

UNIVERSITÀ degli STUDI della TUSCIA di VITERBO

Dipartimento di Agrobiologia e Agrochimica

Dottorato di Ricerca in Biotecnologie Vegetali - ciclo XXIV

Settore scientifico disciplinare: BIO/11

**“Resistenza in pesco a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*:
caratterizzazione della risposta metabolica attraverso analisi
differenziale del trascrittoma”**

Dottorando:

dott. Fabio Gervasi

Coordinatore del corso:

Prof. Stefania Masci

Tutore:

dott. Guido Cipriani

INDICE

1.	Introduzione	4
1.1	La coltura del pesco	4
1.1.1.	Sistematica e specie affini	4
1.1.2.	Origine e diffusione	5
1.1.3.	Botanica	6
1.1.4.	Importanza economica	9
1.1.5.	Principali avversità	12
1.2.	Sistema immunitario vegetale	16
1.2.1.	Barriere precostituite	16
1.2.2.	<i>PAMP-triggered immunity</i> (PTI)	17
1.2.3.	<i>Effector triggered immunity</i> (ETI)	19
1.2.4.	Immunità vegetale: una visione integrata	23
1.3.	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	27
1.3.1.	Tassonomia e biotecnologia	27
1.3.2.	Diffusione geografica	27
1.3.3.	Spettro d'ospite, sintomi su pesco, danni	28
1.3.4.	Ciclo biologico d'infezione	29
1.3.5.	Diagnosi	30
1.3.6.	Controllo	31
1.3.7.	Modelli di previsione	32
1.3.8.	Resistenza	33
1.4.	Scopo della tesi	35
2.	Materiale e metodi	37
2.1.	Propagazione piante	37
2.2.	Infezione e campionamento	38
2.3.	Estrazione RNA	39
2.4.	Controllo induzione	40
2.4.1.	Marcatori e disegno dei primer	40

2.4.2.	<i>Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction</i>	41
2.5.	Preparazione <i>library</i> e sequenziamento	42
2.6	Analisi dati NGS	43
3.	Risultati e discussione	47
3.1.	Disegno sperimentale e <i>time course</i>	47
3.2.	Estrazione e controllo induzione	48
3.3.	Risultati del sequenziamento NGS	50
3.4.	RNA-Seq	51
3.5.	Espressione differenziale	55
3.5.1.	Controllo qualità	55
3.5.2.	I trascrittomi: resistente vs. suscettibile	60
3.5.3.	Geni fortemente up-regolati	62
3.5.4.	Percezione e trasduzione del segnale	64
3.5.5.	Fattori di trascrizione	66
3.5.6.	Ormoni coinvolti nella resistenza	67
3.5.7.	Metabolismo secondario	68
3.5.8.	Scoppio ossidativo	69
3.5.9.	Geni di difesa	69
3.5.10.	Geni “orfani”	70
3.5.11.	Risposta di difesa: resistente vs. suscettibile	70
3.6.	Conclusioni e prospettive future	71
4.	Appendice	73
5.	Bibliografia	124

1. INTRODUZIONE

1.1. La coltura del pesco

1.1.1. Sistematica e specie affini

Il pesco (*Prunus persica* L. Batsch) appartiene al genere *Prunus* L., subgenere *Amygdalus*, famiglia *Rosaceae*. Originariamente era stato classificato come *Amygdalus persica* (Linnaeus C., 1758) in base all'origine putativa dalla Persia (attuale Iran). Il genere *Prunus* comprende circa 230 specie diffuse principalmente nelle zone temperate dell'emisfero nord. Diversi taxa di questo genere sono specie di fruttiferi economicamente importanti: il pesco, l'albicocco (*P. armeniaca* L.), il mandorlo (*P. dulcis* (Miller) D.A. Webb), ciliegio dolce (*P. avium* L.), ciliegio amaro (*P. cerasus* L.), susino (*P. domestica* L.); alcune specie del genere *Prunus*, come ad esempio *P. laurocerasus* o *P. cerasifera*, trovano impiego come specie ornamentali.

L'inquadramento sistematico del pesco è stato un argomento aperto sin dalla prima denominazione effettuata da Linneo. Nei secoli successivi si sono succeduti tentativi di riclassificazione che l'hanno assegnato a diversi generi e specie. Fu Batsch all'inizio del XIX secolo che propose il genere *Prunus* nel quale inquadrò il pesco come *Prunus persica*, mentre Rehder suddivise il genere in cinque sottogeneri e pose il pesco nel sottogenere *Amygdalus* con il mandorlo, a evidenziarne la vicinanza genetica (Rehder, 1940).

Non è conosciuta la specie *Prunus persica* allo stato selvatico che possa essere riconosciuta come la specie di origine del pesco. Di seguito sono descritte alcune specie selvatiche affini al pesco; ognuna di esse mostra caratteri di scarso pregio produttivo come frutti di scarsa qualità nutrizionale, ma sono portatori di caratteri interessanti per la resistenza alle malattie, oppure sono state impiegate come portainnesti (Wang *et al.*, 2002). *Prunus davidiana* è una specie selvatica nativa del nord-est in Cina, dove è impiegata come franco per la tolleranza alla siccità; il frutto ha polpa spicca e nocciolo caratterizzato da numerosi piccoli fori. Accessioni di questa specie sono state ibridate con pesco per introdurre la resistenza a PPV, oidio, bolla (Moing *et al.*, 2003; Foulogne *et al.*, 2003) o per produrre portainnesti interspecifici in grado di tollerare diverse condizioni pedologiche e resistenti ai nematodi (Loreti and Massai, 2002).

Prunus ferghanensis è una specie selvatica originaria della Cina occidentale considerata sub-specie di *P. persica*. È caratterizzata dall'ampia variabilità dei tipi di frutti: a polpa gialla o bianca, a buccia glabra (nettarine); i noccioli sono a scanalature parallele, ed i semi possono essere privi del ciano-glucoside che conferisce il tipico sapore amaro; è portatore del carattere resistenza all'oidio ed è tollerante alla siccità (Pascal *et al.*, 2010; Rieger *et al.*, 2003).

Prunus kansuensis è una specie spontanea ritrovata nel nord-est della Cina ove è impiegata come franco. È caratterizzata dalla fioritura precoce e i fiori sono piuttosto resistenti alle gelate, inoltre è resistente all'oidio e ai nematodi (Meader and Blake, 1939; Cao *et al.*, 2001).

Prunus mira è una specie selvatica dell'estremo ovest in Cina (Tibet orientale). L'albero è alto e longevo, i fiori sono bianchi ed i frutti sono molto variabili nella forma, dimensione e colore; il nocciolo va da liscio a rugoso molto simile a quello del pesco, è considerata la specie ancestrale di *Prunus persica* (Yoshida, 1997), ed è resistente all'oidio (Foulongne *et al.*, 2003).

1.1.2. Origine e diffusione

La provenienza effettiva del pesco è stata accertata in epoca relativamente recente. Anche se inizialmente si credeva che la specie provenisse dall'antica Persia, soltanto nel XIX secolo è stato accertato il centro di origine della specie nella Cina occidentale (De Candolle, 1883; Vavilov, 1951); manoscritti e reperti archeologici fanno risalire la domesticazione del pesco al 3000 a.C. (Li, 1984). La diffusione verso occidente ha portato la specie ad arrivare prima in Persia, all'inizio del secondo secolo a.C., poco prima dell'arrivo dell'esercito romano. Scritti latini degli autori Columella, Plinio, Marziale citano la presenza del pesco in Italia durante il primo secolo d.C. I peschi di Gallia di cui parla Plinio sarebbero giunti in Europa anche attraverso una seconda via, contemporanea all'introduzione italiana, percorrendo la via dei Balcani e del Mar Nero attraverso il Danubio. Tesi sostenuta anche dai reperti archeologici di semi di pesco ritrovati nell'Europa Orientale ben oltre il confine dell'impero romano. Nell'opera di Marziale "*De pomis seu medicina ex pomis*" è anche descritto un primo tentativo di miglioramento genetico della specie per incrocio con lo scopo di ottenere la pesca-noce: "Sui rami materni eravamo vili pesche, ora siamo pesche rare da quando passammo a piante adottive". Nella

stessa opera si cita la pratica colturale dell'innesto: “Gli armeni e i precochi -tipi di peschi- specialmente se innestati sui susini, sono piuttosto prosperosi”. Con la caduta dell'impero romano il pesco scompare quasi del tutto dalle campagne europee. Fu Carlo Magno a promuoverne la coltivazione nei giardini e nei monasteri del suo impero, al punto che, durante il Medio Evo, la Francia divenne probabilmente il secondo punto di origine dopo la Cina.

Successivamente al Medio Evo, il pesco è stato esportato in America in due ondate successive. La prima è partita verso la prima metà del sedicesimo secolo, subito dopo la scoperta del continente, per opera dei coloni spagnoli nella zona dell'America Centrale (attuale Messico). La coltura si diffuse in seguito nel nord del continente e fu propagata per seme dai popoli nativi. Questa prima introduzione ha portato alla selezione di diversi ecotipi, molti dei quali portatori dei caratteri polpa non fondente, sempreverde, resistenza all'oidio o alla ruggine (Rodriguez and Sherman, 1990; Pérez *et al.*, 1993). Tutte le varietà di pesco coltivate negli Stati Uniti anteriormente al 1850 derivavano da genotipi introdotti dall'Europa. Intorno al 1850, ci fu una seconda ondata di introduzione di peschi denominati *Chinese Cling* da Shanghai. La diffusione fu così importante che, venticinque anni dopo la loro prima introduzione, erano coltivati nei frutteti di ogni parte degli Stati Uniti. Tra il 1850 e il 1900 sono state selezionate un gran numero di varietà tra cui le famose cultivar americane 'Elberta', 'J.H. Hale', 'Belle of Georgia' (Okie *et al.*, 1985; Scorza *et al.*, 1985).

1.1.3. Botanica

Il pesco è una specie diploide ($2n=16$) prevalentemente autogama, sebbene siano stati descritti anche aploidi (Hesse, 1971). Ha un genoma le cui dimensioni sono state stimate in 227 Mbp (Verde *et al.*, 2013); queste costituiscono le dimensioni più contenute fra tutte le specie arboree e dei fruttiferi come ad esempio il melo: 742 Mbp (Velasco *et al.*, 2010), il pero: 527 Mbp (Wu *et al.*, 2013), la fragola di bosco: 240 Mbp (Shulaev *et al.*, 2011); infine tale dimensione è poco meno il doppio rispetto al genoma di *Arabidopsis* (125 Mbp) (The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000). Oltre che importante specie produttiva per la frutticoltura è anche modello sperimentale per la ricerca genetica dell'intera famiglia delle rosacee, poiché ha un genoma piccolo, è diploide, e un periodo giovanile relativamente breve: 2-3 anni (Dirlewanger, 2004; Shulaev, 2008). Per tale motivo ne è stato sequenziato

il genoma (Verde *et al.*, 2013) e la sequenza è disponibile presso il Genome Database for Rosaceae (www.rosaceae.org).

Le varietà commerciali sono propagate per innesto che permette di mantenere un buon livello di omogeneità, di tollerare stress biotici e abiotici, di controllare positivamente vigoria e produttività, e infine di arrivare più rapidamente a maturità produttiva rispetto alla propagazione per seme. Generalmente il pesco ben tollera l'innesto sulla stessa specie, su specie selvatiche affini (Wang *et al.*, 2002), e su ibridi derivati dall'incrocio pesco x mandorlo; può essere innestato anche su susino o mandorlo con un rischio superiore d'incompatibilità (Zarrouk *et al.*, 2006).

Gli alberi di pesco sono di media altezza e possono arrivare fino a 8 metri. Producono fiori ermafroditi, che vanno dal bianco puro al rosso scuro, anche se la maggior parte delle cultivar sono a fiore rosa, con cinque petali e cinque sepali, presenta un pistillo singolo, il gineceo è supero, glabro nelle nettarine. I colori bianco puro e rosso sono comunemente sviluppati da varietà ornamentali, e la forma dei petali è simile al crisantemo (Yoshida *et al.*, 2000). Per iniziare la ripresa vegetativa e la fioritura, il pesco deve soddisfare sia il fabbisogno di freddo, definito come numero di unità (*Chilling Unit*) espresse in ore trascorse sotto i 7° C (Weinberger, 1950), sia l'accumulo di 'unità di caldo' (*Growing Degree Hours*) (Citadin *et al.*, 2001). In base al fabbisogno di freddo, le cultivar di pesco sono riunite in due categorie: non soggette a dormienza, con crescita praticamente continua (*evergreen*), e soggette a dormienza (Rodriguez *et al.*, 2004). Le prime non arrestano l'attività vegetativa, sono quindi tipiche dei climi tropicali o sub-tropicali, dove possono fruttificare due volte l'anno (in alcune zone dell'America Centrale). Nel secondo gruppo si distinguono convenzionalmente tre fasce di fabbisogno in freddo, ma con tutte le possibili varianti intermedie trattandosi di un carattere quantitativo: molto basso (CU<50), medio (600<CU<900), molto alto (CU>1500).

La specie è autofertile, e l'impollinazione, che può essere entomofila, avviene per autofecondazione con un tasso che arriva fino al 95%. Dal fiore si sviluppa un frutto unico (drupa) nel quale il nocciolo, costituito dall'endocarpo lignificato e dal seme in esso racchiuso, è circondato dalla polpa (mesocarpo) ricoperta dalla buccia (esocarpo). Il nocciolo ha il guscio irregolarmente e tortuosamente solcato e contiene normalmente un seme ovoido compresso caratterizzato dalla presenza di amigdalina, il metabolita

secondario glucoside-cianogenico che determina il sapore amaro e la tossicità dei cotiledoni se ingeriti in quantità (Jones, 1998).

Dopo la fecondazione, lo sviluppo del frutto è convenzionalmente suddiviso in quattro fasi: divisione cellulare (S1), indurimento del nocciolo (S2), accrescimento cellulare (S3), maturazione (S4). Secondo la cultivar, il frutto può impiegare tra 55 e 270 giorni per lo sviluppo che porta alla piena maturazione. Il frutto maturo ha una forma globosa o allungata, esiste però anche una forma appiattita comunemente nota come ‘platicarpa’, con nocciolo piccolo e appiattito alle estremità (Janick, 2011). Il peso del frutto può variare da meno di 50 gr, nelle specie selvatiche affini, fino a un massimo di 700 gr. L’epicarpo, sottile e più o meno aderente alla polpa, normalmente è pubescente, mentre quello glabro, tipico delle nettarine, è dovuto a una mutazione verificatasi in Cina e successivamente importata in Europa nel XIV secolo (Faust and Timon, 1995). La polpa è aromatica e succosa e in alcune varietà si distacca facilmente dal nocciolo (carattere ‘spicca’), è consumata come alimento fresco o disidratato, per la preparazione di succo o purea, e di frutta sciroppata. Alcune varietà di pesca sono impiegate per la preparazione di confetture. Il contenuto di macro e micro nutrienti per 100 gr di porzione edibile è riassunto nelle tabelle 1 e 2; è da tenere in considerazione che i valori riportati sono puramente indicativi, in quanto il contenuto dei nutrienti nel frutto è fortemente influenzato dal genotipo (cultivar), dall’ambiente, e dalle pratiche colturali.

Tabella 1 Principi nutritivi pesca, senza buccia (100 g)

Parte edibile	91 g
Acqua	90,7 g
Proteine	0,8 g
Grassi	0,1 g
Zuccheri	6,1 g
Saccarosio	3,9 g
Fruttosio	1,1 g
Glucosio	1,1 g
Fibra	1,6 g
Solubile	0,87 g
Insolubile	0,71 g
Energia	27 kcal

Tabella 2 Micronutrienti pesca (100 g)

Sodio	3 mg
Potassio	260 mg
Ferro	0,4 mg
Calcio	8 mg
Magnesio	9 mg
Fosforo	20 mg
Zinco	0,35 mg
Rame	40 µg
Tiamina	10 µg
Riboflavina	30 µg
Niacina	0,50 mg
Vitamina C	4 mg
Vitamina A	27 µg

Il frutto fresco presenta un contenuto calorico relativamente basso (30 Kcal/100 gr), è una buona fonte di fibra solubile, acidi organici, sali minerali, e vitamine tra cui la vit. A (27 µg/100 gr) e vit. C (4 mg/100 gr); da notare invece è il basso apporto di sodio (3 mg/100 gr). Le pesche contengono in media: 90% di acqua, 6% di zuccheri semplici (Saccarosio, Fruttosio, Glucosio), proteine e grassi in tracce, 1,6% di fibra (Istituto Nazionale Alimenti e Nutrizione, 2000). Inoltre, considerato l'apporto di vitamine, minerali, antociani e altri polifenoli ad attività antiossidante, sono stati intrapresi diversi studi volti a caratterizzare le diverse varietà di pesco per individuare quelle a più alto potenziale nutraceutico (Cantin *et al.*, 2009).

1.1.4. Importanza economica

La pesca è considerata nella maggior parte delle regioni temperate un frutto estivo delizioso e salutare. Presenta una *shelf life* breve, specialmente se paragonata ad altre specie produttive, in quanto è altamente deperibile e la specie è caratterizzata da una stagione produttiva breve; quindi sono necessarie diverse cultivar coltivate in diverse regioni per fornire frutto fresco da aprile a settembre (emisfero nord).

Le pesche, oltre che nel consumo come frutta fresca, trovano impiego anche come frutta da industria. Infatti la pesca è uno dei pochi esempi, almeno a livello nazionale, dell'esistenza di una peschicoltura specializzata destinata alla trasformazione industriale. È questo il caso delle pesche denominate percoche, destinate quasi esclusivamente alla trasformazione in

pesche sciroppate. Ulteriori prodotti, frutto di lavorazione industriale, sono le confetture, succhi e bevande analcoliche, bevande alcoliche, e canditi.

Esiste una notevole diversità di germoplasma coltivato di pesco riguardo le dimensioni arboree, habitus vegetativo, dimensione e colore dei fiori, fabbisogno in freddo, dimensione e forma dei frutti, consistenza ed acidità della polpa, aderenza del nocciolo. Infatti sono coltivate con successo diverse centinaia di cultivar in regioni climatiche e geografiche che spaziano dalla regione sud nel Canada alla Nuova Zelanda.

L'area di produzione mondiale di pesche e nettarine nel 2011 è stata complessivamente pari a 1,5 milioni di ettari, con una produzione globale di 21,5 milioni di tonnellate, e una resa produttiva media di 14 t/ha (FAOSTAT 2013). La Cina è il primo produttore al mondo rappresentando il 50% della produzione mondiale (dato medio nel quinquennio 2011-2007), con una media di produzione annuale pari a 10 milioni di tonnellate. Nel 2011 pesche e nettarine sono state prodotte in 81 paesi elencati in FAOSTAT (2013), e 73 di loro hanno una produzione annua che eccede 1.000 tonnellate. La produzione per macroaree continentali risulta così distribuita: Asia 13 milioni di tonnellate, UE 4,1, America 3,4, Africa 900 mila tonnellate, Oceania 105 mila. La tabella 3 riassume la produzione dei primi 20 stati produttori di pesche e nettarine nel 2011.

L'Italia, secondo produttore al mondo dopo la Cina, ha prodotto nel 2011 1,6 milioni di tonnellate su una superficie totale di 88.600 ha (FAOSTAT), con una resa produttiva ben al di sopra della media mondiale (18 t/ha). Circa la metà della produzione è concentrata in Emilia Romagna (28,8%) e in Campania (22,7%), mentre le altre regioni sono tutte minori al 10%: Piemonte 7,4%, Sicilia 7,2%, Veneto 5,9%, Puglia 5,1%, Basilicata e Calabria 4,0%, Lazio 3,4%. A livello nazionale la superficie di coltivazione della pesca prevale sulla nettarina con il 65% contro il 35% della seconda. Mentre nella regione di maggior produzione, l'Emilia Romagna, il dato è invertito: le nettarine superano le pesche 56% contro 44% (agri.istat.it).

In Italia la produzione di pesche e nettarine rappresenta il decimo prodotto agricolo per quantità prodotta, la quarta coltura frutticola per quantità (dopo uva, arance, mele), e la terza per valore di produzione (FAOSTAT 2011), con un valore totale di 590 milioni di euro nel 2011.

Tabella 3. Produzione mondiale di pesche e nettarine: top 20 anno 2011 (FAOSTAT)

Nazione	Produzione (tn)	Superficie (ha)	Resa (hg/ha)	Valore produzione (milioni \$)
Cina	11.528.801	767.346	150.242	7072
Italia	1.636.750	88.580	184.776	733
Spagna	1.335.600	81.500	163.877	1012
USA	1.171.450	57.093	205.182	577
Grecia	690.200	42.200	163.554	309
Turchia	545.902	26.894	202.982	427
Iran	498.346	47.503	104.908	246
Egitto	332.487	31.255	106.378	101
Cile	319.919	19.235	166.321	93
Francia	301.180	12.893	233.599	546
Argentina	284.970	25.873	110.141	161
India	243.074	36.409	66.762	62
Brasile	222.180	20.148	110.274	51
Corea del Sud	185.078	13.795	134.163	334
Algeria	175.000	19.000	92.105	47
Messico	167.285	36.213	46.194	87
Sud Africa	155.635	9.675	160.863	49
Giappone	139.800	9.980	140.080	469
Corea del Nord	139.463	20.698	67.379	75
Tunisia	123.000	15.811	77.793	43
Uzbekistan	101.000	9.800	103.061	55

1.1.5. Principali avversità

Nel corso degli ultimi anni il quadro delle malattie che interessano il pesco si è progressivamente modificato, soprattutto in seguito all'affermazione di nuove cultivar più rispondenti alle esigenze commerciali ma, in molti casi, anche maggiormente suscettibili alle avversità. Inoltre la globalizzazione ha portato allo scambio frequente di nuovi materiali di moltiplicazione da altri continenti, contribuendo alla diffusione di nuovi patogeni (Burdon *et al.*, 2006).

Tutto ciò deve essere inquadrato nell'ottica di lungo periodo dettata dal legislatore europeo per una riduzione sempre maggiore dell'uso di prodotti agrochimici in campo (Direttiva 2009/128/CE). Per quel ciò che concerne la difesa delle colture, frutticole incluse, tali obiettivi sono raggiungibili soltanto tramite la conoscenza approfondita degli agenti causali, della loro interazione con l'ospite, e non ultimo la conoscenza dei processi fisiologici alla base delle relative resistenze genetiche.

Sono conosciute diverse malattie ad eziologia fungina per il pesco che possono essere suddivise in due gruppi: malattie da pre-raccolta e da post-raccolta.

La bolla del pesco è causata dall'ascomicete *Taphrina deformans* (Berk.), è ampiamente diffusa in tutte le aree peschicole del mondo, e in Italia è presente nelle regioni del nord (Sharma *et al.*, 1987; Giosuè *et al.*, 2000). In tempi passati si sono avute perdite importanti, ma ora sono state ridotte dall'uso dei fungicidi. I sintomi della malattia cambiano significativamente secondo l'organo vegetale colpito (gemme, germogli, foglie, fiori, frutti) e si possono osservare su tutti gli organi in fase attiva di crescita. I primi sintomi, in primavera, appaiono sulle foglie giovani con zone che vanno dall'ingiallito al rosso scuro; progressivamente queste aree s'ispessiscono e raggrinziscono causando le tipiche bollosità nelle zone internodali. Con il passare del tempo queste deformazioni sono soggette a degenerazione e la foglia si distacca prematuramente dalla pianta, oppure rimane morta attaccata. Gli attacchi sui frutti non si manifestano tutti gli anni, ma sono strettamente correlati all'andamento climatico e in particolare alle piogge nel periodo post-fiorale (EPPO bulletin, 2004). I frutti delle nettarine sono in genere maggiormente suscettibili, probabilmente per l'assenza della tomentosità che costituisce una barriera naturale al primo contatto del patogeno. La maggior parte delle varietà di pesche e nettarine sono suscettibili alla malattia e soltanto poche varietà sono resistenti come ad

esempio ‘Indian Free’, ‘Muir’, e ‘Q-1-8’, fra le pesche e Kreibich per le nettarine (Broome and Ingels, 2012).

L’oidio è una delle micosi più diffuse nei pescheti di tutto il mondo. La malattia è causata da differenti specie fungine che comunemente infettano le rosacee (Yarwood, 1939). Sono state riportate come agente di oidio su pesco tre specie: *Podosphaera pannosa*, *Podosphaera leucotricha*, e *Podosphaera clandestina*; la prima è la specie principale e crea i maggiori danni alla produzione Europea. In Italia questa malattia interessa prevalentemente i pescheti delle regioni centro-meridionali. Gli attacchi, in genere sui tessuti verdi, si manifestano maggiormente in primavera inoltrata o verso la fine dell’estate. Sulle foglie la malattia si evidenzia inizialmente per la difficoltà che denotano le due parti della lamina fogliare a staccarsi e per la posizione ondulata che assume la foglia colpita. Poi sulla foglia si possono osservare delle zone decolorate di forma irregolare da cui compare la caratteristica muffa bianca. I frutti colpiti tendono a cadere precocemente oppure rimangono deformati e deprezzati sotto il profilo commerciale. La maggior parte delle varietà di pesco sono suscettibili alla malattia e quindi sono richieste numerose applicazioni con fungicidi dall’epoca della prefioritura alla post-raccolta. Sono stati compiuti diversi studi per esplorare in pesco, e nelle specie selvatiche affini, la resistenza varietale all’oidio. Varietà resistenti sono ‘Laskava’ e ‘Pamirskij 5’, mentre le specie selvatiche risultate resistenti sono *P. davidiana*, *P. kansuensis*, *P. mira* (Foulongne, *et al.*, 2003; Pascal, *et al.*, 2010).

L’agente del corineo è *Wilsonomyces carpophilus* è diffuso in tutto il mondo, ma crea i problemi maggiori nell’ovest degli Stati Uniti. Da segnalare, anche in Italia, una recrudescenza della malattia collegata alla riduzione nei trattamenti fungicidi nei mesi primaverili. I sintomi compaiono inizialmente sulle foglie come piccole tacche rosso-violacee circondate da un alone clorotico. Con il progredire dell’infezione le aree colpite si allargano, fino a raggiungere la dimensione di alcuni millimetri, pur mantenendo una precisa separazione fra la zona infetta e la sana. Le parti di lembo fogliare ammalate tendono a distaccarsi lasciando la foglia forata. Sui rami si osservano lesioni di varie dimensioni, che possono evolversi fino a raggiungere l’aspetto di cancri aperti dai quali fuoriesce un essudato gommoso. La parte distale del ramo colpito finisce talvolta per disseccare totalmente. Anche i frutti possono essere interessati dall’attacco risultando poi non commercializzabili.

Il ‘marciume bruno’ (*Monilia* spp.) è tra le più importanti affezioni fungine che colpiscono il pesco e le drupacee; si manifesta in campo, ma soprattutto nel post-raccolta durante la conservazione, la distribuzione, e la post-vendita. L’agente responsabile è la *Monilia*, genere a cui appartengono tre specie: *M. fructicola*, *M. fructigena*, *M. laxa* (Byrde and Willets, 1977). La specie *M. laxa* è diffusa sul territorio europeo; in Italia è maggiormente presente nelle regioni del nord. Solitamente i danni che la *M. laxa* può provocare in campo rimangono a livelli trascurabili, mentre nelle fasi di post-raccolta e commercializzazione le perdite provocate da tale patogeno possono arrivare a superare il 15% della produzione se le condizioni climatiche sono particolarmente favorevoli. *Monilia fructigena* infetta prevalentemente le pomacee e talvolta le drupacee. *M. fructicola* è il principale agente di marciume bruno nei paesi extra-europei, dove produce gravi perdite su pesche e nettarine in America, Australia, Nuova Zelanda. In Europa è un patogeno più aggressivo e specifico per il pesco inserito nella lista A2 dell’EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization).

I primi sintomi compaiono alla fioritura come necrosi delle antere e imbrunimento dell’ovario e del peduncolo florale. L’infezione si può anche estendere nel rametto con la formazione di cancri che determinano il disseccamento dei giovani germogli e l’avvizzimento delle foglie. I fiori così colpiti disseccano rapidamente restando attaccati alla pianta; e, in condizioni climatiche di umidità relativa elevata, sono ricoperti da fruttificazioni fungine di colore grigio. Sui frutti appaiono aree imbrunite sottoposte a progressivo disfacimento che, insieme alla disidratazione, porta alla caratteristica mummificazione del frutto sulla pianta. Gli agenti della monilia sono anche definiti patogeni “da ferita”, in quanto le eventuali ferite generate durante la raccolta, il trasporto e la conservazione, facilitano notevolmente la diffusione del patogeno. È infatti durante la conservazione che la malattia manifesta tutta la sua gravità; in quanto, sia a causa delle infezioni latenti sia a causa del contatto tra i frutti, l’infezione si propaga rapidamente. Nel germoplasma di pesco non sono descritte fonti di resistenza, ma soltanto tolleranti come la percola ‘Bolinha’, ed alcune varietà di origine messicana e orientale (Gradziel and Wang, 1993).

La vaiolatura delle drupacee, o *sharka*, è considerata una delle malattie più devastanti per il pesco e tutte le drupacee in termini di impatto agronomico ed economico (Németh, 1994). I costi stimati associati alla gestione della *sharka* negli ultimi 30 anni

hanno superato i 10 miliardi di euro in tutto il mondo (Cambra, *et al.* 2006). L'agente causale è il *Plum pox virus* (PPV), un membro del genere *Potyvirus*, famiglia *Potyviridae* (López-Moya, *et al.* 2000).

La prima epidemia di PPV è stata descritta in Bulgaria (Atanasoff, 1932), da allora il virus si è diffuso in tutto il mondo ad eccezione dell'Australia, Nuova Zelanda, e California (Anonimo 2). Nel passato lo scambio, anche indiscriminato, di materiale di propagazione asintomatico su scala globale ha favorito la diffusione del virus, che è trasmissibile per innesto. Stabilito in campo, gli afidi hanno trasmesso la malattia a livello locale.

Per decenni la semplice ispezione visuale, in assenza delle più moderne tecniche molecolari, è stata insufficiente per controllarne la diffusione globale. Rende ancora più complicata la diagnosi visuale il fatto che il virus non uccide le piante e talvolta è asintomatico, anche se presente nei tessuti dell'ospite. Inoltre, i sintomi in pesco variano significativamente secondo la varietà, dell'individuo, delle condizioni climatiche (temperatura), e del ceppo virale (Layne and Bassi, 2008). I sintomi a carico della chioma sono visibili soprattutto sulle foglie giovani all'inizio della primavera, con schiarimenti più o meno ampi ed una increspatura del lembo. Sui petali, i sintomi si manifestano preferenzialmente nelle varietà a maturazione tardiva con variegatura di colore rosa-violaceo più scuro del colore di fondo. Sui frutti la manifestazione tipica della virosi è rappresentata da decolorazioni superficiali anulari di colore verde giallo, deformazioni, zone necrotiche superficiali e nella polpa. I danni alla produzione si manifestano nella cascola anticipata e deprezzamento dei frutti (Layne and Bassi, 2008).

L'eradicazione della malattia dalla zona infetta è resa ancor più difficile dalla capacità del virus di infettare tutte le colture dei *Prunus*, comprese le specie selvatiche appartenenti al genere, ed altre specie non-*Prunus*; PPV è stato ritrovato anche nelle specie spontanee infestanti dei frutteti. Tale ampio spettro d'ospite fornisce una fonte d'inoculo così ampia da essere di difficile eradicazione. Il quadro epidemiologico è reso ancor più complesso dalla capacità di trasmissione del virus da diverse specie di afidi e insetti.

Data la pericolosità del patogeno, PPV è iscritto fra i patogeni da quarantena nelle liste EPPO ed è stata sviluppata una procedura comune per la rilevazione e caratterizzazione di PPV (EPPO, 2004b). Fra le tecniche descritte sono incluse anche le molecolari per amplificazione degli acidi nucleici, queste sono le uniche che permettono di rilevare, con elevata sensibilità, la presenza del patogeno anche in tessuti asintomatici.

In seguito a screening del germoplasma peschicolo per la resistenza al virus, nessuna varietà commerciale è risultata resistente. Unica fonte di resistenza è stata rinvenuta nel relativo selvatico *Prunus davidiana*, per questo sono in corso sia programmi di introgressione del carattere per ibridazione interspecifica, sia programmi di *mapping* genetico per caratterizzarne i determinanti di resistenza (Foulogne *et al.*, 2003; Decroocq *et al.*, 2005).

Fra le malattie ad eziologia batterica la più grave che colpisce il pesco è la maculatura batterica causata da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Esistono anche altre batteriosi di minor incidenza in Italia come la scabbia batterica dei frutti, causata da *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, ed il tumore batterico causato *Agrobacterium tumefaciens*.

1.2. Sistema immunitario vegetale

Le piante si difendono dai patogeni impiegando meccanismi di difesa multipli che possono essere descritti come un sistema a diversi strati. Tale sistema è formato da una combinazione di barriere di difesa precostituite e risposte inducibili. La sinergia tra questi sistemi rende le piante immuni alla grande maggioranza dei microrganismi con cui vengono in contatto (*Nonhost resistance*).

1.2.1. Barriere precostituite

In seguito a contatto con una pianta potenzialmente ospite i microrganismi devono fronteggiare diverse barriere fisiche, come ad esempio la cuticola sulle foglie, che costituiscono un ostacolo naturale all'entrata nei tessuti vegetali (Hückelhoven, 2007). I microrganismi patogeni evitano questi primi ostacoli o con un approccio *stealth* (es. i batteri), attraverso i siti di entrata naturali (stomi, idatodi, o ferite), oppure con un approccio di forza bruta (es. funghi e oomiceti) bucando l'epidermide. Una volta penetrati nei tessuti vegetali devono sopravvivere nell'apoplasto, fronteggiando condizioni ambientali chimiche e fisiche sfavorevoli, come pH basso (Felle, 1998), enzimi degradativi di difesa e composti antimicrobici (Hückelhoven, 2007). Inoltre, le cellule dell'ospite sono circondate da una spessa parete vegetale che non può essere penetrata dalla maggior parte dei microbi. Di conseguenza i microrganismi, eccetto i virus e i batteri simbiotici, sono confinati nell'apoplasto e, per sopravvivere, hanno la necessità di guadagnare accesso al

citoplasma della cellula per ottenere i nutrienti necessari al completamento del loro ciclo biologico.

1.2.2. *PAMP-triggered immunity* (PTI)

In aggiunta alle barriere precostituite, le piante possiedono sistemi di riconoscimento che innescano una batteria di risposte di difesa immediatamente dopo il primo contatto con molecole *non-self*. Tali risposte sono scatenate dai M/PAMPs (*microbe/pathogen associated molecular patterns*). Strutture molecolari evolutivamente conservate uniche dei microbi, che giocano un ruolo essenziale nello stile di vita o il metabolismo del microrganismo patogeno (tradizionalmente definiti come “elicitori generali”). La variabilità di tali strutture molecolari è per tanto limitata, determinando una scarsa possibilità di evadere il riconoscimento da parte della pianta (Bent and Mackey, 2007). Durante le prime fasi d’infezione, i PRRs (*pattern recognition receptors*) riconoscono i MAMP e attivano un insieme di risposte fisiologiche che portano a montare la risposta di difesa contro il patogeno denominata *PAMP triggered immunity* (PTI). Esempi ben caratterizzati di riconoscimento PRR/MAMP sono i recettori integrali di membrana LRR-RLK (*leucine-rich repeats receptor-like kinase*) FLS2 per la flagellina batterica (Gomez-Gomez and Boller, 2000), EFR per EF-Tu (Kunze *et al.*, 2004), CERK1 per la chitina fungina (Miya *et al.*, 2007), LeEix per la xilanasi fungina (Ron and Avni, 2004). L’attivazione di ciascuno di questi recettori stimola diverse reazioni fisiologiche alla membrana cellulare e vie di segnalazione intracellulare che, in ordine cronologico, sono di seguito descritte.

In tempi precoci [1-5 minuti] è osservabile depolarizzazione della membrana plasmatica e alcalinizzazione extracellulare, entrambe dovute a flussi ionici; in particolare influsso di H^+ e Ca^{2+} ed efflusso di K^+ e NO_3^- (Nürnberger *et al.*, 2004; Wendehenne *et al.*, 2002). L’innalzamento dei livelli di calcio intracellulare è funzionale perché questo ione agisce sia come secondo messaggero, per stimolare l’ulteriore apertura dei canali ionici di membrana, che per attivare le chinasi calcio dipendente (Blume *et al.*, 2000; Ludwig *et al.*, 2005). Una seconda risposta precoce è lo scoppio ossidativo che porta alla generazione di specie chimiche reattive dell’ossigeno (ROS), la cui funzione è agire direttamente come anti microbico, rinforzare la parete cellulare, e come messaggero secondario per indurre successive risposte di difesa (Apel and Hirt, 2004). Un’ulteriore

risposta precoce è rappresentata dagli innumerevoli cambiamenti nello stato di fosforilazione delle proteine e in particolare, fra questi, l'attivazione transiente della cascata fosforilativa delle MAP chinasi (MAPK), una via di segnalazione intracellulare che culmina nell'attivazione di fattori di trascrizione tra cui gli attivatori trascrizionali appartenenti alla famiglia WRKY (Asai *et al.*, 2002).

In tempi di reazione rapidi [5-30 minuti] è rilevabile incremento nella produzione dell'etilene. Tipicamente, è possibile rilevare un picco di attività della 1-aminociclopropano-1-carbossilato (ACC) sintasi entro 10 minuti dall'induzione (Spanu *et al.*, 1994). Già a partire da 30 minuti dal contatto inizia una massiva riprogrammazione del trascrittoma. Il trattamento di *Arabidopsis* con flg22 (l'epitopo minimo attivo della flagellina), o elf26 (epitopo attivo di EF-Tu), causa l'induzione di circa 1000 geni complessivamente e la sottoregolazione di circa 200 geni entro i primi 30 minuti (Zyfel *et al.*, 2004 e 2006). È interessante notare come i profili di regolazione genica indotti dai due elicitori siano sostanzialmente identici, indicando che le vie di segnalazione di FLS2 ed EFR convergono in fasi precoci (Zyfel *et al.*, 2006). Inoltre, altri elicitori come la chitina fungina e l'acido oligo-galatturonico sembrano indurre set di geni molto simili (Ferrari *et al.*, 2007; Libault *et al.*, 2007; Ramonell *et al.*, 2002); tali evidenze suggeriscono che l'induzione genica di difesa è una risposta stereotipata, differenziata solamente nei complessi recettoriali di percezione, ma poi convergenti nelle fasi precoci dopo l'attivazione. Sono indotti a loro volta i trascritti di FLS2 e EFR, indicando un meccanismo di feed-back positivo per aumentare la sensibilità del sistema di percezione basato sui PRRs (Zyfel *et al.*, 2004). Infine un meccanismo di risposta rapida indotto dalla percezione dei MAMPs è la chiusura degli stomi per impedire l'invasione (Sawinski *et al.*, 2013). MAMPs chimicamente diversi come flg22, elf18 (l'epitopo minimo attivo derivato da EF-Tu), chitina, lipopolisaccaride batterico, sono tutti in grado di attivare la chiusura degli stomi in tempi rapidi dopo l'attivazione dei rispettivi recettori (Sawinski *et al.*, 2013).

Le risposte tardive [ore-giorni] comprendono l'attivazione del metabolismo secondario, che provvede alla biosintesi di peptidi ad attività antimicrobica e di fitoalessine (Padovan *et al.*, 2010; Ahuja *et al.*, 2012); la sintesi di proteine-PR (van Loon *et al.*, 2006); la deposizione di callosio, per impedire la diffusione del patogeno; l'arresto della crescita, per indirizzare il metabolismo dalla crescita alla difesa (Gomez-Gomez and Boller, 2000; Kunze *et al.*, 2004; Miya *et al.*, 2007).

Se il microrganismo non è in grado di superare tutti questi meccanismi inducibili di difesa allora la pianta ha montato la risposta efficace che è denominata PTI (tradizionalmente definita come resistenza parziale, quantitativa, poligenica, orizzontale, razza non specifica) e la proliferazione del patogeno nell'apoplasto è arrestata (figura 1a). In questo stato non sono visibili, o sono di ridotta entità, i sintomi macroscopici sui tessuti.

Durante il tentativo d'infezione, descritto in precedenza, molti patogeni producono enzimi litici per far breccia nelle barriere precostituite dei tessuti vegetali. I prodotti di degradazione, generati da queste attività enzimatiche, sono percepiti dalla pianta come elicitori endogeni o DAMPs (*damage associated molecular patterns*). I DAMPs tipicamente si formano nell'apoplasto, sono percepiti dalla pianta come segnale di pericolo e attivano, o potenziano, la risposta immunitaria di difesa (Matzinger, 2002). Anche i DAMPs, come i MAMPs sono percepiti da recettori integrali di membrana appartenenti alla famiglia delle *Receptor-like kinase (RLK)*. Un esempio di questi elicitori endogeni sono gli oligogatturonidi (D'Ovidio *et al.*, 2004), i monomeri di cutina (Schweizer *et al.*, 1996), i peptidi come la sistemina (Boller, 2005) e PEP1 (Huffaker and Ryan, 2007).

1.2.3. *Effector triggered immunity (ETI)*

Alcune razze specializzate di patogeni esprimono una batteria eterogenea di proteine denominate "effettori", che sono secreti o nell'apoplasto o nella cellula bersaglio, con la specifica funzione di manipolare e inibire l'attività sia delle barriere precostituite che la risposta di difesa PTI. Gli effettori promuovono l'entrata e la sopravvivenza del patogeno nell'apoplasto, prevengono il riconoscimento dei PAMPs con i relativi recettori, ostacolano l'attivazione dei PRRs, interferiscono con le vie di segnalazione a valle, o alterare l'induzione genica di difesa (Grant *et al.*, 2006). Se il sistema di effettori impiegati dal patogeno ha successo, la pianta è suscettibile (figura 1b) ed il processo infettivo può continuare, permettendo la diffusione nei tessuti dell'ospite; in questo caso l'interazione tra ospite e patogeno è definita "compatibile". Per questa funzione di promuovere la virulenza, gli effettori sono anche denominati fattori di virulenza.

Per traslocare gli effettori intracellulari nel citoplasma della cellula vegetale i microrganismi hanno evoluto sistemi differenti. I batteri gram-negativi impiegano il sistema di secrezione di tipo 3 (T3SS): un sistema d'iniezione multiproteico che, oltrepassando parete e membrana vegetale, mette in comunicazione diretta l'interno della

cellula batterica e il citoplasma della cellula ospite (Büttner and He, 2009). Al contrario, alcuni funghi e oomiceti impiegano l'austorio, una struttura poli-membranosa specializzata che permette lo scambio di macromolecole senza che ci sia connessione diretta tra i due citoplasmi (Catanzariti *et al.*, 2007).

Un esempio ben caratterizzato di effettori che interferiscono con la risposta di difesa alla flagellina è AvrPto, AvrPtoB, Hop AII. AvrPto e AvrPtoB sono due proteine senza omologia di sequenza secrete da *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 che, iniettate nel citoplasma vegetale, inibiscono le vie di segnalazione a monte delle MAPK chinasi chinasi (MAPKKK), in particolare è stata rilevata interazione fisica diretta tra questi due effettori e il recettore FLS2 (He *et al.*, 2006). Molto interessante è l'evidenza che ha portato a osservare come questi effettori co-immunoprecipitano anche con altri recettori della risposta PTI come EFR, CERK1, suggerendo che tali proteine svolgono un ruolo d'inibizione multipla su diversi target cellulari (Shan *et al.*, 2008). Hop AII è un effettore la cui attività è stata specificamente associata all'inibizione dell'accumulo di callosio in seguito a trattamento con flg22; questa proteina funziona come fosfo-treonin liasi che, de-idrossilando il residuo di treonina sulle MAPKs, ne blocca irreversibilmente la trasduzione del segnale (Shan *et al.*, 2008).

In seguito alla costante competizione tra ospite e patogeno, alcune popolazioni della stessa specie vegetale (cultivar) hanno evoluto un set di proteine in grado di percepire direttamente, o più spesso indirettamente, l'attività degli effettori patogeni e innescare un'ulteriore risposta, rapida e molto intensa, denominata *Effector Triggered Immunity* o ETI (tradizionalmente denominata: resistenza dei geni R, qualitativa, razza specifica, monogenica o oligogenica, verticale). Questa permette di superare la soppressione della PTI, operata dai patogeni, rinforzando la risposta di difesa (figura 1c). In questo caso, i fattori di virulenza riconosciuti da questo secondo sistema di sorveglianza sono denominati fattori di *avirulenza*, e i geni che li codificano “geni *avr*”; l'interazione tra ospite e patogeno è definita “incompatibile” e la pianta è resistente. Tipicamente alla risposta ETI sono associati una serie di meccanismi molto simili alla PTI ma caratterizzati da una risposta più robusta e rapida; quali un secondo picco più intenso e prolungato di scoppio ossidativo, la massiccia attivazione di flussi ionici cellulari, l'accumulo di acido salicilico, la produzione di fitoalessine, proteine PR, e infine la risposta ipersensibile (HR). Quest'ultima è un tipo di morte cellulare programmata, che porta alla manifestazione

visibile delle tipiche lesioni o necrosi, la cui funzione è isolare e uccidere in tempi molto rapidi il patogeno. Inoltre, una volta innescata a livello locale la difesa ETI, sono generati una serie di segnali sistemici in grado di determinare e instaurare la resistenza sistemica acquisita (SAR). Uno stato fisiologico che determina il rinforzo dei livelli di difesa in tessuti distanti rispetto al sito locale d'infezione; questa resistenza è ad ampio spettro e può durare a lungo nel tempo (Durrant and Dong, 2004), similmente alla memoria immunitaria negli animali. La ETI, per la natura dei meccanismi da essa innescati, è molto efficace contro i patogeni a stile di vita biotrofico ed emi-biotrofico, mentre risulta del tutto inadeguata per fronteggiare i necrotrofi (Mengiste, 2012).

Il sistema di percezione per la risposta ETI è basato principalmente sui geni di resistenza (*R-gene*) intracellulari, i quali comprendono una vasta famiglia genica che soltanto in *Arabidopsis thaliana* conta circa 150 membri (424 in *pesco*). Tale famiglia comprende geni con domini altamente conservati quali i nucleotide binding sites (NBS)-LRRs. I domini NBS condividono zone di similarità di sequenza con le regioni NB dei regolatori di apoptosi come CED4 di *Caenorhabditis elegans* e Apaf-1 dell'uomo, mentre, i domini LRR sono coinvolti nelle interazioni proteina-proteina (Dangl and Jones, 2001). A sua volta la famiglia genica NBS-LRR (o NB-ARC-LRR) dei geni di resistenza può essere suddivisa ulteriormente in *coiled-coil* (CC)-NBS-LRR e in *Toll-interleukin-1 receptor* (TIR)-NBS-LRR (figura 1c). L'estremità N-terminale influenza il comportamento della proteina nell'interazione con i componenti della segnalazione a valle, attivata in seguito al riconoscimento dell'effettore (Feys and Parker, 2000). Nella famiglia degli NBS-LRR, i membri meglio caratterizzati sono RPS2, RPM1, e RPS5 di *Arabidopsis* che determinano la resistenza a *P. syringae* che esprime, rispettivamente, gli effettori AvrRpt2, AvrRpm1/AvrB, e AvrPphB (Axtell and Staskawicz, 2003; Kim *et al.*, 2005; Qi *et al.*, 2012).

Come descritto in precedenza, l'evoluzione di effettori secreti dai patogeni vegetali spinge la pianta a mutare le proteine in grado di riconoscere l'attività dei primi. Questa associazione a coppie, che descrive il riconoscimento degli effettori all'interno della cellula vegetale, è stato caratterizzato geneticamente da Flor nel 1942 ed è conosciuto come ipotesi "gene-per-gene". Tale teoria postulava però l'interazione tra determinante di virulenza e determinante di resistenza (avr/R) con il modello chiave-serratura tipico dell'interazione fisica diretta. Dopo studi successivi, la teoria "gene-per-gene" è stata

superata dall'ipotesi guardia (*guard hypothesis*) e integrata dal modello esca (*decoy model*), poiché è stato dimostrato che nella maggioranza dei casi il riconoscimento non avviene per interazione molecolare diretta effettore/proteina R, ma piuttosto le proteine di resistenza percepiscono la modifica della struttura terziaria indotta dall'effettore su specifiche proteine endogene, cruciali per la risposta di difesa (guardia). Inoltre, nel citoplasma della cellula vegetale sono presenti proteine esca (*decoy*) che mimano la struttura dei domini delle proteine direttamente coinvolte nella risposta di resistenza per attirare l'effettore la cui attività è successivamente rilevata dalla proteina di resistenza associata all'esca (van der Hoorn and Kamoun, 2008).

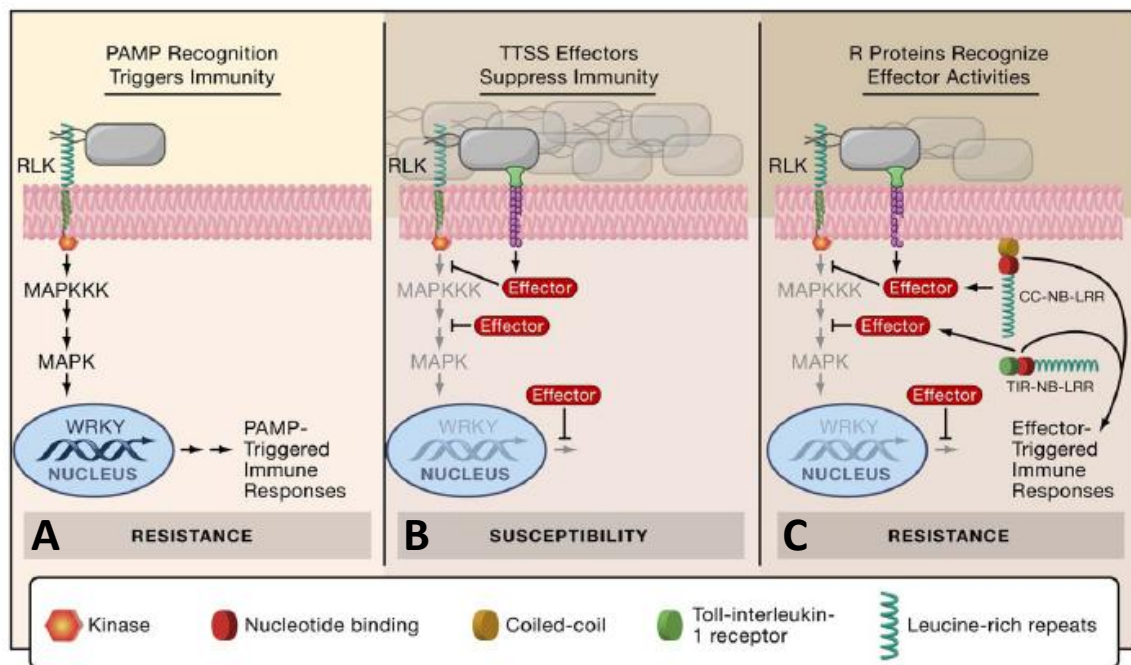


Figura 1. a. Risposta PTI. b. Suscettibilità indotta dagli effettori. c. Risposta ETI.
 Tratta da Chisholm *et al.*, 2006

1.2.4. Immunità vegetale: una visione integrata

Molti effettori batterici bersagliano specificamente proteine cruciali della risposta PTI rafforzando l'ipotesi dell'efficacia della PTI nel contrastare il processo infettivo (Speth *et al.*, 2007; Zhou and Chai, 2008). Evidenze genetiche hanno dimostrato l'importanza diretta della percezione dei MAMP nell'interazione pianta-patogeno. Mutanti compromessi nella percezione della flagellina, come *fls2* di *Arabidopsis*, o *N. benthamiana* silenziata per l'espressione di FLS2, sono maggiormente suscettibili a *Pst* DC3000 (Hann and Rathien, 2007; Zypfel *et al.*, 2004). Parimenti, mutanti *cerk1* sono maggiormente suscettibili ad *Alternaria brassicola* e a *Erysiphe cichoracearum* (Wan *et al.*, 2008), evidenziando l'importanza di CERK1 nella percezione della chitina per la resistenza alle malattie fungine. Una caratteristica specifica del sistema di percezione dei MAMPs è l'alta ridondanza, ovvero alcune classi di patogeni sono percepite mediante diversi PRRs. Ad esempio, *Arabidopsis* può riconoscere i batteri tramite i recettori: della flagellina, di EF-Tu, del lipopolisaccaride, del peptidoglicano, e presumibilmente tramite altri PRRs; quindi la perdita di uno solo di questi recettori non riduce la fitness naturale della pianta (Zypfel *et al.*, 2004).

In una pubblicazione che è possibile definire “pietra miliare” dell'immunologia vegetale Jonathan Jones e Geffery Dangl hanno proposto il modello “zigzag” per spiegare la risposta di resistenza (Jones and Dangl, 2006). Gli autori fanno una distinzione netta tra la difesa basale innescata dai MAMPs (PTI) e la difesa gene-per-gene innescata dagli effettori (ETI). Tale modello (figura 2) illustra la coevoluzione nell'interazione pianta-patogeno, secondo cui la pianta, in seguito alla percezione dei PAMPs (strutture molecolari a lenta evoluzione) operata dai recettori PRRs, attiva la risposta PTI che risulta efficace per contrastare il patogeno. In seguito a tale pressione selettiva, i patogeni evolvono continuamente un sistema di effettori usati per disinnescare la PTI e promuovere la virulenza (effector triggered susceptibility - ETS). Sottoposti a tale pressione selettiva, alcuni genotipi della specie attaccata evolvono nel tempo un sistema di riconoscimento, prevalentemente intracellulare, basato sui geni-R in grado di percepire l'attività di virulenza espletata dagli effettori e così innescare la risposta ETI. È da sottolineare che i processi evolutivi in questione sono riconducibili a variabilità meiotica della linea germinale e non a variabilità somatica, come avviene nel sistema immunitario animale.

In questa fase del confronto il patogeno, per sfuggire alla sorveglianza dei geni R, può tentare due strategie differenti: mutare la proteina effettore, pur mantenendo l'attività patogenica della stessa; oppure eliminare il gene per delezione dal genoma, ed in tal modo ritornare allo stadio precedente dell'interazione compatibile (ETS). Ognuna di queste due strategie è attuabile se il costo della fitness generale per il patogeno non è di ostacolo alla sua sopravvivenza.

Successivamente, come in una competizione reciproca, l'ospite deve evolvere nuove specificità nel sistema di sorveglianza per rilevare nuovamente il patogeno e poter re-innescare la risposta ETI (figura 2). Questo modello descrive bene lo stato di interazione-competizione tra ospite e patogeno in cui ognuno dei due contendenti deve evolvere nuove specificità di sorveglianza/virulenza per prevalere sull'altro.

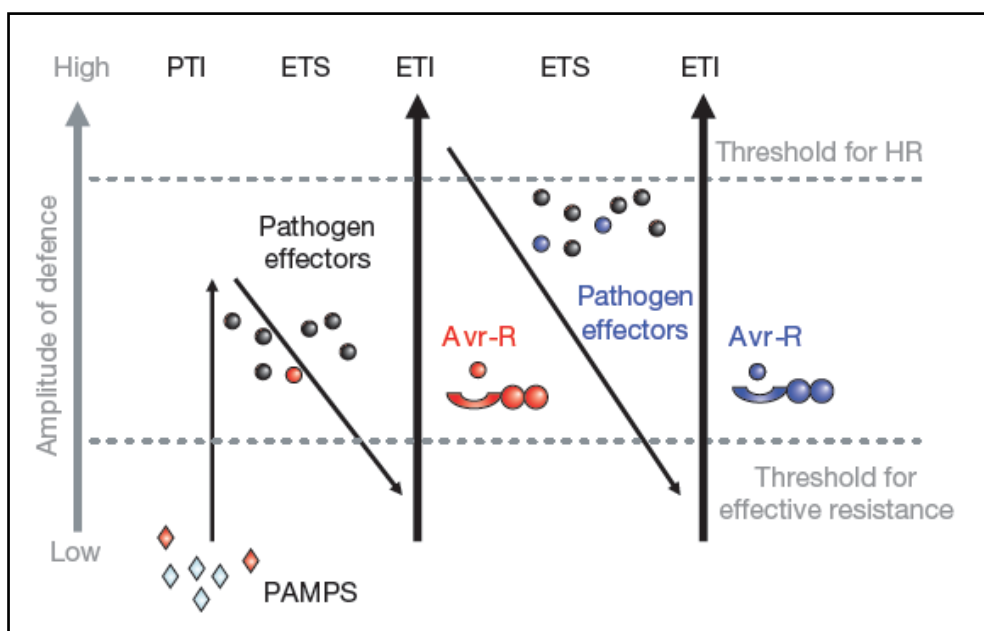


Figura 2. Modello Zig-zag che illustra al co-evoluzione tra ospite e patogeno. Tratto da Jones and Dangl, 2006.

Tuttavia, il modello *zigzag* presenta degli evidenti limiti concettuali. Postula due diverse forme d'immunità vegetale (PTI/ETI), mentre la maggior parte delle evidenze indicano una forma soltanto di risposta immunitaria. Inoltre, il modello non include un aspetto importante dell'immunità e cioè la percezione dei cosiddetti elicitore endogeni (DAMP). Così altri autori (Boller and Felix, 2009) hanno proposto, in una visione del tutto condivisibile, di considerare il sistema immunitario secondo un principio onnicomprensivo: la percezione dei segnali di pericolo. Ciò che è categorizzabile come MAMPs, DAMPs, o effettori, potrebbero apparire alla pianta come un unico segnale che indica una situazione di pericolo (figura 3). Poiché questa fase iniziale della risposta immunitaria non sembra discriminare tra differenti tipi di minacce, la modulazione o l'aggiustamento fine della risposta potrebbe avvenire successivamente in seguito alla percezione di segnali più specifici durante l'interazione. Infatti, i dati di espressione genica indicano che esiste una considerevole sovrapposizione tra le risposte di difesa indotte dai MAMPs, DAMPs, ed elicitore (Navarro *et al.*, 2004; Tao *et al.*, 2003; Thilmony *et al.*, 2006; Wise *et al.*, 2007). Inoltre, osservando la risposta indotta non sembra che le piante discriminino tra i segnali di pericolo originati da batteri, funghi, o oomiceti. Piuttosto, la percezione di tutti questi segnali sembra innescare lo stesso programma difensivo, anche se con differenze cinetiche e quantitative nell'induzione: la risposta scatenata dagli effettori è spesso più intensa e prolungata rispetto a quella indotta dai MAMPs e DAMPs (Tao *et al.*, 2003; Wise *et al.*, 2007). Infine la risposta indotta dagli effettori tipicamente termina nella HR, mentre normalmente MAMPs e DAMPs non causano morte cellulare programmata; anche se esistono eccezioni a tale schematizzazione, poiché alcuni MAMPs inducono HR (Ron and Avni, 2004; Takemoto *et al.*, 2005).

In sintesi, secondo lo scenario proposto da Boller e Felix (2009), il sistema immunitario vegetale si basa su tre pilastri che sorreggono il tetto comune rappresentato dal riconoscimento di strutture molecolari associate al pericolo.

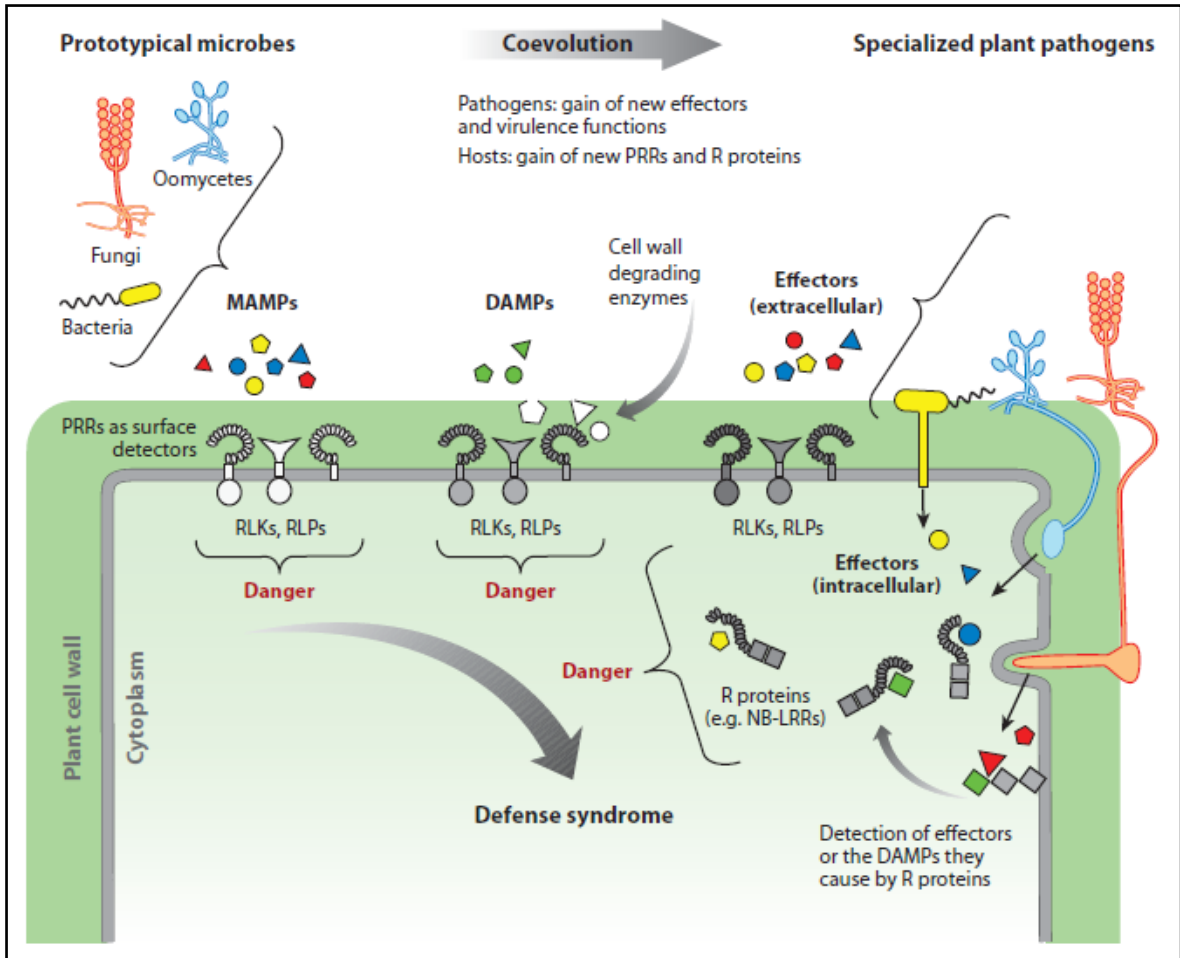


Figura 3. Modello di percezione del pericolo nell'immunità vegetale.
Tratta da Boller and Felix, 2009

1.3. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

1.3.1. Tassonomia e biotecnologia

Le specie *Xanthomonas arboricola* includono sette differenti patovar, sono tutte patogeni vegetali ed includono: *X. arboricola* pv. *pruni* (Xap) per le drupacee (Palleroni *et al.*, 1993; Vauterin *et al.*, 1995), *X. arboricola* pv. *poinsetticola* per la “stella di natale”, *X. arboricola* pv. *fragariae* per la fragola, *X. arboricola* pv. *celebensis* per la banana, *X. arboricola* pv. *populi* per il pioppo, *X. arboricola* pv. *corylina* per il nocciolo, *X. arboricola* pv. *juglandis* per il noce. Le patovar: *pruni*, *corylina*, *juglandis*, sono importanti agenti di batteriosi in frutticoltura (Scortichini and Rossi, 2003; Young *et al.*, 2008).

L'agente causale della maculatura batterica del pesco, e delle drupacee, è *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, un batterio gram-negativo appartenente alla classe dei Gammaproteobacteria, ordine Xanthomonadales, famiglia Xanthomonadaceae, è dotato di flagello, è strettamente aerobio, con intervallo ottimale di crescita 24-29° C.

È stato descritto per la prima volta su susino cino-giapponese nei frutteti del Michigan da Smith (1903) e da lui denominato *Xanthomonas pruni*. Il batterio fu riclassificato in seguito come *X. campestris* pv. *pruni* da Dye, e infine è stato rinominato prendendo la classificazione attuale dopo uno studio di ibridizzazione DNA-DNA (Vauterin *et al.* 1995). Come alcune patovar di *Xanthomonas campestris*, e altre Xanthomonadi, alcuni ceppi di patovar *pruni* producono gomma xantana, un polisaccaride impiegato come additivo dall'industria alimentare e cosmetica usato per le proprietà gelificanti (E415) nei surgelati, dentifricio, creme cosmetiche, carta, vernice, olii (Rosalam and England, 2006). Diversi ceppi di Xap sono in corso di valutazione per la resa produttiva di gomma xantana (Borges, 2009) e potrebbero essere impiegate con successo dall'industria (Antunes, 2003).

1.3.2. Diffusione geografica

Xap è stato descritto la prima volta nell'America Settentrionale su susino da Smith (1903), successivamente è stato segnalato su pesco ed altre drupacee (Rolfs, 1915; Dunegan, 1932). Attualmente, la presenza del patogeno è stata riscontrata in tutti i continenti. Non è chiaro se si sia sparso successivamente al primo rinvenimento negli States, attraverso materiale di propagazione infetto, oppure naturalmente il batterio abbia una distribuzione geografica così ampia (Anonimo). In Europa *X. Arboricola* pv. *pruni* è stato descritto per

la prima volta in Nord Italia da Petri (1934). In tempi recenti (1995) è stato rinvenuto anche nei pescheti del sud della Francia (Bernadette *et al.*, 1997), dove, tra il 1998 e il 2001, il numero dei pescheti affetti dalla malattia è passato da 5 a 550. Negli altri stati d'Europa il patogeno è stato identificato anche in Austria, Cipro, Libano, Moldavia, Olanda, Svizzera, Ucraina, Bulgaria, Romania, Slovacchia, Slovenia, Russia (Anonimo).

1.3.3. Spettro d'ospite, sintomi su pesco, danni

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* è in grado di infettare il pesco, l'albicocco, il nettarino, il mandorlo, gli ibridi ottenuti da queste specie, i relativi selvatici di pesco *P. davidiana*, *P. mume*, e perfino le specie ornamentali appartenenti al genere come *P. laurocerasus* e *P. japonica* (Young, 1977; Marchi, 2011). Sebbene il patogeno sia ad ampio spettro d'ospite, Xap è caratterizzato da una diversità genetica molto bassa se confrontato con le altre patovar della specie (Hajri *et al.*, 2012). Probabilmente tale uniformità genetica è dovuta sia all'estesa coltivazione di poche cultivar di pesco e susino, sia alla bassa diversità genetica dell'ospite (Boudon *et al.*, 2005; Hajri *et al.*, 2012).

Xap è in grado di attaccare foglie, frutti, e tessuti legnosi (figura 4a, b, c). Tipicamente sulla foglia sono evidenti macchie idropiche a contorno poligonale, osservabili inizialmente sulla pagina inferiore, che diventano scure, necrotiche e circondate da alone clorotico; le necrosi sulle foglie possono fondersi e determinare il distacco del tessuto dando alla foglia il classico aspetto bucherellato (*shot holes*). Spesso gli apici fogliari ingialliscono, sono deformati e disseccano portando alla caduta della foglia. In casi di forte attacco si può assistere a casi di defogliazione anticipata che può interessare intere branche.

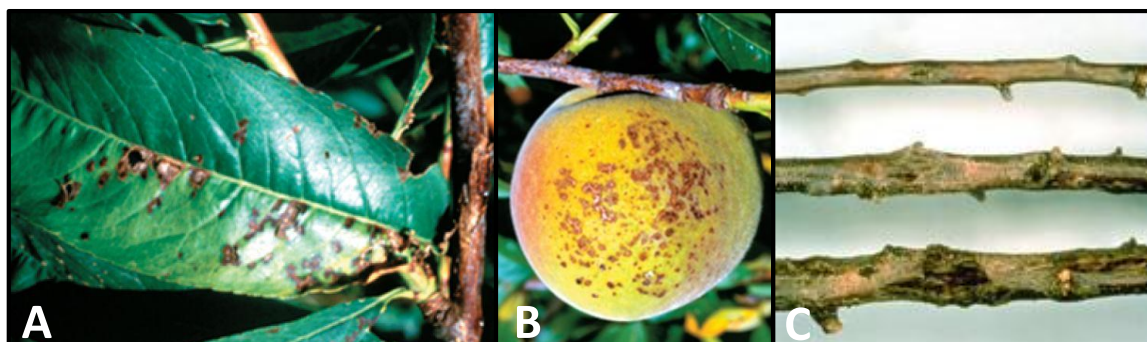


Figura 4. Sintomi causati da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* su pesco.
(Gentilmente fornite da Marco Scortichini)

Uno studio di immunofluorescenza e cito-istochimica (Aarrouf *et al.*, 2008) ha evidenziato come il batterio, attraverso gli stomi, penetra nel mesofillo fogliare e, proliferando negli spazi intercellulari, degrada i componenti della parete cellulare. Questa attività batterica porta al collasso del tessuto che poi si manifesta con la formazione delle lesioni necrotiche tipiche dei sintomi fogliari. La presenza del batterio anche nelle peziolè suggerisce, in una fase successiva, la diffusione sistemica del patogeno. In termini epidemiologici, la conseguenza di ciò è la formazione di popolazioni svernanti endogene (Aarrouf *et al.*, 2008). Sul frutto colpito dalla batteriosi, si osservano piccole maculature rotondeggianti, brune, leggermente infossate, talvolta circondate da un alone verde-giallo. I frutti attaccati sono spesso di dimensione ridotta e risultano non commerciabili. Sebbene la comparsa di cancri sia più frequente nel susino, anche in pesco possono comparire disseccamenti apicali associati a morte delle gemme che si manifestano, negli stati iniziali, a primavera inoltrata (cancri primaverili); simili disseccamenti sono osservabili raramente nella tarda estate (cancri estivi).

Dunegan (1932) ha stimato in Georgia (USA) perdite comprese tra 25-75% secondo le annate, e Stephens ha valutato le perdite per le drupacee intorno ai 3,1 milioni di dollari australiani in annate favorevoli al patogeno (Stefani, 2010). Mentre nei frutteti di susino nell'Italia del nord, ad esempio, possono essere infettati anche il 30% dei frutti generando perdite stimate nell'ordine di 11.200 € per ettaro nel caso della varietà 'Golden Plum' o 9.500 € per ettaro nel caso della varietà 'Angelino' (Stefani, 2010). A causa della minaccia rappresentata da Xap alla produzione dei *Prunus*, il batterio è stato inserito nelle liste da quarantena della *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (Anonimo, 2006) ed è elencato dalla Direttiva del Consiglio Europeo 2000/29/EC come organismo pericoloso (Anonimo, 2000).

1.3.4. Ciclo biologico d'infezione

Sono state identificate numerose fonti d'inoculo. A livello globale, la diffusione può avvenire tramite materiale di propagazione apparentemente sano ma soggetto a infezione latente (Goodman and Hatting, 1986).

A seconda della regione geografica e della specie attaccata, i cancri rameali possono essere siti di svernamento per il batterio, ad esempio nel susino in Sud-Africa e America Settentrionale (Dunegan, 1932; Du Plessis, 1987). In pesco la presenza di cancri è rara e lo

svernamento avviene per lo più in gemme dormienti e cicatrici fogliari (Shepard and Zehr, 1994). Il re-isolamento del batterio anche da foglie cadute da 7 mesi ha evidenziato che anche le foglie cadute possono essere fonte d'inoculo (Zaccardeli *et al.*, 1998). Il batterio può sopravvivere asintomatico come epifita sulla fillosfera (Shepard and Zehr, 1994) e tale capacità rappresenta un ulteriore pericolo alla diffusione d'infezioni in campo per le pratiche di innesto a gemma e potatura. In condizioni particolarmente favorevoli *X. Arboricola* pv. *pruni* è in grado di sopravvivere e proliferare anche in specie non-ospite come il pomodoro (Timmer *et al.*, 1987). Come siti di penetrazione naturali, il patogeno usa gli stomi e le ferite per iniziare il processo infettivo nella foglia; una volta penetrato ed instaurato il processo infettivo, il batterio si diffonde sistemicamente nell'ospite attraverso il sistema vascolare (Aarrouf *et al.*, 2008). Condizioni climatiche con temperature prossime ai 30° C e valori di umidità relativa vicini al 100% per un periodo superiore ai 3 giorni favoriscono notevolmente la virulenza del patogeno e la comparsa dei sintomi (Zehr and Shepard, 1996). Con il protrarsi di tali condizioni climatiche, si possono osservare cancri sui rami, sul tronco, e defoliazioni degli alberi fino alla morte degli stessi.

1.3.5. Diagnosi

L'identificazione di un patogeno da quarantena in tempi brevi è di fondamentale importanza per le autorità fitosanitarie e i coltivatori per reagire in caso di epidemia e prevenire la diffusione della malattia. I primi metodi disponibili per la rilevazione di *Xap* erano basati sull'isolamento e crescita in terreno semi-selettivo (Civerolo *et al.*, 1982), oppure sul saggio biologico effettuato su foglia staccata (Randhawa and Civerolo, 1985). Attualmente, il protocollo standard EPPO per la diagnosi della maculatura batterica (Anonimo, 2006) prevede ancora l'isolamento su terreno di crescita in agar, seguito dall'identificazione delle colture pure tramite test biochimici, l'analisi dei profili di proteine e metil-esteri degli acidi grassi (FAME), PCR di zone extrageniche palindromiche ripetute (REP-PCR), test sierologici e test di patogenicità. Comunque, questi metodi richiedono diversi giorni per poter rilevare l'eventuale presenza del batterio e inoltre non permettono la discriminazione a livello di patovar. Proprio per superare queste limitazioni, negli ultimi anni è stato dato un notevole impulso allo sviluppo di tecniche molecolari che hanno permesso di ottenere protocolli rapidi e sensibili per i patogeni da quarantena, e in particolare tra l'azione COST 873 per le malattie batteriche delle drupacee e delle specie

da frutto secco. Lo sviluppo di diversi saggi basati su PCR patogeno specifici permette la rilevazione diretta in tessuti sintomatici e asintomatici; questo rappresenta un notevole avanzamento per il mantenimento della sorveglianza anche su materiale di propagazione asintomatico, ma comunque pericoloso. Il primo test rapido, amplifica la regione *hrp*, che serve ai batteri fitopatogeni come determinante di virulenza, e quindi per indurre sintomi, se la pianta è suscettibile, o la reazione di ipersensibilità se la pianta è resistente (Leite *et al.*, 1994). Pothier *et al.* (2011) hanno messo a punto un metodo duplex-PCR e Palacio-Bielsa *et al.* (2011) un protocollo di qPCR, entrambi basati sull'amplificazione di una regione altamente conservata del gene codificante un trasportatore di membrana ABC. Sebbene tutti i metodi che amplificano questa specifica regione risultano positivi per tutte le specie appartenenti al genere *Xanthomonas*, questi possono essere impiegati comunque per la diagnosi poiché non sono mai state riportate specie o altre patovar di *Xanthomonas arboricola*, diverse da *pruni*, su colture del genere *Prunus* (Palacio-Bielsa *et al.*, 2012). Le tecniche più recenti si basano su protocolli di PCR per amplificare una regione di pXap41, un plasmide ubiquitario di tutti i ceppi di *X. Arboricola* pv. *pruni* (Pothier *et al.*, 2011b); oppure si basano su tecniche di spettrometria di massa (MALDI-TOF) che permette la discriminazione a livello di patovar (Pothier *et al.*, 2011c). Infine, il recente sequenziamento del genoma di *X. Arboricola* pv. *pruni* CFBP5530 (Pothier *et al.*, 2011d) ha fornito le informazioni che saranno utili per migliorare la specificità di identificazione del patogeno per la massa a punto di un nuovo test basato sull'amplificazione isoterica (LAMP), che permette di eseguire diagnosi ultra-rapida in campo con una sensibilità paragonabile alla qPCR (Bühlmann, 2013).

1.3.6. Controllo

Le strategie di controllo per limitare la diffusione del batterio e per limitarne i danni sono rappresentate da misure profilattiche, l'uso di agenti chimici, e l'impiego di varietà resistenti alla malattia.

Poiché *Xap* è un patogeno da quarantena, in caso di epidemia si deve procedere con la rimozione degli alberi infetti. È raccomandato l'uso di attrezzi disinfettati per la potatura e l'innesto, oltre all'uso di portainnesti e marze certificati *pathogen free*. È altresì da evitare l'impianto d'irrigazione a pioggia dall'alto, ed è consigliato di evitare la fertilizzazione in potassio troppo scarsa, o troppo alta in azoto, in quanto potrebbero indurre un'elevata

infiltrazione di acqua nei tessuti vegetali favorendo la penetrazione e la circolazione di batteri (Young, 1987).

Trattamenti di rame sono utili per frenare la diffusione del patogeno, ma l'uso è limitato dalla citotossicità dello stesso (necrosi e defoliazioni) per un'ampia fase del ciclo vegetativo della pianta (Ritchie, 1995). L'impiego di antibiotici in campo all'inizio della stagione vegetativa è permesso negli Stati Uniti, ma vietato in Europa.

Recentemente è stato tentato un approccio innovativo per controllare la maculatura batterica tramite antagonisti batterici, come ad esempio *Pseudomonas fluorescens* G19, che possono agire da induttori di resistenza (Biondi *et al.*, 2009). I risultati sono stati incoraggianti e la possibilità di accoppiare il biocontrollo a trattamenti ridotti di rame può essere considerata una buona strada per il controllo sostenibile della malattia. Un secondo approccio, tentato durante gli anni 90 da Zaccardelli *et al.* (1994), è stato in grado di controllare la malattia in pescheto impiegando ceppi selezionati di batteriofagi isolati da pescheti infetti. In sintesi, una strategia di controllo basata sull'uso integrato di antagonisti batterici e virali potrebbe essere una strada fattibile verso un efficace controllo della malattia in frutteto (Stefani, 2010).

1.3.7. Modelli di previsione

La comparsa di epidemie in campo risulta incostante in quanto è altamente correlata alle condizioni climatiche, specialmente in condizioni di piogge pesanti e alte temperature. Come è stato sviluppato per la bolla del pesco (Thomidis, 2010), l'uso di modelli di previsione sarebbe utile per determinare il momento migliore per i trattamenti preventivi in base alle condizioni climatiche, e così aiutare i produttori a limitare sia il numero di trattamenti sia la diffusione del patogeno. Un modello di previsione è in corso di valutazione (Bugiani, 2010), ed è basato sull'algoritmo di previsione proposto da Battilani (1999); tale algoritmo prende in considerazione le condizioni climatiche e il numero di giorni piovosi. Attualmente un modello di previsione affidabile, standardizzato, e validato in campo non è ancora disponibile per i coltivatori.

1.3.8. Resistenza

Le attuali misure di profilassi basate su controllo chimico e materiale di propagazione certificato, da sole, non sono sufficienti per controllare la malattia. Inoltre, in seguito alla

crescente domanda da parte dell'opinione pubblica e degli enti regolatori per la riduzione dei trattamenti (Direttiva 2009/128/CE), è di fondamentale importanza l'impiego di varietà resistenti alla malattia. Purtroppo, come spesso accade, le varietà che hanno riscontrato un ampio successo commerciale sono state selezionate nel passato più per i caratteri pomologici e merceologici che per la resistenza alle malattie, maculatura batterica inclusa. Nel panorama varietale del pesco è stata descritta una notevole variabilità per quel che riguarda la resistenza alla malattia, sia in osservazioni di campo sia in seguito a screening di laboratorio (Keil and Fogle, 1974; Werner *et al.*, 1986; Okie, 1998).

In base al numero di cultivar resistenti a Xap rilasciate dai programmi di miglioramento genetico, intrapresi nell'est degli Stati Uniti, si pensa al coinvolgimento di geni dominanti nella resistenza (Sherman and Lyrene, 1981). Inoltre i differenti livelli di suscettibilità osservati suggeriscono che la resistenza a Xap sia un tratto quantitativo (Layne, 1966; Werner, 1986). Infine i dati incongruenti dei livelli di resistenza fogliare e di resistenza nel frutto indicano l'esistenza di diversi fattori genetici che intervengono nel regolare la resistenza nei due tessuti (Werner, 1986). Infatti in uno studio molto recente di QTL *mapping*, nel quale il genotipo resistente era fornito dalla varietà 'Claiton', sono stati evidenziate 14 regioni QTL con effetto quantitativo sulla resistenza a Xap, 5 maggiori sui gruppi d'associazione 1, 4, 5, e 6. Fra questi, il 4.1 ed il 4.2 sono associati esclusivamente alla resistenza in foglia, il 5.1 è associato alla resistenza sia in foglia che in frutto, mentre i QTL 1.2 e 6.1 sono stati associati esclusivamente alla resistenza del frutto (Yang *et al.*, 2012). Quindi, il carattere di resistenza a Xap è poligenico e questo tipo di resistenza ha tutte le caratteristiche per essere duratura in campo rispetto ad una monogenica, per la difficoltà del patogeno a sopravanzare una resistenza poligenica.

Infine, le basi dei meccanismi fisiologici e molecolari nella resistenza/suscettibilità alla malattia sono sconosciute. Per i risultati emersi dal lavoro di Yang *et al.* (2012) è soltanto ipotizzabile un ruolo importante dei geni R; in quanto, nelle regioni QTL associate alla resistenza sono stati annotati nel complesso 30 geni di resistenza putativi.

Soltanto recentemente si sono mossi i primi passi per caratterizzare questo patosistema dal punto di vista molecolare.

In un recente lavoro sono state esplorate le differenti cinetiche di induzione di due PR1 e tre PR5 isolate da pesco (Sherif *et al.*, 2012) in risposta a *X. Arboricola* pv. *pruni*, al trattamento con acido salicilico, con metil-giasmonato, o ethephon. Lo studio, che ha

confrontato la reazione delle varietà 'Venture' (resistente) e 'BabyGold 5' (susceptibile), ha dimostrato che nella famiglia delle proteine PR esistono diverse cinetiche di induzione in base all'induttore utilizzato, ma soprattutto esiste una differenza quantitativamente significativa fra la varietà resistente e la suscettibile.

1.4. Scopo della tesi

Il pesco è una delle specie frutticole più importanti per il nostro paese. L'Italia è il secondo produttore al mondo di pesche e, per numero di varietà licenziate, è seconda dopo gli USA. Tra le piante arboree da frutto il pesco è specie modello per studi di genetica molecolare, perché ha un genoma diploide, di dimensioni ridotte, la cui sequenza è disponibile (www.peachgenome.org), e un periodo giovanile relativamente breve.

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (Xap), l'agente causale della maculatura batterica delle drupacee, è il batterio più pericoloso per il pesco. Esso è in grado di attaccare il tessuto fogliare, i tessuti legnosi, e il frutto. È diffuso in tutto il mondo e in Italia, nei principali areali di coltivazione, dal nord al sud.

Nel germoplasma del pesco esiste una notevole variabilità riguardo alla suscettibilità a questa malattia, infatti è catalogato in cultivar altamente suscettibili ('Elegant Lady'), cultivar suscettibili (es. 'J.H. Hale', 'Lizbeth', 'O'Henry', 'Red Valley', 'Rich Lady', 'Rome Star', 'Summer Rich'), altre moderatamente resistenti (es. 'Redhaven', 'Cresthaven', 'Earliglo', 'Harrow Diamond') e poche classificate come altamente resistenti (es. 'Redkist', 'Harrow Blood') (Okie, 1998). Tuttavia, le caratteristiche pomologiche e produttive di queste ultime varietà sono in genere scadenti. Un'indagine per delucidare le basi molecolari della resistenza a Xap sarebbe utile per individuare i marcatori potenzialmente utili per il miglioramento genetico, al fine di unire il carattere di resistenza alle caratteristiche qualitative e quantitative proprie delle varietà suscettibili. Inoltre, tale studio consentirebbe di caratterizzare i meccanismi che regolano l'interazione ospite-patogeno in tale patosistema.

Recentemente, lo sviluppo di tecnologie di sequenziamento massivo parallelo denominate *Next Generation Sequencing* ha permesso sia l'analisi strutturale sia la quantificazione dei trascrittomi. Questa tecnologia applicata all'RNA (RNA-Seq) presenta indubbi vantaggi rispetto agli altri approcci di analisi del trascrittoma: 1) elevata accuratezza nell'analisi quantitativa; 2) elevato grado di riproducibilità tecnica; 3) esteso *range* dinamico ed elevata sensibilità, permettendo di rilevare anche trascritti espressi a bassi livelli; 4) risoluzione sino alla singola base, permettendo di caratterizzare accuratamente l'inizio/fine della trascrizione e di rilevare polimorfismi in regioni codificanti; v) possibilità di identificare isoforme di splicing codificate dallo stesso gene (Mortazavi *et al.*, 2008). Tale tecnologia è applicabile anche all'analisi differenziale

dell'espressione genica per il confronto di stati fisiologici differenti (Loomis *et al.*, 2011) e, recentemente, è stata impiegata anche per la caratterizzazione della risposta di resistenza ai patogeni. (Xu *et al.*, 2011; Kunjeti *et al.*, 2011; Adhikari *et al.*, 2012).

L'obiettivo di questo lavoro è caratterizzare la risposta metabolica di resistenza, e suscettibilità, del pesco a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* tramite RNA-Seq. In particolare ci si propone di caratterizzare l'espressione genica delle due varietà 'Redkist' (resistente) e 'J.H. Hale' (suscettibile) in un *time course* a partire da 30 minuti fino a 3 giorni. Nella prima parte di un lavoro più ampio, saranno analizzati i trascrittomi delle foglie ingaggiate con la soluzione batterica in 3 tempi successivi: controllo, 30 minuti, 1, 3 ore dopo l'infezione in entrambe le varietà. Individuando le differenze fra le due risposte al patogeno sarà possibile caratterizzare i processi fisiologici alla base della resistenza ed individuare un set di geni candidati utili ai programmi di miglioramento genetico, per l'ottenimento di cultivar di pesco resistenti alla malattia.

2. MATERIALI E METODI

2.1. Propagazione piante

Durante il periodo invernale sono state propagate per innesto a doppio spacco inglese (figura 5) 30 marze per ognuna delle due varietà di pesco ‘Redkist’ e ‘J.H. Hale’ impiegando il portainnesto clonale GF 677.

La varietà ‘J.H. Hale’ originata da un semenzale di ‘Elberta’ ed è classificata suscettibile alla maculatura batterica (Okie, 1998). Mentre ‘Redkist’ è una varietà derivata dalla mutazione di ‘Redskin’ ed è classificata resistente alla maculatura batterica (Okie, 1998). ‘Redskin’ è il risultato dell’incrocio delle varietà ‘Elberta’ x ‘J.H. Hale’.

Il portainnesto clonale GF 677 (Giorgi *et al.*, 2005) è un ibrido interspecifico naturale di *Prunus persica* x *Prunus dulcis* selezionato presso la stazione INRA di Bordeaux. È un portainnesto molto vigoroso; si adatta ai terreni poco fertili e siccitosi; possiede buona resistenza alla clorosi, ai terreni calcarei, e ai terreni “stanchi”; è dotato di buona affinità con tutte le cultivar di pesco e nectarine coltivate commercialmente; è il portainnesto maggiormente diffuso in Italia, ed è classificato come suscettibile alla maculatura batterica.

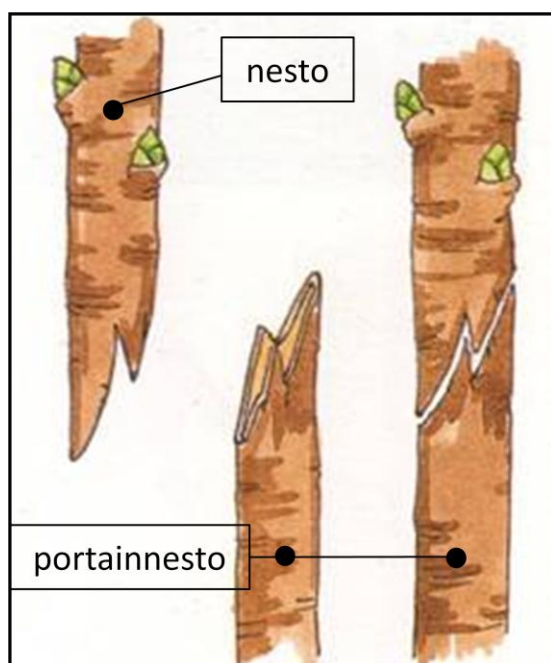


Figura 5. Schema dell’innesto a doppio spacco inglese usato per propagare gli alberi oggetto di studio.

2.2. Infezione e campionamento

Dopo aver atteso la piena ripresa vegetativa, durante il periodo estivo, sono state eseguite le infezioni artificiali secondo il disegno sperimentale indicato in tabella 4 per un totale di 42 piante di pesco comprendenti due varietà. Per ogni individuo sono state inoculate e campionate tre foglie adulte della lunghezza media di 20 cm ciascuna. Le infezioni artificiali sono state condotte per infiltrazione della pagina fogliare inferiore mediante una sospensione di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (10^8 UFC/ml) in soluzione 0,8% KCl sterile. I controlli negativi (tempo 0) sono stati infiltrati con la stessa soluzione usata per risospendere il batterio. Successivamente alle infezioni, sono stati effettuati i prelievi dei tessuti infiltrati nei tempi stabiliti (tabella 4 e figura 6) prelevando esclusivamente la pagina fogliare, seguiti da congelamento immediato in azoto liquido, e successiva conservazione in congelatore a -80°C . In sintesi sono stati trattati tre alberi (replicati biologici) per tempo di analisi, sino alle 6 ore, e due alberi per tempo a 12, 24, 36 ore post-infezione (hpi).

Tabella 4	<i>Time course</i> dei campionamenti post-infezione (pi)							
Redkist n. piante	0	30 min	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	36 h
	3	3	3	3	3	2	2	2
J.H. Hale n. piante	0	30 min	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	36 h
	3	3	3	3	3	2	2	2

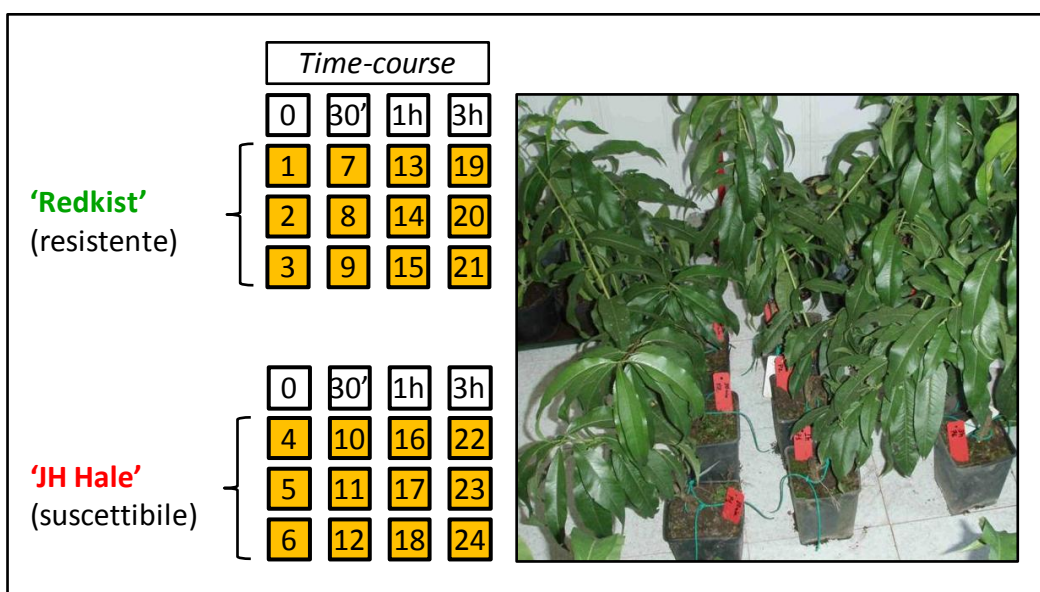


Figura 6. Disegno sperimentale specifico per l'RNA-Seq.

2.3. Estrazione RNA

I campioni, corrispondenti a circa 1 gr di tessuto fresco ognuno, erano liofilizzati per 3 giorni (Edwards, Freeze dryer) prima di effettuare l'estrazione di RNA totale mediante il kit "Plant RNA Reagent" (Invitrogen, Life Technologies). La procedura di estrazione era sostanzialmente la stessa indicata dal fornitore, con alcune modifiche per ottimizzare la resa e la purezza dell'estratto.

Il tessuto vegetale liofilizzato era polverizzato in tubo falcon da 15 ml con 3 biglie di tungsteno (Qiagen), 2 dal diametro 5 mm ed 1 dal diametro 3 mm, vorticando per 2 minuti. Al campione polverizzato erano aggiunti velocemente 5 ml della soluzione "Plant RNA Reagent" fredda, e successivamente il tutto era vorticato per 1 minuto. Dopo incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti, l'omogenizzato era centrifugato per 5 minuti alla velocità di 6000 rpm (4° C). Successivamente, al chiarificato erano aggiunti 0,2 volumi di 5M NaCl e, dopo aver mescolato, erano aggiunti 5 ml di Cloroformio. Seguiva una vorticata di 1 minuto, e le due fasi erano separate tramite centrifugazione a 6000 rpm per 30 minuti (4° C). Successivamente era prelevata la fase acquosa a cui erano aggiunti 0,9 volumi di isopropanolo. I campioni venivano mescolati ed incubati per 10 minuti a temperatura ambiente. Il precipitato così formato era recuperato centrifugando i campioni per 30 minuti a 6000 rpm (4° C). Dopo aver gettato il surnatante, il pellet era lavato con 10 ml di 70% etanolo freddo e centrifugato nuovamente per 5 minuti. Al termine della centrifugazione il surnatante era scartato ed il pellet asciugato per 10 minuti. Successivamente il pellet era risospeso in 700 µl di H₂O_{mQ} (*RNase free*) e trasferito in eppendorf. L'RNA così risospeso era riprecipitato aggiungendo 0,5 volumi di LiCl "Precipitation solution" (Ambion, Life Technologies) ed incubando per 2 ore in ghiaccio. Per raccogliere l'RNA i campioni erano centrifugati in una centrifuga da banco a velocità massima per 20 minuti (4° C). In seguito il pellet di RNA totale era lavato due volte con 800 µl di 70% etanolo freddo; asciugato in cappa chimica; risospeso in 150 µl di H₂O_{mQ} (*RNase free*); aliquotato e quantificato al NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies Inc.); infine, gli estratti erano conservati in freezer a -80° C.

I rapporti delle assorbanze A_{260}/A_{230} e A_{260}/A_{280} erano utilizzati come indici di purezza dell'estratto. Mentre per controllarne l'integrità, 1 µg di RNA era caricato su gel d'agarosio 1% in condizioni non denaturanti; il tampone impiegato era 40 mM Tris-Acetato, 1mM Na₂EDTA pH 8.0 (TAE 1X), ed il sistema di colorazione era basato sul

BrEt (6 µg/100 ml). La visualizzazione del gel dopo la corsa elettroforetica era effettuata con l'acquisitore d'immagine digitale GEL Logic 100 Imaging system (Kodak).

2.4. Controllo induzione

Per confermare l'avvenuta elicitazione sono stati scelti alcuni target della risposta di resistenza, la cui espressione è stata analizzata in tutte le repliche biologiche e nei controlli per RT-PCR sui campioni appartenenti ai tempi di analisi: 30 mpi, 1 hpi, 3 hpi.

2.4.1. Marcatori e disegno dei primer

Data la mancanza di dati in letteratura sul pesco, sono stati impiegati alcuni target di *Arabidopsis* la cui espressione è up-regolata a tempi precoci in seguito al contatto con il patogeno, o con gli elicitori da esso derivati (Navarro *et al.*, 2004; Ülker *et al.*, 2004). Assumendo che i geni di pesco annotati come omologhi dei geni di *Arabidopsis* abbiano conservato la stessa funzione, sono state estratte le seguenti sequenze: WRKY 28 (ppa024027m), WRKY 29 (ppa025013m), WRKY 70 (ppa026125m), MPK3 (ppa007370m), actina (ppa007242m), e sono stati disegnati i relativi primer per effettuare le RT-PCR (tabella 5). La sequenza del genoma di pesco e il file di annotazione formato GFF3 erano ottenuti da "Phytozome" (www.phytozome.org/peach) e interrogati tramite il software commerciale "CLC Genomics" ver. 6.0.1 (CLC-bio). I parametri termodinamici dei primer sono stati valutati tramite il *Tm calculator* integrato nel software "BioEdit Sequence Alignment Editor" ver. 7.0.5.3 (Hall, 1999); in particolare la *Tm* era calcolata impostando le seguenti concentrazioni: [Na]= 50mM, [Mg]= 3mM, [primers]= 300nM. I primer sono stati disegnati in zone adiacenti alle giunzioni esone-introne per poter facilmente discriminare fra l'amplificazione del cDNA o del DNA genomico, qualora presente.

Tabella 5 Target e relativi primer usati in RT-PCR per confermare l'elicitazione

	Sequenza	lunghezza	%GC	Tm
PpWRKY 28 (ppa024027m)	FOR-CCCATCTACACCAAACCTCCTC	21	52,38	65,04°C
	REV-GGATTAGGGGACAGCATTCC	20	55,00	65,17°C
PpWRKY 29 (ppa025013m)	FOR-GCTGAAGGAATCATCAACTGTC	22	45,45	64,47°C
	REV-GGTTCCTCAACTCTCTATCCAAATCC	25	45,83	65,96°C
PpWRKY 70 (ppa026125m)	FOR- GGCTGCTGAGAAGAAGAACCC	21	57,14	68,23°C
	REV- TTCCCAATGATCAGAGGAGCC	21	52,38	66,95°C
PpMPK3 (ppa007370m)	FOR-GCTGCAATAGATGTGTGGTCC	21	52,38	66,53°C
	REV-GTAAGGATGAGCCAATGCTTC	21	47,62	64,21°C
Ppactina (ppa007242m)	FOR-CAATGGAAGTGAATGGTGAAG	22	45,45	64,71°C
	REV-CACCAGAGTCCAGCACAAATAC	21	52,38	65,86°C

2.4.2. Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction

Tutti i 24 campioni, rappresentativi dei controlli e delle infezioni fino al *time point* 3 hpi, sono stati analizzati per RT-PCR impiegando i primer disegnati.

A questo scopo 1,5 µg di RNA totale per ogni campione erano pre-trattati con “*Deoxyribonuclease I, Amplification Grade*” (Invitrogen, Life Technologies) nel tampone di reazione costituito da 20 mM Tris-HCl (pH 8,4), 2 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 1 U DNase I, H₂O_{DEPC} (volume totale 10 µl) ed incubati a temperatura ambiente per 20 minuti. Al termine dell'incubazione, la DNase I veniva inattivata aggiungendo 1 µl di 25 mM EDTA e scaldando per 10 minuti a 65° C. L'RNA totale trattato era successivamente precipitato prima di essere usato nella reazione di Retro-Trascrizione. Ai campioni trattati con DNase I veniva aggiunta H₂O_{mQ} (*RNase free*) fino al volume finale di 500 µl ed addizionato 1 volume di cloroformio. In seguito a vorticata di 1 minuto, le due fasi erano separate tramite centrifugazione a 6000 rpm per 10 minuti (4°C). La fase acquosa era recuperata e veniva aggiunto 1 volume di isopropanolo freddo, mescolato per inversione ed immediatamente centrifugato a velocità massima per 30 minuti (4° C). Il surnatante veniva scartato, ed il pellet lavato una volta con 800 µl di 70% etanolo freddo. Dopo aver centrifugato per 5 minuti con le condizioni del programma precedente, il pellet era asciugato in cappa chimica aspirante per 10 minuti e risospeso in 5 µl di H₂O_{mQ} (*RNase free*).

Tutto l'RNA recuperato era impiegato nella successiva reazione di *Reverse Transcription* insieme ad 1 µl di oligo(dT)₁₂₋₁₈ (500 ng/µl), 1 µl di *random primers* (100 ng/µl), 1 µl dNTP MIX (10 mM ognuno), H₂O_{mQ} (*RNase free*) fino al volume di 12 µl.

Questa miscela era incubata a 65° C per 5 minuti ed immediatamente messa in ghiaccio. Dopo una breve centrifugata erano aggiunti: 4 µl di 5X First-strand buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3; 375 mM KCl; 15 mM MgCl₂), 2 µl di 0,1 M DTT, 1 µl di RNaseOUT™ e il tutto era incubato a 25° C per 2 minuti. Successivamente la reazione di sintesi era iniziata aggiungendo 1 µl di Super Script™ II (Invitrogen, Life Technologies) ed incubata prima a 25° C per 10 minuti, poi a 42° C per 50 minuti. La reazione veniva poi inattivata a 70° C per 15 minuti. Infine, per rimuovere l'RNA complementare al cDNA, era aggiunto 1 µl di *E. coli* RNase H e la soluzione incubata a 37° C per 20 minuti. Il cDNA così sintetizzato era conservato in freezer a -20° C, e 2 µl/reazione erano usati come stampo per le successive amplificazioni in PCR.

Le reazioni di PCR erano effettuate in 25 µl totali nella miscela composta da 20 mM Tris-HCl pH 8,4; 50 mM KCl; 3 mM MgCl₂; 0,2 mM dNTP mix; 0,3 µM Forward primer; 0,3 µM Reverse primer; 1,25 U Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen, Life Technologies). Il termociclatore impiegato era il GeneAmp® PCR System 9700 (Perkin-Elmer). Per tutti i target il ciclo impostato era il seguente: denaturazione iniziale 95°C per 5 minuti; 28 cicli: 94°C per 10 secondi, annealing 60°C per 10 secondi, sintesi 72°C per 30 secondi; sintesi finale 72° C per 5 minuti. L'intero prodotto di PCR era caricato su gel 1,2% agarosio in TAE; alla fine della corsa elettroforetica, il gel era visualizzato tramite l'acquisitore d'immagine digitale GEL Logic 100 (Kodak).

2.5. Preparazione *library* e sequenziamento

I 24 campioni sono stati inviati ad "IGA Technology Services S.r.l." (Udine), presso il servizio di sequenziamento *Next Generation Sequencing* (NGS). Gli RNA erano prima sottoposti alla fase di controllo qualità tramite elettroforesi capillare microfluidica nell'RNA 6000 Nano LABchip usando il Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies), per valutarne accuratamente l'integrità, e poi usati per sintetizzare 24 *library* indipendenti per poter effettuare le reazioni di sequenziamento con l'HiSeq™ 2000 Sequencing System (Illumina). Tutte le reazioni per preparare le *library* sono state effettuate impiegando i kit forniti da Illumina. In sintesi (figura 7), a partire da 1 µg di RNA totale sono stati purificati gli mRNA poly(A)+ mediante biglie magnetiche Sera-Mag oligo(dT); i messaggeri sono stati successivamente frammentati chimicamente con il metodo dei sali bivalenti ed elevate temperature (94° C per 5 minuti); i frammenti sono stati retro-trascritti in cDNA a singolo

filamento e successivamente convertiti in cDNA a doppio filamento *blunt-end*; ai frammenti di DNA erano legati covalentemente gli adattatori sintetici che sono serviti nelle fasi successive; la *library* di frammenti di cDNA con gli adattatori era frazionata su gel d'agarosio e poi purificata per selezionare le molecole della taglia attesa (200 bp); ed infine la *library* purificata viene amplificata per PCR sfruttando gli adattatori sintetici. La library, prima di essere usata nel sequenziatore, era sottoposta a controllo qualità in elettroforesi capillare microfluidica (Bioanalyzer 2100) per verificare la taglia della popolazione di frammenti generati nell'intero processo. Alla fine la *library* era immessa nella *flow cell* del sequenziatore.



Figura 7. Schema della procedura impiegata per la preparazione del campione prima del sequenziamento NGS.

2.6. Analisi dati NGS

Per gestire l'enorme quantitativo di dati generato (88 Gbyte di file in formato compresso) è stato impiegato hardware dedicato costituito dal server di calcolo IBM System x3650 M3, dotato di due processori Intel Xeon dotati nel complesso di 12 core fisici e 24 logici, e 48 GB di RAM, mentre il software era "CLC Genomics" ver. 6.0.1 (CLC-bio). Impiegando tale piattaforma hardware/software le *reads* ottenute dal sequenziamento sono state manipolate ed analizzate secondo la seguente procedura (figura 8):

- Importazione della sequenza del genoma di pesco (v. 1.0)
- Applicazione sul genoma importato del file di annotazione (GFF3)
- Importazione/decompressione delle *reads* ottenute dal servizio di sequenziamento
- Controllo qualità delle *reads*
- Selezione delle *reads*
- Allineamento delle *reads* sul genoma e valutazione dei livelli di espressione dei geni (RNA-Seq)
- Esportazione dei dati di RNA-Seq ed analisi differenziale dei geni in ambiente “R”

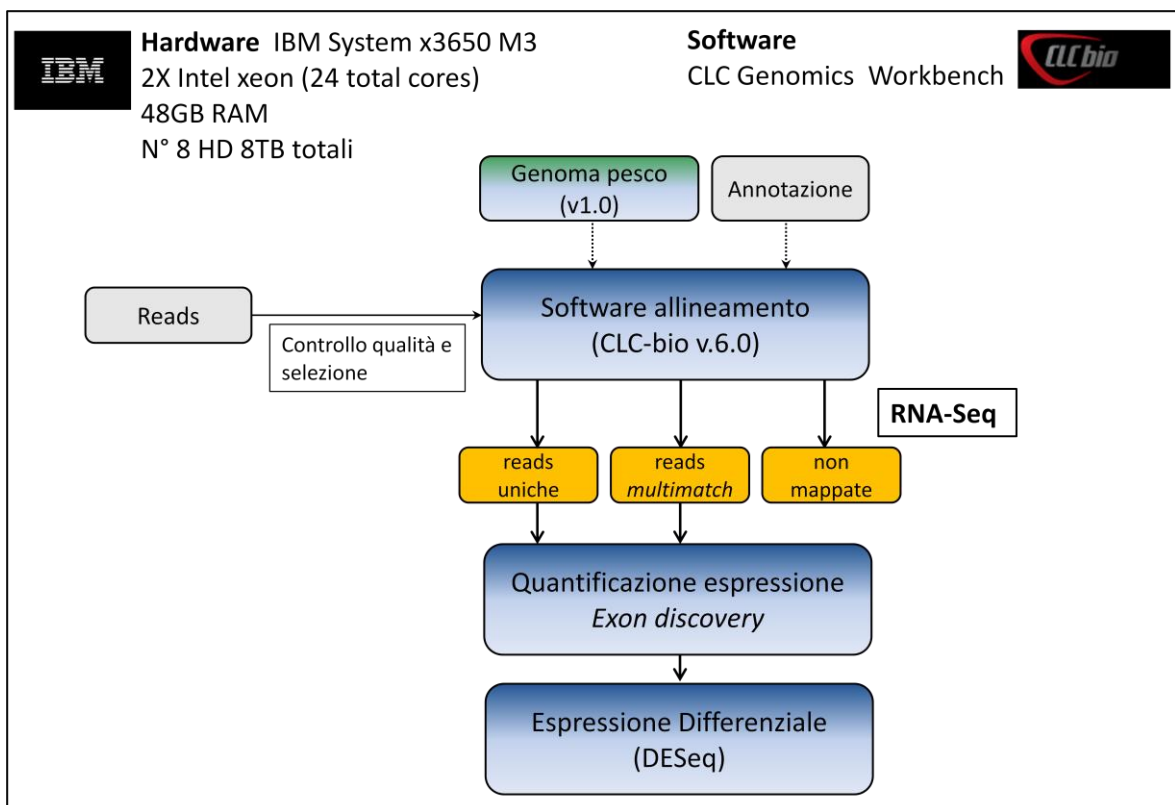


Figura 8. Diagramma di flusso dalle *reads* all’analisi di espressione differenziale.

La sequenza del genoma del pesco ed il file di annotazione genica sono pubblicati e disponibili al download presso i seguenti indirizzi di File Transfer Protocol:

- ftp://ftp.jgi-psf.org/pub/compgen/phytozome/v9.0/Ppersica/assembly/Ppersica_139.fa.gz
- <ftp://ftp.jgi-psf.org/pub/compgen/phytozome/v9.0/Ppersica/annotation/>

[/Ppersica_139_gene_exons.gff3.gz](ftp://ftp.jgi-psf.org/pub/compgen/phytozome/v9.0/Ppersica/annotation/)

Dopo il controllo qualità, effettuato mediante il *tool* integrato in CLC-Genomics, le *reads* del sequenziamento erano successivamente manipolate e selezionate in base alle seguenti impostazioni: eliminazione delle basi ambigue (N) alle estremità; numero massimo ammesso di *N/read*: 1; rimozione di 3 basi all'estremità 5'; rimozione di 3 basi all'estremità 3'; massima lunghezza consentita: 55 nt; lunghezza minima consentita: 35 nt. Le reads ottenute dopo tale selezione erano impiegate per l'allineamento sul genoma secondo i seguenti parametri: numero massimo di *mismatch* permessi: 2; numero massimo di siti di allineamento sul genoma permessi: 10; allineamento guidato dalle informazioni di annotazione del genoma e ricerca di nuovi esoni permessa a monte e a valle delle regioni geniche annotate: 3 Kb; lunghezza minima di nuovi esoni putativi: 30 basi. Il resto dei parametri erano lasciati di default.

In seguito all'allineamento delle reads sul genoma, CLC-Genomics stima l'abbondanza dei trascritti tramite il parametro RPKM proposto da Mortazavi *et al.* (2008) secondo la formula:

$$\frac{\text{reads esoniche totali del gene}}{\text{lunghezza esonica totale del gene (Kb) x milioni di reads mappate nella library}}$$

Le *reads* di ogni singolo campione sono state usate per effettuare allineamenti e stime di espressione indipendenti, per un totale di 24 sessioni di calcolo indipendenti.

L'analisi statistica per l'espressione differenziale è stata effettuata confrontando a coppie il controllo negativo vs. *time point* per ogni varietà; quindi sono stati effettuati in totale 3 confronti per 'Redkist' e 3 confronti per 'J.H. Hale'.

A questo scopo i dati di conteggio delle reads mappate per ogni singolo gene di pesce, ottenuti dall'RNA-Seq, erano esportati in un file formato di testo (delimitato da tabulazione) ed impiegati come input per il pacchetto *opensource* "DEseq" ver. 1.12 (Bioconductor) in ambiente statistico "R" ver. 3.0.0 (*R foundation for statistical computing*). Tale pacchetto gestisce l'analisi statistica assumendo la distribuzione dei dati secondo la binomiale negativa (Anders and Huber, 2010). Il tool è stato impiegato seguendo le istruzioni fornite dagli autori lasciando i parametri di default. In sintesi dopo aver importato i dati di conteggio dell'RNA-Seq si è proceduto con la normalizzazione dei dati secondo la profondità di sequenziamento delle *library*; successivamente è stata stimata

la dispersione dei dati di conteggio normalizzati fra le repliche biologiche appartenenti alla stessa condizione; e infine sono state eseguite le chiamate di espressione differenziale gene per gene. DESeq stima il valore p corretto (padj) per il controllo del *False Discovery Rate* (FDR) nei test multipli secondo la procedura Benjamini-Hochberg. I risultati erano esportati ed analizzati in Microsoft Excel. Il *dataset* era successivamente filtrato per ottenere i geni la cui espressione fosse significativamente differenziale in base ai requisiti: $\text{padj} < 0,05$ e $\log_2(\text{fold change}) > 2$ per gli up-regolati, oppure $\log_2(\text{fold change}) < -2$ per i down-regolati. I geni definiti come “accesi” erano stimati filtrando i dati di conteggio del numero delle reads per ogni gene in base alle condizioni: media dei dati di conteggio dei controlli = 0, media dei dati di conteggio dei *time point* > 10; mentre per i geni definiti “spenti” media dei dati di conteggio dei controlli > 10, media dei dati di conteggio dei *time point* = 0.

Sono stati definiti in questo studio i geni “sovra-regolati” l’insieme dei geni “up-regolati” e dei geni “accesi”; i geni “sotto-regolati” sono definiti come l’insieme dei geni “down-regolati” e dei geni “spenti”.

Prima di procedere con l’analisi statistica differenziale veniva effettuato il controllo qualità dei dati da usare come input tramite analisi multivariata PCA o Cluster impiegando le funzioni integrate in “DESeq” secondo i parametri di default.

Infine tutte le informazioni sulle funzioni delle proteine codificate dai geni di pesce impiegate in questo lavoro sono putative, in quanto sono esclusivamente derivate dal miglior match dei geni di *Arabidopsis* con i predetti di pesce.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1. Disegno sperimentale e *time course*

Il sequenziamento dell'RNA (RNA-Seq) si sta sempre di più affermando come un approccio efficace per la rilevazione dell'espressione genica differenziale grazie all'alta processività e alla risoluzione, in cui è cruciale la scelta del disegno sperimentale (Robles *et al.*, 2012). Pertanto la fase iniziale del lavoro è stata impiegata per individuare il miglior disegno sperimentale per raggiungere gli obiettivi prefissati.

Inizialmente è stata compiuta una ricerca bibliografica in letteratura riguardo alle caratteristiche dell'RNA-Seq per individuare se fosse necessario prevedere delle repliche tecniche e/o biologiche. Tale ricerca ha portato a evidenziare che, nonostante la tecnologia dell'RNA-Seq sia caratterizzata da elevata riproducibilità (Marioni *et al.*, 2008; Mortazavi *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009), è indispensabile un disegno sperimentale che preveda delle repliche biologiche indipendenti per effettuare qualsiasi inferenza statistica (Auer and Doerge, 2010; Fang *et al.*, 2011). Pertanto è stato deciso di includere tre repliche biologiche (tre piante differenti) per ogni tempo d'infezione (tabella 4, paragrafo 2.2). Inoltre, per individuare le caratteristiche della risposta metabolica del pesco alla maculatura batterica che differenziano una varietà resistente da una suscettibile, è stato deciso di eseguire la medesima analisi in doppio su di una varietà resistente ('Redkist') e una suscettibile ('J.H. Hale').

Per completare la definizione del disegno sperimentale sono stati definiti i tempi di analisi del *time course* (tabella 4). Tale finestra temporale di analisi è stata decisa valutando dati sperimentali ottenuti, presso il Centro di Ricerca per la Frutticoltura di Roma, tramite "PCR-select" (confronto diretto controllo vs. 6 ore) ove è stato possibile evidenziare come già a 6 ore dal contatto 'Redkist'/Xap siano indotti geni marcatori della risposta di difesa codificanti proteine taumatina-simile. Inoltre, i dati presenti in letteratura evidenziano come la riprogrammazione trascrizionale avvenga già a 0.5 - 1 ora dal contatto tra ospite ed elicitore o patogeno batterico (Ramonell *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2003; Navarro *et al.*, 2004; Truman *et al.*, 2006). Infine, uno studio effettuato nello specifico binomio pesco/Xap sulla cinetica di espressione di due geni codificanti per PR-1 e tre codificanti per PR-5 ha evidenziato come già a un'ora dal contatto le PR-1 sono up-regolate (Sherif *et al.*, 2012).

In sintesi è stato realizzato il disegno sperimentale d'infezione artificiale su foglia di pesco (2 varietà) completo; i prelievi del tessuto ingaggiato sono stati effettuati a tempi che vanno da 30 minuti a 3 giorni (tabella 4). Nella prima parte del lavoro globale è stato deciso di iniziare le analisi di RNA-Seq nei tempi 30 minuti (mpi), 1, 3 hpi (tabella 4, riquadro in grassetto), i tempi successivi saranno eventualmente sequenziati se i risultati lo richiederanno.

3.2. Estrazione e controllo induzione

Dopo aver messo a punto le condizioni di liofilizzazione, modificato il protocollo di estrazione del kit, e introdotto una fase di precipitazione con LiCl (AMBION Technical bulletin #160), è stata ottenuta una metodologia di estrazione che, da 1 gr di foglia di pesco, è in grado di ottenere una resa finale di estrazione compresa tra 300-400 µg di RNA totale, ed estratti con rapporti di assorbanza $A_{230/260} > 2$ e $A_{280/260} > 1.9$. I successivi controlli su gel d'agarosio, e tramite microfluidica, (figura 9a, b) hanno confermato l'integrità dei campioni.

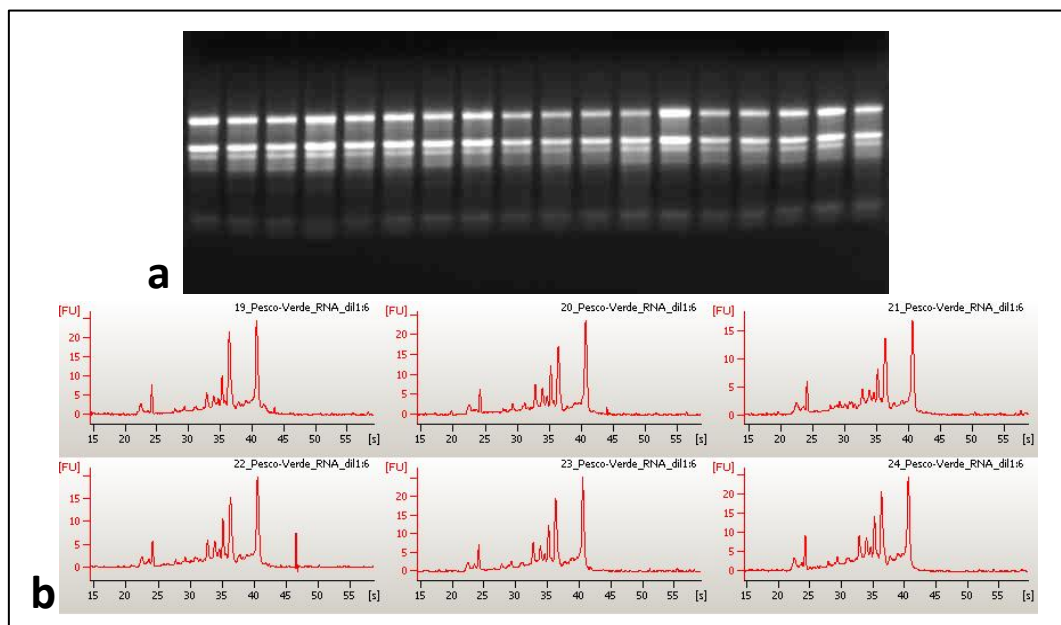


Figura 9. a. Controllo qualità di alcuni estratti di RNA totale su gel d'agarosio non denaturante.
b. Controllo qualità di alcuni estratti per elettroforesi capillare microfluidica.

Per validare l'elicitazione, è stato controllata l'induzione di alcuni geni descritti in letteratura come marcatori precoci della risposta di difesa ai patogeni in *Arabidopsis*: AtWRKY29, AtMPK3 (Navarro *et al.* 2004), AtWRKY28, AtWRKY70 (Ülker *et al.* 2004).

Ipotizzando che la funzione di questi geni in pesco sia omologa ad *Arabidopsis*, sono state estratte dal genoma le sequenze dei suddetti geni e sono stati disegnati i relativi primers (tabella 5). L'analisi di espressione mostra per la varietà resistente una chiara induzione del gene di pesco annotato come WRKY28 al tempo di analisi 3 ore (figura 10a), mentre la varietà suscettibile mantiene un basso livello di espressione e un andamento costante (figura 10 b). Tali dati, insieme alla comparsa delle tipiche zone di necrosi ipersensibile (HR) sulle foglie delle piante trattate, hanno confermato l'efficacia dell'infezione. Quindi i 24 campioni sono stati inviati presso il servizio di sequenziamento.

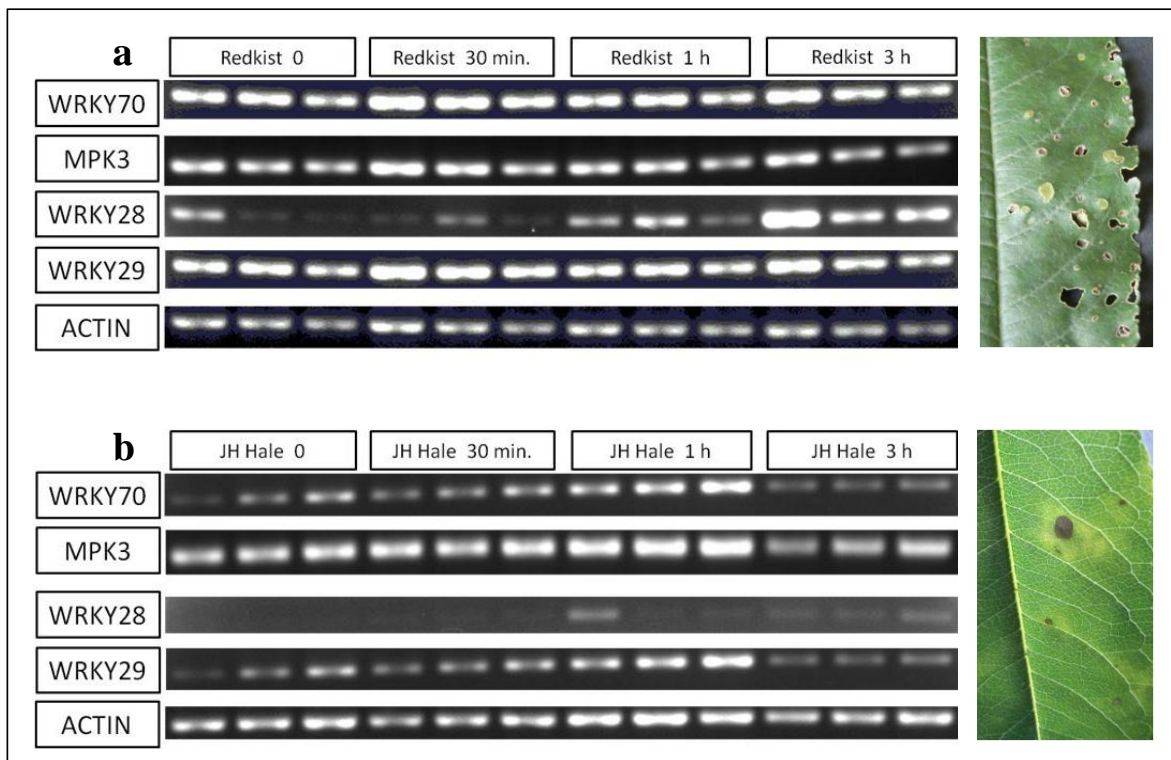


Figura 10. RT-PCR per validare l'induzione dopo infezione artificiale con Xap.

a. Redkist 0 (controllo). b. J.H. Hale 0 (controllo).

3.3. Risultati del sequenziamento NGS

Dopo il controllo qualitativo e il relativo filtraggio delle *reads* ottenute dal servizio di sequenziamento, in media 70 milioni di *single reads* per campione erano a disposizione per essere allineate sul genoma di pesco (tabelle 6.1 e 6.2). Tale profondità è più che sufficiente sia per un'analisi quantitativa dell'espressione genica sia per rilevare e quantificare anche trascritti espressi a livelli medio-bassi (Mortazavi *et al.* 2008). Stimando la dimensione media delle *reads* selezionate e manipolate in 45 nucleotidi, sono state impiegate per le analisi successive circa 80,6 Gigabasi totali. Tali *reads* presentavano elevati *Quality score* per base, mentre la percentuale globale di basi indeterminate (N) era complessivamente inferiore a 0,1% (tabelle 6.1 e 6.2); il valore della percentuale di CG è stato in media 44,9%.

Tabella 6.1 Statistiche delle *reads* dopo selezione e *trimming* impiegate per l'RNA-Seq.

Redkist (resistente)	0 (controlli)*	30 mpi*	1 hpi*	3 hpi*
N. medio di <i>reads</i> totali	62.819.899	67.976.869	54.866.377	79.338.578
% GC media	45,43	44,65	45,01	44,54
Q score medio/base	39,76	39,13	38,70	39,10
% di N media	0,01	0,01	0,01	0,01

*(numeri risultanti dalla media delle repliche biologiche)

Tabella 6.2 Statistiche delle *reads* dopo selezione e *trimming* impiegate per l'RNA-Seq.

J.H. Hale (suscettibile)	0 (controlli)*	30 mpi*	1 hpi*	3 hpi*
N. medio di <i>reads</i> totali	75.089.086	61.070.474	75.379.156	79.528.480
% GC media	45,09	44,96	44,56	44,97
Q score medio/base	39,41	38,85	39,05	38,79
% di N media	0,01	0,01	0,01	0,01

*(numeri risultanti dalla media delle repliche biologiche)

3.4. RNA-Seq

Alla fine del processo di allineamento, in media l'84,7% delle *reads* sono state mappate sul genoma; fra queste in media il 94,6% sono state allineate in posizioni uniche, mentre soltanto il 5,4% sono state mappate in posizioni multiple (tabelle 7.1 e 7.2).

Delle *reads* mappate, in media il 93,3% è stato allineato in regioni esoniche, mentre il restante 6,7% è stato allineato in regioni introniche (tabelle 7.1 e 7.2). Questa percentuale di *reads* introniche ha una duplice spiegazione. Una parte di queste *reads* ha rilevato la presenza di nuovi esoni putativi che erano stati predetti come sequenze introniche, mentre queste regioni fanno parte degli esoni che effettivamente compongono il messaggero. Una seconda parte delle *reads* ha rilevato, e quindi sequenziato, un frammento di cDNA derivato da mRNA non maturi, i quali presentavano la sequenza poly(A)⁺ -per tale ragione sono stati presumibilmente purificati durante le fasi di preparazione della *library*- ma non avevano completato il processo di *splicing* responsabile dell'eliminazione degli introni.

Tabella 7.1 Statistiche delle *reads* allineate sul genoma di pesco (RNA-Seq).

Redkist (resistente)	0 (controlli)*	30 mpi*	1 hpi*	3 hpi*
N. medio di <i>reads</i> mappate	50.705.482	59.149.178	46.833.497	69.811.728
% media di <i>reads</i> mappate	80,72	87,01	85,36	87,99
N. medio di <i>reads</i> uniche	48.038.354	56.396.789	44.399.520	65.517.046
N. medio di <i>reads multimatch</i>	2.667.128	2.752.389	2.433.978	4.294.682
N. medio di <i>reads</i> non mappate	12.114.417	8.827.691	8.032.879	9.526.849
N. medio di <i>reads</i> esoniche	47.311.717	55.028.495	43.956.546	65.394.704
% media <i>reads</i> esoniche	93,30	93,04	93,85	93,66
N. medio di <i>reads</i> introniche	3.393.765	4.120.683	2.876.951	4.417.025
% media di <i>reads</i> introniche	6,70	6,96	6,15	6,34
N. medio nuovi esoni putativi	3.759	3.734	3.325	4.255

*(numeri risultanti dalla media delle repliche biologiche)

Tabella 7.2 Statistiche delle *reads* allineate sul genoma di pesco (dati medi tra le repliche biologiche).

J.H. Hale (suscettibile)	0 (controlli)*	30 mpi*	1 hpi*	3 hpi*
N. medio di <i>reads</i> mappate	61.823.628	51.910.034	64.031.683	66.969.655
% media di <i>reads</i> mappate	82,33	85,00	84,95	84,21
N. medio di <i>reads</i> uniche	58.542.965	49.208.639	60.486.676	63.110.261
N. medio di <i>reads multimatch</i>	3.280.663	2.701.395	3.545.007	3.859.394
N. medio di <i>reads</i> non mappate	13.265.458	9.160.440	11.347.473	12.558.825
N. medio di <i>reads</i> esoniche	57.522.093	48.388.841	59.542.278	62.561.679
% media <i>reads</i> esoniche	93,04	93,23	92,98	93,41
N. medio di <i>reads</i> introniche	4.301.534	3.521.193	4.489.405	4.407.976
% media di <i>reads</i> introniche	6,96	6,77	7,02	6,59
N. medio nuovi esoni putativi	4.163	3.605	4.354	4.211

*(numeri risultanti dalla media delle repliche biologiche)

Le analisi di RNA-Seq hanno permesso inoltre di identificare un numero medio di nuovi esoni putativi per allineamento pari a una media di 3.926 per campione; tali esoni non erano stati annotati dal processo di predizione *ab initio* effettuato sulla sequenza del genoma. Come esempio, la figura 11a mostra delle *reads* mappate in una regione genica, la freccia evidenzia una putativa sequenza esonica annotata come intronica; parimenti la figura 11b mostra analogo rilevazione effettuata su una putativa sequenza 3'-UTR del messaggero. Queste analisi strutturali sul trascrittoma di foglia di pesco hanno evidenziato la possibilità futura di impiegare tali *reads* e per migliorare l'annotazione del genoma disponibile, sia per individuare sperimentalmente (e non predire *in silico*) i siti d'inizio alternativi della trascrizione dei singoli geni, sia gli eventuali trascritti alternativi espressi dal singolo gene, che eventuali siti di stop alternativi per le unità trascrizionali; potenziali siti di RNA editing confrontando la sequenza genica e quella del messaggero.

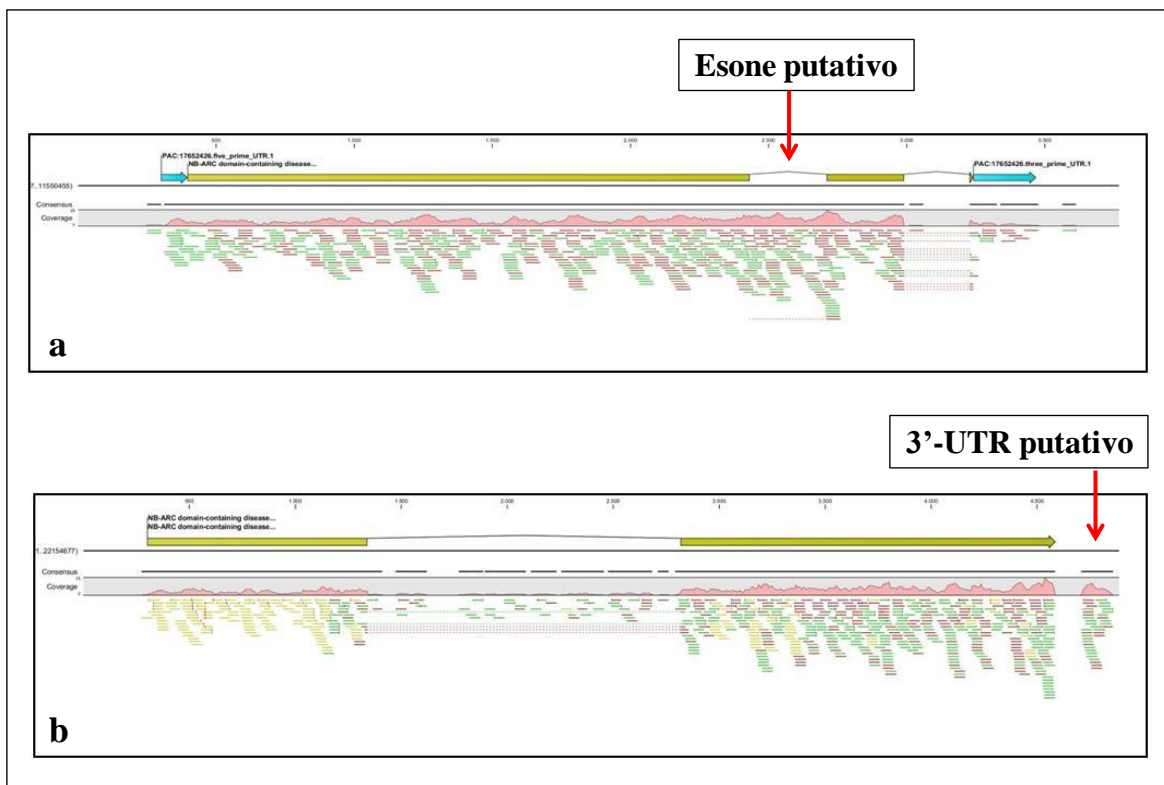


Figura 11. Regioni esoniche rilevate dall'analisi di RNA-Seq.

- a. Esone putativo nella sequenza intronica.**
- b. Esone putativo nella regione 3'-UTR.**

Per comprendere il significato biologico delle *reads* non allineate sul genoma di pesco, queste sono state usate in un processo di assemblaggio *de novo*; i contigui derivati da questo assemblaggio sono stati successivamente impiegati per interrogare la banca dati GenBank (NCBI) tramite il motore di allineamento BLAST e così identificare l'origine di queste *reads*. La grande maggioranza dei contigui è stata allineata ai genomi extranucleari vegetali e una minima parte a genomi procariotici (dati non mostrati). Questa evidenza suggerisce che una successiva analisi delle *reads* generate in questo lavoro potrebbe essere realizzata allineandole sul genoma di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, per capire quali effettori sono sintetizzati dal batterio in seguito al contatto con i tessuti di pesco (Kawahara *et al.*, 2012).

L'RNA-Seq, oltre a fornire informazioni di tipo strutturale, presenta il notevole vantaggio di stimare quantitativamente i livelli di espressione dei singoli geni, infatti, è stato possibile quantificare l'espressione dei geni presenti in tutti i 24 campioni. Per questo

scopo il software CLC-Genomics stima il numero di *reads* per kilobase esonica per milione di *reads* mappate (RPKM) proposto da Mortazavi e collaboratori (2008), per normalizzare la stima quantitativa sia in relazione alla profondità di sequenziamento della *library* sia alla lunghezza del trascritto sequenziato, e quindi, permette di effettuare dei confronti diretti tra differenti geni all'interno del campione e tra i campioni. Mediante questo parametro è stata rilevata l'espressione di 20.837 geni che corrisponde al 75% dei 27.864 predetti. La distribuzione dei livelli di espressione per classi (tabella 8.1 e 8.2) evidenzia e conferma anche in foglia di pesco che la maggioranza dei geni (88,5%) è espressa a livelli intermedi e bassi, mentre soltanto l'11,5% è espressa a livelli elevati. Il livello minimo di espressione rilevato è stato 0 ed il massimo è stato 12.631,62 RPKM per il gene codificante per una metallotioneina di 'Redkist' (ppa014506m).

Tabella 8.1 Espressione rilevata dei geni per classi di livello.

Redkist (resistente)	n. medio geni
RPKM<1	5.809
1<RPKM<5	3.433
5<RPKM<10	2.507
10<RPKM<50	6.542
50<RPKM<100	1.465
100<RPKM<1000	1.101
RPKM>1000	66

Tabella 8.2 Espressione rilevata dei geni per classi di livello.

J.H. Hale (suscettibile)	n. medio geni
RPKM<1	5.897
1<RPKM<5	3.361
5<RPKM<10	2.452
10<RPKM<50	6.733
50<RPKM<100	1.476
100<RPKM<1000	1.092
RPKM>1000	60

3.5. Espressione differenziale

3.5.1. Controllo qualità

Prima di eseguire le analisi di espressione differenziale, i dati di conteggio dei 24 campioni sono stati valutati per effettuare il controllo qualità. Lo scopo di tale valutazione era ottenere una visione globale della similarità di tutti i 12 campioni appartenenti allo stesso *time course* (controlli inclusi) per ogni varietà, per verificare l'eventuale presenza di *outlier* all'interno delle repliche biologiche. L'analisi multivariata delle componenti principali (PCA) e dei cluster formati dai campioni derivati da 'Redkist' ha evidenziato sovra-disperzione delle repliche appartenenti ai medesimi *time point* (figura 12 e 13); il livello di tale dispersione era tale da inserire una distorsione significativa nei risultati delle analisi successive.

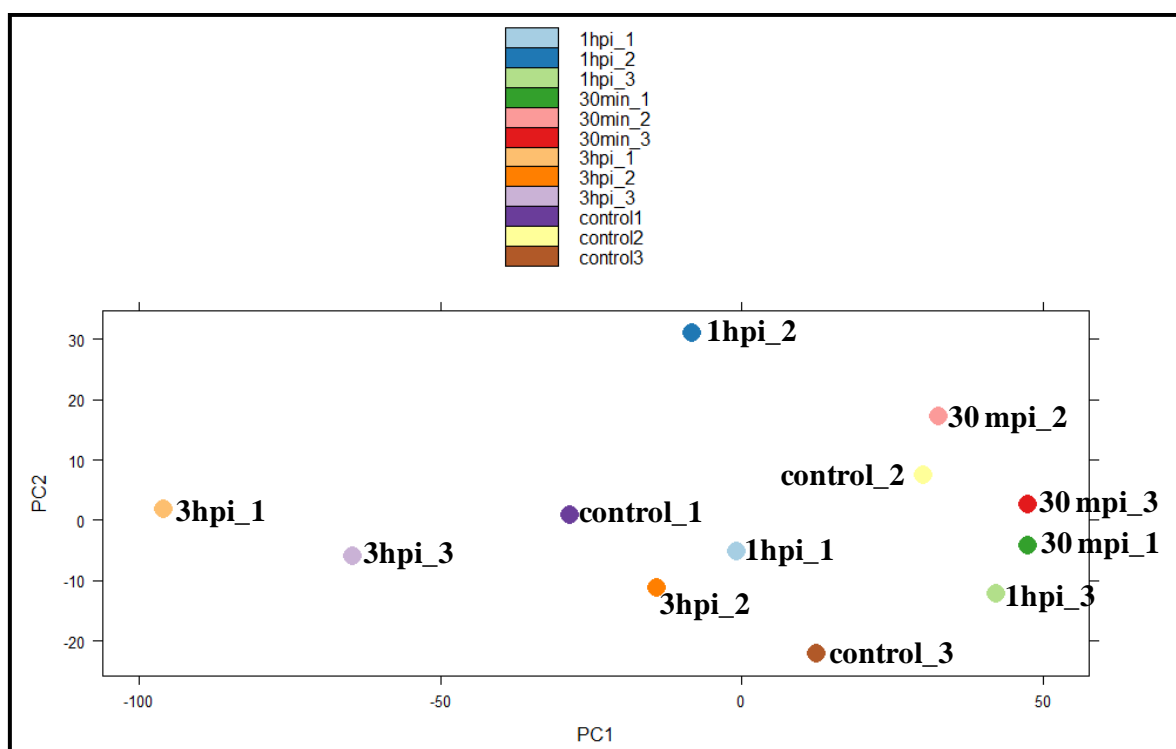


Figura 12. Grafico delle componenti principali di tutti i campioni di 'Redkist'.

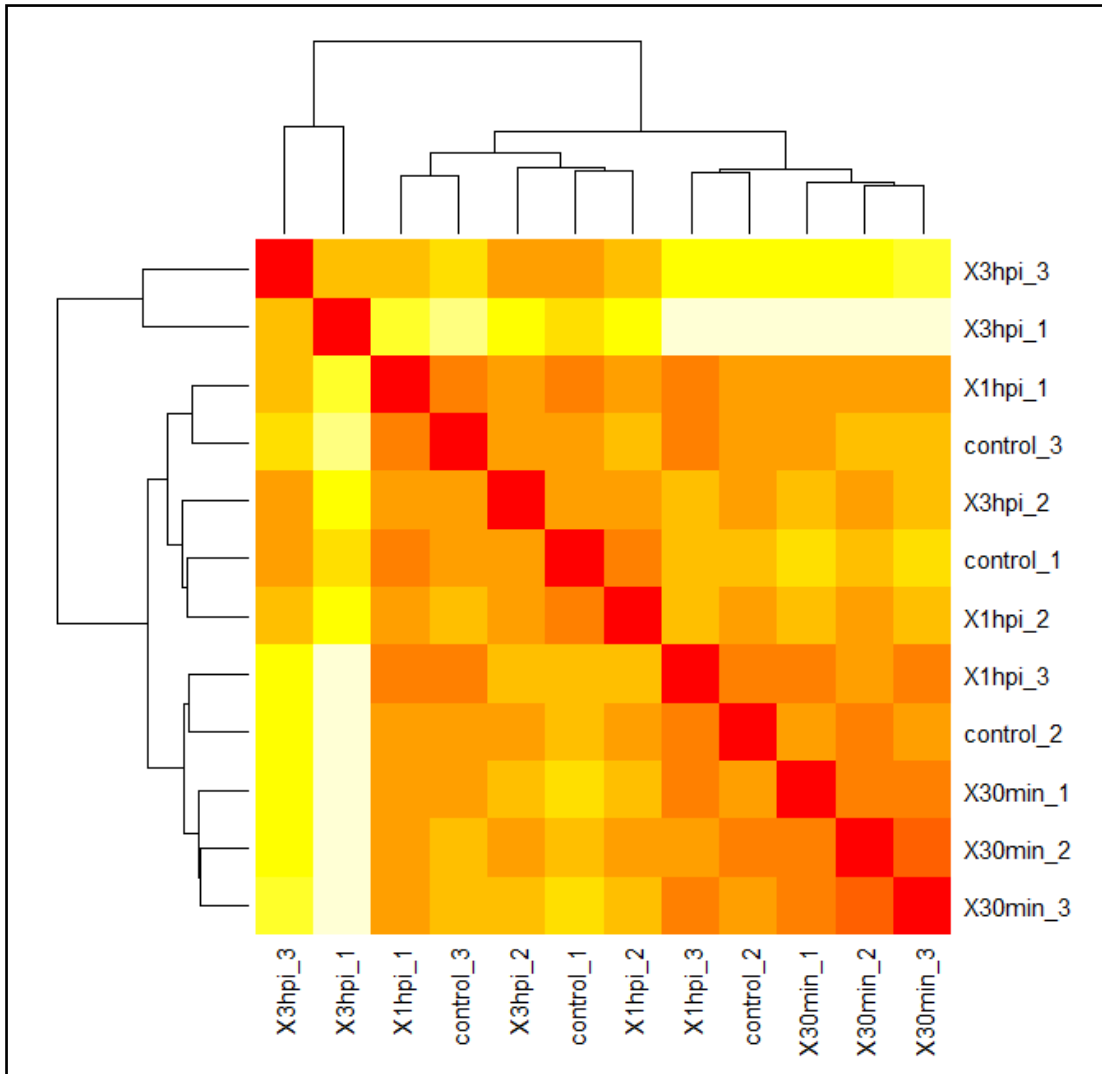


Figura 13. Heatmap della distanza Euclidea tra tutti i campioni di 'Redkist'.

Per tanto sono stati eliminati i dati appartenenti ad una replica per ogni tempo di analisi al fine di ottenere un *dataset* con due repliche biologiche per tempo, maggiormente omogeneo tra le repliche (figure 14 e 15).

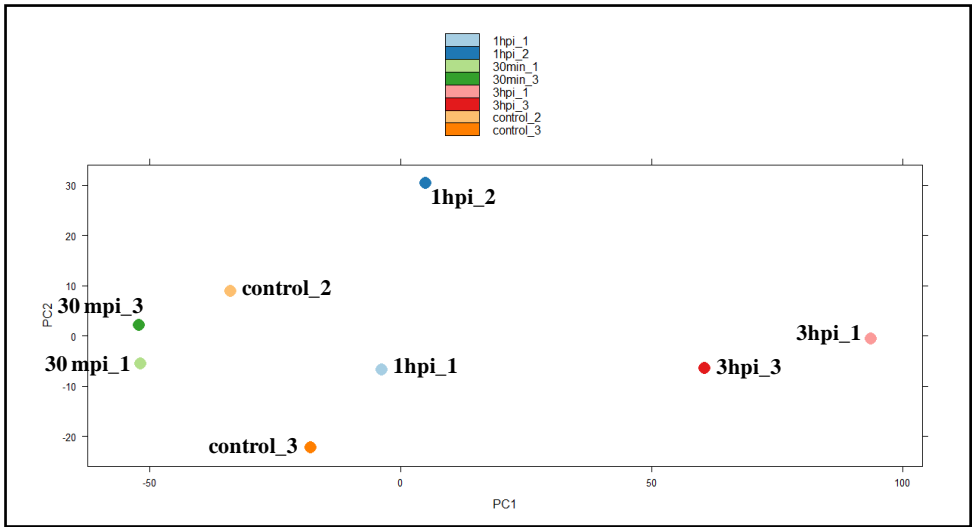


Figura 14. Grafico delle componenti principali dei duplicati biologici selezionati per l'analisi statistica ('Redkist').

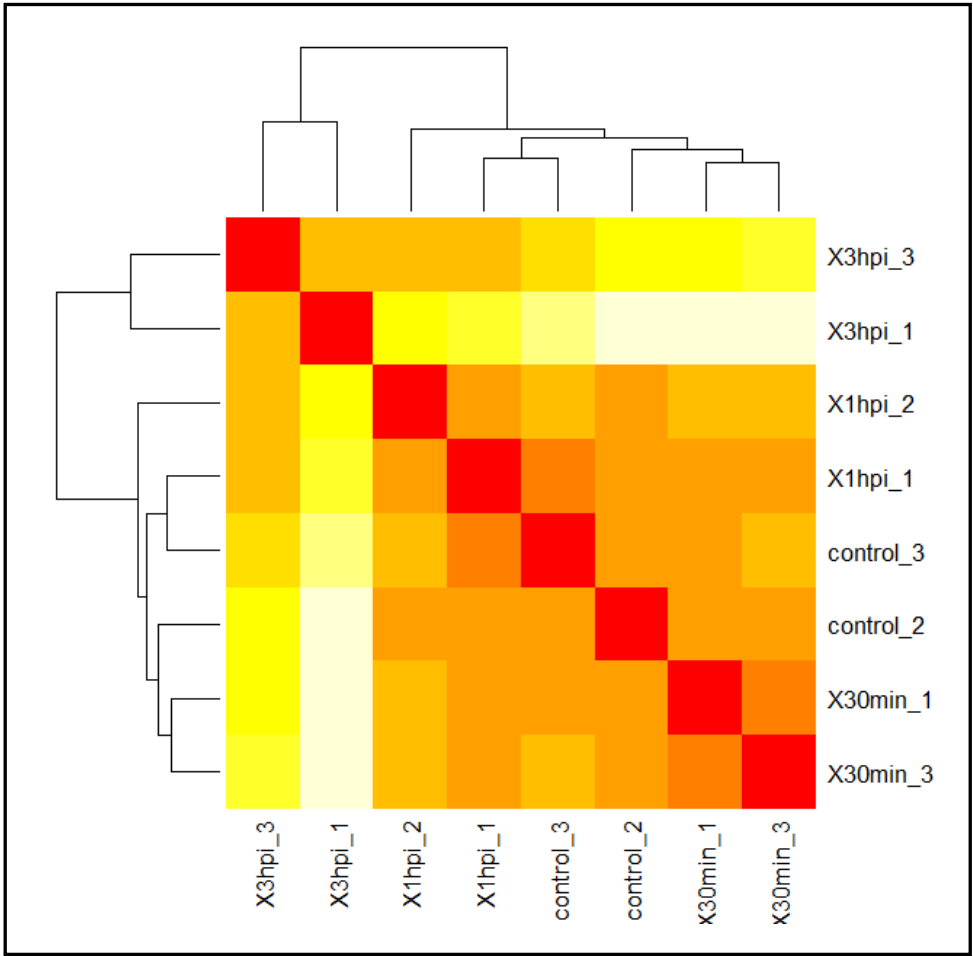


Figura 15. Heatmap della distanza Euclidea tra i duplicati biologici selezionati per l'analisi statistica ('Redkist').

Il controllo qualità del *dataset* completo di ‘J.H. Hale’ ha evidenziato minore dispersione tra le repliche biologiche rispetto a ‘Redkist’ (figure 16 e 17).

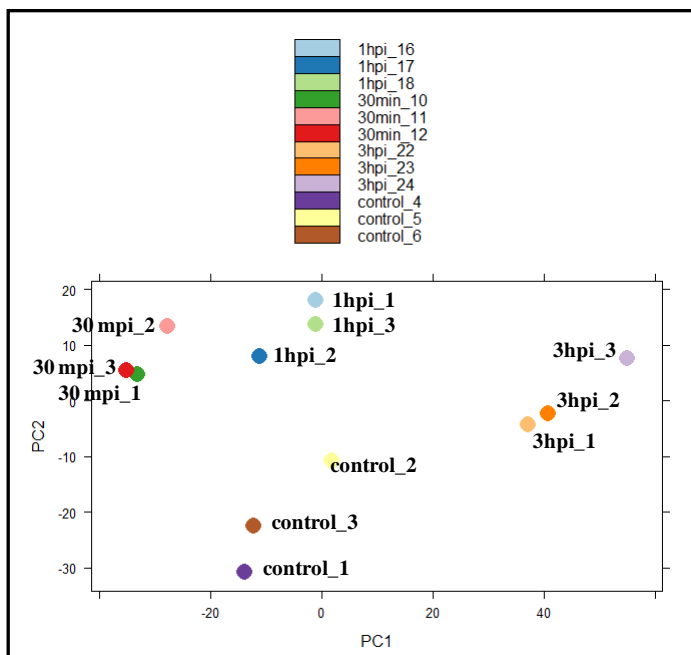


Figura 16. Grafico delle componenti principali di tutti i campioni di ‘J.H. Hale’.

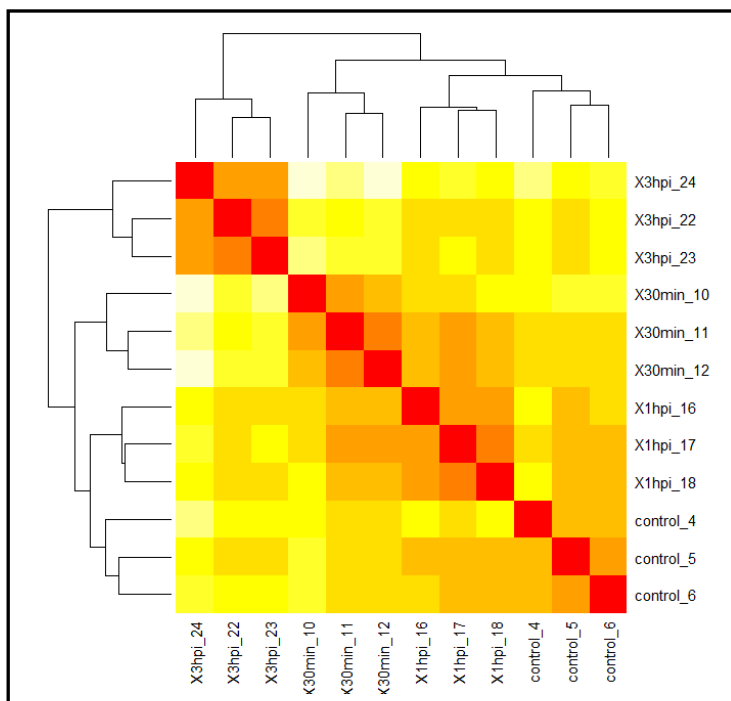


Figura 17. Heatmap della distanza Euclidea tra tutti i campioni di ‘J.H. Hale’.

Si è comunque proceduto con lo stesso tipo di selezione effettuata sui dati di ‘Redkist’ per omogeneità delle analisi. Il controllo finale della variabilità tra le repliche biologiche selezionate ha confermato che queste rispettavano i requisiti per la successiva analisi di espressione differenziale (figura 18 e 19).

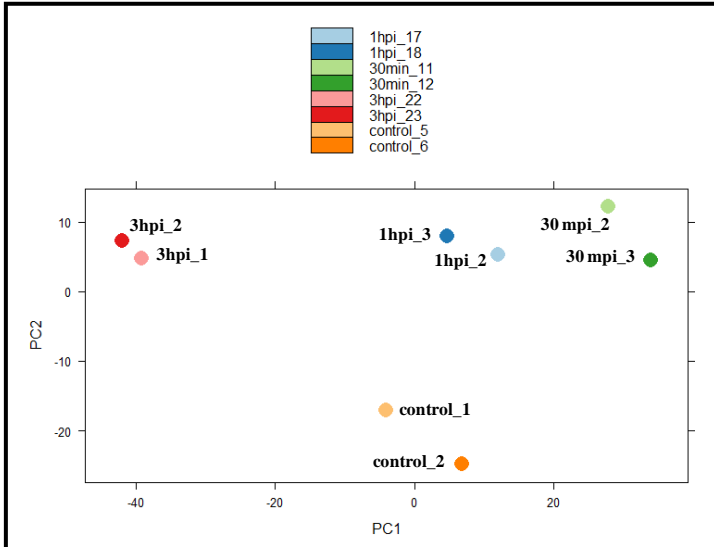


Figura 18. Grafico delle componenti principali dei duplicati biologici selezionati per l’analisi statistica (‘J.H. Hale’).

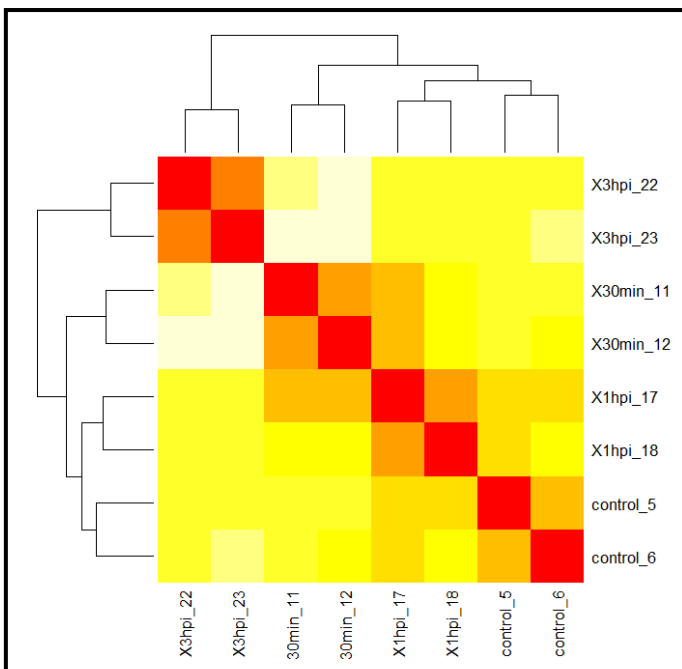


Figura 19. Heatmap della distanza Euclidea tra i duplicati biologici selezionati (‘J.H. Hale’).

3.5.2. I trascrittomi: resistente vs. suscettibile

L'analisi di espressione differenziale, in tutti i *time point* confrontati con il relativo controllo, ha evidenziato che a tre ore dall'infezione il maggior numero di geni regolati sia in 'Redkist' (figura 20).

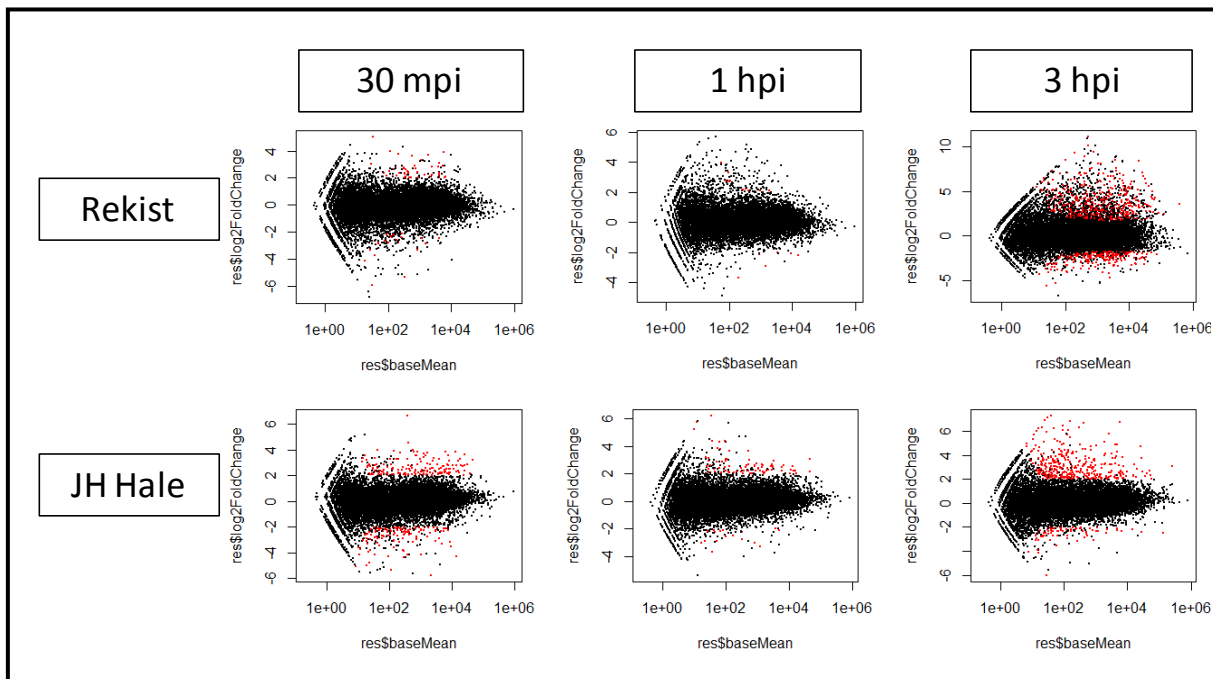


Figura 20. MA plot dei geni significativamente regolati rispetto al controllo (visualizzati come punti rossi). [$\log_2 fold change > 2$, $\log_2 fold change < -2$, $padj < 0,05$]

Analizzando il numero di geni regolati è interessante notare che, nelle primissime fasi di contatto (30 mpi e 1 hpi), 'J.H. Hale' (suscettibile) rimodula l'espressione di 290 e 100 geni complessivamente, mentre 'Redkist' (resistente) di 71 e 18 geni rispettivamente. Al contrario, dopo tre ore è la riprogrammazione genica di quest'ultima a essere più estesa interessando 714 geni contro i 448 della prima (tabella 9 e figura 21).

Tabella 9. Riprogrammazione trascrizionale nel tempo: 'Redkist' vs 'J.H. Hale'

	GENI REGOLATI					
	'Redkist'			'J.H. Hale'		
	30 mpi	1 hpi	3 hpi	30 mpi	1 hpi	3 hpi
n. geni up-regolati	43	10	445	160	80	364
n. geni down-regolati	24	6	186	125	19	73
n. geni accesi	1	1	77	-	1	9
n. geni spenti	3	1	6	5	-	2

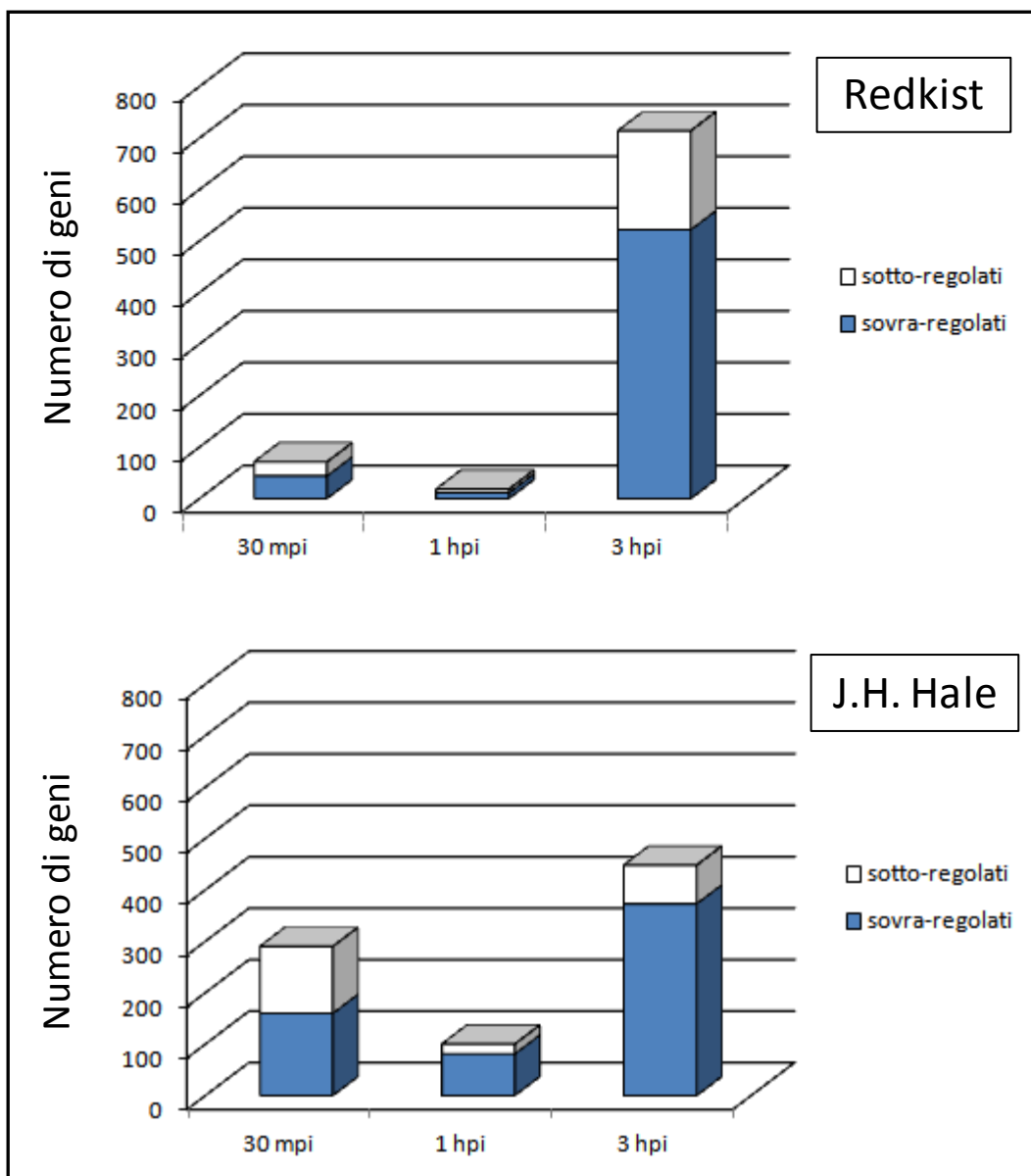


Figura 21. Numero di geni regolati da Redkist e J.H. Hale ad ogni tempo di analisi rispetto al controllo. Sovra-regolati (up-regolati + accesi); sotto-regolati (down-regolati + spenti).

Nel complesso questi dati sul numero di geni regolati evidenziano l'andamento della risposta nelle prime ore di contatto, in quanto sia la varietà resistente sia la suscettibile reagiscono già dopo 30 minuti iniziando a riprogrammare il trascrittoma, tale attività subisce una riduzione nel numero dei geni complessivi interessati dopo 1 ora, ed infine la riprogrammazione diventa estesa a 3 hpi. Quindi, in questo patosistema, la risposta trascrizionale all'infezione si manifesta in modo deciso a 3 hpi con una netta prevalenza a favore della varietà resistente. Questi dati sulla cinetica di attivazione del trascrittoma sono

in accordo con quanto riportato in letteratura (Ramonell *et al.*, 2002; Navarro *et al.*, 2004; Truman *et al.*, 2006).

3.5.3. Geni fortemente up-regolati

Dall'osservazione dei geni maggiormente up-regolati (*fold change* > 100) a 3 ore, è stata rilevata un'ulteriore differenza nella risposta attivata dalle due varietà. In 'Redkist' (tabella 10) sono stati rilevati 31 geni con *fold change* che vanno da 101,4x (ppa004445m) fino al massimo di 2.215,8x (ppa026872m); di questi, il 61% sono direttamente coinvolti nella risposta agli stress e ai patogeni. Tra questi sono stati rilevati: fattori di trascrizione annotati come WRKY 75 (ppa012414m) e DRE *binding factor* 2 (ppa015643m); geni coinvolti in vie di trasduzione del segnale: MAPKKK15 (ppa006485m) e Transducina/WD40-simile (ppa017145m); enzimi appartenenti a vie biosintetiche di ormoni coinvolti nelle risposte a stress come ACC sintasi 1 (ppa004774m), lipossigenasi 1 (ppa001216m), fosfolipasiA 2 (ppa026872m); geni coinvolti nel metabolismo secondario: mono-ossigenasi/citocromo P450 (ppa004569m, ppa004095m, ppa021326m) e terpene sintasi (ppa003380m, ppa016292m, ppa023341m); proteine di difesa PR (ppa009384m, ppa010729m, ppa018623m), ed *elicitor activated gene* 3/ELI3 (ppa007615m, ppa021232m, ppa007627m). Al contrario in 'J.H. Hale' dopo 3 ore (tabella 11) i geni altamente sovra-regolati sono soltanto 6; il *fold change* massimo di 152,8 è stato rilevato per il gene di DNA topo isomerasi 1 beta (ppa019677m).

Nel complesso questi dati sui geni fortemente indotti suggeriscono che, a tre ore dal contatto col patogeno, oltre ad un numero totale superiore di geni, la varietà resistente risponda con un'induzione più intensa di geni coinvolti nella difesa.

Tabella 10. Geni up-regolati in Redkist 3 hpi, fold change > 100.

Gene ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa004774m	ACS1	ACC synthase 1	146,0
ppa018972m	ACA4	autoinhibited Ca(2+)-ATPase, isoform 4	110,6
ppa007004m	CHY1	beta-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 1	354,3
ppa015643m	CBF2	C-repeat/DRE binding factor 2	477,9
ppa021326m	CYP79B3	cytochrome P450, family 79, subfamily B	106,9
ppa004095m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G	126,7
ppa004569m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G	101,5
ppa007627m	ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	1.100,7
ppa021232m	ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	269,7
ppa007615m	ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	137,4
ppa010831m	ERD9	Glutathione S-transferase family protein	125,0
ppa005318m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family protein	111,0
ppa001216m	ATLOX1,LOX1	lipoxigenase 1	201,0
ppa004445m	ATTT12,TT12	MATE efflux family protein	101,4
ppa006485m	MAPKKK15	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15	131,8
ppa010133m		NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein	355,4
ppa013491m		No annotation	286,0
ppa018623m		pathogenesis-related protein	159,9
ppa010729m		pathogenesis-related protein	127,6
ppa009384m		Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein	105,7
ppa026872m	PLA2A	phospholipase A 2A	2.215,8
ppa009630m	PIP2;5,PIP2D	plasma membrane intrinsic protein 2;5	125,5
ppa012865m		RING/U-box superfamily protein	154,4
ppa020145m		RNA 3'-phosphate cyclase/enolpyruvate transferase	125,4
ppa023986m		S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases	124,8
ppa023341m	TPS03	terpene synthase 03	340,4
ppa016292m	TPS03	terpene synthase 03	187,4
ppa003380m	TPS14	terpene synthase 14	137,1
ppa017145m	LWD1	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein	197,1
ppa025605m	UGT85A7	UDP-glucosyl transferase 85A7	656,8
ppa012414m	WRKY75	WRKY DNA-binding protein 75	706,7

Tabella 11. Geni up-regolati in JH Hale 3 hpi, fold change > 100.

Gene ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007488m	OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	118,7
ppa015919m	BG5	beta-1,3-glucanase 5	138,0
ppa021326m	CYP79B3	cytochrome P450, family 79, subfamily B	103,0
ppa019677m	TOP1BETA	DNA topoisomerase 1 beta	152,8
ppa007627m	ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	116,0
ppa023341m	TPS03	terpene synthase 03	107,3

3.5.4. Percezione e trasduzione del segnale

A livello cellulare le piante esprimono diversi e sofisticati sistemi di percezione per rilevare i patogeni sin dalle prime fasi dell'infezione. I recettori batterici maggiormente caratterizzati sono FLS2 per la flagellina ed EFR per EF-Tu in *Arabidopsis* (Gomez-Gomez and Boller, 2000; Kunze *et al.*, 2004). Mentre nel genoma di *Arabidopsis* tali geni sono presenti in singola copia, nel genoma del pesco sono stati annotati *in silico* 3 omologhi putativi di FLS e 8 di EFR. Nelle analisi di RNA-Seq generate è stata rilevata in foglia l'espressione di 2 geni FLS2-simile (ppa1027223m, ppa000470m) e di 3 EFR-simile (ppa020518m, ppa018998m, ppa023770m). L'analisi di espressione differenziale non ha rilevato alcuna regolazione a carico dei geni codificanti questi recettori in nessuna delle due varietà nei tempi analizzati fino ad ora. Poiché è stato osservato in *Arabidopsis* che l'espressione genica di questi due recettori aumenta in seguito alla risposta innescata dal legame con il relativo ligando, analogamente a quanto avviene anche in soia dopo l'infezione di *X. axonopodis* pv. *glycine* (Zipfel *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2011), sarebbe interessante valutare l'espressione di questi recettori anche nei tempi di analisi successivi alle 3 ore.

Un gruppo diverso di RLK è stato rilevato invece differenzialmente up-regolato tra 'Redkist' e 'J.H. Hale' al tempo 3 ore (tabelle 4.1.1 e 4.5.1 in appendice), le *cysteine-rich* RLK: CRK2, CRK25 (ppa022817m, ppa026781m), sovra-esprese dalla varietà resistente ma non dalla suscettibile, e CRK42 (ppa002530) che era sovra-espressa in entrambe le varietà con un *fold change* superiore in 'Redkist' (10,2x vs. 6,6x). I geni CRK sono un'ampia famiglia di 40 membri in *Arabidopsis*. Alcuni di essi sono coinvolti anche nella risposta di difesa, in quanto sono up-regolati in seguito ad infezione batterica, trattamento

con acido salicilico, H₂O₂ (Czernik *et al.*, 2000) e, se espressi a livelli elevati, correlano positivamente con la resistenza a *Pseudomonas syringae* e con l'induzione della risposta ipersensibile (Chen *et al.*, 2003).

Tramite queste analisi è stato possibile analizzare anche il sistema di percezione costituito dai geni di resistenza (NBS-LRR) in grado di riconoscere gli effettori e attivare la risposta ipersensibile o HR (Dangl and Jones, 2001). Durante il *time course* entrambe le varietà hanno evidenziato che i geni Analoghi a Geni di Resistenza (RGA) regolati sono numerosi sin dalle prime fasi di contatto (tabelle 4.1.1, 4.1.3, 4.5.1, 4.5.2, 4.5.3). Questi sono complessivamente 9 in 'Redkist' (ppa000828m, ppa001501m, ppa019012m, ppa019283m, ppa020033m, ppa021062m, ppa022914m, ppa026111m, ppa026276m) e 26 in 'J.H. Hale' (ppa000489m, ppa000577m, ppa000828m, ppa001497m, ppa001610m, ppa014877m, ppa014887m, ppa017937m, ppa018595m, ppa018964m, ppa019012m, ppa019283m, ppa021062m, ppa021102m, ppa021560m, ppa021903m, ppa022914m, ppa022940m, ppa023486m, ppa023503m, ppa023909m, ppa025757m, ppa026111m, ppa026334m, ppa026627m, ppa1027137m); di questi, 6 sono up-regolati da entrambe. Anche se, paradossalmente, la varietà suscettibile ne attiva un numero superiore, fra questi è molto probabile che non sia regolato alcuno dei determinanti della resistenza di pesco a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, perché numerose evidenze dimostrano che l'espressione dei geni di resistenza in seguito all'attivazione è regolata da un meccanismo di *splicing* alternativo e non di attivazione trascrizionale (Dinesh-Kumar and Baker, 2000; Zhang and Gassmann, 2007; Tang *et al.*, 2013).

Una delle caratteristiche dell'RNA-Seq è poter rilevare anche le modifiche strutturali del trascrittoma, quindi le *reads* generate in questo studio potranno essere impiegate anche per identificare eventuali trascritti alternativi differenziali dei geni R espressi dalle due varietà durante il processo infettivo.

In seguito alla percezione del patogeno, sono attivate dalla pianta molteplici proteine che agiscono nelle vie di trasduzione del segnale. Nel patosistema analizzato sono up-regolati numerosi geni codificanti per protein chinasi, protein chinasi calcio-dipendente, proteine calmodulina-simile, o leganti la calmodulina, MAP chinasi chinasi chinasi (MAP3K), proteine con domini ricchi in ripetizione di leucine (LRR), serina/treonina chinasi, trasduttore/WD-40 simile. Al tempo di analisi 3 hpi (tabelle 4.1.1, 4.2.1, 4.5.1, 4.6.1) entrambe le varietà sovra-regolano un numero simile di geni (50 in 'Redkist', 53 in

‘J.H. Hale’). Per cui, dopo 3 hpi, non esiste una differenza netta nella rimodulazione del sistema di segnalazione fra l’interazione compatibile rispetto all’incompatibile. È interessante notare che a 3 ore entrambe le varietà sovra-esprimono la MAP3K 15 (ppa006485m), ciò che le differenzia è l’intensità d’induzione che in ‘Redkist’ è 131,8x e in ‘J.H. Hale’ è di 43,3x. Inoltre al time point 3 hpi ‘Redkist’ down-regola la MAPK 19 (ppa003651m) di -5,6x e ‘J.H. Hale’ riduce l’espressione della MAP3K 19 (ppa018893m) di -4,7x.

3.5.5. Fattori di trascrizione

Molti dei target delle vie di trasduzione del segnale è costituito dai fattori di trascrizione per rimodulare il trascrittoma. Infatti, già durante le fasi precoci d’infezione (0-3 hpi), entrambe le varietà modulano l’espressione di 33 fattori di trascrizione appartenenti alle famiglie geniche WRKY (3 geni), MYC (4 geni), MYB (15 geni), bZIP (3 geni), bHLH (8 geni).

Particolarmente interessante, specialmente confrontando il comportamento delle due varietà, è l’espressione dei fattori di trascrizionali WRKY. La famiglia genica di cui fanno parte questi modulatori della trascrizione è composta da 75 membri in *Arabidopsis* e 60 in pesco. In *Arabidopsis* è noto il coinvolgimento di tali geni nella risposta a stress abiotici e biotici sia come attivatori sia come repressori trascrizionali (Chen *et al.*, 2012; Pandey and Somssich, 2009) coinvolti nella resistenza ai patogeni (Asai *et al.*, 2002). A tre ore dal contatto esclusivamente ‘Redkist’ up-regola l’espressione di WRKY 28 (ppa024027m) di 7,4x; entrambe le varietà incrementano l’espressione di WRKY75 (ppa012414m) differenziandosi per i livelli di induzione (‘Redkist’ 706,7x; ‘J.H. Hale’ 4,6x); e infine soltanto la varietà suscettibile incrementa l’espressione di un secondo gene annotato come WRKY75 (ppa012414m) di 4,6x.

Il gene WRKY28 viene up-regolato in *Arabidopsis* dal trattamento con flg22 (Navarro *et al.*, 2004) e dall’infiltrazione di *Pseudomonas syringae* (Dong *et al.*, 2003; Truman *et al.*, 2006). Tale fattore è inoltre un attivatore trascrizionale della isocorismato sintasi (ICS), l’enzima di controllo di una delle due vie biosintetiche dell’acido salicilico (van Verk *et al.*, 2011); l’ormone principale associato alla risposta ipersensibile che la varietà resistente manifesta in risposta a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Gli esperimenti di Kim *et al.* (2009) e di Taylor *et al.* (2012), i quali hanno dimostrato che l’effettore XopN di

Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria* (Xcv) riduce i livelli dell'RNA messaggero di WRKY28 in pomodoro, rafforzano ulteriormente il ruolo chiave di WRKY 28 nella resistenza a Xap.

Benché WRKY 75 sia associato, in *Arabidopsis*, alla resistenza agli stress abiotici (Chen *et al.*, 2012), è stato riportato da Thilmoney *et al.* (2006) che *Arabidopsis* up-regola WRKY75 in seguito all'interazione con *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. Considerato anche il forte livello di induzione di WRKY 75 (ppa012414m) nella varietà resistente (tabella 10), è ipotizzabile il coinvolgimento di ppa012414m, uno dei 4 paraloghi putativi presenti nel genoma di pesco come WRKY75 (ppa012414m, ppa012514m, ppa016153m, ppa016459m, ppa026260m), nell'interazione pesco/Xap.

3.5.6. Ormoni coinvolti nella resistenza

Gli ormoni etilene, acido giasmonico, acido salicilico sono alcuni degli ormoni coinvolti nella regolazione degli stress e della risposta ai patogeni. L'estensivo *cross-talk* tra i segnali originati da questi ormoni permette alla pianta l'aggiustamento fine della risposta contro differenti tipi di patogeni (Pieterse *et al.*, 2012).

Durante tutta la finestra temporale analizzata, entrambe le varietà hanno potenziato l'espressione di numerosi geni coinvolti nella biosintesi dell'etilene (4), acido giasmonico (18), e acido salicilico (3), manifestando una sostanziale equivalenza nel numero dei geni regolati per quel che riguarda l'etilene e il giasmonico, ma con qualche differenza significativa per la biosintesi dell'acido salicilico. Mentre dal punto di vista quantitativo l'induzione è generalmente superiore in 'Redkist' con picchi di induzione pari a 146x per la ACC sintasi (ppa004774m) e 201x per la lipossigenasi 1 (ppa001216m).

È interessante paragonare la differente induzione dei geni direttamente coinvolti nella biosintesi dell'acido salicilico (Chen *et al.*, 2009) nelle due varietà. I dati ottenuti indicano che 'Redkist' sovra-esprime due geni codificanti per la fenilalanina ammonio liasi (PAL 1) ppa002328m e ppa002099m con un *fold change* di 17x e 26,7x, mentre 'J.H. Hale' soltanto ppa002099m e ad un livello inferiore di induzione (19,2x). Si deve inoltre ricordare che in 'Redkist', al tempo 3hpi, viene indotto anche il fattore di trascrizione WRKY 28 che, legando il promotore della isocorismato sintasi (van Verk *et al.*, 2011), potenzia l'espressione della ICS che controlla una seconda via biosintetica per l'acido salicilico (van Verk *et al.*, 2011) in aggiunta alla via controllata della PAL 1. In questo scenario emerge

un quadro ormonale complesso, ove a 3 hpi i tessuti della varietà resistente iniziano una fase di transizione volta a modificare l'equilibrio ormonale, al fine di spostare la reazione di difesa verso la risposta mediata dall'acido salicilico, indispensabile per sviluppare la HR (Chen *et al.*, 2009). Tale ipotesi è supportata dagli esperimenti di Martinez *et al.* (2000) nel patosistema cotone/*Xanthomonas campestris* pv. *malvacea rum*, dove il cotone resistente, che reagisce manifestando HR, accumula sia acido giasmonico sia salicilico con una cinetica che fa registrare un primo picco di giasmonico a 2 hpi ed un successivo picco di salicilico, più intenso, a 6 hpi. Infine anche nel lavoro di Sherif *et al.* (2012) è stato evidenziato, nel varietà di pesco resistente 'Venture', il coinvolgimento dell'acido giasmonico e dell'etilene nel meccanismo di resistenza.

3.5.7. Riprogrammazione metabolismo secondario

In seguito all'attacco del patogeno la pianta attiva un'estesa riprogrammazione e allocazione di risorse cellulari per il potenziamento del metabolismo secondario (Bennett and Wallsgrove, 1994). Dai dati ottenuti è stato possibile identificare l'attivazione di numerosi geni coinvolti nel metabolismo secondario come la via dei fenilpropanoidi e relative ramificazioni che sono responsabili della sintesi di fitoalessine, lignine, terpeni, stilbeni, flavonoidi (tabelle 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.5.1, 4.5.2, 4.5.3 in appendice) quali la fenil-alanina ammonio liasi (PAL); cinnamato 4-idrossilasi (C4H); cumarato-CoA ligasi (4CL); calcone-stilbene sintasi (CHS); calcone-flavanone isomerasi (CFI); flavanone 3-idrossilasi (F3H); cinnamyl alcool deidrogenasi (CAD); terpene sintasi (TPS). L'enzima di entrata a monte di tutti questi enzimi è la fenilalanina ammonio liasi (PAL) il cui pattern di espressione è stato descritto nel paragrafo 3.5.6 e conferma in 'Redkist' una superiore induzione di questo gene chiave per tutte le vie biosintetiche del metabolismo secondario. È fortemente indicativo il dato secondo cui 'Redkist' up-regola l'espressione di 20 geni di cui 3 terpene sintasi (ppa003380m, ppa016292m, ppa023341m,) con un *fold change* > 100, mentre 'J.H. Hale' ne up-regola circa 11. Oltre che nel numero di geni attivati 'Redkist' è risultato superiore, a parità di gene indotto, anche nell'intensità dell'induzione.

Complessivamente questi dati sono in accordo con quanto riportato per *Arabidopsis* in risposta agli elicitori e ai patogeni batterici (Zhu *et al.*, 1996; Ramonell *et al.*, 2002; Truman *et al.*, 2006; Rumdeep *et al.*, 2012).

3.5.8. Scoppio ossidativo

Una delle reazioni fisiologiche principali in risposta a stress abiotici e biotici è l'intensa produzione di specie reattive dell'ossigeno o ROI (principalmente H_2O_2 e NO), denominata "scoppio ossidativo". Nell'interazione con i patogeni, questa risposta è tipica sia della resistenza innescata dagli elicitatori che della resistenza "gene-per-gene". Le differenze fra le due sono la cinetica di induzione e l'intensità della risposta (più elevata nella seconda). È noto, inoltre, che lo scoppio ossidativo ha un ruolo primario nell'induzione della morte cellulare programmata della risposta ipersensibile. Come fonte di ROI sono state proposte diverse vie biosintetiche che includono NAPDH ossidasi (Keller *et al.*, 1998), perossidasi (Bolwell and Wojtaszek, 1997), ossalato ossidasi (Hu *et al.*, 2003), ammina-ossidasi rame dipendente (Allan and Fluhr, 1997), e poli-ammina ossidasi (Yoda *et al.*, 2003). I risultati ottenuti hanno evidenziato che a 3 hpi entrambe le varietà sovra-regolano alcune ossidasi (n. 5 in 'Redkist', n. 4 in 'J.H. Hale'), ma è indicativo della diversa attivazione come esclusivamente 'Redkist' up-regoli un'ammina-ossidasi rame dipendente (ppa016301m) e le poli-ammina ossidasi 1 e 2 (ppa004511m, ppa005584m), mentre 'J.H. Hale' up-regoli esclusivamente la poli-ammina ossidasi 1 (ppa004511m) [tabelle 4.1.1 e 4.5.1 appendice finale].

In base a questi dati è possibile ipotizzare che a 3 ore dal contatto, sebbene entrambe le varietà incrementino l'espressione di enzimi coinvolti nella produzione delle ROI, 'Redkist' reagisca incrementando l'espressione di enzimi coinvolti in un numero superiore di vie biosintetiche, tale "preparazione" permetterebbe in tempi successivi alle 3 ore di poter attuare un secondo scoppio ossidativo in seguito al riconoscimento degli effettori patogeni, e quindi, di poter innescare la risposta ipersensibile manifestata dalla varietà resistente.

3.5.9. Geni di difesa

Diversi geni di difesa, appartenenti a varie famiglie geniche identificate nel nostro studio, sono regolati in entrambe le varietà (tabelle 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.5.1, 4.5.2, 4.5.3). 'Redkist', in tutto il *time course*, ne sovra-regola complessivamente 18 così ripartiti: n.6 beta-glucosidasi (ppa003718m, ppa006110m, ppa015887m, ppa017981m, ppa018777m, ppa020368m); n. 3 endoglucanasi (ppa013544m, ppa020356m, ppa022885m); n. 4 proteine PR-related (ppa009384m, ppa010729m, ppa014001m, ppa018623m); n. 1 chitinasi

(ppa010952m); n. 4 inibitori delle proteasi (ppa011448m, ppa018391m, ppa018589m, ppa024500m). ‘J.H. Hale’ evidenzia una risposta di difesa rappresentata da un numero minore di geni, complessivamente 6: n.1 glucanasi (ppa015919m); n. 2 proteine PR-*related* (ppa009384m, ppa010729m); n. 1 chitinasi (ppa010947m); n. 2 inibitori delle proteasi (ppa018391m, ppa018589m). In conclusione, già a 3 ore esiste una differenza significativa fra la batteria dei geni difensivi espressa dalle due varietà. Tali risultati concordano con quanto riportato da Sherif *et al.* (2012) nella cinetica di espressione di proteine PR nel pesco in seguito ad infezione artificiale con Xap.

3.5.10. Geni “orfani”

Infine è stata rilevata la regolazione di 187 ORF complessivi la cui predizione informatica non ha rilevato alcuna omologia significativa con i geni di *Arabidopsis thaliana*.

Grazie a questo studio è stato possibile caratterizzare questi geni a funzione sconosciuta, che sono espressi in foglia nella risposta a stress biotici. Sarebbe interessante effettuare una caratterizzazione più specifica e funzionale di un set ristretto di questi ORF per capire in quale processo fisiologico/cellulare sono specificamente coinvolti.

3.5.11. Risposta di difesa: resistente vs. suscettibile

Tramite l’RNA-Seq è stato iniziato un lavoro di caratterizzazione per differenziare la risposta di difesa a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* di una varietà resistente e una varietà suscettibile di pesco. Già nelle fasi precoci, che vanno dal contatto alle 3 ore successive, è stato possibile evidenziare analogie e differenze interessanti. Entrambe le varietà generano una risposta al patogeno che assomiglia alla PTI, in cui sono attivati geni per la percezione, la trasduzione del segnale, fattori di trascrizione, ed il metabolismo secondario. Alcuni aspetti di questa caratterizzazione hanno evidenziato un “paradosso” nel comportamento delle due varietà. Ovvero, se questi dati vengono analizzati superficialmente, la varietà suscettibile sembrerebbe maggiormente reattiva rispetto alla resistente, in quanto il numero dei geni complessivamente regolati è stato di 838 per ‘J.H. Hale’ contro gli 803 di ‘Redkist’; inoltre la cinetica di reazione ha mostrato una reazione nel breve periodo superiore nella prima rispetto alla seconda. Analizzando nel dettaglio la risposta delle famiglie geniche coinvolte, e dei processi fisiologici da esse regolati, è stato possibile evidenziare la maggiore efficacia della risposta di ‘Redkist’. Infatti, dopo 3 ore è

la riprogrammazione genica di quest'ultima ad essere più estesa interessando 714 geni contro i 448 geni della prima. Inoltre, nella maggior parte dei geni up-regolati da entrambe le varietà, è 'Redkist' a mostrare i valori di *fold change* più elevati. Anche lo scenario rappresentato dai geni responsabili della biosintesi degli ormoni coinvolti nella risposta di resistenza è simile per entrambe le varietà. Questo perché, fino alle 3 ore, secondo questi dati di espressione genica nessuna via biosintetica ormonale è indotta a livelli superiori rispetto agli altri. È molto interessante in 'Redkist' osservare l'inizio della riprogrammazione ormonale attraverso il potenziamento della sintesi, per due vie indipendenti, di acido salicilico; l'ormone chiave per indurre la risposta ipersensibile. Infine, riguardo la risposta ipersensibile, un probabile secondo scoppio ossidativo è supportato da 'Redkist' con un numero superiore di geni coinvolti nella produzione di H₂O₂ e NO e con livelli di espressione superiori quando up-regolati in entrambe le varietà. In sintesi, in base ai dati fin qui ottenuti, è possibile proporre un modello di interazione differenziale tra due varietà di pesco e l'agente della maculatura batterica nelle fasi precoci d'infezione, dove entrambe le varietà attivano la risposta generale attivata dagli elicitori generali (PTI) e, dopo 3 ore di contatto, la varietà resistente inizia la rimodulazione della risposta per preparare la risposta successiva innescata dal riconoscimento degli effettori patogeni (ETI).

3.6. Conclusioni e prospettive future

Obiettivo di questo studio è stato caratterizzare le differenze qualitative e quantitative nei trascrittomi di due varietà di pesco, una suscettibile ed una varietà resistente, in seguito all'infezione di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Si deve precisare che lo studio sin qui realizzato ha potuto generare soltanto ipotesi sia perché i dati generati necessitano della validazione tramite Q-PCR, sia perché la funzione delle proteine codificati dai geni annotati sul genoma di pesco è generata *in silico* e quindi assolutamente putativa.

È stato possibile evidenziare già nelle fasi precoci del contatto tra pesco e *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* delle differenze interessanti nella risposta attuata dalle due varietà. Sarà sicuramente interessante analizzare i relativi trascrittomi anche ai tempi di infezione successivi per completare l'analisi fino all'esito finale dell'infezione. Infine sono stati identificati alcuni candidati responsabili delle differenze tra le condizioni di

suscettibilità e resistenza che, se confermati, potrebbero essere impiegati nel miglioramento genetico in programmi di trasformazione genetica.

4. APPENDICE

4.1. ‘Redkist’: geni UP-REGOLATI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.1.1. Redkist controllo vs. 3 hpi

Gene ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007488m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	19,9
ppa1027192m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	55,1
ppa007498m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	55,3
ppa007490m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	84,2
ppa007970m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	4,9
ppa007840m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	5,9
ppa021625m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	6,9
ppa007291m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	8,2
ppa008799m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	22,5
ppa007856m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	27,8
ppa007361m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	28,1
ppa015518m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	28,4
ppa008091m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	34,7
ppa018675m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	42,6
ppa022472m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	70,0
ppa022672m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	80,1
ppa003747m	4CL2,AT4CL2	4-coumarate:CoA ligase 2	4,1
ppa022401m	4CL3	4-coumarate:CoA ligase 3	16,5
ppa004774m	ACS1,AT-ACS1	ACC synthase 1	146,0
ppa1027134m	ACR8	ACT domain repeat 8	4,8
ppa003524m	ACX1,ATACX1	acyl-CoA oxidase 1	19,9
ppa019907m	ASAT1,ATASAT1,ATSAT1	acyl-CoA sterol acyl transferase 1	15,8
ppa024511m	No acronym	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily	5,4
ppa016921m	No acronym	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily	7,2
ppa019275m	No acronym	AGC (cAMP-dependent, cGMP-dependent and protein kinase C) kinase family	6,8
ppa006831m	No acronym	Aldolase superfamily protein	4,4
ppa007512m	No acronym	Aldolase-type TIM barrel family	4,8
ppa020184m	No acronym	Aldolase-type TIM barrel family	20,1
ppa008891m	No acronym	Aldolase-type TIM barrel family	39,1
ppa010397m	AOC3	allene oxide cyclase 3	60,3
ppa012079m	AOC4	allene oxide cyclase 4	47,4
ppa004133m	AOS,CYP74A,DDE2	allene oxide synthase	12,6

ppa008754m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	4,9
ppa008552m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	17,1
ppa014790m	DGL	alpha/beta-Hydrolases superfamily	17,9
ppa010552m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	21,8
ppa006906m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	27,8
ppa008575m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	35,5
ppa006152m	AMY1,ATAMY1	alpha-amylase-like	4,2
ppa004936m	AAP3,ATAAP3	amino acid permease 3	6,1
ppa003107m	AAT1,CAT1	amino acid transporter 1	6,8
ppa002006m	LACS8	AMP-dependent synthetase and ligase family	4,3
ppa003742m	No acronym	AMP-dependent synthetase and ligase family	10,9
ppa003617m	No acronym	AMP-dependent synthetase and ligase family	11,5
ppa025569m	No acronym	ankyrin repeat family	4,3
ppa026595m	No acronym	Ankyrin repeat family	4,6
ppa022640m	No acronym	ankyrin repeat family	4,8
ppa003699m	No acronym	ARM repeat superfamily	4,8
ppa003629m	No acronym	ARM repeat superfamily	9,1
ppa005032m	AAT,ATAAT,MEE17	aspartate aminotransferase	23,6
ppa003053m	ACLB-2	ATP citrate lyase subunit B 2	19,0
ppa005353m	APS1	ATP sulfurylase 1	5,5
ppa021744m	No acronym	ATPase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family	34,1
ppa001545m	No acronym	ATPase, AAA-type, CDC48	4,2
ppa006187m	ACLA-2	ATP-citrate lyase A-2	16,5
ppa018972m	ACA4	autoinhibited Ca(2+)-ATPase, isoform 4	110,6
ppa017924m	No acronym	Auxin efflux carrier family	10,1
ppa003447m	GH3.17	Auxin-responsive GH3 family	5,4
ppa022885m	No acronym	Barwin-related endoglucanase	10,2
ppa020356m	No acronym	Barwin-related endoglucanase	11,6
ppa013544m	No acronym	Barwin-related endoglucanase	17,9
ppa002645m	GL3,MYC6.2	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily	8,6
ppa012507m	AtbZIP44,bZIP44	basic leucine-zipper 44	6,4
ppa006097m	No acronym	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family	5,0
ppa006110m	BGLU17	beta glucosidase 17	8,0
ppa007004m	CHY1	beta-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 1	354,3
ppa022085m	BAT1	bidirectional amino acid transporter 1	7,1
ppa005732m	ATBIOF,BIOF	biotin F	8,8
ppa005994m	ATBR6OX,BR6OX,BR6OX1,CY P85A1	brassinosteroid-6-oxidase 1	16,1
ppa004843m	BSK3	BR-signaling kinase 3	4,2
ppa012594m	ATCP1,CP1	Ca2+-binding protein 1	14,9
ppa008545m	No acronym	Calcium-dependent phosphotriesterase superfamily	5,3
ppa023004m	CML11	calmodulin-like 11	4,1
ppa025431m	CML38	calmodulin-like 38	22,9
ppa003899m	ATCNX1,CNX1	calnexin 1	7,0
ppa016280m	AtCXE17,CXE17	carboxyesterase 17	10,3
ppa018351m	No acronym	CBS domain-containing protein	7,2

ppa001941m	ATCSLE1,CSLE1	cellulose synthase like E1	9,4
ppa001867m	ATCSLG2,CSLG2	cellulose synthase like G2	10,8
ppa001909m	ATCSLB04,ATCSLB4,CSLB04	cellulose synthase-like B4	4,8
ppa002511m	ATCSLC04,ATCSLC4,CSLC04,C SLC4	Cellulose-synthase-like C4	6,5
ppa006888m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	9,5
ppa008402m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	43,1
ppa006899m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	48,4
ppa023080m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	68,0
ppa006153m	No acronym	Chalcone-flavanone isomerase family	27,8
ppa011276m	A11,CFI,TT5	Chalcone-flavanone isomerase family	30,3
ppa011476m	No acronym	Chalcone-flavanone isomerase family	37,7
ppa012272m	No acronym	Chaperone DnaJ-domain superfamily	11,5
ppa001487m	AtHsp90- 7,AtHsp90.7,HSP90.7,SHD	Chaperone protein htpG family	4,0
ppa008037m	ATCK1,CK,CK1	choline kinase 1	4,6
ppa004544m	ATC4H,C4H,CYP73A5,REF3	cinnamate-4-hydroxylase	11,2
ppa022088m	ATCAD6,CAD6	cinnamyl alcohol dehydrogenase 6	42,8
ppa007634m	ATCAD9,CAD9	cinnamyl alcohol dehydrogenase 9	15,1
ppa003048m	No acronym	Class-II DAHP synthetase family	15,1
ppa016301m	No acronym	Copper amine oxidase family	24,7
ppa006304m	No acronym	Core-2/I-branching beta-1,6-N- acetylglucosaminyltransferase family	49,6
ppa015643m	ATCBF2,CBF2,DREB1C,FTQ4	C-repeat/DRE binding factor 2	477,9
ppa009706m	CLT3	CRT (chloroquine-resistance transporter)-like transporter 3	32,9
ppa014321m	No acronym	cryptdin protein-related	33,3
ppa021018m	No acronym	Cupredoxin superfamily	43,8
ppa022868m	No acronym	Cystathionine beta-synthase (CBS) family	5,8
ppa022817m	CRK2	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 2	6,3
ppa026781m	CRK25	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 25	4,2
ppa002530m	CRK42	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 42	10,2
ppa011854m	No acronym	Cytidine/deoxycytidylate deaminase family protein	11,7
ppa013626m	CYTC-2	cytochrome c-2	4,3
ppa023692m	BAS1,CYP72B1,CYP734A1	Cytochrome P450 superfamily	4,9
ppa015588m	BAS1,CYP72B1,CYP734A1	Cytochrome P450 superfamily	25,9
ppa018082m	CYP705A3	cytochrome P450, family 705, subfamily A, polypeptide 3	7,2
ppa005234m	CYP707A4	cytochrome P450, family 707, subfamily A, polypeptide 4	14,6
ppa004341m	CYP714A1	cytochrome P450, family 714, subfamily A, polypeptide 1	14,9
ppa023100m	CYP72A9	cytochrome P450, family 72, subfamily A, polypeptide 9	10,4

ppa021326m	CYP79B3	cytochrome P450, family 79, subfamily B, polypeptide 3	106,9
ppa019965m	CYP81D8	cytochrome P450, family 81, subfamily D, polypeptide 8	22,0
ppa016050m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1	35,5
ppa004569m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1	101,5
ppa004095m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1	126,7
ppa016466m	CYP87A2	cytochrome P450, family 87, subfamily A, polypeptide 2	15,6
ppa017252m	CYP94B3	cytochrome P450, family 94, subfamily B, polypeptide 3	42,9
ppa004473m	CYP98A3	cytochrome P450, family 98, subfamily A, polypeptide 3	4,3
ppa004120m	ATCKX6,ATCKX7,CKX6	cytokinin oxidase/dehydrogenase 6	5,9
ppa004574m	EMB3004,MEE32	dehydroquininate dehydratase, putative / shikimate dehydrogenase, putative	10,1
ppa002778m	CLA,CLA1,DEF,DXPS2,DXS	Deoxyxylulose-5-phosphate synthase	21,3
ppa008069m	DFR,M318,TT3	dihydroflavonol 4-reductase	31,4
ppa026276m	No acronym	Disease resistance (TIR-NBS-LRR class) family	10,6
ppa009811m	No acronym	Dof-type zinc finger DNA-binding family	6,6
ppa009106m	No acronym	Drug/metabolite transporter superfamily	7,2
ppa008732m	ATMYB38,BIT1,MYB38,RAX2	Duplicated homeodomain-like superfamily	8,1
ppa009089m	AtENODL14,ENODL14	early nodulin-like protein 14	13,5
ppa007615m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	137,4
ppa021232m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	269,7
ppa007627m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	1.100,7
ppa007622m	ATCAD8,CAD-B2,ELI3,ELI3-2	elicitor-activated gene 3-2	66,2
ppa008791m	ACO4,EAT1,EFE	ethylene-forming enzyme	11,7
ppa002738m	ATEXO70H4,EXO70H4	exocyst subunit exo70 family H4	4,1
ppa004087m	No acronym	FAD-binding Berberine family	4,6
ppa004127m	No acronym	FAD-binding Berberine family	6,6
ppa007057m	FAD8	fatty acid desaturase 8	37,9
ppa025214m	CPR30	F-box and associated interaction domains-containing	16,3
ppa010086m	ATFER1,FER1	ferretin 1	5,4
ppa007636m	F3\H,F3H,TT6	flavanone 3-hydroxylase	13,8
ppa004389m	FMO1	flavin-dependent monooxygenase 1	27,7
ppa007792m	No acronym	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily	5,0
ppa026827m	GLIP1	GDSL lipase 1	11,7
ppa020848m	No acronym	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily	6,0
ppa006795m	ATGPT1,GPT1	glucose 6-phosphate/phosphate translocator 1	6,9
ppa004323m	G6PD6	glucose-6-phosphate dehydrogenase 6	8,4
ppa006411m	ARAPPT,CUE1,PPT	Glucose-6-phosphate/phosphate translocator-related	12,9
ppa001891m	ATGLR2.1,GLR2.1	glutamate receptor 2.1	5,3

ppa021995m	ATGLR2.7,GLR2.7	glutamate receptor 2.7	6,6
ppa001159m	ATGLR2.7,GLR2.7	glutamate receptor 2.7	10,7
ppa022623m	ATGLR2.8,GLR2.8	glutamate receptor 2.8	10,1
ppa021128m	ATGLR2.9,GLR2.9	glutamate receptor 2.9	10,3
ppa010831m	ATGSTU17,ERD9,GST30,GST30 B	Glutathione S-transferase family	125,0
ppa011334m	ATGSTU19,GST8,GSTU19	glutathione S-transferase TAU 19	9,1
ppb009345m	ATGSTU19,GST8,GSTU19	glutathione S-transferase TAU 19	26,2
ppa026171m	ATGSTU7,GST25,GSTU7	glutathione S-transferase tau 7	5,5
ppa004498m	ATGPAT6,GPAT6	glycerol-3-phosphate acyltransferase 6	5,3
ppa016852m	AtGH9B8,GH9B8	glycosyl hydrolase 9B8	8,7
ppa007414m	No acronym	Glycosyl hydrolase family with chitinase insertion domain	5,3
ppa006239m	No acronym	Glycosyl hydrolase superfamily	6,4
ppa002334m	ATBETAFRUCT4,VAC-INV	Glycosyl hydrolases family 32	65,8
ppa000937m	AHA2,HA2,PMA2	H(+)-ATPase 2	8,2
ppa010063m	No acronym	HAD superfamily, subfamily IIIB acid phosphatase	7,5
ppa010350m	No acronym	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily	24,8
ppa024477m	AT-HSC70-1,HSC70,HSC70-1,HSP70-1	heat shock cognate protein 70-1	5,7
ppa002591m	ATHSP70,HSP70	heat shock protein 70	5,9
ppa002489m	BIP,BIP2	Heat shock protein 70 (Hsp 70) family	10,7
ppa002187m	HSP90.1	heat shock protein 90.1	5,2
ppa005221m	ATNRT2.7,NRT2.7	high affinity nitrate transporter 2.7	12,5
ppa016016m	HAI2	highly ABA-induced PP2C gene 2	14,2
ppa006696m	HAI3	highly ABA-induced PP2C gene 3	67,7
ppa010647m	ATHB-7,ATHB7,HB-7	homeobox 7	7,2
ppa021540m	No acronym	Homeodomain-like superfamily	50,9
ppa008786m	ATPTS,PANC,PTS	homolog of bacterial PANC	4,9
ppa010952m	ATCHITIV,ATEP3,CHIV,EP3	homolog of carrot EP3-3 chitinase	85,4
ppa004850m	ATP58IPK,P58IPK	homolog of mamallian P58IPK	5,3
ppa013097m	ATHVA22D,HVA22D	HVA22 homologue D	7,3
ppa015305m	HVA22G	HVA22-like protein G	5,3
ppa005635m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	5,6
ppa021561m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	7,2
ppa025565m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	47,4
ppa005318m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	111,0
ppa005266m	EMB2778,FKP1,HMGS,MVA1	hydroxymethylglutaryl-CoA synthase / HMG-CoA synthase / 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase	9,9
ppa002575m	No acronym	hydroxyproline-rich glycoprotein family	9,0
ppa008809m	ILL6	IAA-leucine resistant (ILR)-like gene 6	9,2
ppa009047m	5PTASE11,AT5PTASE11	inositol polyphosphate 5-phosphatase 11	48,4
ppa022010m	No acronym	Integrase-type DNA-binding	5,0

		superfamily	
ppa023736m	ABR1	Integrase-type DNA-binding superfamily	7,4
ppa021711m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	12,1
ppa011448m	No acronym	Kunitz family trypsin and protease inhibitor	5,2
ppa003580m	LAC14	laccase 14	46,2
ppa012380m	No acronym	Lactoylglutathione lyase / glyoxalase I family	18,5
ppa011835m	No acronym	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	4,5
ppa019212m	No acronym	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	6,0
ppa021478m	No acronym	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	65,5
ppa016100m	No acronym	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	8,5
ppa000895m	LRR XI-23,RLK7	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	23,8
ppa020571m	No acronym	Leucine-rich repeat protein kinase family	5,0
ppa000742m	No acronym	Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase	8,4
ppa007738m	ANS,LDOX,TDS4,TT18	leucoanthocyanidin dioxygenase	11,5
ppa001216m	ATLOX1,LOX1	lipoxygenase 1	201,0
ppa001082m	LOX3	lipoxygenase 3	85,5
ppa025888m	LBD11	LOB domain-containing protein 11	76,7
ppa019012m	No acronym	LRR and NB-ARC domains-containing disease resistance protein	13,5
ppa005987m	No acronym	Lung seven transmembrane receptor family	7,3
ppa003294m	No acronym	Major facilitator superfamily	4,5
ppa004132m	ATSTP13,MSS1,STP13	Major facilitator superfamily	9,9
ppa003507m	No acronym	Major facilitator superfamily	10,9
ppa004465m	No acronym	Major facilitator superfamily	11,0
ppa023976m	No acronym	Major facilitator superfamily	12,8
ppa018319m	No acronym	Major facilitator superfamily	15,0
ppa023730m	No acronym	Major facilitator superfamily	18,4
ppa003755m	No acronym	MATE efflux family	8,9
ppa015493m	No acronym	MATE efflux family	13,7
ppa003689m	No acronym	MATE efflux family	15,8
ppa004550m	ATTT12,TT12	MATE efflux family	51,9
ppa004445m	ATTT12,TT12	MATE efflux family	101,4
ppa026649m	MMP	matrix metalloproteinase	7,8
ppa011700m	ATMAPR3,ATMP2,MAPR3,MSB P2	membrane-associated progesterone binding protein 3	4,3
ppa000568m	MMT	methionine S-methyltransferase	4,0
ppa007443m	No acronym	Mitochondrial substrate carrier family	4,5
ppa008444m	No acronym	Mitochondrial substrate carrier family	7,1
ppa006485m	MAPKKK15	mitogen-activated protein kinase	131,8

		kinase kinase 15	
ppa012642m	MLP423	MLP-like protein 423	6,1
ppa020879m	MLP423	MLP-like protein 423	8,2
ppa012632m	MLP423	MLP-like protein 423	9,4
ppa018344m	MLP423	MLP-like protein 423	9,5
ppa011018m	MLP423	MLP-like protein 423	11,5
ppa012646m	MLP423	MLP-like protein 423	30,7
ppa006434m	ATMYB105,LOF2,MYB105	myb domain protein 105	20,8
ppa017136m	ATMYB12,MYB12,PGF1	myb domain protein 12	8,2
ppa010252m	ATMYB4,MYB4	myb domain protein 4	52,1
ppa007438m	ATM4,ATMYB102,MYB102	MYB-like 102	19,7
ppa001144m	No acronym	Myosin heavy chain-related protein	7,3
ppa025263m	anac042,NAC042	NAC domain containing protein 42	14,5
ppa017116m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	4,1
ppa024869m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	6,4
ppa018984m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	7,0
ppa014652m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	7,8
ppa009290m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	13,2
ppa018232m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	13,4
ppa007994m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	15,8
ppa026931m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	26,5
ppa020955m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	29,2
ppa010133m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	355,4
ppa008025m	ATB2	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily	8,8
ppa019283m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance	8,1
ppa001501m	No acronym	NB-ARC domain-containing disease resistance	8,3
ppa026111m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance	25,3
ppa002804m	ATNCED3,NCED3,SIS7,STO1	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3	8,3
ppa004530m	ATNRT2.5,NRT2.5	nitrate transporter2.5	7,3
ppa011358m	No acronym	No annotation	4,3
ppa011493m	No acronym	No annotation	4,5
ppa009806m	No acronym	No annotation	4,7
ppa024130m	No acronym	No annotation	4,7
ppa006324m	No acronym	No annotation	5,2
ppa014005m	No acronym	No annotation	5,2
ppa014306m	No acronym	No annotation	5,2
ppa014245m	No acronym	No annotation	6,9
ppa017975m	No acronym	No annotation	6,9
ppa022943m	No acronym	No annotation	6,9
ppa012851m	No acronym	No annotation	7,7
ppa019648m	No acronym	No annotation	8,6

ppa012715m	No acronym	No annotation	8,7
ppa008986m	No acronym	No annotation	9,0
ppa011916m	No acronym	No annotation	9,9
ppa015953m	No acronym	No annotation	10,0
ppa009188m	No acronym	No annotation	10,3
ppa019486m	No acronym	No annotation	10,4
ppa010053m	No acronym	No annotation	11,3
ppa013462m	No acronym	No annotation	11,4
ppa012697m	No acronym	No annotation	11,6
ppa026148m	No acronym	No annotation	15,5
ppa022910m	No acronym	No annotation	18,0
ppa018085m	No acronym	No annotation	18,8
ppa022609m	No acronym	No annotation	24,7
ppa013490m	No acronym	No annotation	32,6
ppa011688m	No acronym	No annotation	74,9
ppa013491m	No acronym	No annotation	286,0
ppa007702m	No acronym	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family	26,5
ppa015497m	No acronym	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family	71,2
ppa002937m	ATNTT1,NTT1	nucleotide transporter 1	9,3
ppa007313m	ATGATL1,GATL1,GLZ1,PARVUS	Nucleotide-diphospho-sugar transferases superfamily	4,8
ppa004285m	No acronym	Nucleotide-diphospho-sugar transferases superfamily	5,1
ppa007741m	ATNUDT2,ATNUDX2,NUDT2	nudix hydrolase homolog 2	4,6
ppa018856m	No acronym	O-acyltransferase (WSD1-like) family	23,9
ppa1027135m	No acronym	O-acyltransferase (WSD1-like) family	90,6
ppa003984m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	4,5
ppa005210m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	11,3
ppa002122m	ATOPT7,OPT7	oligopeptide transporter 7	5,4
ppa016268m	ATOSM34,OSM34	osmotin 34	5,4
ppa008358m	No acronym	Oxidoreductase, zinc-binding dehydrogenase family	18,7
ppa010729m	No acronym	pathogenesis-related family	127,6
ppa018623m	No acronym	pathogenesis-related family	159,9
ppa009384m	No acronym	Pathogenesis-related thaumatin superfamily	105,7
ppa007270m	No acronym	Pectin lyase-like superfamily	5,4
ppa006982m	IAR3,JR3	peptidase M20/M25/M40 family	6,2
ppa003209m	ATPTR3,PTR3	peptide transporter 3	5,2
ppa008760m	PNC1	peroxisomal adenine nucleotide carrier 1	57,7
ppa002328m	ATPAL1,PAL1	PHE ammonia lyase 1	17,0
ppa002099m	ATPAL1,PAL1	PHE ammonia lyase 1	26,7
ppa009233m	No acronym	Phenazine biosynthesis PhzC/PhzF protein	6,3
ppa004157m	ATPT2,PHT1,4	phosphate transporter 1;4	10,1
ppa000910m	ATPEPC1,ATPPC1,PEPC1,PPC1	phosphoenolpyruvate carboxylase 1	18,8
ppa009865m	ATPPCK1,PPCK1	phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 1	6,0
ppa003986m	PFK4	phosphofructokinase 4	5,0
ppa004086m	PFK5	phosphofructokinase 5	10,0
ppa008103m	No acronym	Phosphoglycerate mutase family	20,4

ppa007009m	PLA IIA,PLA2A,PLP2	phospholipase A 2A	13,8
ppa026872m	PLA IIA,PLA2A,PLP2	phospholipase A 2A	2.215,8
ppa006429m	No acronym	Phosphoribosyltransferase family	35,5
ppa000729m	ATPSKR1,PSKR1	phytosulfokin receptor 1	7,8
ppa025637m	PBP1	pinoid-binding protein 1	5,4
ppa018700m	No acronym	Plant basic secretory protein (BSP) family protein	16,9
ppa001109m	No acronym	Plant calmodulin-binding protein-related	5,4
ppa008019m	PIRL6	plant intracellular ras group-related LRR 6	27,4
ppa018485m	No acronym	Plant protein 1589 of unknown function	12,6
ppa009540m	PIP2;5,PIP2D	plasma membrane intrinsic protein 2;5	15,2
ppa009630m	PIP2;5,PIP2D	plasma membrane intrinsic protein 2;5	125,5
ppa000234m	ABCG40,ATABCG40,ATPDR12, PDR12	pleiotropic drug resistance 12	38,4
ppa000233m	ATPDR6,PDR6	pleiotropic drug resistance 6	41,8
ppa000347m	No acronym	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily	8,6
ppa004511m	APAO,ATPAO1,PAO1	polyamine oxidase 1	12,9
ppa005584m	ATPAO2,PAO2	polyamine oxidase 2	6,4
ppa026850m	CP5	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily	5,7
ppa002879m	ATKT1,ATKT1P,ATKUP1,KT1, KUP1	potassium transporter 1	26,6
ppa017921m	No acronym	PQ-loop repeat family protein / transmembrane family	12,6
ppa020689m	AHL29,SOB3	Predicted AT-hook DNA-binding family	6,2
ppa018299m	AHL29,SOB3	Predicted AT-hook DNA-binding family	61,6
ppa013278m	PRF5	profilin 5	6,3
ppa002429m	No acronym	Protein kinase family	4,3
ppa002973m	No acronym	Protein kinase family	10,7
ppa019080m	No acronym	Protein kinase family protein with leucine-rich repeat domain	9,5
ppa023937m	No acronym	Protein kinase superfamily	4,5
ppa007376m	ATMPK13	Protein kinase superfamily	4,7
ppa002702m	No acronym	Protein kinase superfamily	5,3
ppa007064m	emb1187	Protein kinase superfamily	6,5
ppa016346m	No acronym	Protein kinase superfamily	6,6
ppa001410m	No acronym	Protein kinase superfamily	6,9
ppa016343m	No acronym	Protein kinase superfamily	7,4
ppa004453m	No acronym	Protein kinase superfamily	10,5
ppa006098m	No acronym	Protein kinase superfamily	14,4
ppa021994m	No acronym	Protein kinase superfamily	33,8
ppa009905m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1223)	84,0
ppa023882m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1635)	7,4
ppa009086m	No acronym	Protein of unknown function (DUF506)	15,8
ppa014733m	No acronym	Protein of unknown function	12,9

		(DUF567)	
ppa006923m	No acronym	Protein of unknown function (DUF607)	9,7
ppa010943m	No acronym	Protein of unknown function (DUF679)	10,7
ppa007900m	No acronym	Protein of unknown function (DUF761)	20,9
ppa001296m	No acronym	Protein of unknown function, DUF593	4,1
ppa023866m	APUM7,PUM7	pumilio 7	18,2
ppa005749m	ATPAP22,PAP22	purple acid phosphatase 22	28,7
ppa005956m	ATPAP20,PAP20	Purple acid phosphatases superfamily	4,7
ppa012603m	ATLOG1,LOG1	Putative lysine decarboxylase family	6,6
ppa010459m	No acronym	Putative lysine decarboxylase family	10,9
ppa005058m	No acronym	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily	56,3
ppa009904m	No acronym	Pyridoxal phosphate phosphatase-related	11,7
ppa003382m	PKP-ALPHA,PKP1	Pyruvate kinase family	5,3
ppa004145m	No acronym	Pyruvate kinase family	5,6
ppa018740m	ARK3,RK3	receptor kinase 3	7,1
ppa016243m	AtRLP46,RLP46	receptor like protein 46	12,7
ppa019252m	No acronym	Receptor-like protein kinase-related family	17,1
ppa023235m	RRTF1	redox responsive transcription factor 1	4,8
ppa012865m	No acronym	RING/U-box superfamily	154,4
ppa008532m	No acronym	RmlC-like cupins superfamily	6,0
ppa025597m	No acronym	RmlC-like cupins superfamily	8,5
ppa004186m	No acronym	RNA 3'-terminal phosphate cyclase/enolpyruvate transferase, alpha/beta	5,9
ppa020145m	No acronym	RNA 3'-terminal phosphate cyclase/enolpyruvate transferase, alpha/beta	125,4
ppa018869m	No acronym	RNI-like superfamily	6,8
ppa007495m	No acronym	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	33,5
ppa023887m	No acronym	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	34,9
ppa023986m	No acronym	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	124,8
ppa009403m	No acronym	Sec14p-like phosphatidylinositol transfer family	5,3
ppa011849m	ASAR1,ATSAR2,ATSARA1C,SA R2	secretion-associated RAS super family 2	4,3
ppa001730m	AtSIP2,SIP2	seed imbibition 2	20,4
ppa016992m	scpl2	serine carboxypeptidase-like 2	5,4
ppa018589m	No acronym	Serine protease inhibitor, potato inhibitor I-type family	42,1
ppa018391m	No acronym	Serine protease inhibitor, potato inhibitor I-type family	51,5
ppa004621m	ATMLO3,MLO3	Seven transmembrane MLO family	9,7
ppa010625m	No acronym	SGNH hydrolase-type esterase superfamily	15,4

ppa003715m	sks12	SKU5 similar 12	7,9
ppa023127m	No acronym	S-locus lectin protein kinase family	4,9
ppa005902m	CIPK11,PKS5,SIP4,SNRK3.22	SOS3-interacting protein 4	4,2
ppa006420m	ERG9,SQS1	squalene synthase 1	10,3
ppa001276m	AtSTS,STS	stachyose synthase	23,3
ppa001845m	ATSUS2,SSA,SUS2	sucrose synthase 2	7,1
ppa017606m	ATSUS6,SUS6	sucrose synthase 6	18,7
ppa024737m	No acronym	Sulfite exporter TauE/SafE family	4,3
ppa003423m	TPS02	terpene synthase 02	36,1
ppa016292m	ATTPS03,TPS03	terpene synthase 03	187,4
ppa023341m	ATTPS03,TPS03	terpene synthase 03	340,4
ppa002670m	ATTPS14,TPS14	terpene synthase 14	26,2
ppa003380m	ATTPS14,TPS14	terpene synthase 14	137,1
ppa001830m	No acronym	Terpenoid cyclases family	6,4
ppa003334m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily	4,2
ppa005392m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily	35,5
ppa006513m	No acronym	Thiolase family	17,5
ppa012298m	ATHM3,ATM3,GAT1,TRX-M3	Thioredoxin superfamily	8,1
ppa010364m	ATTIP1.3,GAMMA-TIP3,TIP1;3	tonoplast intrinsic protein 1;3	6,9
ppa010367m	ATTIP1.3,GAMMA-TIP3,TIP1;3	tonoplast intrinsic protein 1;3	37,3
ppa009161m	ATL2,TL2	TOXICOS EN LEVADURA 2	5,5
ppa000216m	No acronym	Transducin/WD40 repeat-like superfamily	4,7
ppa017145m	ATAN11,LWD1	Transducin/WD40 repeat-like superfamily	197,1
ppa021437m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	12,1
ppa011494m	No acronym	Transmembrane proteins 14C	4,6
ppa005573m	TBL11	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 11	5,7
ppa005769m	TBL27	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 27	11,4
ppa026921m	TUB1	tubulin beta-1 chain	15,5
ppa006169m	No acronym	Tyrosine transaminase family	19,8
ppa021193m	No acronym	Ubiquitin-specific protease family C19-related	7,5
ppa008438m	ATUTR3,UTR3	UDP-galactose transporter 3	5,7
ppa018059m	UGT73B3	UDP-glucosyl transferase 73B3	18,8
ppa016033m	UGT73B5	UDP-glucosyl transferase 73B5	48,3
ppa004786m	UGT73C1	UDP-glucosyl transferase 73C1	66,6
ppa018697m	AtUGT85A2,UGT85A2	UDP-glucosyl transferase 85A2	4,5
ppb015490m	AtUGT85A2,UGT85A2	UDP-glucosyl transferase 85A2	5,6
ppa004945m	AtUGT85A2,UGT85A2	UDP-glucosyl transferase 85A2	10,3
ppa018486m	AtUGT85A5,UGT85A5	UDP-glucosyl transferase 85A5	5,1
ppa021148m	AtUGT85A5,UGT85A5	UDP-glucosyl transferase 85A5	7,6
ppa025605m	AtUGT85A7,UGT85A7	UDP-glucosyl transferase 85A7	656,8
ppa005342m	UGT88A1	UDP-glucosyl transferase 88A1	5,1
ppa023990m	ATSAGT1,GT,SAGT1,SGT1,UGT74F2	UDP-glucosyltransferase 74F2	13,3
ppa005830m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	5,6
ppa005112m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	10,6
ppa024809m	GT72B1,UGT72B1	UDP-Glycosyltransferase	22,0

		superfamily	
ppa025141m	ATUGT85A1,UGT85A1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	23,6
ppa019804m	ATUGT85A1,UGT85A1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	23,8
ppa022102m	ATUGT85A1,UGT85A1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	26,9
ppa005406m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	38,3
ppa015751m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	72,7
ppa006701m	ATUPS2,UPS2	ureide permease 2	9,3
ppa026200m	UGT74E2	Uridine diphosphate glycosyltransferase 74E2	7,6
ppa010409m	ATVIT1,VIT1	vacuolar iron transporter 1	38,3
ppa007801m	No acronym	VQ motif-containing protein	17,3
ppa002979m	WAKL4	wall associated kinase-like 4	5,7
ppa002200m	ABCG11,ATWBC11,COF1,DSO,WBC11	white-brown complex homolog protein 11	10,7
ppa024027m	ATWRKY28,WRKY28	WRKY DNA-binding protein 28	7,4
ppa012414m	ATWRKY75,WRKY75	WRKY DNA-binding protein 75	706,7
ppa006738m	WDL1	WVD2-like 1	47,2
ppa002381m	No acronym	Zinc finger (C3HC4-type RING finger) family	35,2
ppa007757m	No acronym	Zinc-binding dehydrogenase family	11,9
ppa024393m	No acronym	Zinc-binding dehydrogenase family	35,0

4.1.2. Redkist controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007668m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	7,0
ppa015533m	No acronym	Glucose-methanol-choline (GMC) oxidoreductase family	9,9
ppa010952m	ATCHITIV,AEP3,CHIV,EP3	homolog of carrot EP3-3 chitinase	4,8
ppa000895m	LRR XI-23,RLK7	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	4,4
ppa006816m	AWI31,VEP1	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	4,3
ppa008529m	No acronym	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily	4,3
ppa007111m	No acronym	Plant calmodulin-binding protein-related	6,6
ppa024500m	No acronym	Serine protease inhibitor, potato inhibitor I-type family	6,9
ppa018059m	UGT73B3	UDP-glucosyl transferase 73B3	4,5
ppa004786m	UGT73C1	UDP-glucosyl transferase 73C1	15,9

4.1.3. Redkist controllo vs. 30 mpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa005048m	No acronym	AAA-type ATPase family protein / ankyrin repeat family	5,6
ppa006760m	No acronym	Aluminium activated malate transporter family	8,3
ppa1027216m	MOM,MOM1	ATP-dependent helicase family	4,8
ppa012065m	CML38	calmodulin-like 38	4,5
ppa006043m	ATCAX1,CAX1,RCI4	cation exchanger 1	6,6
ppa002209m	ATCSLC12,CSLC12	Cellulose-synthase-like C12	6,5
ppa010333m	ATCM2,CM2	chorismate mutase 2	4,1
ppa002775m	ATSEB1,COBL7,SEB1	COBRA-like protein-7 precursor	12,7
ppa001991m	ATCUL3,ATCUL3A,CUL3,CUL3A	cullin 3	6,1
ppa000828m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class)	4,7
ppa021062m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	6,7
ppa020033m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	6,8
ppa022914m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	7,2
ppa005067m	ATFC-I,FC-I,FC1	ferrochelataze 1	4,7
ppa006908m	ATGPA1,GP ALPHA 1,GPA1	G protein alpha subunit 1	7,5
ppa005253m	GAUT9	galacturonosyltransferase 9	4,7
ppa003323m	PAT1	GRAS family transcription factor	4,3
ppa004693m	No acronym	Integrin-linked protein kinase family	4,0
ppa020322m	LECRKA4.2	lectin receptor kinase a4.1	5,1
ppa023423m	No acronym	Leucine-rich repeat protein kinase family	4,0
ppa002545m	No acronym	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase family	10,1
ppa001164m	FER	Malectin/receptor-like protein kinase family	7,4
ppb024021m	No acronym	MuDR family transposase	6,1
ppa022384m	NTL9	NAC transcription factor-like 9	5,1
ppa023432m	No acronym	No annotation	4,0
ppa027199m	No acronym	No annotation	5,4
ppa011223m	No acronym	No annotation	5,6
ppa010925m	No acronym	No annotation	32,8
ppa003603m	GAUT8,QUA1	Nucleotide-diphospho-sugar transferases superfamily	5,3
ppa003424m	No acronym	O-fucosyltransferase family	12,9
ppa004732m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	14,0
ppa008439m	EXO	Phosphate-responsive 1 family	5,2
ppa008424m	EXO	Phosphate-responsive 1 family	15,1
ppa007936m	BME3,BME3-ZF,GATA8	Plant-specific GATA-type zinc finger transcription factor family	7,0
ppa003329m	No acronym	Protein kinase family	5,2
ppa014559m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1162)	4,2
ppa014617m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1162)	5,3
ppa007076m	ANAC091,TIP	TCV-interacting	8,6
ppa026767m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-	4,0

		like superfamily	
ppa006006m	GAE1	UDP-D-glucuronate 4-epimerase 1	4,1
ppa019993m	No acronym	Undecaprenyl pyrophosphate synthetase family	4,6
ppa008566m	ATWRKY40,WRKY40	WRKY DNA-binding protein 40	4,3
ppa009608m	XTH16	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16	15,5

4.2. 'Redkist': geni ACCESI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.2.1. Redkist controllo vs. 3 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa005880m	ALD1	AGD2-like defense response protein 1	Inf
ppa025045m	AOS,CYP74A,DDE2	allene oxide synthase	Inf
ppa005388m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein	Inf
ppa023215m	ATNS2,NS2,SYNC2,SYNC2_ARATH	asparaginyl-tRNA synthetase 2	Inf
ppa017859m	No acronym	ATP-dependent caseinolytic (Clp) protease/crotonase family	Inf
ppa016220m	ATMYC2,JAI1,JIN1,MYC2,RD22BP1,ZBF1	Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding family	Inf
ppa026684m	No acronym	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily	Inf
ppa015887m	BGLU12	beta glucosidase 12	Inf
ppa017981m	BGLU12	beta glucosidase 12	Inf
ppa018777m	BGLU12	beta glucosidase 12	Inf
ppa020368m	BGLU12	beta glucosidase 12	Inf
ppa003718m	BGLU15	beta glucosidase 15	Inf
ppa012613m	No acronym	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily	Inf
ppa019556m	No acronym	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily	Inf
ppa012575m	No acronym	Calcium-binding EF-hand family	Inf
ppa018515m	No acronym	Cytochrome P450 superfamily	Inf
ppa004152m	CYP71A20	cytochrome P450, family 71, subfamily A, polypeptide 20	Inf
ppa026875m	CYP715A1	cytochrome P450, family 715, subfamily A, polypeptide 1	Inf
ppa006307m	CYP72A14	cytochrome P450, family 72, subfamily A, polypeptide 14	Inf
ppa006842m	No acronym	Exostosin family	Inf
ppa026226m	No acronym	FAD-binding Berberine family	Inf
ppa026775m	No acronym	FAD-binding Berberine family	Inf
ppa025070m	ATFH8,FH8	formin 8	Inf
ppa016616m	ATGER2,GER2,GLP2A	germin-like protein 2	Inf
ppa011307m	ATGSTF12,GST26,GSTF12,TT19	glutathione S-transferase phi 12	Inf
ppa026181m	ATGSTU8,GSTU8	glutathione S-transferase TAU 8	Inf
ppa022841m	ATGPAT1,GPAT1	glycerol-3-phosphate acyltransferase 1	Inf
ppa004387m	AtGH9B13,GH9B13	glycosyl hydrolase 9B13	Inf
ppa026255m	ATHSP70,HSP70	heat shock protein 70	Inf
ppa019862m	No acronym	HSP20-like chaperones superfamily	Inf
ppa005943m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family protein	Inf
ppa011735m	TINY2	Integrase-type DNA-binding	Inf

		superfamily	
ppa007359m	IDH-I,IDH1	isocitrate dehydrogenase 1	Inf
ppa018909m	CER4,FAR3,G7	Jojoba acyl CoA reductase-related male sterility	Inf
ppa019880m	ATLAC1,LAC1	laccase 1	Inf
ppa011745m	No acronym	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	Inf
ppa022372m	No acronym	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	Inf
ppa027170m	No acronym	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	Inf
ppa013428m	ATLTP1,LP1,LTP1	lipid transfer protein 1	Inf
ppa013558m	ATLTP1,LP1,LTP1	lipid transfer protein 1	Inf
ppa011757m	ASL11,LBD15	LOB domain-containing protein 15	Inf
ppa026027m	No acronym	Major facilitator superfamily	Inf
ppa006915m	MAT3	methionine adenosyltransferase 3	Inf
ppa016806m	No acronym	MuDR family transposase	Inf
ppa018086m	ATMYB15,ATY19,MYB15	myb domain protein 15	Inf
ppa002384m	anac028,NAC028	NAC domain containing protein 28	Inf
ppa024512m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	Inf
ppa012131m	No acronym	No annotation	Inf
ppa013725m	No acronym	No annotation	Inf
ppa014095m	No acronym	No annotation	Inf
ppa014235m	No acronym	No annotation	Inf
ppa014882m	No acronym	No annotation	Inf
ppa019653m	No acronym	No annotation	Inf
ppa022671m	No acronym	No annotation	Inf
ppa025331m	No acronym	No annotation	Inf
ppa027025m	No acronym	No annotation	Inf
ppb009860m	No acronym	No annotation	Inf
ppa014001m	PR-1-LIKE	pathogenesis-related protein-1-like	Inf
ppa024649m	No acronym	Pectin lyase-like superfamily	Inf
ppa007654m	ATPA2,PA2	peroxidase 2	Inf
ppa023689m	No acronym	Peroxidase superfamily	Inf
ppa019615m	PLA IIA,PLA2A,PLP2	phospholipase A 2A	Inf
ppa011478m	No acronym	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	Inf
ppa025225m	No acronym	Plant neutral invertase family	Inf
ppa021525m	No acronym	Plant protein of unknown function (DUF936)	Inf
ppa013279m	ARPN	plantacyanin	Inf
ppa020418m	No acronym	Protein kinase protein with adenine nucleotide alpha hydrolases-like domain	Inf
ppa024632m	No acronym	Protein kinase superfamily	Inf
ppa014060m	ATRL1,RL1,RSM2	RAD-like 1	Inf
ppa012687m	No acronym	Ran BP2/NZF zinc finger-like superfamily	Inf

ppa1027195m	ATRLI2,RLI2	RNAse 1 inhibitor protein 2	Inf
ppa013138m	No acronym	Stigma-specific Stig1 family	Inf
ppa024075m	AEM6,EM6,GEA6	Stress induced	Inf
ppa002608m	SULTR3;5	sulfate transporter 3;5	Inf
ppa024401m	TRP3,TSA1	tryptophan synthase alpha chain	Inf
ppa023458m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	Inf
ppa018374m	No acronym	Wall-associated kinase family	Inf

4.2.2. Redkist controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	fold change
ppa020418m	No acronym	Protein kinase protein with adenine nucleotide alpha hydrolases-like domain	Inf

4.2.3. Redkist controllo vs. 30 mpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa013213m	No acronym	No annotation	Inf

4.3. 'Redkist': geni DOWN-REGOLATI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.3.1. Redkist controllo vs. 3 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa012418m	No acronym	2Fe-2S ferredoxin-like superfamily	-4,1
ppa006758m	CER6,CUT1,G2,KCS6,POP1	3-ketoacyl-CoA synthase 6	-4,3
ppa008030m	No acronym	6-phosphogluconate dehydrogenase family	-4,7
ppa009577m	No acronym	Acyl-CoA N-acyltransferases (NAT) superfamily	-8,5
ppa020149m	ALPHA DOX2	alpha dioxygenase	-9,6
ppa025987m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	-8,6
ppa008683m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	-4,1
ppa010287m	No acronym	Aluminium induced protein with YGL and LRDR motifs	-12,9
ppa018924m	No acronym	Ankyrin repeat family	-4,5
ppa002756m	No acronym	ARM repeat superfamily	-4,3
ppa007263m	ATPC1	ATPase, F1 complex, gamma subunit	-4,8
ppa009711m	ACHT5	atypical CYS HIS rich thioredoxin 5	-4,2
ppa002944m	ATPIN1,PIN1	Auxin efflux carrier family	-7,7
ppa022228m	No acronym	B-box type zinc finger family	-10,9
ppa005713m	No acronym	B-box type zinc finger protein with CCT domain	-6,2
ppa010493m	STO	B-box zinc finger family	-4,9
ppa008190m	No acronym	Bestrophin-like	-4,0
ppa001540m	No acronym	BTB/POZ domain-containing	-4,3
ppa008481m	ATRD22,RD22	BURP domain-containing	-4,4
ppa005585m	AtbZIP63,BZO2H3	bZIP transcription factor family	-4,5
ppa010315m	ATCBL10,CBL10,SCABP8	calcineurin B-like protein 10	-6,5
ppa013937m	No acronym	cAMP-regulated phosphoprotein 19-related	-6,4
ppa003564m	No acronym	CCCH-type zinc fingerfamily protein with RNA-binding domain	-7,0
ppa015688m	No acronym	Chaperone DnaJ-domain superfamily	-18,1
ppa012765m	No acronym	Chaperone DnaJ-domain superfamily	-5,6
ppa020144m	No acronym	chaperone protein dnaJ-related	-8,3
ppa009440m	No acronym	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger	-4,8
ppa022325m	atylmg3,CCB3,YLMG3	cofactor assembly, complex C (B6F)	-19,1
ppa007007m	ATCOL2,COL2	CONSTANS-like 2	-5,4
ppa013342m	ATCXXS1,CXXS1	C-terminal cysteine residue is changed to a serine 1	-10,3
ppa015949m	CYCD3,CYCD3;1	CYCLIN D3;1	-5,2
ppa011252m	CYCP2;1	cyclin p2;1	-7,9
ppa005580m	CDF2	cycling DOF factor 2	-4,1

ppa015639m	No acronym	Cyclophilin-like peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family	-6,2
ppa005409m	No acronym	Cyclophilin-like peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family	-4,4
ppa017718m	CRK12	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 12	-8,8
ppa026952m	CYP76C4	cytochrome P450, family 76, subfamily C, polypeptide 4	-5,3
ppa024374m	CGA1,GATA22	cytokinin-responsive gata factor 1	-6,6
ppa006964m	No acronym	DHBP synthase RibB-like alpha/beta domain;GTP cyclohydrolase II	-12,3
ppa023091m	No acronym	disease resistance family protein / LRR family	-4,5
ppa024761m	No acronym	Divalent ion symporter	-4,1
ppa026563m	No acronym	DNA glycosylase superfamily	-5,9
ppa024667m	No acronym	DNase I-like superfamily	-38,6
ppa013609m	No acronym	Dormancy/auxin associated family	-10,7
ppa002050m	ERD4	Early-responsive to dehydration stress protein (ERD4)	-4,5
ppa012710m	No acronym	EF hand calcium-binding protein family	-5,7
ppa008950m	No acronym	Erythronate-4-phosphate dehydrogenase family	-9,9
ppa004852m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	-4,7
ppa006158m	AGP8,FLA8	FASCICLIN-like arabinogalactan protein 8	-5,1
ppa021498m	ATFAO3,FAO3	fatty alcohol oxidase 3	-7,2
ppa005011m	No acronym	F-box family	-6,5
ppa021349m	No acronym	FKBP-like peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family	-6,7
ppa007996m	No acronym	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily	-5,0
ppa007034m	No acronym	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily	-4,1
ppa014583m	GATA4	GATA transcription factor 4	-9,7
ppa019309m	No acronym	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily	-5,0
ppa009815m	No acronym	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily	-4,8
ppa025614m	ATGDU2,GDU2	glutamine dumper 2	-17,1
ppa017385m	ATGSTF13	Glutathione S-transferase family	-4,4
ppa018428m	ATGSTU19,GST8,GSTU19	glutathione S-transferase TAU 19	-12,6
ppa010269m	No acronym	haloacid dehalogenase (HAD) superfamily	-4,7
ppa009998m	No acronym	Heavy metal transport/detoxification superfamily	-8,0
ppa026290m	HCF153	high chlorophyll fluorescence 153	-5,2

ppa012595m	AHP1	histidine-containing phosphotransmitter 1	-5,3
ppa009338m	No acronym	HMG (high mobility group) box protein with ARID/BRIGHT DNA-binding domain	-7,6
ppa005083m	RVE1	Homeodomain-like superfamily	-5,9
ppa025477m	No acronym	hydroxyproline-rich glycoprotein family	-6,3
ppa025736m	CRR23	inorganic carbon transport protein-related	-5,2
ppa005848m	No acronym	Kelch repeat-containing F-box	-5,6
ppa018783m	No acronym	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	-10,1
ppa008655m	CHLM	magnesium-protoporphyrin IX methyltransferase	-5,7
ppa003244m	No acronym	Major facilitator superfamily	-4,2
ppa003651m	ATMPK19,MPK19	MAP kinase 19	-5,6
ppa009922m	MEE14	maternal effect embryo arrest 14	-4,2
ppa014646m	MRPL11	mitochondrial ribosomal protein L11	-11,0
ppa006708m	ATBT1,EMB104,EMB42,SHS1	Mitochondrial substrate carrier family	-12,9
ppa014677m	No acronym	Mitochondrial transcription termination factor family	-8,3
ppa008508m	pde191	Mitochondrial transcription termination factor family	-7,9
ppa021708m	MLP28	MLP-like protein 28	-17,3
ppa009670m	No acronym	Mog1/PsbP/DUF1795-like photosystem II reaction center PsbP family	-6,2
ppa001789m	No acronym	MuDR family transposase	-4,3
ppa019554m	ATMYB68,MYB68	myb domain protein 68	-4,8
ppa001678m	No acronym	Myosin heavy chain-related	-8,3
ppa006872m	AWI31,VEP1	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	-6,3
ppa011732m	NDF4	NDH-dependent cyclic electron flow 1	-4,5
ppa003360m	ATNRT1:2,NRT1:2,NTL1	nitrate transporter 1:2	-6,1
ppa024914m	No acronym	No annotation	-16,8
ppa011939m	No acronym	No annotation	-16,3
ppa021902m	No acronym	No annotation	-14,6
ppa017495m	No acronym	No annotation	-14,0
ppa013121m	No acronym	No annotation	-12,8
ppa024256m	No acronym	No annotation	-11,5
ppa013688m	No acronym	No annotation	-9,9
ppa005695m	No acronym	No annotation	-9,6
ppa015295m	No acronym	No annotation	-9,3
ppa026994m	No acronym	No annotation	-7,7
ppa006809m	No acronym	No annotation	-7,4
ppa024800m	No acronym	No annotation	-7,1
ppa010693m	No acronym	No annotation	-6,8
ppa013258m	No acronym	No annotation	-6,3
ppa014070m	No acronym	No annotation	-6,0
ppa013511m	No acronym	No annotation	-5,7
ppa009620m	No acronym	No annotation	-5,6
ppa023767m	No acronym	No annotation	-5,4

ppa013284m	No acronym	No annotation	-5,2
ppa009508m	No acronym	No annotation	-5,1
ppa010833m	No acronym	No annotation	-4,8
ppa023052m	No acronym	No annotation	-4,6
ppa010229m	No acronym	No annotation	-4,5
ppa010280m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa015240m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa018554m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa008298m	No acronym	No annotation	-4,3
ppa013250m	No acronym	No annotation	-4,3
ppa023959m	No acronym	No annotation	-4,2
ppa025709m	No acronym	No annotation	-4,2
ppa005611m	No acronym	No annotation	-4,1
ppa012561m	No acronym	No annotation	-4,1
ppa012668m	No acronym	No annotation	-4,1
ppa010428m	No acronym	No annotation	-4,0
ppa011832m	atnudt17,NUDT17	nudix hydrolase homolog 17	-4,6
ppa011128m	No acronym	Octicosapeptide/Phox/Bem1p family	-4,6
ppa019819m	ATOXS3,OXS3	oxidative stress 3	-26,5
ppa011386m	ATOXS3,OXS3	oxidative stress 3	-9,3
ppa002191m	No acronym	Pentatricopeptide repeat (PPR-like) superfamily	-4,3
ppa000340m	PGP2	P-glycoprotein 2	-4,9
ppa012196m	PSB28	photosystem II reaction center PSB28 protein	-8,7
ppa011482m	No acronym	Photosystem II reaction center PsbP family	-7,2
ppa010093m	OE23,OEE2,PSBP-1,PSII-P	photosystem II subunit P-1	-5,2
ppa003347m	RPT2	Phototropic-responsive NPH3 family	-5,1
ppa003796m	No acronym	Phototropic-responsive NPH3 family	-5,0
ppa004499m	No acronym	Phototropic-responsive NPH3 family	-5,0
ppa004070m	PIF1,PIL5	phytochrome interacting factor 3-like 5	-4,6
ppa017228m	PIF4,SRL2	phytochrome interacting factor 4	-4,8
ppa011831m	No acronym	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	-7,7
ppa024197m	No acronym	Plant self-incompatibility protein S1 family	-49,3
ppa009588m	ATHH2,PIP1;2,PIP1B,TMP-A	plasma membrane intrinsic protein 1B	-6,5
ppa009691m	PIP2;7,PIP3,PIP3A,SIMIP	plasma membrane intrinsic protein 3	-8,2
ppa012542m	PDE225,PTAC7	plastid transcriptionally active7	-4,2
ppa012521m	PETE1	plastocyanin 1	-4,1
ppa006200m	CH-42,CH42,CHL11,CHLI-1,CHLI1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily	-4,1
ppa002906m	No acronym	Prefoldin chaperone subunit family	-5,5
ppa003144m	No acronym	protein kinase family protein	-4,9
ppa005332m	No acronym	Protein kinase superfamily	-4,0

ppb025443m	No acronym	Protein of unknown function (DUF 3339)	-5,4
ppa012289m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1118)	-5,2
ppa010430m	No acronym	Protein of unknown function (DUF179)	-9,9
ppa010657m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1997)	-4,2
ppa002898m	No acronym	Protein of unknown function (DUF3049)	-10,5
ppa012473m	No acronym	Protein of unknown function, DUF584	-4,1
ppa011900m	PQL1,PQL2	PsbQ-like 1	-5,9
ppa011707m	PQL1,PQL2	PsbQ-like 2	-6,2
ppa006597m	No acronym	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily	-5,1
ppa011625m	No acronym	Quinone reductase family	-6,5
ppa017529m	MED33A,RFR1	REF4-related 1	-5,1
ppa015205m	RPH1	resistance to phytophthora 1	-4,6
ppa005198m	No acronym	Rho GTPase activating protein with PAK-box/P21-Rho-binding domain	-6,3
ppa003680m	ATROPGEF1,ROPGEF1	rho guanyl-nucleotide exchange factor 1	-4,5
ppa012625m	ATROPGEF11,PIRF1,ROPGEF11	RHO guanyl-nucleotide exchange factor 11	-6,4
ppa012088m	ATSEN1,DIN1,SEN1	Rhodanese/Cell cycle control phosphatase superfamily	-6,0
ppa011734m	No acronym	Ribosomal protein L2 family	-5,3
ppa011873m	No acronym	Ribosomal protein PSRP-3/Ycf65	-4,5
ppa026081m	IMP4	Ribosomal RNA processing Brix domain	-4,7
ppa009431m	No acronym	Rieske (2Fe-2S) domain-containing	-4,6
ppa018186m	No acronym	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family	-8,7
ppa010401m	No acronym	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family	-4,5
ppa004634m	No acronym	Rubisco methyltransferase family	-4,5
ppa019590m	No acronym	Rubredoxin-like superfamily	-4,3
ppa014976m	No acronym	SEC14 cytosolic factor family protein / phosphoglyceride transfer family	-9,1
ppa001734m	AtSS2,SS2	starch synthase 2	-4,3
ppa008043m	No acronym	Surfeit locus protein 6	-6,5
ppa012058m	ATTIL,TIL	temperature-induced lipocalin	-5,1
ppa001926m	CRM3,HCF152	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily	-5,4
ppa004121m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily	-4,9
ppa002759m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily	-4,8
ppa018067m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-	-4,5

		like superfamily	
ppa023756m	No acronym	thylakoid lumenal P17.1	-4,4
ppa021362m	No acronym	Toll-Interleukin-Resistance (TIR) domain family	-9,7
ppa022067m	No acronym	Transducin/WD40 repeat-like superfamily	-4,7
ppa005684m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	-6,4
ppa012166m	No acronym	Uncharacterised protein family (UPF0497)	-14,2
ppa009517m	No acronym	Uncharacterized conserved protein (DUF2358)	-7,1
ppa002298m	ABCG11,ATWBC11,COF1,DSO,WBC11	white-brown complex homolog protein 11	-4,2
ppa018846m	No acronym	zinc finger (C3HC4-type RING finger) family	-4,9
ppa007432m	No acronym	Zinc finger C-x8-C-x5-C-x3-H type family	-5,7
ppa024080m	ATHB29,ZFHD1	zinc finger homeodomain 1	-9,2

4.3.2. Redkist controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007222m	No acronym	myb-like transcription factor family	-4,1
ppa024914m	No acronym	No annotation	-7,5
ppa024256m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa009691m	PIP2;7,PIP3,PIP3A,SIMIP	plasma membrane intrinsic protein 3	-4,5
ppa005062m	SLAH3	SLAC1 homologue 3	-13,0
ppa009473m	ATSPX2,SPX2	SPX domain gene 2	-4,3

4.3.3. Redkist controllo vs. 30 min

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa018675m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	-5,2
ppa010552m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	-5,1
ppa005994m	ATBR6OX,BR6OX,BR6OX1,CYP85A1	brassinosteroid-6-oxidase 1	-4,2
ppa006899m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	-4,6
ppa011739m	ELIP,ELIP1	Chlorophyll A-B binding family	-13,6
ppa021326m	CYP79B3	cytochrome P450, family 79, subfamily B, polypeptide 3	-61,5
ppa009092m	No acronym	Duplicated homeodomain-like superfamily	-6,1

ppa007615m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	-6,9
ppa012171m	ATEIF3G1,EIF3G1	eukaryotic translation initiation factor 3G1	-4,5
ppa010382m	ATEXP8,ATEXPA8,ATHEXP ALPHA 1.11,EXP8,EXPA8	expansin A8	-6,3
ppa014659m	ATGLR2.7,GLR2.7	glutamate receptor 2.7	-5,4
ppb009345m	ATGSTU19,GST8,GSTU19	glutathione S-transferase TAU 19	-6,9
ppa010647m	ATHB-7,ATHB7,HB-7	homeobox 7	-7,2
ppa008512m	ATHMT-1,HMT-1	Homocysteine S-methyltransferase family	-4,5
ppa009213m	LBD41	LOB domain-containing protein 41	-4,8
ppa024256m	No acronym	No annotation	-10,1
ppa012851m	No acronym	No annotation	-6,9
ppa019648m	No acronym	No annotation	-4,6
ppa009384m	No acronym	Pathogenesis-related thaumatin superfamily	-10,3
ppa027053m	ATPA2,PA2	peroxidase 2	-5,5
ppa001528m	PLDALPHA2	phospholipase D alpha 2	-7,3
ppa020566m	PSAE-1	Photosystem I reaction centre subunit IV / PsaE	-17,9
ppa009086m	No acronym	Protein of unknown function (DUF506)	-41,5
ppa011373m	No acronym	SOUL heme-binding family	-5,2

4.4. 'Redkist': geni SPENTI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.4.1. Redkist controllo vs. 3 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa001482m	ATCHX19,CHX19	cation/H ⁺ exchanger 19	-
ppa025142m	CRK3	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 3	-
ppa004865m	LAX2	like AUXIN RESISTANT 2	-
ppa014501m	No acronym	No annotation	-
ppa021730m	No acronym	Polynucleotidyl transferase, ribonuclease H-like superfamily	-
ppa007452m	No acronym	Protein of unknown function, DUF642	-

4.4.2. Redkist controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa012155m	ATGDU3,GDU3,LSB1	glutamine dumper 3	-

4.4.3. Redkist controllo vs. 30 min

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007379m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	-
ppa009786m	ATEXPB2,ATHEXP BETA 1.4,EXPB2	expansin B2	-
ppa011026m	ATRNS1,RNS1	ribonuclease 1	-

4.5. 'J.H. Hale': geni UP-REGOLATI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.5.1. Hale controllo vs. 3 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007381m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	6,1
ppa007490m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	9,5
ppa007498m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	11,3
ppa1027192m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	60,5
ppa007488m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	118,7
ppa018675m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	7,9
ppa008100m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	4,4
ppa022672m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	28,4
ppa003747m	4CL2,AT4CL2	4-coumarate:CoA ligase 2	5,6
ppa022619m	AFP3	ABI five binding protein 3	9,8
ppa020943m	No acronym	Abscisic acid-responsive (TB2/DP1, HVA22) family	5,1
ppa004774m	ACS1,AT-ACS1	ACC synthase 1	21,5
ppa004139m	AAE12	acyl activating enzyme 12	14,7
ppa024781m	AtPLAIVA,PLA IVA,PLP1	Acyl transferase/acyl hydrolase/lysophospholipase superfamily	7,9
ppa015966m	AGL12,XAL1	AGAMOUS-like 12	11,6
ppa020184m	No acronym	Aldolase-type TIM barrel family	4,2
ppa008891m	No acronym	Aldolase-type TIM barrel family	8,2
ppa010397m	AOC3	allene oxide cyclase 3	9,4
ppa012079m	AOC4	allene oxide cyclase 4	26,9
ppa010973m	ACA7,ATACA7	alpha carbonic anhydrase 7	10,1
ppa018538m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	5,0
ppa012103m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	17,6
ppa006627m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	4,5
ppa004631m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	7,5
ppa006906m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	8,2
ppa007817m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	8,7
ppa025930m	ALMT9,AtALMT9	aluminum-activated malate transporter 9	19,2
ppa003617m	No acronym	AMP-dependent synthetase and ligase family	5,6
ppa014974m	No acronym	Ankyrin repeat family	4,6
ppa023279m	ITN1	Ankyrin repeat family	6,8
ppa004023m	No acronym	ARM repeat superfamily	4,5
ppa000316m	ABC4,ATPGP4,MDR4,PGP4	ATP binding cassette subfamily B4	11,0
ppa002226m	No acronym	ATP binding microtubule motor family	4,6
ppa003053m	ACLB-2	ATP citrate lyase subunit B 2	6,5
ppa000700m	No acronym	ATPase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family	4,4
ppa021744m	No acronym	ATPase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family	19,6
ppa006187m	ACLA-2	ATP-citrate lyase A-2	4,8

ppa017859m	No acronym	ATP-dependent caseinolytic (Clp) protease/crotonase family	16,6
ppa018972m	ACA4	autoinhibited Ca(2+)-ATPase, isoform 4	8,3
ppa017924m	No acronym	Auxin efflux carrier family	4,0
ppa006413m	No acronym	Auxin efflux carrier family	4,0
ppa006776m	No acronym	Auxin-responsive family	9,5
ppa005343m	ATMYC2,JAI1,JIN1,MYC2,RD22 BP1,ZBF1	Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding family	8,4
ppa020940m	No acronym	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily	14,5
ppa022195m	No acronym	B-box zinc finger family	7,6
ppa007446m	ATBAG5,BAG5	BCL-2-associated athanogene 5	12,8
ppa015919m	BG5	beta-1,3-glucanase 5	138,0
ppa007004m	CHY1	beta-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 1	33,4
ppa022085m	BAT1	bidirectional amino acid transporter 1	12,4
ppa016302m	ATBCB,BCB,SAG14	blue-copper-binding protein	9,9
ppa005994m	ATBR6OX,BR6OX,BR6OX1,CYP 85A1	brassinosteroid-6-oxidase 1	4,0
ppa020127m	No acronym	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family	4,3
ppa011722m	No acronym	Caleosin-related family	4,2
ppa025431m	CML38	calmodulin-like 38	4,2
ppa024361m	ATCHX14,CHX14	cation/hydrogen exchanger 14	5,3
ppa000641m	CESA4,IRX5,NWS2	cellulose synthase A4	12,3
ppa024725m	ATCESA8,CESA8,IRX1,LEW2	cellulose synthase family	6,9
ppa006899m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	22,0
ppa023080m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	29,0
ppa006153m	No acronym	Chalcone-flavanone isomerase family	4,9
ppa012272m	No acronym	Chaperone DnaJ-domain superfamily	8,1
ppa022088m	ATCAD6,CAD6	cinnamyl alcohol dehydrogenase 6	63,7
ppa007634m	ATCAD9,CAD9	cinnamyl alcohol dehydrogenase 9	7,7
ppa015643m	ATCBF2,CBF2,DREB1C,FTQ4	C-repeat/DRE binding factor 2	29,1
ppa009706m	CLT3	CRT (chloroquine-resistance transporter)-like transporter 3	4,8
ppa001275m	No acronym	Cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase	13,2
ppa002530m	CRK42	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 42	6,6
ppa009163m	AT-CDA1,CDA1,DESZ	cytidine deaminase 1	10,1
ppa018082m	CYP705A3	cytochrome P450, family 705, subfamily A, polypeptide 3	4,0
ppa005020m	CYP707A2	cytochrome P450, family 707, subfamily A, polypeptide 2	65,9
ppa005234m	CYP707A4	cytochrome P450, family 707, subfamily A, polypeptide 4	4,7
ppa004261m	CYP71A20	cytochrome P450, family 71, subfamily A, polypeptide 20	6,7
ppa004341m	CYP714A1	cytochrome P450, family 714, subfamily A, polypeptide 1	10,6
ppa004496m	CYP714A1	cytochrome P450, family 714, subfamily A, polypeptide 1	21,3
ppa005225m	CYP716A1	cytochrome P450, family 716,	4,1

		subfamily A, polypeptide 1	
ppa023100m	CYP72A9	cytochrome P450, family 72, subfamily A, polypeptide 9	4,2
ppa004639m	CYP76C4	cytochrome P450, family 76, subfamily C, polypeptide 4	4,6
ppa021326m	CYP79B3	cytochrome P450, family 79, subfamily B, polypeptide 3	103,0
ppa025296m	CYP81D8	cytochrome P450, family 81, subfamily D, polypeptide 8	7,1
ppa023786m	CYP81D8	cytochrome P450, family 81, subfamily D, polypeptide 8	13,2
ppa004635m	CYP81D8	cytochrome P450, family 81, subfamily D, polypeptide 8	35,1
ppa016050m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1	5,4
ppa004095m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1	11,4
ppa004569m	CYP82G1	cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1	14,0
ppa016466m	CYP87A2	cytochrome P450, family 87, subfamily A, polypeptide 2	5,9
ppa017252m	CYP94B3	cytochrome P450, family 94, subfamily B, polypeptide 3	26,2
ppa004406m	CYP98A3	cytochrome P450, family 98, subfamily A, polypeptide 3	33,4
ppa021859m	ATCKX4,CKX4	cytokinin oxidase 4	15,2
ppa018981m	No acronym	Di-glucose binding protein with Kinesin motor domain	7,5
ppa012062m	No acronym	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family	4,5
ppa023890m	No acronym	D-isomer specific 2-hydroxyacid dehydrogenase family	5,0
ppa015459m	No acronym	DNA binding;ATP binding	9,0
ppa019677m	TOP1, TOP1BETA	DNA topoisomerase 1 beta	152,8
ppa1027151m	No acronym	DNA-binding bromodomain-containing	6,8
ppa007978m	No acronym	DNAJ heat shock family	7,4
ppa009811m	No acronym	Dof-type zinc finger DNA-binding family	5,3
ppa008850m	No acronym	Dof-type zinc finger DNA-binding family	73,5
ppa005864m	No acronym	Domain of unknown function (DUF966)	4,3
ppa007615m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	29,3
ppa021232m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	67,9
ppa007627m	ATCAD7,CAD7,ELI3,ELI3-1	elicitor-activated gene 3-1	116,0
ppa007626m	ATCAD8,CAD-B2,ELI3,ELI3-2	elicitor-activated gene 3-2	8,4
ppa007622m	ATCAD8,CAD-B2,ELI3,ELI3-2	elicitor-activated gene 3-2	9,8
ppa001848m	No acronym	ERD (early-responsive to dehydration stress) family	6,8
ppa023839m	ATERF1,ERF1	ethylene response factor 1	5,3
ppa017430m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	4,3
ppa010314m	ATEXP8,ATEXPA8,ATHEXP ALPHA 1.11,EXP8,EXPA8	expansin A8	9,3
ppa025628m	No acronym	Expressed protein	19,3
ppa006635m	No acronym	FAD/NAD(P)-binding	5,8

		oxidoreductase family	
ppa016294m	No acronym	FAD-binding Berberine family	51,7
ppa022216m	No acronym	FAD-binding Berberine family	6,6
ppa004103m	No acronym	FAD-binding Berberine family	23,0
ppa008181m	FPS1	farnesyl diphosphate synthase 1	4,8
ppa005574m	FAD8	fatty acid desaturase 8	4,2
ppa005645m	FAD8	fatty acid desaturase 8	6,2
ppa005244m	YUC6	Flavin-binding monooxygenase family	10,6
ppa002364m	ATFTSH6,FTSH6	FTSH protease 6	18,3
ppb020680m	GATA26	GATA transcription factor 26	5,9
ppa007226m	GLIP1	GDSL lipase 1	6,0
ppa009645m	GF14 OMICRON,GRF11,RHS5	general regulatory factor 11	5,3
ppa008125m	ATGA2OX8,GA2OX8	gibberellin 2-oxidase 8	14,5
ppa1027121m	ATGLR2.7,GLR2.7	glutamate receptor 2.7	4,0
ppa021995m	ATGLR2.7,GLR2.7	glutamate receptor 2.7	8,6
ppa022019m	ATGLR3.3,GLR3.3	glutamate receptor 3.3	9,8
ppa020695m	ATGLR3.6,GLR3.6	glutamate receptor 3.6	4,1
ppa011242m	ATGSTU19,GST8,GSTU19	glutathione S-transferase TAU 19	12,3
ppa011079m	ATGSTU8,GSTU8	glutathione S-transferase TAU 8	5,8
ppa004970m	AtGH9A4,GH9A4	glycosyl hydrolase 9A4	6,8
ppa016852m	AtGH9B8,GH9B8	glycosyl hydrolase 9B8	12,0
ppa000958m	No acronym	Glycosyl transferase, family 35	4,1
ppa009986m	No acronym	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily	4,7
ppa002591m	ATHSP70,HSP70	heat shock protein 70	4,8
ppa002187m	ATHS83,AtHsp90-1,ATHSP90.1,HSP81-1,HSP81.1,HSP83,HSP90.1	heat shock protein 90.1	9,4
ppa007300m	ATHSFA2,HSFA2	heat shock transcription factor A2	6,5
ppa016016m	HAI2	highly ABA-induced PP2C gene 2	5,2
ppa006696m	HAI3	highly ABA-induced PP2C gene 3	80,4
ppa010947m	ATCHITIV,ATEP3,CHIV,EP3	homolog of carrot EP3-3 chitinase	11,3
ppa023444m	WIN1	HOPW1-1-interacting 1	5,6
ppa020493m	WIN1	HOPW1-1-interacting 1	7,2
ppa022006m	AHP4	HPT phosphotransmitter 4	15,6
ppa013097m	ATHVA22D,HVA22D	HVA22 homologue D	8,8
ppa015305m	HVA22G	HVA22-like protein G	6,4
ppa017132m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	4,3
ppa005455m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	5,1
ppa025565m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	16,3
ppa005318m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	28,6
ppa018601m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	13,4
ppa013137m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	14,5
ppa021711m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	4,2
ppa001241m	AKT1,ATAKT1,KT1	K+ transporter 1	8,1
ppa018214m	No acronym	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family	4,5
ppa013062m	No acronym	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family	5,3
ppa014464m	No acronym	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family	19,2
ppa018537m	CES101	lectin protein kinase family	9,5

ppa007442m	No acronym	Leucine carboxyl methyltransferase	7,4
ppa000895m	LRR XI-23,RLK7	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	9,4
ppa020863m	No acronym	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	9,5
ppa017450m	No acronym	Leucine-rich repeat protein kinase family	5,2
ppa024383m	No acronym	Leucine-rich repeat protein kinase family	5,0
ppa002831m	No acronym	Leucine-rich repeat protein kinase family	13,7
ppa026559m	No acronym	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family	17,6
ppa000438m	EMS1,EXS	Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase	12,0
ppa019759m	LRX2	leucine-rich repeat/extensin 2	4,3
ppa001216m	ATLOX1,LOX1	lipoxygenase 1	10,5
ppa001634m	ATLOX2,LOX2	lipoxygenase 2	4,5
ppa001631m	ATLOX2,LOX2	lipoxygenase 2	8,5
ppa001316m	ATLOX2,LOX2	lipoxygenase 2	19,2
ppa001082m	LOX3	lipoxygenase 3	55,9
ppa019012m	No acronym	LRR and NB-ARC domains-containing disease resistance	4,1
ppa003507m	No acronym	Major facilitator superfamily	4,4
ppa027007m	No acronym	Major facilitator superfamily	8,6
ppa026027m	No acronym	Major facilitator superfamily	19,8
ppa015493m	No acronym	MATE efflux family	7,1
ppa014682m	No acronym	MATE efflux family	11,1
ppa003755m	No acronym	MATE efflux family	5,2
ppa004445m	ATTT12,TT12	MATE efflux family	8,0
ppa003689m	No acronym	MATE efflux family	9,9
ppa008911m	No acronym	Metallo-hydrolase/oxidoreductase superfamily	4,1
ppa009400m	ATMES3,MES3	methyl esterase 3	51,9
ppa006485m	MAPKKK15	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15	45,3
ppa012632m	MLP423	MLP-like protein 423	4,0
ppa018344m	MLP423	MLP-like protein 423	4,2
ppa011018m	MLP423	MLP-like protein 423	4,9
ppa012646m	MLP423	MLP-like protein 423	6,2
ppa000215m	ATMRP3,MRP3	multidrug resistance-associated protein 3	10,1
ppa026553m	ATMYB15,ATY19,MYB15	myb domain protein 15	6,5
ppa010252m	ATMYB4,MYB4	myb domain protein 4	10,1
ppa007438m	ATM4,ATMYB102,MYB102	MYB-like 102	4,0
ppa021577m	ATM4,ATMYB102,MYB102	MYB-like 102	17,6
ppb024555m	MPL1	Myzus persicae-induced lipase 1	4,8
ppa007828m	anac096,NAC096	NAC domain containing protein 96	6,0
ppa018232m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	7,4
ppa010313m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	19,0
ppa009290m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	5,2
ppa008468m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	5,4

ppa026931m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	5,5
ppa009526m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	9,0
ppa020955m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	11,4
ppa009084m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	30,6
ppa003286m	NDB3	NAD(P)H dehydrogenase B3	6,2
ppa008025m	ATB2	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily	5,8
ppa014877m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance	4,8
ppa021560m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance	4,1
ppa026334m	No acronym	NB-ARC domain-containing disease resistance	4,9
ppa026111m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance	5,9
ppa002804m	ATNCED3,NCED3,SIS7,STO1	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3	17,6
ppa006109m	CCD4,NCED4	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 4	4,3
ppa015953m	No acronym	No annotation	4,0
ppb011302m	No acronym	No annotation	4,0
ppa010925m	No acronym	No annotation	4,1
ppa020194m	No acronym	No annotation	4,3
ppa012290m	No acronym	No annotation	4,5
ppa019648m	No acronym	No annotation	4,5
ppa010795m	No acronym	No annotation	4,8
ppa017507m	No acronym	No annotation	4,9
ppa019189m	No acronym	No annotation	5,2
ppa000610m	No acronym	No annotation	5,3
ppa026680m	No acronym	No annotation	5,9
ppa014734m	No acronym	No annotation	6,3
ppa022787m	No acronym	No annotation	6,4
ppa025405m	No acronym	No annotation	6,7
ppa012715m	No acronym	No annotation	7,1
ppa014329m	No acronym	No annotation	7,1
ppa004917m	No acronym	No annotation	8,3
ppa026717m	No acronym	No annotation	8,7
ppa012851m	No acronym	No annotation	8,8
ppa011688m	No acronym	No annotation	8,9
ppa022563m	No acronym	No annotation	9,2
ppa014777m	No acronym	No annotation	9,6
ppa019954m	No acronym	No annotation	10,3
ppa015744m	No acronym	No annotation	12,3
ppa014160m	No acronym	No annotation	14,3
ppa013491m	No acronym	No annotation	21,8
ppa013490m	No acronym	No annotation	22,5
ppa008369m	No acronym	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family	6,3
ppa006848m	No acronym	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family	21,8
ppa015862m	No acronym	Nuclear transport factor 2 (NTF2) family	9,9

ppa018856m	No acronym	O-acyltransferase (WSD1-like) family	16,8
ppa005210m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	6,2
ppa003506m	OPCL1	OPC-8:0 CoA ligase1	4,3
ppa008358m	No acronym	Oxidoreductase, zinc-binding dehydrogenase family	5,0
ppa017583m	No acronym	PAR1 protein	13,2
ppa010729m	No acronym	pathogenesis-related family	6,1
ppa009384m	No acronym	Pathogenesis-related thaumatin superfamily	13,1
ppa024649m	No acronym	Pectin lyase-like superfamily	22,6
ppa020213m	No acronym	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily	12,5
ppa017871m	ATPEPR1,PEPR1	PEP1 receptor 1	5,8
ppa026745m	AMP1,COP2,HPT,MFO1,PT	Peptidase M28 family	5,2
ppa027053m	ATPA2,PA2	peroxidase 2	4,3
ppa008808m	No acronym	Peroxidase superfamily	16,5
ppa008760m	PNC1	peroxisomal adenine nucleotide carrier 1	7,5
ppa000315m	PGP11	P-glycoprotein 11	5,1
ppa002099m	ATPAL1,PAL1	PHE ammonia lyase 1	19,2
ppa007918m	PHT3;2	phosphate transporter 3;2	6,5
ppa018914m	PHT3;2	phosphate transporter 3;2	13,2
ppa000633m	No acronym	Phosphoglycerate mutase-like family	4,6
ppa026872m	PLA IIA,PLA2A,PLP2	phospholipase A 2A	79,7
ppa006429m	No acronym	Phosphoribosyltransferase family	13,4
ppa013406m	PSBX	photosystem II subunit X	4,2
ppa023881m	ATPSK3 (FORMER SYMBOL),ATPSK4,PSK4	phytosulfokine 4 precursor	4,4
ppa022706m	PNP-A	plant natriuretic peptide A	13,3
ppa009630m	PIP2;5,PIP2D	plasma membrane intrinsic protein 2;5	17,1
ppa022547m	PSRP6	plastid-specific 50S ribosomal protein 6	9,2
ppa000227m	ABCG40,ATABCG40,ATPDR12, PDR12	pleiotropic drug resistance 12	4,2
ppa000265m	ABCG40,ATABCG40,ATPDR12, PDR12	pleiotropic drug resistance 12	4,4
ppa000226m	ABCG40,ATABCG40,ATPDR12, PDR12	pleiotropic drug resistance 12	5,3
ppa000233m	ATPDR6,PDR6	pleiotropic drug resistance 6	9,5
ppa000347m	No acronym	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily	6,0
ppa004511m	APAO,ATPAO1,PAO1	polyamine oxidase 1	11,6
ppa018903m	No acronym	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily	5,0
ppa012705m	No acronym	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily	24,6
ppa026850m	CP5	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily	4,1
ppa021350m	No acronym	PQ-loop repeat family / transmembrane family	4,9
ppa013277m	PRF5	profilin 5	5,6
ppa023861m	ATPERK1,PERK1	proline extensin-like receptor kinase 1	30,8
ppa021994m	No acronym	Protein kinase superfamily	74,0

ppa009905m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1223)	11,4
ppa006860m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1262)	7,1
ppa022042m	No acronym	Protein of unknown function (DUF567)	5,4
ppa006923m	No acronym	Protein of unknown function (DUF607)	5,1
ppa007900m	No acronym	Protein of unknown function (DUF761)	4,4
ppa010598m	RTE1	Protein of unknown function (DUF778)	7,2
ppa000696m	No acronym	Protein of unknown function (DUF810)	25,9
ppa021794m	No acronym	Protein of unknown function, DUF593	4,0
ppa1027125m	No acronym	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family	6,4
ppa025245m	No acronym	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family	11,5
ppa011096m	No acronym	Putative thiol-disulphide oxidoreductase DCC	5,3
ppa004689m	No acronym	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily	6,0
ppa005405m	No acronym	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily	6,4
ppa005058m	No acronym	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily	7,7
ppa009060m	A37,ATPDX1.2,PDX1.2	pyridoxine biosynthesis 1.2	6,1
ppa000440m	No acronym	RAD3-like DNA-binding helicase	5,9
ppa019252m	No acronym	Receptor-like protein kinase-related family	12,2
ppa023235m	RRTF1	redox responsive transcription factor 1	5,1
ppa002102m	AT-RSH3,ATRSH3,RSH3	RELA/SPOT homolog 3	4,1
ppa006855m	ATFMN/FHY,FMN/FHY	riboflavin kinase/FMN hydrolase	4,6
ppa011026m	ATRNS1,RNS1	ribonuclease 1	4,2
ppa015511m	No acronym	RING/U-box superfamily	5,2
ppa012865m	No acronym	RING/U-box superfamily	17,0
ppa004186m	No acronym	RNA 3'-terminal phosphate cyclase/enolpyruvate transferase, alpha/beta	4,2
ppb013006m	No acronym	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family	8,6
ppa005184m	RCA	rubisco activase	4,6
ppa004742m	NMT1,PEAMT,XPL1	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	4,6
ppa023887m	No acronym	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	4,7
ppa010137m	No acronym	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	4,8
ppa023962m	ATSFH12,SFH12	SEC14-like 12	7,4
ppa001730m	AtSIP2,SIP2	seed imbibition 2	7,0
ppa004618m	scpl40	serine carboxypeptidase-like 40	4,4
ppa018391m	No acronym	Serine protease inhibitor, potato inhibitor I-type family	6,4

ppa018589m	No acronym	Serine protease inhibitor, potato inhibitor I-type family	7,1
ppa004687m	ATMLO2,MLO2,PMR2	Seven transmembrane MLO family	8,1
ppa003466m	ATMLO6,MLO6	Seven transmembrane MLO family	9,9
ppa007712m	SRO5	similar to RCD one 5	6,0
ppa003872m	sks4	SKU5 similar 4	6,5
ppa018327m	No acronym	S-locus lectin protein kinase family	6,6
ppa021546m	No acronym	S-locus lectin protein kinase family	4,5
ppa002027m	No acronym	S-locus lectin protein kinase family	4,8
ppa006420m	ERG9,SQS1	squalene synthase 1	4,6
ppa001276m	AtSTS,STS	stachyose synthase	5,8
ppa002458m	SRF5	STRUBBELIG-receptor family 5	4,7
ppa002172m	No acronym	subtilase family protein	11,1
ppa001689m	No acronym	subtilase family protein	12,8
ppa026851m	No acronym	Subtilisin-like serine endopeptidase family protein	4,0
ppa001727m	AIR3	Subtilisin-like serine endopeptidase family	4,6
ppa001732m	AIR3	Subtilisin-like serine endopeptidase family	4,7
ppa001938m	No acronym	Subtilisin-like serine endopeptidase family	5,0
ppa024702m	AIR3	Subtilisin-like serine endopeptidase family	12,9
ppa002556m	AST12,SULTR3;1	sulfate transporter 3;1	4,1
ppa023341m	ATTPS03,TPS03	terpene synthase 03	107,3
ppa002670m	ATTPS14,TPS14	terpene synthase 14	13,6
ppa003380m	ATTPS14,TPS14	terpene synthase 14	86,3
ppa024025m	ATTPS-CIN,TPS-CIN	terpene synthase-like sequence-1,8-cineole	9,6
ppa001817m	No acronym	Terpenoid cyclases family	12,9
ppa005392m	No acronym	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily	14,9
ppa006513m	No acronym	Thiolase family	5,4
ppa010364m	ATTIP1.3,GAMMA-TIP3,TIP1;3	tonoplast intrinsic protein 1;3	20,5
ppa021437m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	6,7
ppa020769m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	39,4
ppa001057m	ATTPS1,TPS1	trehalose-6-phosphate synthase	7,8
ppa005573m	TBL11	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 11	5,0
ppa024241m	TBL43	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 43	4,4
ppa017879m	TBL6	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 6	34,4
ppa015133m	UGT73B3	UDP-glucosyl transferase 73B3	5,6
ppa018059m	UGT73B3	UDP-glucosyl transferase 73B3	6,5
ppa016033m	UGT73B5	UDP-glucosyl transferase 73B5	6,6
ppa004786m	UGT73C1	UDP-glucosyl transferase 73C1	12,2
ppa021148m	AtUGT85A5,UGT85A5	UDP-glucosyl transferase 85A5	7,7
ppa016206m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	4,8
ppa005112m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	5,5
ppa005520m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	5,5
ppa005427m	GT72B1,UGT72B1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	5,7
ppa005515m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	5,7

ppa004601m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	6,3
ppa019804m	ATUGT85A1,UGT85A1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	15,4
ppa025141m	ATUGT85A1,UGT85A1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	39,7
ppa022051m	No acronym	Uncharacterised protein family (UPF0114)	8,4
ppa007586m	No acronym	Undecaprenyl pyrophosphate synthetase family	27,5
ppa007378m	UPM1	urophorphyrin methylase 1	4,1
ppa007801m	No acronym	VQ motif-containing protein	5,6
ppa012414m	ATWRKY75,WRKY75	WRKY DNA-binding protein 75	4,6
ppa016459m	ATWRKY75,WRKY75	WRKY DNA-binding protein 75	20,1
ppa009608m	XTH16	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16	4,5
ppa001999m	YSL7	YELLOW STRIPE like 7	5,6
ppa026772m	No acronym	zinc ion binding	9,8

4.5.2. Hale controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007490m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	4,6
ppa1027192m	ATOPR2,OPR2	12-oxophytodienoate reductase 2	72,6
ppa018675m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	4,5
ppa017723m	No acronym	Actin-like ATPase superfamily	6,5
ppa020416m	ALD1	AGD2-like defense response protein 1	5,5
ppa005260m	No acronym	alpha/beta-Hydrolases superfamily	4,5
ppa019288m	No acronym	Ankyrin repeat family	4,5
ppa000700m	No acronym	ATPase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family	8,2
ppa024933m	No acronym	ATPase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family	9,3
ppa000987m	ACA2	calcium ATPase 2	4,9
ppa024050m	No acronym	Calcium-binding EF-hand family	5,6
ppa012426m	No acronym	Calcium-binding EF-hand family	6,4
ppa002353m	NTMC2T5.2,NTMC2TYPE5.2	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family	4,1
ppa009854m	No acronym	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family	4,1
ppa025469m	No acronym	Calmodulin binding protein-like	4,9
ppa003269m	No acronym	Calmodulin-binding protein	6,1
ppa010333m	ATCM2,CM2	chorismate mutase 2	4,1
ppa022088m	ATCAD6,CAD6	cinnamyl alcohol dehydrogenase 6	52,6
ppa025296m	CYP81D8	cytochrome P450, family 81, subfamily D, polypeptide 8	7,2
ppa021859m	ATCKX4,CKX4	cytokinin oxidase 4	5,9
ppa023909m	No acronym	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family	4,7
ppa017937m	No acronym	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family	7,6
ppa021102m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	5,7
ppa023486m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	6,2
ppa019677m	TOP1,TOP1BETA	DNA topoisomerase 1 beta	37,7
ppa007153m	No acronym	Endosomal targeting BRO1-like domain-containing protein	4,3
ppa026485m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	7,7
ppa002364m	ATFTSH6,FTSH6	FTSH protease 6	5,1
ppa016852m	AtGH9B8,GH9B8	glycosyl hydrolase 9B8	8,3
ppa010586m	No acronym	GRAM domain family	12,6
ppa007221m	No acronym	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily	4,6
ppa015305m	HVA22G	HVA22-like protein G	5,3
ppa003580m	LAC14	laccase 14	4,0
ppa020322m	LECRKA4.2	lectin receptor kinase a4.1	4,4
ppa001216m	ATLOX1,LOX1	lipoxygenase 1	14,0
ppa013671m	LKR,LKR/SDH,SDH	lysine-ketoglutarate reductase/saccharopine dehydrogenase bifunctional enzyme	5,1
ppa009455m	anac036,NAC036	NAC domain containing protein 36	4,7

ppa010337m	anac090,NAC090	NAC domain containing protein 90	6,6
ppa026931m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	4,3
ppa018232m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	4,6
ppa006816m	AWI31,VEP1	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	5,4
ppa009084m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	7,8
ppa008509m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	14,4
ppa007985m	No acronym	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily	4,2
ppa002804m	ATNCED3,NCED3,SIS7,STO1	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3	5,0
ppa013130m	No acronym	No annotation	4,3
ppa014274m	No acronym	No annotation	4,8
ppa014856m	No acronym	No annotation	5,2
ppa014306m	No acronym	No annotation	5,4
ppa004524m	No acronym	No annotation	5,8
ppa019486m	No acronym	No annotation	5,9
ppa018353m	No acronym	No annotation	6,0
ppa017390m	No acronym	No annotation	6,2
ppa013490m	No acronym	No annotation	19,9
ppa021335m	No acronym	Nse4, component of Smc5/6 DNA repair complex	5,7
ppa003424m	No acronym	O-fucosyltransferase family	4,4
ppa020074m	No acronym	Outer arm dynein light chain 1 protein	4,7
ppa001528m	PLDALPHA2	phospholipase D alpha 2	4,2
ppa007111m	No acronym	Plant calmodulin-binding protein-related	21,1
ppa003639m	No acronym	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	4,2
ppa000249m	ATPDR5,PDR5	pleiotropic drug resistance 5	20,7
ppa021350m	No acronym	PQ-loop repeat family protein / transmembrane family	4,1
ppa023930m	PR5K	PR5-like receptor kinase	4,0
ppa007118m	No acronym	Protein of unknown function (DUF793)	4,7
ppa002693m	No acronym	receptor serine/threonine kinase, putative	5,7
ppa023235m	RRTF1	redox responsive transcription factor 1	4,1
ppa008715m	ATRBL2,RBL2	RHOMBOID-like 2	5,5
ppa010419m	No acronym	Rubber elongation factor protein (REF)	4,6
ppa010938m	VPS24.1	SNF7 family protein	7,9
ppa007076m	ANAC091,TIP	TCV-interacting protein	5,7
ppa003423m	TPS02	terpene synthase 02	6,1
ppa007424m	CDC20.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family	4,0
ppa005800m	CDC20.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family	8,4
ppa000794m	No acronym	transferases, transferring glycosyl groups	4,4

ppa014816m	UGT73B3	UDP-glucosyl transferase 73B3	5,5
ppa016033m	UGT73B5	UDP-glucosyl transferase 73B5	8,7
ppa004957m	HYR1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	6,2
ppa007586m	No acronym	Undecaprenyl pyrophosphate synthetase family	12,7
ppb021349m	WAK3	wall associated kinase 3	5,7
ppa024956m	RFO1,WAKL22	Wall-associated kinase family	7,3

4.5.3. Hale controllo vs. 30 min

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa017723m	No acronym	Actin-like ATPase superfamily	9,6
ppa006760m	No acronym	Aluminium activated malate transporter family	5,0
ppa019847m	No acronym	Ankyrin repeat family	6,8
ppa019288m	No acronym	Ankyrin repeat family	9,4
ppb011093m	AGP1,ATAGP1	arabinogalactan protein 1	4,4
ppa026992m	ATL5	AtL5	4,5
ppa000700m	No acronym	ATPase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family	4,8
ppa010972m	No acronym	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily	5,7
ppa011524m	ATBCB,BCB,SAG14	blue-copper-binding protein	4,4
ppa009880m	No acronym	Calcineurin-like metallo-phosphoesterase superfamily	5,8
ppa012612m	No acronym	Calcium-binding EF-hand family	4,0
ppa012426m	No acronym	Calcium-binding EF-hand family	5,0
ppa016047m	No acronym	Calcium-binding EF-hand family	10,1
ppa002353m	NTMC2T5.2,NTMC2TYPE5.2	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family	4,7
ppa009854m	No acronym	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family	12,2
ppa025469m	No acronym	Calmodulin binding protein-like	6,9
ppa003269m	No acronym	Calmodulin-binding	14,4
ppa019709m	CML38	calmodulin-like 38	4,2
ppa008412m	AtCXE17,CXE17	carboxyesterase 17	5,3
ppa006043m	ATCAX1,CAX1,RCI4	cation exchanger 1	13,8
ppa003841m	ATCAX11,CAX11	cation exchanger 11	4,8
ppa016564m	No acronym	CBF1-interacting co-repressor CIR, N-terminal;Pre-mRNA splicing factor	9,6
ppa018351m	No acronym	CBS domain-containing protein	4,4
ppa006888m	ATCHS,CHS,TT4	Chalcone and stilbene synthase family	4,3
ppa011747m	ELIP,ELIP1	Chlorophyll A-B binding family	5,8
ppa010333m	ATCM2,CM2	chorismate mutase 2	8,4
ppa010206m	No acronym	Clathrin light chain	5,3
ppa002775m	ATSEB1,COBL7,SEB1	COBRA-like protein-7 precursor	14,5
ppa022793m	No acronym	Copper transport protein family	5,6
ppa001991m	ATCUL3,ATCUL3A,CUL3,CUL3A	cullin 3	7,2
ppa026778m	SDS	Cyclin family protein	6,3
ppa011252m	CYCP2;1	cyclin p2;1	5,5
ppa005059m	CYP707A1	cytochrome P450, family 707, subfamily A, polypeptide 1	7,1
ppa001610m	No acronym	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family	5,1
ppa001497m	No acronym	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family	12,0
ppa000828m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class)	4,5
ppa025757m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class)	4,9
ppa023909m	No acronym	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family	4,2
ppa000577m	No acronym	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family	7,2

ppa021903m	No acronym	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family	7,3
ppa023486m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	4,0
ppa000489m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	4,5
ppa1027137m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	4,5
ppa022940m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	4,6
ppa018964m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	5,1
ppa021102m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	5,1
ppa022914m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	5,5
ppa021062m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	5,8
ppa014887m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	6,2
ppa018595m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	6,2
ppa023503m	No acronym	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	8,8
ppa007153m	No acronym	Endosomal targeting BRO1-like domain-containing protein	9,7
ppa018387m	EDM2	ENHANCED DOWNY MILDEW 2	6,5
ppa010982m	ATERF-4,ATERF4,ERF4,RAP2.5	ethylene responsive element binding factor 4	7,4
ppa026485m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	4,6
ppa018689m	No acronym	Eukaryotic protein of unknown function (DUF914)	4,2
ppa002946m	ATEXO70H2,EXO70H2	exocyst subunit exo70 family protein H2	4,6
ppa002738m	ATEXO70H4,EXO70H4	exocyst subunit exo70 family protein H4	5,5
ppa024455m	No acronym	Fatty acid/sphingolipid desaturase	4,8
ppa005244m	YUC6	Flavin-binding monooxygenase family	8,3
ppa006908m	ATGPA1,GP ALPHA 1,GPA1	G protein alpha subunit 1	5,4
ppa005253m	GAUT9	galacturonosyltransferase 9	8,6
ppa010586m	No acronym	GRAM domain family	14,8
ppa007221m	No acronym	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily	9,7
ppa006514m	AT-HSFA8,HSFA8	heat shock transcription factor A8	4,3
ppa022641m	AtHSD7,HSD7	hydroxysteroid dehydrogenase 7	4,3
ppa011795m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	4,2
ppa004693m	No acronym	Integrin-linked protein kinase family	5,6
ppa010043m	No acronym	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family	12,7
ppa020322m	LECRKA4.2	lectin receptor kinase a4.1	6,7
ppa001164m	FER	Malectin/receptor-like protein kinase family	5,4
ppa023594m	No acronym	Methyltransferase-related protein	4,6
ppb024021m	No acronym	MuDR family transposase	4,6

ppa015973m	ATMYB2,MYB2	myb domain protein 2	4,5
ppa014884m	ATMYB66,MYB66,WER,WER1	myb domain protein 66	4,2
ppa018124m	ANAC014,NAC014	NAC 014	4,3
ppa009455m	anac036,NAC036	NAC domain containing protein 36	4,8
ppa010337m	anac090,NAC090	NAC domain containing protein 90	10,7
ppa022384m	NTL9	NAC transcription factor-like 9	4,2
ppa009281m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	4,2
ppa008509m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	6,4
ppa026627m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance	5,7
ppa019283m	RPM1,RPS3	NB-ARC domain-containing disease resistance protein	5,7
ppa010862m	NHL3	NDR1/HIN1-like 3	6,9
ppa014149m	No acronym	No annotation	4,1
ppb010273m	No acronym	No annotation	4,2
ppa014249m	No acronym	No annotation	4,3
ppa017390m	No acronym	No annotation	4,3
ppa012904m	No acronym	No annotation	4,4
ppa014391m	No acronym	No annotation	4,4
ppa003106m	No acronym	No annotation	4,6
ppa014401m	No acronym	No annotation	5,0
ppa021426m	No acronym	No annotation	5,0
ppa011223m	No acronym	No annotation	5,5
ppa001823m	No acronym	No annotation	5,7
ppa014292m	No acronym	No annotation	5,9
ppa018353m	No acronym	No annotation	6,0
ppa013490m	No acronym	No annotation	6,9
ppa014406m	No acronym	No annotation	7,4
ppa022084m	No acronym	No annotation	9,4
ppa004524m	No acronym	No annotation	9,5
ppa012458m	No acronym	No annotation	9,6
ppa014306m	No acronym	No annotation	11,6
ppa021335m	No acronym	Nse4, component of Smc5/6 DNA repair complex	4,0
ppa003603m	GAUT8,QUA1	Nucleotide-diphospho-sugar transferases superfamily	5,2
ppa002708m	No acronym	O-fucosyltransferase family	4,9
ppa003424m	No acronym	O-fucosyltransferase family	10,0
ppa004732m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	13,7
ppa020074m	No acronym	Outer arm dynein light chain 1	6,9
ppa008424m	EXO	Phosphate-responsive 1 family	5,9
ppa008769m	EXO	Phosphate-responsive 1 family	11,5
ppa008439m	EXO	Phosphate-responsive 1 family	14,0
ppa004610m	PFK3	phosphofructokinase 3	4,2
ppa000491m	PHYE	phytochrome E	5,7
ppa007111m	No acronym	Plant calmodulin-binding protein-related	97,4
ppa003639m	No acronym	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	4,0
ppa007936m	BME3,BME3-ZF,GATA8	Plant-specific GATA-type zinc finger transcription factor family	4,2
ppa023930m	PR5K	PR5-like receptor kinase	4,2
ppa002532m	ATPERK1,PERK1	proline extensin-like receptor kinase 1	6,6
ppa003329m	No acronym	Protein kinase family	4,7

ppa016660m	No acronym	Protein kinase superfamily	4,1
ppa026138m	No acronym	Protein kinase superfamily	4,5
ppb004154m	No acronym	Protein kinase superfamily	5,1
ppa009368m	No acronym	Protein of unknown function (DUF1645)	4,5
ppa007118m	No acronym	Protein of unknown function (DUF793)	7,0
ppa012574m	SVB	Protein of unknown function, DUF538	4,4
ppa011481m	ATRAB,ATRAB ALPHA,ATRAB18B,ATRABC2A, RABC2A	RAB GTPase homolog C2A	5,7
ppa002693m	No acronym	receptor serine/threonine kinase, putative	5,9
ppb008146m	No acronym	Regulator of Vps4 activity in the MVB pathway	4,2
ppa008715m	ATRBL2,RBL2	RHOMBOID-like 2	8,7
ppa010419m	No acronym	Rubber elongation factor protein (REF)	7,7
ppa003011m	No acronym	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily	4,7
ppa003910m	SCL13	SCARECROW-like 13	4,1
ppa002797m	ATGRAS2,GRAS2,SCL14	SCARECROW-like 14	4,1
ppa000816m	No acronym	SNF2 domain-containing protein / helicase domain-containing protein / zinc finger protein-related	5,2
ppa010938m	VPS24.1	SNF7 family	11,6
ppa1027138m	(AT)SRC2,SRC2	soybean gene regulated by cold-2	5,5
ppa009571m	(AT)SRC2,SRC2	soybean gene regulated by cold-2	6,6
ppa008798m	BAH1,NLA	SPX (SYG1/Pho81/XPR1) domain-containing	5,9
ppa008129m	No acronym	Syntaxin/t-SNARE family	7,3
ppa007076m	ANAC091,TIP	TCV-interacting protein	14,0
ppa007424m	CDC20.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family	4,8
ppa005673m	CDC20.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family	7,2
ppa005800m	CDC20.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family	9,4
ppa013625m	No acronym	Translation initiation factor SUI1 family	6,6
ppa025063m	No acronym	TTF-type zinc finger protein with HAT dimerisation domain	11,7
ppa022506m	UBC10	ubiquitin-conjugating enzyme 10	7,0
ppa006263m	ATELC,ELC	Ubiquitin-conjugating enzyme/RWD-like	4,7
ppa014816m	UGT73B3	UDP-glucosyl transferase 73B3	6,0
ppa016033m	UGT73B5	UDP-glucosyl transferase 73B5	6,4
ppa008779m	ATPUMP5,DIC1,UCP5	uncoupling protein 5	5,0
ppa007586m	No acronym	Undecaprenyl pyrophosphate synthetase family	15,8
ppa011462m	VPS28-1,VPS28-2	Vacuolar protein sorting-associated protein VPS28 family	4,8
ppa024956m	RFO1,WAKL22	Wall-associated kinase family	7,2
ppa015480m	ATWRKY51,WRKY51	WRKY DNA-binding protein 51	5,7
ppa007708m	ATWRKY53,WRKY53	WRKY family transcription factor	7,3
ppa017487m	XTH16	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16	10,2

ppa020825m	XTH16	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16	15,8
ppa009608m	XTH16	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16	23,3
ppa025732m	No acronym	zinc knuckle (CCHC-type) family	4,3

4.6. 'J.H. Hale': geni ACCESI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.6.1. Hale controllo vs. 3 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa021018m	No acronym	Cupredoxin superfamily	Inf
ppa018515m	No acronym	Cytochrome P450 superfamily	Inf
ppa004387m	AtGH9B13,GH9B13	glycosyl hydrolase 9B13	Inf
ppa027203m	ATLMCO4,IRX12,LAC4,LMCO4	Laccase/Diphenol oxidase family	Inf
ppa018313m	No acronym	Leucine-rich receptor-like protein kinase family	Inf
ppa017783m	No acronym	No annotation	Inf
ppa018750m	No acronym	Peroxidase superfamily	Inf
ppa016615m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	Inf
ppa027098m	No acronym	Uncharacterised conserved protein UCP015417, vWA	Inf

4.6.2. Hale controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa010831m	ATGSTU17,ERD9,GST30,GST30B	Glutathione S-transferase family	Inf

4.7. 'J.H. Hale': geni DOWN-REGOLATI in tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.7.1. Hale controllo vs. 3 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa019257m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	-5,7
ppa024131m	No acronym	Argonaute family	-4,5
ppa003159m	ATPIN1,PIN1	Auxin efflux carrier family	-4,3
ppa014104m	No acronym	B12D	-8,9
ppa020565m	No acronym	BED zinc finger ;hAT family dimerisation domain	-6,6
ppa026291m	B1,BCH1,BETA-OHASE 1,chl1	beta-hydroxylase 1	-16,8
ppb004684m	No acronym	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer /seed storage 2S albumin superfamily	-5,4
ppa014697m	No acronym	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer /seed storage 2S albumin superfamily	-4,4
ppa026927m	ATCHIA,CHIA	chitinase A	-5,1
ppa010605m	No acronym	Class I glutamine amidotransferase-like superfamily	-4,5
ppa022025m	ATGRP7,CCR2,GR-RBP7,GRP7	cold, circadian rhythm, and rna binding 2	-4,9
ppa018639m	CYP735A1	cytochrome P450, family 735, subfamily A, polypeptide 1	-8,6
ppa019821m	CYP93D1	cytochrome P450, family 93, subfamily D, polypeptide 1	-7,8
ppa020962m	No acronym	Cytokine-induced anti-apoptosis inhibitor 1, Fe-S biogenesis	-8,4
ppa023091m	No acronym	disease resistance family / LRR family	-5,5
ppa010691m	No acronym	DNAJ heat shock family	-7,5
ppa013609m	No acronym	Dormancy/auxin associated family	-4,4
ppa006308m	No acronym	Exostosin family	-4,5
ppa019150m	ATEXPB2,ATHEXP BETA 1.4,EXPB2	expansin B2	-5,2
ppa003798m	EDA28,MEE23	FAD-binding Berberine family	-5,0
ppa005810m	GAUT15	galacturonosyltransferase 15	-5,5
ppa020220m	ATGSTU19,GST8,GSTU19	glutathione S-transferase TAU 19	-8,4
ppa005079m	No acronym	GRAS family transcription factor	-6,8
ppa024293m	AtGRF7,GRF7	growth-regulating factor 7	-4,3
ppa011103m	HSP21	heat shock 21	-4,1
ppa009998m	No acronym	Heavy metal transport/detoxification superfamily	-5,1
ppa012595m	AHP1	histidine-containing phosphotransmitter 1	-4,5
ppa004817m	CER4,FAR3,G7	Jobba acyl CoA reductase-related male sterility	-7,7
ppa015971m	No acronym	kinase family with leucine-rich repeat domain	-4,4
ppa019863m	No acronym	Major facilitator superfamily	-15,5
ppa009635m	ATMES17,MES17	methyl esterase 17	-4,1
ppa014646m	MRPL11	mitochondrial ribosomal L11	-4,8

ppa018893m	MAPKKK19	mitogen-activated kinase kinase kinase 19	-4,7
ppa010735m	ATMYB44,ATMYBR1,MYB44,MYBR1	myb domain r1	-6,7
ppa009901m	MIOX1	myo-inositol oxygenase 1	-5,6
ppa015737m	No acronym	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily	-5,6
ppa024201m	NIMIN-2	NIM1-interacting 2	-11,9
ppa008626m	No acronym	No annotation	-17,8
ppa013612m	No acronym	No annotation	-6,8
ppa014426m	No acronym	No annotation	-6,7
ppa023699m	No acronym	No annotation	-6,5
ppa015295m	No acronym	No annotation	-6,1
ppa012489m	No acronym	No annotation	-5,9
ppa011939m	No acronym	No annotation	-5,2
ppa024914m	No acronym	No annotation	-5,1
ppa012812m	No acronym	No annotation	-5,0
ppa018737m	No acronym	No annotation	-5,0
ppa017138m	No acronym	No annotation	-4,9
ppa017413m	No acronym	No annotation	-4,7
ppa012785m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa012293m	No acronym	No annotation	-4,1
ppa024543m	ATOSM34,OSM34	osmotin 34	-5,6
ppa019480m	ATOSM34,OSM34	osmotin 34	-5,0
ppa024923m	PR-5,PR5	pathogenesis-related gene 5	-4,6
ppa006130m	No acronym	Pectin lyase-like superfamily	-6,5
ppa001691m	ATPHO1,PHO1	phosphate 1	-5,0
ppa004593m	ARA8,ATPCS1,CAD1,PCS1	phytochelatin synthase 1 (PCS1)	-5,2
ppa022963m	PIF7	phytochrome-interacting factor7	-4,1
ppa024197m	No acronym	Plant self-incompatibility S1 family	-4,2
ppa002658m	PUB15	Plant U-Box 15	-4,9
ppa004603m	No acronym	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily	-63,9
ppa021281m	No acronym	Pollen Ole e 1 allergen and extensin family	-5,5
ppa013398m	RPL27	ribosomal large subunit 27	-5,0
ppa006443m	No acronym	SEC14 cytosolic factor family / phosphoglyceride transfer family	-4,7
ppa020709m	ATSERAT2;2,SAT-1,SAT-A,SAT-M,SAT3,SERAT2;2	serine acetyltransferase 2;2	-4,5
ppa015026m	ATTCP18,BRC1,TCP18	TCP family transcription factor	-4,3
ppa025334m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	-5,6
ppa017485m	UBP12	ubiquitin-specific protease 12	-6,8
ppa016365m	No acronym	UDP-Glycosyltransferase superfamily	-5,1
ppa012828m	No acronym	Uncharacterised family (UPF0497)	-6,5
ppa014951m	No acronym	Uncharacterised conserved UCP031279	-5,0
ppa011342m	No acronym	winged-helix DNA-binding transcription factor family	-8,6
ppa026513m	ATZFP1,ZFP1	zinc-finger 1	-4,7

4.7.2. Hale controllo vs. 1 hpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa019539m	No acronym	AP2/B3-like transcriptional factor family	-4,4
ppa001382m	BGAL1	beta galactosidase 1	-4,4
ppa006739m	ATRD22,RD22	BURP domain-containing protein	-9,9
ppa014628m	CBF4,DREB1D	C-repeat-binding factor 4	-7,5
ppa004260m	CYP84A1,FAH1	ferulic acid 5-hydroxylase 1	-4,6
ppa007958m	No acronym	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily	-7,5
ppa026139m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	-6,8
ppa003171m	No acronym	No annotation	-12,7
ppa008626m	No acronym	No annotation	-8,2
ppa016430m	No acronym	No annotation	-5,1
ppa010741m	At17.1	No annotation	-4,7
ppa014314m	No acronym	No annotation	-4,3
ppa002843m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	-4,6
ppa020240m	No acronym	PLAC8 family	-5,7
ppa007395m	ATPRP2,PRP2	proline-rich protein 2	-5,9
ppa009430m	No acronym	Protein of unknown function (DUF506)	-4,0
ppa011446m	No acronym	RING/U-box superfamily	-4,5
ppa001661m	No acronym	Subtilase family	-8,3
ppa015026m	ATTCP18,BRC1,TCP18	TCP family transcription factor	-4,7

4.7.3. Hale controllo vs. 30 min

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa007719m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	-10,1
ppa007856m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	-9,3
ppa021625m	No acronym	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily	-4,7
ppa003854m	4CL2,AT4CL2	4-coumarate:CoA ligase 2	-4,5
ppa000414m	IRE	AGC (cAMP-dependent, cGMP-dependent and protein kinase C) kinase family	-7,3
ppa003617m	No acronym	AMP-dependent synthetase and ligase family	-6,3
ppa019539m	No acronym	AP2/B3-like transcriptional factor family	-6,7
ppa009916m	REM39,VRN1	AP2/B3-like transcriptional factor family	-4,8
ppa004680m	ATMYC2,JAI1,JIN1,MYC2,RD22BP1,ZBF1	Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding family	-4,7
ppa017791m	BHLH92	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily	-7,3
ppa014697m	No acronym	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily	-6,6
ppa006739m	ATRD22,RD22	BURP domain-containing	-17,3
ppa009733m	No acronym	calcium-binding EF hand family	-4,7
ppa016280m	AtCXE17,CXE17	carboxyesterase 17	-19,9
ppa009440m	No acronym	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger	-4,2
ppa020749m	No acronym	Concanavalin A-like lectin protein kinase family	-7,3
ppa018868m	No acronym	Concanavalin A-like lectin protein kinase family	-4,8
ppa014628m	CBF4,DREB1D	C-repeat-binding factor 4	-5,8
ppa006165m	ATCMPG2,CMPG2	CYS, MET, PRO, and GLY protein 2	-6,0
ppa020637m	CYP93D1	cytochrome P450, family 93, subfamily D, polypeptide 1	-7,5
ppa004404m	CYP98A3	cytochrome P450, family 98, subfamily A, polypeptide 3	-4,1
ppa007630m	No acronym	D-mannose binding lectin protein with Apple-like carbohydrate-binding domain	-6,7
ppa005864m	No acronym	Domain of unknown function (DUF966)	-5,3
ppa005789m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	-40,2
ppa022337m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	-5,7
ppa019577m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease family	-5,5
ppa005104m	No acronym	Eukaryotic aspartyl protease	-4,6

		family	
ppa020668m	No acronym	F-box family	-4,9
ppa017841m	No acronym	F-box family	-4,3
ppa004260m	CYP84A1,FAH1	ferulic acid 5-hydroxylase 1	-7,9
ppa013728m	ATFPF1,FPF1	flowering promoting factor 1	-6,3
ppa010365m	GAMMA-TIP,GAMMA-TIP1,TIP1;1	gamma tonoplast intrinsic	-4,4
ppa011385m	ATGER3,GER3,GLP3,GLP3A,GLP3B	germin 3	-5,4
ppa021128m	ATGLR2.9,GLR2.9	glutamate receptor 2.9	-4,7
ppa005079m	No acronym	GRAS family transcription factor	-8,5
ppa003017m	AtGRF1,GRF1	growth-regulating factor 1	-4,0
ppa024293m	AtGRF7,GRF7	growth-regulating factor 7	-4,6
ppa011221m	ATHB-7,ATHB7,HB-7	homeobox 7	-4,1
ppa008984m	HAT22	Homeobox-leucine zipper family	-4,5
ppa011006m	ATHB-17,ATHB17,HB17	homeobox-leucine zipper protein 17	-4,1
ppa008837m	LUX,PCL1	Homeodomain-like superfamily	-4,8
ppa005318m	No acronym	HXXXD-type acyl-transferase family	-5,5
ppa013265m	No acronym	hydroxyproline-rich glycoprotein family	-4,1
ppa026139m	No acronym	Integrase-type DNA-binding superfamily	-13,6
ppa025288m	IQD26	IQ-domain 26	-13,5
ppa011173m	JAS1,JAZ10,TIFY9	jasmonate-zim-domain protein 10	-4,8
ppa021192m	KUF1	KAR-UP F-box 1	-32,6
ppa011519m	No acronym	Lactoylglutathione lyase / glyoxalase I family	-19,8
ppa020571m	No acronym	Leucine-rich repeat protein kinase family	-8,2
ppa012322m	LBD4	LOB domain-containing protein 4	-4,2
ppa008092m	LYM2	lysm domain GPI-anchored protein 2 precursor	-6,7
ppa019863m	No acronym	Major facilitator superfamily	-8,1
ppa004132m	ATSTP13,MSS1,STP13	Major facilitator superfamily	-4,4
ppa009922m	MEE14	maternal effect embryo arrest 14	-4,9
ppa020879m	MLP423	MLP-like protein 423	-52,9
ppa012632m	MLP423	MLP-like protein 423	-6,4
ppa012646m	MLP423	MLP-like protein 423	-5,1
ppb012927m	MLP423	MLP-like protein 423	-4,6
ppa006434m	ATMYB105,LOF2,MYB105	myb domain protein 105	-17,5
ppa021921m	ATMYB15,ATY19,MYB15	myb domain protein 15	-14,5
ppa010846m	ATMYB4,MYB4	myb domain protein 4	-5,2
ppa014847m	No acronym	myb-like HTH transcriptional regulator family	-5,3
ppa021927m	No acronym	myosin-related	-6,1
ppa002314m	ATNCED5,NCED5	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 5	-6,0
ppa008966m	No acronym	No annotation	-20,4
ppa023846m	No acronym	No annotation	-18,1
ppa010741m	At17.1	No annotation	-17,7
ppa012078m	No acronym	No annotation	-13,9
ppa026148m	No acronym	No annotation	-11,0

ppa018085m	No acronym	No annotation	-8,4
ppa019643m	No acronym	No annotation	-8,4
ppa024256m	No acronym	No annotation	-7,4
ppa003171m	No acronym	No annotation	-7,1
ppa025705m	No acronym	No annotation	-6,1
ppa012812m	No acronym	No annotation	-5,2
ppa014314m	No acronym	No annotation	-5,2
ppa018264m	No acronym	No annotation	-5,1
ppa017138m	No acronym	No annotation	-5,0
ppa014437m	No acronym	No annotation	-4,7
ppa006667m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa024094m	No acronym	No annotation	-4,4
ppa006324m	No acronym	No annotation	-4,3
ppa023867m	ATNUDT1,ATNUDX1,NUDX1	nudix hydrolase 1	-31,5
ppa002843m	No acronym	O-Glycosyl hydrolases family 17	-6,5
ppa013052m	HEL,PR-4,PR4	pathogenesis-related 4	-5,2
ppa006982m	IAR3,JR3	peptidase M20/M25/M40 family	-11,7
ppa003209m	ATPTR3,PTR3	peptide transporter 3	-4,1
ppa020240m	No acronym	PLAC8 family	-12,1
ppa017874m	No acronym	PLAC8 family	-4,4
ppa003852m	No acronym	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	-5,3
ppa011607m	No acronym	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily	-4,1
ppa024545m	No acronym	Plant protein of unknown function (DUF247)	-6,0
ppa006455m	PUB24	plant U-box 24	-15,4
ppa006566m	BLH9,BLR,HB-6,LSN,PNY,RPL,VAN	POX (plant homeobox) family	-5,0
ppa015971m	No acronym	Protein kinase family protein with leucine-rich repeat domain	-5,9
ppa018786m	No acronym	Protein kinase family protein with leucine-rich repeat domain	-4,3
ppa009430m	No acronym	Protein of unknown function (DUF506)	-8,6
ppa015296m	No acronym	Protein of unknown function (DUF761)	-6,5
ppa009852m	No acronym	Protein phosphatase 2C family	-4,8
ppa017824m	No acronym	Putative membrane lipoprotein	-5,2
ppa004689m	No acronym	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily	-7,3
ppa018740m	ARK3,RK3	receptor kinase 3	-4,6
ppa023339m	ARK3,RK3	receptor kinase 3	-4,1
ppa002342m	RLK	receptor lectin kinase	-4,3
ppa019569m	RLK	receptor lectin kinase	-4,1
ppa006365m	ATL6	RING/U-box superfamily	-5,0
ppa012636m	No acronym	RING/U-box superfamily	-4,2
ppa021083m	No acronym	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family	-27,5
ppa005062m	SLAH3	SLAC1 homologue 3	-4,7
ppa027158m	ATNHX2,NHX2	sodium hydrogen exchanger 2	-6,2
ppa003644m	No acronym	Squamosa promoter-binding	-12,2

		protein-like (SBP domain) transcription factor family	
ppa001661m	No acronym	Subtilase family	-7,6
ppa004219m	ATSTP1,STP1	sugar transporter 1	-7,4
ppa024737m	No acronym	Sulfite exporter TauE/SafE family	-5,1
ppa005114m	No acronym	Sulfite exporter TauE/SafE family	-4,7
ppa013797m	No acronym	Thioredoxin superfamily	-4,3
ppa023445m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	-9,7
ppa005957m	No acronym	Transmembrane amino acid transporter family	-9,2
ppa005039m	GT72B1,UGT72B1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	-4,7
ppa008326m	GT72B1,UGT72B1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	-4,7
ppa020191m	GT72B1,UGT72B1	UDP-Glycosyltransferase superfamily	-4,1
ppa002979m	WAKL4	wall associated kinase-like 4	-9,0
ppa002432m	WAK2	wall-associated kinase 2	-6,5
ppa014037m	No acronym	Wound-responsive family	-4,3
ppa026513m	ATZFP1,ZFP1	zinc-finger protein 1	-9,2

4.8. 'J.H. Hale': SPENTI tutto il *time course* (3 hpi; 1 hpi; 30 mpi)

4.8.1. Hale controllo vs. 3 hpi

Gene ID	Acronimo	Funzione	fold change
ppa024539m	No acronym	No annotation	-
ppa003644m	No acronym	Squamosa promoter-binding protein-like (SBP domain) transcription factor family	-

4.8.1. Hale controllo vs. 30 mpi

Gene_ID	Acronimo	Funzione	Fold change
ppa024670m	ATR4,CYP83B1,RED1,RNT1,SUR2	cytochrome P450, family 83, subfamily B, polypeptide 1	-
ppa003507m	No acronym	Major facilitator superfamily	-
ppa006569m	No acronym	Pectin lyase-like superfamily	-
ppa004687m	ATMLO2,MLO2,PMR2	Seven transmembrane MLO family	-
ppa009048m	ATST2A,ST2A	sulfotransferase 2A	-

5. BIBLIOGRAFIA

- Aarouf, J., Garcin, A., Lizzi, Y., and El Maâtaoui, M. (2008). Immunolocalization and histocytopathological effects of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on naturally infected leaf and fruit tissues of peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Phytopathology* 156, 338-345.
- Adhikari, B., Savory, E., Vaillancourt, B., Childs, K.L., Hamilton, J.P., Day, B., Buell, R. (2012). Expression profiling of *Cucumis sativus* in response to infection by *Pseudoperonospora cubensis*. *PLoS ONE* 7: e34954.
- Allan, A.C., Fluhr, R. (1997). Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. *Plant Cell* 9: 1559-1572.
- Anders, S., Huber, W. (2010). Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biology* 11: R106.
- Anonimo. (2006). EPPO standards PM 7/64. Diagnostics *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. EPPO bulletin 36, 129-133.
- Anonimo. Data Sheets on Quarantine Pests. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Xanthomonas_pruni/XANTPR_ds.pdf
- Anonimo2. Data Sheets on Quarantine Pests. Plum pox potyvirus. www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Plum_pox_virus/PPV000_ds.pdf
- Anonino. (2000). Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants and plant products and their spread within the Community. *Official Journal* L169: 10.7.2000
- Antunes, A.E.C., Moreira, A.S., Vendruscolo, J.L., Vendruscolo, C.T. (2003) Screening of *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strains according to their production of xanthan and its viscosity and chemical composition. *Brazilian Journal of Food Technology* 6: 317-322.
- Apel, K., Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-99.
- Arumuganathan K, Earle E (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biological Reports* 9: 208-218.

- Asai, T., Tena, G., Plotnikova, J., Willmann, M.R., Chiu, W.L., Gomez-Gomez, L., Boller, T., Ausubel, F.M., and Sheen, J. (2002). MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* 415: 977-83.
- Atanasoff, D. (1932). Plum pox. A new virus disease. Yearbook University of Sofia, Bulgaria, Faculty of Agriculture 11: 49-69.
- Auer, P.L., and Doerge, R.W. (2010). Statistical Design and Analysis of RNA Sequencing Data. *Genetics* 185: 405-416.
- Axtell, M.J. and Staskawicz, B.J. (2003). Initiation of RPS2-specified disease resistance in *Arabidopsis* is coupled to the AvrRpt2-directed elimination of RIN4. *Cell* 112: 369-377.
- Battilani, P., Rossi, V., and Saccardi, A. (1999). Development of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* epidemics on peaches. *Journal of Plant Pathology* 81, 161-171.
- Bellini, E., Surico, G., Mugnai, L., Natarelli, L. and Nencetti, V. (1993). Osservazioni su una progenie di pesco resistente a *Taphrina deformans* (Berck. Tul.). *Italus Hortus* 1: 11-13.
- Bennett, R.N., Wallsgrove, R.M. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytology* 127: 617-633.
- Bent, A.F., and Mackey, D. (2007). Elicitors, Effectors, and R Genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* 45: 399-436.
- Bernadette, L., Coffier, D., Gardan, L. (1997) Informations sur une nouvelle bactériose des *Prunus* identifiée en France (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*). ANPP, Fifth International Conference on Plant Diseases, Tours, France, 3–5 December 1997, pp. 579-584.
- Biondi, E., Dallai, D., Brunelli, A., Bazzi, C., Stefani, E., (2009). Use of a bacterial antagonist for the biological control of bacterial leaf/fruit spot of stone fruits. *IOBC Bulletin* 43, 277-281.
- Blume, B., Nürnberger, T., Nass, N., Scheel, D. (2000). Receptor-mediated increase in cytoplasmic free calcium required for activation of pathogen defense in parsley. *Plant Cell* 12: 1425-40.
- Boller, T. (2005). Peptide signalling in plant development and self/nonself perception. *Current Opinion Cell Biology* 17: 116-22.

- Bolwell, G.P., Wojtaszek, P. (1997). Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense: a broad perspective. *Physiological Molecular Plant Pathology* 51: 21-30.
- Borges, C.D., Paula R.C.M., Feitosa J.P.A., Vendruscolo C.T. (2009) The influence of thermal treatment and operational conditions on xanthan produced by *X. arboricola* pv. *pruni* strain 106. *Carbohydrate Polymers* 75, 262-268.
- Boudon, S., Manceau, C., Notteghem, J.L. (2005). Structure and origin of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* populations causing bacterial spot of stone fruit trees in Western Europe. *Phytopathology* 95: 1081-8.
- Broome, J. C., and Ingels C.A. (2012) Peach Leaf Curl. Pest Notes, University of California Statewide Integrated Pest Management Program. Publication 7426.
- Bugiani, R., Rossi, V., Giosuè, S., Ceredi, G. (2010) Working Group “Integrated Fruit Protection in Fruit Crops”. Proceedings of the 7th International Conference on Integrated Fruit Production at Avignon (France). Prediction of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* infection on peaches. *IOBC/WPRS Bulletin* 54, 565-569.
- Bühlmann, A., Pothier, J.F., Tomlinson, J.A., Frey, J.E., Boonham, N., Smits, T.H.M., Duffy, B. (2013) Genomics informed design of Loop-Mediated Amplification (LAMP) for phytopathogenic *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* subspecies level detection. *Plant Pathology* 62, 475-484.
- Burdon, J. J., Thrall, P. H., and Ericson, L. (2006) The Current and Future Dynamics of Disease in Plant Communities.
- Büttner, D. and He, S.Y. (2009) Type III Protein Secretion in Plant Pathogenic Bacteria. *Plant Physiology* 150: 1656-1664.
- Byrde, R.J.W., and Willetts, H.J. (1977). *The Brown Rot Fungi of Fruit: Their Biology and Control*. Pergamon Press, New York.
- Cambra, M., Capote, N., Myrta, A. and Llácer, G. (2006) Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 36, 202-204.
- Cantin, C. M., Moreno, M. A., Gogorcena, Y. (2009) Evaluation of the antioxidant capacity, phenolic compounds, and vitamin C content of different peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] breeding progenies. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57: 4586-4592.

- Cao, K., Wang, L., Zhu, G., Fang, W., Chen, C., and Zhao, P. (2011). Construction of a Linkage Map and Identification of Resistance Gene Analog Markers for Root-knot Nematodes in Wild Peach, *Prunus kansuensis*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 136: 190-197.
- Catanzariti, A.M., Dodds, P.N., Ellis, J.G. (2007). Avirulence proteins from haustoria-forming pathogens. *FEMS Microbiology Letters* 269: 181-8.
- Chen, K., Du, L., and Chen, Z. (2003). Sensitization of defense responses and activation of programmed cell death by a pathogen-induced receptor-like protein kinase in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*. 53: 61-74.
- Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C., Yu, D. (2012). The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biochimica Biophysica Acta* 1819: 120-128.
- Chen, Z., Zheng, Z., Huang, J., Lai, Z., and Fan, B. (2009). Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signal Behaviour* 4: 493-496.
- Chisholm, S.T., Coaker, G., Day, B., Staskawicz, B.J. (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell*. 124: 803-14.
- Citadin, I., Raseira, M.C.B., Herter, F.G., Baptista da Silva. (2001) Heat Requirement for Blooming and Leafing in Peach. *Journal of Horticultural Science* 36: 305-307.
- Czernic, P., Visser, B., Sun, W., Savoure, A., Deslandes, L., Marco, Y., Van Montagu, M. and Verbruggen, N. (1999). Characterization of an *Arabidopsis thaliana* receptor-like protein kinase gene activated by oxidative stress and pathogen attack. *Plant Journal* 18: 321-327.
- D'Ovidio, R., Mattei, B., Roberti, S., Bellincampi, D. (2004). Polygalacturonases, polygalacturonase-inhibiting proteins and pectic oligomers in plant-pathogen interactions. *Biochimica Biophysica Acta* 1696: 237-244.
- Dangl, J.L. & Jones, J.D.G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411: 826-833.
- De Candolle, A. (1883) L'origine delle piante coltivate. Fratelli Dumolard, Milan, Italy.
- Decroocq, V., Foulongne, M., Lambert, P., Gall, O.L., Mantin, C., Pascal, T., Schurdi-Levraud, V., Kervella, J. (2005). Analogues of virus resistance genes map to QTLs for resistance to sharka disease in *Prunus davidiana*. *Molecular Genetics and Genomics* 272: 680-689.

- Dinesh-Kumar, S.P., and Baker, B.J. (2000). Alternatively spliced N resistance gene transcripts: their possible role in tobacco mosaic virus resistance. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 97: 1908-1913.
- Direttiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009.
- Dirlewanger E, Graziano E, Joobeur T, Garriga-Caldere F, Cosson P, Howad W, Arus P (2004). Comparative mapping and markerassisted selection in Rosaceae fruit crops. *PNAS* 101, 9891-9896.
- Dong, J., Chen, C., Chen, Z. (2003). Expression profiles of the *Arabidopsis thaliana* WRKY gene superfamily during plant defense response. *Plant Molecular Biology* 51: 21-37.
- Du Plessis, H.J. (1987). Canker development on plum shoots following systemic movement of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* from inoculated leaves. *Plant Disease* 71: 1078-1080.
- Dunegan, J.C. (1932). The bacterial spot of peach and other stone fruits. *US Department Agricultural Technical Bulletin* 273, 53.
- Durrant, W.E. and Dong, X. (2004). Systemic Acquired Resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42: 185-209.
- EPPO bulletin (2004). Normes OEPP EPPO Standards. Good plant protection practice. Stone Fruits. *EPPO bulletin* 34, 429.
- EPPO (2004b). Diagnostic protocol for regulated pests. Plum pox potyvirus. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 34: 247-256.
- Faust, M., Timon, B. (1995). Origin and dissemination of peach. *Hort Rev* 17: 331-379.
- Felle H. (1998). The apoplastic pH of the *Zea mays* root cortex as measured with pH-sensitive microelectrodes: aspects of regulation. *Journal of Experimental Botany* 49: 987-995.
- Ferrari, S., Galletti, R., Denoux, C., De Lorenzo, G., Ausubel, F.M., Dewdney, J. (2007). Resistance to *Botrytis cinerea* induced in *Arabidopsis* by elicitors is independent of salicylic acid, ethylene, or jasmonate signaling but requires PHYTOALEXIN DEFICIENT3. *Plant Physiology* 144: 367-79.
- Feys, B.J. and Parker, J.E. (2000). Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. *Trends in Genetetics* 16: 449-55.

- Flor, H.H. (1942). Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology* 32: 653-669.
- Foulongne, M., Pascal, T., Pfeiffer, F., Kervella J. (2003). QTLs for powdery mildew resistance in peach x *Prunus davidiana* crosses: consistency across generations and environments. *Molecular Breeding* 12: 33-50.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M., Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Horticulturae* 107: 36-42.
- Giosuè, S., Spada, G., Rossi, V., Carli, G., and Ponti I. (2000). Forecasting infections of the leaf curl disease on peaches caused by *Taphrina deformans*. *European Journal of Plant Pathology* 106: 563-571.
- Gomez-Gomez, L., Boller, T. (2000). FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* 5: 1003-1011.
- Goodman, C.A., Hattingh, M.J., 1986. Transmission of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* in plum and apricot nursery trees by budding. *Horticultural Science* 21: 995-996.
- Gradziel, T.M., and Wang, D. (1993). Evaluation of brown rot resistance and its relation to enzymatic browning in clingstone peach germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 118: 675-679.
- Grant, S.R., Fisher, E.J., Chang, J.H., Mole, B.M., Dangl, J.L. 2006. Subterfuge and manipulation: type III effector proteins of phytopathogenic bacteria. *Annual Reviews Microbiology* 60: 425-49.
- Hajri, A., Joël, F., Pothier, Fischer-Le Saux, M., Bonneau, S., Poussier, S., Boureau, T., Duffy, B., and Manceau, C. (2012). Type three effector gene distribution and sequence analysis provide new insights into the pathogenicity of plant-pathogenic *Xanthomonas arboricola*. *Applied Environmental Microbiology* 78: 371-384.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids. Symposium Series*. 41: 95-98.
- Hann, D.R., Rathjen, J.P. (2007). Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *Plant Journal* 49: 607-18.

- He, P., Shan, L., Lin, N.C., Martin, G.B., Kemmerling, B., Nürnberger, T., Sheen, J. (2006). Specific bacterial suppressors of MAMP signaling upstream of MAPKKK in *Arabidopsis* innate immunity. *Cell* 125: 563-75.
- Hesse, C.O. (1971). Monoploid peaches, *Prunus persica* L. Batsch: description and meiotic analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 96: 326-330.
- Hu, X., Bidney, D.L., Yalpani, N., Duvick, J.P., Crasta, O., Folkerts, O., Lu, G. (2003). Overexpression of a gene encoding hydrogen peroxide-generating oxalate oxidase evokes defense responses in sunflower. *Plant Physiology* 133: 170-181.
- Hückelhoven R. (2007). Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annual Review of Phytopathology* 45: 101-27.
- Huffaker, A., Ryan, C.A. (2007). Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response. *PNAS USA* 104: 10732-36.
- Janick, J. (2011). Origin and dissemination of prunus crops: peach, cherry, apricot, plum and almond. *The American Pomological Society. Scripta Horticulturæ. Number 11.*
- JONES, D.A. (1998). Why are so many food plants cyanogenic? *Phytochemistry* 47: 155-162.
- Jones, J.D., Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature*. 444: 323-9.
- Kawahara, Y., Oono, Y., Kanamori, H., Matsumoto, T., Itoh, T., Minami, E. (2012). Simultaneous RNA-seq analysis of a mixed transcriptome of rice and blast fungus interaction. *PLoS One* 7: e49423.
- Keil, H.L., Fogle, H.W. (1974). Orchard susceptibility of some apricot, peach, and plum cultivars and selections to *Xanthomonas pruni*. *Fruit Varieties Journal* 28: 16-19.
- Keller, T., Damude, H.G., Werner, D., Doerner, P., Dixon, R.A., Lamb, C. (1998). A plant homolog of the neutrophil NADPH oxidase gp91phox subunit gene encodes a plasma membrane protein with Ca²⁺ binding motifs. *Plant Cell* 10: 255-266.
- Kim, H.S., Desveaux, D., Singer, A.U., Patel, P., Sondek, J., Dangl, J.L. (2005). The *Pseudomonas syringae* effector AvrRpt2 cleaves its C-terminally acylated target, RIN4, from *Arabidopsis* membranes to block RPM1 activation. *PNAS* 102: 6496-501.
- Kim, J.-G., Li, X., Roden, J.A., Taylor, K.W., Aakre, C.D., Su, B., Lalonde, S., Kirik, A., Chen, Y., Baranage, G., McLane, H., Martin, G.B., and Mudgetta, M.B. (2009).

- Xanthomonas* T3S Effector XopN Suppresses PAMP-Triggered Immunity and Interacts with a Tomato Atypical Receptor-Like Kinase and TFT1. *Plant Cell* 21: 1305-1323.
- Kim, K.H., Kang, Y.J., Kim, D.H., Yoon, M.Y., Moon, J.K., Kim, M.Y., Van, K., Lee, S.H. (2011). RNA-Seq analysis of a soybean near-isogenic line carrying bacterial leaf pustule-resistant and -susceptible alleles. *DNA Research* 18: 483-497.
- Kunjjeti, S.G., Evans, T.A., Marsh, A.G., Gregory, N.F., Kunjeti, S., Meyers, B.C., Kalavacharla, V.S., Donofrio, N.M. (2011). RNA-Seq reveals infection-related global gene changes in *Phytophthora phaseoli*, the causal agent of lima bean downy mildew. *Molecular Plant Pathology* 13: 454-66.
- Kunze, G., Zipfel, C., Robatzek, S., Niehaus, K., Boller, T., Felix, G. (2004). The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* 16: 3496-507.
- Layne, D.R., Bassi, D. (2008). *The Peach. Botany, Production and Uses*. CAB International 17: 437-443.
- Leite, R.P., Minsavage, G.V., Bonas, U., Stall, R.E. (1994). Detection and identification of phytopathogenic *Xanthomonas* strains by amplification of DNA sequences related to the hrp genes of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Applied Environmental Microbiology* 60: 1068-1077.
- Li, Z. (1984) Peach germplasm and breeding in China. *HortScience* 19: 348-351.
- Libault, M., Wan, J.R., Czechowski, T., Udvardi, M., Stacey, G. (2007). Identification of 118 *Arabidopsis* transcription factor and 30 ubiquitin-ligase genes responding to chitin, a plant-defense elicitor. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20: 900-11.
- Linnaeus (Linné) C. (1758) *Systema Naturae*, 10th edn. Laurentii Salvii, Holmae, Stockholm.
- Loomis, W.F., Shaulsky, G. (2011). Developmental changes in transcriptional profiles. *Development Growth & Differentiation* 53: 567-75.
- López-Moya, J.J., Fernández-Fernández, M.R., Cambra, M., and García, J.A. (2000) Biotechnological aspects of plum pox virus. *Journal of Biotechnology* 76, 121-136.
- Loreti, F., Massai, R. (2002) I portinnesti del pesco. *Supplemento a L'Informatore Agrario* 51: 36-43.
- Ludwig, A.A., Saitoh, H., Felix, G., Freymark, G., Miersch, O., Wasternack, C., Boller, T., Jones, J.D., Romeis, T. (2005). Ethylene-mediated cross-talk between calcium-

- dependent protein kinase and MAPK signaling controls stress responses in plants. PNAS 102: 10736-41.
- Lummerzheim, M., Oliviveira, de D., Castresana, C., Miguens, F.C., Louzada, E., Roby, D., Van Montagu, M and Timmerman, B. (1993). Identification of compatible and incompatible interactions between *Arabidopsis thaliana* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and characterization of the hypersensitive response. Mol. Plant-Microbe Interactions 6: 532-544.
- Marchi, G., Cinelli, T., Surico, G. (2011) Bacterial leaf spot caused by the quarantine pathogen *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on cherry laurel in central Italy. Plant Disease 95, 74.
- Marioni, J.C., Mason, C.E., Mane, S.M., Stephens, M., Gilad, Y. (2008). RNA-seq: an assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays. Genome Research 18: 1509-1517.
- Martinez, C., Baccou, J.C., Bresson, E., Baissac, Y., Daniel, J.F., Jalloul, A., Montillet, J.L., Geiger, J.P., Assigbetsé, K., Nicole, M. (2000). Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. Plant Physiology 122: 757-66.
- Matzinger, P. (2002). The danger model: a renewed sense of self. Science 296: 301-5.
- Meador, E.M., and Blake, M.A. (1939). Some plant characteristics of the second generation progeny of *Prunus persica* and *Prunus kansuensis* crosses. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 37: 223-231.
- Mengiste, T. Plant Immunity to Necrotrophs. Annual Review of Phytopathology 50: 267-294.
- Miya, A., Albert, P., Shinya, T., Desaki, Y., Ichimura, K., Shirasu, K., Narusaka, Y., Kawakami, N. Kaku, H., and Shibuya, N. (2007). CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. PNAS 104: 19613-18.
- Moing, A., Pöessel, J.L., Svanella-Dumas, L., Loonis, M. and Kervella, J. (2003) Biochemical basis of low fruit quality of *Prunus davidiana*, a pest and disease donor for peach breeding. Journal of the American Society for Horticultural Science 128: 55-62.
- Mortazavi, A., Williams, B.A., McCue, K., Schaeffer, L., Wold, B. (2008). Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. Nature Methods 5: 621-628.

- Navarro, L., Zipfel, C., Rowland, O., Keller, I., Robatzek, S., Boller, T., and Jones, J. (2004). The transcriptional innate immune response to flg22. Interplay and overlap with AVR gene-dependent defense responses and bacterial pathogenesis. *Plant Physiology* 135: 1113-1128.
- Németh, M. (1994). History and importance of plum pox in stone-fruit production. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 24, 525-536.
- Nürnberg, T., Brunner, F., Kemmerling, B., Piater, L. (2004). Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunology Reviews* 198: 249-66.
- Okie WR. (1998). *Handbook of Peach and Nectarine Varieties: performance in the Southeastern United States and Index of Names*. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 714.
- Okie, W.R., Ramming, D.W., and Scorza, R. (1985). Peach, nectarine, and other stone fruit breeding by the USDA in the last two decades. *HortScience* 20: 633-641.
- Padovan, L., Scocchi, M., Tossi, A. (2010). Structural aspects of plant antimicrobial peptides. *Current Protein Peptide Science* 11: 210-219.
- Palleroni, N.J., Hildebrand, D.C., Schroth, M.N., Hendson, M. (1993) Deoxyribonucleic acid relatedness of 21 strains of *Xanthomonas* species and pathovars. *J Appl Bacteriol* 75: 441- 446.
- Pascal, T., Pfeiffer, F., and Kervella, J. (2010). Powdery Mildew Resistance in the Peach Cultivar Pamirskij 5 Is Genetically Linked with the Gr Gene for Leaf Color. *HortScience* 45: 150-152.
- Pascal, T., Pfeiffer, F., Kervella J. (2010) Powdery mildew resistance in the peach cultivar Pamirskij 5 is genetically linked with the Gr gene for leaf color. *HortScience* 45: 150-152.
- Pérez, S., Montes, S., and Mejía, C. (1993) Analysis of peach germplasm in Mexico. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 118: 519-524.
- Petri, L. (1934) Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1933. *Bollettino della Stazione di Patologia Vegetale di Roma*, NS 14, 1-78.
- Pieterse, C.M., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., Van Wees, S.C. (2012). Hormonal Modulation of Plant Immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 28: 489-521.

- Pothier, J.F., Pagani, M.C., Pelludat, C., Ritchie, D.F., Duffy, B. (2011a). A duplex-PCR method for species and pathovar level identification and detection of the quarantine plant pathogen *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. *Journal Microbiology Methods* 86: 16-24.
- Pothier, J.F., Vorhölter, F.J., Blom, J., Goesmann, A., Pühler, A., Smits, T.H.M., Duffy, B. (2011b). The ubiquitous plasmid pXap41 in the invasive phytopathogen *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*: complete sequence and comparative genomic analysis. *FEMS Microbiology Letters* 323: 52-60.
- Pothier, J.F., Pflüger, V., Ziegler, D., Tonolla, M., Vogel, G., Duffy, B. (2011c). MALDI-TOF mass spectrometry: applications for rapid bacterial identification and phylogenetic analysis. *Phytopathology* 101: S145.
- Pothier, J.F., Smits, T.H.M., Blom, J., Vorhölter, F.J., Goesmann, A., Pühler, A., Duffy, B. (2011d). Complete genome sequence of the stone fruit pathogen *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. *Phytopathology* 101: S144-S145.
- Qi, D., DeYoung, B.J., Innes, R.W. (2012). Structure-function analysis of the coiled-coil and leucine-rich repeat domains of the RPS5 disease resistance protein. *Plant Physiology* 158: 1819-32.
- Ramonell, K.M., Zhang, B., Ewing, R.M., Chen, Y., Xu, D., Stacey, G., Somerville, S. (2002). Microarray analysis of chitin elicitation in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant Pathology* 3: 301-311.
- Rehder, A. (1940). A manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America exclusive of the subtropical and warmer temperate regions, 2nd ed. Macmillan, New York, New York, USA.
- Rieger, M., Lo Bianco, R., Okie, W.R. (2003). Responses of *Prunus ferganensis*, *Prunus persica* and two interspecific hybrids to moderate drought stress. *Tree Physiology* 23: 51-8.
- Ritchie, D.F. (1995). Bacterial spot. In: *Compendium of Stone Fruit Diseases*. Ogawa, J.M., Zehr, E.I., Bird, G.W., Ritchie, D.F., Uriu, K., Uyemoto, J.K. APS Press, St. Paul, MN
- Robles, J., Sumaira, A., Qureshi², E., Stephen, S.J., Wilson, S.R., Burden, C.J., and Taylor, J.M. (2012). Efficient experimental design and analysis strategies for the detection of differential expression using RNA-Sequencing. *BMC Genomics* 13: 484.

- Rodriguez, A.J., Sherman, W.B., Scorza, R., and Wisniewski, M. (1994). 'Evergreen' peach, its inheritance and dormant behavior. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119: 789-792.
- Rodriguez, G.A., and Sherman, W.B. (1990). 'Oro A' peach germplasm. *HortScience* 25: 128.
- Rolfs, F.M., (1915). A bacterial disease of stone fruits. New York Cornell Agricultural Experimental Station Memoir 8.
- Ron, M., Avni, A. (2004). The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato. *Plant Cell* 16: 1604-1615.
- Rosalam, S., England, R. (2006). Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas comprestris* spp. *Enzyme Microbial Technology* 39: 197-207.
- Rumdeep, K.G., Sumanti, G. and Sampa, D. (2012). *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* triggers immediate transcriptomic modulations in rice. *BMC Genomics* 13: 49.
- Sawinski, K., Mersmann, S., Robatzek, S., and Böhmer, M. (2013). Guarding the green: Pathways to stomatal immunity. *Molecular Plant-Microbe Interactions: First Look*.
- Schuler, M.A., Werck-Reichhart, D. (2003). Functional genomics of P450s. *Annual Review of Plant Biology* 54: 629-667.
- Schweizer, P., Felix, G., Buchala, A., Muller, C., Métraux, J.P. (1996). Perception of free cutin monomers by plant cells. *Plant Journal* 10: 331-41.
- Scortichini, M. (2010). Epidemiology and predisposing factors of some major bacterial diseases of stone and nut fruit trees species. *Journal of Plant Pathology*, 92 (1, Supplement), S1.73-S1.78
- Scortichini, M., Rossi, M.P. (2003). Genetic diversity of *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae* strains and comparison with some other *X. arboricola* pathovars using repetitive PCR genomic fingerprinting. *Journal of Phytopathology* 151, 113-119.
- Scorza, R., Mehlenbacher, S.A., and Lightner, G.W. (1985). Inbreeding and coancestry of freestone peach cultivars of the eastern United States and implications for peach germplasm improvement. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110: 547-552.
- Shan, L., He, P., Li, J., Heese, A., Peck, S.C., Nürnberger, T., Martin, G.B., Sheen, J. (2008). Bacterial effectors target BAK1 to disrupt MAMP receptor signaling complexes and impede plant innate immunity. *Cell Host Microbe* 4: 17-27.

- Sharma, R.C., Jindal, K.K., and Gupta, V.K. (1987). Managing fungal peach leaf curl through chemicals and host resistances. Proceedings of the 11th International Plant Protection Congress, 53.
- Shepard, D.P., ZEHR, E.I. (1994). Epiphytic Persistence of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* on Peach and Plum. Plant Disease 78: 627-629.
- Sherif, S., Paliyath, G., Jayasankar, S. (2012). Molecular characterization of peach PR genes and their induction kinetics in response to bacterial infection and signaling molecules. Plant Cell Reports 31: 697-711.
- Shree, P., Pandey, I., and Somssich, I.E. (2009). The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. Plant Physiology 150: 1648-1655.
- Shulaev, V. et al. (2011) The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*). Nature Genetics 43: 109-116.
- Shulaev, V., Korban, S.S., Sosinski, B., Abbott, A.G., Aldwinckle, H.S., Folta, K.M., Iezzoni, A., Main, D., Arus, P., Dandekar, A.M., Lewers, K., Brown, S.K., Davis, T.M., Gardiner, S.E., Potter, D., Veilleux, R.E. (2008) Multiple models for Rosaceae genomics. American Society of Plant Biology 147: 985-1003.
- Smith, E.F. (1903) Observation on a hitherto unreported bacterial disease, the cause of which enters the plant through ordinary stomata. Science 17: 456-457.
- Song, W.-Y., Wang, G.-L., Chen, L.-L., Kim, H.-S., Pi, L.-Y., Holsten, T., Gardner, J., Wang, B., Zhai, W.-X., Zhu, L.-H., Fauquet, C., Ronald, P. (1995). A Receptor Kinase-Like Protein Encoded by the Rice Disease Resistance Gene, *Xa21*. Science 270: 1804-1806.
- Spanu, P., Grosskopf, D.G., Felix, G., Boller, T. (1994). The apparent turnover of 1-aminocyclopropane-1- carboxylate synthase in tomato cells is regulated by protein phosphorylation and dephosphorylation. Plant Physiology 106: 529-35.
- Stefani, E. (2010) Economic significance and control of bacterial spot/canker of stone fruits caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Journal Plant Pathology 92: 99-103.
- Takemoto, D., Hardham, A.R., Jones, D.A. (2005). Differences in cell death induction by phytophthora elicitors are determined by signal components downstream of MAP kinase in different species of *Nicotiana* and cultivars of *Brassica rapa* and *Raphanus sativus*. Plant Physiology 138: 1491-504.

- Tang, F., Yang, S., Gao, M., Zhu, H. (2013). Alternative splicing is required for RCT1-mediated disease resistance in *Medicago truncatula*. *Plant Molecular Biology* 9th May. [Epub ahead of print]
- Tao, Y., Xie, Z.Y., Chen, W.Q., Glazebrook, J., Chang, H.S., Han, B., Zhu, T., Zou, G., Katagiri, F. (2003). Quantitative nature of *Arabidopsis* responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plant Cell* 15: 317-30.
- Taylor, K.W., Kim, J.G., Su, X.B., Aakre, C.D., Roden, J.A., Adams, C.M., Mudgett, M.B. (2012). Tomato TFT1 is required for PAMP-triggered immunity and mutations that prevent T3S effector XopN from binding to TFT1 attenuate *Xanthomonas* virulence. *PLoS Pathogens* 8: e1002768.
- The Arabidopsis Genome Initiative. (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796-815.
- Thilmony, R., Underwood, W., He, S.Y. (2006). Genome-wide transcriptional analysis of the *Arabidopsis thaliana* interaction with the plant pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and the human pathogen *Escherichia coli* O157: H7. *Plant Journal*. 46: 34-53.
- Thilmony, R., Underwood, W., He, S.Y. (2006). Genome-wide transcriptional analysis of the *Arabidopsis thaliana* interaction with the plant pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and the human pathogen *Escherichia coli* O157:H7. *Plant Journal* 46: 34-53.
- Thomidis, T., Rossi, V., Exadaktylou, E. (2010). Evaluation of a disease forecast model for peach leaf curl in the Prefecture of Imathia, Greece. *Crop Protection* 29, 1460-1465.
- Timmer, L.W., Marois, J.J., Anchor, D. (1987). Growth and survival of xanthomonads under conditions nonconducive to disease development. *Phytopathology* 77: 1341-1345.
- Torres, M., Sanchez, P., Fernandez-Delmond, I., Grant, M. (2003). Expression profiling of the host response to bacterial infection: the transition from basal to induced defence responses in RPM1-mediated resistance. *Plant Journal* 33: 665-676.
- Truman, W., de Zabala, M.T., Grant, M. (2006). Type III effectors orchestrate a complex interplay between transcriptional networks to modify basal defence responses during pathogenesis and resistance. *Plant Journal* 46: 14-33.

- Truman, W., de Zabala, M.T., Grant, M. (2006). Type III effectors orchestrate a complex interplay between transcriptional networks to modify basal defense responses during pathogenesis and resistance. *Plant Journal* 46: 14-33.
- Ülker, B., and Somssich, E. (2004). WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 491-498.
- van der Hoorn, R.A., Kamoun, S. (2008). From Guard to Decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell*. 20: 2009-17.
- van Verk, M.C., Bol, J.F., Linthorst, H.J.M. (2011). WRKY transcription factors involved in activation of SA biosynthesis genes. *BMC Plant Biology* 11: 89.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., Swings, J. (1995) Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45: 472-489.
- Vavilov, N.I. (1951) The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Selected Writings of N.I. Vavilov. Chronica Botanica Company, Waltham, Massachusetts.
- Velasco, R. et al. (2010) The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Nature Genetics* 42: 833-839.
- Wan, J.R., Zhang, X.C, Neece, D., Ramonell, K.M., Clough, S., Kim, S.Y., Stacey, M.G., Stacey, G. (2008). A LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 20: 471-481.
- Wang, L., Zhu, G. and Fang, W. (2002) Peach germplasm and breeding programs at Zhengzhou in China. *Acta Horticulturae* 592: 177-182.
- Wang, Z., Gerstein, M., Snyder, M. (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics* 10: 57-63.
- Weinberger, J.H. (1950) Chilling requirement of peach varieties. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 56: 122-128.
- Wendehenne, D., Lamotte, O., Frachisse, J.M., Barbier-Brygoo, H., Pugin, A. (2002.) Nitrate efflux is an essential component of the cryptogin signaling pathway leading to defense responses and hypersensitive cell death in tobacco. *Plant Cell* 14: 1937-51.
- Werner, D.J., Ritchie, D.F., Cain, D.W., Zehr, E.I. (1986). Susceptibility of peaches and nectarines, plant introductions, and other *Prunus* species to bacterial spot. *Hort Science* 21: 127-130.

- Wise, R.P., Moscou, M.J., Bogdanove, A.J., Whitham, S.A. (2007). Transcript profiling in host-pathogen interactions. *Annual Review of Phytopathology* 45: 329-69.
- Wu, J. et al. (2013) The genome of the pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *Genome Research* 23: 396-408.
- Yang, N., Reighard, G., Ritchie, D., Okie, W., Gasic, K. (2012) Mapping quantitative trait loci associated with resistance to bacterial spot (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) in peach. *Tree Genetics and Genomes* 9: 573-586.
- Yarwood, C.E. (1939). Powdery mildews of peach and rose. *Phytopathology* 29, 282–284.
- Yoda, H., Yamaguchi, Y., Sano, H. (2003). Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. *Plant Physiology* 132: 1973-1981.
- Yoshida, M., Yamane, K., Ijio, Y. and Fujishige, N. (2000) Studies on ornamental peach cultivars. *Bulletin of the College of Agriculture, Utsunomiya University, Japan* 17, 1-14.
- Young, J.M. (1977). *Xanthomonas pruni* in almond in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 20: 105-107.
- Young, J.M. (1987). Orchard management and bacterial diseases of stone fruit. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 15: 257-266.
- Young, J.M., Park, D.C, Shearman, H.M., Fargier, E. (2008) A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. *Systematic and Applied Microbiology* 31: 366-377.
- Zaccardelli, M., Malaguti, S., Bazzi, C. (1998) Biological and epidemiological aspects of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on peach in Italy. *Journal of Plant Pathology* 80: 125-132.
- Zaccardelli, M., Saccharidi, A., Gambin, E., Minardi, P., Mazzucchi, U., (1994). *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* bacteriophages on peach trees and their potential use for biological control. *Proceedings VIII International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Paris* 875-878.
- Zarrouk, O., Gogorcena, Y., and Moreno, M. A. (2006) Graft Compatibility Between Peach Cultivars and *Prunus* Rootstocks. *Hort Science* 41, 1389-1394.
- Zehr, E.I., Shepard, P.D. (1996). Bacterial spot of peach as influenced by water congestion, leaf wetness duration, and temperature. *Plant Disease* 80: 339-341.

- Zhang, X.-C. and Gassmann W. (2007). Alternative splicing and mRNA levels of the disease resistance gene RPS4 are induced during defense responses. *Plant Physiology* 145: 1577-1587.
- Zhou, J.M., Chai, J. (2008). Plant pathogenic bacterial type III effectors subdue host responses. *Current Opinion in Microbiology* 11: 179-85.
- Zhou, Y.H., Xia, K., Wright, F.A. (2011). A powerful and flexible approach to the analysis of RNA sequence count data. *Bioinformatics* 27: 2672-78.
- Zhu, Q., Droge-Laser, W., Dixon, R.A., Lamb, C. (1996). Transcriptional activation of plant defense genes. *Current Opinion Genetics Development* 6: 624-630.
- Zipfel, C., Kunze, G., Chinchilla, D., Caniard, A., Jones, J.D.G., Boller, T., Felix, G. (2006). Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell* 125: 749-60.
- Zipfel, C., Robatzek, S., Navarro, L., Oakeley, E.J., Jones, J.D.G., Felix, G., Boller, T. (2004). Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception. *Nature* 428: 764-67.