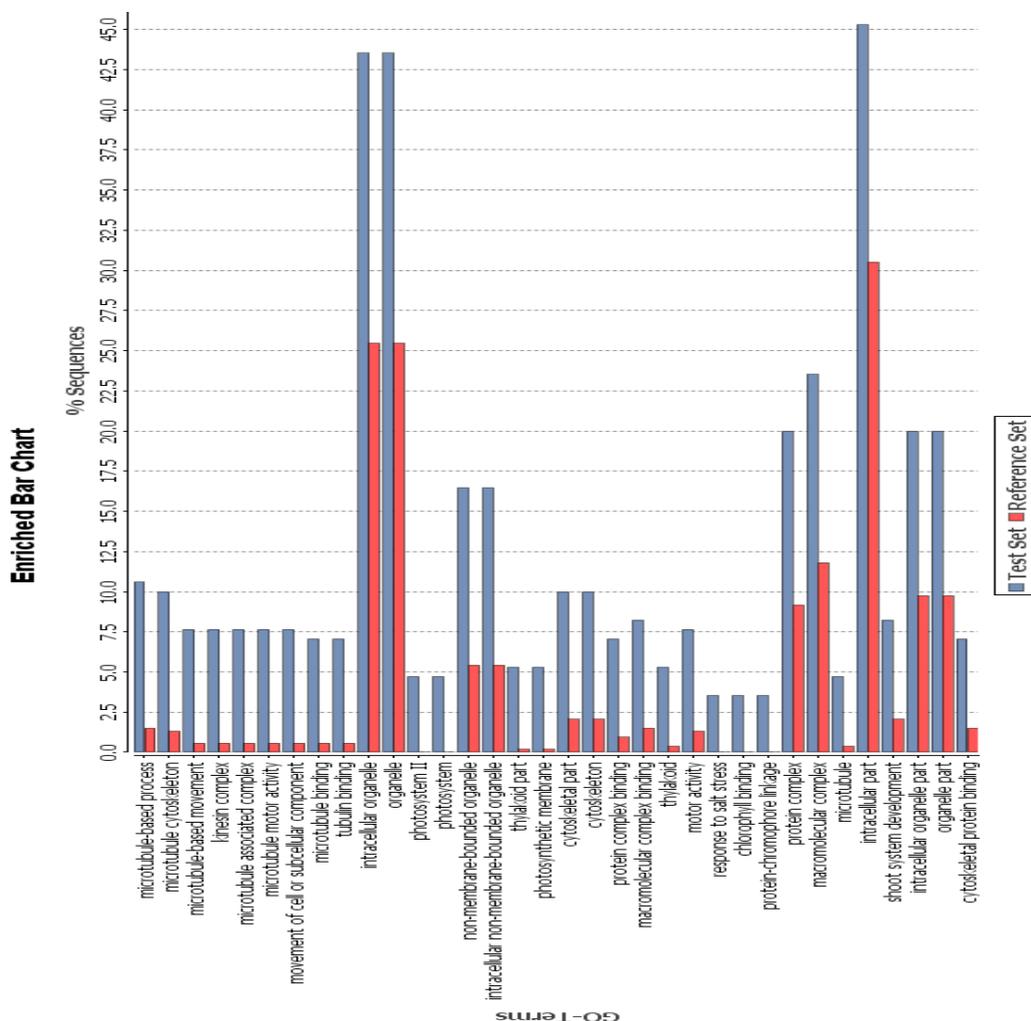


Figura 17. Análisis de enriquecimiento para los transcritos regulados positivamente en el Par1.

En primer par es donde se presume encontraremos los transcritos con una mayor relevancia para la transición de estado vegetativo a estado reproductivo ya que estos se encuentran expresados en menor cantidad cuando la planta estaba en estado vegetativo y aumentaron significativamente cuando alcanzo la etapa de comienzo de hundimiento o *vice versa*. Encontramos que hay 256 transcritos (incluyendo los transcritos compartidos entre Par1 y Par2 y entre los 3 pares) que pueden ser en conjunto los inductores y/o los genes que codifiquen proteínas necesarias para llevar a cabo los cambios metabólicos

esenciales para la transición. Dentro de este grupo de genes encontramos diversas funciones biológicas (Figura 18A) sin embargo la mayoría están asociados con la maquinaria de crecimiento y división celular y con proteínas relacionadas con la fotosíntesis. Esto puede reflejar la transición hacia un meristemo apical activo en división celular, diferenciación y en crecimiento, estos procesos son muy conservados en la gran mayoría de los organismos modelo como el caso de *Arabidopsis thaliana* (Fornara *et al.*, 2010).

También es posible determinar los números de transcritos con expresión diferencial identificados en cada proceso tanto para los que aumentan como para los que disminuyen su nivel de expresión como se puede observar en la Figura 18 A y B.

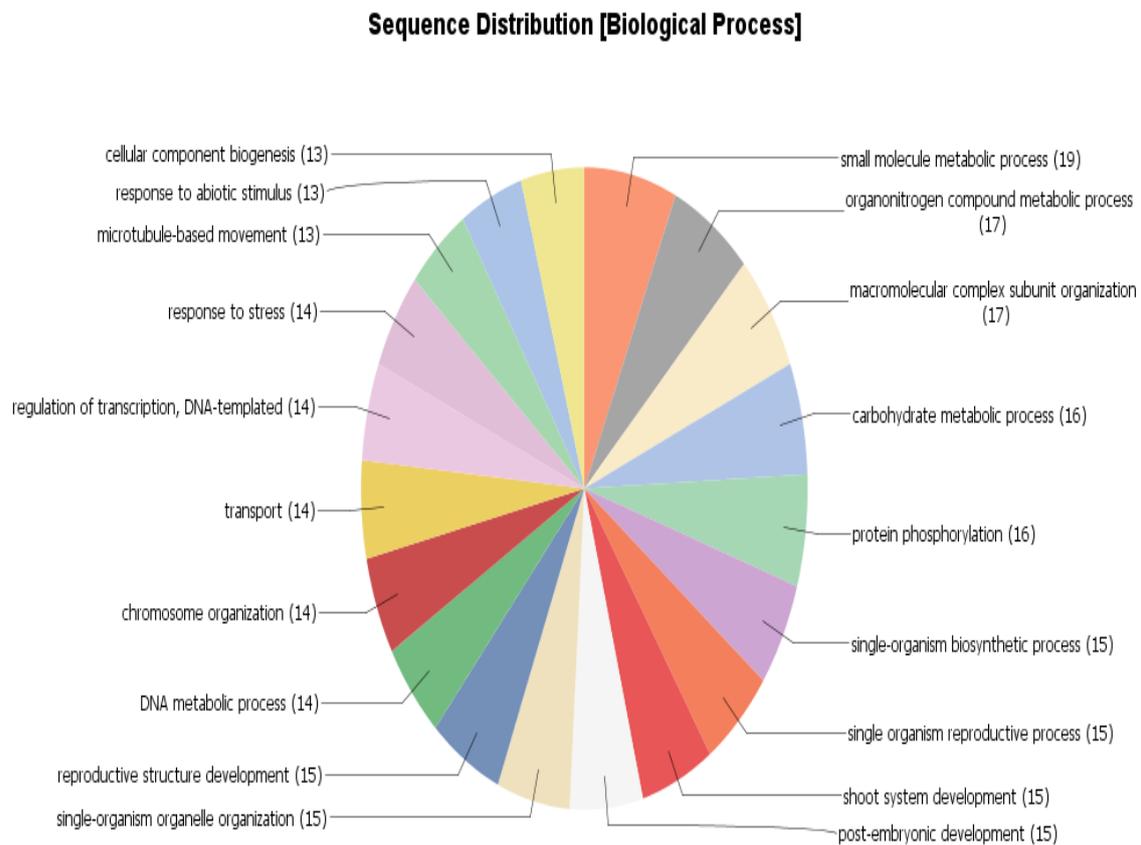


Figura 18A. Procesos biológicos (BP) en los transcritos expresados diferencialmente de manera positiva (UP) en el *parl1*.

Sequence Distribution [Biological Process]

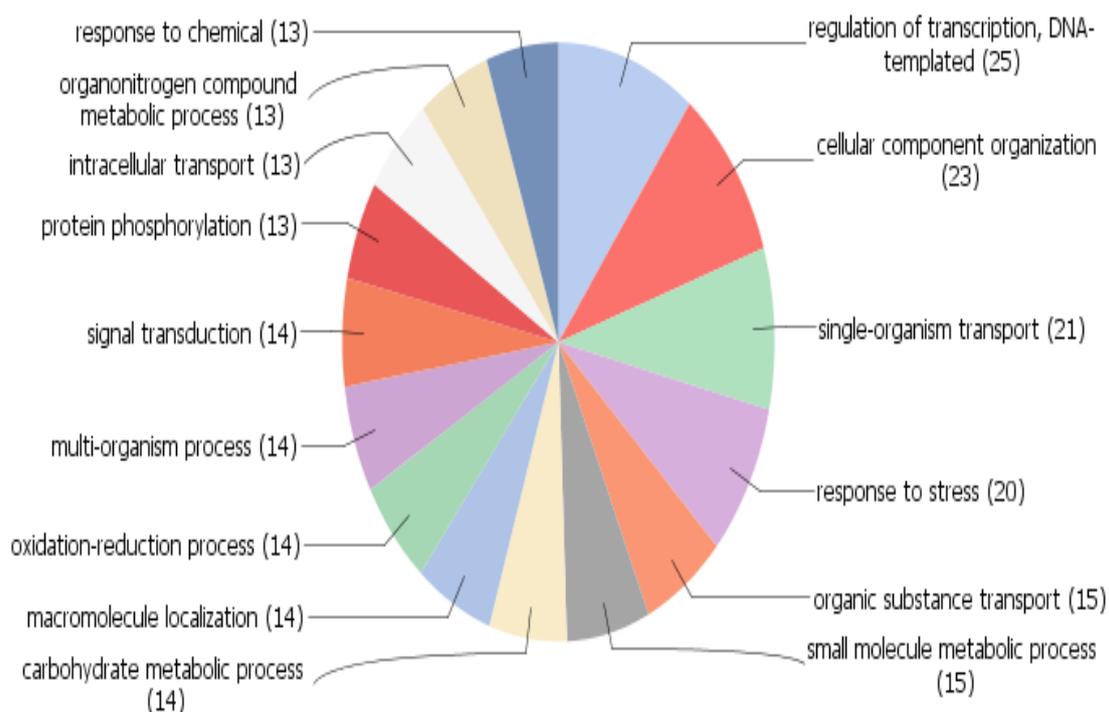


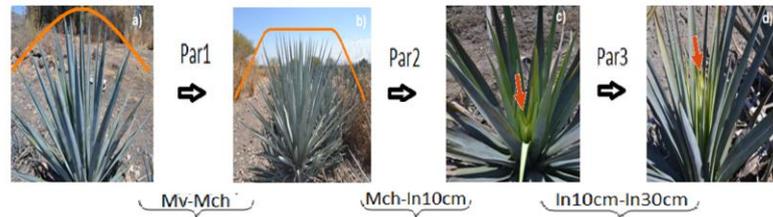
Figura 18B Procesos biológicos (BP) en los transcritos expresados diferencialmente de manera negativa (DWN) en el *par1*.

En Figura 18A se puede notar que transcritos asociados con los procesos ligados a división celular y crecimiento están muy presentes y regulados de manera positiva, incluyendo procesos como desarrollo de estructuras reproductivos y de brotes, organización de cromosomas y biogénesis de componentes celulares. En contraste en la Figura 18B observamos una disminución en transcritos asociados con procesos como respuestas a estrés, oxidación y transporte entre otros. Estos procesos probablemente son de menos importancia durante la etapa de transición cuando la planta debe gastar sus recursos en el éxito reproductivo. De manera interesante, solamente 4 categorías muestran transcritos tanto aumentados como disminuidos sugiriendo que estos procesos son de importancia para la transición entre la

etapa vegetativa y la etapa inicial del desarrollo de la inflorescencia. Notablemente el metabolismo de carbohidratos está representado con aumento y disminución de transcritos. Esta observación concuerda con la hipótesis que los carbohidratos juegan un papel fundamental en el proceso de la transición vegetativa-reproductiva tanto como fuentes de energía como posibles moléculas de señalamiento.

El proceso de transición de estado vegetativo a estado reproductivo es un punto muy importante en el ciclo de vida de las plantas, asegurando la perpetuidad de la especie, la planta tiene que estar segura de que todas las condiciones son las ideales para que la reproducción sea exitosa y debido que el desarrollo de la inflorescencia es un proceso que requiere mucha energía la planta debe percibir que los requerimientos han sido alcanzados.

Los transcritos diferencialmente expresados en las 7 secciones del diagrama de Venn en Figura 16 se encuentran listados en las Tablas anexas. Las comparaciones de par en par nos permiten tener una imagen no solamente de cambios en nivel de expresión sino también los patrones de expresión de transcritos individuales a través de todas las etapas de la transición. La Figura 19 resume los diferentes patrones de expresión observados y los números de transcritos que mostraron cada patrón. Estos resultados muestran patrones complejos de expresión para diferentes transcritos individuales en las diferentes etapas del desarrollo del quito y reflejan sus roles cambiantes durante el proceso.



Específico Par1	D ↓	S –	S –	179 Transcritos
	I ↑	S –	S –	102 Transcritos
Específico Par2	S –	D ↓	S –	93 Transcritos
	S –	I ↑	S –	180 Transcritos
Específico Par3	S –	S –	D ↓	97 Transcritos
	S –	S –	I ↑	73 Transcritos
Compartido Par1/Par2	D ↓	I ↑	S –	186 Transcritos
	I ↑	D ↓	S –	40 Transcritos
Compartido Par2/Par3	S –	D ↓	I ↑	44 Transcritos
	S –	I ↑	D ↓	38 Transcritos
Compartido Par1/Par3	D ↓	S –	D ↓	3 Transcritos
	D ↓	S –	I ↑	4 Transcritos
	I ↑	S –	D ↓	2 Transcritos
Compartido Par1/Par2/Par3	D ↓	I ↑	D ↓	25 Transcritos
	I ↑	D ↓	D ↓	35 Transcritos

Figura 19. Número de transcritos y su expresión a lo largo de las comparaciones durante la transición de desarrollo en *A. tequilana* (D=decremento; I=incremento y S=estable).

Aunque la gran mayoría de los transcritos arrojaron una homología con secuencias caracterizados y/o anotados en otras especies, cada una de las secciones contiene transcritos no-anotados (NA, ver tablas anexas) 34 en total estos fueron buscados en bases de dominios proteicos y para secuencias no codificantes pero no se encontró hit para ninguna esto pudiera ser a que son secuencias muy pequeñas de entre 300 y 400 bases existen otras de mayor tamaño de 500 a hasta 5000 bases estas pudieran ser proteínas exclusivas de *Agave tequilana* o un artefacto o quimera del ensamblado. El número de transcritos NA varía entre 1 (11%) en la sección compartido entre Par1/Par3 hasta 14 (6%) en la sección compartida entre Par1/Par2. Una revisión de las anotaciones de los transcritos diferencialmente expresados específicamente en el Par1 revelo un número importante de transcritos involucrados en procesos de división celular, factores de transcripción incluyendo tipo MADS box,

transcritos asociados con la activación de giberelinas y con metabolismo de carbohidratos aunque también encontramos un número significativo de transcritos fuertemente expresados de manera diferencial con anotaciones más ambiguas.

Para obtener una idea del comportamiento de algunos de los genes cuyos papeles durante la transición vegetativa-reproductiva han sido muy bien caracterizados en sistemas modelo, escogimos un grupo de genes candidatos y comparamos sus perfiles de expresión durante las etapas de transición en *A. tequilana*. La Tabla 7 Muestra estas comparaciones e indica que transcritos para *FT*, *AGL6*, *AtqMADS2*, *AtqCwinv1*, *TPS7*, *SWEET14-like* y *G3ox1* son inducidos en las etapas iniciales de la transición mientras transcritos para un gene tipo *Sepallata* SEP1-2 solamente se induce en las últimas etapas. Estos resultados concuerdan muy bien con los papeles propuestas para estos genes durante la transición vegetativa-reproductiva en sistemas modelo. Muy sorprendentemente como se muestra en la Tabla 7 no observamos patrones de expresión diferencial en alguna etapa de la transición para transcritos anotados como *SOC1*, *SVP*, *FLC* y *TFL1*

Tabla 7. Perfiles de expresión de transcritos implicados en la inducción o represión de la floración. (I=incremento; D=decremento y S=estable)

COMPONENTE	Par1		Par2		Par3		Patrón(Par1-Par2-Par3)
	logFC	FDR	logFC	FDR	logFC	FDR	
comp33959_c0_seq5 FT-like	9.5018	0.0001	-9.6083	4.37E-05	9.5919	0.0001	I-D-I
comp33183_c0_seq1 G3ox1-like	9.4781	0.0001	-9.5846	4.46e-05	9.7590	8.65e-05	I-D-I
comp29584_c0_seq2 AGL6-Like	7.7725	0.0049	-7.8786	0.0037	7.9995	0.0065	I-D-I
comp37384_c0_seq1 SWEET14-like	7.116	0.000	-8.5252	2.07E-05	8.5967	5.77E-05	I-D-I
comp45676_c0_seq4 TPS7-like	7.043	0.023	-0.1826	1.0000	-7.1265	0.0284	I-S-D
comp39688_c0_seq3 AtqCwinv1	6.997	0.026	-2.1612	1.0000	3.1898	0.2877	I-S-S
comp39526_c0_seq1 SEP1-2	6.6	0.051	-6.7056	0.0419	6.9923	0.0354	S-D-I
comp39526_c0_seq2 AtqMADS2	5.7924	0.008	-5.4448	0.0101	5.8108	0.0074	I-D-I
comp31389_c0_seq4 FT-like	5.3841	0.0435	-4.7682	0.0656	4.3819	0.1373	I-S-S
comp36633_c0_seq4 Leafy-like	4.9407	0.6711	-1.6184	1.0000	0.8071	1.0000	S-S-S
comp38047_c1_seq1 SOC1-like	3.4837	1.0000	0.4941	1.0000	-0.7005	0.6781	S-S-S
comp41918_c0_seq4 SVP-like	-0.5393	1.0000	-0.1496	1.0000	1.1925	1.0000	S-S-S
comp41425_c0_seq5 FLC-like	-3.8038	0.1666	3.2826	0.3338	-0.3210	1.0000	S-S-S
comp23695_c0_seq2 TFL1-like	-5.147	0.4997	4.2888	0.0539	-4.4424	1.0000	S-S-S

Estos resultados pueden indicar que en plantas perennes monocárpicas como *A. tequilana*, los mecanismos regulatorios y de señalamiento difieren en relación a los modelos más estudiados que en general son plantas anuales. Es posible que las diferencias en expresión de estos genes son a niveles muy bajas y no fueron detectados en el presente análisis o que los tejidos y tiempos de muestreo no fueron las más adecuadas y no alcanzamos a detectar los cambios. Sin embargo los resultados son intrigantes y abren el camino para estudiar los mecanismos de la transición en *A. tequilana* y otras especies de Agave en más detalle.

VIII.6.- Validación qRT-PCR

La calidad del ensamblaje de los transcriptomas desarrollados indica que los datos representan de manera confiable los niveles de transcritos presentes en las diferentes etapas de la transición, sin embargo es muy útil validar los patrones y niveles de expresión observados *in silico* por medio de PRC cuantitativa. Con este fin escogimos 2 genes identificados en el análisis *in silico* que mostraron patrones interesantes de expresión y que podrían ser implicados en la regulación del proceso de transición hacia la etapa reproductiva y se llevó a cabo un análisis de expresión relativa mediante el método qRT-PCR y $\Delta\Delta CT$. Se tomó como gene constitutivo a la *ACTINA2* y como tejido de referencia las muestras del meristemo vegetativo. Se escogieron los genes *AtqMADS2* (Figura 20) y un gene putativo que codifique un T6P (TPS1-like) (Figura 21) dado que mostraron una correlación positiva con el proceso de transición. Los valores obtenidos para la cuantificación relativa (qRT-PCR) son adimensionales y los valores *in silico* están expresados en transcritos por millón (TPM), lo que se compara es solo la tendencia observada durante las etapas de la transición, Se puede observar que *AtqMADS2* en la etapa vegetativa está expresado a un nivel bajo y se dispara en la etapa del comienzo del hundimiento, después decae en la etapa de la inflorescencia de 10cm y se vuelve a disparar en la etapa de inflorescencia de 30cm. Los patrones observados *in silico* y por qRT-PCR son idénticos confirmando que los datos obtenidos por el análisis de

expresión diferencial *in silico* son confiables. Varios genes de identidad floral mostraron este patrón esto se puede deber a que aparte de estar involucrados en la iniciación de la etapa reproductiva, también pueden estar implicados en el desarrollo de meristemas asociados a la formación de umbelas y flores en la etapa más avanzada de 30cm y en el mantenimiento de la identidad floral del meristemo.

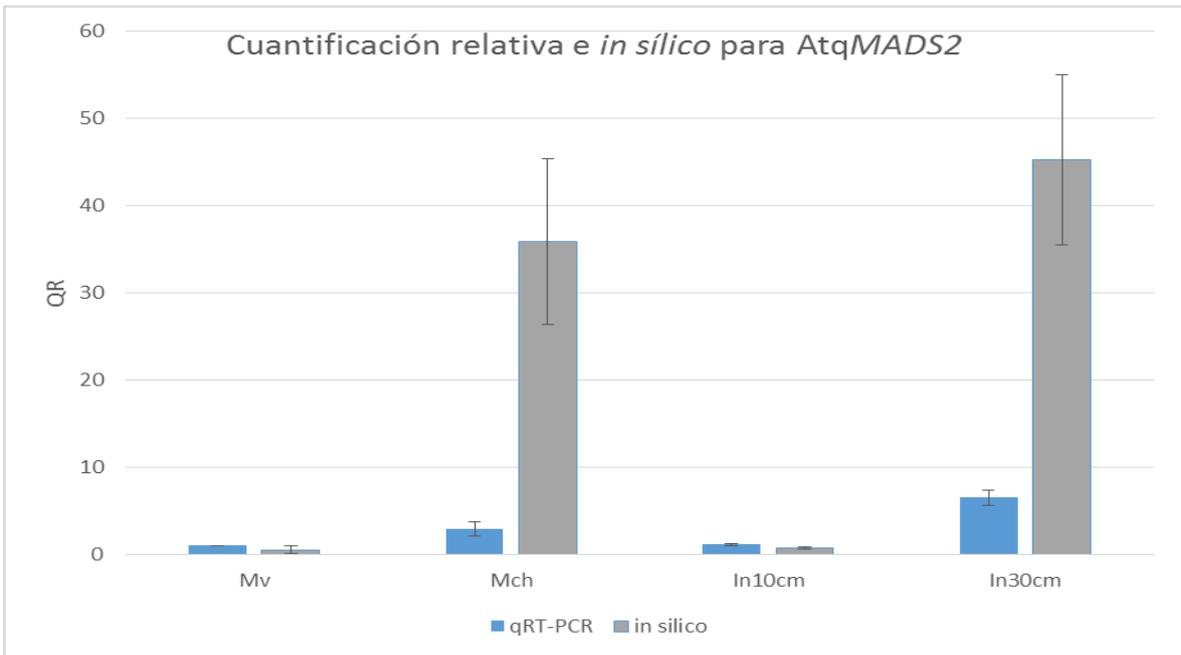


Figura 20. Comparación de los patrones de expresión obtenidos por qRT-PCR y los valores *in silico* para AtqMADS2

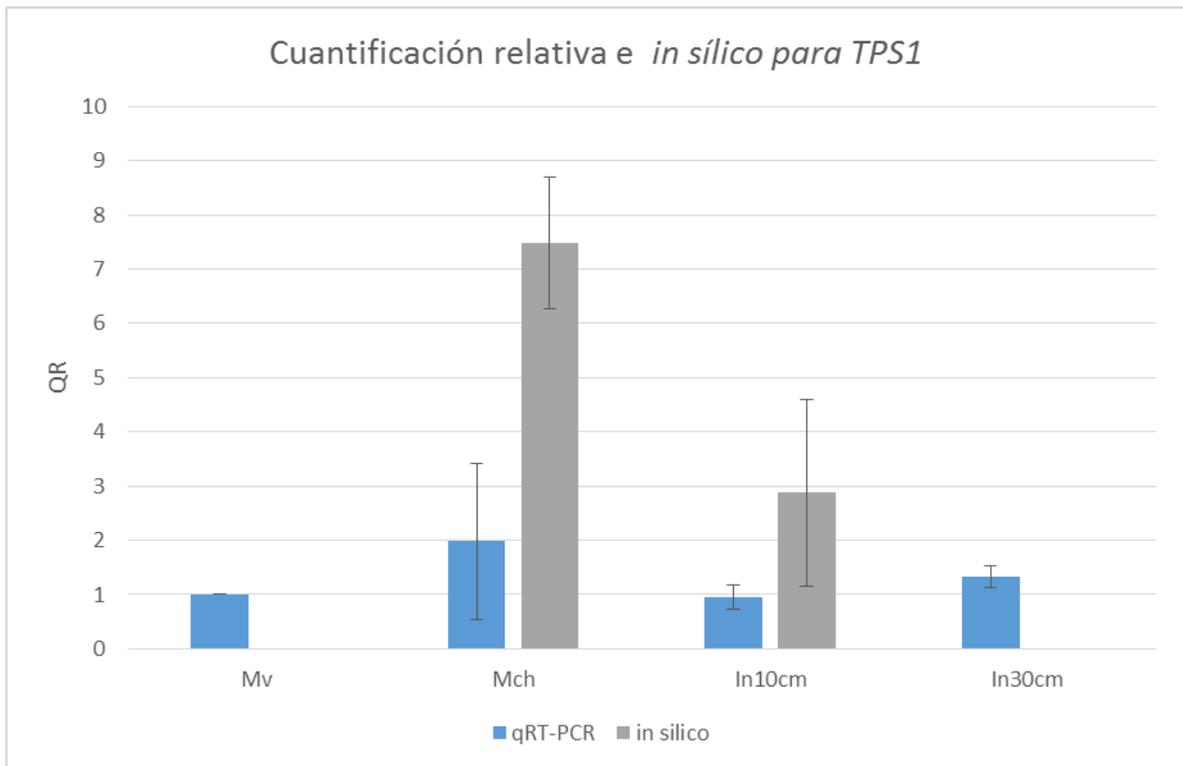


Figura 21. Comparación de la cuantificación relativa contra los valores *in silico* para TPS1

La relación entre los resultados del qRT-PCR y los obtenidos *in silico* para el gene putativo TPS1-like también muestran patrones de expresión similares, aumentando en la etapa Mch y decayendo en la etapa de 10cm. En contraste con el patrón de expresión observado para AtqMADS2 en la etapa de la inflorescencia de 30 cm, no se observe un aumento en expresión. En etapa de comienzo del hundimiento esta enzima puede ser una de las más importantes para que se lleve a cabo la transición ya que cataliza la obtención de trehalosa-6-fosfato (T6P) que se cree ser uno de los principales inductores a la transición. Después en la etapa de inflorescencia de 10 cm se tiene los niveles más bajos sugiriendo que una vez que ya se haya dado la señalización no es requerida más la síntesis de la T6P. En la última etapa los niveles de expresión *in silico* y relativos vuelven a diferir de manera ya no se puede detectar los transcritos de esta enzima mientras que en la relativa vuelve a ser presente en niveles bajos. Es posible que también se requiere de nuevo la señalización que la T6P desencadena para activar los genes de para la formación de las umbelas y la

identidad floral aunque este patrón de expresión no es tan claro como en el caso de AtqMADS2.

La planta puede percibir la mayoría de los factores que intervienen en el proceso, desde la duración del día (fotoperiodo), una exposición larga al frío del invierno (vernalización), temperatura del medioambiente la calidad de la luz recibida, factores endógenos de la planta como nutrientes, reservas energéticas y en algunos casos la biomasa de la planta (Bernier G. & Perilleux, 2005). Todos estos factores tienen que converger, conduciendo a cambios en el patrón de crecimiento del meristemo apical (SAM) para que la transición se lleve a cabo.

En primera instancia la vernalización tiene que ser percibida generalmente por el meristemo y por los primordios de hojas, este es uno de los primeros pasos en *Arabidopsis thaliana* ya que reprime la transcripción de un gen represor de la floración *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, mediante modificaciones a nivel cromatina en el locus del FLC mediados por *VERNALIZATION INSENSITIVE 3 (VIN3)* que es una proteína PHD-finger que remodela la cromatina y *POLYCOMB REPRESSIVE COMPLEX 2 (PRCB2)* que incluye la proteína *VERNALIZATION 2 (VRN2)*, la primera es inducida por el frío y el complejo *PRCB2* actúa para mantener la represión en *FLC* después de que el frío ya ha pasado. En este análisis basado en el nivel de FDR de 0.05, no encontramos expresión diferencial en transcritos anotados como *FLC*, sin embargo los datos indiquen una disminución en el Par1 que representa la comparación entre el estado vegetativo y la fase reproductiva y un aumento en Par2. Estos resultados concuerdan con el papel de *FLC* en especies modelo donde la inhibición de este represor conduce a la iniciación de la fase reproductiva. Adicionalmente a *FLC*, para otros genes con identidad floral o que actúan como represores, tales como *LFY*, *SOC1*, *SVP* se pudieron identificar patrones de expresión que corresponden a los esperados sin embargo estadísticamente no están expresados diferencialmente ya que tienen una tasa de falso descubrimiento mayor al umbral establecido con FDR (mayor a 0.05, Anexo 1). El fotoperiodo y el reloj circadiano son percibidos principalmente por las hojas mediante cascadas de señalización que involucran a *GIGANTEA (GI)* que promueve la transcripción de *CONSTANS (CO)* un regulador transcripcional positivo de *FLOWERING LOCUS T (FT)* el cual es una proteína de unión a la

fosfatidil etanol amina (PEBP) inhibidor de las RAF cinasas. FT es un integrador de la floración la cual es transcrita y traducida en la vasculatura y después viaja hacia el meristemo donde interactúa con las señales de las demás rutas promotoras de la floración para así iniciar el proceso de transición (Bernier et al., 1993), recientemente también se ha demostrado que el RNA mensajero de FT también es translocado hacia el meristemo en conjunto con la proteína traducida de FT y que ambos actúan como integradores a larga distancia para promover la floración (Huang T *et al.*, 2005; Jackson, S. D., & Hong, Y. 2012). Entre el conjunto de componentes analizados, los que más destacaron fueron los que pertenecen al desarrollo de meristemo apical donde se encontraron 5 transcritos que representan secuencias parciales homólogas a los genes codificantes de proteínas FT. Los recientes descubrimientos mostrando que el RNA mensajero de FT también es translocado hacia el meristemo apical (Huang T *et al.*, 2005; Jackson, S. D., & Hong, Y. 2012) pueden ser una explicación coherente para este resultado. En el análisis presentado encontramos expresión diferencial de FT (en 3 secuencias distintas) que aumenta en las etapas iniciales de la transición vegetativa-reproductiva de acuerdo con su papel como inductor positivo. En otros modelos CO estimula la expresión de FT sin embargo en este trabajo no encontramos expresión diferencial significativa para CO. Este puede deberse a que el tejido meristemático muestreado es muy específico y no es el tejido adecuado para revelar expresión de CO dado que se ha reportado en el floema del tejido foliar (Suárez-López *et al.*, 2001).

Otras rutas que también juegan un papel importante en la transición son las llamadas “rutas endógenas” de la planta como las que están reguladas por hormonas y donde la más representativa es la de las giberelinas (GA). La ruta regulada por giberelinas también es integrador a distancia y se cree que no se sintetizan estas moléculas en el meristemo, ya que no se han encontrado genes implicados en su síntesis en el meristemo. Se cree que las giberelinas se transportan de manera inactiva conjugadas en forma de glucósidos unida a una glucosa y que en el meristemo apical se activan mediante una oxidasa (GA3ox) que actúa en el carbono 3 (King R.W. and Evans L.T. 2003; Eriksson *et al.*, 2006). Los datos obtenidos de la comparación de Par1 son muy congruentes con el papel de las giberelinas en el SAM dado que un transcritos

putativamente anotados como GA3ox fueron fuertemente expresados en tejido meristemático de las primeras etapas de la transición, sugiriendo que en *A. tequilana* el papel de las giberelinas en la regulación a la transición a la fase reproductiva es conservado. Las giberelinas interactúan con los miembros de la familia DELLA que reprimen la transcripción y de *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1 (SOC1)* que a su vez es activador de *LEAFY (LFY)*. La fuerte expresión de los transcritos GA3ox-like concuerda con el hecho que no encontramos cambios en patrones de expresión de *SOC1* y *LEAFY*.

De los procesos biológicos mostrados en la Figura 18A, se encuentran todos los que están implicados en el desarrollo de la inflorescencia. Para llevar a cabo la transición entre la etapa vegetativa y la etapa reproductiva es necesario mover una gran maquinaria para el desarrollo de esta, incluyendo el aumento de la tasa fotosintética y la aceleración de división celular, para crear nuevo tejido que será diferenciado en tejido reproductivo. Esto implica la producción de todas las partes que componen la célula como organelos y pared celular, la manipulación de la cromatina, transducción de señales, fosforilaciones, acetilaciones, toda la gama de regulaciones y señalizaciones, puntos de control y reparación o eliminación de componentes. Esto se puede ver mediante un análisis de enriquecimiento de procesos biológicos utilizando la prueba exacta de Fisher con una tasa de falso descubrimiento menor a 0.05 (Figura 17) realizada con el programa Blast2go (Conesa *et al.* 2005) donde se pueden observar que todos estos procesos están enriquecidos tomando como referencia los transcritos expresados de manera positiva en el Par1.

Otros transcritos identificados que putativamente juegan un papel en la transición a la fase reproductiva son genes de la familia *MADS-box*, uno con homología a *AtqMADS2 (SEPALLATA-LIKE)* que se ha demostrado tiene un papel importante en la inducción de bulbillos en *Agave tequilana* y también está presente en la transición de estado vegetativo a estado reproductivo (Delgado S. *et al.*, 2012) y otro transcrito con similitud a *AGAMOUS-LIKE 6*, que también es un regulador negativo de *FLC* en *Arabidopsis thaliana* (Yoo S K *et al.*, 2011).

El proceso de la transición entre la fase vegetativa y la fase reproductiva está conservado en la mayoría de las especies de plantas y no es la excepción para

Agave tequilana. Sin embargo en plantas perennes monocárpicas como las especies de agave, los cambios en temperatura y fotoperiodo ocurren cada año sin que la planta se induzca a la transición. Una vez inducida, la inflorescencia de las plantas de Agave crece de manera explosiva y requiere las reservas de energía acumuladas en el tallo o piña. Por consecuencia la transición vegetativa-reproductiva no se inicie hasta que la planta sienta que tiene las reservas y tamaño necesaria para desencadenar todas las acciones que conducen a la emergencia de la inflorescencia, lo cual nos lleva pensar que de todos los factores y señales ambientales que actúan sobre los Agaves, probablemente el más importante es el de vías endógenas mediante señalización de moléculas energéticas de la planta. En los últimos años se ha descubierto que los azúcares juegan un papel muy importante en la transición de etapa vegetativa a etapa reproductiva, poniendo como principal candidato a la trehalosa 6 fosfato T6P (Dijken A *et al.* 2014).

La trehalosa juega un papel central como un compuesto intermedio en el metabolismo de los carbohidratos ya que este azúcar es sintetizado y rápidamente metabolizado para crear otras moléculas como uridin difosfato Glucosa (UDP-Glucosa) y Glucosa-6-fosfato (G6P) de las cuales se sintetizan otros polisacáridos importantes para la célula como polisacáridos de pared celular, sacarosa, polímeros de fructosa, fructanos, celulosa, almidón, lípidos y proteínas. Se ha demostrado una correlación entre la biomasa y las reservas de moléculas energéticas en la planta con los niveles de trehalosa, los cuales se encuentran en trazas a niveles micromolares o menores. Esto se ve reflejado en la correlación entre la trehalosa y cambios selectivos en los genes involucrados en la fotosíntesis y el aumento en el gen responsable de la síntesis de trehalosa *TREHALOSA PHOSPHATO SINTASA 1 (TPS1)* (Paul M *et al.*, 2008; Dijken A *et al.* 2014).

Un transcrito con homología a una isoforma de TPS1 (TPS7) fue expresado diferencialmente en el primer par de comparaciones (etapa vegetativa-etapa comienzo del hundimiento), lo que podría indicar la importancia de la T6P como una de las señalizaciones con más jerarquía para que se lleve a cabo la transición en *Agave tequilana*.

También para producir rápidamente el quiste o inflorescencia la cual crece hasta 3 cm diariamente, alcanza una altura de 4m y produce miles de flores y

semillas la planta tiene que utilizar los oligofruktanos, su recurso más preciado acumulado a lo largo de su vida vegetativa. Los fructanos son hidrolizados para obtener moléculas más pequeñas y fácil de movilizar para abastecer la gran demanda energética que esto requiere. De acuerdo con esta hipótesis, un incremento en la expresión de los genes que codifiquen fructan exohidrolasas (FEH) en tejido floral y invertasas de pared celular en estado reproductivo de 5 a 7 años, en comparación con plantas en estado vegetativo ha sido observado (Avila de Dios, E. et al 2015, Cortes-Romero et al., 2012). En el presente análisis identificamos transcritos anotados como una invertasa de pared celular (AtqCwinv1) fuertemente expresado en la primeras etapas de la transición y dado que las secuencias que estamos analizando no representan los transcritos completos y el hecho que las invertasas de pared celular y las FEH son muy emparentados es posible que los transcritos identificados pertenecen a un gene codificante de un FEH o una proteína con función dual Invertasa/FEH. Será necesario llevar a cabo análisis de la actividad de la proteína codificada para determinar su papel.

En cuanto a la movilización de carbohidratos en *Agave tequilana* no se sabe a ciencia cierta cuál molécula es la que se mueve ni como lo hace, si son moléculas grandes mediadas por vesículas o si lo hace mediante moléculas pequeñas a través del floema, aunque existen reportes en *A. deserti* de la presencia de oligofruktanos de bajos niveles de polimerización en el floema (Wang N & Nobel P S 1998). En *Arabidopsis thaliana* el carbohidrato para ser movido por excelencia es la sacarosa. Primero esta molécula tiene que ser movilizada del apoplasto al floema por la acción de transportadores de sacarosa (*SUC2* en *Arabidopsis*) donde será llevada a destino final con el complejo colector del floema *SIEVE ELEMENT/COMPANION CELL (SE/CC)*, para esto la sacarosa tiene que entrar y salir de la célula. Recientemente se ha identificado otro transportador que lleva a cabo esta función: los transportadores *SWEET* que son proteínas intermembranales que permiten el flujo de sacarosa dentro y fuera de las células lo cual es un prerrequisito para que sean cargados al floema por *SUC2* (Chen LQ et al., 2012). Dentro de los transcritos regulados positivamente en el Par1 también se encontraron un homólogo con la proteína transportadora de Sacarosa *SWEET14* (Tabla 7), lo que sugiere que el proceso de movilización de azúcares es conservado en *A.*

tequilana y que juega un papel importante en el proceso de transición a la etapa reproductiva. Es probable que estas moléculas se asocian con el transporte de azúcares de bajo peso molecular como la sacarosa, sin descartar la posibilidad de que también se movilicen los oligofruktanos mediados por vesículas como ha sido sugerido por Valluru et al 2008.

Los resultados obtenidos han sido muy consistentes con lo esperado, al igual que en la mayoría de las plantas los genes asociados con la inducción o represión pudieron ser encontrados en los análisis, la llave para la transición a etapa reproductiva no se da solo por un factor en específico sino que se tienen que integrar todos los factores para asegurar la reproducción de la planta en las condiciones más adecuadas, remarcando la importancia de que en *Agave tequilana* solo puede llevar a cabo este proceso una vez en su vida y después de esto la planta muere. Las plantas de *Agave* están expuestas a la mayoría de los factores a lo largo de toda su vida, los factores óptimos en cuanto a temperatura, fotoperiodo, calidad y censado de la luz, se presentan año con año y especies anuales o perennes responden iniciando la transición entre etapas, sin embargo plantas perennes monocárpicas como la mayoría de las especies de *Agave* no desencadenan todo el proceso de floración, llevándonos a inferir que los factores más importantes para inducir la etapa reproductiva en *Agave tequilana* son los factores endógenos. Basado en los resultados obtenidos proponemos a los carbohidratos como la llave principal para que la transición se lleve a cabo. Ya que a la medida que la planta crece aumenta su concentración en azúcares o fructanos de alto grado de polimerización donde se ha reportado que en plantas de 7 años la concentración puede llegar hasta los 710 mg/g en peso seco (Mellado-Mojica *et al.*, 2012). Aun no se sabe si la planta tiene un mínimo de requerimiento y cómo es que esta señal es captada o transducida para iniciar el proceso de transición, aunque hay evidencias para inferir que la trehalosa juega un papel muy importante no se sabe bien cómo es que esta interactúa o percibe la concentración endógena de la planta para así desencadenar los procesos o si es en realidad otra molécula la encargada de esto. Todavía queda mucho trabajo por delante para elucidar que es lo que pasa en realidad, pero esta es una pequeña introducción al proceso que se lleva a cabo y parece estar conservado con lo ya reportado en otras especies.

Los resultados mostraron tener una gran concordancia en cuanto a los patrones de expresión siguiendo una tendencia muy parecida en los valores de cuantificación relativa y los obtenidos *in silico*, por lo que se puede decir que nos da un amplio panorama del comportamiento de los niveles de expresión de transcritos individuales los cuales nos permiten entender cuáles son los genes más fuertemente asociados a la transición entre la etapa vegetativa y la etapa reproductiva y eventualmente poder predecir, como y cuando la planta desarrollara estos procesos.

IX.-Conclusiones

- Se pudo reconstruir un transcriptoma de alta calidad, lo que condujo a un análisis preciso y confiable de la expresión diferencial entre las diferentes etapas de la transición entre la etapa vegetativa y la etapa reproductiva en *A. tequilana*.
- Se pudo realizar la anotación de más del 30% de los genes que se encontraron con por lo menos un hit representativo con homólogos de otras especies.
- Aunque para poco más del 50% de los genes no se reportó ningún homólogo disponible todavía falta ver en las bases de datos de secuencias no codificantes, por lo general se encuentran aproximadamente alrededor del 15 al 20% que pueden ser asociados con precursores de RNA no codificantes. Las secuencias restantes no pueden considerarse como secuencias basura, ya que estas pueden ser específicas de la especie, hasta no ser comparadas con el genoma de la especie, no podemos decidir definitivamente cuales secuencias son verídicas y cuales son artefactos del proceso de ensamblado o contaminación de otros organismos.
- Estudiar un modelo como *A. tequilana* a nivel molecular/transcriptómico, presenta retos particulares incluyendo la obtención de suficientes muestras en las etapas de desarrollo adecuada. Dado que no fue posible obtener el número de réplicas biológicas más adecuadas, se implementó la estrategia de la comparación de expresión diferencial por pares. Esta estrategia fue exitosa y produjo resultados muy coherentes sobre los niveles y patrones de expresión in sílico y fue validado con los resultados obtenidos con el análisis de *qRT-PCR*. Los resultados sugieren que esta estrategia es muy útil para especies vegetales no-modelo donde las muestras disponibles son limitadas.

- Si bien no se pudieron encontrar patrones de expresión diferencial para todos los transcritos con los homólogos reportados que participan en la transición de estado vegetativa reproductivo en otras especies vegetales, esto se puede deber a que estos genes no se expresan en meristemo o cuando la muestra se tomó estos se encontraban en niveles muy bajos de expresión y no pudieron ser detectados.
- El análisis de expresión nos da un panorama inicial de cómo se lleva a cabo el proceso de la transición en *Agave tequilana*, cimienta los principios de estudios posteriores para poder desentrañar la complejidad de este proceso, para poder ser utilizado en beneficio de un mejor manejo agronómico de la especie ya sea con fines comerciales o científicos.
- Se pudo verificar que al igual que en la mayoría de las especies las rutas o factores necesarios para llevar a cabo la transición a estado reproductivo se encuentran de manera conservada con pequeñas variaciones en la importancia e integración de esta para que se dispare el proceso.
- Se pudieron encontrar el agrupamiento de algunos transcritos en procesos biológicos importantes para la transición de fase vegetativa a fase reproductiva, mediante un análisis de enriquecimiento.
- Se encontró indicios de la movilización de azúcares por medio del floema para abastecer la gran demanda de energía que requiere el proceso de transición.
- Las herramientas bioinformáticas son de gran utilidad para poder predecir cómo se comporta los organismos y nos pueden dar un acercamiento muy preciso lo que sucede *in vivo*.

- Se pudo corroborar los patrones de expresión de manera *in silico* con una correlación positiva en cuanto a su comportamiento mediante la técnica de qRT-PCR

X.-Perspectivas

- ❖ Gracias al gran auge de la secuenciación masiva y las herramientas para su análisis, se puede estar revisando si las secuencias que no pudieron ser clasificadas pueden ser anotados en un futuro y se puede llevar a cabo análisis en detalle de los datos transcriptómicos para identificar genes específicos de interés en *A. tequilana*.
- ❖ Conjuntar los datos con otros transcriptoma disponibles para especies de Agave para enriquecer y facilitar el análisis y identificación de genes de interés
- ❖ Una vez liberado el genoma de *Agave tequilana* se puede rehacer el análisis y así refinar los resultados.
- ❖ De lo resultados obtenidos se puede verificar con los genes de interés particular, interacciones con otros genes o proteínas, localización y fenotipos. Debido al largo ciclo de vida del *Agave tequilana* esto puede realizarse mediante expresión heteróloga en el organismo modelo por excelencia *Arabidopsis thaliana*.
- ❖ Para ver exactamente qué pasa en la planta pueden aumentarse los tejidos analizados, e incluso aumentar el número de muestras, los avances ya han hecho que las secuenciaciones sean cada vez más precisas, robustas y de menor costo relativamente.
- ❖ Los resultados abren el camino para investigar a fondo el papel de los carbohidratos en la regulación de la transición vegetativa-reproductiva en especies de Agave, con el fin de identificar los factores que conducen a la iniciación de este proceso después de periodos significativas que pueden durar entre 5-50 años.

XI.-Referencias

1. **Abraham Juárez M J, Martínez Hernández A, Leyva González M A, Herrera Estrella L, Simpson J**, 2010. "Class 1-KNOXS genes are associated with organogenesis during bulbil formation in *Agave tequilana*". *Journal of Experimental Botany*. 61, pp 4055-4067.
2. **Abraham Juárez, M. J.** 2010. "ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE BULBILOS EN *Agave tequilana* A NIVEL HISTOLÓGICO Y MOLECULAR". Tesis de doctorado. *Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, México.*
3. **Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ.** Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990 Oct 5;215(3):403-10. PubMed PMID: 2231712
4. **Arizaga S, Ezcurra E.** 1995. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia* 101, pp 329-334.
5. **Arizaga S, Ezcurra E.** 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany* 89, pp 632 – 641.
6. **Avila-de D E, Gomez-Vargas A D, Damian-Santos M L, Simpson J.** 2015. New insights into plant glycoside hydrolase family 32 in *Agave* species. *Frontiers in Plant Science.* 05 August 2015 <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00594>.
7. **Bernier, G., Havelange, A., Houssa, C., Petitjean, A., and Lejeune, P.** (1993). Physiological signals that induce flowering. *Plant Cell* 5 (10): 1147–1155.
8. **Bernier G & Périlleux C.** 2005. A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal*, DOI: 10.1111/j.1467-7652.2004.00114.x
9. **Bolger AM, Lohse M, Usadel B.** 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24695404.

10. **Breitung, A. J.** 1968, *The Agaves. The Cactus and Succulent journal*. Yearbook.
11. **Brian J Haas, Alexie Papanicolaou, Moran Yassour, Manfred Grabherr, Philip D Blood, Joshua Bowden, Matthew Brian Couger, David Eccles, Bo Li, Matthias Lieber, Matthew D MacManes, Michael Ott, Joshua Orvis, Nathalie Pochet, Francesco Strozzi, Nathan Weeks, Rick Westerman, Thomas William, Colin N Dewey, Robert Henschel, Richard D LeDuc, Nir Friedman & Aviv Regev.** 2013. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature Protocols* 8, 1494–1512 (2013) doi:10.1038/nprot.2013.084 Published online 11 July 2013.
12. **Chen LQ, Qu XQ, Hou BH, Sosso D, Osorio S, Fernie AR, Frommer WB,** 2012 Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science*. 2012 Jan 13;335(6065):207-11. doi: 10.1126/science.1213351.
13. **Crouch H. K., Crouch J. H., Madsen S., Vuylsteke D. R. y Ortiz R.** (2000) Comparative Analysis of Phenotypic and Genotypic Diversity Among Plantain Landraces (*Musa spp.*, AAB group). *Theoretical and Applied Genetics Journal*. 101, pp1056-1065.
14. **Colunga-García P, Larqué-Saavedra A, Eguiarte E, Zizumbo Villarreal D (eds).** 2007. En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. CICY, CONACYT, CONAVIO, SEMARNAT, INE. México. pp 2-18.
15. **Conesa A, Götz S, García-Gómez JM, Terol J, Talón M, Robles M.** 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*. 2005 Sep 15; 21(18):3674-6. Epub 2005 Aug 4. PubMed PMID: 16081474.
16. **Consejo Regulador del Tequila** “ <https://www.crt.org.mx/> “
17. **Cortés-Romero C, Martínez-Hernández A, Mellado-Mojica E, López MG, Simpson J.** 2012. Molecular and functional characterization of novel fructosyltransferases and invertases from *Agave tequilana*. *Plus One*. 2012;7(4):e35878. doi:10.1371/journal.pone.0035878. Epub 2012

- Apr 30. PubMed PMID: 22558253; PubMed Central PMCID: PMC3340406.
18. **Davies P J**, 1995. PLANT HORMONES Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Ed. Kluwer Academic Publishers, 2nd ed. pp 1-13; 39-65; 214-298.
19. **Dijken A J H, Schluemann H, & Smeekens S C M**. 2004. Arabidopsis Trehalose-6-Phosphate Synthase 1 Is Essential for Normal Vegetative Growth and Transition to Flowering. *Plant Physiology*, 135(2), 969–977. <http://doi.org/10.1104/pp.104.039743>
20. **Delgado S, Abraham J, Simpson J**, 2012. Agave tequilana MADS genes show novel expression patterns in meristems, developing bulbils and floral organs. *Sex Plant Reprod* (2012) 25:11–26 DOI 10.1007/s00497-011-0176-x
21. **Doyle J. J. y Doyle J. L.** (1989) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12. pp 13-15.
22. **Ericksson S, Bohlenius H, Moritz T & Nilsson O**. 2006. GA4 Is the Active Gibberellin in the Regulation of LEAFY Transcription and Arabidopsis Floral Initiation. *The Plant Cell* September doi: <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.106.042317>
23. **Felsenstein J**. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution* 39, pp 783-791.
24. **Finn R.D., Coggill P., Eberhardt R.Y., Eddy S.R., Mistry J., Mitchell A.L., Potter S.C., Punta M., Qureshi M., Sangrador-Vegas A., Salazar G.A., Tate J. and Bateman A**. 2016. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future: *Nucleic Acids Research* (2016) Database Issue 44:D279-D285
25. **Fornara F, de Montaigu A, Coupland G**. 2010. SnapShot: Control of flowering in Arabidopsis. *Cell*. Apr 30;141(3):550, 550.e1-2. doi: 10.1016/j.cell.2010.04.024. PubMed PMID: 20434991
26. **García-Mendoza A**. 2002. “Distribución de the genus *Agave* (Agavaceae) and its endemic species in Mexico”, en *Cactus and Succulent Journal (US)*.

27. **García-Mendoza A.** 2004. Agaváceas. En: A.J. García –Mendoza, M.J. Ordóñez y M. Briones (eds). Biodiversidad de Oaxaca. Universidad Autónoma de Oaxaca. Instituto de Biología. UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund. México. pp 159-169.
28. **García-Mendoza, A.** 2007. Los agaves de México. CIENCIAS, 86,87, pp 14-23.
29. **Gentry, H. S.** 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press, Tucson, Az. pp 668.
30. **Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, Adiconis X, Fan L, Raychowdhury R, Zeng Q, Chen Z, Mauceli E, Hacohen N, Gnirke A, Rhind N, di Palma F, Birren BW, Nusbaum C, Lindblad-Toh K, Friedman N, Regev A.** Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat Biotechnol.* 2011 May 15;29(7):644-52. doi: 10.1038/nbt.1883. PubMed PMID:21572440; PubMed Central PMCID: PMC3571712.
31. **Guzmán López J. A.** 2010 “Caracterización de los genes AS1 y GlS1 en *Agave tequilana*”. *Tesis de Maestría. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, México.*
32. **Granados S. D.** 1993. Los Agaves en México, Universidad Autónoma de Chapingo, México. pp 31-36.
33. **Gross, S. M., Martin, J. A., Simpson, J., Abraham-Juarez, M. J., Wang, Z., & Visel, A.** (2013). De novo transcriptome assembly of drought tolerant CAM plants, *Agave deserti* and *Agave tequilana*. *BMC Genomics*, 14, 563. <http://doi.org/10.1186/1471-2164-14-563>
34. **Heldt H-w, Heldt F.** 2005, *Plant Biochemistry*, Ed. ELSEVIER ACADEMIC PRESS, 3rd ed., pp 491-495.
35. **Huang T, Bohlenius H, Eriksson S, Parcy F & Nilsson O.** 2005. The mRNA of the Arabidopsis Gene FT Moves from Leaf to Shoot Apex and Induces Flowering. *Science* 09 Sep 2005:Vol. 309, Issue 5741, pp. 1694-1696, DOI: 10.1126/science.1117768.

36. **Jackson, S. D., & Hong, Y.** (2012). Systemic movement of FT mRNA and a possible role in floral induction. *Frontiers in Plant Science*, 3, 127. <http://doi.org/10.3389/fpls.2012.00127>
37. **Jefferson R.A., Kavanagh T. A., and Bevan M. W.** 1987, GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker, in higher plants. *EMBO J.*; 6(13), pp 3901–3907.
38. **Kanehisa M, Goto S.** 2000. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* Jan 1;28(1):27-30. PubMed PMID: 10592173; PubMed Central PMCID: PMC102409.
39. **King, R.W. and Evans, L.T.** 2003 *Gibberellins and flowering of grasses and cereals: prizing open the lid of the 'florigen' black box.* *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, Review in Advance on January 8, 2003 DOI: 10.1146/annurev.arplant.54.031902.135029
40. **Langmead B, Trapnell C, Pop M, Salzberg SL.** 2009. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome.. *Genome Biology*;10(3):R25. doi: 10.1186/gb-2009-10-3-r25. Epub 2009 Mar 4. PubMed PMID:19261174; PubMed Central PMCID: PMC2690996.
41. **Liljegren SJ, Gustafson BC, Pinyopich A, Ditta GS, Yanofsky MF.** 1999. Interactions among APETALA1, LEAFY, and TERMINAL FLOWER1 specify meristem fate. *The Plant Cell* 11, pp 1007-1018.
42. **Li, B. and Dewey, C. N.** (2011). RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics.* 12:323.
43. **Mellado-Mojica E & López G M.** 2012. Fructan Metabolism in A. tequilana Weber Blue Variety along Its Developmental Cycle in the Field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2012, 60 (47), pp 11704–11713. DOI: 10.1021/jf303332n
44. **Moriya Y, Itoh M, Okuda S, Yoshizawa AC, Kanehisa M.** 2007. KAAS: an automatic genome annotation and pathway reconstruction server. *Nucleic Acids Res.* 2007 Jul;35(Web Server issue):W182-5. Epub. PubMed PMID: 17526522; PubMed Central PMCID: PMC1933193.

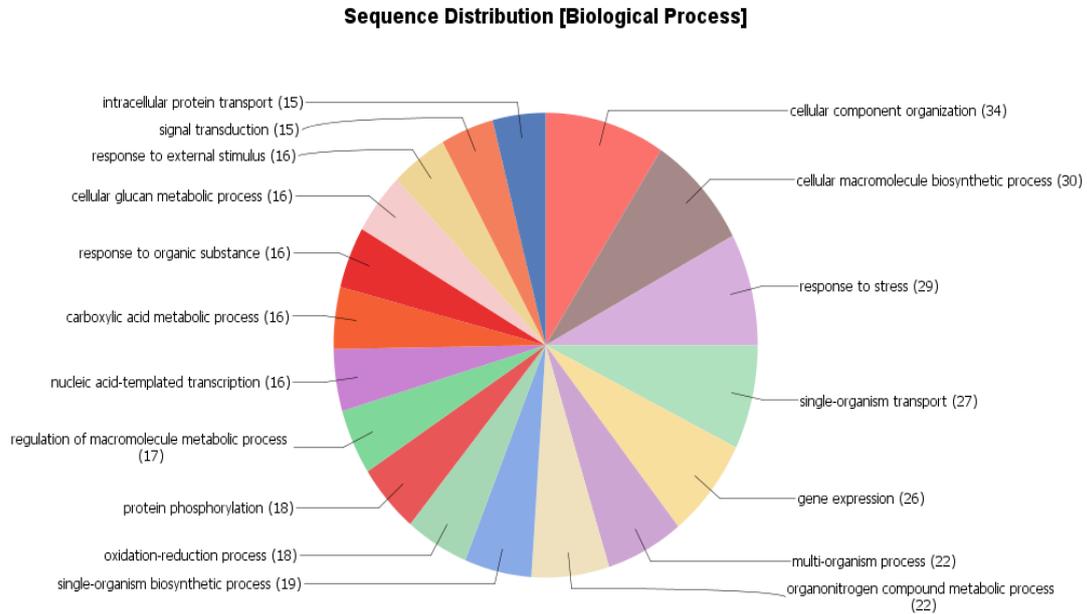
- 45. Mutasa-Göttgens E1, Hedden P.** 2009. Gibberellin as a factor in floral regulatory networks. *Jurnal of Experimental Botany*. 2009 ;60(7):1979-89. doi: 10.1093/jxb/erp040. Epub 2009 Mar 5
- 46. Murray W N, 2005.** Introducción a la Botánica Ed. Pearson.
- 47. Eric P. Nawrocki, Sarah W. Burge, Alex Bateman, Jennifer Daub, Ruth Y. Eberhardt, Sean R. Eddy, Evan W. Floden, Paul P. Gardner, Thomas A. Jones, John Tate and Robert D. Finn.** 2014. Rfam 12.0: updates to the RNA families database. *Nucl. Acids Res.* (28 January 2015) 43 (D1): D130-D137. doi: 10.1093/nar/gku1063, First published online: November 11, 2014
- 48. Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2005, Bebidas Alcohólicas-Tequila especificaciones.** D. O. F. 6 de enero de 2006. pp 6-8.
- 49. Parcy F, Bomblies K, Weigel D.** 2002. Interaction of LEAFY, AGAMOUS and TERMINAL FLOWER1 in maintaining floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Development* ,129, pp 2519-2527.
- 50. Paul M. J, Primavesi F L, Jhurrea D, & Zhang Y.** 2008. Trehalose Metabolism and Signaling *Annual Review of Plant Biology* Vol. 59: 417-441 (Volume publication date June 2008) DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092945
- 51. Pruitt KD, Tatusova T, Maglott DR.** NCBI Reference Sequence (RefSeq): a curated non-redundant sequence database of genomes, transcripts and proteins. *Nucleic Acids Res.* 2005 Jan 1;33(Database issue):D501-4. PubMed PMID: 15608248; PubMed Central PMCID: PMC539979
- 52. Reinhardt D. Robinson MD, McCarthy DJ and Smyth GK (2010).** “edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data.” *Bioinformatics*, 26, pp. -1.Saitou N, Nei M. 1987.
- 53. Salisbury F B, 1992.** *Plant physiology* Ed. Wedsworth Publishing, 4th ed. pp 357-382.
- 54. Simpson June, Martínez Hernández Aída, Abraham Juárez, Delgado Sandoval Silvia, Sánchez Villarreal Alfredo, Cortés Romero Celso,**

- 2011 Genomic resources and transcriptome mining in *Agave tequilana*. *GCB Bioenergy* (2011) 3, pp 25–36.
- 55. Suárez-López P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F & Coupland G.** 2001. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature* 410, 1116-1120 (26 April 2001) | doi:10.1038/35074138;
- 56. Szarek SR, Driscoll B, Shohet C, Priebe S.** 1996. Bulbil production in *Agave* (Agavaceae) and related genera. *The Southwestern Naturalist* 41, 465-469.b
- 57. Taiz Linconl, Zeigar Eduardo,** 2006. *Plant Physiology*, Ed. Universidad Jaume, 3th ed. pp 807-873.
- 58. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S** (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*.
- 59. Tian H1, Xu X2, Zhang F3, Wang Y1, Guo S1, Qin X3, Du G4.** 2015. Analysis of *Polygala tenuifolia* Transcriptome and Description of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways by Illumina Sequencing. *International Journal of Genomics*. 2015;2015:782635. doi: 10.1155/2015/782635. Epub 2015 Oct 12.
- 60. Trapnell C, Williams BA, Pertea G, Mortazavi A, Kwan G, van Baren MJ, Salzberg SL, Wold BJ, Pachter L.** Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat Biotechnol*. 2010 May; 28(5):511-5. doi: 10.1038/nbt.1621.
- 61. Turck F1, Fornara F, Coupland G,** 2008. Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. *Plant Biology* 2008;59:573-94. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092755.
- 62. Valenzuela Z. A.** 1997. *El agave tequilero su cultivo e industria*, Litteris editores, México. pp. 31-51, 123-134.
- 63. Valenzuela Z. A.** 2003. *El agave tequilero su cultivo e industria*, Ed. Mundi Prensa 3ª ed. México. pag 140.

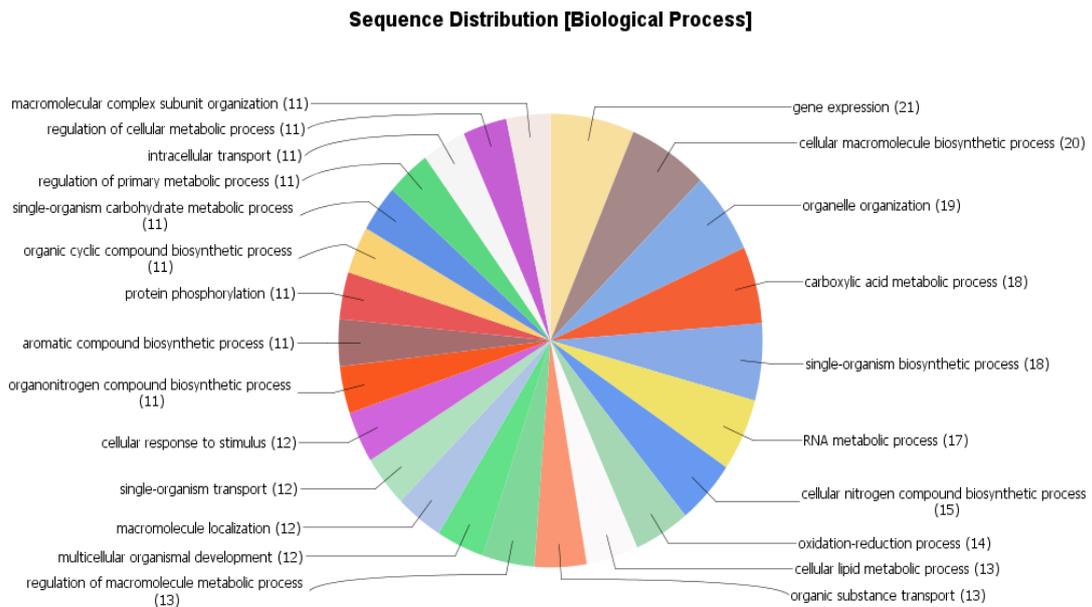
64. **Valluru R, Lamens W, Claupein, Van Den Ende W**, 2008. Freezing tolerance by vesicle-mediated fructan transport. *Trends in Plant Science*, Volume 13, Issue 8, August 2008, Pages 409–414, doi:10.1016/j.tplants.2008.05.008
65. **Wahl V, Ponnu J, Schelereth A, Arrivault S, Langenecker T, Franke A, Feil R, Lunn E J, Stitt M & Schmid M**. 2013. Regulation of Flowering by Trehalose-6-Phosphate Signaling in *Arabidopsis thaliana*. Vol. 339, Issue 6120, pp. 704-707, DOI: 10.1126/science.1230406
66. **Wang Ji-R, Hu H, Wang G-H, Li J, Chen J-Y, Wu P**, 2009. Expression of *PIN* Genes in Rice (*Oryza Sativa L.*): Tissue Specificity and Regulation by Hormones. *Molecular Plant*, 2:4 pp 823-831.
67. **Wang, N., & Nobel, P. S.** 1998. Phloem Transport of Fructans in the Crassulacean Acid Metabolism Species *Agave deserti*. *Plant Physiology*, 116(2), 709–714.
68. **Wang Z, Gerstein M, Snyder M**. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet.* 2009 Jan; 10(1):57-63. doi: 10.1038/nrg2484. Review. PubMed PMID: 19015660; PubMed Central PMCID: PMC2949280.
69. **Weigel D, Nilsson O**. 1995. A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature* 377, pp 495-500.
70. **Yoo S K, Wu X, Lee J S, Ahn J H**. 2011. AGAMOUS-LIKE 6 is a floral promoter that negatively regulates the FLC/MAF clade genes and positively regulates FT in *Arabidopsis*. *Plant Journal*. 2011 Jan;65(1):62-76. doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04402.x.
71. **Zamora, L. R.**, 1990. La agroindustria del tequila y sus empresarios en los altos de Jalisco, en *Política y región: Los altos de Jalisco*. Editorial CIESAS.

X.-Anexos

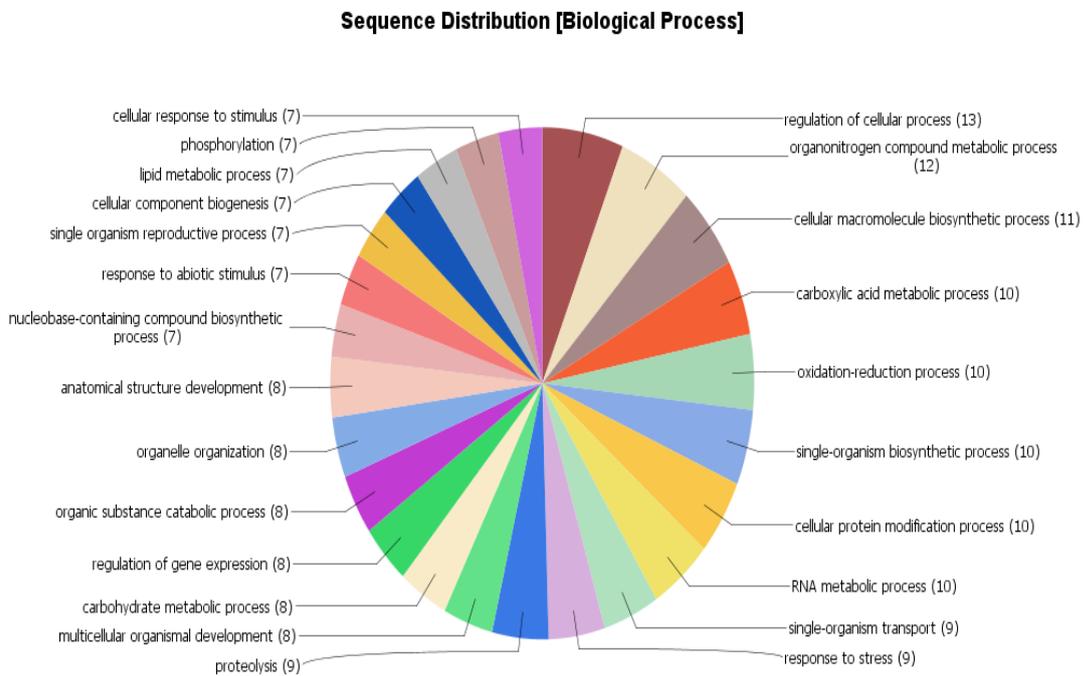
Procesos biológicos donde se observan cambios en expresión de los genes regulados positivamente en el par2



Procesos biológicos donde se observan cambios en expresión de los genes regulados negativamente en el par2



Procesos biológicos donde se observan cambios en expresión de los genes regulados positivamente en el par3



Procesos biológicos donde se observan cambios en expresión de los genes regulados negativamente en el par3

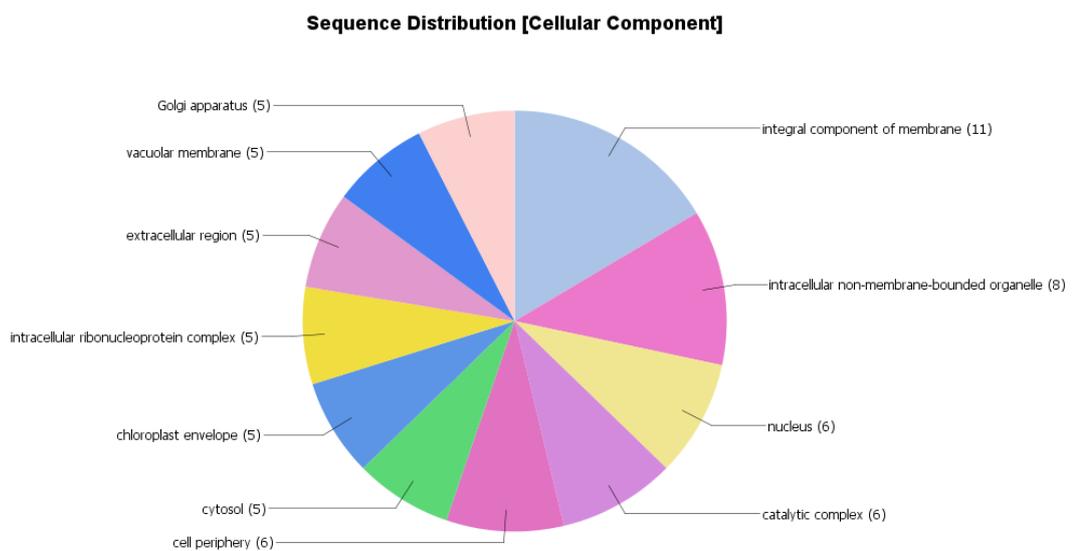


Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que son específicos del Par1.

	logFC	FDR
comp44951_c2_seq1 cca11_orysjcyclin-a1-1	9.7364	5.30e-05
comp45043_c0_seq6 kif4_dicdikinesin-related	9.5386	8.88e-05
comp46162_c0_seq5 srap_stahjserine-rich	8.8134	0.0004
comp45096_c0_seq7 lvsc_dicdibeach	8.7273	0.0005
comp46875_c0_seq1 loxh1_humanlipoxygenase	8.7266	0.0005
comp41464_c0_seq2 wdr11_mousewd	8.6546	0.0006
comp42377_c0_seq5 cenpe_humancentromere-associated	8.6138	0.0007
comp42698_c1_seq3 if5a2_nicpleukaryotic	8.6116	0.0007
comp40819_c0_seq1 brom1_anacofruit	8.5944	0.0007
comp40390_c0_seq1 pur4_arathprobable	8.2744	0.0016
comp42706_c0_seq9 PREDICTED uncharacterized protein LOC103709771	8.2721	0.0016
comp45943_c0_seq11 scc13_arathsister	8.2496	0.0016
comp42602_c0_seq2 cda71_humancell	8.1983	0.0017
comp44408_c0_seq2 yl241_yeastuncharacterized	8.1969	0.0017
comp45023_c0_seq4 dpolq_humandna	8.1066	0.0022
comp41653_c0_seq1 fancm_mousefanconi	8.0483	0.0025
comp42055_c0_seq1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC105047402	8.0395	0.0026
comp44279_c0_seq2 ring1_arathe3	8.0229	0.0027
comp44420_c0_seq66 subl_arathsubtilisin-like	7.9764	0.0031
comp45010_c0_seq8 figl1_humanfidgetin-like	7.8886	0.0038
comp45575_c0_seq6 arr12_arathtwo-component	7.8437	0.0044
comp42185_c1_seq2 dcl4_orysjendoribonuclease	7.8363	0.0045
comp40480_c0_seq4 fro7_arathferric	7.8211	0.0045
comp45290_c1_seq28 ccnb1_medsvg2	7.8008	0.0048
comp42937_c0_seq5 probable zinc metalloprotease EGY1	7.7553	0.0052
comp39484_c1_seq2 mad2_maizemitotic	7.7364	0.0054
comp45424_c0_seq1 nek2_orysjserine	7.7159	0.0055
comp38326_c0_seq6 uncharacterized protein LOC105054121 isoform X1	7.7099	0.0058
comp45949_c0_seq1 ubc24_arathprobable	7.6947	0.0058
comp41075_c0_seq4 rad50_pyrkodna	7.6891	0.0061
comp46059_c0_seq10 kn12a_arathkinesin-like	7.6726	0.0063
comp39850_c0_seq8 rs51_arath40s	7.6177	0.0070
comp41179_c0_seq3 pp1r8_mousenuclear	7.5791	0.0078
comp46059_c0_seq11 kn12b_arathkinesin-like	7.5406	0.0085
comp45290_c1_seq18 ccb22_orysjcyclin-b2-2	7.5277	0.0087
comp42937_c0_seq3 probable zinc metalloprotease EGY1	7.5154	0.0087
comp40193_c0_seq1 ab4b_arathabc	7.5008	0.0091
comp45581_c0_seq9 EFR3 homolog isoform X1	7.4721	0.0095
comp45719_c1_seq21 pid2_orysjprotein	7.4632	0.0099
comp45636_c0_seq2 ccr4a_arathcarbon	7.4521	0.0099
comp42238_c2_seq4 uncharacterized protein LOC103707743	7.4500	0.0099
comp46099_c0_seq2 atrx_caehltranscriptional	7.4453	0.0103
comp43963_c1_seq21 cca1_arathprotein	7.4388	0.0103
comp42986_c1_seq9 cpl2_arathrna	7.4352	0.0103
comp38980_c0_seq4 aspl1_arathaspartic	7.4253	0.0108
comp41847_c0_seq11 atg4b_orysjcysteine	7.4209	0.0108
comp45416_c0_seq1 ski35_arathf-box	7.3852	0.0113

comp40641_c0_seq2 frs11_arathprotein	7.3625	0.0118
comp42978_c0_seq7 Os01g0938600	7.3140	0.0133
comp44540_c0_seq1 strum_dicdiwash	7.3076	0.0143
comp46053_c0_seq5 uncharacterized protein LOC103710172 isoform X1	7.2739	0.0151
comp42853_c0_seq1 gfcf1_mousegc-rich	7.2698	0.0151
comp45483_c0_seq2 tpx2_arathprotein	7.2638	0.0151
comp46097_c2_seq41 vps45_arathvacuolar	7.2356	0.0159
comp45722_c0_seq9 atk4_arathkinesin-4	7.2282	0.0165
comp45407_c0_seq3 dhx16_pantr	7.2102	0.0165
comp45668_c0_seq22 pi3k1_soybnphosphatidylinositol	7.2015	0.0176
comp45895_c0_seq15 y7633_orysjb3	7.1874	0.0176
comp41160_c0_seq8 yctb_schpoenth	7.1612	0.0187
comp39238_c0_seq2 ra211_arathethylene-responsive	7.1478	0.0196
comp43096_c0_seq29 atm_arathserine	7.1401	0.0196
comp43164_c0_seq8 cb22_tobacchlorophyll	7.1273	0.0196
comp41131_c0_seq12 nlrc3_humanprotein	7.1253	0.0209
comp41155_c1_seq17 akr2_arathankyrin	7.1184	0.0209
comp46059_c0_seq7 kn12a_arathkinesin-like	7.1021	0.0209
comp45403_c0_seq2 ilv5_arathketol-acid	7.1004	0.0209
comp42835_c0_seq6 larp6_humanla-related	7.0949	0.0217
comp44789_c0_seq7 gcp2_mousegamma-tubulin	7.0939	0.0217
comp41222_c0_seq1 sgo1_maizeshugoshin-1	7.0899	0.0217
comp44263_c0_seq5 r47bp_arathpolyadenylate-binding	7.0764	0.0217
comp43315_c0_seq1 cprf2_petclight-inducible	7.0647	0.0230
comp43065_c0_seq9 ctr1_arathserine	7.0540	0.0230
comp43170_c0_seq6 pldb1_arathphospholipase	6.9975	0.0260
comp39688_c0_seq3 inv3_orysjbeta-	6.9970	0.0260
comp40874_c0_seq2 cipk8_orysjcbl-interacting	6.9944	0.0260
comp44807_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105050538	6.9765	0.0273
comp44951_c2_seq3 cca11_orysjcyclin-a1-1	6.9753	0.0273
comp45719_c1_seq12 pid2_orysjprotein	6.9730	0.0273
comp45797_c0_seq10 pigo_humangpi	6.9522	0.0273
comp42673_c0_seq2 kgua_dicdiguanylate	6.9472	0.0285
comp45554_c2_seq2 hox9_orysihomeobox-leucine	6.9462	0.0005
comp43121_c0_seq8 jist1 _dicdiist1-like	6.9427	0.0285
comp43522_c0_seq5 uncharacterized protein LOC103701975	6.9323	0.0285
comp43545_c0_seq3 metl1_arathmethyltransferase-like	6.9294	0.0285
comp41030_c0_seq3 arc5_arathdynamin-like	6.9294	0.0285
comp44550_c1_seq12 csld4_orysjcellulose	6.9245	0.0285
comp44550_c1_seq7 csld5_arathcellulose	6.9169	0.0285
comp39599_c0_seq1 cb4a_sollcchlorophyll	6.9108	0.0301
comp40995_c0_seq10 his8_tobachistidinol-phosphate	6.9063	0.0301
comp46116_c0_seq1 atg2_asporautophagy-related	6.8966	0.0301
comp38918_c0_seq3 tlp4_orysjtubby-like	6.8910	0.0301
comp41917_c0_seq1 lrks7_arathprobable	6.8773	0.0321
comp38918_c0_seq5 tlp4_orysjtubby-like	6.8742	0.0321
comp44550_c1_seq9 csld5_arathcellulose	6.8576	0.0321
comp39034_c0_seq1 rip_drimaribosome-inactivating	6.8568	0.0321
comp41825_c0_seq2 spsy_arathspermine	6.8566	0.0321
comp43084_c0_seq10 cdpkg_arathcalcium-dependent	6.8323	0.0346
comp42731_c0_seq8 y3236_arathankyrin	6.8196	0.0346
comp42759_c1_seq7 opt1_aratholigopeptide	6.8179	0.0370

comp37366_c0_seq3 uncharacterized protein LOC103701975	6.8022	0.0370
comp37354_c0_seq1 gun6_orysjendoglucanase	6.8013	0.0370
comp45276_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105044642 isoform X1	6.8007	0.0370
comp45906_c0_seq7 uncharacterized protein LOC103721293 isoform X4	6.8002	0.0370
comp44809_c0_seq3 fpp4_arathfilament-like	6.7969	0.0370
comp44562_c0_seq9 tio_arathserine	6.7798	0.0401
comp42616_c0_seq9 iql1_arathprotein	6.7782	0.0401
comp33855_c0_seq3 sc16b_rabitprotein	6.7708	0.0401
comp41780_c1_seq3 bh135_arathtranscription	6.7681	0.0401
comp45937_c0_seq3 nrpe1_arathdna-directed	6.7338	0.0427
comp31915_c0_seq1 lox21_soltulinoleate	6.7338	0.0427
comp41312_c0_seq12 agd14_arathprobable	6.7295	0.0427
comp28447_c0_seq1 ptl_arathtrihelix	6.7242	0.0427
comp38593_c0_seq1 scafb_humanprotein	6.7196	0.0427
comp45775_c0_seq6 gun6_arathendoglucanase	6.7163	0.0427
comp43467_c0_seq2 RING FYVE PHD zinc finger superfamily isoform 1	6.7126	0.0427
comp45397_c0_seq3 Os02g0502500	6.7014	0.0450
comp41287_c0_seq2 bub1_dicdiprobable	6.6999	0.0450
comp45031_c0_seq13 ale2_arathreceptor-like	6.6881	0.0450
comp39059_c0_seq2 ---NA---	6.6871	0.0450
comp42296_c0_seq10 ab26b_arathabc	6.6870	0.0450
comp45959_c0_seq5 hua2_arathenhancer	6.6788	0.0450
comp45577_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105046304	6.6780	0.0450
comp43171_c0_seq1 Os09g0538500	6.6730	0.0450
comp47500_c0_seq1 polycystic kidney disease 1-like 3	6.6680	0.0480
comp37257_c0_seq38 rh50_orysjdead-box	6.6680	0.0480
comp41780_c0_seq2 Tmhelix	6.6567	0.0480
comp40354_c0_seq3 med27_arathmediator	6.6493	0.0480
comp44706_c0_seq1 rbm25_mouserna-binding	6.6378	0.0480
comp34050_c0_seq3 herc2_dromeprobable	6.6340	0.0480
comp45290_c1_seq32 ccb22_orysjcyclin-b2-2	6.4459	0.0046
comp40662_c0_seq27 h1_maizehistone	6.4430	0.0046
comp44111_c1_seq4 serine arginine repetitive matrix 1-like	6.2239	0.0079
comp43715_c2_seq2 Bowman-Birk type trypsin inhibitor-like	6.1970	0.0085
comp45617_c0_seq1 top2_arathdna	5.9286	0.0022
comp45290_c1_seq14 ccnb1_medsvg2	5.8398	0.0045
comp42602_c0_seq1 cda7l_humancell	5.6495	0.0025
comp43121_c0_seq7 ist1l_dicdiist1-like	5.5710	0.0299
comp44821_c0_seq2 atk4_arathkinesin-4	5.5703	0.0085
comp43026_c0_seq4 frs6_arathprotein	5.4674	0.0094
comp31389_c0_seq4 hd3a_orysjprotein	5.3841	0.0435
comp43715_c2_seq4 ---NA---	5.3591	0.0040
comp45849_c0_seq7 cc132_humancoiled-coil	5.3160	0.0476
comp41474_c0_seq2 potf_ecoliputrescine-binding	5.3024	0.0496
comp34946_c0_seq2 xcp1_arathxylem	5.2925	0.0302
comp44250_c0_seq4 atg26_emenisterol	5.1724	0.0289
comp41641_c0_seq2 pglr4_arathpolygalacturonase	5.1563	0.0285
comp32246_c0_seq1 glua_dicdilysosomal	5.1131	0.0321
comp44774_c2_seq1 Y3885_ARATHUncharacterized	5.1072	0.0331
comp39477_c0_seq1 patl4_arathpatellin-4	5.1021	0.0331

comp35532_c1_seq2 Bowman-Birk type trypsin inhibitor-like	5.0476	0.0086
comp39688_c0_seq4 inv3_orysjbeta-	5.0183	0.0362
comp39218_c0_seq1 psby_spiolphotosystem	4.9867	0.0427
comp37979_c0_seq1 pcra_staesatp-dependent	4.9716	0.0223
comp34384_c0_seq1 bgix_saltyperiplasmic	4.9301	0.0467
comp45722_c0_seq2 atk4_arathkinesin-4	4.8382	0.0287
comp38195_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105050092	4.7956	0.0151
comp44340_c0_seq9 cmt2_arathdna	4.7908	0.0165
comp44638_c1_seq1 imk2_arathprobably	4.7905	0.0091
comp36342_c0_seq3 Nucleotide-diphospho-sugar transferases superfamily	4.7507	0.0196
comp41490_c0_seq3 ccb11_orysjcyclin-b1-1	4.6847	0.0113
comp40419_c0_seq1 bag5_arathbag	4.6728	0.0209
comp42938_c0_seq1 unc13_caeelphorbol	4.5860	0.0245
comp44111_c1_seq1 serine arginine repetitive matrix 1-like	4.5686	0.0169
comp43115_c0_seq2 kf22b_xenlakinesin-like	4.5437	0.0169
comp44617_c0_seq4 kifc3_mousekinesin-like	4.4986	0.0187
comp42546_c0_seq1 k125_tobac125	4.4635	0.0177
comp40719_c3_seq2 kda	4.4058	0.0371
comp32136_c0_seq1 kda	4.3620	0.0379
comp34107_c0_seq2 ubc20_arathubiquitin-conjugating	4.3427	0.0273
comp39484_c1_seq4 mad2_maizemitotic	4.2507	0.0285
comp33666_c0_seq1 uncharacterized protein LOC103442428	4.2354	0.0325
comp35532_c1_seq4 Chalcone-flavanone isomerase family	4.2280	0.0333
comp37215_c0_seq1 ifrh_lupalisoflavone	4.2196	0.0467
comp44472_c0_seq2 ycf2_oenarprotein	4.1868	0.0365
comp44569_c0_seq1 kif22_xentrkinesin-like	4.1749	0.0325
comp14525_c0_seq1 K11481 aurora kinase	4.0540	0.0471
comp45778_c0_seq1 kif4_chickchromosome-associated	4.0487	0.0450
comp42238_c2_seq7 uncharacterized protein LOC103707743	3.9830	0.0435
comp34601_c0_seq1 hs23c_cherusmall	3.9617	0.0467
comp45699_c0_seq14 sk2l2_humansuperkiller	-4.3259	0.0371
comp40548_c0_seq11 syv_carhzvaline--trna	-4.5139	0.0419
comp24109_c0_seq1 harb1_mouse	-4.5806	0.0441
comp14270_c0_seq1 cml30_arathprobable	-4.8616	0.0467
comp44188_c1_seq4 keule_arathsnare-interacting	-5.0215	0.0407
comp34481_c0_seq16 ptr18_arathprobable	-5.0539	0.0392
comp38459_c1_seq6 hypothetical protein POPTR_0006s08320g	-5.0724	0.0297
comp43963_c1_seq3 lhy_arathprotein	-5.3815	0.0450
comp43725_c0_seq3 Zinc finger ZFPM1	-5.3880	0.0421
comp46113_c0_seq8 ubp53_humaninactive	-5.4054	0.0435
comp46086_c0_seq5 myh11_chickmyosin-11	-5.4382	0.0187
comp44420_c0_seq14 sdd1_arathsubtilisin-like	-5.6505	0.0274
comp42144_c0_seq16 bh074_arathtranscription	-5.6603	0.0269
comp42144_c0_seq8 bh074_arathtranscription	-5.7161	0.0085
comp30145_c0_seq1 ---NA---	-5.7201	0.0099
comp29569_c0_seq6 sipl4_orysjsignal	-5.7215	0.0217
comp41766_c0_seq5 rap1_arathtranscription	-5.8540	0.0187
comp39131_c0_seq4 uhrf1_danree3	-6.3040	0.0071
comp43363_c1_seq31 uncharacterized protein LOC105057314	-6.6372	0.0480
comp40109_c0_seq6 uncharacterized protein LOC103721530 isoform X1	-6.6386	0.0480

comp46089_c1_seq12 edl2_arathaid1-like	-6.6494	0.0480
comp42905_c0_seq7 Y1390_ARATHUncharacterized	-6.6576	0.0480
comp34762_c0_seq1 xyna_striendo-	-6.6587	0.0480
comp44562_c0_seq23 tio_arathserine	-6.6612	0.0480
comp40860_c0_seq2 ckx3_orysjcytokinin	-6.6623	0.0480
comp40128_c0_seq6 ima2_orysjimportin	-6.6750	0.0480
comp32513_c0_seq3 e1311_arathglucan	-6.6773	0.0450
comp44349_c0_seq11 c3h37_arathzinc	-6.6786	0.0450
comp41283_c0_seq8 hypothetical protein TRIUR3_01839	-6.6795	0.0450
comp43504_c0_seq7 cpl1_arathrna	-6.6848	0.0450
comp44117_c0_seq3 Tmhelix	-6.6944	0.0450
comp38330_c0_seq13 mda1_arathmediator-associated	-6.6944	0.0450
comp45958_c0_seq2 fh6_orysjformin-like	-6.7002	0.0450
comp38345_c0_seq1 dpb_arathtranscription	-6.7052	0.0450
comp42717_c0_seq3 pt432_arathprobable	-6.7093	0.0450
comp38263_c0_seq5 ab9c_arathabc	-6.7093	0.0450
comp42745_c0_seq1 crck3_arathcalmodulin-binding	-6.7114	0.0450
comp14549_c0_seq1 ---NA---	-6.7247	0.0427
comp45311_c0_seq1 alix_dicdialg-2	-6.7248	0.0427
comp45707_c0_seq2 ago4b_orysjprotein	-6.7325	0.0427
comp43360_c2_seq4 itih3_bovininter-alpha-trypsin	-6.7377	0.0427
comp42986_c0_seq4 ythd1_mouseyth	-6.7433	0.0427
comp44462_c0_seq3 dna2_xenladna	-6.7455	0.0427
comp40950_c1_seq18 rnp1_arathheterogeneous	-6.7641	0.0401
comp45113_c0_seq2 Endosomal targeting BRO1-like	-6.7887	0.0370
comp42291_c0_seq5 1433_lillo14-3-3-like	-6.8058	0.0370
comp38329_c0_seq2 oct7_arathorganic	-6.8088	0.0370
comp40367_c0_seq26 ---NA---	-6.8232	0.0346
comp45479_c0_seq7 lyk3_arath	-6.8287	0.0346
comp45881_c0_seq25 muc1_yeastflocculation	-6.8389	0.0346
comp45864_c0_seq8 pmtt_arathprobable	-6.8597	0.0321
comp45674_c0_seq165 rhf2a_arathe3	-6.8648	0.0321
comp39728_c0_seq3 mpk5_orysjmitogen-activated	-6.8650	0.0321
comp44666_c0_seq23 Tmhelix	-6.8759	0.0321
comp34481_c0_seq21 ptr18_arathprobable	-6.8989	0.0301
comp45784_c0_seq1 myoj_dicdimyosin-j	-6.9001	0.0301
comp41834_c1_seq11 b2_daucab2	-6.9042	0.0301
comp43991_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105051277 isoform X2	-6.9124	0.0301
comp39450_c0_seq2 y1934_orysjap2	-6.9136	0.0301
comp39051_c0_seq2 atl60_arathring-h2	-6.9178	0.0301
comp36901_c0_seq1 frs5_arathprotein	-6.9198	0.0301
comp43732_c0_seq6 vsr1_arathvacuolar-sorting	-6.9284	0.0285
comp44710_c0_seq20 mcm6_schpodna	-6.9400	0.0285
comp39606_c0_seq45 dpolz_mousedna	-6.9520	0.0285
comp39100_c0_seq3 sda1_danreprotein	-6.9572	0.0273
comp43388_c0_seq36 acbp5_arathacyl-	-6.9594	0.0273
comp45253_c0_seq19 formin-binding 4 isoform X2	-6.9659	0.0273
comp41131_c0_seq1 nlrc3_humanprotein	-6.9823	0.0273
comp34725_c0_seq6 brca2_mousebreast	-6.9925	0.0260
comp42731_c0_seq6 y3236_arathankyrin	-7.0008	0.0260
comp41686_c0_seq12 ptr1_arathpeptide	-7.0011	0.0260
comp40716_c0_seq5 srf6_arathprotein	-7.0063	0.0260

comp42024_c0_seq1 pdc2_orysipyruvate	-7.0169	0.0246
comp45829_c0_seq1 tir1_arathprotein	-7.0432	0.0246
comp38953_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105038857 isoform X3	-7.0534	0.0230
comp43101_c0_seq26 trm51_vitv	-7.0663	0.0230
comp45803_c1_seq4 mrs25_arathmagnesium	-7.0684	0.0230
comp41150_c0_seq2 mter3_huma	-7.0766	0.0217
comp46072_c0_seq2 uncharacterized protein LOC103986113	-7.0811	0.0217
comp39297_c0_seq10 top3a_mousedna	-7.0978	0.0217
comp43013_c0_seq37 gspb_strgnplatelet	-7.1046	0.0209
comp30225_c0_seq2 cbk1_pneacaserine	-7.1451	0.0196
comp44991_c0_seq3 nsun2_xent	-7.1656	0.0187
comp35972_c0_seq3 ---NA---	-7.1828	0.0187
comp43116_c0_seq6 bh066_arathtranscription	-7.2130	0.0165
comp42841_c0_seq8 ttl12_mousetubulin--tyrosine	-7.2239	0.0165
comp41097_c0_seq7 rzp22_arathserine	-7.2276	0.0165
comp45612_c0_seq3 calsc_arathcallose	-7.2387	0.0159
comp44886_c1_seq6 e136_arathglucan	-7.3256	0.0133
comp45958_c0_seq11 fh6_orysiformin-like	-7.3821	0.0118
comp42287_c0_seq1 hda15_arathhistone	-7.4342	0.0103
comp40377_c0_seq8 k1468_danre	-7.4658	0.0099
comp40716_c0_seq9 srf6_arathprotein	-7.5404	0.0087
comp43637_c0_seq9 ccr4f_arathcarbon	-7.5538	0.0085
comp36661_c0_seq7 pex1_arathperoxisome	-7.6176	0.0073
comp45554_c2_seq17 hox9_orysihomeobox-leucine	-7.6632	0.0063
comp46023_c0_seq14 gte10_arathtranscription	-7.7312	0.0055
comp38263_c0_seq22 ab9c_arathabc	-7.8065	0.0046
comp40325_c0_seq6 c3h24_arathzinc	-8.1103	0.0022
comp43723_c1_seq5 y5185_arathprobable	-8.2688	0.0016
comp42698_c1_seq13 if5a2_nicpleukaryotic	-8.4588	0.0010
comp41316_c0_seq2 rdrp_smyearna	-9.8911	5.20e-08

Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que son específicos del Par2.

	logFC	FDR
comp45394_c0_seq16 tf3c2_mousegeneral	8.3714	0.0012
comp34404_c0_seq1 erf12_arathethylene-responsive	8.2351	0.0015
comp37456_c0_seq1 -alpha-glucan-branching	8.1065	0.0021
comp25582_c0_seq2 ttc5_humantetratricopeptide	7.9065	0.0035
comp43628_c1_seq1 Os01g0194000	7.7607	0.0049
comp39973_c0_seq10 rabek_bovinrab9	7.7352	0.0051
comp40324_c0_seq7 sfswa_ratssplicing	7.6884	0.0056
comp45422_c0_seq19 trp5_arathtelomere	7.6725	0.0056
comp38921_c0_seq6 wrk40_arathprobable	7.6614	0.0058
comp45690_c0_seq5 tps9_arathprobable	7.6477	0.0060
comp40871_c0_seq5 wrk53_arathprobable	7.5911	0.0070
comp30621_c0_seq4 nac94_arath	7.5656	0.0072
comp38921_c0_seq3 wrk40_arathprobable	7.4885	0.0083
comp28593_c0_seq1 cxe2_arathprobable	7.4708	0.0086
comp35992_c0_seq6 vp13a_dicdi	7.4652	0.0086
comp40352_c3_seq10 sm3l2_arath	7.4467	0.0090

comp43720_c2_seq32 erf82_arathethylene-responsive	7.4118	0.0097
comp45793_c0_seq19 uncharacterized protein LOC105050482 isoform X1	7.3896	0.0102
comp44678_c0_seq8 cct14_orysjcyclin-t1-4	7.3212	0.0120
comp45644_c0_seq9 hspr1_arathnematode	7.3037	0.0120
comp41551_c0_seq6 b3gt7_arathbeta-	7.3031	0.0124
comp37619_c0_seq1 fbk30_arathf-box	7.3004	0.0124
comp38224_c0_seq7 gpa1_arathguanine	7.2914	0.0124
comp45703_c0_seq17 xpot_arathexportin-t	7.2862	0.0124
comp36638_c0_seq2 rdrp_nmvrna	7.2858	0.0124
comp36661_c0_seq8 pex1_arathperoxisome	7.2800	0.0124
comp39728_c0_seq7 mpk5_orysjmitogen-activated	7.2787	0.0124
comp44302_c0_seq6 apy7_arathprobable	7.2673	0.0131
comp19882_c0_seq1 csld3_arathcellulose	7.1716	0.0166
comp30403_c0_seq2 erf08_arathethylene-responsive	7.1592	0.0166
comp45562_c0_seq31 b3gtf_arathbeta-	7.1542	0.0166
comp41028_c2_seq1 uncharacterized protein LOC103719504	7.1542	0.0166
comp46190_c0_seq10 rga1_solbu	7.1400	0.0178
comp38759_c0_seq1 y1677_arathprobable	7.1336	0.0178
comp45175_c0_seq5 dpo3x_bacsudna	7.1124	0.0189
comp44515_c0_seq11 mnma_borr	7.1036	0.0189
comp22786_c0_seq1 1a1c_soybn1-aminocyclopropane-1-carboxylate	7.0907	0.0199
comp45803_c1_seq8 mrs25_arathmagnesium	7.0680	0.0199
comp36198_c0_seq1 BON1-associated 2	7.0534	0.0211
comp44078_c0_seq3 dcda1_arathdiaminopimelate	7.0253	0.0224
comp45617_c0_seq4 top2_peadna	7.0109	0.0224
comp38676_c0_seq4 p2c09_orysjprobable	6.9953	0.0240
comp45063_c0_seq7 gyrb_nicbedna	6.9716	0.0258
comp35992_c0_seq4 vp13a_dicdi	6.9712	0.0258
comp44817_c0_seq16 uncharacterized protein LOC105033005	6.9590	0.0258
comp45727_c0_seq8 vip2_nicbeprobable	6.9556	0.0258
comp40707_c0_seq16 fen11_sorbiflap	6.9527	0.0258
comp43640_c0_seq2 glup_bacsurhomboid	6.9412	0.0273
comp38263_c0_seq20 ab9c_arathabc	6.9342	0.0273
comp14305_c0_seq5 xth22_arathxyloglucan	6.9323	0.0273
comp36295_c0_seq12 rh1_nicplr-as-related	6.9299	0.0273
comp40980_c0_seq14 rs15a_dauca40s	6.9293	0.0273
comp41692_c0_seq17 nac74_orysjnac	6.8972	0.0293
comp43558_c0_seq19 EXORDIUM-like 1	6.8927	0.0293
comp45924_c0_seq16 cdkg2_orysjcyclin-dependent	6.8741	0.0312
comp45562_c0_seq2 b3gtf_arathbeta-	6.8728	0.0312
comp42229_c0_seq6 nfxl2_arathnf-x1-type	6.8639	0.0312
comp41781_c0_seq10 y1561_arathprobable	6.8592	0.0312
comp37928_c2_seq2 ssuh2_humanprotein	6.8577	0.0312
comp45948_c0_seq117 prp4b_ratserine	6.8452	0.0327
comp40381_c0_seq28 ab13c_arathabc	6.8360	0.0327
comp38921_c0_seq1 wrk40_arathprobable	6.8359	0.0327
comp42169_c0_seq2 sec14_schposec14	6.8300	0.0327
comp42564_c0_seq84 asp1_orysjaspartic	6.8297	0.0327
comp43767_c0_seq8 pas2a_orysjvery-long-chain	6.8270	0.0327
comp42268_c0_seq8 ydc1_schpouncharacterized	6.8220	0.0327
comp41833_c0_seq4 uncharacterized protein LOC103707359	6.8048	0.0346
comp38646_c0_seq2 ---NA---	6.7990	0.0346

comp42422_c0_seq9 apc5_arathanaphase-promoting	6.7921	0.0346
comp39728_c0_seq4 mpk5_orysjmitogen-activated	6.7842	0.0346
comp43129_c0_seq7 Y5519_ARATHUncharacterized	6.7816	0.0346
comp39389_c0_seq2 yabdl_orysjprotein	6.7778	0.0346
comp44420_c0_seq65 sdd1_arathsubtilisin-like	6.7615	0.0373
comp39138_c1_seq4 cm11_arathcalmodulin-like	6.7612	0.0373
comp45562_c0_seq20 b3gtf_arathbeta-	6.7500	0.0373
comp37553_c0_seq3 SignalP-noTM	6.7457	0.0373
comp40233_c0_seq6 remo_solturemorin	6.7382	0.0395
comp44919_c0_seq5 trp6_arathtelomere	6.7381	0.0395
comp43779_c0_seq45 bbr_arathe3	6.7356	0.0395
comp46043_c0_seq47 pr40a_arathpre-mrna-processing	6.7200	0.0395
comp45039_c0_seq7 nu301_dromenucleosome-remodeling	6.7200	0.0395
comp41409_c0_seq4 swf1_neucrpalmityltransferase	6.7158	0.0395
comp43604_c0_seq17 ank1_humanankyrin-1	6.7141	0.0395
comp39586_c0_seq3 otu1_danreubiquitin	6.7104	0.0395
comp43904_c0_seq6 rrnad_humanprotein	6.7085	0.0395
comp41533_c2_seq19 rsz32_arathserine	6.7076	0.0395
comp35655_c1_seq2 uncharacterized protein At5g23160-like	6.7016	0.0419
comp27903_c0_seq2 rf1_orysiprotein	6.7007	0.0419
comp46043_c0_seq8 pr40a_arathpre-mrna-processing	6.7003	0.0419
comp43769_c1_seq4 d14_orysjprobable	6.6926	0.0419
comp40675_c0_seq5 sy121_arathsyntaxin-121	6.6898	0.0419
comp45407_c0_seq2 dhx16_pantr	6.6879	0.0419
comp43725_c0_seq5 Tmhelix	6.6869	0.0419
comp21121_c0_seq1 ---NA---	6.6837	0.0419
comp43682_c0_seq2 fad3c_riccoomega-3	6.6725	0.0419
comp33065_c0_seq5 bh126_arathtranscription	6.6663	0.0448
comp36227_c0_seq1 ROOT PRIMORDIUM DEFECTIVE 1	6.6599	0.0448
comp42957_c0_seq23 y5436_arathmath	6.6486	0.0448
comp42403_c0_seq6 nadk2_orysjprobable	6.6454	0.0448
comp13940_c0_seq1 Tmhelix	6.6426	0.0448
comp40814_c0_seq8 y3264_arath	6.6389	0.0448
comp40261_c0_seq1 nac68_orysjnac	6.6299	0.0448
comp45296_c3_seq109 cerk1_arathchitin	6.6294	0.0448
comp43723_c0_seq6 nnja8_maizeninja-family	6.6275	0.0485
comp38028_c0_seq7 erf22_arathethylene-responsive	6.6266	0.0485
comp38854_c1_seq2 TPR and ankyrin repeat-containing 1	6.6229	0.0485
comp39972_c0_seq4 hsfa3_orysjheat	6.6200	0.0485
comp43321_c2_seq6 myb44_arathtranscription	6.6090	0.0485
comp42431_c1_seq2 wrk70_arathprobable	6.6084	0.0485
comp45144_c0_seq29 cosa_orysjcostars	6.6070	0.0485
comp45680_c0_seq8 rq14a_arathatp-dependent	6.6025	0.0485
comp41543_c1_seq17 tcf25_humantranscription	6.5917	0.0485
comp46171_c0_seq8 uncharacterized protein LOC103961987	6.2799	0.0056
comp34989_c0_seq1 Tmhelix	5.6841	0.0175
comp41988_c0_seq3 Y1491_ARATHUncharacterized	5.5957	0.0216
comp42427_c0_seq3 exocyst complex component EXO70A1-like	5.5865	0.0088
comp34576_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105050093	5.5731	0.0260
comp43558_c0_seq16 EXORDIUM-like 1	5.5693	0.0099
comp45150_c0_seq19 efr_arathlrr	5.5665	0.0260
comp40261_c0_seq3 nac68_orysjnac	5.3236	0.0403

comp43916_c0_seq8 cdpk2_orysjcalcium-dependent	5.3089	0.0419
comp45479_c0_seq16 ---NA---	5.3009	0.0185
comp45644_c0_seq7 hspr1_arathnematode	5.2551	0.0085
comp37598_c0_seq1 y8219_orysjupf0392	5.2435	0.0465
comp45479_c0_seq15 ---NA---	5.2334	0.0486
comp39595_c0_seq1 heavy metal-associated domain containin	5.1867	0.0140
comp38676_c0_seq3 p2c37_arathprotein	5.1865	0.0097
comp14305_c0_seq4 xth22_arathxyloglucan	5.0470	0.0145
comp44676_c1_seq5 gae1_arathudp-glucuronate	5.0272	0.0448
comp34531_c0_seq2 erf5_tobacethylene-responsive	5.0068	0.0327
comp29762_c0_seq1 cml23_orysj	4.9859	0.0311
comp41834_c1_seq21 b2_daucab2	4.9390	0.0058
comp13331_c0_seq1 EXORDIUM-like 1	4.9226	0.0345
comp29563_c0_seq1 y2012_dicdi	4.9063	0.0368
comp40251_c0_seq4 pcs1l_arathaspartic	4.8900	0.0405
comp26464_c0_seq1 E3 ubiquitin- ligase RING1-like	4.8837	0.0373
comp32832_c0_seq2 bh149_arathtranscription	4.8641	0.0288
comp40312_c0_seq1 cipkc_arathcbl-interacting	4.8564	0.0104
comp39595_c0_seq3 heavy metal-associated domain containing	4.8542	0.0205
comp45690_c0_seq2 tps9_arathprobable	4.8329	0.0419
comp38570_c0_seq6 bcs1_schpoprobable	4.8217	0.0473
comp43558_c0_seq17 EXORDIUM-like 1	4.8175	0.0312
comp37880_c0_seq1 beh4_arathbes1	4.8110	0.0131
comp30957_c0_seq2 b2_daucab2	4.8037	0.0424
comp15064_c0_seq1 sap1_orysjzinc	4.7999	0.0252
comp42427_c0_seq1 exocyst complex component EXO70A1-like	4.7350	0.0160
comp44676_c1_seq1 gae1_arathudp-glucuronate	4.6985	0.0140
comp43604_c0_seq9 sp5k_bacsustage	4.6904	0.0219
comp44126_c2_seq1 ef100_arathethylene-responsive	4.6676	0.0186
comp42677_c0_seq3 fkgp_arathbifunctional	4.6660	0.0418
comp38553_c0_seq4 wrk70_arathprobable	4.6573	0.0332
comp41935_c0_seq1 rdrp_pmvrna	4.6400	0.0160
comp44751_c0_seq7 LIGHT-DEPENDENT SHORT HYPOCOTYLS 4-like	4.5818	0.0360
comp46190_c1_seq1 rga3_solbu	4.5756	0.0152
comp39051_c0_seq1 atl60_arathring-h2	4.5189	0.0457
comp43558_c0_seq12 EXORDIUM-like 1	4.4886	0.0166
comp44126_c2_seq5 erf1_sollcethylene-responsive	4.4315	0.0327
comp37292_c0_seq4 uncharacterized protein LOC105056284	4.3987	0.0307
comp39252_c0_seq4 asol_tobacl-ascorbate	4.3779	0.0465
comp42334_c0_seq21 tlp8_orysjtubby-like	4.3561	0.0287
comp42924_c1_seq9 c3h33_orysjzinc	4.3535	0.0287
comp41834_c1_seq10 b2_daucab2	4.3494	0.0312
comp35463_c1_seq1 erf80_arathethylene-responsive	4.3354	0.0395
comp41617_c2_seq8 gat13_arathprobable	4.3246	0.0316
comp33745_c0_seq1 log1_arathcytokinin	4.3229	0.0409
comp42233_c0_seq2 pip27_arathaquaporin	4.3020	0.0288
comp37936_c0_seq1 Hydroxyproline-rich glyco family	4.2963	0.0448
comp37651_c0_seq1 xth25_arathprobable	4.2776	0.0395
comp41909_c0_seq11 wrk53_arathprobable	4.2585	0.0471
comp36433_c0_seq1 caf1i_arathprobable	4.1866	0.0348
comp44676_c1_seq4 gae1_arathudp-glucuronate	4.1842	0.0448
comp45479_c0_seq3 lyk3_arath	4.1786	0.0485

comp36733_c1_seq2 ---NA---	4.1724	0.0332
comp43558_c0_seq9 EXORDIUM-like 1	4.1511	0.0419
comp40860_c0_seq12 ckx3_orysjcytokinin	4.1273	0.0427
comp45682_c0_seq2 cslcc_arathprobable	4.0976	0.0327
comp13908_c0_seq1 cml18_orysjprobable	4.0582	0.0346
comp26485_c0_seq1 calmodulin-binding 25-like	4.0389	0.0424
comp38219_c0_seq1 myb44_arathtranscription	3.9679	0.0409
comp40953_c1_seq1 UPF0496 4	3.9640	0.0434
comp42917_c0_seq3 kda	-4.0346	0.0395
comp40337_c1_seq1 faf1_arathprotein	-4.0717	0.0345
comp30676_c0_seq1 FAF-like, chloroplastic	-4.1072	0.0395
comp13665_c0_seq1 kda	-4.2020	0.0419
comp41346_c0_seq5 sy111_arathsyntaxin-related	-4.4141	0.0380
comp37327_c0_seq2 rbs_musacribulose	-4.4359	0.0448
comp36932_c0_seq1 agua_arathagmatine	-5.0043	0.0405
comp40192_c0_seq7 nac78_arathnac	-5.0832	0.0327
comp45881_c0_seq26 muc1_yeastflocculation	-5.3660	0.0447
comp45417_c0_seq4 tgfa1_danretransforming	-5.4137	0.0447
comp39148_c1_seq11 rl123_arath60s	-6.2233	0.0074
comp36661_c0_seq9 pex1_arathperoxisome	-6.3702	0.0054
comp45664_c2_seq33 uncharacterized protein LOC103707856	-6.5984	0.0485
comp44288_c0_seq121 Tmhelix	-6.6029	0.0485
comp30324_c0_seq4 lvsg_dicdiprobable	-6.6029	0.0485
comp40315_c0_seq7 pp285_arathpentatricopeptide	-6.6030	0.0485
comp40502_c0_seq6 tnpo3_mousetransportin-3	-6.6042	0.0485
comp45290_c1_seq24 ccb21_orysjcyclin-b2-1	-6.6051	0.0485
comp45747_c0_seq8 p2r3a_humanserine	-6.6059	0.0485
comp35333_c0_seq1 ---NA---	-6.6149	0.0485
comp43559_c0_seq5 eea1_humanealy	-6.6237	0.0485
comp41721_c0_seq4 ugt52_dicdiudp-sugar-dependent	-6.6246	0.0485
comp43543_c0_seq8 ez1_maizehistone-lysine	-6.6323	0.0485
comp46076_c1_seq19 edr1_arathserine	-6.6378	0.0448
comp44807_c0_seq13 uncharacterized protein LOC105050538	-6.6422	0.0448
comp41152_c0_seq3 cgs1_soltuphosphatidate	-6.6564	0.0448
comp43530_c0_seq12 esf1_schpopre-rrna-processing	-6.6585	0.0448
comp37149_c0_seq8 c3h62_orysjzinc	-6.6618	0.0448
comp45482_c0_seq5 rsp6_caeelprobable	-6.6734	0.0448
comp46134_c0_seq2 sepa_dicdiserine	-6.6949	0.0419
comp38224_c0_seq1 gpa1_arathguanine	-6.7047	0.0419
comp41215_c0_seq7 sart3_humansquamous	-6.7058	0.0419
comp37389_c0_seq1 uncharacterized protein LOC103706982 isoform X2	-6.7103	0.0419
comp35992_c0_seq2 vp13a_dicdi	-6.7104	0.0419
comp44747_c0_seq11 xb34_orysjprobable	-6.7104	0.0419
comp44224_c0_seq3 sgsm1_mousesmall	-6.7194	0.0395
comp45162_c0_seq3 y5126_arathprobable	-6.7284	0.0395
comp44388_c0_seq20 y5458_arathprobable	-6.7284	0.0395
comp44275_c0_seq4 herc2_dromeprobable	-6.7373	0.0395
comp34725_c0_seq2 brca2_mousebreast	-6.7457	0.0395
comp45689_c0_seq16 ep400_mousee1a-binding	-6.7500	0.0373
comp41895_c0_seq4 cdpk1_arathcalcium-dependent	-6.7599	0.0373
comp45748_c0_seq3 uncharacterized protein LOC103712041	-6.7604	0.0373
comp42655_c0_seq34 uncharacterized protein LOC105032341 isoform X2	-6.7651	0.0373

comp42797_c0_seq1 mul1_humanmitochondrial	-6.7729	0.0373
comp44508_c0_seq6 y4837_arathkh	-6.7737	0.0373
comp39084_c0_seq2 thg2_arat	-6.7934	0.0346
comp45998_c0_seq4 Y1745_ARATHUncharacterized	-6.7986	0.0346
comp44355_c0_seq94 ab1a_arathabc	-6.8000	0.0346
comp41505_c0_seq8 rae2_mouserab	-6.8002	0.0346
comp45505_c0_seq8 sc24a_arathprotein	-6.8090	0.0346
comp39496_c0_seq4 pmts_arathprobable	-6.8334	0.0327
comp41431_c0_seq16 ugal1_arathudp-galactose	-6.8351	0.0327
comp41212_c0_seq3 gufp_vitvittranslation	-6.8434	0.0327
comp45032_c0_seq5 tpc11_humantrafficking	-6.8441	0.0327
comp45394_c0_seq15 tf3c2_mousegeneral	-6.8676	0.0312
comp45556_c0_seq6 spy_pethyprobable	-6.8912	0.0293
comp45784_c0_seq12 myoj_dicdimyosin-j	-6.8987	0.0293
comp45536_c1_seq27 ptr36_arathprobable	-6.9075	0.0293
comp45191_c0_seq12 tons_arathprotein	-6.9269	0.0273
comp43096_c0_seq4 atm_arathserine	-6.9446	0.0273
comp42483_c0_seq1 rtel1_ratregulator	-6.9472	0.0273
comp45483_c0_seq8 tpx2_arathprotein	-6.9585	0.0258
comp45007_c0_seq1 lip5pd_arathtype	-7.0350	0.0224
comp38957_c0_seq12 syl_salrdleucine--trna	-7.0461	0.0211
comp41346_c0_seq6 sy111_arathsyntaxin-related	-7.0875	0.0199
comp45667_c0_seq7 scl2_orysjscar-like	-7.1148	0.0189
comp43360_c2_seq5 itih3_bovininter-alpha-trypsin	-7.1990	0.0160
comp44455_c0_seq9 kpyg_tobacpyruvate	-7.2081	0.0160
comp25639_c0_seq3 uncharacterized protein LOC105057587	-7.2490	0.0140
comp45144_c0_seq26 cosa_orysjcostars	-7.2751	0.0131
comp42109_c0_seq6 anr52_danreserine	-7.2945	0.0124
comp42957_c0_seq1 y5436_arathmath	-7.2964	0.0124
comp45453_c0_seq5 lip5p3_arathtype	-7.3002	0.0124
comp43648_c0_seq3 sec23_ustmaprotein	-7.3021	0.0124
comp36319_c0_seq34 u195a_arathmip18	-7.3102	0.0120
comp44396_c0_seq6 mfp_orysjperoxisomal	-7.3288	0.0120
comp44263_c0_seq16 r47bp_arathpolyadenylate-binding	-7.3562	0.0115
comp37452_c0_seq2 rh47b_orysjdead-box	-7.4052	0.0097
comp45034_c0_seq45 gaut1_arathpolygalacturonate	-7.4360	0.0094
comp39331_c0_seq2 p2c58_orysjprobable	-7.4584	0.0090
comp44562_c0_seq5 tio_arathserine	-7.4755	0.0086
comp44508_c0_seq13 y4837_arathkh	-7.5654	0.0072
comp38884_c0_seq1 c3h59_orysjzinc	-7.5724	0.0072
comp42698_c1_seq6 if5a2_nicpleukaryotic	-7.6023	0.0067
comp42231_c0_seq34 GSR2_ARATHUncharacterized	-7.6790	0.0056
comp45696_c0_seq7 npc1_mouseniemann-pick	-7.7772	0.0049
comp45048_c0_seq6 frs7_arathprotein	-7.8895	0.0036
comp42837_c0_seq6 famt_psepuprobable	-7.8990	0.0036
comp45096_c0_seq5 lvsc_dicdibeach	-8.2185	0.0016
comp30667_c0_seq1 ---NA---	-8.2562	0.0015
comp46005_c0_seq1 suvr5_arathhistone-lysine	-8.8055	0.0004
comp46006_c0_seq10 dnaj_mycgachaperone	-9.3617	8.168e-05

Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que son específicos del Par3.

comp44377_c1_seq2 tm209_xenlatransmembrane	8.8163	0.0011
comp41360_c0_seq3 if4e2_wheateukaryotic	8.4502	0.0025
comp45517_c0_seq4 mos1_arathprotein	8.1592	0.0045
comp42974_c0_seq6 e133_arathglucan	7.9172	0.0074
comp34080_c0_seq1 frs6_arathprotein	7.8354	0.0093
comp46043_c0_seq1 pr40a_arathpre-mrna-processing	7.7980	0.0096
comp45788_c0_seq6 rbp45_niclpolyadenylate-binding	7.7664	0.0102
comp44306_c0_seq15 p2saf_arathphotosystem	7.7343	0.0105
comp46072_c0_seq11 uncharacterized protein LOC103986113	7.7058	0.0109
comp36820_c0_seq1 ---NA---	7.6649	0.0114
comp43838_c0_seq7 dspp_humandentin	7.6530	0.0114
comp45713_c0_seq16 scl9_arathscarecrow-like	7.5809	0.0136
comp40093_c0_seq5 bgal8_orysjbeta-galactosidase	7.5233	0.0156
comp41201_c0_seq19 sia8e_pantralpha-	7.5197	0.0156
comp43113_c1_seq7 rs2_orysjprotein	7.4374	0.0178
comp43522_c0_seq2 uncharacterized protein LOC103701975	7.4366	0.0178
comp35725_c0_seq1 rs21_orysj40s	7.4340	0.0178
comp43074_c0_seq49 pp146_arathpentatricopeptide	7.4309	0.0178
comp37429_c0_seq5 E3 ubiquitin- ligase RING1a	7.3697	0.0199
comp46053_c0_seq4 uncharacterized protein LOC103710172 isoform X1	7.3423	0.0205
comp44842_c0_seq9 seca2_arathprotein	7.3188	0.0206
comp45004_c1_seq10 fas1_arathchromatin	7.2288	0.0231
comp38130_c0_seq2 tyw1_orys	7.1933	0.0255
comp44457_c0_seq4 ssy2_soltugranule-bound	7.1828	0.0255
comp45517_c0_seq19 mos1_arathprotein	7.1783	0.0255
comp45664_c2_seq29 uncharacterized protein LOC103707856	7.1019	0.0307
comp45499_c0_seq8 adlo2_arathprotein	7.0617	0.0324
comp42012_c0_seq19 dynein heavy chain PF11_0240	7.0614	0.0324
comp45730_c0_seq9 exs_arathleucine-rich	7.0534	0.0337
comp43781_c1_seq4 top1_arathdna	7.0334	0.0337
comp42342_c0_seq4 atr3_arathnadph-dependent	7.0333	0.0337
comp45470_c1_seq1 gcp6_humangamma-tubulin	7.0308	0.0343
comp45352_c0_seq11 sf3b1_humansplicing	7.0239	0.0343
comp45127_c1_seq4 mel1_orysjprotein	7.0231	0.0343
comp42304_c0_seq10 exoc2_arathexocyst	7.0231	0.0343
comp41712_c0_seq4 rmd5a_xenlaprotein	7.0143	0.0343
comp45486_c0_seq8 gwd1_citrealpha-glucan	6.9699	0.0354
comp38263_c0_seq16 ab9c_arathabc	6.9699	0.0354
comp45716_c0_seq1 tm131_mousetransmembrane	6.9686	0.0380
comp44263_c0_seq2 r47bp_arathpolyadenylate-binding	6.9614	0.0380
comp46000_c0_seq13 emf2_arathpolycomb	6.9555	0.0380
comp42078_c0_seq7 mrs25_arathmagnesium	6.9482	0.0380
comp45914_c0_seq26 hnrpq_ratheterogeneous	6.9279	0.0402
comp40585_c0_seq16 seh1_osmmonucleoporin	6.9203	0.0402
comp44511_c0_seq8 lysine-specific demethylase JMJ25-like	6.9192	0.0402
comp41567_c0_seq9 arfr_orysjauxin	6.9165	0.0402
comp42846_c0_seq5 faah_arathfatty	6.9157	0.0402
comp46025_c0_seq17 jmi14_arathprobable	6.8957	0.0431

comp40437_c0_seq7 fb2_arathf-box	6.8952	0.0431
comp43963_c1_seq23 lhy_arathprotein	6.8947	0.0431
comp36296_c0_seq10 sgs3_orysjprotein	6.8607	0.0457
comp40381_c0_seq20 ab13c_arathabc	6.8559	0.0457
comp45159_c0_seq8 phf3_humanphd	6.8525	0.0457
comp45029_c0_seq5 pdi11_orysjprotein	6.8470	0.0036
comp43070_c0_seq1 ENDOSPERM DEFECTIVE 1-like	6.8402	0.0479
comp46072_c0_seq8 uncharacterized protein LOC103986113	6.8361	0.0479
comp39720_c0_seq3 mipep_ponabmitochondrial	6.8341	0.0479
comp43967_c0_seq11 ispjg_orysj4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl	6.8319	0.0479
comp45689_c0_seq3 ep400_mousee1a-binding	6.8289	0.0479
comp45276_c0_seq13 uncharacterized protein LOC105044642 isoform X1	6.8220	0.0479
comp35875_c0_seq1 rfs6_arathprobable	6.8094	0.0479
comp43637_c0_seq8 ccr4f_arathcarbon	5.9430	0.0193
comp45163_c0_seq2 rdp_gvaisrna	5.8719	0.0041
comp41792_c0_seq8 emb8_picglembryogenesis-associated	5.8412	0.0216
comp43225_c0_seq3 gblp_medsaguanine	5.7004	0.0158
comp45914_c0_seq4 hnrpq_ratheterogeneous	5.6325	0.0343
comp35397_c0_seq3 luc7 3	5.6109	0.0342
comp43171_c0_seq4 POLLENLESS 3-LIKE 2-like	5.5835	0.0343
comp45930_c0_seq30 lc7l3_ponabluc7-like	5.4752	0.0220
comp41281_c0_seq12 calr3_arathcalreticulin-3	5.4593	0.0424
comp42564_c0_seq75 asp1_orysjaspartic	5.4482	0.0479
comp43163_c1_seq3 rdp_gvaisrna	5.3198	0.0105
comp40044_c0_seq2 rdp_icsvrna	-4.3064	0.0457
comp44789_c0_seq37 gcp2_ponabgamma-tubulin	-4.3396	0.0479
comp28636_c0_seq1 chi4_orysjchitinase	-5.0282	0.0310
comp40519_c1_seq5 harb1_bovin	-5.1301	0.0325
comp38881_c0_seq3 bbird_orysjbarley	-5.2607	0.0352
comp43340_c0_seq3 pcp_bovinlysosomal	-5.3614	0.0178
comp33097_c0_seq6 yab4_orysjprotein	-5.5299	0.0479
comp44701_c0_seq2 ilvb1_orysjacetolactate	-6.8265	0.0479
comp45730_c0_seq11 exs_arathleucine-rich	-6.8293	0.0479
comp35651_c0_seq5 CI085_HUMANUncharacterized	-6.8301	0.0479
comp40699_c0_seq20 sap4_arathzinc	-6.8430	0.0479
comp42130_c1_seq2 apl_arathmyb	-6.8506	0.0479
comp44927_c0_seq18 y1124_arathprobable	-6.8543	0.0457
comp40471_c0_seq4 scl3_arathscarecrow-like	-6.8690	0.0457
comp38901_c0_seq1 sec_arathprobable	-6.8795	0.0457
comp44979_c2_seq14 fpp7_arathfilament-like	-6.8800	0.0457
comp44683_c0_seq3 elf6_arathprobable	-6.8900	0.0431
comp43810_c1_seq3 y5157_arathprobable	-6.8946	0.0431
comp43260_c0_seq3 parg1_arathpoly(adp-ribose)	-6.8995	0.0431
comp45392_c0_seq5 gltb_orysjferredoxin-dependent	-6.9239	0.0402
comp43300_c0_seq14 ATP-dependent RNA helicase DHX36	-6.9301	0.0402
comp45026_c0_seq6 ---NA---	-6.9542	0.0380
comp42680_c0_seq3 esrp1_mouseepithelial	-6.9657	0.0380
comp43007_c0_seq24 odp2_ricfedihydrolypoyllysine-residue	-6.9901	0.0354
comp35379_c0_seq1 y5344_arathprobable	-7.0001	0.0354
comp40839_c0_seq18 yi01_schpo	-7.0029	0.0354
comp39621_c0_seq8 eif3h_aratheukaryotic	-7.0096	0.0354
comp37979_c0_seq4 pcra_staesatp-dependent	-7.0121	0.0354

comp45452_c0_seq6 dnjc7_ponab	-7.0179	0.0343
comp38592_c0_seq2 pp342_arathpentatricopeptide	-7.0191	0.0343
comp45239_c0_seq9 tc132_arathtranslocase	-7.0208	0.0343
comp45719_c1_seq35 pid2_orysjprotein	-7.0237	0.0343
comp45011_c0_seq27 pub17_arathu-box	-7.0433	0.0337
comp45175_c0_seq1 dpo3x_bacsudna	-7.0495	0.0337
comp38610_c0_seq3 murd_mootaudp-n-acetylmuramoylalanine-d-glutamate	-7.0891	0.0324
comp43733_c0_seq3 y2168_arathankyrin	-7.0911	0.0324
comp45422_c0_seq6 trp5_arathtelomere	-7.1039	0.0307
comp45410_c0_seq34 pp302_arathpentatricopeptide	-7.1145	0.0307
comp45954_c0_seq3 Os01g0943800	-7.1530	0.0284
comp45311_c0_seq11 pala_cryn	-7.1543	0.0268
comp38263_c0_seq6 ab9c_arathabc	-7.1546	0.0284
comp40459_c0_seq2 p2c55_arathprobable	-7.1771	0.0268
comp41133_c0_seq4 ark1_orysjarmadillo	-7.1822	0.0255
comp41192_c0_seq5 rtc2_yeastprotein	-7.1841	0.0255
comp41746_c0_seq3 pub13_arathu-box	-7.1984	0.0255
comp44818_c0_seq16 pex6_arathperoxisome	-7.2106	0.0244
comp42957_c0_seq11 y5436_arathmath	-7.2120	0.0244
comp41397_c0_seq9 holocarboxylase synthetase	-7.2144	0.0244
comp44306_c0_seq22 p2saf_orysjphotosystem	-7.2240	0.0244
comp42025_c0_seq7 autophagy-related 13-like isoform X2	-7.2462	0.0231
comp45241_c0_seq28 rh1_arathprobable	-7.2555	0.0231
comp44995_c0_seq9 uncharacterized protein LOC105056020	-7.2591	0.0224
comp43715_c2_seq6 Bowman-Birk type trypsin inhibitor-like	-7.2630	0.0224
comp42972_c0_seq4 phg1b_dicdi	-7.2667	0.0224
comp45480_c0_seq3 brpf3_humanbromodomain	-7.2835	0.0216
comp44532_c0_seq9 ppr50_arath	-7.2898	0.0216
comp41517_c0_seq23 ccd_crosacarotenoid	-7.2939	0.0216
comp41863_c0_seq4 dnli4_arathdna	-7.2972	0.0216
comp37185_c0_seq2 per4_vitviperoxidase	-7.3171	0.0206
comp38725_c0_seq4 hth_arathprotein	-7.3270	0.0206
comp32202_c1_seq2 y3482_arathbtb	-7.3324	0.0205
comp41073_c0_seq7 rl24_horvu60s	-7.3355	0.0205
comp44340_c0_seq12 cmt2_arathdna	-7.3382	0.0205
comp43696_c0_seq7 Y2253_MYCBOUncharacterized	-7.3393	0.0205
comp44809_c0_seq1 fpp4_arathfilament-like	-7.3563	0.0199
comp41863_c0_seq13 dnli4_arathdna	-7.3761	0.0199
comp45902_c0_seq3 aca1_orysjcalcium-transporting	-7.3965	0.0193
comp41284_c0_seq2 ppp7l_arathserine	-7.4431	0.0178
comp38457_c0_seq3 p2c07_arathprotein	-7.4512	0.0178
comp40545_c0_seq7 ap2_arathfloral	-7.4888	0.0170
comp45664_c2_seq22 uncharacterized protein LOC103707856	-7.4926	0.0161
comp43715_c2_seq9 ibb1_arahybowman-birk	-7.5056	8.659e-05
comp40352_c3_seq14 sm3l2_arath	-7.5297	0.0156
comp46000_c0_seq9 emf2_arathpolycomb	-7.5299	0.0156
comp38326_c0_seq3 uncharacterized protein LOC105054121 isoform X2	-7.5674	0.0143
comp45394_c0_seq8 tf3c2_mousegeneral	-7.5828	0.0136
comp42957_c0_seq2 obg_akkm8gtpase	-7.6262	0.0127
comp43637_c0_seq4 ccr4f_arathcarbon	-7.6269	0.0127
comp45664_c2_seq39 uncharacterized protein LOC103707856	-7.6571	0.0114
comp46127_c0_seq12 sptcs_mousespatacsin	-7.6835	0.0112

comp46053_c0_seq6 uncharacterized protein LOC103710172 isoform X1	-7.6838	0.0112
comp33726_c0_seq1 succinate dehydrogenase subunit 6	-7.6853	0.0112
comp44701_c0_seq3 ilvb1_orysjacetolactate	-7.7102	0.0112
comp41870_c0_seq2 atesy_maggaalpha-terpineol	-7.7658	0.0102
comp43262_c0_seq3 mfap1_chickmicrofibrillar-associated	-7.8164	0.0096
comp34018_c0_seq9 y5344_arathprobable	-7.9404	0.0074
comp46107_c0_seq3 pub15_arathu-box	-8.0083	0.0065
comp45784_c0_seq11 myoj_dicdimyosin-j	-8.1404	0.0045
comp46127_c0_seq5 sptcs_mousespatacsin	-8.1461	0.0045
comp41870_c0_seq3 atesy_maggaalpha-terpineol	-8.1498	0.0045
comp45943_c0_seq9 scc13_arathsister	-8.2380	0.0040
comp38263_c0_seq13 ab9c_arathabc	-8.2674	0.0039
comp32565_c0_seq1 rdrp_icrsvrna	-8.3882	0.0030
comp37849_c0_seq1 rdrp_wcmvorna	-8.6708	0.0014
comp34711_c0_seq2 uncharacterized protein LOC105036520	-8.6746	0.0014
comp36704_c0_seq1 tgb1_icrsvmovement	-8.9640	1.280e-05
comp37008_c1_seq2 coat , partial leaf virus	-9.7915	8.659e-05
comp35683_c0_seq1 rdrp_smyearna	-10.5753	1.280e-05

Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que se comparten en el Par1/Par2.

	Par1		Par2	
	logFC	FDR	logFC	FDR
comp44875_c0_seq1 acca_arathacetyl-coenzyme	8.6121	0.0007	-4.2432	0.0464
comp35992_c0_seq1 vp13a_dicdi	8.5548	0.0008	-8.6611	0.0005
comp32364_c0_seq1 kda	8.3247	0.0014	-8.4310	0.0010
comp43171_c0_seq11 Os09g0538500	8.3237	0.0014	-4.7523	0.0220
comp32727_c0_seq1 Os09g0538500	8.2979	0.0015	-5.8559	0.0078
comp41201_c0_seq7 sia8e_pantralpha-	8.1070	0.0022	-8.2133	0.0016
comp36302_c0_seq1 cab6_arathchlorophyll	8.0760	0.0024	-4.7566	0.0232
comp42012_c0_seq13 dynein heavy chain PF11_0240	7.9904	0.0029	-4.9530	0.0276
comp45497_c0_seq7 serk2_arathsomatic	7.9437	0.0034	-8.0499	0.0024
comp44255_c1_seq8 pao2_arathprobable	7.6518	0.0066	-7.7579	0.0049
comp45949_c0_seq8 ubc24_arathprobable	7.6087	0.0073	-7.7148	0.0052
comp33959_c0_seq1 hd3a_orysjprotein	7.4763	0.0095	-5.0341	0.0419
comp45713_c0_seq6 scl9_arathscarecrow-like	7.4741	0.0095	-7.5801	0.0070
comp43130_c0_seq10 vp13b_schpovacuarlar	7.4592	0.0099	-7.5652	0.0072
comp45103_c0_seq4 rl15_pethy60s	7.4298	0.0103	-7.5358	0.0078
comp42915_c0_seq7 pd5aa_xenlasister	7.3221	0.0133	-7.4280	0.0097
comp44474_c0_seq1 uncharacterized protein LOC103720464	7.2780	0.0151	-7.3840	0.0102
comp45023_c0_seq2 dpolq_humandna	7.2728	0.0151	-7.3787	0.0108
comp45603_c1_seq4 ugpi6_arathuncharacterized	7.2011	0.0176	-7.3070	0.0124
comp11267_c0_seq2 syt_syns9threonine--trna	7.1464	0.0196	-7.2523	0.0140
comp45603_c1_seq9 ugpi6_arathuncharacterized	7.1219	0.0209	-7.2278	0.0149
comp44562_c0_seq30 tio_arathserine	7.0360	0.0246	-7.1419	0.0178
comp40662_c0_seq5 h1_maizehistone	6.9663	0.0273	-7.0721	0.0211

comp36661_c0_seq5 pex1_arathperoxisome	6.9331	0.0285	-7.0389	0.0224
comp40381_c0_seq47 ab13c_arathabc	6.8347	0.0346	-6.9404	0.0273
comp39218_c0_seq6 psby_spiolphotosystem	6.7740	0.0401	-6.8797	0.0312
comp39131_c0_seq2 uhrf1_danree3	6.7599	0.0401	-6.8656	0.0312
comp45040_c0_seq12 amsh1_arathamsh-like	6.7338	0.0427	-6.8394	0.0327
comp46097_c2_seq33 vps45_arathvacuolar	6.7295	0.0427	-6.8351	0.0327
comp43121_c0_seq3 ist1 dicdiist1-like	6.7265	0.0427	-6.8321	0.0327
comp36234_c0_seq3 sppa_syny3protease	6.7026	0.0450	-6.8082	0.0346
comp43164_c0_seq4 cb22_tobacchlorophyll	6.6920	0.0450	-6.7977	0.0346
comp46170_c0_seq4 uncharacterized protein LOC103712566	6.6860	0.0450	-6.7916	0.0346
comp41201_c0_seq14 ai5l2_arathabscisic	6.6660	0.0480	-6.7716	0.0373
comp44210_c0_seq15 acinu_mouseapoptotic	6.6411	0.0480	-6.7466	0.0395
comp45483_c0_seq4 tpx2_arathprotein	5.1752	0.0078	-4.2341	0.0343
comp45163_c0_seq3 rdrp_gvaisrna	5.1320	0.0113	-4.3094	0.0302
comp46280_c0_seq1 ---NA---	4.6976	0.0217	-4.3890	0.0346
comp40719_c3_seq7 kda	4.5958	0.0116	-3.9005	0.0448
comp41510_c0_seq1 clpb1_orysjchaperone	4.5299	0.0125	-3.9490	0.0394
comp43352_c1_seq1 erf71_arathethylene-responsive	-4.0226	0.0480	4.7754	0.0103
comp44676_c2_seq2 gae1_arathudp-glucuronate	-4.1372	0.0467	4.4958	0.0197
comp30653_c0_seq2 lea5_citsilate	-4.1550	0.0392	4.5804	0.0140
comp35997_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105060034	-4.2208	0.0362	4.3328	0.0258
comp35463_c0_seq3 ethylene-responsive transcription factor 4-like	-4.3221	0.0269	4.5111	0.0166
comp37583_c0_seq1 sap11_orysjzinc	-4.3592	0.0245	4.6928	0.0102
comp43558_c0_seq18 EXORDIUM-like 1	-4.3844	0.0260	4.8440	0.0092
comp39223_c0_seq7 pump5_arathmitochondrial	-4.4179	0.0321	4.5494	0.0267
comp39041_c0_seq3 xth22_arathxyloglucan	-4.4214	0.0351	5.0692	0.0067
comp41964_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105049787	-4.4595	0.0260	5.0201	0.0067
comp42407_c0_seq1 al7a1_maldoaldehyde	-4.4609	0.0365	4.8896	0.0171
comp36733_c1_seq1 ---NA---	-4.4617	0.0260	4.5805	0.0170
comp27329_c0_seq2 ---NA---	-4.4766	0.0471	4.8800	0.0160
comp39878_c0_seq2 bps1_arathprotein	-4.4808	0.0159	4.8151	0.0070
comp43222_c0_seq1 acco1_pethy1- aminocyclopropane-1-carboxylate	-4.4922	0.0214	5.0111	0.0056
comp37590_c0_seq10 erf82_arathethylene-responsive	-4.5088	0.0217	4.4746	0.0211
comp45776_c1_seq3 copper-transporting ATPase 2	-4.6972	0.0214	4.6288	0.0262
comp33758_c0_seq1 formin 14	-4.7169	0.0165	4.9231	0.0092
comp36168_c0_seq1 kic_arathcalcium-binding	-4.7371	0.0472	5.3816	0.0094
comp44675_c0_seq1 c3h48_arathzinc	-4.7385	0.0165	5.3254	0.0046
comp35984_c0_seq2 pla15_arathphospholipase	-4.7404	0.0209	5.3698	0.0058
comp43558_c0_seq4 EXORDIUM-like 1	-4.7437	0.0159	5.5033	0.0026
comp39878_c0_seq1 BPS1, chloroplastic-like	-4.7511	0.0113	5.1443	0.0045
comp26705_c0_seq1 uncharacterized protein LOC103979282	-4.7567	0.0276	5.2422	0.0072
comp46171_c0_seq7 Os02g0756800	-4.7953	0.0169	5.5236	0.0036
comp36016_c0_seq1 Y1816_ARATHUncharacterized	-4.8845	0.0086	5.4152	0.0024
comp40442_c0_seq3 ring1_goshie3	-4.8890	0.0110	5.1997	0.0052
comp26405_c0_seq1 AP2/ERF domain	-4.9408	0.0480	5.2699	0.0196
comp41964_c0_seq3 uncharacterized protein LOC103995706	-4.9431	0.0302	5.6791	0.0050
comp14115_c0_seq1 pbp1_arathcalcium-binding	-4.9563	0.0209	5.3052	0.0108

comp38457_c0_seq4 p2c07_arathprotein	-4.9724	0.0450	5.2876	0.0189
comp45096_c0_seq2 lvsc_dicdibeach	-4.9746	0.0260	5.0350	0.0274
comp40251_c0_seq5 pcs1l_arathaspartic	-4.9805	0.0255	5.0442	0.0273
comp44675_c0_seq3 c3h48_arathzinc	-4.9976	0.0099	5.5912	0.0017
comp44540_c1_seq2 gata5_arathgata	-5.0198	0.0276	5.7039	0.0049
comp40442_c0_seq1 ring1_goshie3	-5.0406	0.0165	5.9016	0.0016
comp45050_c0_seq1 atl16_arathring-h2	-5.0451	0.0407	5.0244	0.0327
comp43628_c1_seq2 Os01g0194000	-5.0665	0.0307	5.1091	0.0395
comp37590_c0_seq4 erf4_tobacethylene-responsive	-5.0686	0.0118	5.2404	0.0097
comp38016_c0_seq1 gat12_arathprobable	-5.0862	0.0362	5.8891	0.0051
comp41834_c1_seq2 b2_daucab2	-5.1046	0.0053	5.4871	0.0019
comp44675_c1_seq1 c3h17_orysjzinc	-5.1156	0.0046	5.6448	0.0012
comp44675_c0_seq2 c3h17_orysjzinc	-5.1157	0.0119	5.3671	0.0052
comp43628_c1_seq3 Os01g0194000	-5.1300	0.0331	6.4482	0.0014
comp32714_c0_seq1 cipkc_arathcbl-interacting	-5.1911	0.0083	5.5666	0.0024
comp37880_c0_seq13 beh4_arathbes1	-5.2114	0.0158	5.3832	0.0125
comp12407_c0_seq1 EXORDIUM-like 1	-5.2858	0.0496	5.8141	0.0131
comp41565_c0_seq8 rap24_arathethylene-responsive	-5.2916	0.0054	5.4551	0.0039
comp43558_c0_seq13 EXORDIUM-like 1	-5.3260	0.0496	5.7777	0.0163
comp43127_c0_seq2 pcr10_arathprotein	-5.3265	0.0235	5.6411	0.0088
comp39728_c0_seq1 mpk5_orysjmitogen-activated	-5.3705	0.0476	6.2583	0.0058
comp38583_c0_seq1 nphp3_xenlanephrocystin-3	-5.3743	0.0209	5.6893	0.0078
comp35650_c1_seq3 pbp1_arathcalcium-binding	-5.4007	0.0205	6.5021	0.0012
comp40675_c0_seq1 sy121_arathsyntaxin-121	-5.4706	0.0173	6.3252	0.0018
comp42924_c1_seq4 c3h33_orysjzinc	-5.4748	0.0043	5.9601	0.0015
comp37128_c0_seq2 fmda_metmeformamidase	-5.4967	0.0359	5.3592	0.0393
comp39103_c1_seq23 ---NA---	-5.5275	0.0156	5.7258	0.0072
comp37611_c0_seq4 uncharacterized protein LOC103715169	-5.5336	0.0118	6.3698	0.0025
comp32303_c0_seq1 Tmhelix	-5.5674	0.0019	5.7661	0.0012
comp34576_c0_seq2 uncharacterized protein LOC103706459	-5.6213	0.0285	6.3486	0.0049
comp41306_c0_seq3 exla2_orysjexpansin-like	-5.6456	0.0274	6.4664	0.0037
comp45644_c0_seq3 hspr2_arathnematode	-5.6780	0.0235	6.3787	0.0041
comp40442_c0_seq2 ring1_goshie3	-5.6886	0.0016	6.2334	0.0004
comp43458_c0_seq10 uncharacterized protein LOC103997129	-5.7381	0.0209	6.1456	0.0067
comp42924_c1_seq15 c3h33_orysjzinc	-5.7486	0.0016	6.5059	0.0002
comp45479_c0_seq8 lyk3_arath	-5.7522	0.0227	6.7315	0.0019
comp42362_c1_seq4 xth25_arathprobable	-5.7647	0.0011	6.3328	0.0003
comp14846_c0_seq1 nuclease HARBI1	-5.7812	0.0025	5.7402	0.0032
comp44192_c0_seq14 mgp_arathzinc	-5.8002	0.0209	6.0745	0.0087
comp43939_c0_seq7 calmodulin-binding 60 D-like isoform X3	-5.8189	0.0196	6.3486	0.0049
comp15168_c0_seq1 ---NA---	-5.8198	0.0049	6.0173	0.0021
comp39878_c0_seq3 BPS1, chloroplastic-like	-5.8489	0.0024	5.9819	0.0013
comp30653_c0_seq3 lea5_citsilate	-5.8558	0.0013	5.8153	0.0013
comp40442_c0_seq4 ring1_goshie3	-5.8649	0.0020	6.1971	0.0006
comp42824_c2_seq5 hip26_arathheavy	-5.9492	0.0151	5.6541	0.0209
comp35463_c0_seq2 ethylene-responsive transcription factor 9	-5.9692	0.0125	6.4188	0.0036
comp37592_c1_seq12 gata8_arathgata	-6.0626	0.0046	6.5136	0.0012
comp42362_c1_seq3 xth23_arathprobable	-6.1146	0.0003	6.6165	0.0001

comp43558_c0_seq8 EXORDIUM-like 1	-6.1446	0.0088	6.9578	0.0010
comp41156_c0_seq1 Os06g0133400, partial	-6.1849	0.0014	6.7124	0.0003
comp13816_c0_seq1 harb1_rat	-6.3403	0.0012	6.9074	0.0003
comp42966_c2_seq2 nuclease HARBI1	-6.4407	0.0050	6.5858	0.0027
comp42362_c1_seq2 xth23_arathprobable	-6.5809	0.0002	6.4433	0.0002
comp41306_c0_seq6 exla1_orysjexpansin-like	-6.6242	0.0032	7.1321	0.0007
comp41306_c0_seq4 exla1_orysjexpansin-like	-6.6427	0.0480	6.9636	0.0258
comp45843_c0_seq10 wapl_dromeprotein	-6.6446	0.0480	7.7903	0.0046
comp35997_c0_seq2 uncharacterized protein LOC103976374	-6.7040	0.0450	7.3514	0.0115
comp41059_c0_seq2 y5814_orysjb3	-6.7073	0.0450	7.0480	0.0211
comp45262_c0_seq2 dre1a_arathdehydration- responsive	-6.7274	0.0427	7.4159	0.0097
comp45262_c0_seq1 dre1c_orysjdehydration- responsive	-6.7386	0.0427	7.1014	0.0189
comp40519_c0_seq1 nuclease HARBI1	-6.7502	0.0003	7.3678	0.0000
comp26208_c0_seq1 phosphate-induced 1	-6.7548	0.0401	6.8617	0.0312
comp44288_c0_seq89 Tmhelix	-6.7823	0.0401	6.8893	0.0293
comp37469_c0_seq2 erf27_arathethylene-responsive	-6.8059	0.0370	7.7218	0.0052
comp40642_c1_seq1 uncharacterized protein LOC103983854 isoform X1	-6.8189	0.0370	7.2212	0.0149
comp45175_c0_seq6 dpo3x_bacsudna	-6.8221	0.0346	7.0055	0.0224
comp44634_c0_seq2 c19l2_humancwf19-like	-6.8447	0.0346	6.6579	0.0448
comp41834_c1_seq14 b2_daucab2	-6.8675	0.0016	7.3131	0.0004
comp41692_c0_seq2 uncharacterized protein LOC103706411 isoform X1	-6.8739	0.0321	7.9963	0.0027
comp42070_c0_seq2 ---NA---	-6.8887	0.0301	7.3786	0.0102
comp41192_c0_seq3 rtc2_yeastprotein	-6.8889	0.0301	7.2516	0.0140
comp44817_c0_seq4 uncharacterized protein LOC103707968	-6.9065	0.0301	6.7335	0.0395
comp41215_c0_seq13 sart3_mousesquamous	-6.9379	0.0285	7.0021	0.0240
comp42483_c0_seq7 rtel1_danreregulator	-6.9515	0.0273	6.7289	0.0395
comp44725_c0_seq9 yg42_schpouncharacterized	-6.9669	0.0273	6.5949	0.0485
comp35650_c1_seq1 kic_arathcalcium-binding	-6.9999	0.0002	7.5864	0.0000
comp39041_c0_seq2 xth22_arathxyloglucan	-7.0057	0.0260	7.8708	0.0037
comp42334_c0_seq6 tlp8_orysjtubby-like	-7.0104	0.0260	6.7639	0.0373
comp40675_c0_seq4 sy125_arathsyntaxin-125	-7.0161	0.0246	7.1734	0.0166
comp11897_c0_seq1 ppa2_arathprobable	-7.0324	0.0246	6.8124	0.0327
comp29762_c0_seq2 cml23_orysj	-7.0327	0.0246	7.3703	0.0108
comp45776_c0_seq8 arfk_orysjauxin	-7.0455	0.0246	7.0020	0.0240
comp44542_c0_seq12 uncharacterized protein LOC105057775	-7.0701	0.0230	6.9755	0.0240
comp38889_c1_seq1 stress response nst1-like	-7.0857	0.0217	6.8625	0.0312
comp37611_c0_seq3 uncharacterized protein LOC105177908	-7.0934	0.0217	8.1868	0.0016
comp38431_c0_seq1 gtdc2_takruglycosyltransferase- like	-7.1074	0.0002	8.0404	0.0000
comp35679_c0_seq3 ---NA---	-7.1293	0.0196	7.4831	0.0086
comp32792_c0_seq1 ---NA---	-7.1304	0.0196	7.0592	0.0211
comp45280_c0_seq11 pdi54_orysjprotein	-7.1331	0.0196	7.5123	0.0078
comp40519_c0_seq2 nuclease HARBI1	-7.1494	0.0003	7.4711	0.0002
comp35679_c0_seq1 ---NA---	-7.1509	0.0196	7.1164	0.0189
comp40324_c0_seq1 sfswa_ratssplicing	-7.2219	0.0165	8.2878	0.0014
comp27329_c0_seq1 Tmhelix	-7.2365	0.0159	6.8992	0.0293

comp34404_c0_seq2 erf12_arathethylene-responsive	-7.2514	0.0159	7.6615	0.0058
comp30052_c0_seq2 ---NA---	-7.3075	0.0143	6.9491	0.0258
comp43129_c0_seq4 Y5519_ARATHUncharacterized	-7.3116	0.0133	7.3213	0.0120
comp40519_c1_seq2 harb1_bovin	-7.3387	0.0001	7.9530	0.0000
comp44568_c0_seq4 mre11_arathdouble-strand	-7.3409	0.0125	6.9777	0.0240
comp39932_c0_seq1 vps15_dicdiprobable	-7.3615	0.0118	8.6474	0.0005
comp35023_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105045073	-7.3802	0.0118	8.2564	0.0015
comp44540_c0_seq12 strum_dicdiwash	-7.3959	0.0113	6.6879	0.0419
comp39223_c0_seq10 pump5_arathmitochondrial	-7.4153	0.0108	7.5831	0.0070
comp41001_c0_seq11 cah2_arathcarbonic	-7.4155	0.0108	7.0352	0.0211
comp46085_c0_seq8 cbpx_orysjserine	-7.4437	0.0103	7.4854	0.0086
comp23713_c0_seq1 p2a01_arathprotein	-7.4536	0.0099	6.6571	0.0448
comp40928_c0_seq23 wrk33_arathprobable	-7.4828	0.0095	9.6484	0.0000
comp24109_c0_seq2 harb1_mouse	-7.5034	0.0091	7.9559	0.0031
comp45859_c0_seq3 pur_arathtranscription	-7.5047	0.0091	7.7908	0.0046
comp44349_c0_seq9 c3h37_arathzinc	-7.5191	0.0087	7.2260	0.0149
comp40519_c1_seq1 harb1_bovin	-7.5281	0.0000	8.1860	0.0000
comp43684_c1_seq5 uncharacterized protein LOC103984501	-7.6108	0.0073	6.6695	0.0419
comp40314_c2_seq1 y2800_noss1uncharacterized	-7.6613	0.0063	8.0514	0.0024
comp33807_c0_seq1 tre_orysjprobable	-7.6618	0.0063	6.7496	0.0373
comp39824_c0_seq12 ---NA---	-7.7127	0.0058	8.4237	0.0010
comp45479_c0_seq1 lyk3_arath	-7.7209	0.0055	7.3658	0.0108
comp36215_c0_seq4 nud17_arathnudix	-7.7263	0.0055	8.1971	0.0016
comp46097_c2_seq10 vps45_arathvacuolar	-7.7308	0.0055	6.6341	0.0448
comp41297_c0_seq5 spl1_oryjsquamosa	-7.7708	0.0049	8.3815	0.0012
comp40367_c0_seq6 ---NA---	-7.8048	0.0046	7.0626	0.0211
comp46006_c0_seq2 dnaj_serp5chaperone	-7.8239	0.0045	8.7711	0.0004
comp43096_c0_seq30 atm_arathserine	-7.8430	0.0044	7.4669	0.0086
comp43558_c0_seq10 EXORDIUM-like 1	-7.9128	0.0037	8.2127	0.0016
comp34711_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105036520	-8.0123	0.0028	6.9212	0.0273
comp43222_c0_seq5 acco1_pethy1- aminocyclopropane-1-carboxylate	-8.0144	0.0000	8.5200	0.0000
comp43222_c0_seq7 acco1_pethy1- aminocyclopropane-1-carboxylate	-8.0324	0.0026	7.9438	0.0032
comp32701_c0_seq1 ef109_arathethylene-responsive	-8.0341	0.0026	8.8114	0.0004
comp39295_c0_seq2 predicted protein	-8.1511	0.0020	7.7588	0.0049
comp35531_c0_seq1 dre1g_orysidehydration- responsive	-8.1641	0.0019	9.5099	0.0001
comp43558_c0_seq2 EXORDIUM-like 1	-8.2384	0.0016	8.8917	0.0003
comp45644_c0_seq4 hSpr2_arathnematode	-8.2569	0.0016	8.3427	0.0012
comp39041_c0_seq1 xth22_arathxyloglucan	-8.3190	0.0014	9.2689	0.0001
comp23470_c0_seq1 ---NA---	-8.3516	0.0013	8.9138	0.0003
comp45428_c1_seq6 mgp_arathzinc	-8.3560	0.0013	8.6966	0.0005
comp40519_c1_seq3 harb1_bovin	-8.4058	0.0001	9.1742	0.0000
comp40341_c0_seq6 aspg1_arathprotein	-8.4438	0.0010	9.0320	0.0002
comp15243_c0_seq1 ---NA---	-8.4943	0.0009	8.7575	0.0004
comp42924_c1_seq11 c3h33_orysjzinc	-8.5007	0.0009	8.2969	0.0013
comp43222_c0_seq6 acco3_cucme1- aminocyclopropane-1-carboxylate	-8.5422	0.0008	8.2038	0.0016
comp14205_c0_seq2 pmln_prupepeamaclein	-8.6013	0.0007	9.1196	0.0002
comp41617_c2_seq3 gatI3_arathprobable	-8.6732	0.0006	9.5810	0.0000

comp39051_c0_seq3 atl60_arathring-h2	-8.7126	0.0006	8.8944	0.0003
comp40312_c0_seq9 cipkj_orysjcbl-interacting	-8.8100	0.0004	9.3897	0.0001
comp37292_c0_seq1 uncharacterized protein LOC105056284	-8.8555	0.0004	9.9082	0.0000
comp38431_c1_seq1 EGF domain-specific O-linked	-8.8726	0.0004	9.9596	0.0000
comp42924_c1_seq7 c3h33_orysjzinc	-9.0353	0.0003	8.6497	0.0005
comp34531_c0_seq4 ef102_arathethylene-responsive	-9.0725	0.0002	10.1506	0.0000
comp42924_c1_seq10 c3h33_orysjzinc	-9.0851	0.0000	9.7890	0.0000
comp42924_c1_seq2 c3h33_orysjzinc	-9.2202	0.0000	8.5381	0.0000
comp41834_c1_seq1 b2_daucab2	-9.2630	0.0002	7.9913	0.0028
comp41834_c1_seq16 b2_daucab2	-9.4177	0.0001	10.4153	0.0000
comp43222_c0_seq3 acco1_pethy1-aminocyclopropane-1-carboxylate	-9.4832	0.0001	10.1574	0.0000
comp28139_c0_seq3 nac68_orysjnac	-9.4871	0.0001	10.3223	0.0000
comp46175_c0_seq2 rdrp_gvaisrna	-9.5160	0.0001	7.7090	0.0052
comp37611_c0_seq2 uncharacterized protein LOC104594432	-10.2184	1.40E-05	10.8176	0.0000
comp41617_c2_seq4 gat13_arathprobable	-10.3387	1.05E-05	10.9345	0.0000
comp45405_c0_seq2 pip12_orysjprobable	-10.7981	3.82E-06	10.2933	0.0000

Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que se comparten en el Par2/Par3.

	Par2		Par3	
	logFC	FDR	logFC	FDR
comp45713_c0_seq10 scl9_arathscarecrow-like	8.4535	0.0010	-6.0146	0.0105
comp44288_c0_seq2 Tmhelix	7.9041	0.0035	-5.4350	0.0260
comp40044_c0_seq4 rdrp_pvvrna	7.7820	0.0046	-6.1072	0.0182
comp47573_c0_seq1 ---NA---	7.7609	0.0049	-7.9217	0.0074
comp38917_c0_seq2 y1523_arathc-type	7.6548	0.0058	-7.8155	0.0096
comp12404_c0_seq1 ncap_lbvavnucleoprotein	7.5915	0.0067	-7.7522	0.0105
comp45403_c0_seq4 ilv5_arathketol-acid	7.5548	0.0072	-7.7155	0.0109
comp39827_c0_seq2 bcs1b_dicdiprobable	7.5467	0.0075	-7.7073	0.0112
comp27606_c0_seq1 rdrp_pvxx3rna	7.5229	0.0078	-5.8480	0.0268
comp42102_c0_seq5 pti13_arathpti1-like	7.4485	0.0090	-7.6091	0.0134
comp41792_c0_seq25 emb8_picglembryogenesis-associated	7.4327	0.0094	-7.5932	0.0136
comp43604_c0_seq2 ank1_mouseankyrin-1	7.4289	0.0094	-7.5895	0.0136
comp41692_c0_seq30 nac74_orysjnac	7.4164	0.0097	-7.5770	0.0136
comp41267_c0_seq1 idno_ecoligluconate	7.3451	0.0115	-7.5057	0.0161
comp45554_c2_seq5 hox9_orysihomeobox-leucine	7.3016	0.0124	-7.4621	0.0178
comp45137_c1_seq4 tbcc1_humantbcc	7.2621	0.0131	-7.4226	0.0186
comp43130_c0_seq6 vp13b_schpovacuolar	7.1603	0.0166	-7.3207	0.0206
comp48119_c0_seq1 vp3_lbvavprotein	7.1559	0.0166	-7.3163	0.0206
comp46097_c2_seq58 vps45_arathvacuolar	7.1024	0.0189	-7.2628	0.0224
comp38263_c0_seq23 ab9c_arathabc	7.0931	0.0189	-7.2535	0.0231
comp46097_c2_seq11 vps45_arathvacuolar	7.0812	0.0199	-7.2416	0.0231
comp45019_c0_seq7 riha_shewmpyrimidine-specific	7.0402	0.0211	-7.2005	0.0255
comp38889_c1_seq7 WD repeat-containing 87	6.9703	0.0258	-7.1305	0.0284
comp41834_c1_seq23 b2_daucab2	6.9015	0.0004	-4.7779	0.0200
comp43604_c0_seq3 cfxq1_cyacaprotein	6.8833	0.0293	-7.0435	0.0337
comp44006_c0_seq6 hak5_orysjpotassium	6.8460	0.0312	-7.0062	0.0354
comp40222_c2_seq10 anm7_orysiprotein	6.8369	0.0327	-6.9970	0.0354
comp40719_c3_seq3 kda	6.7787	0.0346	-6.9388	0.0402

comp41004_c0_seq37 pme61_arathprobable	6.7701	0.0373	-6.9301	0.0402
comp45426_c0_seq3 chdm_dromechromodomain-helicase-dna-binding	6.7370	0.0395	-6.8970	0.0431
comp44817_c0_seq15 uncharacterized protein LOC105033005	6.7106	0.0395	-6.8706	0.0457
comp36119_c0_seq2 bh137_arathtranscription	6.6728	0.0419	-6.8328	0.0479
comp28061_c0_seq1 ---NA---	5.9265	0.0120	-6.2051	0.0166
comp37248_c0_seq1 cxe12_arathprobable	5.8768	0.0131	-5.3571	0.0326
comp37349_c0_seq1 -oxoglutarate	5.6630	0.0209	-5.1568	0.0475
comp43129_c0_seq9 Y5519_ARATHUncharacterized	4.5555	0.0332	-5.0629	0.0199
comp44751_c0_seq5 G1-like4	4.5110	0.0189	-6.3407	0.0014
comp46910_c0_seq1 chi1_tobacendochitinase	4.2938	0.0419	-6.3173	0.0055
comp30758_c0_seq1 KASC1_ARATH3-oxoacyl-	-4.8053	0.0171	4.5575	0.0457
comp34946_c0_seq1 xcp1_arathxylem	-5.1227	0.0191	5.1543	0.0340
comp40943_c0_seq19 tgt2_arathtrihelix	-5.3861	0.0196	5.1640	0.0352
comp38561_c0_seq4 At1g67350-like	-5.8867	0.0157	5.9477	0.0193
comp40459_c0_seq3 p2c55_arathprobable	-6.6088	0.0485	7.2720	0.0224
comp44671_c0_seq1 djc14_human	-6.6524	0.0448	7.2274	0.0231
comp39048_c0_seq24 rem5_arathb3	-6.6601	0.0448	6.9093	0.0402
comp42481_c0_seq3 Os07g0202900, partial	-6.6683	0.0448	7.3980	0.0186
comp45665_c0_seq4 cki2_schpocasein	-6.6983	0.0419	7.0459	0.0337
comp39526_c0_seq1 SEP1-2	-6.7056	0.0419	6.9923	0.0354
comp40769_c0_seq2 Dehydrin	-6.7375	0.0395	8.1474	0.0045
comp42012_c0_seq16 dynein heavy chain PF11_0240	-6.7381	0.0395	7.2831	0.0216
comp41650_c1_seq52 uncharacterized protein LOC105054525 isoform X2	-6.7452	0.0395	7.1397	0.0284
comp45175_c0_seq4 dpo3x_bacsudna	-6.8034	0.0346	6.9325	0.0402
comp43653_c0_seq2 gaut6_arathprobable	-6.8256	0.0327	7.3096	0.0206
comp42589_c0_seq1 sae2_arathsumo-activating	-6.8498	0.0327	7.1690	0.0268
comp42957_c0_seq27 obg_akkm8gtpase	-6.8722	0.0312	7.1862	0.0255
comp43963_c1_seq10 lhy_arathprotein	-6.9291	0.0273	8.2437	0.0040
comp39120_c0_seq2 cb5_arathchlorophyll	-6.9328	0.0273	7.5031	0.0161
comp45784_c0_seq2 myoj_dicdimyosin-j	-6.9352	0.0273	7.4044	0.0186
comp39589_c0_seq3 acy1_dicdiaminoacylase-1	-6.9973	0.0240	8.1533	0.0045
comp46070_c1_seq8 hypothetical protein VITISV_015618	-7.0204	0.0224	7.0742	0.0324
comp41847_c0_seq9 atg4b_orysjcysteine	-7.0344	0.0224	7.4372	0.0178
comp41917_c0_seq2 lrks7_arathprobable	-7.0828	0.0199	7.2738	0.0224
comp44302_c0_seq2 apy7_arathprobable	-7.0956	0.0199	7.3727	0.0199
comp37388_c0_seq2 msto1_mouseprotein	-7.1745	0.0166	7.3141	0.0206
comp40671_c0_seq8 glyc1_dicdiserine	-7.2698	0.0131	6.8638	0.0457
comp42658_c2_seq1 yog5_schpocobw	-7.3223	0.0120	6.9459	0.0380
comp44352_c0_seq4 Lipase class 3 family	-7.3374	0.0115	7.2499	0.0231
comp43840_c0_seq9 mfpa_cucsaglyoxysomal	-7.3611	0.0108	7.3798	0.0193
comp45392_c0_seq11 gltb_orysjferredoxin-dependent	-7.4300	0.0094	8.3410	0.0031
comp39545_c0_seq2 4cl1_tobac4-coumarate--	-7.5174	0.0078	7.5422	0.0151
comp45947_c0_seq21 tpc10_dicditrafficking	-7.5440	0.0075	8.0598	0.0055
comp41957_c0_seq2 tm214_humantransmembrane	-7.6729	0.0058	7.3241	0.0206
comp45668_c0_seq9 pi3k1_soybnphosphatidylinositol	-7.6848	0.0056	7.0568	0.0337
comp45997_c0_seq19 kif4_xenlachromosome-associated	-7.7176	0.0052	7.0832	0.0324
comp45302_c0_seq1 ppce_prolyl endopeptidase	-7.7583	0.0049	7.8141	0.0095
comp44916_c0_seq4 spl15_oryjsquamosa	-7.9034	0.0036	7.9191	0.0074
comp43963_c1_seq11 lhy_arathprotein	-8.0031	0.0027	7.7255	0.0105
comp43725_c2_seq6 c71a1_peraecytochrome	-8.2166	0.0016	7.9729	0.0069

comp44595_c0_seq3 polx_tobacretrovirus-related	-8.3138	0.0013	8.8791	0.0010
comp42314_c1_seq1 gft_aspof6	-8.6566	0.0005	7.3070	0.0206
comp44920_c0_seq3 psd12_ponab26s	-8.9188	0.0003	7.8331	0.0093
comp38652_c0_seq2 kif15_phragmoplast orienting kinesin-1 isoform X1	-9.4659	0.0001	9.0169	0.0007

Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que se comparten en el Par1/Par3.

	Par1		Par2	
	logFC	FDR	logFC	FDR
comp45676_c0_seq4 tps7_arathprobable	7.0430	0.0230	-7.1265	0.0284
comp44951_c2_seq2 cca13_orysjcyclin-a1-3	6.9663	0.0273	-6.8864	0.0457
comp27463_c0_seq1 ---NA---	-4.2331	0.0317	-4.4043	0.0337
comp34338_c0_seq1 per72_arathperoxidase	-4.4298	0.0302	-5.1584	0.0200
comp28774_c0_seq1 acco_musac1-aminocyclopropane-1-carboxylate	-5.3243	0.0496	-6.9914	0.0354
comp45943_c0_seq1 scc13_arathsister	-6.7358	0.0427	8.4749	0.0024
comp39880_c0_seq3 upl7_arathe3	-6.9677	0.0273	7.1153	0.0284
comp43858_c0_seq2 RNA-binding 47-like	-7.2167	0.0165	6.0053	0.0178
comp44831_c0_seq8 dnli1_dicdidna	-7.5247	0.0087	7.3678	0.0199

Tabla de los transcritos expresados diferencialmente que se comparten en el Par1/Par2/Par3.

	Par1		Par2		Par3	
	logFC	FDR	logFC	FDR	logFC	FDR
comp33959_c0_seq5 FT-like	9.5018	0.0001	-9.6083	0.0001	9.5919	0.0001
comp33183_c0_seq1 g3ox1_arathgibberellin	9.4781	0.0001	-9.5846	0.0001	9.7590	0.0001
comp33959_c0_seq2 FT-like	9.0607	0.0002	-6.6188	0.0013	6.9050	0.0013
comp42917_c0_seq6 kda	8.9645	0.0003	-9.0709	0.0002	9.1484	0.0004
comp42546_c0_seq3 k125_tobac125	8.6889	0.0006	-8.7952	0.0004	9.2928	0.0003
comp46162_c0_seq8 srp_stahjserine-rich	8.3686	0.0013	-8.4749	0.0009	9.4272	0.0002
comp39599_c0_seq2 cb4a_sollcchlorophyll	8.3181	0.0014	-5.7850	0.0074	5.6625	0.0140
comp33959_c0_seq4 FT-like	7.9943	0.0029	-8.1006	0.0021	7.6585	0.0114
comp42012_c0_seq10 dynein heavy chain PF11_0240	7.7823	0.0049	-4.7332	0.0401	5.3042	0.0244
comp29584_c0_seq2 AGL6-like	7.7725	0.0049	-7.8786	0.0037	7.9995	0.0065
comp42012_c0_seq8 dynein heavy chain PF11_0240	7.6619	0.0063	-7.7680	0.0049	8.5286	0.0021
comp42012_c0_seq4 dynein heavy chain PF11_0240	7.3911	0.0113	-7.4972	0.0083	7.7320	0.0105
comp43299_c0_seq1 chd1l_mousechromodomain-helicase-dna-binding	7.3685	0.0118	-7.4745	0.0086	6.9350	0.0402
comp37384_c0_seq1 swt14_-like	7.1156	0.0002	-8.5252	0.0001	8.5967	0.0001
comp42012_c0_seq18 Glicosyl transferases	7.0519	0.0230	-7.1577	0.0166	7.3869	0.0193
comp42055_c0_seq4 uncharacterized protein LOC105040263	7.0012	0.0260	-7.1070	0.0189	7.7784	0.0100
comp44590_c1_seq1 aspl2_arathaspartic	6.9746	0.0273	-7.0805	0.0199	7.0315	0.0337
comp40662_c0_seq37 h1_maizehistone	6.9338	0.0285	-7.0396	0.0224	6.8220	0.0479
comp46062_c0_seq5 acs_arathacetate--	6.9172	0.0301	-7.0229	0.0224	7.0792	0.0324

comp38358_c1_seq1 ---NA---	6.8975	0.0301	-7.0033	0.0240	6.8933	0.0431
comp44849_c0_seq1 scl28_arathscarecrow-like	6.8800	0.0321	-6.9858	0.0240	7.1661	0.0268
comp28284_c0_seq4 rd23a_arath	6.8255	0.0346	-6.9312	0.0273	7.2308	0.0231
comp45547_c0_seq12 oml4_orysjprotein	6.7432	0.0427	-6.8489	0.0327	7.0051	0.0343
comp45696_c0_seq8 npc1_mouseniemann-pick	6.6860	0.0450	-6.7916	0.0346	6.8348	0.0479
comp32347_c0_seq1 plant T22K18-16	6.2888	0.0006	-5.7863	0.0013	5.1188	0.0112
comp42917_c0_seq1 kda	6.1935	0.0004	-5.0359	0.0046	4.6817	0.0178
comp39526_c0_seq2 Atq_MADS2	5.7924	0.0080	-5.4448	0.0101	5.8108	0.0074
comp40719_c3_seq4 kda	5.4466	0.0016	-4.8997	0.0054	4.9154	0.0109
comp43796_c0_seq8 rtnlq_arathreticulon-like	5.4461	0.0371	-7.4195	0.0097	6.8821	0.0431
comp40943_c0_seq42 tgt2_arathtrihelix	5.3196	0.0450	-7.3153	0.0120	7.6716	0.0112
comp42917_c0_seq5 kda	5.1332	0.0037	-5.6395	0.0012	5.1041	0.0094
comp42917_c0_seq4 kda	4.8184	0.0085	-4.6107	0.0124	4.3041	0.0344
comp43164_c0_seq3 cb22_tobacchlorophyll	4.8122	0.0370	-6.2431	0.0072	5.5894	0.0343
comp46317_c0_seq1 ---NA---	4.4105	0.0273	-5.4119	0.0036	6.0447	0.0019
comp44981_c0_seq5 wdr44_ratwd	4.3506	0.0481	-5.9101	0.0057	4.9893	0.0442
comp41976_c0_seq1 ptr15_arathprobable	-4.4417	0.0274	4.3447	0.0327	-5.0250	0.0178
comp46396_c0_seq1 p2a01_arathprotein	-4.8834	0.0154	4.4232	0.0371	-5.8051	0.0050
comp35603_c0_seq1 ptr44_arathprobable	-5.4577	0.0049	5.2922	0.0052	-6.8357	0.0011
comp46218_c0_seq1 myba2_orysjmyb-related	-5.5375	0.0091	5.4142	0.0086	-8.7861	0.0011
comp37185_c0_seq3 per4_vitviperoxidase	-5.7005	0.0104	5.7316	0.0072	-4.7793	0.0354
comp40542_c0_seq1 wtr5_arathwat1-related	-5.8610	0.0065	5.1903	0.0211	-8.0990	0.0050
comp13868_c0_seq1 p2a01_arathprotein	-6.1147	0.0005	5.6176	0.0014	-5.6319	0.0031
comp35603_c0_seq2 ptr53_arathprobable	-6.1904	0.0034	5.2751	0.0196	-5.5583	0.0231
comp42516_c0_seq2 ab22g_arathabc	-6.6655	0.0480	7.2207	0.0149	-5.5626	0.0457
comp28078_c0_seq1 14kd_dauca14	-6.7131	0.0450	7.4070	0.0097	-5.7491	0.0342
comp38354_c0_seq3 u75d1_arathudp-glycosyltransferase	-6.7377	0.0427	6.8455	0.0327	-7.0056	0.0354
comp47436_c0_seq1 Phloem protein 2-like	-6.8125	0.0370	6.8707	0.0312	-7.0308	0.0343
comp41116_c0_seq6 NHL domain-containing isoform 2	-6.9485	0.0285	7.0088	0.0224	-7.1691	0.0268
comp40950_c1_seq8 rnp1_arathheterogeneous	-7.1697	0.0187	6.8056	0.0346	-6.9657	0.0380
comp45776_c0_seq9 arfk_orysjauxin	-7.3035	0.0143	6.8360	0.0327	-6.9961	0.0354
comp45296_c3_seq44 cerk1_arathchitin	-7.3518	0.0125	6.8741	0.0312	-7.0343	0.0343
comp13120_c0_seq1 PTHR35831	-7.6741	0.0063	7.1551	0.0166	-7.3155	0.0206
comp44875_c0_seq15 acca_arathacetyl-coenzyme	-8.2151	0.0017	8.2399	0.0015	-8.4009	0.0030
comp43767_c0_seq2 pas2_arathvery-long-chain	-8.2363	0.0016	9.0973	0.0002	-5.7800	0.0082
comp35137_c0_seq1 uafa_stas1uro-adherence	-8.2680	0.0016	7.0021	0.0240	-7.1624	0.0268
comp42946_c0_seq5 mcmbp_arathmini-chromosome	-8.6321	0.0007	7.6152	0.0064	-7.7759	0.0102
comp40860_c0_seq6 ckx3_orysjcytokinin	-9.0443	0.0003	9.1843	0.0001	-5.9331	0.0042
comp44288_c0_seq102 Tmhelix	-9.1613	0.0002	9.1624	0.0002	-9.3236	0.0003
comp42946_c0_seq7 mcmbp_arathmini-chromosome	-9.3180	0.0001	7.1585	0.0166	-7.3189	0.0206
comp46175_c0_seq1 polg_asgvpgenome	-9.4907	0.0000	4.5303	0.0217	-5.5055	0.0069