

CATEGORIZAÇÃO FUNCIONAL DE SEQUÊNCIAS EXPRESSAS ENVOLVIDAS NA DEFESA DO CAFEIEIRO A DOENÇAS¹

Samuel Mazzinghy Alvarenga²; Eveline Teixeira Caixeta³; Eunize Maciel Zambolim⁴; Laércio Zambolim⁵, Ney Sussumu Sakiyama⁶

¹ Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – CBP&D/Café e pela FINEP

² Estudante de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, samalvarenga@gmail.com

³ Pesquisadora, D.Sc., Embrapa Café, Brasília-DF, eveline.caixeta@embrapa.br, autor para correspondência

⁴ Pesquisadora, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, eunize@ufv.br

⁵ Professor, PhD., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, zambolim@ufv.br

⁶ Professor, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, sakiyama@ufv.br

RESUMO: O entendimento dos mecanismos de defesa e da interação do cafeeiro com patógenos pode ser útil no desenvolvimento de novas alternativas para um controle eficiente das doenças. Tem sido demonstrado, em diferentes espécies de plantas, que genes R, responsáveis pelo reconhecimento dos patógenos, apresentam domínios conservados, como NBS (*Nucleotide Binding Site*) e LRR (*Leucine Rich Repeat*). Dessa forma, nesse trabalho, seqüências do Projeto Brasileiro do Genoma Café, previamente identificadas como contendo domínios NBS e LRR, foram funcionalmente categorizadas. A categorização foi realizada em 140 EST-*contigs*, sendo que 99 foram classificados em pelo menos uma das categorias funcionais do *Gene Ontology*. Essa categorização permitiu associar os produtos preditos das EST-*Contigs* com os processos biológicos que incluíram resposta de defesa e apoptose e com funções moleculares como ligação a nucleotídeo e atividade de transdutor de sinais. Esses e outros termos encontrados são comprovadamente relacionados com a atuação de genes de resistência no mecanismo de defesa da planta.

Palavras-Chave: Genoma, *in silico*, mineração de dados, anotação, ESTs, classificação funcional.

FUNCTIONAL CATEGORIZATION OF COFFEE DEFENSE-RELATED EXPRESSED SEQUENCES TO DISEASES

ABSTRACT: Understanding defense mechanisms and interaction between coffee and its pathogens may be useful in developing novel alternatives for an efficient control of diseases. It has been verified, in different plant species, that R genes, responsible for pathogens recognition, show conserved domains as NBS (Nucleotide Binding Site) and LRR (Leucine Rich Repeat). In this work, sequences from the Brazilian Coffee Genome Project, previously identified as NBS and LRR-containing domains, have been functionally categorized. Categorization was performed in 140 EST-*Contigs*, of which 99 were classified in at least one of the Gene Ontology functional categories. This categorization permitted to associate the EST-*Contigs* predicted products with biological processes including defense response and apoptosis and with molecular functions such as nucleotide binding and signal transducer activity. These and other terms found are proved to be related to the action of disease resistance genes in the plant defense mechanism.

Key words: Genome, *in silico*, data mining, annotation, ESTs, functional classification.

INTRODUÇÃO

O café, um dos produtos de exportação mundial mais importante, tem a sua produção frequentemente afetada por doenças que ocorrem durante praticamente todo o seu ciclo. Visando minimizar esse problema, os pesquisadores investem na obtenção de diferentes estratégias de controle. O entendimento dos mecanismos de defesa e da interação do cafeeiro com patógenos pode ser útil no desenvolvimento de novas alternativas para um controle eficiente, incluindo o aumento da durabilidade da resistência nas variedades a serem obtidas no melhoramento genético. Quanto maior o conhecimento dos fatores que determinam a resistência, mais eficaz poderá ser o controle da doença (Silva et al., 2006).

Uma das formas de defesa da planta envolve a detecção de moléculas do patógeno (elicitors, produtos dos genes *Avr*) por proteínas de resistência (produtos dos genes R) da planta. Essa interação raça-específica leva à ativação de uma cascata de sinais, resultando numa resposta de defesa que limitará o desenvolvimento do patógeno na planta (Delledonne, 2005).

A maioria dos genes R, conhecidos até o momento, codifica proteínas com um domínio N-terminal variável, seguido por um sítio de ligação de nucleotídeo (NBS – *Nucleotide Binding Site*) e uma região rica em leucina (LRR – *Leucine Rich Repeat*). Na estrutura do domínio LRR as repetições de leucina supostamente se ajustam e formam uma folha β paralela exposta ao solvente (Kobe e Deisenhofer, 1995). Como é exposta ao solvente, a superfície hipervariável poderia facilitar a interação da proteína R com o seu fator *Avr* (elicitor) relacionado e poderia fornecer diferentes

especificidades de reconhecimento para fatores Avr alterados (Parniske et al., 1997). De fato, em vários sistemas planta-patógeno, a variação da seqüência na região LRR, particularmente na estrutura fita β /volta β , tem mostrado ser responsável por diferentes especificidades de reconhecimento ou de resistência (Parniske et al., 1997; Thomas et al., 1997; Botella et al., 1998; Wang et al., 1998; Ellis et al., 1999). O domínio NBS compartilha uma homologia com as regiões NBS dos produtos dos genes *CED4* de *Caenorhabditis elegans* e dos genes *Apaf-1*, *FLASH*, *CARD4* e *Nod1*, que estão envolvidos na imunidade natural e na apoptose em animais (Saraste et al., 1990; Li et al., 1997; Van Der Biezen e Jones, 1998; Aravind et al., 1999). Essa homologia sugere um mecanismo conservado de morte celular programada em plantas e animais, inclusive em mamíferos. Os domínios NBS também são encontrados em muitas famílias de proteínas, incluindo as do grupo RAS, ATPases, fatores de alongação e proteínas G (Saraste et al., 1990). Essas proteínas servem como chaves moleculares e são importantes para muitos eventos celulares eucarióticos fundamentais, como crescimento celular, diferenciação, organização do citoesqueleto, transporte de vesículas, apoptose e defesa (Van Der Biezen e Jones, 1998; Aravind et al., 1999; Bourne et al., 1991).

Em café, foram identificadas várias ESTs (*Expressed Sequence Tags*) relacionadas com proteínas de resistência da classe NBS-LRR homólogas a genes de outras espécies de plantas (Noir et al., 2001; Fernandez et al., 2004; Guzzo, 2004; Lin et al., 2005 e Alvarenga, 2007). Isso demonstra uma conservação nas vias de sinalização e nos mecanismos de defesa do cafeeiro em relação a outros hospedeiros estudados.

O Projeto Brasileiro do Genoma Café consistiu no sequenciamento em larga escala de seqüências expressas e gerou um banco de dados de 200.000 ESTs (Vieira et al., 2006). Posteriormente, foi realizado o processo de anotação, no qual as ESTs foram associadas, juntamente com suas informações de expressão, com suas possíveis funções biológicas. Atualmente, este banco de dados está sendo usado como base para estudos de genômica funcional por vários grupos de pesquisa. Com o intuito de identificar fatores genéticos determinantes e/ou associados com a resistência do cafeeiro a doenças, Alvarenga (2007) realizou uma análise *in silico* das seqüências geradas pelo Projeto. Neste trabalho, foram identificadas 14.060 seqüências relacionadas com o processo de defesa da planta contra doenças como, por exemplo, quitinase, proteína quinase, citocromo P450, proteína de resistência a doenças, proteína relacionada com patogênese, proteínas com domínio LRR e NBS, proteínas induzidas por hipersensibilidade, entre outras. Uma das estratégias de mineração dos dados consistiu em identificar palavras-chave correspondentes a termos relacionados aos mecanismos de resistência de plantas a patógenos e utilizá-las como “iscas” para a obtenção das seqüências. Com o auxílio de ferramentas disponíveis na plataforma de bioinformática desenvolvida pelo Laboratório de Genômica e Expressão (LGE), disponível no site <<http://www.lge.ibi.unicamp.br/cafe/>>, foram identificadas ESTs relacionadas a cada uma destas palavras. As seqüências obtidas foram depositadas no sistema de gerenciamento e manipulação de seqüências, o *Gene Projects*. Cada conjunto de ESTs obtido por meio de uma palavra-chave foi armazenado em pastas de trabalho chamadas “projetos”. Desta forma, cada projeto recebeu o nome de uma palavra-chave e armazenou as ESTs a ela relacionadas (Alvarenga, 2007). Os 15 projetos criados foram: LRR, NBS, *Resistance*, *Chitinase*, *Cytochrome P450*, *Glucanase*, *HSP (Heat Shock Protein)*, *Thaumatin*, *Chalconesynthase*, *Hypersensitive*, *Pathogenesis*, *Polyphenoloxidase*, *Importin*, *Glucosyltransferase* e *Phytoalexin*. As ESTs de cada projeto foram clusterizadas, formando os EST-*contigs* (Alvarenga, 2007).

Com base nesses dados, o objetivo do presente trabalho foi analisar as seqüências dos projetos NBS e LRR e caracterizá-las funcionalmente. Uma categoria (ou classe) funcional se refere ao processo biológico, componente celular ou função molecular que o produto de um dado gene pode desempenhar. Essa categorização funcional possibilita incorporar informações importantes sobre os genes de resistência do cafeeiro, contribuindo para o entendimento de como eles atuam no processo de defesa da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas, nesse trabalho, as seqüências do Projeto Brasileiro do Genoma Café identificadas por Alvarenga (2007) como potenciais genes R e armazenadas em dois projetos: NBS e LRR. O projeto NBS é constituído por 494 ESTs e o LRR por 825. As seqüências foram clusterizadas e os EST-*contigs* formados foram submetidos ao BlastX automático do *Gene Projects*, aplicativo disponibilizado pela plataforma de bioinformática LGE. Apenas os EST-*contigs* com $e\text{-value} < e^{-20}$ e $score > 100$ foram selecionados para análise de anotação e caracterização funcional.

Os EST-*contigs* selecionados foram submetidos ao programa Blast2GO (Conesa et al., 2005). Esse programa realizou um BlastX (via Qblast, que permite múltiplas análises simultâneas) de todas as EST-*contigs* contra o banco de dados *nr* do NCBI (*National Center for Biotechnology and Information*). O $e\text{-value}$ máximo do melhor *blast hit* foi igual a $1e^{-10}$ e o tamanho mínimo do alinhamento (*HSP length*) foi de 33. Baseando-se no resultado do BlastX, o Blast2GO extraiu termos do *Gene Ontology* (GO) para cada EST-*contig*. As três categorias de termos designados eletronicamente foram Função Molecular, Processo Biológico e Componente Celular. Posteriormente, os EST-*contigs* foram submetidos ao InterProScan do EBI (*European Bioinformatics Institute*), visando identificar domínios conservados. O InterPro é um banco de dados que acumula informações sobre domínios, motivos e regiões conservadas nas proteínas e famílias de proteínas disponibilizadas por outros bancos de dados que incluem PROSITE, PRINTS, ProDom, Pfam, SMART, TIGRFAMs, PIRSF, UPERFAMILY e PANTHER. A última etapa do programa consistiu na anotação de ECs (*Enzyme Codes*) e busca de mapas metabólicos do KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) para as EST-*contigs*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após verificada a redundância entre as seqüências, foram obtidas 826 ESTs, que após a clusterização resultaram em 160 EST-*Contigs* e 243 *singlets*. Desses EST-*Contigs*, 140 apresentaram $score > 100$ e $e\text{-value} < e^{-20}$. A maior parte dos 140 EST-*contigs* foi formada por dois e três ESTs (Figura 1). O tamanho dos EST-*contigs* formados variou de 469pb (EST-*Contig* 49: *Putative NBS-LRR type disease resistance protein*, de *Prunus persica*) a 3281pb (EST-*Contig* 50: *Putative leucine-rich repeat transmembrane, putative protein kinase*, de *Gossypium hirsutum*).

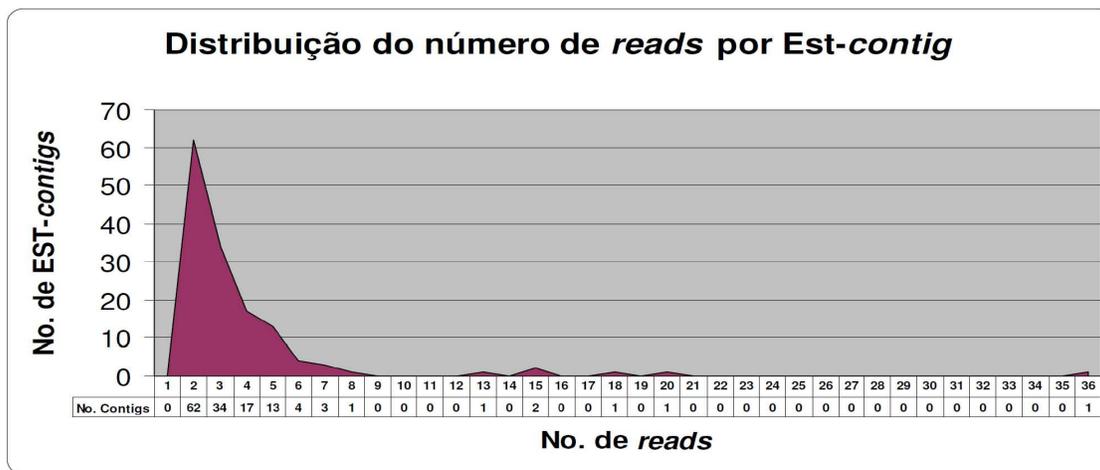


Figura 1 – Distribuição do número de ESTs nos 140 EST-*contigs* com $e\text{-value} < e^{-20}$ e $score > 100$ formados pela clusterização.

Os EST-*contigs* apresentaram similaridade com proteínas de resistência a doenças, proteínas NBS-LRR, proteínas quinases, dentre outras. Os domínios conservados encontrados incluíram pfam00931(NB-ARC domain), COG4886 (Leucine-rich repeat – LRR – protein), cd00116 (LRR_RI, Leucine-rich repeat, ribonuclease inhibitor (RI)-like subfamily), smart00220 (S_TKc, Serine/Threonine protein kinases), pfam01582 (TIR domain), entre outros. O domínio LRR possui, entre outras funções, a de facilitar a interação da proteína R com o seu fator Avr (elicitor) relacionado, podendo fornecer diferentes especificidades de reconhecimento para fatores Avr alterados (Parniske et al., 1997). Em vários sistemas planta-patógeno, a variação da seqüência na região LRR, mostrou ser responsável por diferentes especificidades de reconhecimento ou de resistência (Parniske et al., 1997; Thomas et al., 1997; Botella et al., 1998; Wang et al., 1998; Ellis et al., 1999). Acredita-se que o domínio NBS participa da ativação dos componentes da transdução de sinais, levando a respostas de resistência patógeno-específicas (Aarts et al., 1998; Feys e Parker, 2000; Van Der Biezen et al., 2000).

As espécies que mais apresentaram *blast hits* com similaridade aos EST-*Contigs* foram *Vitis vinifera* e *Populus trichocarpa* (Figura 2). Espécies do grupo Asterid I, como *Solanum* sp. e *Lycopersicon* sp., comprovadamente relacionados com o cafeeiro (Lin et al., 2005), também apresentaram um grande número de *blast hits*.

O BlastX dos EST-*contigs* realizado por meio do Blast2GO resultou em *hits* com anotações NBS-LRR, CC-NBS-LRR, TIR-NBS-LRR, *disease resistance protein*, *leucine-rich repeat transmembrane protein kinase*, *leucine-rich repeat receptor-like protein kinase*, entre outras. A média do $e\text{-value}$ dos 20 melhores *hits* de cada uma das EST-*contigs* submetidas a anotação do BlastX variou de e^{-5} a e^{-179} (Figura 3). A média do nível de similaridade dos 20 melhores *hits* variou de 43% a 99% (Figura 4). Esses dados mostram que os resultados obtidos na anotação são significativos, e, portanto, bastante confiáveis.

Dos 140 EST-*Contigs* analisados, 89 foram anexadas a um domínio conservado. A análise no banco de dados do InterProScan permitiu encontrar similaridade com domínios como IPR002182 (PF00931 -domínio NB-ARC), IPR001611 (PF00560 – domínio LRR), IPR007271 (PTHR10231 -*nucleotide-sugar transporter*), IPR000719 (PS50011 – domínio proteína quinase), que possuem funções associadas ao processo de defesa da planta contra doenças. Não foram encontradas proteínas com atividade enzimática (nenhum EC anexado) ou mapas metabólicos (nenhum mapa KEGG anexado) para as EST-*contigs*.

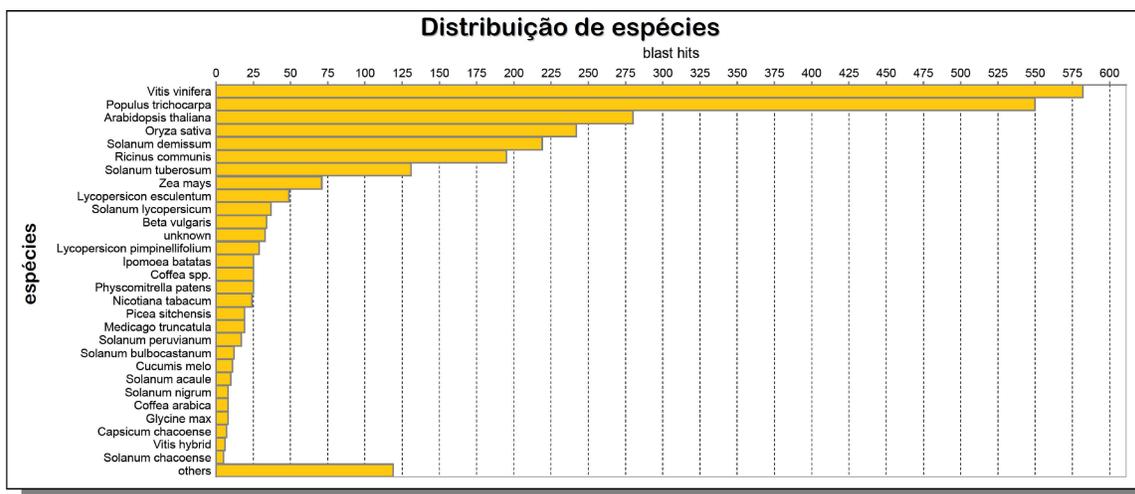


Figura 2 – Espécies que apresentaram o maior número de Blast *hits* com as EST-*Contigs*.

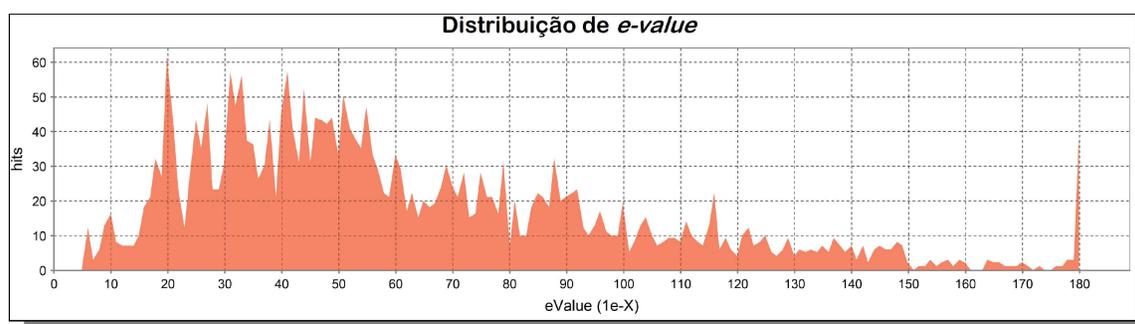


Figura 3 – Distribuição do *e-value* médio dos 20 melhores *hits* de cada um dos 140 EST-*contigs* submetidos ao BlastX por meio do Blast2GO.

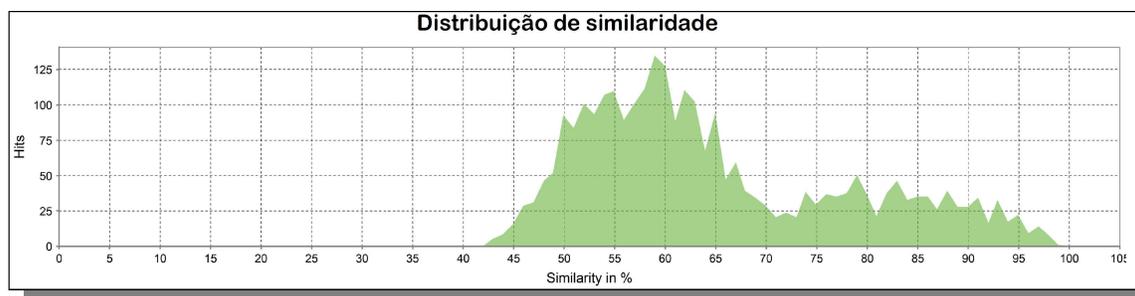


Figura 4 – Distribuição do valor de similaridade médio dos 20 melhores *hits* de cada um dos 140 EST-*contigs* submetidos ao BlastX por meio do Blast2GO.

Quarenta e um EST-*Contigs* (29,28%) não obtiveram qualquer termo GO. Vinte e seis (18,57%) apresentaram apenas um termo, enquanto dois obtiveram 10 termos. A distribuição completa do número de termos GO por EST-*Contig* está apresentada na figura 5. Esse resultado mostra que grande quantidade de seqüências depositadas nos bancos de dados públicos ainda não possui um termo GO anexado.

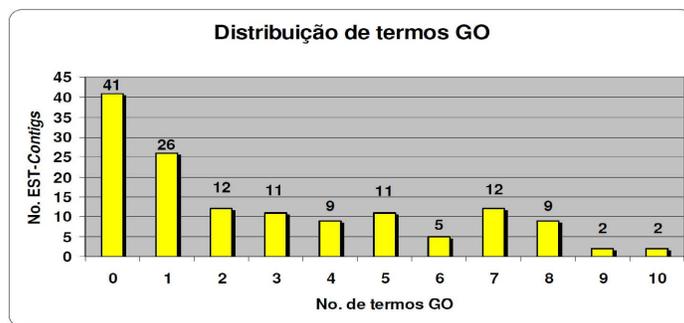


Figura 5 – Distribuição do número de termos GO (Componente Celular, Função Molecular e Processo Biológico) dos 140 EST-*contigs* selecionados para análise no Blast2GO.

Dos termos anexados, a maioria foi inferida por anotação eletrônica (Figura 6). Como a maior parte das inferências de significado biológico para seqüências de DNA e proteína são feitas a partir de anotação eletrônica, é muito importante que o pesquisador faça uma análise detalhada em diversos bancos de dados biológicos específicos a fim de anexar a maior quantidade possível de informações antes de depositar sua seqüência em um banco de dados.

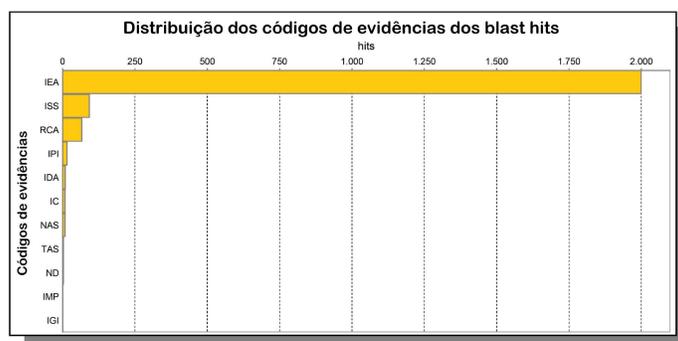


Figura 6 – Distribuição do EC (*Evidence Code*) para os *blast hits* dos EST-*Contigs* analisados. IEA = inferido a partir de anotação eletrônica. ISS = inferido a partir de similaridade de seqüência estrutural. RCA = inferido a partir de análise computacional revista. IPI = inferido a partir de interação física. IDA = inferido a partir de ensaio direto. IC = inferido por curador. NAS = declaração não-rastreável de autor. TAS = declaração rastreável de autor. ND = nenhum dado biológico disponível. IMP = inferido a partir de fenótipo mutante. IGI = inferido a partir de interação genética.

Na categoria Componente Celular, nível 3, foram encontrados termos como “intrínseco a membrana” e “membrana plasmática” (Figura 7). Genes R conhecidos, como o *Cf9* do tomate, que confere resistência a *Cladosporium fulvum*, codificam proteínas transmembranas, cuja região N-terminal extracelular é composta de um domínio LRR (Jones et al., 1994).

Os termos encontrados na categoria Função Molecular incluíram “atividade de transdutor de sinais”, “ligação a nucleotídeo”, entre outros (Figura 8). A atividade de ligação de nucleotídeos tem sido relacionada ao domínio NBS, o qual apresenta função de ligação de ATP ou GTP em diversos organismos (Traut, 1994 e Saraste et al., 1990). Acredita-se que a região N-terminal, juntamente com o domínio NBS, participa na ativação dos componentes da transdução de sinais levando a respostas de resistência patógeno-específicas (Aarts et al., 1998; Feys e Parker, 2000; Van Der Biezen et al., 2000).

A categoria Processo Biológico apresentou termos como “resposta de defesa”, “apoptose” e “via de sinalização de receptor transmembrana de proteína tirosina quinase” (Figura 9). O gene *Pto* do tomate codifica uma proteína serina/treonina quinase que confere resistência às raças de *Pseudomonas syringae* que carregam o gene de avirulência *AvrPto* (Martin et al., 1993). Já o gene *Xa21* (resistência a *Xanthomonas oryzae*) do arroz, codifica proteínas com um formato clássico de receptor-quinase, uma região LRR extracelular, uma região transmembrana e um domínio serina/treonina quinase citosólico (Song et al., 1995; Ellis e Jones, 1998).

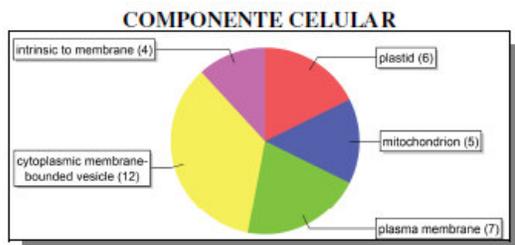


Figura 7 – Distribuição dos termos GO na categoria Componente Celular, nível 3.

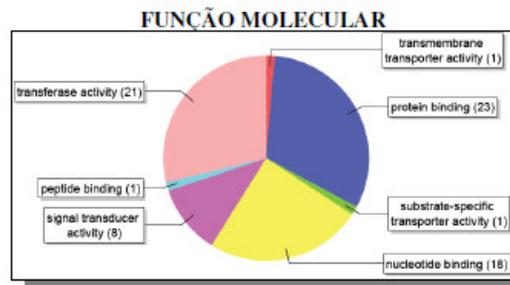


Figura 8 – Distribuição dos termos GO na categoria Função Molecular, nível 3.

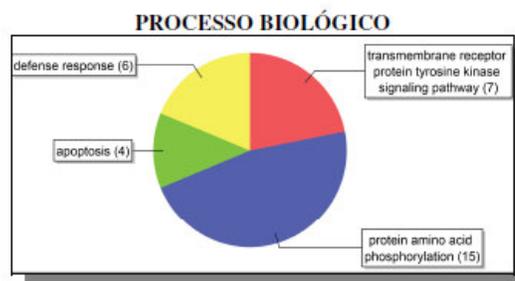


Figura 9 – Distribuição dos termos GO na categoria Processo Biológico, nível 3.

CONCLUSÕES

A informação gerada pela genômica é de grande importância para ampliar o conhecimento da interação planta-patógeno. A categorização permitiu associar os produtos preditos dos EST-*Contigs* com os processos biológicos que incluíram resposta de defesa e apoptose e com funções moleculares como ligação a nucleotídeo e atividade de transdutor de sinais. Desta forma, foi possível incorporar informações importantes sobre os genes de resistência e, conseqüentemente, enriquecer a anotação do genoma do cafeeiro. Esse estudo poderá contribuir para a compreensão da influência mútua entre os fatores de virulência dos patógenos e a resposta de defesa desencadeada pelo cafeeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARTS, N., METZ, M., HOLUB, E., et al. Different requirements for EDS1 and NDR1 by disease resistance genes define at least two R gene-mediated signaling pathways in Arabidopsis **PNAS**, v.95, n.17, p.10306-10311. 1998.
- ALVARENGA, S. M. **Caracterização de seqüências expressas do genoma café potencialmente relacionadas com a resistência a doenças**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2007. 107 p.
- ARAVIND, L. D., V. M., KOONIN, E. V. The domains of death: evolution of the apoptosis machinery. **TIBS**, v.24, n.2, p.47-53. 1999.
- BOTELLA, M. A., PARKER, J. E., FROST, L. N., et al. Three genes of the arabidopsis RPP1 complex resistance locus recognize distinct *Peronospora parasitica* avirulence determinants **Plant Cell**, v.10, p.1847-1860. 1998.
- BOURNE, H. R., SANDERS, D. A., MCCORMICK, F. The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism. **Nature**, v.349, n.6305, p.117-127. 1991.
- CONESA, A.; GÖTZ, S.; GARCÍA-GOMEZ, J.M., et al. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. **Bioinformatics**. V.21, n. 18, p.3674-3676, 2005.
- DELLEDONNE, M. NO news is good news for plants. **Curr. Opin. Plant Biol.** V.8, p.390-396. 2005.
- ELLIS, J., JONES, D. Structure and function of proteins controlling strain-specific pathogen resistance in plants. **Curr. Opin. Plant Biol.**, v.1, p.288-293. 1998.
- ELLIS, J. G., LAWRENCE, G. J., LUCK, J. E., et al. Identification of regions in alleles of the flax rust resistance gene L that determine differences in gene-for-gene specificity **Plant Cell**, v.11, n.3, p.495-506. 1999.
- FERNANDEZ, D., SANTOS, P., AGOSTINI, C., et al. Coffee (*Coffea arabica* L.) genes early expressed during infection by the rust fungus (*Hemileia vastatrix*). **Mol. Plant Pathol.**, v.5, n.6, p.527-536. 2004.
- FEYS, B. J., PARKER, J. E. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. **Trends in Genetics**, v.16, n.10, p.449-455. 2000.
- GUZZO, S. D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. 236 p.
- JONES, D. A., THOMAS, C. M., HAMMOND-KOSACK, K. E., et al. Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance

- to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. **Science**, v.266, p.789-793. 1994.
- KOBE, B., DEISENHOFER, J. Proteins with leucine-rich repeats. **Curr. Opin. Struct. Biol.**, v.8, n.5, p.409-416. 1995.
- LI, L., HONG, R., HASTINGS, W. Three functional luciferase domains in a single polypeptide chain. **PNAS**, v.94, n.17, p.8954-8958. 1997.
- LIN, C., MUELLER, L. A., CARTHY, J. M., et al. Coffee and tomato share common gene repertoires as revealed by deep sequencing of seed and cherry transcripts. **TAG**, v.112, n.1, p.114-130. 2005.
- MARTIN, G. Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors. **Curr. Opin. Plant Biol.**, v.2, p.273-279. 1999.
- MCDOWELL, J. M., WOFFENDEN, B. J. Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. **Trends in Biotechnology**, v.21, n.4, p.178-83. 2003.
- NOIR, S., COMBES, M. C., ANTHONY, F., et al. Origin, diversity and evolution of NBS-type disease-resistance gene homologues in coffee trees (*Coffea* L.). **Mol. Genet. Genomics**, v.265, p.654-662. 2001.
- PARNISKE, M., HAMMOND-KOSACK, K. E., GOLSTEIN, C., et al. Novel disease resistance specificities result from sequence exchange between tandemly repeated genes at the Cf-4/9 locus of tomato. **Cell**, v.91, n.6, p.821-832. 1997.
- SARASTE, M., SIBBALD, P. R., WITTINGHOFER, A. The P-loop--a common motif in ATP-and GTP-binding proteins. **TiBS**, v.15, n.11, p.430-434. 1990.
- SILVA, M. C., VÁRZEA, V., GUERRA-GUIMARÃES, L., et al., Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee Berry disease. **Braz. J. Plant Physiol.**, V.18, n.1, p. 119-147. 2006.
- SONG, W. Y., WANG, G. L., CHEN, L. L., et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. **Science**, v.270, p.1804-1806. 1995.
- THOMAS, C. M., JONES, D. A., PARNISKE, M., et al. Characterization of the tomato Cf-4 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* identifies sequences that determine recognitional specificity in Cf-4 and Cf-9. **Plant Cell**, v.9, n.12, p.2209-2224. 1997.
- TRAUT, T. W. The functions and consensus motifs of nine types of peptide segments that form different types of nucleotide-binding sites. **Eur. Journal Biochem.**, v.229, p.9-19. 1994.
- VAN DER BIEZEN, E. A., JONES, J. D. The NB-ARC domain: a novel signaling motif shared by plant resistance gene products and regulators of cell death in animals. **Curr. Biol.**, v.8, n.7, Mar, p.R226-227. 1998.
- VAN DER BIEZEN, E. A., SUN, J., COLEMAN, M. J., et al. Arabidopsis RelA/SpoT homologs implicate (p)ppGpp in plant signaling **PNAS**, v.97, n.7, p.3747-3752. 2000.
- VIEIRA, L. G. E., ANDRADE, A. C., COLOMBO, C. A., et al. Brazilian coffee genome project: an EST-based genomic resource. **Braz. J. Plant Phys.**, v.18, n.1, p.95-108. 2006.
- WANG, G., RUAN, D., SONG, W., et al. Xa21D encodes a receptor-like molecule with a leucine-rich repeat domain that determines race-specific recognition and is subject to adaptive evolution **Plant Cell**, v.10, n.5, p.765-779. 1998.