



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



GIZELE DE ANDRADE LUZ

**TRANSCRIPTÔMICA DE FENILPROPANOIDES E DERIVADOS EM FEIJÃO-
CAUPI SUBMETIDO AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)**

Recife

2021

GIZELE DE ANDRADE LUZ

**TRANSCRIPTÔMICA DE FENILPROPANOIDES E DERIVADOS EM FEIJÃO-
CAUPI SUBMETIDO AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Biotecnologia e Bioinformática

Orientador: Prof. Dr. Ederson Akio Kido

Coorientadores: Dr. José Ribamar Costa Ferreira Neto

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Benko Iseppon

Dr. Antônio Félix da Costa

Recife

2021

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Luz, Gizele de Andrade

Transcriptômica de fenilpropanoides e derivados em feijão-caupi submetido ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) / Gizele de Andrade Luz – 2021.

150 f.: il., fig., tab.

Orientador: Éderson Akio Kido

Coorientadores: José Ribamar Costa Ferreira Neto, Ana Maria Benko Iseppon e Antônio Felix da Costa

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Leguminosa 2. Ácido ribonucleico 3. Metabólitos I. Kido, Éderson Akio (orient.) II. Ferreira Neto, José Ribamar Costa (coorient.) III. Iseppon, Ana Maria Benko (coorient.) IV. Costa, Antônio Félix da V. Título

583.74

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-360

GIZELE DE ANDRADE LUZ

**TRANSCRIPTÔMICA DE FENILPROPANOIDES E DERIVADOS EM FEIJÃO-
CAUPI SUBMETIDO AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas.
Área de concentração: Biotecnologia e Bioinformática

Aprovada em: 26/08/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Éderson Akio Kido (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Valesca Pandolfi (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Wilson José da Silva Júnior (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Flavia Figueira Aburjaile (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Minas Gerais

Dr. João Pacifico Bezerra Neto (Examinador Externo)
Universidade de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha mãe, Francisca, e aos meus irmãos, Francisco,
Franciel e Pedro, por todo o amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua presença, proteção e todas as portas abertas na minha vida.

À Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade de realização do curso de Doutorado e experiências adquiridas.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciências Biológicas pelos ensinamentos.

Ao professor Dr. Ederson Akio Kido pela confiança e disposição de ensinar, colocando a disposição a infraestrutura do laboratório para a realização deste trabalho.

Ao Dr. José Ribamar Costa Ferreira Neto pela confiança, prestatividade e contribuição com o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Antônio Félix da Costa e à professora Dr^a. Ana Maria Benko Iseppon pela prestatividade e colaboração nesta pesquisa.

A toda a equipe do Laboratório de Genética Molecular, Amanda, Bruna, Elvson, Francielly, Jorge, Juliana, Kátia, Manassés, Marília, Natália, Rahisa, Vanessa, Valquíria e Vinícius, pela parceria. Em especial, Marislane Souza pelo acolhimento no laboratório, amizade e momentos de alegria compartilhados e a Elvia Oliveira pela disposição em ajudar e companheirismo.

Ao Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal pela solicitude. Em especial, Artemisa, Carolline, Flávia, Vanessa e Thamara.

A minha amiga e companheira de doutorado, Maria Fernanda da Costa Gomes, por todos os momentos compartilhados durante essa etapa das nossas vidas. Foram muitas risadas e aventuras.

À Maria Eduarda e à Alice Rocha pelos momentos e conversas compartilhados.

Aos amigos e irmãos em Cristo que me ajudaram nessa caminhada e a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

A toda a minha família, em especial minha mãe, Francisca, e meus irmãos, Francisco, Franciel e Pedro, por toda a ajuda, dedicação, compreensão e amor.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu”

Eclesiaste 3:1

RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma importante fonte de proteínas em regiões tropicais e subtropicais. Entretanto, sua produtividade é restringida pelos fatores adversos, incluindo as infecções virais. Em tais situações, os metabólitos secundários conferem uma plasticidade metabólica para as plantas, fornecendo barreiras físicas e químicas. Assim, este estudo identificou e analisou a expressão de transcritos associados a via dos fenilpropanoides, seus derivados (flavonoides e isoflavonoides) e precursores (via do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina) no transcriptoma do tecido foliar de feijão-caupi resistente ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) após 1 hora (h) e 16 h da injúria seguida da inoculação de CABMV. Um total de 967 transcritos foram identificados por meio de BLASTn ($e\text{-value} \leq 1e^{-20}$). Tais transcritos codificaram todas as enzimas das vias precursoras e da biossíntese de fenilpropanoides, e a maioria das enzimas dos flavonoides (92,31%) e isoflavonoides (83,33%). Desse total, 65 transcritos diferencialmente expressos (DE), a maioria induzidos na primeira hora de exposição ao estímulo, codificando enzimas da via precursora (três enzimas), e da biossíntese de fenilpropanoides (sete enzimas), flavonoides (três enzimas) e isoflavonoides (cinco enzimas). Tais enzimas induzidas participam da síntese de aminoácidos (fenilalanina e tirosina), monômeros da lignina, cumarinas e fitoalexinas, compostos de relevância fisiológica para a defesa das plantas a patógenos. Esses dados sugerem principalmente a ativação da via dos fenilpropanoides e isoflavonoides na defesa de feijão-caupi aos estímulos aplicados. Adicionalmente, a prospecção de *Multidrug and toxic compound extrusion* (MATE), uma família de transportadores multifuncional, incluindo o transporte de metabólitos secundários, identificou 68 VuMATEs (MATEs de *V. unguiculata*). A árvore filogenética associada à ortologia indicou alguns VuMATEs como bons candidatos a desempenhar funções similares a de MATEs funcionalmente caracterizados. O transcriptoma RNA-Seq de VuMATEs compreendeu 244 transcritos associados a 54 *loci*. Desse total, 10 transcritos DE (9 UR e 1 DR) associados a seis *loci* VuMATEs em 1 h após a injúria seguida da inoculação de CABMV, evidenciando sua participação no processo de percepção do estresse. Este estudo contribui para a compreensão dos mecanismos moleculares associados a injúria e a patógenos em feijão-caupi.

Palavras-chave: RNA-Seq; Metabólitos secundários; Estresse biótico; Fabaceae.

ABSTRACT

Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is a relevant source of protein in tropical and subtropical regions. However, their productivity is constrained by adverse factors, including viral infections. In such situations, secondary metabolites confer a metabolic plasticity to plants and provide physical and chemical resistances. Thus, this study identified and analyzed the expression of transcripts of the phenylpropanoid pathway, its derivatives (flavonoids and isoflavonoids) and precursors (shikimic acid, phenylalanine and tyrosine pathway) in the transcriptome of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)-resistant cowpea leaves after 1 hour (h) and 16 h of the injury followed by CABMV inoculation. A total of 967 transcripts were identified by BLASTn analysis (e-value $\leq 1e^{-20}$). These transcripts encoded all enzymes from the precursor pathways and phenylpropanoid biosynthesis. In addition, it was identified the majority of enzymes from the flavonoid (92.31%) and isoflavonoid (83.33%) pathways. Among all, 65 differentially expressed transcripts (DETs), most induced (UR; 54) in the first hour of exposure to the stimulus, encoding enzymes from the precursor pathway (three enzymes), and from the biosynthesis of phenylpropanoids (seven enzymes), flavonoids (three enzymes) and isoflavonoids (five enzymes). Such induced enzymes participate in the synthesis of amino acids (phenylalanine and tyrosine), lignin monomers, coumarins and phytoalexins, compounds of physiological relevance for the defense of plants against pathogens. These data mainly suggest the activation of the phenylpropanoids and isoflavonoids pathway in the defense of cowpea to applied stimuli. Additionally, the search for Multidrug and toxic compound extrusion (MATE), a family of multifunctional transporters, including secondary metabolite transport, identified 68 VuMATEs (*V. unguiculata* MATEs). The phenetic tree associated with orthology indicated some VuMATEs as good candidates to perform similar functions to MATEs. The RNA-Seq transcriptome of VuMATEs comprised 244 transcripts associated with 54 *loci*. Among the total, 10 DETs (9 UR and 1 DR) were associated with six VuMATEs *loci* in 1 h after the injury followed by CABMV inoculation, showing their participation in the process of stress perception. Therefore, this study contributes to the understanding of the molecular mechanisms associated with injury and pathogens in cowpea.

Keywords: RNA-Seq; Secondary metabolites; Biotic stress; Fabaceae.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 -	Flor de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) e os tipos de pétalas que constituem a corola.....	16
Figura 2 -	Mecanismos de defesa das plantas contra patógenos.....	20
Figura 3 -	Representação esquemática de uma partícula viral do gênero <i>Potyvirus</i>	21
Figura 4 -	Representação esquemática do genoma de <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i> codificando a poliproteína, que é processada por proteases, gerando as proteínas funcionais.....	21
Figura 5 -	Representação dos principais eventos do ciclo de infecção de um <i>potyvirus</i>	22
Figura 6 -	Mapa da via do ácido chiquímico, destacando as enzimas identificadas para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway</i>	26
Figura 7 -	Mapa da biossíntese da fenilalanina e tirosina, destacando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway</i>	28
Figura 8 -	Mapa da biossíntese de fenilpropanoides, mostrando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway</i>	32
Figura 9 -	Estrutura química básica da maioria dos compostos dos flavonoides.....	36
Figura 10 -	Mapa de biossíntese dos flavonoides, mostrando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para <i>Vigna unguiculata</i> no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway</i>	39
Figura 11 -	Mapa de biossíntese dos isoflavonoides, mostrando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para feijão-caupi (<i>vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway</i>	44
Figura 12 -	Etapas básicas de um experimento de sequenciamento de RNA.....	54
Figura 13 -	Alternativas para a reconstrução dos transcritos a partir das <i>reads</i> provenientes do sequenciamento de RNA.....	55
ARTIGO I		
Figura 1 -	Heatmap mostrando a clusterização dos perfis de expressão de transcritos diferencialmente expressos em folhas de feijão-caupi 1 h após injúria e infecção viral (CABMV), em comparação aos respectivos valores de expressão após 16 h do tratamento.....	62

Figura 2 -	Mapa das vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos nas folhas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) após a injúria e inoculação do CABMV (<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>).....	63
Figura 3 -	Mapa da biossíntese de fenilpropanoides mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos em folhas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) após a injúria e inoculação de CABMV (<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>).....	65
Figura 4 -	Mapa da biossíntese de flavonoides mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos em folhas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) após a injúria e inoculação de CABMV (<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>).....	67
Figura 5 -	Mapa de biossíntese dos isoflavonoides mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos em folhas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) após a injúria e inoculação de CABMV (<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>).....	69
Figura 6 -	Diagrama de venn mostrando o total de genes de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) com ortólogos preditos em diferentes espécies de leguminosas.....	70
ARTIGO II		
Figura 1 -	Filogenia da família MATE de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) com proteínas caracterizadas funcionalmente de diversas espécies.....	96
Figura 2 -	Estrutura dos genes MATE de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>).....	97
Figura 3 -	Motivos conservados encontrados nas proteínas MATE de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>).....	98
Figura 4 -	Distribuição cromossômica dos VuMATEs em feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>).....	99
Figura 5 -	Circos representado as relações entre os pares de genes com duplicações segmentais da família gênica MATE em feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>).....	100
Figura 6 -	Sítios de ligação a FTs nos promotores dos genes MATE de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) preditos pela ferramenta <i>Binding Site Prediction</i> ($p\text{-value} \leq 1e^{-5}$) no PlantRegMap.....	101
Figura 7 -	Transcritos associados a transportadores MATE identificados nas bibliotecas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>), obtidas das folhas injuriadas com inoculação do patógeno <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i> (CABMV).....	102

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 -	Enzimas da via do ácido chiquímico, identificadas para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (KEGG) <i>pathway</i> , e seus correspondentes números EC (<i>enzyme commission number</i>).....	25
Tabela 2 -	Enzimas da biossíntese da fenilalanina e tirosina, identificadas para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (KEGG) <i>pathway</i> , e seus correspondentes números EC (<i>enzyme commission number</i>).....	27
Tabela 3 -	Enzimas participantes da biossíntese de fenilpropranoides, identificadas para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) na base de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (KEGG) <i>pathway</i> , e seus correspondentes números EC (<i>enzyme commission number</i>).....	30
Tabela 4 -	Estudos evidenciando a modulação transcricional de genes da via dos fenilpropranoides em resposta à injúria e patógenos.....	33
Tabela 5 -	Enzimas participantes da biossíntese de flavonoides, identificadas para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (KEGG) <i>pathway</i> , e seus correspondentes números EC (<i>enzyme commission number</i>).....	37
Tabela 6 -	Estudos mostrando a modulação transcricional de genes da biossíntese de flavonoides em resposta à injúria e patógenos.....	40
Tabela 7 -	Enzimas participantes da biossíntese de isoflavonoides, identificadas para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) no banco de dados <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (KEGG) <i>pathway</i> , e seus respectivos números EC (<i>Enzyme commission number</i>).....	42

ARTIGO I

Tabela 1 -	Expressão relativa dos transcritos nas folhas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) após 1 hora e 16 horas de injúria/inoculação viral pela qPCR.....	71
------------	--	----

ARTIGO II

Tabela 1 -	Expressão relativa dos transcritos via qPCR em 1 hora (h) e 16 h após a injúria seguida da inoculação de <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i> (CABMV) nas folhas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>).....	103
------------	--	-----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	ASPECTOS GERAIS SOBRE FEIJÃO-CAUPI.....	15
3.1.1	Importância econômica.....	17
3.2	MECANISMOS DE INTERAÇÃO PLANTA E PATÓGENO.....	18
3.2.1	<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)</i>.....	20
3.3	ESTRESSE POR INJÚRIA.....	23
3.4	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	23
3.4.1	Vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina.....	25
3.4.2	Fenilpropanoides.....	29
3.4.3	Flavonoides.....	35
3.4.4	Isoflavonoides.....	41
3.5	FAMÍLIA MATE.....	45
3.6	BIOINFORMÁTICA.....	47
3.6.1	Banco de dados biológicos.....	48
3.6.2	Alinhamento de sequências.....	50
3.6.2.1	<i>Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)</i>	51
3.7	ÔMICAS.....	51
3.7.1	Transcriptômica.....	52
3.7.1.1	RNA-Seq.....	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
4.1	ARTIGO I - Análise do transcriptoma de fenilpropanoides e derivados em plantas de feijão-caupi inoculadas com <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>	56
4.2	ARTIGO II - Genômica estrutural e funcional de transportadores MATE em Feijão-caupi.....	87
5	CONCLUSÕES.....	118
	REFERÊNCIAS.....	119

1 INTRODUÇÃO

As plantas estão expostas simultaneamente a múltiplos estresses bióticos e abióticos, que reduzem significativamente seu desenvolvimento e produtividade. Para enfrentar tais desafios ambientais, as plantas desenvolveram mecanismos sofisticados de defesa. Em situações de estresses combinados, tais respostas moleculares são únicas e não mensuráveis pela exposição dos vegetais a fatores adversos isoladamente (PANDEY; RAMEGOWDA; SENTHIL-KUMAR, 2015; SUZUKI et al., 2014). Nesse contexto, a compreensão dos mecanismos moleculares associados a estresses combinados é essencial para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento e a descoberta de biomoléculas para a geração de culturas resistentes ou tolerantes a condições ambientais adversas, incluindo injúria e infecção viral.

Uma rota metabólita fisiologicamente relevante para as plantas em ambientes desfavoráveis é a de metabólitos secundários, inclusive as vias de biossíntese de fenilpropanoides, flavonoides e isoflavonoides. Elas fornecem barreiras físicas (síntese dos monômeros da lignina) e químicas, incluindo as fitoalexinas e fitoanticipinas, compostos antimicrobianos (DONG; LIN, 2021). A compartimentalização e a distribuição desses metabólitos secundários são essenciais para o seu funcionamento e efetiva biossíntese (BIAŁA; JASIŃSKI, 2018). Nesse processo, *multidrug and toxic compound extrusion* (MATE), uma família de transportadores com múltiplas funções, como regulação negativa da resistência a doenças (TIWARI et al., 2014) e efluxo de ácido abscísico (ABA; ZHANG et al., 2014), desenvolve um papel importante (UPADHYAY et al., 2019).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das leguminosas mais versáteis e resilientes, podendo crescer em regiões mais quentes e secas, como a do semiárido (MUÑOZ-AMATRIAÍN et al., 2017; CARVALHO et al., 2017). Tal espécie colabora para a sustentabilidade dos sistemas de cultivo pela fixação de nitrogênio atmosférico (MUÑOZ-AMATRIAÍN et al., 2017). Os seus grãos constituem um importante recurso de proteína (25% do seu peso) (SPRIGGS et al., 2018). Entretanto, a produtividade de feijão-caupi é prejudicada devido a vários fatores adversos, inclusive as infecções virais, como a de *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Assim, o desvendamento dos mecanismos moleculares associados a resistência em feijão-caupi ao vírus é crucial para a adição de tecnologias aos seus programas de melhoramento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a expressão de transcritos associados ao metabolismo de fenilpropanoides e derivados a partir de bibliotecas RNA-Seq obtidas das plantas de feijão-caupi submetidas à injúria e à inoculação de *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Anotar os transcritos disponíveis para folhas de feijão-caupi inoculadas com o CABMV.
- Identificar transcritos relacionados com as enzimas participantes do metabolismo de fenilpropanoides, seus precursores (via do ácido chiquímico e síntese de fenilalanina e tirosina) e derivados [monolignóis (lignina), flavonoides, isoflavonoides, coumarinas, entre outros].
- Analisar a expressão diferencial (aumento ou diminuição da expressão) dos genes codificadores das enzimas das vias estudadas, conforme mapeamento dos transcritos nas vias metabólicas da base de dados KEGG Pathway.
- Validar a expressão de cerca de 10 transcritos diferencialmente expressos, envolvidos em etapas cruciais do metabolismo desses compostos na espécie aqui analisada.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE FEIJÃO-CAUPI

O feijão-caupi, também conhecido por vários outros nomes populares, como feijão-macassa, feijão-de-praia, feijão-fradinho e feijão-de-corda (RIBEIRO et al., 2013), é uma leguminosa diploide ($2n = 22$), com tamanho do genoma estimado em cerca de 620 milhões de pares de bases (BOUKAR et al., 2019). É amplamente cultivado na Ásia, África, Oriente Médio, Sul da Europa, Sul dos Estados Unidos, América do Sul e América Central (ANDARGIE et al., 2014).

A referida espécie é nativa da África, domesticada no período neolítico, sendo, posteriormente, dispersa para Ásia, Europa e América (CARVALHO et al., 2017). No Brasil, foi introduzida pelos portugueses, inicialmente no estado da Bahia, no século XVI, e, posteriormente, disseminado por todo o país, sendo o cultivo concentrado nas regiões Norte e Nordeste (FREIRE FILHO, 1988).

Pertence à classe Equisetopsida, subclasse Magnoliidae, superordem Rosanae, ordem Fabales, família Fabaceae e gênero *Vigna* (TRÓPICOS, 2019). Apresenta 11 subespécies (ZULUAGA et al., 2021), sendo que uma inclui formas selvagens e cultivadas anuais, subsp. *unguiculata*, e as demais são representadas somente por formas selvagens perenes: subsp. *baoulensis*, subsp. *burundiensis*, subsp. *letozeyi*, subsp. *aduensis*, subsp. *pawekiae*, subsp. *dekindtiana*, subsp. *stenophylla*, subsp. *tenuis*, subsp. *alba* e subsp. *pubescens*.

É uma herbácea anual de estação quente, que apresenta grande variação morfológica. O hábito de crescimento pode ser determinado ou indeterminado, com o porte ereto, semiereto, prostrado ou trepador, dependendo da temperatura de crescimento, genótipo e fotoperíodo (TIMKO; SINGH, 2008). Tal espécie é autogâmica, com cleistogamia e taxas de polinização cruzada relatada em 5% (BA et al., 2018; TIMKO; EHLERS; ROBERTS, 2007). As folhas primárias são opostas, sendo as demais alternadas e trifoliadas. As sementes de feijão-caupi variam de arredondadas ao formato de rim, sendo seu revestimento liso ou enrugado e de cores variadas, como branco, verde, vermelho, marrom e preto. As vagens cilíndricas geralmente possuem de oito a 18 sementes e podem ser curvas ou retas (TIMKO; EHLERS; ROBERTS, 2007; TIMKO; SINGH, 2008).

As flores são hermafroditas, cíclicas, diclamídea do tipo heteroclamídea e apresenta simetria zigomorfa. A corola possui uma pétala superior, chamada

estandarte, duas laterais, denominadas asas, e duas inferiores unidas, a quilha (Figura 1) (RIBEIRO et al., 2013). As anteras apresentam deiscência longitudinal, que acontece horas antes da abertura das flores (TIMKO; SINGH, 2008). O feijão-caupi pode ter florescimento precoce, fornecendo grãos secos em 60 dias, ou tardio, onde amadurecimento pode demorar mais de 150 dias, dependendo do fotoperíodo (TIMKO; SINGH, 2008).

Figura 1 - Flor de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) e os tipos de pétalas que constituem a corola.



Fonte: <http://www.asergeev.com>

O feijão-caupi cultivado (*V. unguiculata* subsp. *unguiculata*) é dividido em cinco grupos, especialmente com base nas características dos óvulos, sementes e vagens (KEBEDE; BEKEKO, 2020). Esses grupos são *unguiculata* (cultivado como pulso), *biflora* (usado principalmente como forragem), *sesquipedalis* (vagens longas consumidas particularmente na china), *textilis* (pedúnculos longos usados para produção de fibra na África) e *Melanophthalmus* (KEBEDE; BEKEKO, 2020). No Brasil, o cultivo da referida leguminosa restringe-se aos cultigrupos *unguiculata* (para a produção de feijão-verde e grãos secos) e *Sesquipedalis* (objetivando a vagem) (FREIRE FILHO et al., 2011).

O feijão-caupi é cultivado em uma ampla faixa de temperatura, alcançando um bom desenvolvimento entre 18 °C e 34 °C (COSTA; SOUZA; SILVA, 2020). Em geral, o feijão-caupi cultivado em temperaturas em torno de 30 °C durante o dia e 22 °C durante a noite atinge elevada produtividade (CARDOSO; SOBRINHO; BASTOS, 2017). Temperaturas elevadas podem levar ao abortamento das flores e redução no número de grãos por vagem vingada (CARDOSO; SOBRINHO; BASTOS, 2017). Essa cultura exige relativamente menos água para o rendimento normal quando

comparado a outras leguminosas, sendo a quantidade total de água requerida de 200 a 350 mm, dependendo do período de maturidade da variedade e localização (SINGH, 2014).

3.1.1 Importância econômica

O feijão-caupi é uma importante fonte de proteínas e constitui uma das leguminosas mais resilientes e versáteis entre as plantas cultivadas. Pela sua plasticidade fenotípica, é cultivado em regiões mais secas e quentes, como o semiárido (AWIKA; DUODU, 2017; MUÑOZ-AMATRIAÍN et al., 2017) e também é capaz de crescer em solos com baixa fertilidade, devido a sua habilidade de estabelecer associações com microrganismos, como as bactérias fixadoras de nitrogênio (CARVALHO et al., 2017). Tais particularidades tornam tal espécie chave para a segurança alimentar e nutricional no mundo (OHLSON et al., 2018; SPRIGGS et al., 2018).

Os grãos da cultura mencionada são importantes economicamente, sendo ricos em proteínas e carboidratos, com teor de gordura relativamente baixo, além de serem recursos de vitaminas e minerais (JAYATHILAKE et al., 2018). Boukar et al. (2011) relataram que os grãos de feijão-caupi em média contêm 25% de proteínas, 38,1 mg de zinco, 53,2 mg/kg de ferro, magnésio 1915 mg/kg, cálcio 826 mg/kg, fósforo 5055 mg/kg e potássio 14890 mg/kg. Também possuem vitaminas C e B, além de aminoácidos essenciais, como triptofano, isoleucina e treonina (JAYATHILAKE et al., 2018).

Além dos grãos, as folhas e as vagens verdes podem ser consumidas (KYEI-BOAHEN et al., 2017). Adicionalmente, o feijão-caupi é utilizado como forragem, constituindo um recurso alimentar animal relevante na estação seca de muitos países (CHEN et al., 2017). Tal leguminosa é importante nos sistemas de cultivo, onde, em associação com bactérias fixadoras de nitrogênio, melhora o suprimento desse elemento químico, contribuindo para a melhoria da fertilidade do solo, especialmente na agricultura familiar, que usa pouco ou nenhum fertilizante (KYEI-BOAHEN et al., 2017).

O feijão-caupi ocupa cerca de 14,5 milhões de hectares (ha) distribuídos na África, Ásia, Europa e Américas (FAOSTAT, 2019). Em 2019, sua produção mundial foi estimada em cerca de 9 milhões de toneladas, com a produtividade de 616,3 kg/ha (FAOSTAT, 2019). Os principais produtores são situados na África,

representados por Nigéria, Níger e Burkina Faso (FAOSTAT, 2019). Tais dados são baseados na coleta de 37 países produtores de feijão-caupi e não inclui o Brasil, onde foram estimadas, em 2019, uma área de 1,3 milhão de hectares e uma produção de 712,6 mil toneladas, com a produtividade de 545 kg/ha (CONAB, 2019). A maior parte da produção dessa cultura concentra-se na região Nordeste. O maior produtor de feijão-caupi é o estado de Mato-Grosso, situado na região Centro-Oeste, e, em seguida, Ceará e Bahia (CONAB, 2019).

A cultura do feijão-caupi enfrenta vários desafios ambientais, incluindo fatores bióticos, como insetos e vírus, e abióticos, por exemplo, seca. Desta forma, a adição de tecnologias visando a geração de culturas com bom desempenho em ambientes hostis é necessária para aumentar a produtividade, reduzir o uso de insumos químicos e suprir a sua crescente demanda (BOUKAR et al., 2016; HUYNH et al., 2018).

3.2 MECANISMOS DE INTERAÇÃO PLANTA E PATÓGENO

Os vírus são responsáveis por perdas na produção mundial de diversas culturas economicamente importantes. Tais partículas possuem genomas pequenos e dependem da interação de suas proteínas com os componentes celulares de seus hospedeiros para facilitar as etapas da infecção viral, estabelecer as condições ideais de suscetibilidade e alterar os processos fisiológicos do hospedeiro, de modo a promover o seu estabelecimento, replicação e propagação pelos tecidos vegetais (PALLAS; GARCÍA, 2011; SOUZA; GARCIA-RUIZ; CARVALHO, 2019).

A maioria dos vírus de plantas possuem um genoma de RNA, que pode ser de fita simples positiva, fita simples negativa ou dupla fita (ZANARDO; SOUZA; ALVES, 2019). As partículas virais provocam além de lesões locais, danos sistêmicos que causam, por exemplo, clorose e malformações nas diferentes partes dos vegetais (GIMENEZ; SALINAS; MANZANO-AGUGLIARO, 2018).

Os vírus são parasitos intracelulares obrigatórios. As medidas profiláticas de controle viral consistem na destruição de plantas infectadas e no combate dos vetores por meio de pesticidas, entre outras (NICAISE, 2014). Uma alternativa mais eficaz e ecológica é aumentar a imunidade celular das plantas, melhorando a resistência das culturas aos vírus (MUSHTAQ et al., 2020). Entretanto, tal abordagem depende do conhecimento dos mecanismos moleculares associados à interação entre planta e patógeno (NICAISE, 2014).

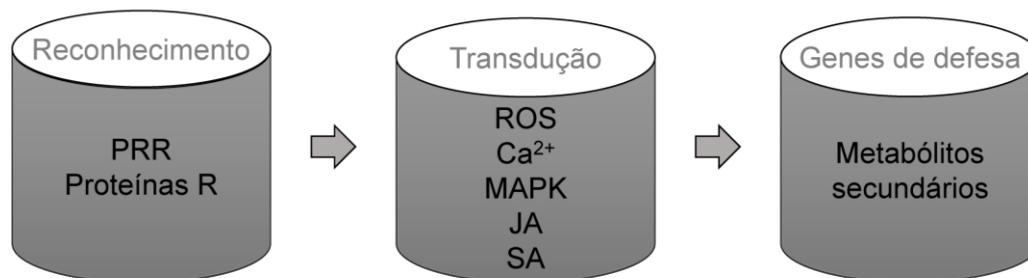
As interações entre plantas e patógenos envolvem o reconhecimento bidirecional, onde as plantas precisam detectar as moléculas dos patógenos para ativar a resposta imune e os patógenos necessitam identificar proteínas alvos para romper os sistemas de defesa dos vegetais e estabelecerem-se em seus tecidos (LI; ZHANG, 2016). A imunidade inata das plantas contra patógenos envolve dois mecanismos, a imunidade desencadeada por padrões (PTI, *pattern-triggered immunity*) e a imunidade desencadeada por efetores (ETI, *effector-triggered immunity*) (TEIXEIRA et al., 2019; YUAN et al., 2021). Enquanto a ETI foi reconhecida como um mecanismo de defesa eficiente das plantas contra vírus, o conceito de PTI antiviral é uma descoberta recente e tem sido integrado nos modelos de interação entre hospedeiro e vírus, entretanto, seus mecanismos moleculares ainda não são bem compreendidos (NIEHL et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2019).

A PTI é desencadeada quando os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, *pathogen-associated molecular patterns*), moléculas estruturalmente conservadas derivadas dos patógenos, ou os padrões moleculares associados a danos (DAMPs, *damage-associated molecular patterns*) são reconhecidos pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs; *pattern-recognition receptors*) (BOUTROT; ZIPFEL, 2017; TARIQ et al., 2018). Tal mecanismo de defesa é generalista, sendo ativado por patógenos não específicos (NAGAI et al., 2020). Estudo recente evidenciou que RNAs de dupla fita (dsRNA) podem ser verdadeiros PAMPs em plantas, induzindo uma cascata de sinalização envolvendo SERK1 (*somatic embryogenesis receptor-like kinase 1*) e receptor específico para dsRNA (NIEHL et al., 2016).

Em resposta a essa primeira linha de defesa, os patógenos podem secretar proteínas, chamadas efetoras, que atuam na supressão da PTI e promoção da infecção, processo denominado suscetibilidade desencadeada por efector (ETS, *effector-triggered susceptibility*) (VAN DER BURGH; JOOSTEN, 2019). Entretanto, as plantas utilizam a ETI, segunda linha de defesa, onde proteínas de resistência (R) são capazes de reconhecer os efetores supressores da PTI (VAN DER BURGH; JOOSTEN, 2019). A ETI é uma resposta mais forte e específica, sendo geralmente associada a resposta de hipersensibilidade (HR), um tipo de morte celular programada, que restringe a multiplicação dos patógenos no sítio da infecção (KANYUKA; RUDD, 2019).

A PTI e a ETI resultam em respostas moleculares similares, incluindo a ativação de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs, *mitogen-activated protein kinases*), produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*), influxo de íons, como cálcio (Ca^{2+}), aumento da biossíntese de hormônios, como ácido salicílico e ácido jasmônico (PENG; VAN WERSH; ZHANG, 2018) e a ativação da biossíntese de metabólitos secundários, compostos de relevância fisiológica para as plantas no controle dos patógenos (Figura 2) (LEE et al., 2019; SILVA et al., 2018; SZATMÁRI et al., 2014; YOO et al., 2020).

Figura 2 - Mecanismos de defesa das plantas contra patógenos. PRR, receptor de reconhecimento padrão; proteínas R, proteínas de resistência; ROS, espécies reativas de oxigênio; Ca^{2+} , cálcio; MAPK, proteínas quinases ativadas por mitógenos; JA, ácido jasmônico; SA, ácido salicílico.



Fonte: A autora (2021).

3.2.1 Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)

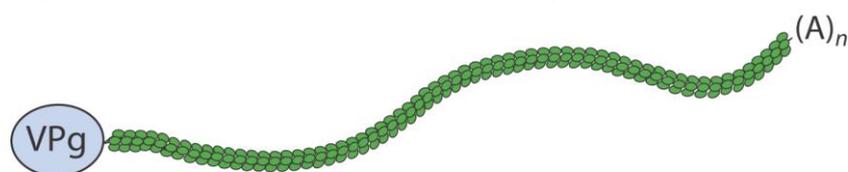
O CABMV, gênero *potyvirus*, família *Potyviridae*, é encontrado em diversos países dos diferentes continentes, incluindo Ásia, Europa, África, Oceania, América do Norte e América do Sul (BASHIR; AHMAD; GHAFOR, 2002). Esse vírus infecta diversas espécies da família Fabaceae, como *Arachis hypogaea* L. e *Crotalaria juncea* L., e de não leguminosas, como *Passiflora edulis* Sims (NICOLINI et al., 2012).

É considerado um dos principais fatores limitantes de produção do feijão-caupi (BOUKAR et al., 2019). Estima-se que as perdas no rendimento dessa espécie, devido ao referido vírus, podem chegar a até 87% dependendo da suscetibilidade da cultura, estirpe viral e condições ambientais (MAMMAN; SALAUDEEN; WADA, 2018). O CABMV é transmitido por diversas espécies de afídeos ou via semente (CRUZ; ARAGÃO, 2014; NÉYA et al., 2015) e os sintomas típicos da infecção incluem clorose, padrão mosaico, distorção das folhas e necrose (MBEYAGALA et al., 2018).

O vírus em questão é uma partícula alongada, não envelopado, com capsídeo flexuoso e genoma de aproximadamente 10 mil nucleotídeos, constituído

por uma molécula de RNA de fita simples positiva (Figura 3). Seu genoma possui a extremidade 3' poliadenilada e a extremidade 5' ligada a uma proteína VPg (*genome-linked protein*). Esse também funciona como RNA mensageiro, com uma única fase de leitura aberta (ORF, *open reading frame*) longa, cuja tradução gera uma poliproteína, processada por proteases virais, dando origem aos produtos funcionais (MLOTSHWA et al., 2002).

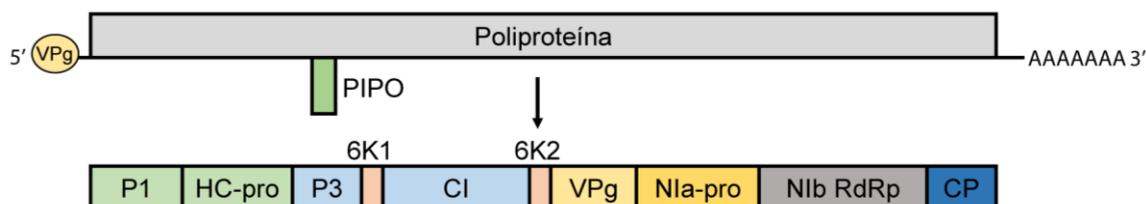
Figura 3 - Representação esquemática de uma partícula viral do gênero *Potyvirus*.



Fonte: Wang (2015).

As proteínas codificadas pelo RNA genômico, incluem P1 (*first protein*), HC-pro (*helper-component proteinase*), P3 (*third protein*), 6k1 (*first 6 kDa protein*), 6k2 (*second 6 kDa protein*), CI (*cylindrical inclusion*), VPg, NIa-pro (*nuclear inclusion protein a*), NIb (*nuclear inclusion protein b*) e CP (*coat protein*; Figura 4) (MLOTSHWA et al., 2002; WYLIE et al., 2017).

Figura 4 - Representação esquemática do genoma de *Cowpea aphid-borne mosaic virus* codificando a poliproteína, que é processada por proteases, gerando as proteínas funcionais.



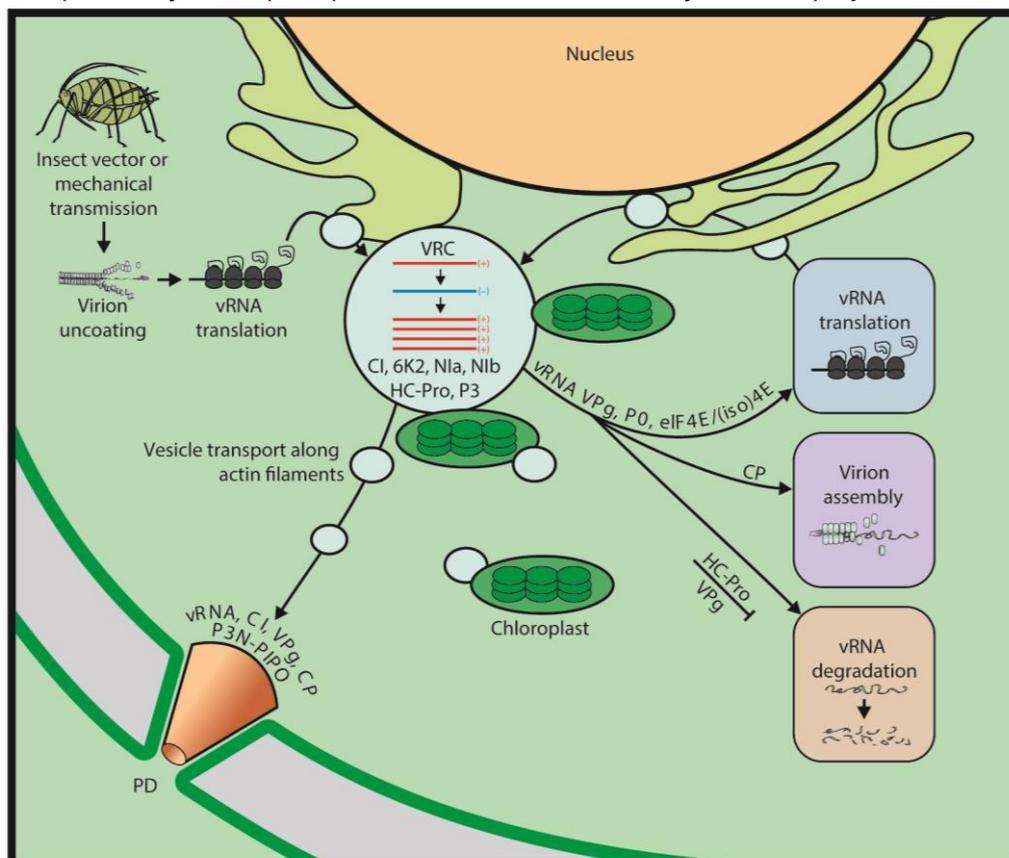
Fonte: A autora (2021).

Em vírus do gênero *potyvirus*, inclusive em isolados de CABMV, também foi relatada uma segunda ORF pequena, chamada PIPO, sobrepondo a região P3 da poliproteína (BARROS et al., 2011; CHUNG et al., 2008). PIPO é produzida pelo deslizamento da polimerase viral (NIb) em uma sequência conservada GAAAAA (OLSPERT; CARR; FIRTH, 2016). Estudos prévios evidenciaram a participação de PIPO no movimento das partículas virais entre células vizinhas via plasmodesmos (CHENG et al., 2017; WEI et al., 2010), onde estão envolvidas também as proteínas P1, CP, CI, HC-pro, VPg e 6K2 (DENG; WU; WANG, 2015; GELL; SEBESTYÉN; BALÁZS, 2015; GRANGEON et al., 2015; REVERS; GARCIA, 2015). HC-pro e VPg

também atuam como supressores da via de silenciamento de RNA, que é um mecanismo de defesa antiviral das plantas (CHENG; WANG, 2017).

O ciclo de infecção de um *potyvirus* envolve sua transmissão a uma célula vegetal por meio de afídeo ou por dano mecânico. No interior da célula, o capsídeo se desfaz e há a liberação do RNA genômico, cuja a tradução pelos ribossomos do hospedeiro, gera a poliproteína, que é processada, formando as proteínas funcionais necessárias para sua replicação, tradução e montagem das novas partículas virais. Os complexos de replicação viral (VRCs, *viral replication complexes*) são montados em vesículas membranosas, como do retículo endoplasmático, e, neles, pelo menos seis proteínas estão envolvidas, CI, 6K2, NIa, NIb, HC-Pro e P3. Essas vesículas virais são transportadas em direção a parede celular por filamentos de actina e seu movimento entre as células vizinhas ocorre via plasmodesmos. As vesículas podem fundir-se com as membranas do cloroplasto e o RNA viral derivado do VRC pode ser traduzido e incorporado novamente no VRC, permitindo sua participação em rodadas adicionais de replicação. Tal RNA também pode ser encapsulado, formando novas partículas virais, ou degradado (Figura 5) (IVANOV et al., 2014).

Figura 5 - Representação dos principais eventos do ciclo de infecção de um *potyvirus*.



Fonte: Ivanov et al. (2014).

3.3 ESTRESSE POR INJÚRIA

Na natureza, a injúria é um estresse comum em plantas, causada por fatores abióticos, como vento e granizo, e bióticos, por exemplo, herbívoros (SÖZEN et al., 2020). Tal estresse é a porta de entrada para fitopatógenos, tornando-se essencial a capacidade das plantas de senti-lo e respondê-lo adequadamente (HÖRAK, 2020). Contra esse fator adverso, as plantas utilizam mecanismos de defesa constitutivos, como a lignina, cutícula e metabólitos tóxicos, e induzidos para reparar os tecidos lesados e restringir a entrada de patógenos (SAVATIN et al., 2014; SÖZEN et al., 2020).

Na ativação da resposta imune, moléculas liberadas pela ruptura dos tecidos e células, por exemplo, oligossacarídeos de xiloglucanos, açúcares e Peps (*plant elicitor peptides*), funcionam como DAMPs (HOU et al., 2019; TANAKA; HEIL, 2021). Tais moléculas são detectadas por receptores presentes na membrana plasmática das células circundantes, dando início aos eventos das cascatas de sinalização, como MAPK, Ca^{2+} e ROS. Isso resulta na modulação da expressão dos genes de defesa (LI et al., 2020; VEGA-MUÑOZ et al., 2020), incluindo aqueles relacionados com a produção de compostos presentes na parede celular e na contenção dos patógenos (SAVATIN et al., 2014). Dependendo da intensidade do dano, sinais elétricos, Ca^{2+} e ROS propagam-se do local da injúria para o resto da planta para desencadear a resposta sistêmica (VEGA-MUÑOZ et al., 2020).

3.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Os metabólitos secundários exibem uma grande diversidade química, com mais de 200 mil estruturas conhecidas no reino vegetal (PYNE; NARCROSS; MARTIN, 2019), onde elas são diferencialmente distribuídas dentro dos grupos taxinômicos (CARETTO et al., 2015).

A referida classe de metabólitos contribui em todos os aspectos para a aclimação e adaptação dos vegetais as condições ambientais desfavoráveis (DONG; LIN, 2021; SHARMA et al., 2019; ZAYNAB et al., 2018), possuindo uma diversidade de papéis fisiológicos e ecológicos, incluindo defesa contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores e sinalização (CHOMEL et al., 2016; YONEKURA-SAKAKIBARA; HIGASHI; NAKABAYASHI, 2019). Além disso, os níveis endógenos deles medeiam o crescimento e desenvolvimento das plantas (ASHRAF et al., 2018).

Os compostos secundários estão associados a cores, gosto e odores específicos das plantas e também são utilizados na indústria como recurso de produtos químicos, sabores, aditivos alimentares e farmacêutico (ASHRAF et al., 2018). Eles são derivados do metabolismo primário, como aminoácidos e carboidratos, sendo sua produção altamente influenciada pelos estresses abióticos e bióticos (ASHRAF et al., 2018; YANG et al., 2018).

Com base na composição química, esses fitoquímicos podem ser divididos em dois grupos: moléculas contendo nitrogênio, os alcaloides, e moléculas deficientes em nitrogênio, terpenoides e fenólicos (PATRA et al., 2013).

Os alcaloides são compostos de baixo peso molecular, que possuem muitas atividades, como estimulante (cafeína e efedrina), analgésica (morfina), anticancerígena (vinblastina e vincristina), anti-inflamatória (berberina), antibacteriano (sanguinarina) e antimalárica (quinina) (PYNE; NARCROSS; MARTIN, 2019). Eles também são conhecidos como compostos defensivos das plantas contra herbívoros, patógenos e na radiação ultravioleta (PATRA et al., 2013).

Os terpenoides desempenham muitas funções, como atração de polinizadores e defesa das plantas contra herbívoros e patógenos (NAGEGOWDA, 2010). Alguns terpenos são importantes no crescimento e desenvolvimento das plantas, como os fitormônios giberelina e brassinosteroides (PATRA et al., 2013). Com base no número de unidades de cinco carbonos (isopreno) no seu esqueleto, os terpenoides são distribuídos em subgrupos, como monoterpenoides (C10), triterpenoides (C30) e tetraterpenoides (C40) (YAZAKI; ARIMURA; OHNISHI, 2017).

Os compostos fenólicos são importantes fisiologicamente ao longo do ciclo de vida das plantas (SHARMA et al., 2019). Tais metabólitos conferem uma notável plasticidade metabólica para os vegetais, que possibilita sua aclimação e sobrevivência em situações de estresse (CARETTO et al., 2015). Eles estão intrinsecamente envolvidos na interação entre planta e patógeno, sendo sua produção e acúmulo geralmente mais intensos em cultivares resistentes do que em cultivares suscetíveis após a infecção (MIKULIC-PETKOVSEK et al., 2013).

Ainda, protegem as plantas da luz solar, reduzindo o estresse oxidativo, e com seus possíveis efeitos tóxicos, podem proteger de predadores, como insetos, além de serem importantes no estabelecimento de simbiose, atração de polinizadores, entre outros (SHAHIDI; YEO, 2016). Entre os compostos fenólicos, estão os fenilpropanoides e seus derivados, flavonoides e isoflavonoides, que

possuem como precursores a fenilalanina e a tirosina, aminoácidos produzidos pelas vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina (SHAHIDI; YEO, 2016; SHARMA et al., 2019). Tais compostos são essenciais para o reforço das barreiras físicas e químicas dos vegetais envolvidas na defesa contra estresse (CARETTO et al., 2015).

3.4.1 Vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina

A via chiquimato conecta o metabolismo de carboidratos com a biossíntese de metabólitos secundários (TOHGE et al., 2013). Tal via é encontrada em bactérias, fungos e plantas e possui grande relevância, direcionando parte do carbono fixado no metabolismo primário, mais de 30%, para processos fisiológicos importantes para a aclimação das plantas às condições ambientais, representados pela biossíntese de aminoácidos aromáticos, como fenilalanina e tirosina, e de metabólitos secundários (TOHGE et al., 2013).

A referida via metabólica é localizada nos cloroplastos, consistindo em sete reações, envolvendo seis enzimas, para formar o produto final, o corismato (TZIN; GALILI, 2010). Tais enzimas estão representadas na tabela 1.

Tabela 1 - Enzimas da via do ácido chiquímico, identificadas para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, e seus correspondentes números EC (*enzyme commission number*).

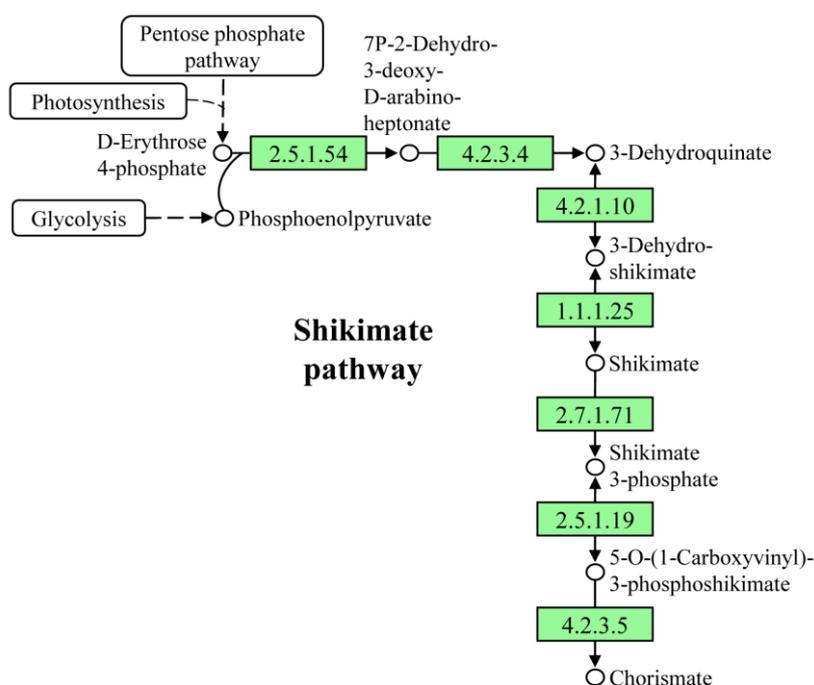
EC	Enzima
2.5.1.54	<i>3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase</i> (DAHPS)
4.2.3.4	<i>3-dehydroquinase synthase</i> (DHQS)
4.2.1.10 1.1.1.25	<i>3-dehydroquinase dehydratase/shikimate dehydrogenase</i> (DHD-SDH)
2.7.1.71	<i>Shikimate kinase</i> (SK)
2.5.1.19	<i>3-Phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase</i> (EPSPS)
4.2.3.5	<i>Chorismate synthase</i> (CS)

Fonte: A autora (2021).

A via do ácido chiquímico inicia com a condensação de D-eritrose-4-fosfato, proveniente da via pentose fosfato, e fosfoenolpiruvato (PEP), produzido na glicólise, formando 7P-2-desidro-3-desoxi-D-arabino-heptonato, etapa realizada pela enzima DAHPS. Em seguida, tal composto é convertido em 3-desidroquinato pela DHQS. As terceira e quarta etapas da via são catalisadas pela enzima bifuncional DHD-SDH. A atividade DHD é responsável pela desidratação de 3-desidroquinato para formar 3-desidrochiquimato, que é reduzido a chiquimato pela atividade de SDH. SK, a quinta enzima da via, catalisa a fosforilação dependente de ATP de chiquimato, formando chiquimato 3-fosfato. A penúltima reação, catalisada pela EPSPS, é a condensação

de PEP (ácido fosfoenolpirúvico) a chiquimato 3-fosfato, formando 5-O-(1-carboxivinil)-3-fosfochiquimato. Em seguida, na última etapa da via, a CS catalisa a eliminação de fosfato de 5-O-(1-carboxivinil)-3-fosfochiquimato, produzindo o corismato (Figura 6) (MAEDA; DUDAREVA, 2012; SANTOS-SÁNCHEZ et al., 2019; TOHGE et al., 2013).

Figura 6 - Mapa da via do ácido chiquímico, destacando as enzimas identificadas para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway*. Número EC (*Enzyme Commission Number*): 2.5.1.54, 3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase (DAHPS); 4.2.3.4, 3-dehydroquinase (DHQS); 4.2.1.10 1.1.1.25, 3-dehydroquinase dehydratase/shikimate dehydrogenase (DHD-SDH); 2.7.1.71, shikimate kinase (SK); 2.5.1.19, 3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase (EPSPS); 4.2.3.5, chorismate synthase (CS).



Fonte: A autora (2021) com base no KEGG pathway.

O corismato é um metabólico central em plantas, servindo como precursor do ácido salicílico, um hormônio importante no crescimento, desenvolvimento e defesa dos vegetais (HUANG, K. et al., 2019; REKHTER et al., 2019), além de filoquinona (vitamina K₁), folato (vitamina B₉) e de aminoácidos, como tirosina e fenilalanina, que são essenciais para a síntese de proteínas e produção de compostos importantes na defesa das plantas (MAEDA; DUDAREVA, 2012).

A fenilalanina é um substrato do qual deriva aproximadamente 30 a 45% da matéria orgânica vegetal, inclusive uma diversidade de compostos fenólicos, com participação, em menor grau, da tirosina (RAZAL et al., 1996). A fenilalanina é sintetizada via arogenato nos cloroplastos ou via fenilpiruvato no citosol (QIAN et

al., 2019). As enzimas participantes dessas rotas metabólicas estão descritas na Tabela 2.

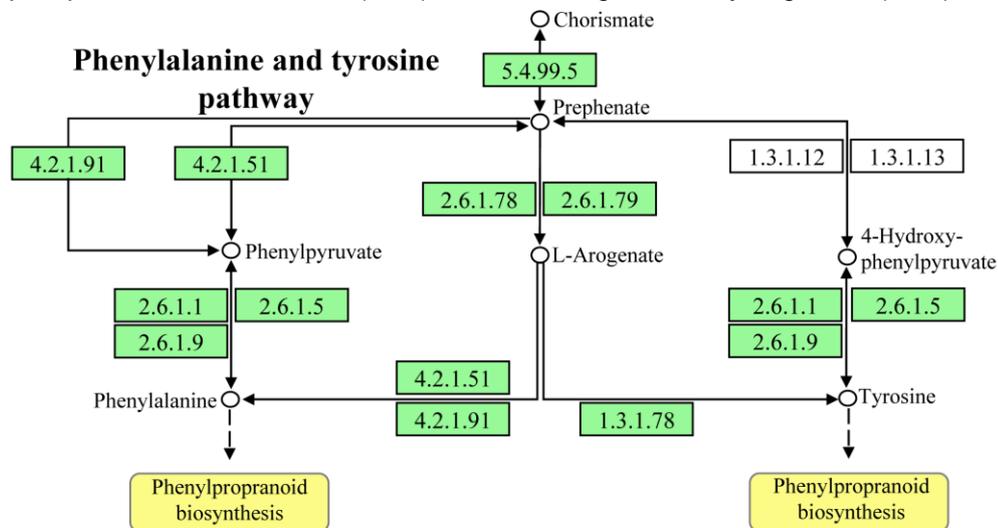
Tabela 2 - Enzimas da biossíntese da fenilalanina e tirosina, identificadas para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, e seus correspondentes números EC (*enzyme commission number*).

EC	Enzima
5.4.99.5	<i>Chorismate mutase</i> (CM)
2.6.1.1	<i>Aspartate aminotransferase e glutamate/aspartate-prephenate aminotransferase</i> (AAT-PAT)
2.6.1.78	
2.6.1.79	
4.2.1.91	<i>Arogenate/prephenate dehydratase</i> (ADT-PDT)
4.2.1.51	
1.3.1.78	<i>Arogenate dehydrogenase</i> (ADH)
2.6.1.1	<i>Aspartate aminotransferase</i> (AAT)
2.6.1.9	<i>Histidinol-phosphate aminotransferase</i> (HPA)
2.6.1.5	<i>Tyrosine aminotransferase</i> (TAT)

Fonte: A autora (2021).

A biossíntese de fenilalanina e tirosina inicia com a CM catalisando a transformação de corismato em prefenato por meio de um rearranjo de Claisen. A fenilalanina é produzida predominantemente via arogenato, onde PAT catalisa a transaminação de prefenato, formando L-arogenato, cuja descarboxilação e desidratação, intermediada por ADT-PDT, forma fenilalanina, e desidrogenação e descarboxilação, catalisada pela ADH, produz tirosina. Na via fenilpiruvato, prefenato é descarboxilado e desidratado, por intermédio de ADT-PDT, a fenilpiruvato, que é transaminado à fenilalanina. Alternativamente, prefenato é desidrogenado e descarboxilado, pela ação da PDH (*prephenate dehydrogenase*), a 4-hidroxifenilpiruvato, que é transaminado à tirosina (Figura 7) (YOO et al., 2013; QIAN et al., 2019).

Figura 7 - Mapa da biossíntese da fenilalanina e tirosina, destacando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*. Número EC (*Enzyme Commission Number*): 5.4.99.5, *chorismate mutase* (CM); 4.2.1.91 4.2.1.51, *arogenate/prephenate dehydratase* (ADT-PDT); 2.6.1.1 2.6.1.78 2.6.1.79, *aspartate aminotransferase* e *glutamate/aspartate-prephenate aminotransferase* (AAT-PAT); 2.6.1.1, *aspartate aminotransferase* (AAT); 2.6.1.5, *tyrosine aminotransferase* (TAT); 2.6.1.9, *histidinol-phosphate aminotransferase* (HPA); 1.3.1.78, *arogenate dehydrogenase* (ADH).



Fonte: A autora (2021) com base no KEGG pathway.

As vias do ácido chiquímico e da biossíntese de aminoácidos direcionam a síntese de metabólitos de defesa de elevada relevância para as plantas nas respostas aos estresses bióticos e abióticos, inclusive vírus (BARROS; DIXON, 2019). A modulação transcricional de enzimas dessas vias ou a detecção de metabólitos relacionadas a elas foi relatada em estudos prévios em resposta a fungos (ALIFERIS; FAUBER; JABAJI, 2014; BALAN et al., 2018; MUNIR et al., 2019; WEI et al., 2013; ZHU et al., 2017), vírus (ANJANAPPA et al., 2018), insetos (LIU, Q. et al., 2016) e injúria (JACOBO-VELÁZQUEZ; GONZÁLEZ-AGUËRO; CISNEROS-ZEVALLOS, 2015; TORRES-CONTRERAS et al., 2018). Além disso, estudos prévios superexpressando ou suprimindo enzimas pontuais evidenciaram a importância fisiológica delas para a resistência a patógenos e para a produção de compostos fenólicos. Em *Nicotiana tabacum* L., a supressão por interferência de RNA (RNAi, *RNA interference*) do gene *NtDHD/SHD* retardou o crescimento e diminuiu o conteúdo de aminoácidos aromáticos e de fenilpropranoide, como ácido clorogênico e lignina (DING et al., 2007). Em *Gossypium hirsutum* L., a expressão de *GhDHS1*(DAHPS) foi aumentada após a infecção por *Verticillium dahliae* e a sua superexpressão em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. melhorou a resistência a esse patógeno (YANG et al., 2015).

Desta forma, essas rotas metabólicas desenvolvem um papel importante na defesa dos vegetais, contribuindo para a resistência a patógenos, direcionando o fluxo de carbono para a síntese de metabólitos defensivos e de hormônios, além de aminoácidos, unidades estruturais das proteínas.

3.4.2 Fenilpropanoides

Os fenilpropanoides são uma classe de compostos com uma estrutura central formada por um grupo fenil ligado a uma cadeia de três carbonos, constituindo a unidade fenilproprano (C6-C3) (VANHOLME; EL HOUARI; BOERJAN, 2019). Eles estão envolvidos em diversas funções, sendo importantes nas interações das plantas com o ambiente, bem como no seu crescimento e desenvolvimento (BIAŁA; JASIŃSKI, 2018).

A referida via metabólica assimila cerca de 30-40% do carbono da biosfera, a maioria como polímero de lignina, o segundo produto natural mais abundante da terra (ALEJANDRO et al., 2012; ZHANG; LIU, 2015). Além desse produto natural, os fenilpropanoides incluem hidroxicinamatos (HCAs), hidroxicinamoil-CoAs (coenzima A), hidroxicinamaldeídos, ácidos clorogênicos, monolignóis (hidroxicinamil álcoois) e cumarinas (LE ROY et al., 2016; VANHOLME et al., 2019). Os HCAs, como os ácidos p-cumárico, cafeico e ferúlico, e CGAs, como os ácidos quínico cafeoil e quínico p-cumaroil, são importantes mediadores da defesa e resistência das plantas a patógenos (MHLONGO et al., 2014). Por exemplo, em *N. tabacum*, a diminuição de ácido clorogênico aumentou a suscetibilidade ao *Cercospora nicotianae* (MAHER, 1994). O ácido cinâmico, primeiro metabólito da via dos fenilpropanoides, além de servir para a síntese de compostos com relevância fisiológica na defesa das plantas contra estresses, é precursor do ácido salicílico, importante hormônio de sinalização para a ativação de defesas (KHAN et al., 2015; LIU et al., 2015; MAEDA; DUDAREVA, 2012).

As cumarinas, como escopoletina e cumarina, são um grupo de compostos importantes para os vegetais nas respostas aos estresses bióticos, onde podem funcionar como fitoanticipinas ou fitoalexinas (STRINGLIS; JONGE; PIETERSE, 2019). As cumarinas também atuam na regulação do estresse oxidativo e possivelmente regulação hormonal (BOURGAUD et al., 2006; SALEH; MADANY, 2015).

Além de defesas químicas, os fenilpropanoides fornecem barreiras físicas, as unidades da lignina, um componente da parede celular, na maioria das vezes, essencial na defesa das plantas a patógenos (TONG et al., 2015; YADAV et al., 2020). Em arroz (*Oryza sativa* L.), a deposição de lignina e a manutenção da sua integridade estrutural foram cruciais para a resistência a planta parasita *Striga hermonthica* (Delile) Benth. (MUTUKU et al., 2019). Estudo prévio em soja (*Glycine max* (L.) Merr.) mostrou uma densa deposição de lignina nas paredes do esclerênquima e no feixe vascular da folha em cultivar resistente em comparação com cultivar suscetível após a infecção de *Corynespora cassiicola* (FORTUNATO; ARAUJO; RODRIGUES, 2017). Na biossíntese das unidades da lignina, os monolignóis, como os álcoois sinapil e p-cumaril, são os substratos imediatos, que são derivados dos hidroxicinamaldeídos, tais como p-cumaraldeído e sinapaldeído, por sua vez, produzidos a partir dos hidroxicinamoil-CoAs, por exemplo, p-cumaril-CoA e sinapil-CoA. No processo de lignificação, outros fenilpropanoides, como hidroxicinamatos e hidroxicinamaldeídos, podem ser incorporados, sendo, portanto, um polímero de composição flexível (VANHOLME et al., 2019).

A biossíntese dos fenilpropanoides consiste em uma série de reações químicas catalisadas por várias enzimas (Tabela 3).

Tabela 3 - Enzimas participantes da biossíntese de fenilpropanoides, identificadas para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) na base de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, e seus correspondentes números EC (*enzyme commission number*).

EC	Enzima
4.3.1.24	<i>Phenylalanine ammonia-lyase</i> (PAL)
1.14.14.91	<i>Trans-cinnamate 4-monooxygenase</i> (C4H)
6.2.1.12	<i>4-coumarate-CoA ligase</i> (4CL)
1.2.1.44	<i>Cinnamoyl-CoA reductase</i> (CCR)
1.1.1.195	<i>Cinnamyl-alcohol dehydrogenase</i> (CAD)
1.11.1.7	Peroxidase (POD)
2.4.1.111	<i>Coniferyl-alcohol glucosyltransferase</i> (CAGT)
2.3.1.133	<i>Shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase</i> (HCT)
1.14.14.96	<i>5-O-(4-coumaroyl)-D-quininate 3'-monooxygenase</i> (C3'H)
2.1.1.104	<i>Caffeoyl-CoA O-methyltransferase</i> (CCoAOMT)
1.14.11.61	<i>Feruloyl-CoA ortho-hydroxylase</i> (F6H)
2.4.1.128	<i>Scopoletin glucosyltransferase</i> (SGT)
3.1.1.-	<i>Caffeoylshikimate esterase</i> (CSE)
2.1.1.68	<i>Caffeic acid 3-O-methyltransferase</i> (COMT)
1.14.-.-	<i>Ferulate-5-hydroxylase</i> (F5H)
1.2.1.68	<i>Coniferyl-aldehyde dehydrogenase</i> (CALDH)
3.2.1.21	<i>Beta-glucosidase</i> (BGL)

Fonte: A autora (2021).

A PAL direciona grande parte do carbono fixado no metabolismo primário para o secundário, catalisando a desaminação da fenilalanina, formando ácido cinâmico (CASS et al., 2015). A C4H converte o ácido cinâmico em ácido p-cumárico. A 4CL transforma ácido cinâmico e outros hidroxicinamatos, incluindo p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido 5-hidroxiferúlico e ácido sinápico em seus correspondentes tioésteres de CoA (GAO et al., 2015). A CCR converte tais tioésteres de CoA em hidroxicinamaldeídos (CHAO et al., 2017). A CAD catalisa a transformação desses hidroxicinamaldeídos em seus derivados de álcoois (PREISNER et al., 2018). A POD catalisa a polimerização dos monolignóis nas unidades da lignina, p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S; Figura 8) (HERRERO; ESTEBAN-CARRASCO; ZAPATA, 2013; DIXON; BARROS, 2019). Ainda, os monolignóis podem ser glicosilados pela CAGT, formando 4-hidroxicinamil álcool 4-D-glicosídeo, coniferina e siringina (Figura 8).

Ainda, HCT transforma o p-cumaroil-CoA nos ácidos chiquímico p-cumaroil e quínico p-cumaroil (HOFFMANN et al., 2004), que são convertidos pela C3'H nos ácidos chiquímico cafeoil e quínico cafeoil, respectivamente (SCHOCH et al., 2001). Esses compostos são substratos da HCT para formar cafeoil-CoA (HOFFMANN et al., 2004). A CCoAOMT transforma cafeoil-CoA em feruloil-CoA (SUN et al., 2015), composto utilizado pela F6H para produzir 6-hidroxiferuloil-CoA, espontaneamente convertido em escopoletina (SUN et al., 2015). Tal metabólito é convertido em escopolina pela SGT (TAGUCHI et al., 2000). A CSE converte o ácido chiquímico cafeoil em ácido cafeico (HA et al., 2016). Tal composto é convertido em ácido ferúlico pela COMT. Além disso, COMT catalisa a transformação de: cafeilaldeído em coniferaldeído, álcool cafeil em álcool coniferil, 5-hidroxiconiferaldeído em sinapaldeído e álcool 5-hidroxiconiferil em álcool sinapil (XIE et al., 2018). A F5H transforma ácido ferúlico em ácido 5-hidroxiferúlico, coniferaldeído em 5-hidroxiconiferaldeído e o álcool coniferil em álcool 5-hidroxiconiferil (WU, Z. et al., 2019). A CALDH converte coniferaldeído e sinapaldeído em ácido ferúlico e ácido sinápico, respectivamente (NAIR et al., 2004). A BGL utiliza β -D-glicosil 2-cumarinato para formar cumarinato (Figura 8).

A produção de fenilpropanoides é intrinsecamente associada à defesa das plantas, sendo a sua relevância fisiológica evidenciada pelos diversos estudos prévios que mostram a intensa reprogramação transcricional dessa via em condições adversas (Tabela 4).

Tabela 4 - Estudos evidenciando a modulação transcricional de genes da via dos fenilpropanoides em resposta à injúria e patógenos.

Espécie	Estresse	Tecido	Tempo	Técnica	Referência
<i>Brassica oleracea</i>	Injúria (corte com faca e via processador de alimentos)	Flor	1 e 9 horas	RNA-Seq	TORRES-CONTRERA et al., 2018
<i>Daucus carota</i>	Injúria (cenouras em tiras armazenadas em jarra de vidro)	Raiz	0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18 e 24 horas	qPCR	JACOBO-VELÁZQUEZ; GONZÁLEZ-AGUËRO; CISNEROS-ZEVALLOS, 2015
<i>Oryza sativa</i>	<i>Magnaporthe oryzae</i>	Folha	24 horas	Microarray	WEI et al., 2013
<i>Oryza sativa</i>	<i>Chilo suppressalis</i>	Caule	24, 48 e 72 horas	RNA-Seq	LIU, Q. et al., 2016
<i>Brassica rapa</i>	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	Folha	6, 12 e 24 horas	RNA-Seq	LIU et al., 2019
<i>Camellia sinensis</i>	<i>Colletotrichum camelliae</i>	Folha	24 e 72 horas	Microarray	WANG, L. et al., 2016
<i>Oryza sativa</i>	<i>Xanthomonas oryzae</i>	Folha	12, 24, 36 e 48 horas	RNA-Seq	TARIQ et al., 2018
<i>Camellia sinensis</i>	<i>Ectropis oblique</i>	Folha	3, 6, 9, 12 e 24 horas	RNA-Seq	WANG, Y. et al., 2016
<i>Gerbera hybrida</i>	<i>Phytophthora cryptogea</i>	Raiz	-	RNA-Seq	MUNIR et al., 2019
<i>Solanum sisymbriifolium</i>	<i>Verticillium dahlia</i>	Raiz	12 e 48 horas	RNA-Seq	WU, L. et al., 2019
<i>Musa acuminata</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Raiz	1, 7 e 14 dias	RNA-Seq	ZHANG et al., 2019
<i>Manihot esculenta</i>	<i>Cassava brown streak virus</i>	Folha	28 dias	RNA-Seq	ANJANAPPA et al., 2018
<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Tomato zonate spot virus</i>	Folha	12 dias	RNA-Seq	HUANG et al., 2017
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	Folha	1, 3 e 7 dias	qPCR	SADE et al., 2015
<i>Passiflora edulis</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Folha	10 dias	RNA-Seq	CHEN et al., 2021
<i>Vigna radiata</i>	<i>Mungbean yellow mosaic India virus</i>	Folha	7 dias	RNA-Seq	DASGUPTA et al., 2021
<i>Glycine max</i>	<i>Lamprosema indicata</i>	Folha	48 horas	RNA-Seq	ZENG et al., 2017
<i>Glycine max</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>	Folha	2, 8 e 24 horas	Microarray	ZABALA et al., 2006
<i>Populus spp.</i>	<i>Marssonina brunnea</i>	Folha	6, 26 e 96 horas	RNA-Seq	ZHANG et al., 2018

Fonte: A autora (2021).

A análise do transcriptoma de brócolis (*Brassica oleracea* L.) em resposta à injúria em duas intensidades, corte por faca e via processador de alimentos, e em dois tempos, 1 hora e 9 horas, mostrou uma alteração na expressão de genes da biossíntese de fenilpropanoides, incluindo *PAL*, *C4H*, *4CL*, *HCT*, *C3'H*, *CCoAOMT*, *CCR* e *CAD*, os quais foram seletivamente e diferencialmente influenciados pela a intensidade e o tempo do estresse (TORRES-CONTRERA et al., 2018). Uma intensa modulação transcricional da via dos fenilpropanoides, com o aumento da expressão dos genes *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CCoAOMT*, *F5H*, *COMT*, *CCR*, *CAD* e *POD*, foi observada em arroz 24 horas após a inoculação de *Magnaporthe oryzae* (WEI et al., 2013). *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* aumentou a expressão de *PAL*, *CCR*, *CCoAOMT*, *COMT1* e *CAD* em 12 horas após a infecção da bactéria *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* (LIU et al., 2019).

Ainda, uma análise de *microarray* de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze em resposta ao *Colletotrichum camelliae* mostrou a modulação significativa dos níveis de expressão de *PAL*, *CAD*, *CCR*, *POD*, *BGL* e *ALDH (CALDH)* (WANG, L. et al., 2016). Arroz infectado por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* aumentou a expressão de *PAL*, *4CL*, *C4H*, *CCR*, *CAD* e *POD* e diminuiu a expressão de *F5H* (TARIQ et al., 2018). Em *C. sinensis*, o ataque de *Ectropis oblique* modulou a expressão, obtida da mistura do RNA das amostras de 3, 6, 9, 12 e 24 horas após a exposição ao inseto, de vários genes, incluindo a indução de *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CCR* e *CAD* (WANG, Y. et al., 2016). Em *Prunus avium* (L.) L., houve o aumento da expressão de *PAL*, *C4H*, *4CL*, *HCT*, *F5H*, *CAD* e *POD* após a infecção das folhas por fitoplasma (TAN et al., 2019). *Passiflora edulis* alterou o perfil de transcrição dos genes *PAL*, *4CL*, *HCT*, *COMT*, *CAD*, *POD* e *BGL* após sete dias da infecção das folhas por *Cucumber mosaic virus* (CHEN et al., 2021). Essa modulação transcricional da biossíntese de fenilpropanoides fortalece a sua importância na defesa das plantas a tais estresses.

Estudos anteriores também apontam a relevância de enzimas individuais dos fenilpropanoides no processo de resistência a patógenos. Por exemplo, em *Capsicum annuum* L., o silenciamento de *caPAL* aumentou a suscetibilidade a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* e comprometeu o acúmulo de ácido salicílico, produção de ROS e a morte celular programada, importantes estratégias da resposta imune das plantas para a contenção de patógenos e ativação de defesas (KIM; HWANG, 2014). A superexpressão de *GmPAL2.1* em soja melhorou a resistência a *Phytophthora sojae* e sua supressão por RNAi aumentou a

suscetibilidade (ZHANG, C. et al., 2017). O nocaute de *OsPAL06* em arroz aumentou a suscetibilidade ao fungo *Magnaporthe oryzae*, reduziu o acúmulo de fitoalexinas, ácido salicílico e ácido jasmônico, e aumentou o acúmulo de etileno (DUAN et al., 2014). Em *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv., a reduzida expressão de *BdPAL* por RNAi aumentou a suscetibilidade aos fungos *Fusarium culmorum* e *Magnaporthe oryzae* (CASS et al., 2015). Plantas transgênicas de *N. tabacum* com supressão de *PAL* tiveram níveis reduzidos de ácido salicílico e não desenvolveram a resistência sistêmica adquirida após a infecção de *Tobacco mosaic virus* (PALLAS et al., 1996). Em milho (*Zea mays* L.), o silenciamento de *ZmPAL* diminuiu o acúmulo de ácido salicílico e aumentou a infecção por *Sugarcane mosaic virus* (YUAN et al., 2019).

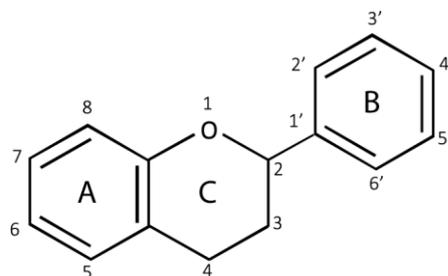
Ainda, plantas transgênicas de soja superexpressando *GmPI4L* (4CL) tiveram maior resistência a *P. sojae* e os conteúdos de daidzeína, genisteína e gliceolinas aumentados (CHEN et al., 2019). A superexpressão do gene *TaCAD12* em trigo (*Triticum aestivum* L.) aumentou a resistência ao fungo *Rhizoctonia cerealis*, enquanto a diminuição de sua expressão reduziu a resistência (RONG et al., 2016). Também em trigo, o nível de expressão de *TaCOMT-3D* foi maior em linhagens resistentes do que em linhagens suscetíveis e essa expressão foi elevada após a inoculação de *R. cerealis* (WANG et al., 2018). Além disso, os autores relataram uma grande suscetibilidade ao fungo *R. cerealis* em plantas de trigo com *TaCOMT-3D* silenciado e o aumento da resistência em plantas superexpressando *TaCOMT-3D*.

Desta forma, a via dos fenilpropanóides pode contribuir significativamente para a defesa das plantas, sendo recurso tanto de defesas químicas como de barreiras físicas contra patógenos.

3.4.3 Flavonoides

Os flavonoides são metabólitos com diversas funções nas plantas, como fotoproteção, proteção contra patógenos e herbívoros, antioxidantes e reguladores do movimento de auxina (BRUNETTI et al., 2013). Eles compreendem compostos com esqueleto C6-C3-C6, onde os dois anéis aromáticos, A e B, são ligados por uma cadeia de três carbonos, geralmente organizada em um anel heterocíclico pirano, configurando o arranjo 2-fenilcromano (C; Figura 9) (SANTOS-BUELGA; FELICIANO, 2017; POURCEL et al., 2007).

Figura 9 - Estrutura química básica da maioria dos compostos dos flavonoides.



Fonte: Adaptada de Wen et al. (2020).

Sendo diversos quimicamente, tal classe de compostos pode ser subdividida em vários subgrupos, incluindo chalconas (naringenina chalcona e isoliquiritigenina), dihidrochalconas (floreína e florizina), flavanonas (pinocembrina, naringenina, eriodictiol e butina), flavonas (crisina, apigenina, luteolina, tricetina), flavanonóis ou dihidroflavonóis (dihidrokaempferol ou aromadendrina, dihidroquercetina ou taxifolina e dihidromiricetina), flavonóis (quercetina, kaempferol e miricetina), antocianidinas (pelargonidina, cianidina e delphinidina) e flavan-3-óis (epicatequina e epigallocatequina) (MIERZIAK; KOSTYN; KULMA, 2014; SHARMA; TULI; SHARMA, 2019).

Os flavonoides contribuem para a contenção de patógenos nas células vegetais, sendo transportados para os sítios da infecção, onde participam na indução da reação de hipersensibilidade e morte celular programada (MIERZIAK; KOSTYN; KULMA, 2014). Estudos prévios evidenciam que o acúmulo de tais metabólitos secundários desenvolve um papel importante na resistência a patógenos (LU et al., 2017; SIVANKALYANI et al., 2016). Mutante *G. hirsutum* de cor vermelha, que apresenta maiores concentrações de flavonoides, tais como isoliquiritigenina, naringenina chalcona, fustina, kaempferol, miricetina e quercetina, em relação a cultivar controle, foi mais resistente aos patógenos *V. dahliae* e *Botrytis cinerea* (LONG et al., 2019). Frutos de manga (*Mangifera indica* L.) de cor vermelha apresentaram maiores concentrações de flavonoides e antocianinas em relação aos frutos de cor verde e maior resistência ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (SIVANKALYANI et al., 2016).

Ainda, tais compostos fazem parte dos métodos não enzimáticos das plantas de eliminar ROS (MARTINEZ et al., 2016), que têm dupla função nas células, podendo atuar na sinalização, como nos estresses de injúria e infecção viral, além de serem danosas em altas concentrações, reagindo com moléculas orgânicas, por exemplo, o DNA, danificando-as (CAMEJO; GUZMÁN-CEDEÑO; MORENO, 2016;

HUANG, H. et al., 2019; JACOBO-VELÁZQUEZ; GONZÁLEZ-AGUËRO; CISNEROS-ZEVALLOS, 2015). Realmente, flavonoides com substituição dihidroxi no anel B, como quercetina, possuem um elevado potencial de inibir a produção de ROS e eliminá-los uma vez produzidos (AGATI et al., 2012). Em arroz, a aplicação de quercetina (50 μ M) na raiz reduziu peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ânion superóxido (O_2^-) e alterou a expressão de genes envolvidos na homeostase redox, remodelamento da parede celular e sinalização da auxina (XU, Y. et al., 2019), evidenciando que os flavonoides impactam significativamente a fisiologia vegetal, inclusive podendo atuar de forma positiva na redução de ROS.

A referida classe de metabólitos é sintetizada no citosol, a partir da via dos fenilpropanoides, pelas enzimas descritas na Tabela 5.

Tabela 5 - Enzimas participantes da biossíntese de flavonoides, identificadas para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, e seus correspondentes números EC (*enzyme commission number*).

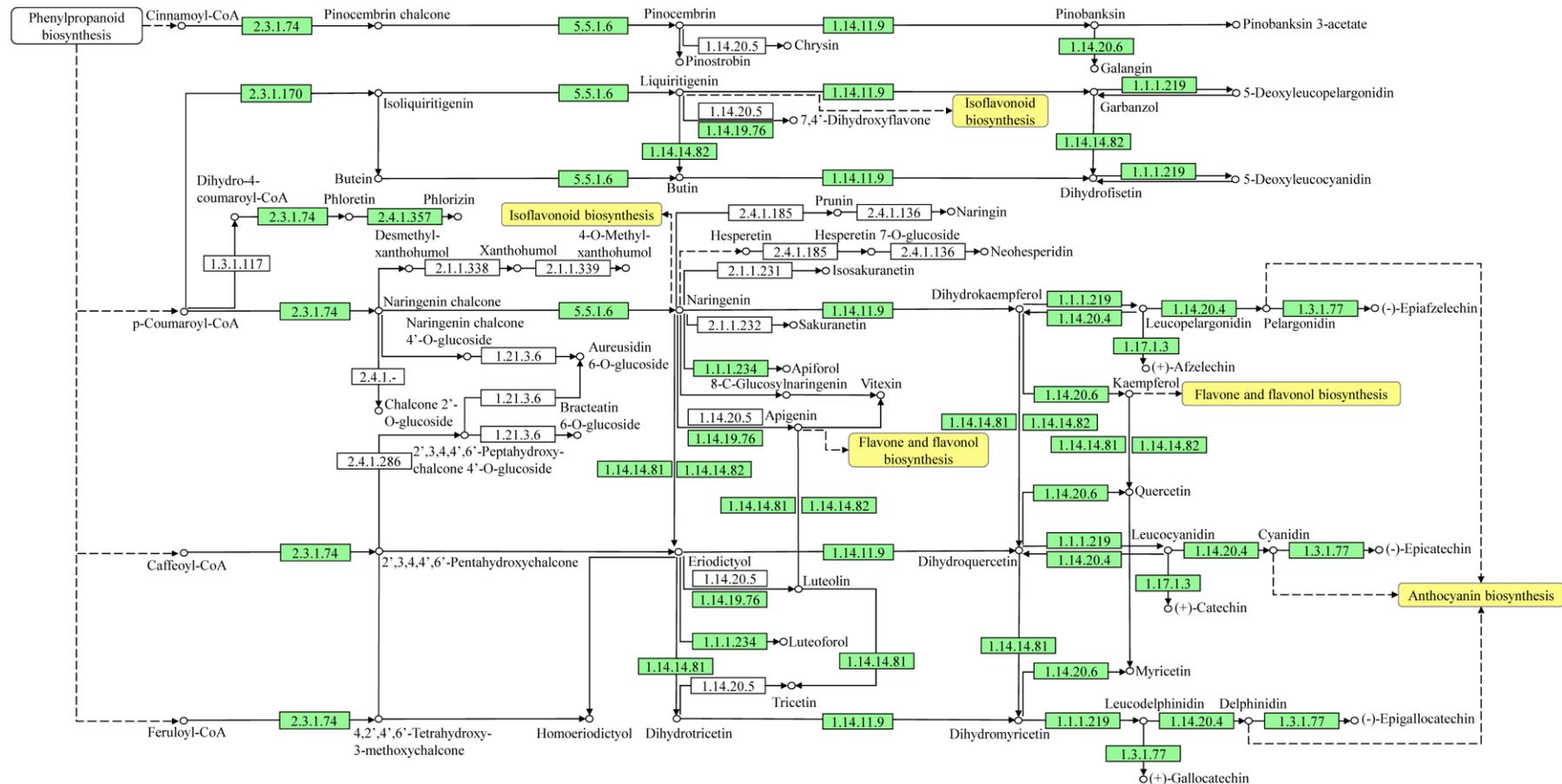
EC	Nome da enzima
2.3.1.74	<i>Chalcone synthase</i> (CHS)
2.3.1.170	<i>Polyketide reductase</i> (PKR)
5.5.1.6	<i>Chalcone isomerase</i> (CHI)
1.14.11.9	<i>Naringenin 3-dioxygenase</i> (F3H)
1.14.20.6	<i>Flavonol synthase</i> (FLS)
1.1.1.219 1.1.1.234	<i>Dihydroflavonol 4-reductase/flavanone 4-reductase</i> (DFR-FNR)
1.14.20.4	<i>Anthocyanidin synthase</i> (ANS)
1.3.1.77	<i>Anthocyanidin reductase</i> (ANR)
1.17.1.3	<i>Leucoanthocyanidin reductase</i> (LAR)
1.14.14.82	<i>Flavonoid 3'-monooxygenase</i> (F3'H)
1.14.14.81	<i>Flavonoid 3',5'-hydroxylase</i> (F3',5'H)
2.4.1.357	<i>Phlorizin synthase</i> (PGT)
1.14.19.76	<i>Flavone synthase II</i> (FNS II)

Fonte: A autora (2021).

A CHS é a primeira enzima da via que canaliza o fluxo de carbono dos fenilpropanoides para os flavonoides (ZHANG, X. et al., 2017), transformando os tioésteres de CoA em chalconas (YAHYAA et al., 2017) e coatuando com PKR na conversão de p-cumaroil-CoA em isoliquiritigenina (VADIVEL et al., 2018). A CHI catalisa a reação ciclização intramolecular, convertendo as chalconas bicíclicas em flavanonas tricíclicas (YIN et al., 2019). A F3H transforma tais flavanonas em dihidroflavonóis (LATEEF; PRABHUDAS; NATARAJAN, 2018). FLS e DFR convertem dihidroflavonóis em flavonóis e leucoantocianidinas, respectivamente (Figura 10) (KATSU et al., 2017; LATEEF; PRABHUDAS; NATARAJAN, 2018).

Ainda, ANS e LAR transformam leucoantocianidinas em antocianidinas e flavan-3-óis, respectivamente (ZHANG et al., 2020; JUN et al., 2021). A ANR converte antocianidinas em flavan-3-óis (JUN et al., 2021). A FNR converte flavanonas (naringenina e eriodictiol) em flavan-4-óis, incluindo apiforol e luteoforol, respectivamente (LATEEF; PRABHUDAS; NATARAJAN, 2018). F3'H e F3',5'H determinam o padrão de hidroxilação do anel B de vários flavonoides atuando, por exemplo, na conversão de naringenina e dihidrokaempferol em eriodictiol e dihidroquercetina, respectivamente (SEITZ; AMERES; FORKMANN, 2007). A PGT transforma floretina em florizina (JUGDÉ et al., 2008), enquanto FNS II catalisa a produção de 7,4'-dihydroxiflavona e apigenina utilizando os substratos liquiritigenina e naringenina, respectivamente (Figura 10) (JIANG et al., 2019).

Figura 10 - Mapa de biossíntese dos flavonoides, mostrando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para *Vigna unguiculata* no banco de dados Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway. Número EC (Enzyme Commission Number): 2.3.1.74, chalcone synthase (CHS); 2.3.1.170, polyketide reductase (PKR); 2.4.1.357, phlorizin synthase (PGT); 5.5.1.6, chalcone isomerase (CHI); 1.14.14.81, flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3',5'H); 1.14.14.82, flavonoid 3'-monooxygenase (F3'H); 1.14.19.76, Flavone synthase II (FNS II); 1.1.1.219, 1.1.1.234, dihydroflavonol 4-reductase/flavanone 4-reductase (DFR-FNR); 1.14.11.9, naringenin 3-dioxygenase (F3H); 1.14.20.6, flavonol synthase (FLS); 1.14.20.4, anthocyanidin synthase (ANS); 1.17.1.3, leucoanthocyanidin reductase (LAR); 1.3.1.77, anthocyanidin reductase (ANR).



Fonte: A autora (2021) com base no KEGG pathway.

A expressão de genes da biossíntese de flavonoides foi demonstrada em vários estudos em resposta à injúria e à infecção por patógenos (Tabela 6).

Tabela 6 - Estudos mostrando a modulação transcricional de genes da biossíntese de flavonoides em resposta à injúria e patógenos.

Espécie	Estresse	Tecido	Tempo	Técnica	Referência
<i>Camellia sinensis</i>	Injúria (corte das folhas com tesoura)	Folha	3, 6, 12 e 24 horas	RNA-Seq	LI et al., 2018
<i>Rosa rugosa</i>	Injúria (corte das folhas com tesoura)	Folha	24 horas	qPCR	SHEN et al., 2019
<i>Camellia sinensis</i>	<i>Ectropis oblique</i>	Folha	3, 6, 9, 12 e 24 horas	RNA-Seq	WANG, Y. et al., 2016
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Grapevine leafroll-associated virus 3</i>	Folha	-	qPCR	GUTHA et al., 2010
<i>Populus x euramericana</i>	<i>Lonsdalea quercina</i>	Caule	6 dias	RNA-Seq	HOU et al., 2016
<i>Populus trichocarpa x P. deltoides</i>	<i>Melampsora medusae</i>	Folha	1, 3, 6 e 9 dias	Microarray	MIRANDA et al., 2007
<i>Prunus avium</i>	Phytoplasma	Folha	-	RNA-Seq	TAN et al., 2019
<i>Lagerstroemia indica</i>	Oídio	Folha	14 dias	RNA-Seq	WANG; SHI; RINEHART, 2015
<i>Glycine max</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>	Folha	2, 8 e 24 horas	Microarray	ZABALA et al., 2006
<i>Populus spp.</i>	<i>Marssonina brunnea</i>	Folha	6, 26 e 96 horas	RNA-Seq	ZHANG et al., 2018

Fonte: A autora (2021).

Camellia sinensis aumentou a expressão de *DFR*, *ANS* e *ANR* e diminuiu a expressão de *LCR* (*LAR*) após o dano nas folhas (corte com tesoura; LI et al., 2018). Em *Rosa rugosa* Thunb., o aumento da expressão de *RrCHS*, *RrF3H*, *RrF3'H*, *RrDFR*, *RrLAR*, *RrANR* e *RrANS* foi observado em 24 horas após a injúria das folhas (corte com tesoura; SHEN et al., 2019). O ataque de *Ectropis oblique* a *C. sinensis* aumentou a expressão de *CHS*, *CHI*, *F3'H*, *ANS* e *LAR*, além de aumentar e diminuir a expressão de *F3',5'H*, *F3H*, *FLS*, *DFR* e *ANR* (WANG, Y. et al., 2016). Uva (*Vitis vinifera*) alterou a expressão dos genes *CHS2*, *CHS3*, *CHI1*, *F3'H*, *F3'5'H*, *F3H1*, *F3H2*, *DFR*, *LDOX* (*ANS*), *LAR1* e *LAR2* após a inoculação de *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3; GUTHA et al., 2010).

Ainda, *Populus x euramericana* alterou os níveis de expressão de vários genes, incluindo aumento e diminuição da expressão de *CHS*, *PKR*, *F3H*, *FLS*, *F3'H*, *LAR* e *LDOX* (*ANS*), aumento da expressão de *CHI*, *DFR-FNR* e *ANR* e diminuição da expressão de *F3',5'H* após seis dias da infecção de *Lonsdalea quercina* (HOU et al., 2016). Em álamo híbrido (*Populus trichocarpa x Populus deltoides*), houve o aumento da expressão dos genes *CHS*, *CHI*, *F3H*, *LAR*, *ANS* e *ANR* após seis e nove dias da inoculação do fungo *Melampsora medusae* (MIRANDA et al., 2007). A

infecção das folhas de *P. avium* por fitoplasma resultou no aumento da expressão de *CHS*, *CHI*, *F3H*, *FLS*, *F3'H*, *FNR*, *ANS*, *ANR* e *LAR* (TAN et al., 2019). Em *Lagerstroemia indica* L., o aumento da expressão de *CHS*, *CHI*, *F3H*, *FNR-DFR*, *F3'H*, *ANS* e *ANR* foi observado em genótipo resistente ao fungo *Erysiphe australiana* comparado com o genótipo suscetível (WANG; SHI; RINEHART, 2015). Tais estudos evidenciam que a via dos flavonoides é importante para a proteção das plantas em condições de estresses bióticos.

A análise de genes pontuais da via dos flavonoides por meio da supressão ou indução mostrou o envolvimento deles no processo de resistência a estresses bióticos. Por exemplo, o silenciamento do gene *CHR* na raiz de soja, também conhecido como *PKR*, por RNAi aumentou a suscetibilidade a infecção de *P. sojae* (GRAHAM et al., 2007). Também na raiz de soja, a superexpressão de *GmCHI1A* aumentou a resistência a *P. sojae*, reduzindo o acúmulo de biomassa do patógeno, o comprimento da lesão e a germinação de zoósporos (ZHOU et al., 2018). Ainda em soja, o nocaute simultâneo dos genes *GmF3H1*, *GmF3H2* e *GmFNSII-1* pelo sistema CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*)/Cas9 (*CRISPR-associated protein 9*) aumentou o conteúdo de isoflavonoides (isoflavona) e a resistência ao *Soya bean mosaic virus* (SMV) (ZHANG et al., 2020). A diminuição da expressão do gene *GhCHS* em *G. hirsutum* aumentou a suscetibilidade ao fungo *V. dahliae* (LEI et al., 2018). Em *Gossypium barbadense* L., o silenciamento do gene *GbANS* diminuiu a produção de antocianinas, reduziu a resistência ao fungo *V. dahliae* e aumentou a produção de H₂O₂ (LONG et al., 2018).

Desta forma, a via dos flavonoides parece desenvolver um papel fisiológico de elevada relevância para as plantas em condições adversas, atuando como antioxidantes ou como moléculas químicas para a contenção dos patógenos.

3.4.4 Isoflavonoides

Os isoflavonoides são metabólitos característicos das leguminosas (KADUCOVÁ et al., 2019). Eles desenvolvem um papel importante na interação das plantas com ambiente (NAKATA et al., 2016), sendo moléculas de sinalização no estabelecimento de simbiose, parte integrante dos mecanismos de defesa das plantas contra patógenos, entre outras funções (LIU et al., 2017; RÍPODAS et al., 2013; VADIVEL et al., 2016). Inclusive, os flavonoides constituem a principal classe de fitoalexinas em legumes (HASSAN; MATHESIUS, 2012).

As fitoalexinas, como medicarpina e maackiain, são compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, que ajudam as plantas a controlar os patógenos invasores (JEANDET, 2015). A alteração do perfil metabólico dos isoflavonoides em resposta a patógenos foi demonstrada em estudos prévios (ALIFERIS; FAUBERT; JABAJI, 2014; JASIŃSKI et al., 2009). Por exemplo, soja, em resposta a *Rhizoctonia solani*, aumentou o acúmulo de daidzeína, 2'-hidroxidaidzeína, cumestrol, 2'-hidroxiformononetina e maackiain 24 e 48 horas após a infecção e de 2,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavanona, daidzina e gliceolina em 24 horas, além de acumular 3,9-dihidroxipterocarpano e 7,2'-dihidroxi-4'-metoxiisoflavonol em 48 horas após esse estímulo biótico (ALIFERIS; FAUBERT; JABAJI, 2014). Os autores também relataram a diminuição do acúmulo de isoformononetina em 24 horas e de 2,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavanona e (+)-6a-hidroximaackiain em 48 horas.

Os isoflavonoides são derivados dos flavonoides, dos quais se distinguem pelo esqueleto estrutural, baseado em 3-fenilcromano (LI et al., 2016). A biossíntese dos isoflavonoides inicia com dois flavonoides, isoliquirigenina e naringenina, os quais por uma série de reações catalisadas por diversas enzimas originam os diversos compostos fisiologicamente importantes na aclimatação das plantas sob estresse. As enzimas participantes dessa via estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7 - Enzimas participantes da biossíntese de isoflavonoides, identificadas para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, e seus respectivos números EC (*Enzyme commission number*).

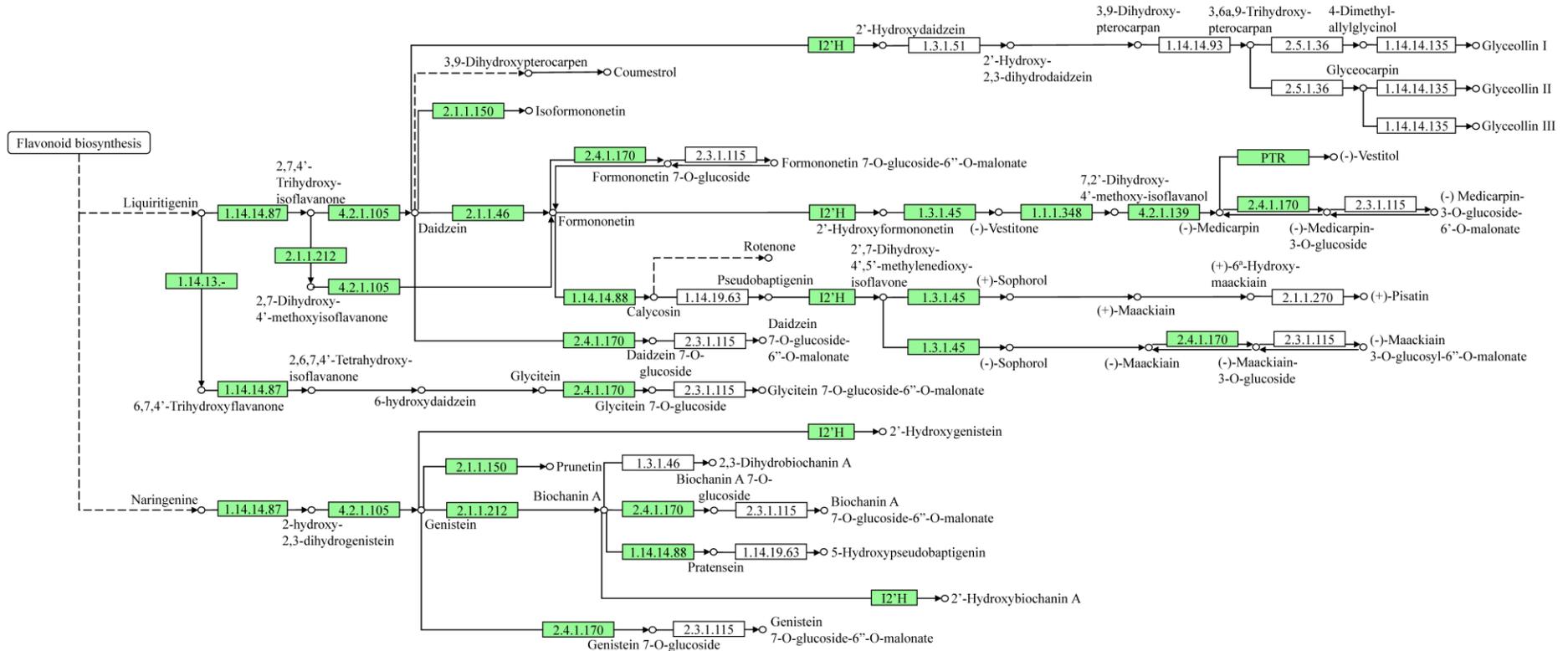
EC	Nome da enzima
1.14.14.87	2-hydroxyisoflavanone synthase (IFS)
1.14.13.-	Flavonoid 6-hydroxylase (FL6H)
4.2.1.105	2-hydroxyisoflavanone dehydratase (HIDH)
2.1.1.212 2.1.1.46	2,7,4'-trihydroxyisoflavanone 4'-O-methyltransferase / isoflavone 4'-O-methyltransferase (HI4'OMT-I4'OMT)
1.14.14.88	Isoflavone 3'-hydroxylase (I3'H)
2.1.1.150	Isoflavone-7-O-methyltransferase (I7OMT)
2.4.1.170	Isoflavone 7-O-glucosyltransferase (IF7GT)
1.14.14.90 1.14.14.89	Isoflavone/4'-methoxyisoflavone 2'-hydroxylase (I2'H-M2'H)
1.3.1.45	2'-hydroxyisoflavone reductase (IFR)
1.1.1.348	Vestitone reductase (VR)
4.2.1.139	Pterocarpan synthase (PTS)
1.23.1.-	Pterocarpan reductase (PTR)

Fonte: A autora (2021).

A IFS é a enzima que direciona o fluxo de carbono dos flavonoides para os isoflavonoides (GUPTA et al., 2019), convertendo liquiritigenina e naringenina em

isoflavanonas (FELDMANN, 2001). A liquiritigenina é transformada em 6,7,4'-trihidroxiisoflavanona pela FL6H. A HIDH catalisa a conversão de isoflavanonas, 7,4'-trihidroxiisoflavanona e 2-hidroxi-2,3-dihidrogenisteína, em isoflavonas, daidzeína e genisteína, respectivamente (SHIMAMURA et al., 2007). A I4'OMT catalisa a transformação de daidzeína em formononetina e de genisteína em biochanina A. A I3'H converte formononetina e biochanina A em calicosina e pratenseína, respectivamente. A I7OMT transforma daidzeína em isoformononetina e genisteína em prunetina. Os compostos formononetina, daidzeína, gliciteína, genisteína e Biochanina A são convertidos em seus respectivos glicosídeos pela enzima IF7GT (SUGIYAMA, 2019). A I2'H-M2'H catalisa a formação de isoflavonas, como 2'-hidroxidaidzeína, 2'-hidroxiformononetina e 2'-hidroxigenisteína. A IFR converte 2'-hidroxiformononetina em (-)-vestitona, além de catalisar a formação de (+)-soforol e (-)-soforol (COOPER; QIU; PAIVA, 2002). A VR transforma (-)-vestitona em 7,2'-dihidroxi-4'-metoxi-isoflavanol, que é convertido em (-)-medicarpina pela PTS (UCHIDA; AKASHI; AOKI, 2017). A PTR converte medicarpina em (-)-vestitol (Figura 11).

Figura 11 - Mapa de biossíntese dos isoflavonoides, mostrando as enzimas identificadas (nas caixas verdes) para feijão-caupi (*vigna unguiculata*) no banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) pathway. Número EC (*Enzyme Commission Number*): 1.14.14.87, 2-hydroxyisoflavanone synthase (IFS); 1.14.13.-, Flavonoid 6-hydroxylase (FL6H); 4.2.1.105, 2-hydroxyisoflavanone desidratase (HIDH); 2.1.1.212 2.1.1.46, 2,7,4'-trihydroxyisoflavanone 4'-O-methyltransferase/isoflavone 4'-O-methyltransferase (HI4'OMT-14'OMT); 2.1.1.150, isoflavone-7-O-methyltransferase (I7OMT); 1.14.14.88, Isoflavone 3'-hydroxylase (I3'H); 2.4.1.170, isoflavone 7-O-glucosyltransferase (IF7GT); 1.14.14.90 1.14.14.89, isoflavone/4'-methoxyisoflavone 2'-hydroxylase (I2'H-M2'H); 1.3.1.45, 2'-hydroxyisoflavone reductase (IFR); 1.1.1.348, vestitone reductase (VR); 4.2.1.139, pterocarpan synthase (PTS); 1.23.1.-, pterocarpan reductase (PTR).



Fonte: A autora (2021) com base no KEGG pathway.

A participação de genes dos isoflavonoides na resposta a patógeno e injúria foi evidenciada em estudos anteriores. Em *Medicago truncatula* Gaertn., alterações significativas nos níveis de expressão de *IFS*, *HI4'OMT*, *HID*, *I2'H*, *IFR* e *VR* foram observadas nas raízes após sete dias da inoculação de *R. solani*, e a superexpressão de um desses genes, *IFS*, melhorou a resistência a esse patógeno (LIU et al., 2017). Em soja, a injúria (folhas cortadas com tesoura) e a inoculação de *P. sojae* alteraram os níveis de expressão de *IFR* e, quando foi superexpresso, melhorou a resistência a esse patógeno e reduziu os níveis de ROS (CHENG et al., 2015). A expressão do gene *IFS* foi aumentada nas sementes de soja em resposta ao míldio (DENG et al., 2019). Em *Psoralea corylifolia* L., a expressão do gene *PcIFS* aumentou significativamente após a injúria (corte das folhas com lâmina de barbear; MISRA et al., 2010). Em soja, foi sugerido a participação de *gmHID* na imunidade inata, porquanto a sua expressão foi aumentada após a infecção de *Pseudomonas syringae* e o seu silenciamento gênico induzido por vírus (VIGS) aumentou a suscetibilidade a esse patógeno (ZHOU et al., 2011). O silenciamento de *IFS* em soja resultou na quebra da resistência mediada pelo gene *Rps* à raça 1 de *P. sojae* e suprimiu a resposta de hipersensibilidade (GRAHAM et al., 2007). Esses estudos apontaram a notável relevância dessas enzimas na resposta das plantas a patógenos e a injúria, as quais por meio da produção dos seus respectivos compostos, contribuem para a aclimação das plantas em situações de estresse.

3.5 FAMÍLIA MATE

MATE (*multidrug and toxic compound extrusion*) é uma família de transportadores secundários ativos conservados em todos os domínios da vida. Tais proteínas utilizam o gradiente eletroquímico de H⁺ ou Na⁺ para o transporte de seus substratos, desenvolvendo um papel importante na homeostase celular (MIYAUCHI et al., 2017). A maioria das proteínas MATE são compostas de 400 a 700 aminoácidos (XU, L. et al., 2019) e apresentam comumente 12 hélices transmembrana (TM), com os lobos N e C formados pelas TMs de 1 a 6 e de 7 a 12, respectivamente (KUSAKIZAKO et al., 2020). Com base na filogenia, tais proteínas são divididas em procarióticas Norm e Dinf e eucariótica MATE (eMATE) (BROWN; PAULSEN; SKURRAY, 1999; OMOTE et al., 2006).

Em plantas, os transportadores MATE são numerosos, e foram caracterizados em diversas espécies, como arroz (46 MATEs; DU et al., 2021), *Malus × domestica*

Borkh. (66 MATEs; ZHANG et al., 2021), *Solanum tuberosum* L. (64 MATEs; HUANG et al., 2021), *P. trichocarpa* (71 MATEs; LI et al., 2017), *Gossypium raimondii* Ulbr. (70 MATEs; LU et al., 2018), *Gossypium arboreum* L. (68 MATEs; LU et al., 2018), *N. tabacum* (134 MATEs; GANI et al., 2021), *Cajanus cajan* (L.) Huth (67 MATEs; DONG et al., 2019) e soja (117 MATEs; LIU, J. et al., 2016).

Estudos evidenciam a multifuncionalidade desses transportadores em vegetais. Por exemplo, *OsMATE1* e *OsMATE2* de arroz, expressos em órgãos reprodutivos e em desenvolvimento, alteram o crescimento e a morfologia floral de *Arabidopsis*, e negativamente afetam a resistência a doença (TIWARI et al., 2014). *AtADS1* (*Activated Disease Susceptibility 1*) de *A. thaliana*, também conhecido como *ABS3* (*Abnormal shoot3*) e *ADP1* (*altered development program 1*), regula o alongamento celular no hipocótilo e os níveis de auxina em regiões meristemáticas, afetando a arquitetura vegetal, e promove a senescência, além de ser um regulador negativo da resistência a doença, influenciando no acúmulo de ácido salicílico e na expressão do gene *PR1* (*Pathogenesis-Related 1*) (JIA et al., 2019; LI et al., 2014; SUN et al., 2011; WANG et al., 2015). *AtELS1* é um transportador envolvido na homeostase de ferro e senescência foliar (WANG et al., 2016). *AtZRIZI/ABS4*, *AtBIGE1A* (*Big embryo 1*) e *AtBIGE1B* são relatados na regulação da iniciação dos órgãos laterais (BURKO et al., 2011; SUZUKI et al., 2015). *AtEDS5* participa da resposta imune inata exportando ácido salicílico do cloroplasto para o citoplasma (NAWRATH et al., 2002; SERRANO et al., 2013). *AtDTX50* é expresso nas células-guarda e em tecidos vasculares, e sua proteína, localizada predominantemente na membrana plasmática, transporta ácido abscísico (ZHANG et al., 2014).

Alguns transportadores MATE são relatados no transporte de citrato, um ácido orgânico quelante do alumínio e do ferro, promovendo a desintoxicação por alumínio e facilitando a translocação de ferro (TAKANASHI; SHITAN; YAZAKI, 2014). Por exemplo, o gene *AtFRD3*, expresso nas raízes, codifica um transportador de citrato requerido para translocação de ferro (DURRETT; GASSMANN; ROGERS, 2007; ROGERS; GUERINOT, 2002). Com função e sequência similar a tal gene, *GmFRD3a* e *GmFRD3b* foram descobertos em soja (ROGERS et al., 2009). A proteína *MtMATE67* de *M. truncatula*, encontrada na membrana plasmática de células nodulares e na membrana do simbiossoma, é requerida para a homeostase de ferro e fixação de nitrogênio simbiótica (KRYVORUCHKO et al., 2018). O gene *HvAACT1* de cevada (*Hordeum vulgare* L.) é envolvido na tolerância ao alumínio e

na translocação de ferro (FUJII et al., 2012; ZHOU et al., 2013). Os genes *ScFRDL1* e *ScFRDL1* de centeio (*Secale cereale* L.), expressos nas raízes, codifica proteínas envolvidas na translocação de ferro e na desintoxicação por alumínio, respectivamente (YOKOSHO; YAMAJI; MA, 2010).

As proteínas MATE também realizam o transporte de metabólitos secundários, que são essenciais para a interação das plantas com ambiente, participando da resposta aos estresses bióticos e abióticos (KHARE et al., 2020). Por exemplo, o gene *AtTT12*, expresso em óvulos e sementes em desenvolvimento (DEBEAUJON et al., 2001), codifica proteína que atua no sequestro de flavan-3-óis glicosilados na membrana vacuolar de células do revestimento da semente de *A. thaliana* para a produção de proantocianidinas (MARINOVA et al., 2007). MtMATE1 realiza o transporte preferencial de epicatequina 3'-O-glicosídeo na membrana do vacúolo (ZHAO; DIXON, 2009). MtMATE2 é um transportador vacuolar de glicosídeos de flavonoides preferencialmente malonilados (ZHAO et al., 2011). NtMATE1 e NtMATE2 de *N. tabacum* realizam o sequestro vacuolar de nicotina, um alcaloide, na raiz (SHOJI et al., 2009). Nt-JAT1 e Nt-JAT2 translocam alcaloides no vacúolo, incluindo a nicotina, em folhas (MORITA et al., 2009; SHITAN et al., 2014). VvAM1 e VvAM3, localizadas no vacúolo, transportam antocianinas aciladas (GOMEZ et al., 2009). CjMATE1 é encontrada no vacúolo das células de *Coptis japonica* translocando berberina (TAKANASHI et al., 2017). AtDTX18 transporta amidas de ácido hidrocínâmico como parte das defesas químicas de *A. thaliana* contra *Phytophthora infestans* (DOBRTZSCH et al., 2016).

Portanto, é notável a relevância fisiológica dessa classe de transportadores nos processos de crescimento e desenvolvimento vegetal e na resposta aos estresses bióticos e abióticos, tornando-se potenciais alvos biotecnológicos para aumentar a produtividade das culturas economicamente importantes.

3.6 BIOINFORMÁTICA

A bioinformática é uso de ferramentas computacionais para armazenar, gerenciar e analisar os dados biológicos (KUMAR; CHORDIA, 2017). Como uma ciência interdisciplinar, reúne técnicas e ferramentas da biologia molecular (fonte da informação a ser analisada), ciência da computação (fornece o *hardware* e as redes para análise e compartilhamento dos resultados) e matemática (algoritmos usados na análise dos dados) (BRANCO; CHOUPINA, 2021).

Seus fundamentos foram estabelecidos na década de 1960, com Margaret Dayhoff sendo a pioneira na aplicação de métodos computacionais para dados bioquímicos (GAUTHIER et al., 2019). Em 1962, Margaret Dayhoff e Robert Ledley desenvolveram o COMPROTEIN para determinar a estrutura primária de proteínas a partir de dados de sequenciamento de peptídeo pelo método de degradação Edman (DAYHOFF; LEDLEY, 1962; GAUTHIER et al., 2019).

Com surgimento de técnicas que permitiram a manipulação e sequenciamento do DNA, bem como avanços na ciência da computação, emergiu as análises provenientes do DNA (GAUTHIER et al., 2019). Os primeiros métodos de sequenciamento eram demorados e caros, sendo mais abordados no sequenciamento de genomas pequenos (GIANI et al., 2020). O primeiro genoma completo de DNA sequenciado foi o do bacteriófago ϕ X174 (5375 nucleotídeos) (SANGER, 1977).

Nas décadas de 1980 e 1990, a automatização do sequenciamento e as constantes melhorias realizadas no seu processo, aumentaram a velocidade de obtenção dos dados. Tais avanços foram acelerados pelo projeto genoma humano na década de 1990, que impulsionou a introdução das plataformas de sequenciamento de nova geração (NGS) (GIANI et al., 2020).

O NGS aumentou consideravelmente a quantidade de dados produzidos, reduzindo o tempo de processamento e os custos para a sua geração (MARDIS, 2017), promovendo o aumento dos projetos de sequenciamento de plantas (BAYER et al., 2020). Isso resultou na geração de um grande volume de dados, com a bioinformática desenvolvendo um papel essencial, fornecendo banco de dados, ferramentas e outros recursos necessários para analisar e atribuir significado biológico aos dados (KANEHISA, 2019; BLÄTKE et al., 2021).

3.6.1 Banco de dados biológicos

O acúmulo de sequências provenientes do sequenciamento levou ao desenvolvimento dos bancos de dados biológicos (KANEHISA, 2019), que armazena, organiza e compartilha os dados de forma estruturada e pesquisável para facilitar a visualização e recuperação das informações (ZOU et al., 2015). Atualmente, vários bancos de dados estão disponíveis para consulta, como NCBI (*National Center for Biotechnology Information*; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>), LIS (*Legume information System*;

<https://legumeinfo.org/>) e KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*; <https://www.kegg.jp>).

O NCBI provê um grande conjunto de recursos online para informações e dados biológicos, incluindo o GenBank (banco de dados de ácidos nucleicos) e o PubMed (banco de dados de citações e resumos de publicações científicas) (SAYERS et al., 2021). O GenBank partilha com ENA (*European Nucleotide Archive*; <https://www.ebi.ac.uk/ena>) e DDBJ (*DNA Data Bank of Japan*; <http://www.ddbj.nig.ac.jp>) como parceiros do INSDC (*International Nucleotide Sequence Database Collaboration*; <http://www.insdc.org/>) (SAYERS et al., 2019).

Uma das facilidades do NCBI é o Entrez, um sistema de recuperação das informações depositadas em 34 bancos de dados do GenBank, como *Nucleotide* (sequências de DNA e RNA), *Assembly* (informações de montagem de genomas), *Sequence Read Archive* (SRA; permite o armazenamento, recuperação e análise de dados de sequenciamento de nova geração) e *Protein* (sequências de proteínas) (SAYERS et al., 2021). Entre as informações disponíveis pelo NCBI, encontra-se dados genômicos de diversas espécies, incluindo procariotos, eucariotos e vírus. Em relação a feijão-caupi, existem três projetos, dos quais um tem a representação genômica total, a nível cromossômico.

O Phytozome é um portal de genômica comparativa de plantas do JGI (*Joint Genome Institute*), que fornece a comunidade científica o acesso, a visualização e análise de genomas de plantas sequenciados pelo JGI e outras instituições (GOODSTEIN et al., 2012). Entre as suas ferramentas, o PhytoMine permite o acesso a dados baseado em uma sequência de busca (*query*), fornecendo a recuperação de informações, como anotação, termos GO (*Gene Ontology*), genes homólogos e expressão. O Phytozome v13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) abriga genomas de algas vermelhas (Rhodophyta) e Viridiplantae, inclusive genomas montados de sete acessos de feijão-caupi (IT97K-499-35, CB5-2, Suvita2, Sanzi, UCR779, TZ30 e ZN016), a maioria com restrições de uso.

O LIS é um portal de dados genômicos para leguminosas, fornecendo acesso a informações genéticas das principais culturas e espécies modelos de leguminosas, como soja, feijão-caupi, feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), grão-de-bico e *M. truncatula*. Tal banco de dados fornece ferramentas para acesso e exploração de genomas, mapas genéticos, sintenia, dados de expressão, famílias gênicas e filogenia (DASH et al., 2016; BERENDZEN et al., 2021).

O KEGG é um dos bancos de dados mais utilizados para a interpretação biológica de sequências provenientes do genoma e de outros dados de alto rendimento. Tal recurso possui curadoria manual e integra 18 bancos de dados categorizados em informações de sistemas (interação molecular e reações), genômicas (genes e proteínas), químicas (substâncias químicas e reações) e de saúde (doenças humanas e drogas). O KEGG PATHWAY consiste em uma coleção de mapas de vias manualmente desenhadas, categorizadas em metabolismo (*Metabolism*), processamento de informação genética (*Genetic information processing*), processamento de informação ambiental (*Environmental information processing*), processos celulares (*Cellular processes*), sistemas do organismo (*Organismal systems*), doenças humanas (*Human diseases*) e desenvolvimento de medicamentos (*Drug development*) (KANEHISA et al., 2021).

3.6.2 Alinhamento de sequências

O alinhamento de sequências, um processo fundamental para bioinformática, compara duas ou mais sequências de ácidos nucleicos ou proteínas, de modo a identificar regiões de similaridade. Tal procedimento é fundamental na análise de genes e genomas, inferências filogenéticas, predição de estrutura e função de macromoléculas, particularmente RNA e proteínas, e identificação de sequências (JUNQUEIRA; BRAUN; VERLI, 2014).

Quanto a sua extensão, pode ser dividido em global e local (AYO et al., 2020). O primeiro considera toda a extensão da sequência para encontrar um padrão semelhante, enquanto o segundo busca regiões da sequência altamente similares (FRITH, 2020). Quanto ao número de sequências, é classificado em par-a-par e múltiplo. O primeiro encontra elementos comuns entre duas sequências, assim, especifica a relação de similaridade entre elas, enquanto o segundo inclui mais de duas sequências, sendo frequentemente aplicado para identificar similaridade estrutural, motivo regulatório comum, região conservada em um grupo de sequências para estabelecer relação evolutiva e montagem de dados provenientes do NGS (BAICHOO; OUZOUNIS, 2017).

No processo de alinhamento, as sequências são ordenadas em linhas e os caracteres compõem as colunas. Desta forma, os algoritmos buscarão a melhor correspondência entre as sequências alinhadas, permitindo a criação *gaps*

(lacunas), indicando possíveis eventos de inserção ou deleção (JAFARZADEH; IRANMANESH, 2020).

Uma sequência pode ser alinhada a várias sequências de um banco de dados. Assim, um sistema de pontuação foi criado para indicar o melhor alinhamento para cada sequência. Em tal sistema, *matches* (caracteres idênticos) e *mismatches* (caracteres diferentes) recebem pontuações positivas e negativas, respectivamente, e os *gaps* são penalizados (JUNQUEIRA; BRAUN; VERLI, 2014).

3.6.2.1 *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

O BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) é uma ferramenta de bioinformática mais amplamente utilizada para a rápida pesquisa de similaridade entre sequências de ácidos nucleicos ou proteínas (YIM; CUSHMAN, 2017). Tal ferramenta encontra regiões de correspondências curtas entre as duas sequências biológicas, tenta estender o alinhamento a partir desses pontos e fornece a significância estatística dele (YE; MCGINNIS; MADDEN, 2006).

Diferentes tipos de BLAST estão disponíveis e a escolha depende do objetivo e do tipo de sequência utilizada. O BLASTn e o BLASTp são utilizados para alinhar sequências de nucleotídeos e proteínas, respectivamente. O BLASTx compara uma sequência nucleotídica traduzida contra um banco de dados de proteínas. O tBLASTn alinha uma sequência de proteínas contra um banco de nucleotídeos traduzido (DONKOR; DAYIE; ADIKU, 2014).

A significância e a acurácia dos alinhamentos são mensuradas por vários parâmetros, incluindo *e-value*, *score*, identidade e cobertura do alinhamento. O *e-value* revela a probabilidade da sequência de interesse (*query*) ter alinhado ao acaso com as sequências do banco de dados (*subject*). Desta forma, quando mais próximos de zero, mais significativos são alinhamentos. O *score* depende da quantidade de *matches*, *mismatches* e *gaps* encontrados no alinhamento das sequências. A identidade refere-se a porcentagem de nucleotídeos ou aminoácidos idênticos no alinhamento.

3.7 ÔMICAS

O desenvolvimento das tecnologias que permitiram a abordagem das moléculas biológicas, como ácidos nucleicos, proteínas e metabólitos, em larga escala revolucionaram as ciências biológicas, dando início a um novo campo de estudos, a era das ômicas (RAUPACH et al., 2016). A adição da palavra ômica a um

termo molecular refere-se a uma análise global de um conjunto de moléculas de uma célula, tecido ou organismo (HASIN; SELDIN; LUSIS, 2017).

Atualmente, existem vários tipos de ômicas, incluindo genômica (estudo da sequência do genoma e das informações contidas nele), transcriptômica (fornece informações sobre a presença e a abundância relativa de RNAs), proteômica (identifica e quantifica os níveis de cada proteína codificada pelo genoma), metabolômica (estuda a dinâmica dos metabólitos em resposta a uma perturbação genética ou estímulo ambiental), entre outras (JOYCE; PALSSON, 2006).

3.7.1 Transcriptômica

A transcriptômica aborda os padrões de expressão dos RNAs de uma célula para uma condição fisiológica ou estágio de desenvolvimento específico, refletindo, assim, os genes ativamente expressos. Dessa forma, tal ômica é poderosa para a compreensão dos elementos funcionais do genoma (EMON, 2016), sendo amplamente utilizada para o desvendamento das redes moleculares associadas a estresses bióticos e abióticos, que são os principais fatores limitantes da produtividade das culturas (ATKINSON et al., 2015).

A identificação dos produtos gênicos funcionais determinantes do fenótipo é de suma importância para o melhoramento genético dos vegetais, uma vez que reduz o tempo e os gastos para a obtenção de culturas tolerantes e resistentes a estresses e, conseqüentemente, mais produtivas, bem como de alimentos de melhor qualidade em relação ao sabor, composição nutricional, entre outros (EMON, 2016).

A transcriptômica possui como objetivos principais a catalogação de todas as espécies de transcritos, incluindo mRNAs, RNAs não codificantes e pequenos RNAs, determinar a estrutura transcricional dos genes, em relação aos sítios de início, extremidades 5' e 3' e padrão de *splicing*, e quantificar mudanças nos níveis de expressão dos transcritos durante o desenvolvimento e sob diversas condições ambientais (WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009).

Nessa ômica, uma das tecnologias mais utilizadas para a obtenção de um mapa geral de transcrição de um tecido específico em plantas é o sequenciamento de RNA (RNA-Seq; NAGALAKSHMI et al., 2008; SUDHEESH et al., 2015).

3.7.1.1 RNA-Seq

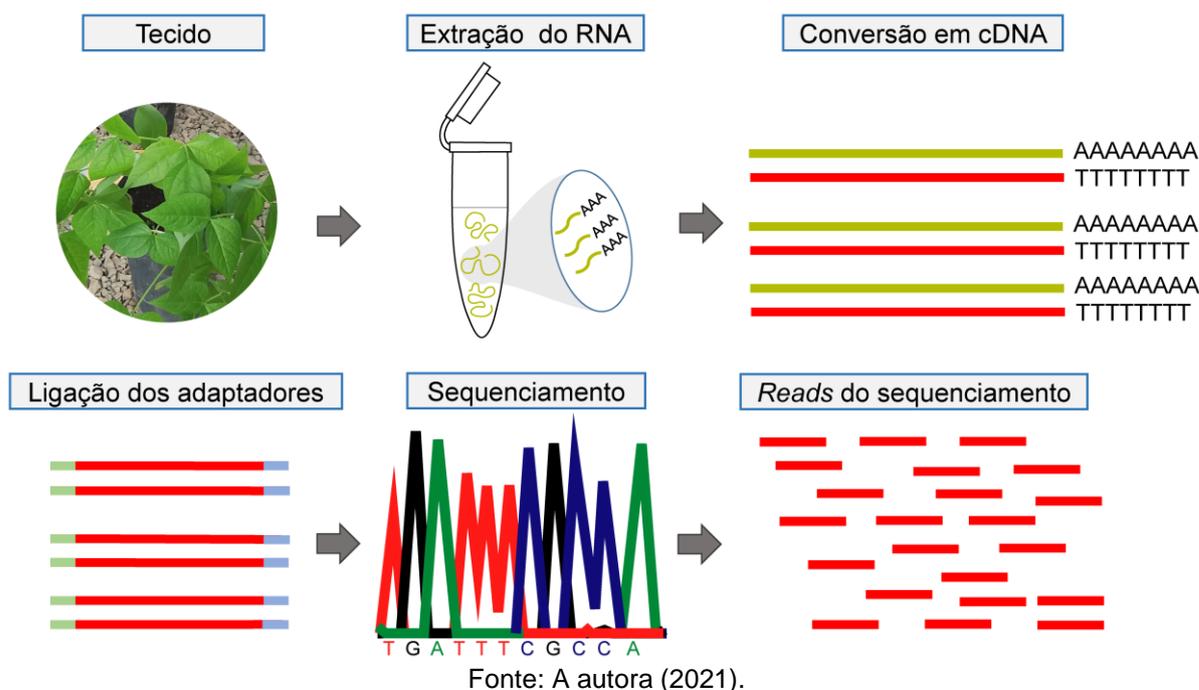
O RNA-Seq é método de sequenciamento de alto rendimento e de arquitetura aberta (WANG et al., 2019). Essa técnica tem sido o método padrão para estimar e

comparar níveis de expressão de transcritos em uma grande diversidade de espécies e condições (PERTEA et al., 2016). Ela possibilita a mensuração da expressão de milhares de genes e fornece informações sobre vias funcionais e redes regulatórias nos sistemas biológicos (ZHAO et al., 2018).

A referida tecnologia é eficaz para o estudo dos padrões de expressão global de espécies de genomas grandes e complexos (DAVIDSON et al., 2011), possuindo como vantagens a identificação, caracterização e quantificação de transcritos novos e de transcritos em baixa abundância, pode determinar a localização precisa dos transcritos no genoma, com uma resolução de base única, permitindo a detecção de SNIPs (polimorfismos de nucleotídeo único), tem alta reprodutibilidade para replicatas técnicas e biológicas e custo relativamente baixo (COSTA et al., 2010; WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009).

Uma etapa importante do experimento de RNA-Seq é a extração de RNA. As células possuem uma grande quantidade de RNA ribossômico, cerca de 90% do RNA total, e o mRNA, geralmente as moléculas de interesse, constitui de 1 a 2%. Dessa forma, é necessário isolá-lo a partir do RNA total, o qual é geralmente realizado pela cauda poli (A) (CONESA et al., 2016). O mRNA extraído deve ter qualidade adequada para a geração de uma biblioteca de sequenciamento. A integridade do RNA é frequentemente analisada no Agilent Bioanalyzer, que gera o número de integridade do RNA (RIN) entre 1 e 10, sendo considerado de baixa qualidade aquele com $RIN < 6$. RNA com baixa qualidade afeta consideravelmente os resultados do sequenciamento, como cobertura (número de vezes que uma base específica é sequenciada), levando a conclusões biológicas errôneas. Após o isolamento do RNA, é necessário convertê-lo em DNA complementar (cDNA), que é fragmentado e ligado a adaptadores para amplificação e sequenciamento. Ultimamente, uma das plataformas de NGS frequentemente aplicadas ao RNA-Seq é a Illumina HiSeq (Figura 12) (KUKURBA; MONTGOMERY, 2015).

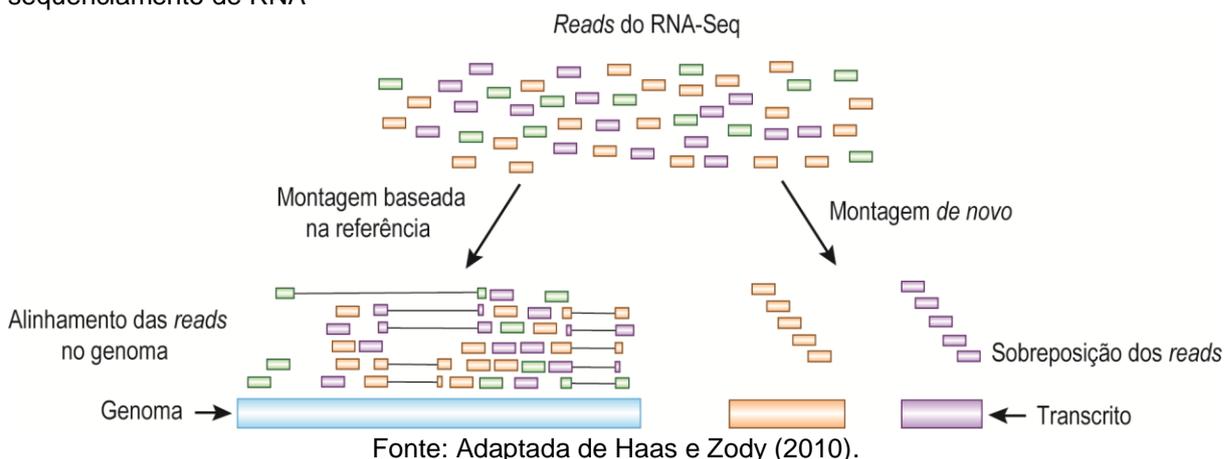
Figura 12 - Etapas básicas de um experimento de sequenciamento de RNA.



As milhões de *reads* geradas pelo sequenciamento são submetidas a análise de qualidade (GENIZA; JAISWAL, 2017). Os parâmetros comuns a serem analisados incluem o número total de *reads* sequenciadas, conteúdo GC e o *score* de qualidade da base, dado em Phred, que mensura a probabilidade de uma base estar incorreta (SHENG et al., 2017). Durante o pré-processamento, as sequências de baixa qualidade e os adaptadores são removidos (WILLIAMS et al., 2016).

As *reads* podem ser montadas com base na referência ou *de novo*. Na abordagem por referência, as *reads* são alinhadas a um genoma e, portanto, é inadequada para espécies com genoma de referência faltante ou parcial (GRABHERR et al., 2011; YANG et al., 2019). A estratégia de montagem *de novo* não utiliza genoma de referência, aproveitando-se da redundância das *reads* para encontrar locais de sobreposição entre elas e, assim, montá-las em transcritos (Figura 13) (MARTIN; WANG, 2011; KOVAKA et al., 2019). Após a montagem, realiza-se a quantificação dos níveis de expressão de cada gene ou transcrito. A abundância dos transcritos ou genes é geralmente expressa como FPKM (*fragments per kilobase of transcript per million mapped reads*), uma normalização que permite a comparação da expressão dos transcritos entre amostras (SIMS et al., 2014). O cálculo da expressão diferencial é realizado por vários métodos estatísticos, por exemplo, EdgeR (ROBINSON; MCCARTHY; SMYTH, 2010).

Figura 13 - Alternativas para a reconstrução dos transcritos a partir das *reads* provenientes do sequenciamento de RNA



Os dados provenientes de tecnologias de alto rendimento necessitam de validação por um segundo método. Nesse sentido, a reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR) é considerada a técnica padrão ouro para mensuração rápida, precisa e sensível da expressão gênica (FOQUET; SONG, 2020). Ela proporciona a quantificação dos produtos gerados ao longo da reação de amplificação por meio da detecção de fluorescência emitida por fluoróforos. A correlação linear entre os produtos amplificados e a intensidade da fluorescência é utilizada para calcular a quantidade de ácidos nucleicos alvos presentes na amostra (TUOMI et al., 2010).

Nos últimos anos, grandes esforços na área das ômicas vêm sendo realizados para o feijão-caupi, devido a sua importância socioeconômica (SINDHU et al., 2019). No Brasil, o *Cowpea Genomics Consortium* (CpGC) conta com transcriptomas, gerados via RNA-Seq, de resposta de feijão-caupi a estresses abióticos e bióticos, incluindo desidratação radicular e injúria mecânica seguida de inoculação viral, visando a identificação de genes úteis para seu melhoramento genético (JESÚS-PIRES et al., 2019; FERREIRA-NETO et al., 2021). Em relação ao estudo de enzimas das vias de metabólitos secundários em feijão-caupi utilizando tecnologias de alto rendimento, há poucos estudos evidenciando a resposta de genes pontuais (HUANG et al., 2012). Dessa forma, este estudo visa realizar a primeira abordagem global da modulação da expressão de transcritos da via dos fenilpropanoides e derivados, incluindo flavonoides e isoflavonoides, em resposta a injúria e infecção viral.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ARTIGO 1

Análise do transcriptoma de fenilpropanoides e derivados em plantas de feijão-caupi inoculadas com *Cowpea aphid-borne mosaic virus*

Resumo

Nas regiões tropicais e subtropicais, o feijão-caupi é uma importante fonte de proteína para reduzir a insegurança alimentar. No entanto, sua produção é comprometida devido aos estresses abióticos e bióticos. Entre os vírus, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) é considerado um dos principais patógenos de feijão-caupi. Em tal situação, os metabólitos secundários, incluindo fenilpropanoides, flavonoides e isoflavonoides, são relevantes para promover a resistência das plantas. Este estudo realizou a primeira análise global de componentes da via de biossíntese dos fenilpropanoides, seus precursores (das vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina) e também das vias de biossíntese de flavonoides e isoflavonoides no transcriptoma do tecido foliar de genótipo resistente de feijão-caupi após 1 hora (h) e 16 h da injúria seguida da inoculação de CABMV. Assim, 967 transcritos foram identificados, codificando enzimas das vias precursoras e das vias de biossíntese. Desse total, 65 transcritos foram diferencialmente expressos (DE), a maioria (54) induzidos na primeira hora de exposição à injúria e à inoculação de CABMV. Ortólogos dos genes de feijão-caupi associados aos componentes das vias estudadas em *Vigna angularis*, *V. radiata*, *Phaseolus vulgaris* e *Glycine max* (tribo Phaseolae) mostraram um conjunto de genes conservados na tribo Phaseolae. Além disso, 11 transcritos DE em 1 h após a injúria e a inoculação viral foram avaliados por qPCR, sendo que a maioria deles (81,8%) confirmou a indução na primeira hora após o estímulo. Com relação aos fatores de transcrição (FTs) provavelmente regulando genes associados a transcritos DE, a maioria dos FTs enriquecidos das famílias WRKY, MYB, bHLH e TCP poderiam ser bons candidatos a transgenes. Este estudo contribui para o entendimento da resposta molecular do feijão-caupi à injúria/inoculação de CABMV, auxiliando os seus programas de melhoramento a melhorar a tolerância das plantas aos estresses bióticos.

Palavras-chave: Estresse Biótico; Fabaceae; RNA-Seq; Bioinformática.

Introdução

Estresses bióticos e abióticos afetam adversamente o desenvolvimento das culturas, reduzindo a qualidade e a produtividade (PANDEY et al., 2017). Tais fatores limitantes do crescimento e desenvolvimento vegetal ameaçam a segurança alimentar e, assim, medidas de mitigação dos seus efeitos nas plantas são necessárias para garantir a sustentabilidade da produção agrícola (HE; LI, 2020).

A injúria é um estresse comum nos vegetais, sendo desencadeado por fatores abióticos, por exemplo, granizo, e interações bióticas, como insetos (SÖZEN et al., 2020). Tal fator adverso compromete a primeira barreira de proteção das plantas, sendo a porta de entrada para diversos patógenos, como vírus e bactérias, que competem por energia e nutrientes, afetando significativamente o seu metabolismo e desenvolvimento (SAVATIN et al., 2014).

Entre os estresses bióticos, as infecções virais produzem além de lesões locais, danos sistêmicos que levam a clorose, retardo do crescimento e malformações nas diferentes partes dos vegetais (GIMENEZ; SALINAS; MANZANO-AGUGLIARO, 2018). Por sua vez, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), vírus de RNA de fita simples positiva, pertencente à família *Potyviridae*, gênero *Potyvirus*, limita o rendimento de espécies economicamente importantes (CRUZ; ARAGÃO, 2014).

A exposição dos vegetais a estresses combinados resulta em respostas moleculares únicas, não mensuráveis pela exposição das plantas a fatores adversos individuais (PANDEY; RAMEGOWDA; SENTHIL-KUMAR, 2015; ZANDALINAS; FRITSCHI; MITTLER, 2020). Assim, torna-se importante a compreensão das vias moleculares em resposta aos estresses simultâneos, especialmente em tempos de mudanças climáticas, para o desenvolvimento de plantas mais produtivas em diferentes cenários ambientais (ZANDALINAS; FRITSCHI; MITTLER, 2020).

A percepção da injúria e da infecção pelas plantas leva à reprogramação de seu metabolismo, com a produção de compostos relacionados à regeneração dos tecidos danificados e à prevenção da colonização do patógeno no corpo da planta (DURIAN et al., 2016; SÖZEN et al., 2020). Nesse processo, os fenilpropanoides e seus derivados, incluindo flavonoides e isoflavonoides, desempenham papéis importantes, fornecendo barreiras físicas (monômeros de lignina) e defesas químicas, algumas delas envolvendo fitoalexinas e fitoanticipinas (DONG; LIN, 2020). Estudos têm mostrado a modulação transcricional dessas vias em resposta a

vírus (CHEN et al., 2021; HANSSEN et al., 2011) e injúria (SHEN et al., 2019; TORRES-CONTRERA et al., 2018), e também o envolvimento de suas enzimas no processo de resistência a patógenos (DUAN et al., 2014; WANG et al., 2018; ZHANG et al., 2020).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma das leguminosas mais versáteis e resilientes, podendo crescer em regiões mais quentes e secas, como a do semiárido brasileiro (CARVALHO et al., 2017; MUÑOZ-AMATRIAÍN et al., 2017). Tal leguminosa colabora para a melhoria da fertilidade do solo e sustentabilidade dos sistemas de cultivo pela fixação de nitrogênio atmosférico (MUÑOZ-AMATRIAÍN et al., 2017; KYEI-BOAHEN et al., 2017). A cultura é uma importante fonte de proteínas, sendo uma espécie essencial para a segurança nutricional nas comunidades agrícolas ao redor do mundo (SPRIGGS et al., 2018). Entretanto, a produtividade do feijão-caupi ainda é baixa devido a fatores ambientais adversos, inclusive às infecções virais por CABMV (BOUKAR et al., 2019).

Portanto, o estudo dos mecanismos moleculares associados a resistência em feijão-caupi ao vírus é fundamental para o desenvolvimento de alternativas tecnológicas para os programas de melhoramento. Porém, o transcriptoma da cultura ainda é pouco explorado (CHEN et al., 2017), inclusive com ausência de dados referentes ao comportamento transcricional da espécie em resposta à injúria e patógenos, com ênfase aos metabólitos secundários. Assim, o presente estudo objetivou identificar transcritos associados ao metabolismo de fenilpropanoides e derivados e analisar o perfil transcricional do tecido foliar de feijão-caupi após a injúria e a inoculação de CABMV.

Materiais e Métodos

Origem dos dados RNA-Seq

As informações do ensaio RNA-Seq e da montagem do transcriptoma estão disponíveis em Ferreira-Neto et al. (2021). Neste estudo, utilizou-se os dados das 12 bibliotecas do ensaio de injúria mecânica seguida da inoculação de CABMV. Brevemente, as folhas de genótipo IT85F-2687 de feijão-caupi resistente ao CABMV (OLIVEIRA et al., 2012) foram injuriadas com carborundum (carbeto de silício) e, em seguida, inoculadas com o CABMV. As folhas foram coletadas após 1 hora (h) e 16

h da aplicação do estresse e mantidas em freezer a -80 °C até a extração de RNA total com o kit SV Total RNA Isolation System (Promega, Estados Unidos).

As amostras com alta integridade de RNA (RIN \geq 8) foram usadas para gerar as bibliotecas RNA-Seq. O sequenciamento foi realizado em plataforma Illumina HiSeq[®] 2500 (*Paired-end* 100 bp) no Centro de Genômica Funcional da Universidade de São Paulo (Piracicaba, Brasil). As reads foram avaliadas quanto a qualidade e aquelas de alta qualidade (Phred \geq 30) foram montadas *de novo* com o projeto GenPipes (BOURGEY et al., 2019). As métricas do RNA-Seq foram relatadas anteriormente por Ferreira-Neto et al. (2021).

Expressão diferencial dos transcritos

A análise da expressão diferencial dos transcritos realizada pela ferramenta edgeR (ROBINSON; MCCARTHY; SMYTH, 2010) refletiu os efeitos decorrentes da ação combinada de injúria mecânica e inoculação viral. Os transcritos com valor de *p-value* \leq 0,001, taxa de falsa descoberta (FDR) \leq 0,05 e $\text{Log}_2\text{FC} \geq 1$ (UR, *up-regulated*) ou $\text{Log}_2\text{FC} \leq -1$ (DR, *down-regulated*) foram consideradas diferencialmente expressos. Os transcritos diferencialmente expressos (DE) foram hierarquicamente agrupados, com base nos valores Log_2FC , usando o programa Cluster 3.0. A visualização do heatmap ocorreu por meio do programa Java Treeview (SALDANHA, 2004).

Anotação funcional dos transcritos

Os mapas metabólitos de *V. unguiculata* da base de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway* (<https://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>) compreenderam: '*phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis*' [vun00400, *shikimate pathway* (M00022), *phenylalanine biosynthesis* (M00024 e M00910), *tyrosine biosynthesis* (M00025 e M00040)], '*phenylpropanoid biosynthesis*' (vun00940), '*Flavonoid biosynthesis*' (vun00941) e '*Isoflavonoid biosynthesis*' (vun00943). Os transcritos identificados nas vias mencionadas (Tabela S1) foram obtidas do banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Os transcritos foram anotados via BLASTn (*e-value* $\leq 1e^{-20}$) contra o transcriptoma putativo de feijão-caupi (NCBI, GCF_004118075.1_ASM411807v1_rna.fna.gz). Com base em *best hits* recuperou-se os transcritos alinhados com aqueles codificadores das enzimas estudadas.

Frames de leituras previstas para os transcritos identificados usando o BioEdit (HALL, 1999) foram definidas via BLASTp ($e\text{-value} \leq 1e^{-10}$) contra o proteoma putativo de feijão-caupi. As proteínas preditas tiveram potenciais domínios conservados identificados com a ferramenta HMMER (POTTER et al., 2018), reforçando a anotação da sequência.

Análise de ortologia

A ferramenta orthovenn (XU et al., 2019) foi utilizada para pesquisar ortólogos dos genes das vias estudadas em quatro leguminosas da tribo Phaseolae, aplicando-se o $e\text{-value}$ de $1e^{-15}$ e os proteomas de referência (RefSeq) de soja (*Glycine max*; montagem GCF_000004515.6), feijão comum (*Phaseolus vulgaris*; montagem GCF_000499845.1), *Vigna radiata* (montagem GCF_000741045.1) e *Vigna angularis* (montagem GCF_001190045.1).

Predição de sítios de ligação a fatores de transcrição nos promotores

Regiões promotoras (1500 pb anterior a base +1) dos genes participantes das vias estudadas foram extraídas via TBtools (CHEN et al., 2020). Esses promotores foram avaliados na plataforma *online* PlantRegMap (TIAN et al., 2020), utilizando a ferramenta 'Binding Site Prediction' ($p\text{-value} \leq 1e^{-5}$) para identificar potenciais sítios de ligação a fatores de transcrição (FTs). Adicionalmente, através da ferramenta 'Regulation Prediction', FTs super-representados foram identificados comparando as interações previstas para os alvos (genes com transcritos UR) com os dados de *background* de *Vigna angularis*, espécie evolutivamente próxima, em decorrência da ausência de dados para a espécie analisada na respectiva plataforma.

Validação da expressão por qPCR

Com base na expressão *in silico*, 11 transcritos foram selecionados para validação da expressão por qPCR (Tabela S2), usando três repetições biológicas e técnicas por amostra, reforçando a confiabilidade estatística do processo. Os pares de *primers* propostos foram desenhados com a ferramenta *online* Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>), seguindo os seguintes parâmetros: temperatura de *melting* de 58 a 62 ° C (ótimo de 60 °C), tamanho do *primer* de 20 a 24 pb (ótimo de 22 pb), conteúdo GC entre 45 e 55% (ótimo de 50%) e tamanho do amplicon de 80 a 150 pb. A eficiência de amplificação ($E = 10^{(-1/\text{slope})-1}$) dos pares de primers foi determinada a partir de curva padrão de cinco pontos gerada por diluições seriadas de cDNAs, em triplicatas técnicas. *Primers* com eficiências de amplificação entre

90% e 110% foram aceitos. Para a normalização dos dados de qPCR foram usados os genes de referência β -TUB (AMORIM et al., 2018) e UBQ10 (AMORIM et al., 2018; FERREIRA-NETO et al., 2021).

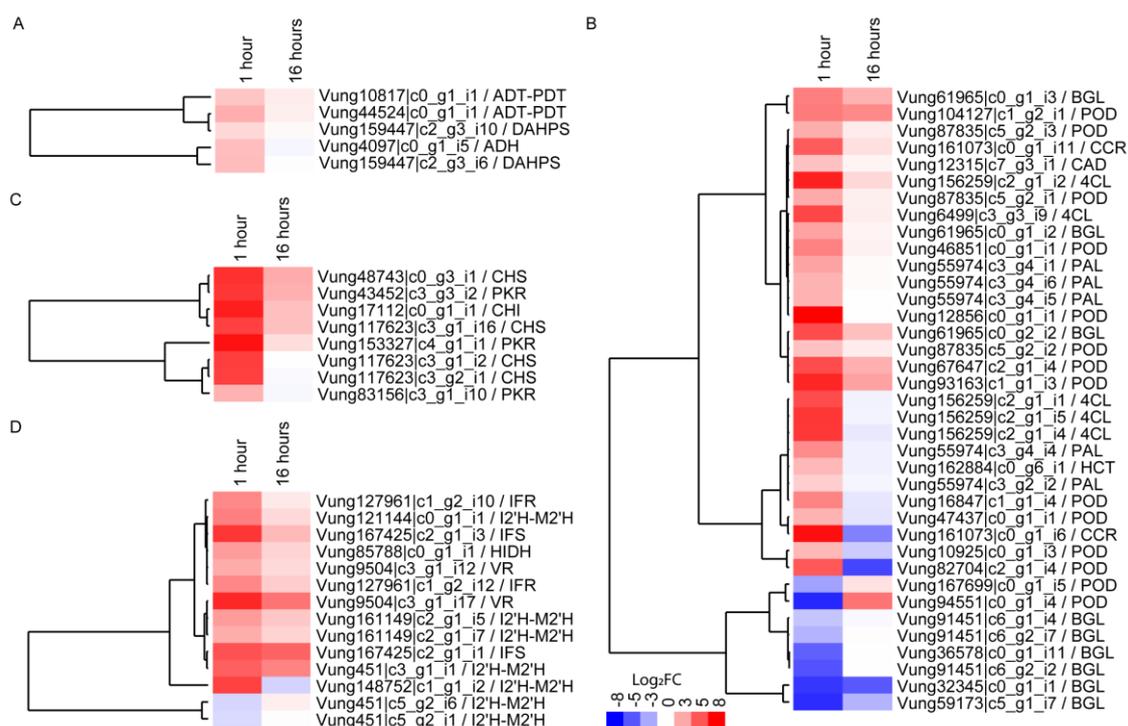
As reações de qPCR foram realizadas em termociclador LineGene 9660 (Bioer, Bioer, Hangzhou, China), com volume final de 10 μ L, contendo: 1 μ L de cDNA 10x diluído, 5 μ L de SYBR Green (GoTaq® qPCR Master Mix, Promega), 0,3 μ L de cada *primer* e 3,4 μ L de água livre de nucleases. A ciclagem da PCR consistiu em uma desnaturação inicial a 95 °C durante 2 minutos, seguido por 40 ciclos de 95 °C durante 15 segundos e 60 °C durante 60 segundos. Após as amplificações, foram produzidas curvas de dissociação (60-95 °C) para confirmar a especificidade dos amplicons obtidos na qPCR. O software *Relative Expression Software Tool* (REST 2009 v.2.0.13, PFAFFL; HORGAN; DEMPFLER, 2002) foi usado para análise de expressão relativa dos genes alvos, utilizando a randomização e *bootstrapping* de 10000 interações. Testes de hipótese ($p < 0,05$) determinaram se as diferenças na expressão dos genes alvos nas condições controle e após tratamento foram significativas.

Resultados

Perfil de expressão dos transcritos associados com fenilpropanoides e seus derivados em feijão-caupi após injúria e inoculação viral

Um total de 967 transcritos putativos codificadores de enzimas das vias metabólicas estudadas foram identificados, sendo: 146 das vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina (aqui denominada como via precursora), 652 da via de biossíntese de fenilpropanoides, 96 da via de biossíntese de flavonoides, e 73 de via de biossíntese de isoflavonoides. Desse total, 65 foram transcritos DE (p -value $\leq 0,001$ e FDR $\leq 0,05$), sendo 55 UR ($\text{Log}_2\text{FC} > 1$) e 10 DR ($\text{Log}_2\text{FC} < -1$). Tais transcritos foram distribuídos na via precursora (5 UR) e nas vias de biossíntese [fenilpropanoides (30 UR e 8 DR), flavonoides (8 UR) e isoflavonoides (12 UR e 2 DR)]. A maioria dos transcritos DE (64) tiveram a expressão modulada na primeira hora após a injúria e inoculação de CABMV (Figura 1 e Tabela S3).

Figura 1 - Heatmap mostrando a clusterização dos perfis de expressão de transcritos diferencialmente expressos em folhas de feijão-caupi 1 hora após injúria e infecção viral (CABMV), em comparação aos respectivos valores de expressão após 16 h do tratamento. Transcritos representam componentes de diferentes vias: A) vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina; B) via dos fenilpropanoides; C) via dos flavonoides; D) via dos isoflavonoides. As cores vermelha e azul indicam *up-regulation* e *down-regulation*, respectivamente, com base em $p\text{-value} \leq 0,001$, taxa de falsas descobertas (FDR) $\leq 0,05$ e $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) ≥ 1 ou ≤ -1 . DAHPS (EC 2.5.1.54, 3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase); ADT-PDT (EC 4.2.1.91 4.2.1.51, arogenate/prephenate dehydratase); ADH (EC 1.3.1.78, arogenate dehydrogenase); PAL (EC 4.3.1.24, phenylalanine ammonia-lyase); 4CL (EC 6.2.1.12, 4-coumarate-CoA ligase); HCT (EC 2.3.1.133, shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase); CCR (EC 1.2.1.44, cinnamoyl-CoA reductase); CAD (EC 1.1.1.195, cinnamyl-alcohol dehydrogenase); POD (EC 1.11.1.7, peroxidase); BGL (EC 3.2.1.21, beta-glucosidase); CHS (EC 2.3.1.74, chalcone synthase); PKR (EC 2.3.1.170, polyketide reductase); CHI (EC 5.5.1.6, chalcone isomerase); IFS (EC 1.14.14.87, 2-hydroxyisoflavanone synthase); I2'H-M2'H (EC 1.14.14.90 1.14.14.89, isoflavone/4'-methoxyisoflavone 2'-hydroxylase); HIDH (EC 4.2.1.105, 2-hydroxyisoflavanone dehydratase); IFR (EC 1.3.1.45, 2'-hydroxyisoflavone reductase); VR (1.1.1.348, vestitone reductase).

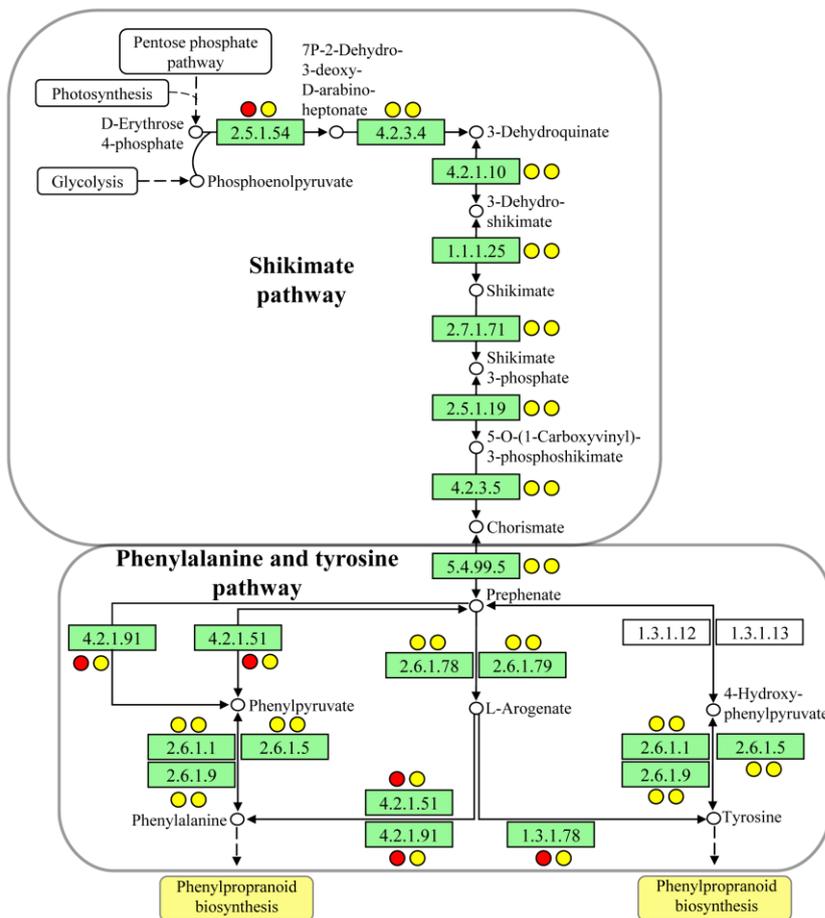


Perfil transcricional das enzimas das vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina

Nesse conjunto compreendendo a via precursora, os transcritos codificaram 13 enzimas, e alguns deles codificando as enzimas 3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase (DAHPS; EC 2.5.1.54), arogenate/prephenate dehydratase (ADT-PDT; EC 4.2.1.91 4.2.1.51) e arogenate dehydrogenase (ADH; EC 1.3.1.78) foram considerados UR após 1 h a injúria e a inoculação de CABMV. Por sua vez, transcritos das enzimas 3-dehydroquinone synthase (DHQS; EC 4.2.3.4), 3-dehydroquinone dehydratase/shikimate dehydrogenase (DHD-SDH; EC 4.2.1.10

1.1.1.25), *shikimate kinase* (SK; EC 2.7.1.71), *3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase* (EPSPS; EC 2.5.1.19), *chorismate synthase* (CS; EC 4.2.3.5), *chorismate synthase* (CM; EC 5.4.99.5), *aspartate aminotransferase e glutamate/aspartate-prephenate aminotransferase* (AAT-PAT; EC 2.6.1.1 2.6.1.78 2.6.1.79), *aspartate aminotransferase* (AAT; EC 2.6.1.1), *tyrosine aminotransferase* (TAT; EC 2.6.1.5) e *histidinol-phosphate aminotransferase* (HPA) não tiveram a expressão modulada significativamente após injúria seguida da inoculação viral (Figura 2).

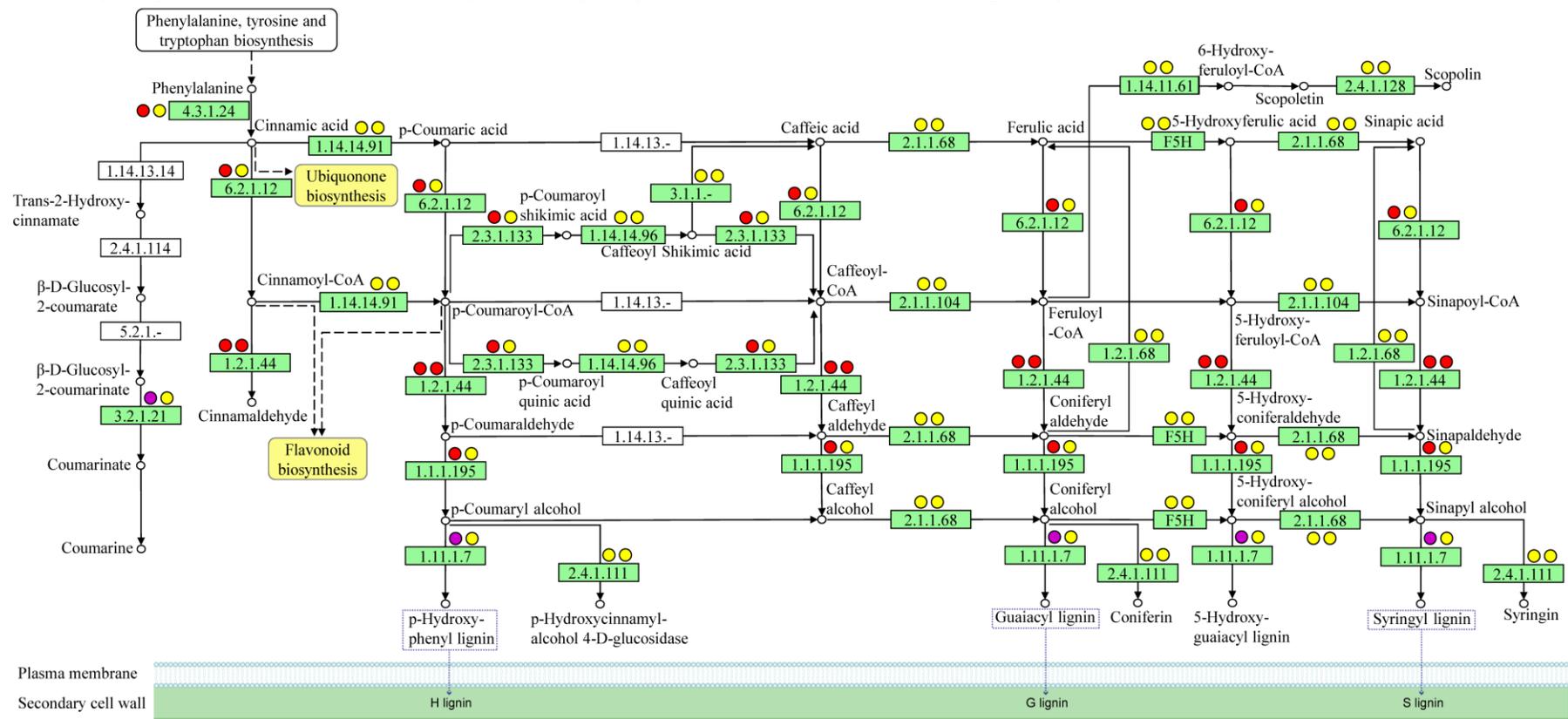
Figura 2 - Mapa das vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos nas folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) após a injúria e inoculação do CABMV (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*). As cores dos círculos a esquerda e a direita indicam a expressão dos transcritos, respectivamente, em 1 hora e 16 horas após a injúria e inoculação viral [vermelho, indução e amarelo, expressão não significativa, baseada no $p\text{-value} \leq 0,001$, taxa de falsa descoberta (FDR) $\leq 0,05$ e $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) ≥ 1 (indução) or ≤ -1 (repressão). Número EC (*Enzyme Commission Number*): 2.5.1.54, *3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase* (DAHPS); 4.2.3.4, *3-dehydroquinase synthase* (DHQS); 4.2.1.10 1.1.1.25, *3-dehydroquinase dehydratase/shikimate dehydrogenase* (DHD-SDH); 2.7.1.71, *shikimate kinase* (SK); 2.5.1.19, *3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase* (EPSPS); 4.2.3.5, *chorismate synthase* (CS); 5.4.99.5, *chorismate mutase* (CM); 4.2.1.91 4.2.1.51, *arogenate/prephenate dehydratase* (ADT-PDT); 2.6.1.1 2.6.1.78 2.6.1.79, *aspartate aminotransferase e glutamate/aspartate-prephenate aminotransferase* (AAT-PAT); 2.6.1.1, *aspartate aminotransferase* (AAT); 2.6.1.5, *tyrosine aminotransferase* (TAT); 2.6.1.9, *histidinol-phosphate aminotransferase* (HPA); 1.3.1.78, *arogenate dehydrogenase* (ADH).



Perfil transcricional das enzimas da biossíntese de fenilpropanoides

Considerando a via dos fenilpropanoides, os transcritos codificaram 17 enzimas. Transcritos UR após 1 h da injúria e inoculação viral codificaram *phenylalanine ammonia-lyase* (PAL; EC 4.3.1.24), *4-coumarate-CoA ligase* (4CL; EC 6.2.1.12), *shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase* (HCT; EC 2.3.1.133) e *cinnamyl-alcohol dehydrogenase* (CAD; EC 1.1.1.195). Por sua vez, transcritos UR em 1 h e 16 h após a injúria e inoculação viral codificaram *cinnamoyl-CoA reductase* (CCR; EC 1.2.1.44), enquanto transcritos UR e alguns DR codificaram *beta-glucosidase* (BGL; EC 3.2.1.21) e peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) em 1 h após a aplicação do estímulo. Os demais transcritos, codificadores de 10 enzimas, incluindo *trans-cinnamate 4 monooxygenase* (C4H; EC:1.14.14.91), *coumaroylquininate (coumaroylshikimate) 3'-monooxygenase* (C3'H; EC 1.14.14.96), *caffeoylshikimate esterase* (CSE; EC 3.1.1.-), *caffeic acid 3-O-methyltransferase* (COMT; EC 2.1.1.68), *coniferyl-aldehyde dehydrogenase* (CALDH; EC 1.2.1.68), *coniferyl-aldehyde dehydrogenase* (CCoAOMT; EC 2.1.1.104), *feruloyl-CoA 6-hydroxylase* (F6H; EC 1.14.11.61), *scopoletin glucosyltransferase* (SGT; EC 2.4.1.128), *ferulate-5-hydroxylase* (F5H; EC:1.14.-.-) e *coniferyl-alcohol glucosyltransferase* (CAGT; EC:2.4.1.111), foram detectados com expressão não significativa estatisticamente após a injúria/inoculação viral (Figura 3).

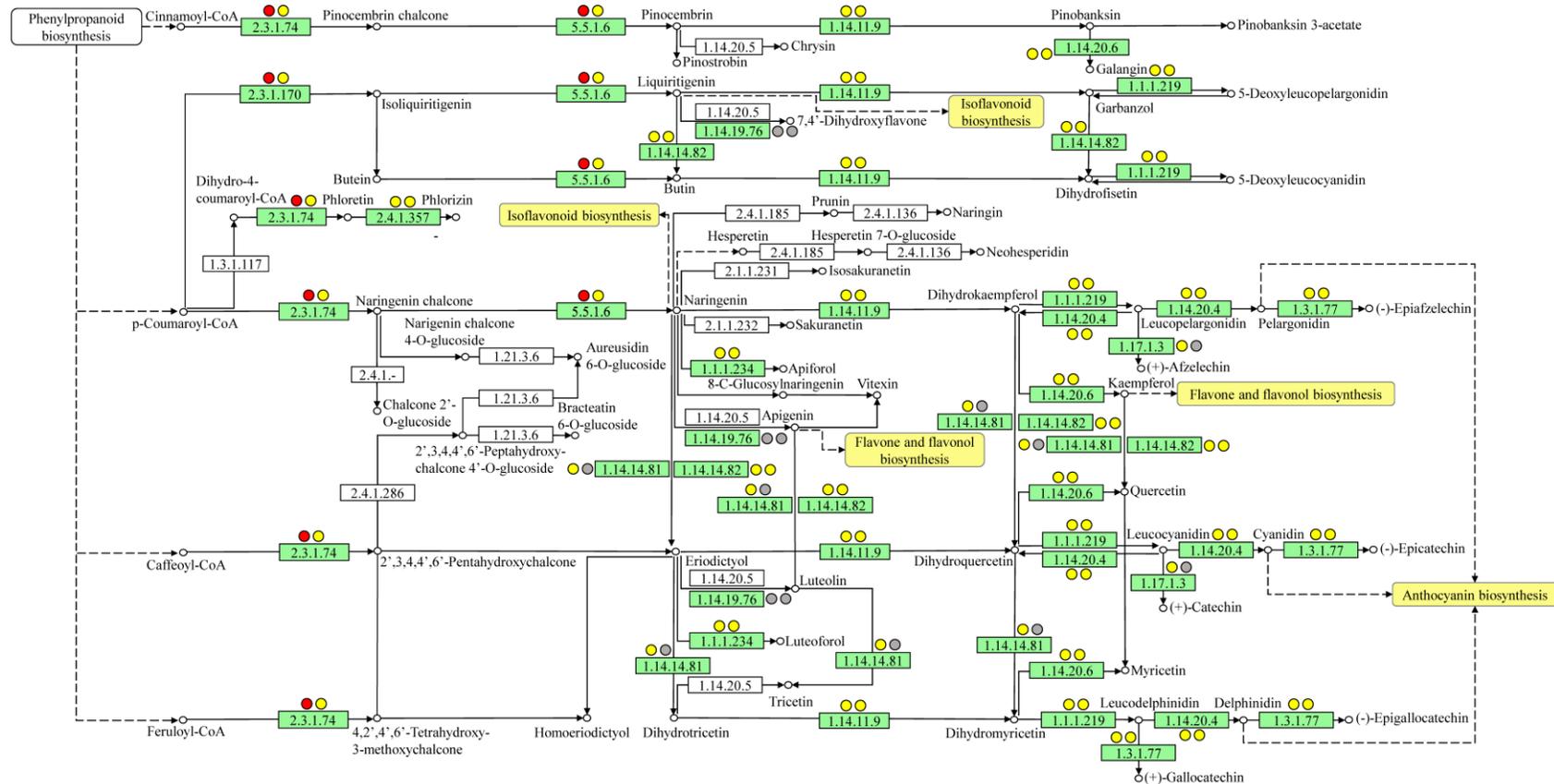
Figura 3 - Mapa da biossíntese de fenilpropanoides mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos em folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) após a injúria e inoculação de CABMV (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*). As cores dos círculos a esquerda e a direita indicam a expressão dos transcritos, respectivamente, em 1 hora e 16 horas após a injúria e inoculação viral [vermelho: indução; roxo: indução/repressão; amarelo, expressão não significativa, baseada no $p\text{-value} \leq 0,001$, taxa de falsa descoberta (FDR) $\leq 0,05$ e $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) ≥ 1 (indução) or ≤ -1 (repressão)]. Número EC (*Enzyme Commission Number*): 4.3.1.24, *phenylalanine ammonia-lyase* (PAL); 1.14.14.91, *trans-cinnamate 4-monooxygenase* (C4H); 6.2.1.12, *4-coumarate-CoA ligase* (4CL); 2.3.1.133, *shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase* (HCT); 1.14.14.96, *coumaroylshikimate (coumaroylshikimate) 3'-monooxygenase* (C3'H); 3.1.1.-, *caffeoylshikimate esterase* (CSE); 1.2.1.44, *cinnamoyl-CoA reductase* (CCR); 2.1.1.104, *caffeoyl-CoA O-methyltransferase* (CCoAOMT); 2.1.1.68 2.1.1.4, *caffeic acid 3-O-methyltransferase* (COMT); 1.2.1.68, *coniferyl-aldehyde dehydrogenase* (CALDH); 1.1.1.195, *cinnamyl-alcohol dehydrogenase* (CAD); 1.11.1.7, peroxidase (POD); 2.4.1.111, *coniferyl-alcohol glucosyltransferase* (CAGT); 3.2.1.21, *beta-glucosidase* (BGL); 1.14.-.-, *ferulate-5-hydroxylase* (F5H); 1.14.11.61, *feruloyl-CoA 6-hydroxylase* (F6H); 2.4.1.128, *scopoletin glucosyltransferase* (SGT).



Perfil transcricional das enzimas da biossíntese de flavonoides

Na via dos flavonoides, os transcritos codificaram 12 das 13 enzimas previstas. Transcritos UR após 1 h a injúria/inoculação viral codificaram as enzimas *chalcone synthase* (CHS; EC 2.3.1.74), *polyketide reductase* (PKR; EC 2.3.1.170), e *chalcone isomerase* (CHI; EC 5.5.1.6). Transcritos relacionados às enzimas *flavonoid 3',5'-hydroxylase* (F3',5'H; EC 1.14.14.81) e *leucoanthocyanidin reductase* (LAR; EC 1.17.1.3) foram detectados apenas em 1 h após a injúria/inoculação viral, com expressão não significativa estatisticamente. Adicionalmente, transcritos das enzimas *phlorizin synthase* (PGT; EC 2.4.1.357), *naringenin 3-dioxygenase* (F3H; EC 1.14.11.9), *flavonol synthase* (FLS; EC:1.14.20.6), *dihydroflavonol 4-reductase/flavanone 4-reductase* (DFR-FNR; EC 1.1.1.219 1.1.1.234), *anthocyanidin reductase* (ANR; EC 1.3.1.77), *anthocyanidin synthase* (ANS; EC 1.14.20.4) e *flavonoid 3'-monooxygenase* (F3'H; EC:1.14.14.82) foram detectados com expressão não significativa em ambos os tempos analisados após a injúria/inoculação viral (Figura 4).

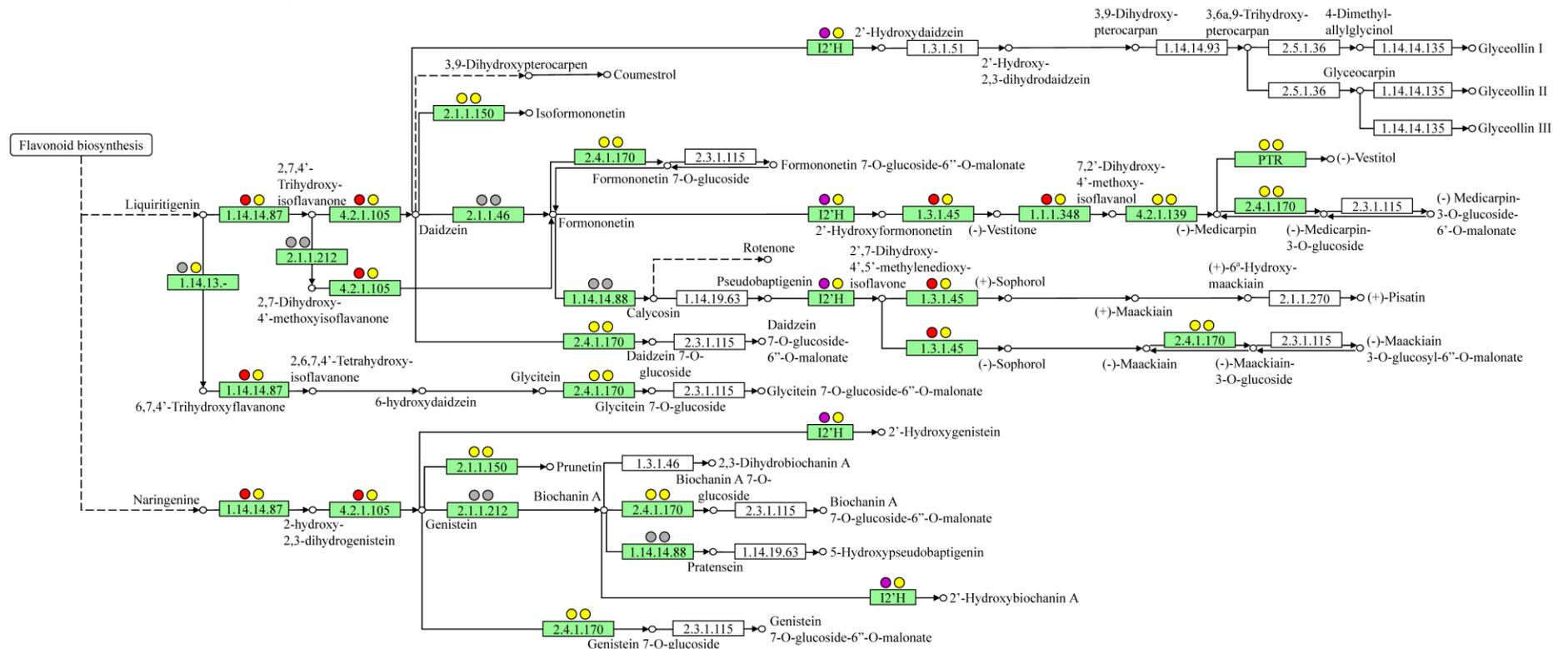
Figura 4 - Mapa da biossíntese de flavonoides mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos em folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) após a injúria e inoculação de CABMV (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*). As cores dos círculos a esquerda e a direita indicam a expressão dos transcritos, respectivamente, em 1 hora e 16 horas após a injúria e inoculação viral [vermelho: indução; cinza, não detectado; amarelo, expressão não significativa; baseada no p -value $\leq 0,001$, taxa de falsa descoberta (FDR) $\leq 0,05$ e $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) ≥ 1 (indução) or ≤ -1 (repressão)]. Número EC (*Enzyme Commission Number*): 2.3.1.74, *chalcone synthase* (CHS); 2.3.1.170, *polyketide reductase* (PKR); 2.4.1.357, *phlorizin synthase* (PGT); 5.5.1.6, *chalcone isomerase* (CHI); 1.14.14.81, *flavonoid 3',5'-hydroxylase* (F3',5'H); 1.14.14.82, *flavonoid 3'-monooxygenase* (F3'H); 1.1.1.219, 1.1.1.234, *dihydroflavonol 4-reductase/flavanone 4-reductase* (DFR-FNR); 1.14.11.9, *naringenin 3-dioxygenase* (F3H); 1.14.20.6, *flavonol synthase* (FLS); 1.14.20.4, *anthocyanidin synthase* (ANS); 1.17.1.3, *leucoanthocyanidin reductase* (LAR); 1.3.1.77, *anthocyanidin reductase* (ANR); 1.14.19.76, *flavone synthase II* (FNS II).



Perfil transcricional das enzimas da biossíntese de isoflavonoides

Sobre a via dos isoflavonóides, foram identificadas 10 das 12 enzimas previstas. Transcritos UR após 1 h da injúria/inoculação viral codificaram *2-hydroxyisoflavanone synthase* (IFS; EC 1.14.14.87), *2-hydroxyisoflavanone dehydratase* (HIDH; EC 4.2.1.105), *2'-hydroxyisoflavone reductase* (IFR; EC 1.3.1.45) e *vestitone reductase* (VR; EC 1.1.1.348). Transcritos UR e alguns DR codificando *isoflavone/4'-methoxyisoflavone 2'-hydroxylase* (I2'H-M2'H; EC 1.14.14.90 1.14.14.89) foram detectados 1 h após a injúria/inoculação viral. Transcritos declarados com expressão não significativa em ambos os tempos, após injúria/inoculação viral, codificaram as enzimas *isoflavone-7-O-methyltransferase* (I7OMT; EC 2.1.1.150), *isoflavone-7-O-methyltransferase* (IF7GT; EC 2.4.1.170), *pterocarpan synthase* (PTS; EC:4.2.1.139) e *pterocarpan reductase* (PTR; EC:1.23.1.-). Por fim, os transcritos da enzima *flavonoid 6-hydroxylase* (FL6H; EC:1.14.13.-) foram detectados com expressão não significativa somente após 16 h da injúria/inoculação viral (Figura 5).

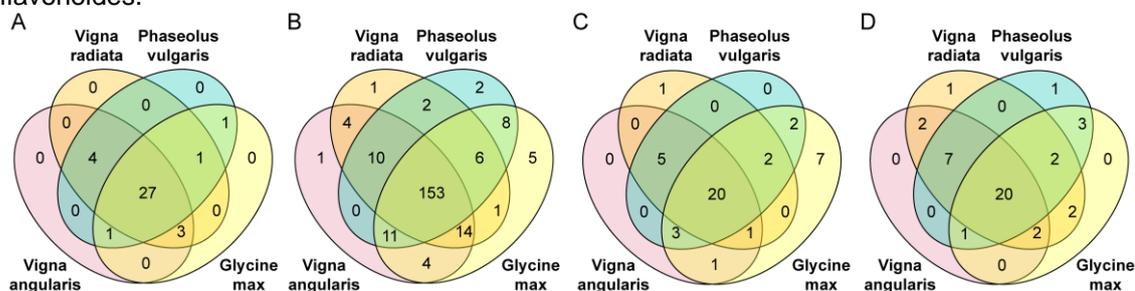
Figura 5 - Mapa de biossíntese dos isoflavonoides mostrando as enzimas codificadas por transcritos expressos em folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) após a injúria e inoculação de CABMV (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*). As cores dos círculos a esquerda e a direita indicam a expressão dos transcritos, respectivamente, em 1 hora e 16 horas após a injúria e inoculação viral [vermelho: indução; roxo: indução/repressão; cinza, não detectado; amarelo, expressão não significativa, baseada no $p\text{-value} \leq 0,001$, taxa de falsa descoberta (FDR) $\leq 0,05$ e $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) ≥ 1 (indução) or ≤ -1 (repressão)]. Nas caixas brancas estão as enzimas com genes não descritos em feijão-caupi. Número EC (*Enzyme Commission Number*): 1.14.14.87, 2-hydroxyisoflavanone synthase (IFS); 4.2.1.105, 2-hydroxyisoflavanone dehidratase (HIDH); 2.1.1.150, isoflavone-7-O-methyltransferase (I7OMT); 2.4.1.170, isoflavone 7-O-glucosyltransferase (IF7GT); 1.14.14.90 1.14.14.89, isoflavone/4'-methoxyisoflavone 2'-hydroxylase (I2'H-M2'H); 1.14.14.88, isoflavone 3'-hydroxylase (I3'H); 2.1.1.212 2.1.1.46, 2,7,4'-trihydroxyisoflavanone 4'-O-methyltransferase/isoflavone 4'-O-methyltransferase (HI4'OMT-I4'OMT); 1.3.1.45, 2'-hydroxyisoflavone reductase (IFR); 1.1.1.348, vestitone reductase (VR); 4.2.1.139, pterocarpan synthase (PTS); 1.23.1.-, pterocarpan reductase (PTR); 1.14.13.-, flavonoid 6-hydroxylase (FL6H).



Ortologia com a tribo Phaseolae

Uma análise comparativa envolveu os potenciais genes ortólogos identificados em espécies relacionadas da tribo Phaseolae (*V. radiata*, *V. angularis*, feijão comum e soja), a partir dos genes que codificam enzimas de vias precursoras (37) e vias de biossíntese [fenilpropanoides (227), flavonoides (44) e isoflavonoides (42)]. Considerando os genes do feijão-caupi, os ortólogos identificados conservados nas quatro leguminosas envolveram as vias precursoras (27) e as vias de biossíntese de fenilpropanoides (153), flavonoides (20) e isoflavonoides (20). Sobre os outros genes do feijão-caupi, os ortólogos detectados variaram de acordo com a espécie de leguminosa (Figura 6 e Tabela S4), compreendendo as vias dos precursores (10) e as vias de biossíntese de fenilpropanoides (69), flavonoides (22) e isoflavonoides (21).

Figura 6 - Diagrama de venn mostrando o total de genes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) com ortólogos preditos em diferentes espécies de leguminosas. A) Vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina. B) Biossíntese de Fenilpropanoides. C) Biossíntese de flavonoides. D) Biossíntese de isoflavonoides.



Fatores de transcrição associados aos promotores dos genes codificando as proteínas das vias metabólicas estudadas

Os elementos regulatórios em *cis* na região promotora (1.500 bp) dos genes codificadores das enzimas da via precursora e da biossíntese de fenilpropanoides, flavonoides e isoflavonoides indicaram potenciais FTs regulando esses genes. Um total de 6.468 sítios de ligação foram preditos (ferramenta *Binding Site Prediction*; $p\text{-value} \leq 1e^{-5}$) envolvendo 270 FTs (de 37 famílias) e 348 alvos (genes que codificam as enzimas das vias estudadas; Tabela S5). Em relação aos promotores de genes com transcritos UR, 36 FTs foram enriquecidos ($p\text{-value} < 0,02$; de 12 famílias), sendo a maioria deles classificados nas famílias WRKY, MYB, bHLH e TCP. Aqueles da família MYB foram previstos regular um maior número de genes induzidos (Tabela S6).

Validação da expressão *in silico* pela técnica de qPCR

O perfil transcricional de 11 candidatos, UR no RNA-Seq na primeira hora, foi analisado via qPCR. Os pares de *primers* apresentaram eficiências de amplificação aceitáveis (Tabela S2) e os amplicons esperados nas curvas de dissociação (Figura S1). Nove dos transcritos DE candidatos (81,8%) confirmaram a expressão induzida após a primeira hora de injúria/inoculação viral com ambas as técnicas. Sobre a expressão não significativa de todos esses candidatos no RNA-Seq após 16 horas de injúria/inoculação viral, seis deles (55,5%) confirmaram a expressão não significativa, enquanto cinco outros candidatos (45,5%) tiveram resultados de qPCR diferentes (quatro UR e um DR; Tabela 1).

Tabela 1 - Expressão relativa dos transcritos nas folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) após 1 hora e 16 horas de injúria/inoculação viral pela qPCR. Os candidatos codificam proteínas das vias precursoras e da biossíntese de fenilpropanóides, flavonóides e isoflavonóides.

Transcrito	Tempo	Expressão	Std. Error	95% C.I.	P(H1)	Resultado
DAHPS ^a	1 h	1,345	1,033 - 1,764	0,796 - 1,975	0,005	UR
	16 h	1,407	0,946 - 2,065	0,701 - 2,645	0,017	UR
ADH ^a	1 h	1,777	1,326 - 2,441	1,085 - 3,340	0,000	UR
	16 h	0,831	0,526 - 1,224	0,316 - 1,707	0,248	n.s.
ADT-PDT ^a	1 h	4,179	2,805 - 6,168	2,107 - 8,685	0,000	UR
	16 h	1,002	0,491 - 1,831	0,241 - 2,468	0,991	n.s.
PAL ^b	1 h	1,856	1,267 - 2,723	0,936 - 3,819	0,001	UR
	16 h	1,090	0,614 - 1,609	0,462 - 1,839	0,566	n.s.
4CL ^b	1 h	23,256	12,790 - 41,365	7,452 - 69,515	0,000	UR
	16 h	0,734	0,514 - 1,050	0,375 - 1,328	0,023	DR
HCT ^b	1 h	2,925	1,940 - 5,003	0,974 - 8,163	0,000	UR
	16 h	0,844	0,423 - 1,425	0,365 - 2,348	0,374	n.s.
CCR ^b	1 h	12,290	6,888 - 21,852	4,415 - 33,334	0,000	UR
	16 h	0,922	0,720 - 1,208	0,598 - 1,480	0,382	n.s.
CAD ^b	1 h	3,380	1,593 - 5,407	1,120 - 9,663	0,000	UR
	16 h	1,492	0,977 - 2,348	0,660 - 3,048	0,022	UR
CHI ^c	1 h	1,050	0,530 - 1,909	0,357 - 2,904	0,811	n.s.
	16 h	1,496	0,914 - 2,347	0,600 - 2,995	0,021	UR
HIDH ^d	1 h	3,107	1,011 - 10,444	0,615 - 20,107	0,005	UR
	16 h	1,064	0,669 - 2,089	0,451 - 2,803	0,736	n.s.
VR ^d	1 h	1,489	0,387 - 5,546	0,229 - 13,330	0,355	n.s.
	16 h	2,336	1,160 - 5,174	0,525 - 6,886	0,008	UR

P(H1), probabilidade de hipótese alternativa (a diferença entre as amostras dos grupos tratado e controle é devido ao acaso); UR, induzido; DR, reprimido; n.s., expressão não significativa. a, vias do ácido chiquímico, fenilalanina e tirosina; b, biossíntese de fenilpropanóides; c, biossíntese de flavonóides; d, biossíntese de isoflavonóides; DAHPS (EC 2.5.1.54, *3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase*); ADH (EC 1.3.1.78, *arogenate dehydrogenase*); ADT-PDT (EC 4.2.1.91 4.2.1.51, *arogenate/prephenate dehydratase*); PAL (EC 4.3.1.24, *phenylalanine ammonia-lyase*); 4CL (EC 6.2.1.12, *4-coumarate-CoA ligase*); HCT (EC 2.3.1.133, *Shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase*); CCR (EC 1.2.1.44, *cinnamoyl-CoA reductase*); CAD (EC 1.1.1.195, *cinnamyl-alcohol dehydrogenase*); CHI (EC 5.5.1.6, *chalcone isomerase*); HIDH (EC 4.2.1.105, *2-hydroxyisoflavanone dehydratase*); VR (EC 1.1.1.348, *vestitone reductase*).

Discussão

A injúria mecânica seguida pela inoculação viral visa simular um processo infeccioso em um ambiente natural, uma vez que os vírus que afetam as plantas são incapazes de invadir a parede celular da planta e iniciar um processo infeccioso sem o auxílio de um organismo vetor ou dano físico (NAVARRO; SANCHEZ-NAVARRO; PALLAS, 2019).

Nesse sentido, a capacidade das plantas de alterar dinamicamente o seu metabolismo as tornam capazes de colonizar tais ambientes desfavoráveis (KOMÍVES; KIRALY, 2019). Para interagir com o ambiente, as plantas produzem uma grande diversidade de metabólitos secundários importantes nessa relação e na proteção vegetal. Assim, o entendimento do comportamento transcricional de genes codificando enzimas envolvidas na produção de tais compostos é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável (SILVA et al., 2018).

Neste estudo, a aplicação do estresse combinado de injúria mecânica seguida de inoculação de CABMV em folhas de genótipo de feijão-caupi resistente ao vírus, alterou significativamente os perfis de expressão de vários transcritos codificadores de enzimas associadas ao metabolismo de fenilpropanoides e seus derivados. Uma expressiva modulação da expressão dos transcritos aconteceu na primeira hora após a aplicação da injúria/inoculação viral, sugerindo, assim, uma rápida reprogramação das vias metabólicas envolvidas, durante o processo de percepção.

As vias precursoras dos fenilpropanoides conectam o metabolismo primário e secundário e são importantes para a defesa das plantas contra estresses bióticos (PASCUAL et al., 2016; YANG et al., 2015). No presente estudo, a resposta inicial de IT85F-2687 envolveu a indução de transcritos de *DAHPS*, *ADT-PDT* e *ADH*. A proteína DAHPS exerce um papel fundamental no controle do fluxo de carbono direcionado para a via do ácido chiquímico, catalisando a primeira reação. A via do ácido chiquímico está conectada às vias de biossíntese de fenilalanina e tirosina, cujos aminoácidos sintetizados pela ADT-PDT (fenilalanina) e ADH (tirosina) são precursores de metabólitos especializados, com funções fisiológicas diversas, como carreadores de elétrons, antioxidantes, atractantes, influenciando a nutrição e a defesa vegetal (PASCUAL et al., 2016; SCHENCK; MAEDA, 2018; YANG et al., 2015). Plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana* portando o gene *GhDHS1*

(DAHPS) de *Gossypium hirsutum* tiveram sua resistência aumentada ao fungo *Verticillium dahliae* (YANG et al., 2015).

Os fenilpropanoides são metabólitos secundários com participação ativa na resposta a estímulos bióticos, fornecendo barreiras físicas e químicas para proteção vegetal (YADAV et al., 2020). No presente estudo, transcritos induzidos (UR) codificando as enzimas PAL, BGL, 4CL, HCT, CCR, CAD e POD, sugeriram IT85F-2687 ativando a biossíntese de fenilpropanoides após a injúria e infecção viral. A enzima PAL é chave na biossíntese de fenilpropanoides, convertendo fenilalanina a ácido cinâmico, reação que canaliza grande parte do carbono fixado no metabolismo primário para o metabolismo secundário (CASS et al., 2015). O ácido cinâmico é substrato para a síntese de compostos de defesa, como fitoalexinas, flavonoides e lignina, além de precursor do ácido salicílico (SA), fitormônio de sinalização durante a resposta das plantas a estresse (DIXON et al., 2002; KHAN et al., 2015; LIU et al., 2015). Em milho, as ZmPALs contribuíram para a resistência ao *Sugarcane mosaic virus*, sendo requeridas para o acúmulo de SA (YUAN et al., 2019). Estudos prévios relataram o envolvimento de PAL na resistência das plantas a patógenos (CASS et al., 2015; DUAN et al., 2014; PANT et al., 2021; ZHANG et al., 2017), e também sua indução após a exposição das plantas a tais estresses (CHEN et al., 2021; KUNDU et al., 2019; SUN et al., 2017; TORRES-CONTRERAS et al., 2018), reforçando sua importância fisiológica para plantas em ambientes desfavoráveis.

A via metabólica dos fenilpropanoides influencia na síntese de cumarinas e lignina. Em relação as cumarinas, a enzima BGL, associada no presente trabalho com transcritos UR/DR, foi previamente implicada na resistência a doenças de plantas (LI et al., 2019). Além disso, o acúmulo de cumarinas é comumente associado ao nível de resistência a doenças (ALIFERIS; FAUBERT; JABAJI, 2014; STRINGLIS; DE JONGE; PIETERSE, 2019). Por sua vez, a lignina constitui uma barreira não degradável a muitos microrganismos, desenvolvendo um papel importante na resposta das plantas a diversos estresses bióticos e abióticos (MOURA et al., 2010). Neste estudo, transcritos UR codificando várias enzimas da biossíntese da lignina (4CL, HCT, CCR, CAD e POD) foram identificados. A reprogramação transcricional de componentes da via de biossíntese da lignina em resposta à injúria e patógenos já foi relatada (CHEN et al., 2021; SADE et al., 2015; TARIQ et al., 2018; TORRES-CONTRERAS et al., 2018; YAO et al., 2020; ZABALA et al., 2006), bem como o envolvimento dessas enzimas no processo de resistência

a patógenos (KIM et al., 2008; RONG et al., 2016). A superexpressão de *GmPI4L* (*Phytophthora sojae-inducible 4CL gene*) de soja aumentou a resistência a *P. sojae* (CHEN et al., 2019). Assim, os dados sugerem que a ativação da biossíntese de fenilpropanoides pode ajudar nas estratégias de defesa de feijão-caupi resistente ao vírus, possivelmente investindo na produção de compostos antimicrobianos, bem como no reforço da parede celular.

Considerando os flavonoides, esses metabólitos secundários apresentam várias atividades biológicas, inclusive na proteção das plantas contra estresses bióticos e abióticos (MIERZIAK; KOSTYN; KULMA, 2014). Estudos prévios reportaram o acúmulo de flavonoides e o aumento da resistência a patógenos (SIVANKALYANI et al., 2016; LONG et al., 2019). No presente estudo, transcritos UR codificando as enzimas CHS, PKR e CHI foram observados após a injúria/inoculação viral.

A enzima CHS canaliza o fluxo de carbono da biossíntese dos fenilpropanoides para a via dos flavonoides (ZHANG et al., 2019) e atua com a PKR na síntese das chalconas, compostos importantes para a síntese de diversos flavonoides, inclusive fitoalexinas, que são relevantes para as plantas em interações com patógenos (JEANDET et al., 2013), e antioxidantes (DAO; LINTHORST; VERPOORTE, 2011; GARCÍA-CALDERÓN et al., 2020). Estudos prévios mostraram a modulação transcricional da CHS/PKR em plantas em resposta à injúria e infecção viral (ABDELKHALEK; AL-ASKAR; HAFEZ, 2020; HANSSEN et al., 2011; SHEN et al., 2019), bem como a sua participação no processo de resistência a patógenos (LEI et al., 2018; SEPIOL; YU; DHAUBHADEL, 2017). Por sua vez, o silenciamento radicular do gene *CHR* de soja, também conhecido como *PKR*, reduziu o acúmulo de isoflavonoides (daidzeína) e diminuiu a resistência a *P. sojae* (GRAHAM et al., 2007). Assim, a indução dessas enzimas pode contribuir positivamente para fisiologia das plantas sob estresse biótico.

Por outro lado, a enzima CHI catalisa a isomerização de chalconas em suas flavanonas (DAO; LINTHORST; VERPOORTE, 2011). A modulação transcricional de CHI em plantas em resposta à injúria ou patógenos já foi observada (ABDELKHALEK; AL-ASKAR; HAFEZ, 2020; CHUNG et al., 2019; ZABALA et al., 2006), e a superexpressão de uma CHI de soja (*GmCHI1A*) na raiz melhorou a resistência a *P. sojae* (ZHOU et al., 2018). Embora a regulação UR do transcrito de

CHI não tenha sido confirmada nos resultados da qPCR, a literatura reforça a importância do CHI para as plantas que respondem ao estresse biótico.

Sobre os isoflavonoides, uma relevante classe de fitoalexinas em leguminosas (HASSAN; MATHESIUS, 2012), importantes na interação das plantas com o ambiente, incluindo estabelecimento de simbiose e defesa das plantas no estresse biótico (ALIFERIS; FAUBERT; JABAJI, 2014; DASTMALCHI et al., 2017), alguns transcritos UR, codificando IFS, HIDH, I²H-M²H, IFR e VR, foram observados após a injúria e inoculação viral. Em tal via, a enzima IFS, catalisa a conversão de flavanonas a isoflavanonas, que são substratos para a síntese de diversos derivados, inclusive as fitoalexinas. *IFS* desenvolve um papel importante na resistência a patógenos (CHENG et al., 2010; SUBRAMANIAN et al., 2005; GRAHAM et al., 2007), uma vez que a sua superexpressão em *Medicago truncatula* acentuou a resistência ao fungo *Rhizoctonia solani* (LIU et al., 2017).

Por sua vez, as enzimas HIDH, I²H-M²H, IFR e VR estão envolvidas em reações metabólicas intermediárias da via que conduz a biossíntese de fitoalexinas. Estudo prévio sugeriu a participação do gene *GmHID1* na imunidade inata de soja, porquanto o seu silenciamento aumentou a suscetibilidade ao patógeno *Pseudomonas syringae* (ZHOU et al., 2011). Além disso, a superexpressão de IFR melhorou a resistência a *P. sojae*, provavelmente reduzindo os níveis de espécies reativas de oxigênio (CHENG et al., 2015). Assim, esses dados sugerem, no presente caso, a participação dos isoflavonoides na defesa do feijão-caupi após a injúria/inoculação viral.

Considerando que a predição ortológica desempenha um papel importante na genômica comparativa, filogenética e predição de função, uma vez que são os candidatos mais prováveis a compartilhar a função ancestral (GLOVER et al., 2019), sua conservação em espécies taxonomicamente relacionadas (tribo Phaseolae), pode facilitar a troca de informações por seus programas de melhoramento de plantas. Embora os dados tenham confirmado a sintonia em leguminosa, refletindo suas relações filogenéticas (LONARDI et al., 2019; NAWAE et al., 2020; POOTAKHAM et al., 2021), a previsão ortológica é importante uma vez que famílias de genes em diferentes espécies podem sofrer expansão ou retração (POOTAKHAM et al., 2021).

Também relevante para os processos biológicos, incluindo as respostas ao estresse das plantas, é a regulação da expressão gênica. Nesse processo, os FTs

são essenciais para regular as taxas de expressão de seus genes-alvo ligando-se a elementos regulatórios em *cis* presentes nas respectivas regiões promotoras (WANG et al., 2017). No presente estudo, as regiões promotoras dos genes associados às vias metabólicas estudadas apresentaram sítios de ligação aos FTs de 37 famílias. A maioria dos FTs enriquecidos em promotores de genes com transcritos UR eram das famílias WRKY, MYB, bHLH e TCP, mas os FTs MYB foram previstos na regulação de um maior número de genes induzidos. Tais famílias de FTs respondem a estresse biótico e abiótico, bem como regulam a síntese e o acúmulo de metabólitos secundários (LI; ZACHGO, 2013; MERAJ et al., 2020).

A superexpressão de *RrMYB5* e *RrMYB10* em *Ruso rugosa* aumentou a expressão dos genes da via dos flavonoides e o acúmulo de proantocianidinas, melhorando a tolerância ao estresse oxidativo e a injúria (SHEN et al., 2019). O FT MYB15 foi necessário para a ativação de genes da biossíntese da lignina durante a imunidade desencadeada por efetores (ETI) (KIM et al., 2020), enquanto MYB30, MYB55 e MY110 de arroz (*Oryza sativa*) induziram genes das vias do ácido chiquímico e cinamatos/monolignóis, refletindo no aumento da resistência a fungo e bactéria (KISHI-KABOSHI et al., 2018). Por sua vez, *HvWRKY23* de cevada (*Hordeum vulgare*) regulou genes da biossíntese de fenilpropanoides e flavonoides, ajudando a controlar a infecção por *Fusarium graminearum* (KARRE et al., 2019), enquanto FTs da família bHLH regularam a biossíntese de proantocianidinas e antocianinas (LI et al., 2016). Esses estudos reforçam a importância dessas famílias de FTs nas respostas a estresses/doenças, o que os tornam candidatos a estudos de transgenia para analisar seu impacto na fisiologia vegetal.

Conclusões

O presente estudo relata as primeiras respostas transcricionais globais dos metabólitos secundários do feijão-caupi, de acordo com suas vias biossintéticas, cobrindo dois períodos de tempo após a injúria/inoculação do CABMV. Os dados sugerem a ativação, principalmente, na primeira hora após o tratamento aplicado, das vias biossintéticas dos fenilpropanoides e dos isoflavonoides, pelo genótipo de feijão-caupi IT85F-2687 resistente ao CABMV, provavelmente reforçando a parede celular e as defesas químicas. Além disso, a conservação de ortólogos de genes de feijão-caupi participantes das vias estudadas, em quatro diferentes espécies de leguminosas da tribo Phaseolae, reforça a importância desses compostos no táxon,

que compreende culturas mundiais exploradas economicamente, mas apresentando diferentes recursos tecnológicos e científicos disponíveis, favorecendo a transferência de conhecimento de uma espécie para outra. Ainda, os potenciais FTs reguladores constituem uma opção para manipular a expressão de diversos genes relacionados, com potencial para contribuir de forma positiva, para melhorar a tolerância da planta ao estresse aplicado.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Referências

- ABDELKHALEK, A.; AL-ASKAR, A. A.; HAFEZ, E. Differential induction and suppression of the potato innate immune system in response to *Alfalfa mosaic virus* infection. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 110, p. 101485, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2020.101485>
- ALIFERIS, K. A.; FAUBERT, D.; JABAJI, S. A metabolic profiling strategy for the dissection of plant defense against fungal pathogens. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e111930, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111930>
- AMORIM, L. L. B.; FERREIRA-NETO, J. R. C.; BEZERRA-NETO, J. P.; PANDOLFI, V.; ARAÚJO, F. T.; MATOS, M. K. S.; SANTOS, M. G.; KIDO, E. A.; BENKO-ISEPPON, A. M. Cowpea and abiotic stresses: identification of reference genes for transcriptional profiling by qPCR. **Plant Methods**, v. 14, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0354-z>
- BOUKAR, O.; BELKO, N.; CHAMARTHI, S.; TOGOLA, A.; BATIENO, J.; OWUSU, E.; HARUNA, M.; DIALLO, S.; UMAR, M. L.; OLUFAJO, O.; FATOKUN, C. Cowpea (*Vigna unguiculata*): Genetics, genomics and breeding. **Plant Breeding**, v. 138, n. 4, p. 415-424, 2019. <https://doi.org/10.1111/pbr.12589>
- BOURGEY, M.; DALI, R.; EVELEIGH, R.; CHEN, K. C.; LETOURNEAU, L.; FILLON, J.; MICHAUD, M.; CARON, M.; SANDOVAL, J.; LEFEBVRE, F.; LEVEQUE, G.; MERCIER, E.; BUJOLD, D.; MARQUIS, P.; VAN, P. T.; MORAIS, D. A. L.; TREMBLAY, J.; SHAO, X.; HENRION, E.; GONZALEZ, E.; QUIRION, P.-O.; CARON, B.; BOURQUE, G. GenPipes: an open-source framework for distributed and scalable genomic analyses. **Gigascience**, v. 8, n. 6, p. giz037, 2019. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz037>

- CARVALHO, M.; LINO-NETO, T.; ROSA, E.; CARNIDE, V. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 13, p. 4273-4284, 2017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8250>
- CASS, C. L.; PERALDI, A.; DOWD, P. F.; MOTTIAR, Y.; SANTORO, N.; KARLEN, S. D.; BUKHMAN, Y. V.; FOSTER, C. E.; THROWER, N.; BRUNO, L. C.; MOSKVIN, O. V.; JOHNSON, E. T.; WILLHOIT, M. E.; PHUTANE, M.; RALPH, J.; MANSFIELD, S. D.; NICHOLSON, P.; SEDBROOK, J. C. Effects of PHENYLALANINE AMMONIA LYASE (PAL) knockdown on cell wall composition, biomass digestibility, and biotic and abiotic stress responses in *Brachypodium*. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 14, p. 4317-4335, 2015. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv269>
- CHEN, C.; CHEN, H.; ZHANG, Y.; THOMAS, H. R.; FRANK, M. H.; HE, Y.; XIA, R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. **Molecular Plant**, v. 13, n. 8, p. 1194-1202, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>
- CHEN, H.; WANG, L.; LIU, X.; HU, L.; WANG, S.; CHENG, X. *De novo* transcriptomic analysis of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) for genic SSR marker development. **BMC Genetics**, v. 18, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0531-5>
- CHEN, L.; SUN, D.; ZHANG, X.; SHAO, D.; LU, Y.; AN, Y. Transcriptome analysis of yellow passion fruit in response to *cucumber mosaic virus* infection. **PloS One**, v. 16, n. 2, p. e0247127, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247127>
- CHEN, X.; FANG, X.; ZHANG, Y.; WANG, X.; ZHANG, C.; YAN, X.; ZHAO, Y.; WU, J.; XU, P.; ZHANG, S. Overexpression of a soybean 4-coumaric acid: coenzyme A ligase (*GmPI4L*) enhances resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. **Functional Plant Biology**, v. 46, p. 304-313, 2019. <https://doi.org/10.1071/FP18111>
- CHENG, H.; YANG, H.; ZHANG, D.; GAI, J.; YU, D. Polymorphisms of soybean isoflavone synthase and flavanone 3-hydroxylase genes are associated with *soybean mosaic virus* resistance. **Molecular Breeding**, v. 25, p. 13-24, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11032-009-9305-8>
- CHENG, Q.; LI, N.; DONG, L.; ZHANG, D.; FAN, S.; JIANG, L.; WANG, X.; XU, P.; ZHANG, S. Overexpression of soybean isoflavone reductase (*GmIFR*) enhances resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1024, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01024>
- CHUNG, M.-S.; LEE, G. W.; JEONG, Y.S.; KUK, Y. I.; LEE, S. S.; CHUNG, B. Y.; LEE, S. Functional and genomic characterization of a wound-and methyl jasmonate-inducible chalcone isomerase in *Eremochloa ophiuroides* [Munro] Hack. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 144, p. 355-364, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.008>
- CRUZ, A. R. R.; ARAGÃO, F. J. L. RNAi-based enhanced resistance to *Cowpea severe mosaic virus* and *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in transgenic cowpea. **Plant Pathology**, v. 63, n. 4, p. 831-837, 2014. <https://doi.org/10.1111/ppa.12178>

DAO, T. T. H.; LINTHORST, H. J. M.; VERPOORTE, R. Chalcone synthase and its functions in plant resistance. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 397-412, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9211-7>

DASTMALCHI, M.; CHAPMAN, P.; YU, J.; AUSTIN, R. S.; DHAUBHADEL, S. Transcriptomic evidence for the control of soybean root isoflavonoid content by regulation of overlapping phenylpropanoid pathways. **BMC Genomics**, v. 18, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3463-y>

DIXON, R. A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; LIU, C.-J.; REDDY, M. S. S.; WANG, L. The phenylpropanoid pathway and plant defence—a genomics perspective. **Molecular Plant Pathology**, v. 3, n. 5, p. 371-390, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00131.x>

DONG, N.-Q.; LIN, H.-X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant–environment interactions. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 180-209, 2021.

DUAN, L.; LIU, H.; LI, X.; XIAO, J.; WANG, S. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice. **Physiologia Plantarum**, v. 152, n. 3, p. 486-500, 2014. <https://doi.org/10.1111/ppl.12192>

DURIAN, G.; RAHIKAINEN, M.; ALEGRE, S.; BROSCHE, M.; KANGASJÄRVI, S. Protein phosphatase 2A in the regulatory network underlying biotic stress resistance in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 812, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00812>

FERREIRA-NETO, J. R. C.; BORGES, A. N. C.; SILVA, M. D.; MORAIS, D. A. L.; BEZERRA-NETO, J. P.; BOURQUE, G.; KIDO, E. A.; BENKO-ISEPPON, A. M. The Cowpea Kinome: Genomic and Transcriptomic Analysis Under Biotic and Abiotic Stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.667013>

GARCÍA-CALDERÓN, M.; PÉREZ-DELGADO, C. M.; PALOVE-BALANG, P.; BETTI, M.; MÁRQUEZ, A. J. Flavonoids and Isoflavonoids Biosynthesis in the Model Legume *Lotus japonicus*; Connections to Nitrogen Metabolism and Photorespiration. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 774, 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9060774>

GIMENEZ, E.; SALINAS, M.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Worldwide research on plant defense against biotic stresses as improvement for sustainable agriculture. **Sustainability**, v. 10, n. 2, p. 391, 2018. <https://doi.org/10.3390/su10020391>

GLOVER, N.; DESSIMOZ, C.; EBERSBERGER, I.; FORSLUND, S. K.; GABALDÓN, T.; HUERTA-CEPAS, J.; MARTIN, M.-J.; MUFFATO, M.; PATRICIO, M.; PEREIRA, C.; SILVA, A. S.; WANG, Y.; SONNHAMMER, E.; THOMAS, P. D. Advances and Applications in the Quest for Orthologs. **Molecular Biology and Evolution**, v. 36, n. 10, p. 2157-2164, 2019. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz150>

GRAHAM, T. L.; GRAHAM, M. Y.; SUBRAMANIAN, S.; YU, O. RNAi silencing of genes for elicitation or biosynthesis of 5-deoxyisoflavonoids suppresses race-specific resistance and hypersensitive cell death in *Phytophthora sojae* infected tissues. **Plant Physiology**, v. 144, p. 728-740, 2007. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097865>

HALL, T. A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HANSEN, I. M.; PETER VAN ESSE, H.; BALLESTER, A.-R.; HOGEWONING, S. W.; PARRA, N. O.; PAELEMAN, A.; LIEVENS, B.; BOVY, A. G.; THOMMA, B. P. Differential tomato transcriptomic responses induced by *pepino mosaic virus* isolates with differential aggressiveness. **Plant Physiology**, v. 156, p. 301-318, 2011. <https://doi.org/10.1104/pp.111.173906>

HASSAN, S.; MATHESIUS, U. The role of flavonoids in root–rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9, p. 3429-3444, 2012. <https://doi.org/10.1093/jxb/err430>

HE, T.; LI, C. Harness the power of genomic selection and the potential of germplasm in crop breeding for global food security in the era with rapid climate change. **The Crop Journal**, v. 8, n. 5, p. 688-700, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.04.005>

JEANDET, P.; CLÉMENT, C.; COUROT, E.; CORDELIER, S. Modulation of phytoalexin biosynthesis in engineered plants for disease resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 7, p. 14136-14170, 2013. <https://doi.org/10.3390/ijms140714136>

KARRE, S.; KUMAR, A.; YOGENDRA, K.; KAGE, U.; KUSHALAPPA, A.; CHARRON, J.-B. *HvWRKY23* regulates flavonoid glycoside and hydroxycinnamic acid amide biosynthetic genes in barley to combat *Fusarium* head blight. **Plant Molecular Biology**, v. 100, p. 591-605, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00882-2>

KHAN, M. I. R.; FATMA, M.; PER, T. S.; ANJUM, N. A.; KHAN, N. A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>

KIM, S. H.; LAM, P. Y.; LEE, M.-H.; JEON, H. S.; TOBIMATSU, Y.; PARK, O. K. The Arabidopsis R2R3 MYB Transcription Factor MYB15 Is a Key Regulator of Lignin Biosynthesis in Effector-Triggered Immunity. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.583153>

KIM, Y.-H.; KIM, C. Y.; SONG, W.-K.; PARK, D.-S.; KWON, S.-Y.; LEE, H.-S.; BANG, J.-W.; KWAK, S.-S. Overexpression of sweetpotato *swpa4* peroxidase results in increased hydrogen peroxide production and enhances stress tolerance in tobacco. **Planta**, v. 227, p. 867-881, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0663-3>

KISHI-KABOSHI, M.; SEO, S.; TAKAHASHI, A.; HIROCHIKA, H. The MAMP-responsive MYB transcription factors MYB30, MYB55 and MYB110 activate the HCAA synthesis pathway and enhance immunity in rice. **Plant and Cell Physiology**, v. 59, p. 903-915, 2018. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy062>

KOMIVES, T.; KIRALY, Z. Disease resistance in plants: The road to phytoalexins and beyond. **Ecocycles**, v. 5, p. 7-12, 2019. <https://doi.org/10.19040/ecocycles.v5i1.132>

KUNDU, A.; SINGH, P. K.; DEY, A.; GANGULI, S.; PAL, A. Complex molecular mechanisms underlying MYMIV-resistance in *Vigna mungo* revealed by comparative transcriptome profiling. **Scientific Reports**, v. 9, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45383-w>

KYEI-BOAHEN, S.; SAVALA, C. E.; CHIKOYE, D.; ABAIDOO, R. Growth and yield responses of cowpea to inoculation and phosphorus fertilization in different environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00646>

LEI, K. J.; ZHANG, L.; DU, X. Y.; AN, Y.; CHANG, G. H.; AN, G. Y. A chalcone synthase controls the verticillium disease resistance response in both *Arabidopsis thaliana* and cotton. **European Journal of Plant Pathology**, v. 152, p. 769-781, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1521-9>

LI, B.-B.; LIU, Y.-G.; TAO, W. U.; WANG, J.-P.; XIE, G.-R.; CHU, Z.-H.; DING, X.-H. OsBGLU19 and OsBGLU23 regulate disease resistance to bacterial leaf streak in rice. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, p. 1199-1210, 2019. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62117-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62117-3)

LI, P.; CHEN, B.; ZHANG, G.; CHEN, L.; DONG, Q.; WEN, J.; MYSORE, K. S.; ZHAO, J. Regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis by *Medicago truncatula* bHLH transcription factor MtTT8. **New Phytologist**, v. 210, p. 905-921, 2016. <https://doi.org/10.1111/nph.13816>

LI, S.; ZACHGO, S. TCP3 interacts with R2R3-MYB proteins, promotes flavonoid biosynthesis and negatively regulates the auxin response in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 76, n. 6, p. 901-913, 2013. <https://doi.org/10.1111/tpj.12348>

LIU, X.; ROCKETT, K. S.; KØRNER, C. J.; PAJEROWSKA-MUKHTAR, K. M. Salicylic acid signalling: New insights and prospects at a quarter-century milestone. **Essays in Biochemistry**, v. 58, p. 101-113, 2015. <https://doi.org/10.1042/bse0580101>

LIU, Y.; HASSAN, S.; KIDD, B. N.; GARG, G.; MATHESIUS, U.; SINGH, K. B.; ANDERSON, J. P. Ethylene signaling is important for isoflavonoid-mediated resistance to *Rhizoctonia solani* in roots of *Medicago truncatula*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 30, p. 691-700, 2017. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-17-0057-R>

LONARDI, S.; MUÑOZ-AMATRIÁIN, M.; LIANG, Q.; SHU, S.; WANAMAKER, S. I.; LO, S.; TANSKANEN, J.; SCHULMAN, A. H.; ZHU, T.; LUO, M.-C.; ALHAKAMI, H.;

OUNIT, R.; HASAN, A. MD.; VERDIER, J.; ROBERTS, P. A.; SANTOS, J. R. P.; NDEVE, A.; DOLEŽEL, J.; VRÁNA, J.; HOKIN, S. A.; FARMER, A. D.; CANNON, S. B.; CLOSE, T. J. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). **The Plant Journal**, v. 98, p. 767-782, 2019. <https://doi.org/10.1111/tpj.14349>

LONG, L.; LIU, J.; GAO, Y.; XU, F.-C.; ZHAO, J.-R.; LI, B.; GAO, W. Flavonoid accumulation in spontaneous cotton mutant results in red coloration and enhanced disease resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 143, p. 40-49, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.021>

MERAJ, T. A.; FU, J.; RAZA, M. A.; ZHU, C.; SHEN, Q.; XU, D.; WANG, Q. Transcriptional factors regulate plant stress responses through mediating secondary metabolism. **Genes**, v. 11, n. 4, 2020. <https://doi.org/10.3390/genes11040346>

MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16240-16265, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules191016240>

MOURA, J. C. M. S.; BONINE, C. A. V.; VIANA, J. O. F.; DORNELAS, M. C.; MAZZAFERA, P. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 52, n. 4, p. 360-376, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x>

MUÑOZ-AMATRIAIN, M.; MIREBRAHIM, H.; XU, P.; WANAMAKER, S. I.; LUO, M.; ALHAKAMI, H.; ALPERT, M.; ATOKPLE, I.; BATIENO, B. J.; BOUKAR, O.; BOZDAG, S.; CISSE, N.; DRABO, I.; EHLERS, J. D.; FARMER, A.; FATOKUN, C.; GU, Y. Q.; GUO, Y.-N.; HUYNH, B.-L.; JACKSON, S. A.; KUSI, F.; LAWLEY, C. T.; LUCAS, M. R.; MA, Y.; TIMKO, M. P.; WU, J.; YOU, F.; BARKLEY, N. A.; ROBERTS, P. A.; LONARDI, S.; CLOSE, T. J. Genome resources for climate-resilient cowpea, an essential crop for food security. **The Plant Journal**, v. 89, n. 5, p. 1042-1054, 2017. <https://doi.org/10.1111/tpj.13404>

NAVARRO, J. A.; SANCHEZ-NAVARRO, J. A.; PALLAS, V. Key checkpoints in the movement of plant viruses through the host. **Advances in Virus Research**, v. 104, p. 1-64, 2019. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2019.05.001>

NAWAE, W.; YUNDAENG, C.; NAKTANG, C.; KONGKACHANA, W.; YOOCHA, T.; SONTHIROD, C.; NARONG, N.; SOMTA, P.; LAOSATIT, K.; TANGPHATSORNRUANG, S.; POOTAKHAM, W. The Genome and Transcriptome Analysis of the *Vigna mungo* Chloroplast. **Plants**, v. 9, n. 9, 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9091247>

OLIVEIRA, C. R. R.; FREIRE FILHO, F. R.; NOGUEIRA, M. S. R.; BARROS, G. B.; EIRAS, M.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, A. C. A. Reação de genótipos de feijão-caupi revela resistência às coinfeções pelo *Cucumber mosaic virus*, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* e *Cowpea severe mosaic virus*. **Bragantia**, v. 71, p. 59-66, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052012005000007>

PANDEY, P.; IRULAPPAN, V.; BAGAVATHIANNAN, M. V.; SENTHIL-KUMAR, M. Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop

improvement by exploiting physio-morphological traits. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00537>

PANDEY, P.; RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00723>

PANT, S. R.; IRIGOYEN, S.; LIU, J.; BEDRE, R.; CHRISTENSEN, S. A.; SCHMELZ, E. A.; SEDBROOK, J. C.; SCHOLTHOF, K.-B. G.; MANDADI, K. K. *Brachypodium* Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL) Promotes Antiviral Defenses against *Panicum mosaic virus* and Its Satellites. **Mbio**, v. 12, p. e03518-20, 2021. <https://doi.org/10.1128/mBio.03518-20>

PASCUAL, M. B.; EL-AZAZ, J.; DE LA TORRE, F. N.; CAÑAS, R. A.; AVILA, C.; CÁNOVAS, F. M. Biosynthesis and metabolic fate of phenylalanine in conifers. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01030>

PFÄFFL, M. W.; HORGAN, G. W.; DEMPFLER, L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n. 9, p. e36, 2002. <https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36>

POOTAKHAM, W.; NAWAE, W.; NAKTANG, C.; SONTHIROD, C.; YOOCHA, T.; KONGKACHANA, W.; SANGSRAKRU, D.; JOMCHAI, N.; U-THOOMPORN, S.; SOMTA, P.; LAOSATIT, K.; TANGPHATSORNRUANG, S. A chromosome-scale assembly of the black gram (*Vigna mungo*) genome. **Molecular Ecology Resources**, v. 21, p. 238-250, 2021. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13243>

POTTER, S. C.; LUCIANI, A.; EDDY, S. R.; PARK, Y.; LOPEZ, R.; FINN, R. D. HMMER web server: 2018 update. **Nucleic Acids Research**, v. 46, p. W200-W204, 2018. <https://doi.org/10.1093/nar/gky448>

ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, v. 26, p. 139-140, 2010. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>

RONG, W.; LUO, M.; SHAN, T.; WEI, X.; DU, L.; XU, H.; ZHANG, Z. A wheat cinnamyl alcohol dehydrogenase TaCAD12 contributes to host resistance to the sharp eyespot disease. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01723>

SADE, D.; SHRIKI, O.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TOHGE, T.; SEMEL, Y.; HAVIV, Y.; WILLMITZER, L.; BROTMAN, Y. Comparative metabolomics and transcriptomics of plant response to *Tomato yellow leaf curl virus* infection in resistant and susceptible tomato cultivars. **Metabolomics**, v. 11, p. 81-97, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11306-014-0670-x>

SALDANHA, A. J. Java Treeview—extensible visualization of microarray data. **Bioinformatics**, v. 20, n. 17, p. 3246-3248, 2004. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth349>

SAVATIN, D. V.; GRAMEGNA, G.; MODESTI, V.; CERVONE, F. Wounding in the plant tissue: the defense of a dangerous passage. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00470>

SCHENCK, C. A.; MAEDA, H. A. Tyrosine biosynthesis, metabolism, and catabolism in plants. **Phytochemistry**, v. 149, p. 82-102, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.02.003>

SEPIOL, C. J.; YU, J.; DHAUBHADEL, S. Genome-wide identification of chalcone reductase gene family in soybean: insight into root-specific *GmCHR*s and *Phytophthora sojae* resistance. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02073>

SHEN, Y.; SUN, T.; PAN, Q.; ANUPOL, N.; CHEN, H.; SHI, J.; LIU, F.; DEQIANG, D.; WANG, C.; ZHAO, J.; YANG, S.; WANG, C.; LIU, J.; BAO, M.; NING, G. RrMYB5-and RrMYB10-regulated flavonoid biosynthesis plays a pivotal role in feedback loop responding to wounding and oxidation in *Rosa rugosa*. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 11, p. 2078-2095, 2019. <https://doi.org/10.1111/pbi.13123>

SILVA, M. S.; ARRAES, F. B. M.; CAMPOS, M. A.; GROSSI-DE-SA, M.; FERNANDEZ, D.; CÂNDIDO, E. S.; CARDOSO, M. H.; FRANCO, O. L.; GROSSI-DE-SA, M. F. Review: Potential biotechnological assets related to plant immunity modulation applicable in engineering disease-resistant crops. **Plant Science**, v. 270, p. 72-84, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.02.013>

SIVANKALYANI, V.; FEYGENBERG, O.; DISKIN, S.; WRIGHT, B.; ALKAN, N. Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 132-139, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.001>

SÖZEN, C.; SCHENK, S. T.; BOUDSOCQ, M.; CHARDIN, C.; ALMEIDA-TRAPP, M.; KRAPP, A.; HIRT, H.; MITHÖFER, A.; COLCOMBET, J. Wounding and insect feeding trigger two independent MAPK pathways with distinct regulation and kinetics. **The Plant Cell**, v. 32, n. 6, p. 1988-2003, 2020. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00917>

SPRIGGS, A.; HENDERSON, S.T.; HAND, M. L.; JOHNSON, S. D.; TAYLOR, J. M.; KOLTUNOW, A. Assembled genomic and tissue-specific transcriptomic data resources for two genetically distinct lines of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Gates Open Research**, v. 2, 2018. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.12777.2>

STRINGLIS, I. A.; DE JONGE, R.; PIETERSE, C. M. The age of coumarins in plant-microbe interactions. **Plant and Cell Physiology**, v. 60, p. 1405-1419, 2019. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz076>

SUBRAMANIAN, S.; GRAHAM, M.Y.; YU, O.; GRAHAM, T. L. RNA interference of soybean isoflavone synthase genes leads to silencing in tissues distal to the transformation site and to enhanced susceptibility to *Phytophthora sojae*. **Plant Physiology**, v. 137, p. 1345-1353, 2005. <https://doi.org/10.1104/pp.104.057257>

SUN, X.; WANG, Z.; GU, Q.; LI, H.; HAN, W.; SHI, Y. Transcriptome analysis of *Cucumis sativus* infected by Cucurbit chlorotic yellows virus. **Virology Journal**, v. 14, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0690-z>

TARIQ, R.; WANG, C.; QIN, T.; XU, F.; TANG, Y.; GAO, Y.; JI, Z.; ZHAO, K. Comparative transcriptome profiling of rice near-isogenic line carrying Xa23 under infection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **International Journal of Molecular sciences**, v. 19, n. 3, p. 717, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19030717>

TIAN, F.; YANG, D.-C.; MENG, Y.-Q.; JIN, J.; GAO, G. PlantRegMap: charting functional regulatory maps in plants. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. D1, p. D1104-D1113, 2020. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1020>

TORRES-CONTRERAS, A. M.; SENÉS-GUERRERO, C.; PACHECO, A.; GONZÁLEZ-AGÜERO, M.; RAMOS-PARRA, P. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. Genes differentially expressed in broccoli as an early and late response to wounding stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 145, p. 172-182, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.010>

WANG, H.; ZHAO, S.; GAO, Y.; YANG, J. Characterization of Dof transcription factors and their responses to osmotic stress in poplar (*Populus trichocarpa*). **PloS One**, v. 12, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170210>

WANG, M.; ZHU, X.; WANG, K.; LU, C.; LUO, M.; SHAN, T.; ZHANG, Z. A wheat caffeic acid 3-O-methyltransferase *TaCOMT-3D* positively contributes to both resistance to sharp eyespot disease and stem mechanical strength. **Scientific Reports**, v. 8, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24884-0>

XU, L.; DONG, Z.; FANG, L.; LUO, Y.; WEI, Z.; GUO, H.; ZHANG, G.; GU, Y. Q.; COLEMAN-DERR, D.; XIA, Q.; WANG, Y. OrthoVenn2: a web server for whole-genome comparison and annotation of orthologous clusters across multiple species. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. W1, p. W52-W58, 2019. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz333>

YADAV, V.; WANG, Z.; WEI, C.; AMO, A.; AHMED, B.; YANG, X.; ZHANG, X. Phenylpropanoid pathway engineering: An emerging approach towards plant defense. **Pathogens**, v. 9, n. 4, 2020. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040312>

YANG, J.; JI, L.; WANG, X.; ZHANG, Y.; WU, L.; YANG, Y.; MA, Z. Overexpression of 3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase gene from *Gossypium hirsutum* enhances *Arabidopsis* resistance to *Verticillium* wilt. **Plant Cell Reports**, v. 34, p. 1429-1441, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1798-5>

YAO, L.; LI, Y.; MA, C.; TONG, L.; DU, F.; XU, M. Combined genome-wide association study and transcriptome analysis reveal candidate genes for resistance

to *Fusarium* ear rot in maize. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 62, p. 1535-1551, 2020. <https://doi.org/10.1111/jipb.12911>

YUAN, W.; JIANG, T.; DU, K.; CHEN, H.; CAO, Y.; XIE, J.; LI, M.; CARR, J. P.; WU, B.; FAN, Z.; ZHOU, T. Maize phenylalanine ammonia-lyases contribute to resistance to *Sugarcane mosaic virus* infection, most likely through positive regulation of salicylic acid accumulation. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, p. 1365-1378, 2019. <https://doi.org/10.1111/mpp.12817>

ZABALA, G.; ZOU, J.; TUTEJA, J.; GONZALEZ, D. O.; CLOUGH, S. J.; VODKIN, L. O. Transcriptome changes in the phenylpropanoid pathway of *Glycine max* in response to *Pseudomonas syringae* infection. **BMC Plant Biology**, v. 6, 2006. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-6-26>

ZANDALINAS, S. I.; FRITSCHI, F. B.; MITTLER, R. Signal transduction networks during stress combination. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, p. 1734-1741, 2020. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz486>

ZHANG, C.; WANG, X.; ZHANG, F.; DONG, L.; WU, J.; CHENG, Q.; QI, D.; YAN, X.; JIANG, L.; FAN, S.; LI, N.; LI, D.; XU, P.; ZHANG, S. Phenylalanine ammonia-lyase2.1 contributes to the soybean response towards *Phytophthora sojae* infection. **Scientific Reports**, v. 7, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07832-2>

ZHANG, C.; YAO, X.; REN, H.; WANG, K.; CHANG, J. Isolation and Characterization of Three Chalcone Synthase Genes in Pecan (*Carya illinoensis*). **Biomolecules**, v. 9, 2019. <https://doi.org/10.3390/biom9060236>

ZHANG, P.; DU, H.; WANG, J.; PU, Y.; YANG, C.; YAN, R.; YANG, H.; CHENG, H.; YU, D. Multiplex CRISPR/Cas9-mediated metabolic engineering increases soya bean isoflavone content and resistance to soya bean mosaic virus. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n. 6, p. 1384-1395, 2020. <https://doi.org/10.1111/pbi.13302>

ZHOU, H.; LIN, J.; JOHNSON, A.; MORGAN, R. L.; ZHONG, W.; MA, W. *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1 targets a host enzyme to suppress isoflavone biosynthesis and promote infection in soybean. **Cell Host & Microbe**, v. 9, n. 3, p. 177-186, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.02.007>

ZHOU, Y.; HUANG, J.-L.; ZHANG, X.-L.; ZHU, L.-M.; WANG, X.-F.; GUO, N.; ZHAO, J.-M.; XING, H. Overexpression of chalcone isomerase (CHI) increases resistance against *Phytophthora sojae* in soybean. **Journal of Plant Biology**, v. 61, p. 309-319, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12374-018-0017-7>

4.2 ARTIGO 2

Genômica estrutural e funcional de transportadores MATE em Feijão-caupi

Resumo

Multidrug and toxic compound extrusion (MATE) é uma família de transportadores atuantes em processos fisiológicos diversos, incluindo desintoxicação, transporte de metabólitos secundários e hormônios. Um total de 68 genes MATE foram identificados no genoma de feijão-caupi, codificando proteínas de 201 a 567 aminoácidos, com pontos isoelétricos preditos entre 4,94 e 9,59 e pesos moleculares previstos de 22,95 a 61,89 kDa. Os VuMATEs formaram quatro grupos na geração da árvore filogenética e alguns deles representam bons candidatos a desempenhar funções relacionadas a genes MATE funcionalmente caracterizados. Um pequeno grupo de VuMATEs (sete) não apresentou íntrons, enquanto os demais apresentaram de 1 a 15 íntrons. As proteínas VuMATEs contiveram de 4 a 15 motivos, com alguns deles grupos específicos. Os VuMATEs apresentaram uma distribuição desigual nos 11 cromossomos e a maioria deles (80,88%) foram envolvidos em duplicações em tandem e segmentais. Na região promotora dos VuMATEs, sítios de ligação a várias famílias de fatores de transcrição foram preditos, sugerindo sua diversidade funcional. A transcriptômica revelou 10 transcritos diferencialmente expressos (DE; 9 induzidos e 1 reprimido) associados a seis *loci* VuMATEs em 1 hora após a injúria e inoculação do CABMV. A qPCR confirmou a indução de quatro transcritos DE dos cinco alvos selecionados, evidenciando a sua participação no processo de percepção do estresse. Este trabalho adiciona informações importantes para a compreensão das funções fisiológicas dos genes MATE em feijão-caupi.

Introdução

Os transportadores de membrana são essenciais para a sobrevivência e adaptação celular ao ambiente circundante. Tais estruturas permitem o deslocamento (influxo e efluxo) de uma variedade de moléculas, desde nutrientes essenciais a substâncias de defesa (DOSHI et al., 2017). A família *multidrug and toxic compound extrusion* (MATE) é uma classe de transportadores secundários, conservados em todos clados, que utilizam o gradiente eletroquímico de H⁺ ou N⁺ para transporte de seus substratos (MIYAUCHI et al., 2017). A maioria dessas proteínas é composta de 400 a 700 aminoácidos, com topologia de 12 hélices transmembrana (XU et al., 2019).

Os transportadores MATE participam de múltiplas funções em vegetais, incluindo: tolerância ao alumínio (CANIATO et al., 2014); tolerância ao frio, seca e salinidade (LU et al., 2019); efluxo de ácido abscísico (ABA; ZHANG et al., 2014); biossíntese de ácido salicílico (YAMASAKI et al., 2013); senescência foliar e homeostase iônica (WANG, Z. et al., 2016); regulação negativa da resistência a doenças (SUN et al., 2011; TIWARI et al., 2014); modulação dos níveis de auxina na raiz (UPADHYAY; KAR; DATTA, 2020); alongação celular no hipocótilo (WANG et al., 2015); e regulação de turgor em *Arabidopsis*, por meio do transporte de íons, especialmente cloreto (ZHANG et al., 2017). Desta forma, tal grupo de transportadores é relevante para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, bem como para o processo de resistência ou tolerância a condições não favoráveis, tornando-se importantes alvos para estudo devido ao seu forte impacto fisiológico e elevado potencial biotecnológico.

As proteínas MATE, adicionalmente, atuam no transporte de metabólitos secundários (SHITAN; YAZAKI, 2020) - compostos naturais cruciais para a reprodução e interação das plantas com o ambiente (SHIH; MORGAN, 2020). Tais proteínas translocam, especialmente, flavonoides, que são metabólitos com funções diversas, incluindo antioxidantes, reguladores do movimento de auxina, proteção contra patógenos e fotoproteção (BRUNETTI et al., 2013). O transporte de flavonoides por membros MATE é evidenciado em algumas espécies de plantas, como *Medicago truncatula* (ZHAO; DIXON, 2009; ZHAO et al., 2011), *Arabidopsis thaliana* (MARINOVA et al., 2007; ZHAO; DIXON, 2009) e *Fragaria x ananassa* (CHEN et al., 2018).

Devido a sua importância e multifuncionalidade, vários estudos têm sido realizados para caracterizar a família MATE em plantas, inclusive em leguminosas como, por exemplo, *Cajanus cajan* (DONG et al., 2019) e soja (*Glycine max*; LIU et al., 2016). Entretanto, permanecem desconhecidas potenciais funções e características dessa família gênica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata*).

O feijão-caupi é uma leguminosa cultivada amplamente em regiões tropicais e subtropicais (HENG et al., 2020). Tal cultura melhora a fertilidade do solo pela fixação de nitrogênio (KYEI-BOAHEN et al., 2017) e constitui uma importante fonte de proteínas, sendo considerada uma espécie-chave para a segurança nutricional, principalmente em regiões da África e América Latina (OHLSON et al., 2018; SPRIGGS et al., 2018). Devido a essa importância, grandes esforços na área de ômicas vêm sendo executados para tal espécie. Recentemente, foi disponibilizado o seu genoma de referência (LONARDI et al., 2019), ferramenta essencial para o entendimento da fisiologia dessa cultura sob estresses e identificação de genes com potencial biotecnológico. No Brasil, o *Cowpea Genomics Consortium* (CpGC) conta com transcriptomas (RNA-Seq) de linhagens tolerantes/resistentes submetidas a diferentes condições estressantes. Dentre os transcriptomas, destaca-se aquele oriundo da resposta da linhagem resistente ao processo de injúria mecânica seguida de inoculação do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Tal vírus é um dos principais agentes biológicos causador de perdas nas lavouras da leguminosa em questão (CRUZ; ARAGÃO, 2014).

Com o exposto observa-se que os dados em ômicas do CpGC, somados aos dados públicos do genoma de referência de feijão-caupi, representam uma rica fonte de informação biológica. Isso propicia estudar temas ainda não abordados por essa ótica em feijão-caupi. Dessa forma, o presente trabalho objetivou explorar dados em ômicas da referida espécie, examinando seu genoma de referência e o transcriptoma de resposta de uma linhagem resistente (IT85F-2687) sujeita à injúria mecânica seguida de inoculação do CABMV, focando-se exclusivamente na mineração de dados associados aos transportadores MATE. O presente trabalho fornece um avanço significativo na temática abordada, além de um ponto de partida para futuras pesquisas experimentais no feijão caupi.

Materiais e métodos

Identificação da família gênica MATE no genoma de referência de feijão-caupi

Proteínas MATE de *A. thaliana*, alocadas no banco de dados Uniprot/Swissprot (<https://www.uniprot.org/>), foram utilizadas como sondas para minerar, via BLASTp ($e\text{-value} \leq 1e^{-10}$), o proteoma putativo de feijão-caupi (GCF_004118075.1_ASM411807v1_protein.faa.gz) depositado no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). A partir das sequências proteicas recuperadas via análises de similaridade, que tiveram a confirmação de domínio (PF01554.18) pelo software HMMER web server (POTTER et al., 2018), recuperou-se os identificadores dos genes correspondentes, doravante denominadas VuMATEs - MATEs de *Vigna unguiculata*

As proteínas VuMATE tiveram suas hélices transmembrana preditas no TMHMM Server v. 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) e no Phobius (<http://phobius.sbc.su.se/>). A massa molecular e pontos isoelétricos foram computados com a ferramenta Compute pI/Mw no ExPASy server (<https://www.expasy.org/>). A predição da localização subcelular ocorreu no DeepLoc 1.0 (ALMAGRO ARMENTEROS et al., 2017), Plant-mSubP (SAHU; LOAIZA; KAUNDAL, 2020) e TargetP-2.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>).

Análise filogenética

O programa de alinhamento de sequências múltiplas MAFFT v7 (KATO; STANDLEY, 2013) alinhou sequências proteicas representativas de 68 VuMATEs e 53 MATEs previamente caracterizadas quanto a função em outras espécies de plantas (Tabela S1).

A construção da árvore filogenética aconteceu via software IQ-TREE (NGUYEN et al., 2015), pelo método maximum likelihood (ML), com 10000 réplicas de ultrafast bootstrap (UFBoot; HOANG et al., 2018), e modelo de evolução selecionado pelo software ModelFinder (LG+F+G4; KALYAANAMOORTHY et al., 2017), sendo a sua visualização executada no software FigTree v1.4.4 (<https://github.com/rambaut/figtree/>).

Para cada grupo formado na árvore resultante, identificou-se os VuMATEs potencialmente ortólogos aos caracterizados em *A. thaliana*, soja, *M. truncatula* e arroz (*Oryza sativa*) no Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>). Dentro da

plataforma, o resultado é gerado pelo software InParanoid (SONNHAMMER; ÖSTLUN, 2015). A associação dos IDs dos genes do banco de dados NCBI com os seus correspondentes no Phytozome foi realizada via BLASTp ($e\text{-value} \leq 1e^{-10}$).

Análise estrutural dos genes VuMATEs

A localização das regiões codificantes e regiões não-traduzidas dos transcritos representativos dos loci MATE de feijão-caupi foi extraída de arquivo GFF3, recuperado do NCBI, para visualização da estrutura gênica na plataforma online Gene Structure Display Server 2.0 (GSDS; HU et al., 2015). Os potenciais motivos conservados nas proteínas foram identificados via software Multiple Em for Motif Elicitation (MEME) (BAILEY; ELKAN, 1994), com os seguintes parâmetros: ‘comprimento do motivo’ entre 6 e 50, ‘distribuição do sítio’ entre zero ou uma ocorrência por sequência e ‘número máximo de motivos’ igual a 20.

Além do exposto, para verificar o compartilhamento de resíduos conservados sugeridos como importantes para a atividade de transporte em MATEs com estrutura definida, realizou-se alinhamento via software MAFFT das VuMATEs com três proteínas MATE, uma de eucarioto de *A. thaliana* (AtDTX14; eMATE UniProt ID Q9C994) e duas de procariotos, incluindo uma de *Vibrio cholerae* (NorM-VC; NorM, PDB ID 3MKT) e uma de *Pyrococcus furiosus* (PfMATE; DinF, PDB ID 3VVN).

Localização cromossômica e duplicação gênica

O mapa de localização dos genes nos cromossomos foi gerado com a ferramenta TBtools (CHEN et al., 2020), a partir das coordenadas do arquivo GFF. Os membros MATE foram nomeados de VuMATE1 a VuMATE68 com base em suas localizações cromossômicas. O software Multiple Collinearity Scan (MCScanX; WANG et al., 2012) foi usado para a análise de duplicação gênica, baseada nos resultados do BLASTp ($e\text{-value}$ de corte $1e^{-20}$) e arquivo de anotação GFF, com parâmetros padrão.

As relações de microssintenia da família gênica em estudo foram visualizadas na ferramenta TBtools (CHEN et al., 2020). Por fim, estimou-se, também via TBtools, as taxas de substituições não sinônimas (Ka) e sinônimas (Ks) para os pares de genes duplicados em feijão-caupi.

Predição de sítios de ligação a fatores de transcrição em promotores VuMATEs

Regiões promotoras (1500 pb anterior a base +1) dos VuMATEs foram escaneadas no PlantRegMap (TIAN et al., 2020). Nessa plataforma, empregou-se a ferramenta *Binding Site Prediction* ($p\text{-value} \leq 1e^{-5}$) para prever os potenciais sítios de ligação a fatores de transcrição (FTs), utilizando os motivos de ligação a FTs projetados para *Vigna angularis*, devido à ausência de dados para a espécie analisada.

Origem dos dados RNA-Seq e anotação dos VuMATEs

Os dados do experimento do RNA-Seq e montagem do transcriptoma estão disponíveis em Ferreira-Neto et al. (2021). Neste estudo, foram utilizados os dados das 12 bibliotecas do ensaio de injúria mecânica seguida da inoculação de CABMV. Em resumo, as folhas de genótipo IT85F-2687 de feijão-caupi resistente ao CABMV (OLIVEIRA et al., 2012) foram injuriadas com carborundum (carbeto de silício) e inoculadas com o CABMV. Após 1 hora (h) e 16 h da aplicação do estresse, as folhas foram coletadas e mantidas em freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a extração de RNA total com o kit SV Total RNA Isolation System (Promega, Estados Unidos). As amostras de RNA íntegras ($\text{RIN} \geq 8$) foram usadas para gerar as bibliotecas RNA-Seq. O sequenciamento foi realizado em plataforma Illumina HiSeq[®] 2500 (*Paired-end* 100 bp) no Centro de Genômica Funcional da Universidade de São Paulo (Piracicaba, Brasil). As reads foram avaliadas quanto a qualidade e aquelas de alta qualidade ($\text{Phred} \geq 30$) foram montadas *de novo* com o projeto GenPipes (BOURGEY et al., 2019). As métricas do RNA-Seq foram relatadas anteriormente por Ferreira-Neto et al. (2021).

Expressão diferencial dos transcritos e anotação dos VuMATEs

A análise de expressão diferencial dos transcritos foi executada pela ferramenta edgeR (ROBINSON; MCCARTHY; SMYTH, 2010) e refletiu os efeitos da ação combinada da injúria mecânica e inoculação viral. Transcritos com $p\text{-value} \leq 0,001$, taxa de falsa descoberta ($\text{FDR} \leq 0,05$) e $\text{Log}_2\text{FoldChange}$ (Log_2FC) ≥ 1 (induzidos) ou ≤ -1 (reprimidos) foram considerados significativamente diferencialmente expressos.

Os transcritos foram identificados via BLASTn ($e\text{-value} \leq 1e^{-20}$) contra os transcritos do transcriptoma de referência de feijão-caupi, alocado na base de dados

NCBI (montagem GCF_004118075.1). Posteriormente, resgatou-se os transcritos com alinhamento *plus/plus* que apresentaram *best hit* com transportadores MATE.

Desenho de primers e PCR quantitativa em tempo real (qPCR)

A expressão de cinco transcritos induzidos foi mensurada por qPCR. Para tal, usou-se três repetições biológicas e técnicas por amostra, visando garantir a confiabilidade estatística do processo. Os pares de primers propostos foram desenhados por meio do software *online* Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>), com os seguintes parâmetros: temperatura de *melting* de 58-62 °C (ótimo de 60 °C), extensão do primer de 20-24 pb (ótimo 22 pb), conteúdo GC de 45-55% (ótimo 50%) e extensão do amplicon de 80-150 pb (Tabela S2). A eficiência de amplificação ($E = 10^{(-1/\text{slope})-1}$) dos pares de primers foi determinada a partir de uma curva padrão de cinco pontos gerada por diluições seriadas de cDNA, em triplicatas técnicas. Primers com eficiências de amplificação entre 90% e 110% foram aceitos para análises de qPCR.

As reações de qPCR foram conduzidas em termociclador LineGene 9660 (Bioer, Bioer, Hangzhou, China) e preparadas para um volume total de 10 µL, contendo: 1 µL de cDNA 10x diluído, 5 µL de SYBR Green (GoTaq® qPCR Master Mix, Promega), 0,3 µL de cada primer e 3,4 µL de água livre de nucleases. A ciclagem da PCR foi configurada para uma desnaturação inicial a 95 °C durante 2 minutos, seguido por 40 ciclos de 95 °C durante 15 segundos e 60 °C durante 60 segundos. Após amplificação, foram produzidas curvas de dissociação (60-95 °C) para confirmar a especificidade dos amplicons obtidos na qPCR.

β -TUB (AMORIM et al., 2018) e UBIQ10 (AMORIM et al., 2018; FERREIRA-NETO et al., 2021) foram selecionados como genes de referência para normalização dos dados da qPCR. O software Relative Expression Software Tool (REST 2009 v.2.0.13, PFAFFL; HORGAN; DEMPFLER, 2002) foi usado para análise de expressão relativa dos genes alvos, utilizando a randomização e bootstrapping de 10000 interações. Utilizou-se teste de hipótese ($p < 0,05$) para determinar se as diferenças na expressão dos genes alvos nas condições controle e tratadas foram significativas.

Resultados

Identificação da família gênica MATE

Um total de 68 possíveis genes codificadores de transportadores MATE (VuMATE) foi identificado no genoma de feijão-caupi, com alguns deles apresentando transcritos alternativos (Tabela S3). Esses genes codificam proteínas compostas de 201 (VuMATE45 e VuMATE45) a 567 (VuMATE56 e VuMATE64) aminoácidos, com pontos isoelétricos (pI) preditos entre 4,94 (VuMATE14) e 9,59 (VuMATE64) e pesos moleculares (Mw) previstos de 22,95 (VuMATE53) a 61,89 (VuMATE64) kDa (Tabela S3).

O número de hélices transmembrana (TMs) preditos via TMHMM alternou entre 3 e 12, com a maioria das proteínas apresentando de 10 a 12 TMs (Tabela S3). Análise adicional no Phobius apontou a presença de 4 a 13 TMs, com predomínio de 12 TMs (Tabela S3). A maioria dos transportadores VuMATE foram preditos para a estrutura subcelular lisossomo/vacúolo pelo DeepLoc. A análise no Plant-mSubP apontou os VuMATEs em cinco localizações subcelulares, com a maioria deles preditos na membrana plasmática (Tabela S3). Uma pequena proporção, inferida nos cloroplastos, teve suas localizações confirmadas pelas pré-sequências N-terminais, luTP (*thylakoid luminal transit peptide*) e cTP (*chloroplast transit peptide*), preditas pelo TargetP (Tabela S3).

Análise filogenética com MATEs caracterizados

Árvore filogenética das proteínas VuMATEs, juntamente a transportadores MATE funcionalmente caracterizadas em diversas outras espécies, foi construída para explorar possíveis funções dessa família gênica em feijão-caupi. Tal análise resultou na identificação de quatro grupos, nomeados G1, G2, G3 e G4 (Figura 1). Dentro desses grupos, alguns VuMATEs foram identificados como ortólogos de MATEs funcionalmente caracterizados, permitindo-se intuir suas potenciais funções.

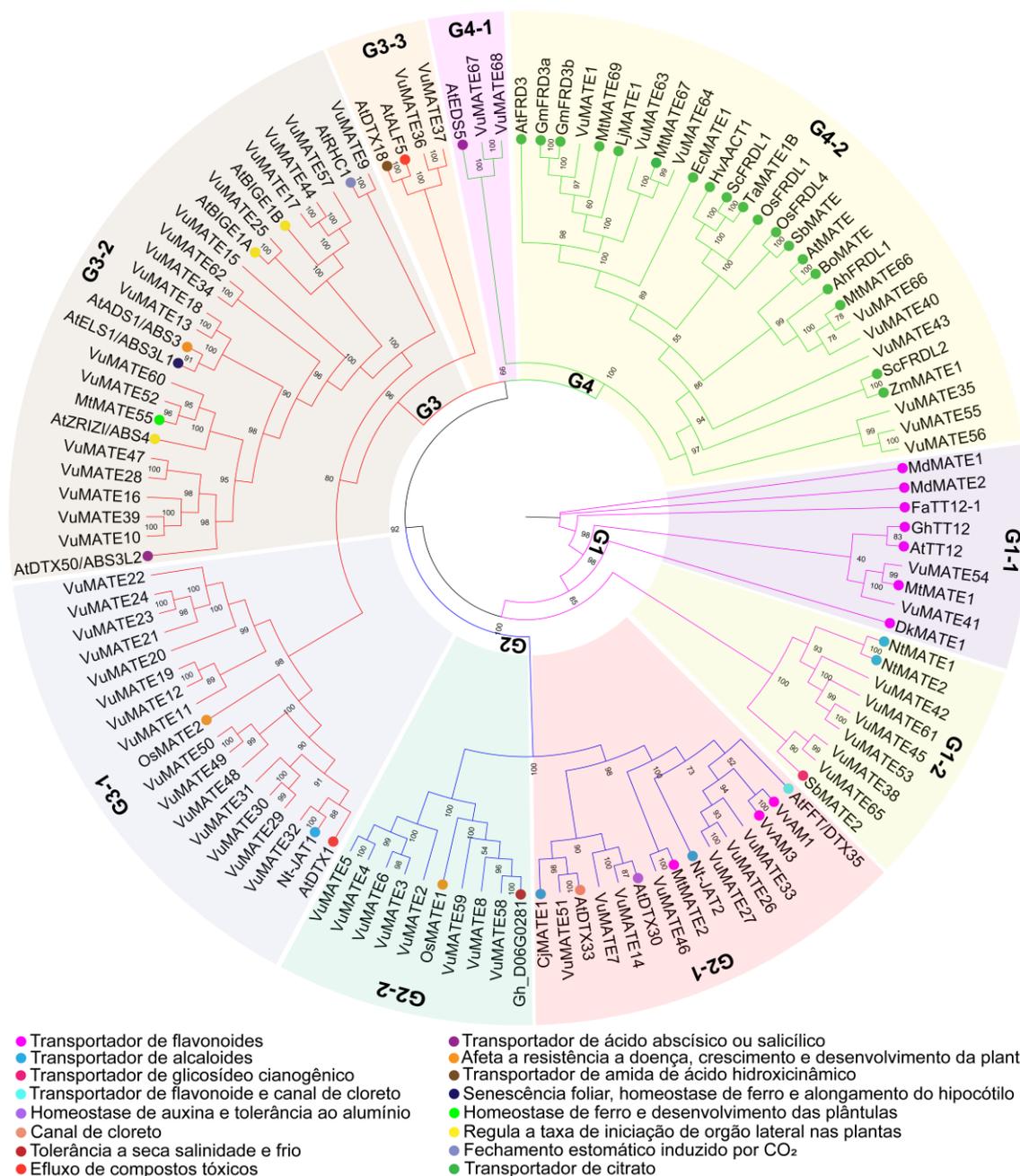
O primeiro grupo consistiu em oito VuMATEs e 10 transportadores MATE caracterizados previamente, distribuídos em dois subgrupos, identificados como G1-1 e G1-2 (Figura 1). O primeiro subgrupo compôs-se com dois VuMATEs (VuMATE54 e VuMATE51) e outros sete transportadores MATE relacionados ao transporte de flavonoides. No segundo subgrupo, observou-se seis VuMATEs e três transportadores associados a translocação de alcaloides ou glicosídeos cianogênicos. O segundo grupo compôs-se com 25 proteínas, podendo ser

classificado em dois subgrupos, identificados como G2-1 e G2-2 (Figura 1). O subgrupo G2-1 consistiu em sete VuMATEs e oito transportadores MATE caracterizados, principalmente, na translocação de metabólitos secundários. O subgrupo G2-2 conteve oito VuMATEs e outros dois transportadores MATE responsivos a estresse.

O clado G3 destacou-se como o maior agrupamento, com um total de 47 proteínas, podendo ser dividido em três subgrupos: G3-1, G3-2 e G3-3 (Figura 1). O primeiro subgrupo incluiu 15 VuMATEs e três transportadores MATE relacionados ao transporte de metabólitos secundários, desintoxicação de compostos ou resposta a estresse biótico. O segundo subgrupo foi composto por 17 VuMATEs e oito transportadores MATE de outras espécies relacionados principalmente ao crescimento e desenvolvimento vegetal. O terceiro subgrupo conteve VuMATE36, VuMATE37 e dois transportadores MATE associados ao transporte de metabólitos ou compostos tóxicos.

O grupo G4 compôs-se com 31 proteínas, sendo observado dois subgrupos dentro dele, G4-1 e G4-2 (Figura 1). O primeiro subgrupo consistiu em VuMATE67, VuMATE68 e AtEDS5 (ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 5), um transportador de fitormônio. O segundo subgrupo incluiu nove VuMATEs e 19 transportadores MATE ligados ao transporte de citrato (Figura 1).

Figura 1 - Filogenia da família MATE de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) com proteínas caracterizadas funcionalmente de diversas espécies.

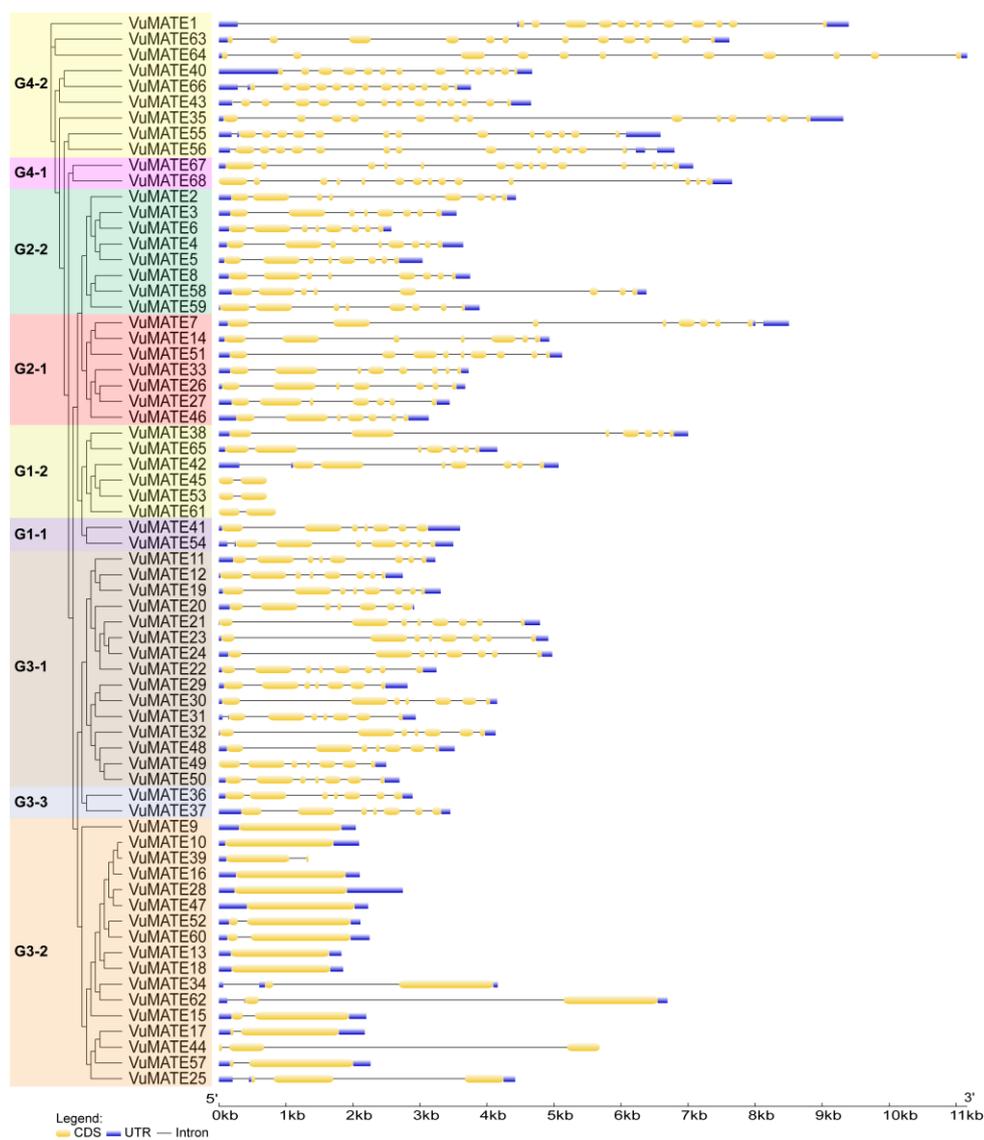


Estrutura dos genes e motivos das proteínas MATE

A análise estrutural dos VuMATEs permitiu a compreensão da sua diversidade. Entre os 68 putativos VuMATEs, sete não tiveram íntrons, enquanto os demais genes foram compostos de 1 a 15 íntrons, com a maioria (51,47%) exibindo 7 ou 8 éxons. Além disso, 89,71% dos genes apresentaram as regiões 5' e 3' não traduzidas (5' e 3' UTRs). Os genes de um mesmo grupo exibiram uma estrutura gênica mais similar em relação ao número de éxons e íntrons. Os grupos G4 e G2

incluíram genes constituídos por 12 a 16 éxons e 7 a 9 éxons, respectivamente. O grupo G1 e os subgrupos G3-1 e G3-3 compuseram-se de genes com 7 a 8 éxons, exceto VuMATE45 (2 éxons), VuMATE53 (2 éxons) e VuMATE61 (2 éxons). Por outro lado, o subgrupo G3-2 conteve genes compostos por poucos éxons (1 a 4 éxons) (Figura 2).

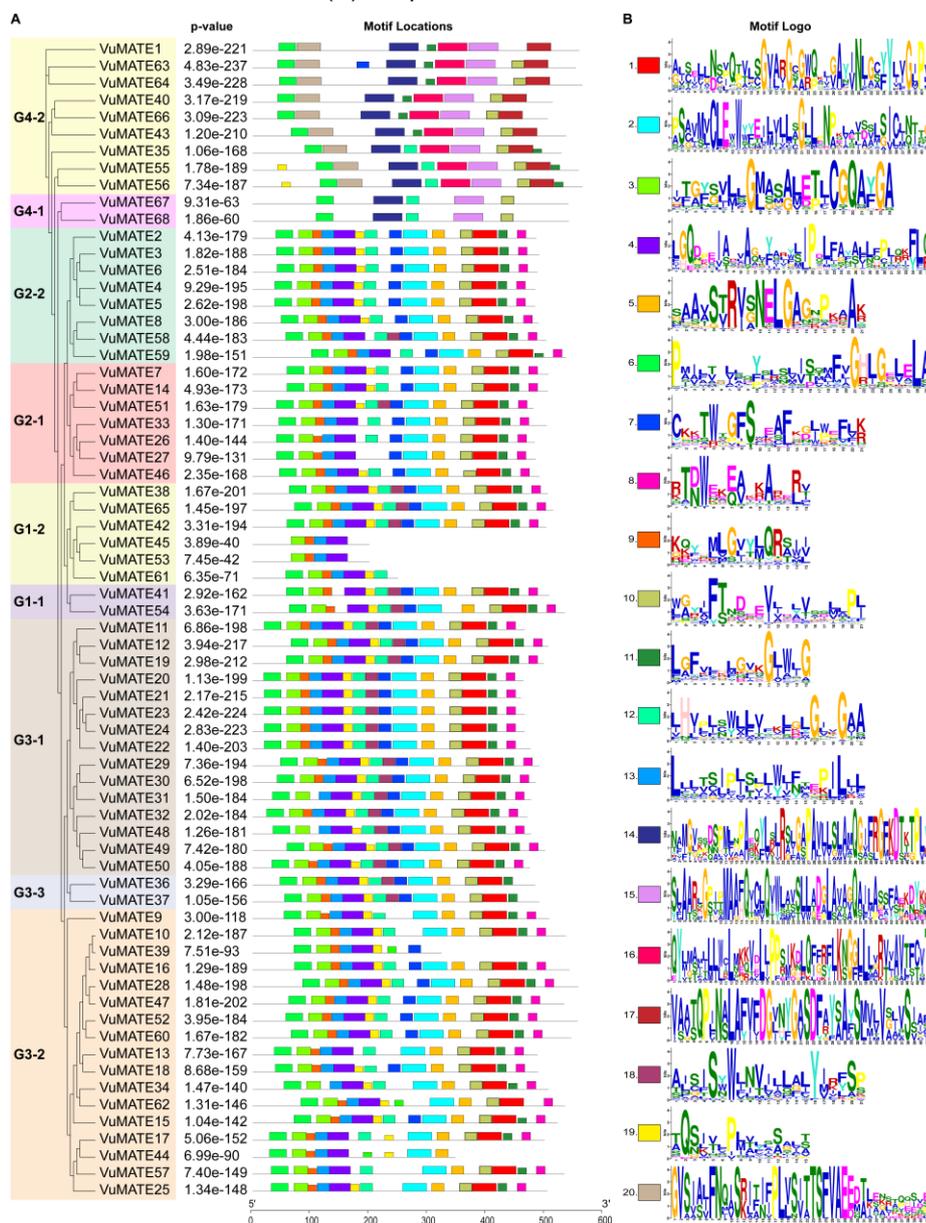
Figura 2 - Estrutura dos genes MATE de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). Caixas azuis e amarelas indicam as regiões não traduzidas e as sequências codificantes, respectivamente, e as linhas pretas representam os íntrons.



Os motivos conservados das proteínas contêm resíduos importantes para sua estrutura e função. As proteínas VuMATEs contiveram de 4 a 15 motivos. Em geral, o arranjo dos motivos dos grupos G1, G2 e G3 foram similares e substancialmente diferentes do grupo G4. As proteínas VuMATEs do grupo G4 frequentemente tiveram menos motivos, dos quais cinco exclusivos (motivos 14, 15, 16, 17 e 20). Por

outro lado, os motivos 3 e 4 apareceram unicamente em todas as proteínas dos grupos G1, G2 e G3. Os motivos 1, 2, 5, 8, 9 e 13 também foram encontrados somente nos grupos G1, G2 e G3, entretanto sua presença ou ausência variou entre as diferentes sequências proteicas (Figura 3).

Figura 3 - Motivos conservados encontrados nas proteínas MATE de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). (A) distribuição dos motivos nas proteínas VuMATEs. O comprimento das caixas coloridas é proporcional ao tamanho dos motivos. (B) Sequência de aminoácidos de cada motivo.



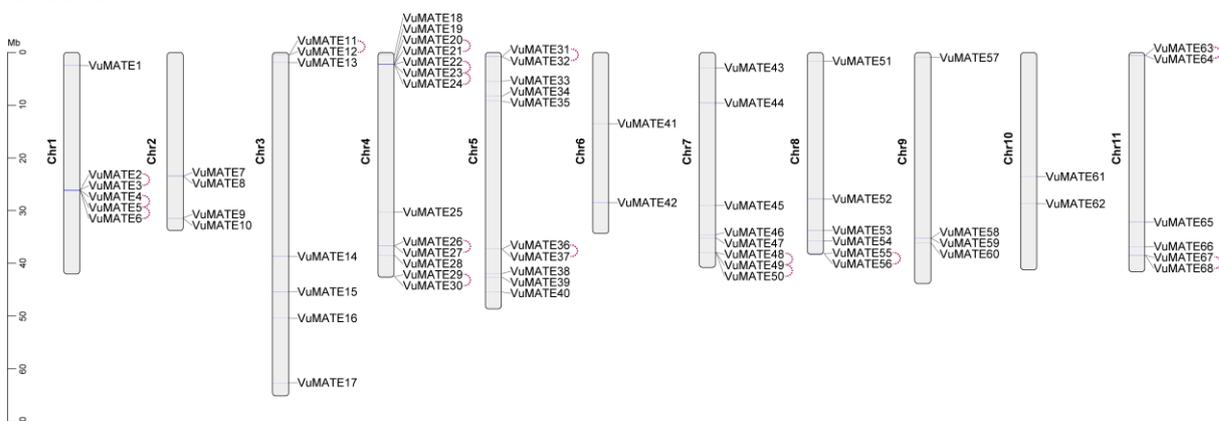
Além disso, na comparação das sequências de aminoácidos das proteínas VuMATEs com transportadores MATE de procaríotos e eucariotos mostrou a conservação naquelas relacionadas com transportadores de citrato (Grupo G4-2), exceto em VuMATE55 e VuMATE56, dos resíduos de ácido aspártico (D)

equivalentes ao D41 (D36 NorM-VC) e D184 em PfMATE, enquanto as VuMATEs associadas com os transportadores de outros compostos, como metabólitos secundários, com algumas exceções, mantiveram o resíduo de ácido glutâmico (E) correspondente ao E255 em Norm-VC (E265 em AtDTX14). Além disso, todas as VuMATEs dos grupos G1, G2 e G3 contiveram o resíduo de asparagina (N), correspondente ao N406 em AtDTX14, exceto VuMATE39, VuMATE44, VuMATE45, VuMATE53 e VuMATE61. Enquanto isso, os resíduos equivalentes ao triptofano (W) 266 e D383 de AtDTX14 (D371 NorM-VC) mostraram uma conservação grupo específica, sendo o primeiro e o segundo característicos dos subgrupos G3-2 e G3-1, respectivamente. O resíduo de glutamina (Q) equivalente ao Q443 em AtDTX14 apresentou-se bem conservado nas VuMATEs do grupo G2, G1 (exceto VuMATE45, VuMATE53 e VuMATE61) e G3-1 e G3-3 (Figure S3).

Distribuição cromossômica e duplicação gênica

Os VuMATEs tiveram suas posições nos cromossomos mapeadas com base nas coordenadas de localização do arquivo GFF. Sua distribuição se apresentou de maneira desigual em todos os 11 cromossomos de feijão-caupi. As maiores quantidades de genes foram localizadas nos cromossomos 4 (13 genes) e 5 (10 genes). Por outro lado, o menor número de genes foi encontrado nos cromossomos 6 e 10 (2 genes cada) (Figura 4).

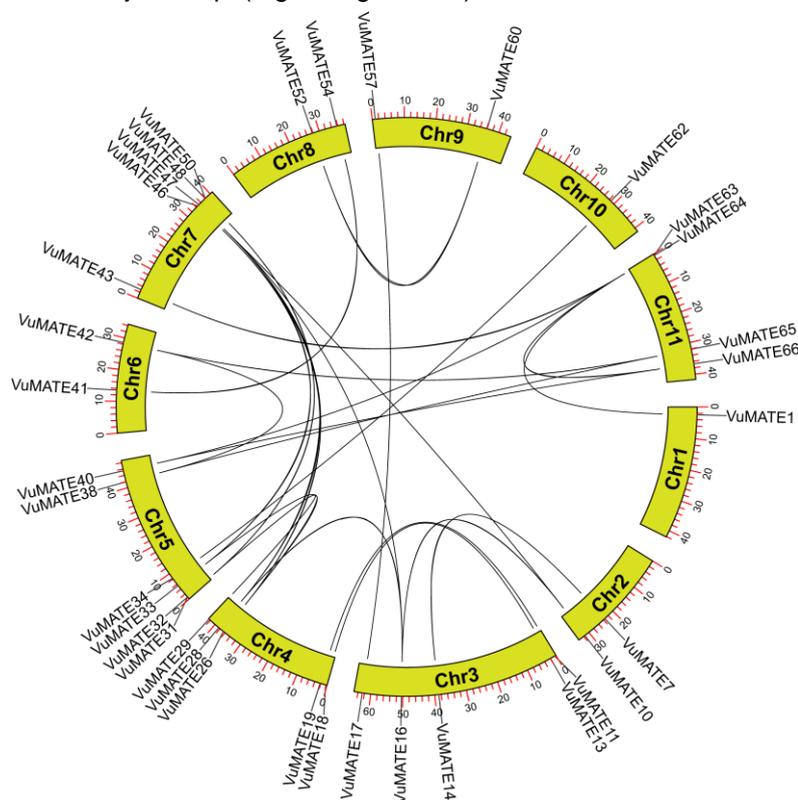
Figura 4 - Distribuição cromossômica dos VuMATEs em feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). A escala representa megabases (Mb). As linhas tracejadas identificam os pares de genes duplicados em tandem.



Eventos de duplicação gênica foram investigados na família MATE de feijão-caupi. Essa análise resultou na identificação de 55 genes envolvidos em eventos de

duplicação em tandem (16 pares de genes) e/ou segmental (26 pares de genes) (Figura 4 e Figura 5).

Figura 5 - Circos representado as relações entre os pares de genes com duplicações segmentais da família gênica MATE em feijão-caupi (*Vigna unguiculata*).

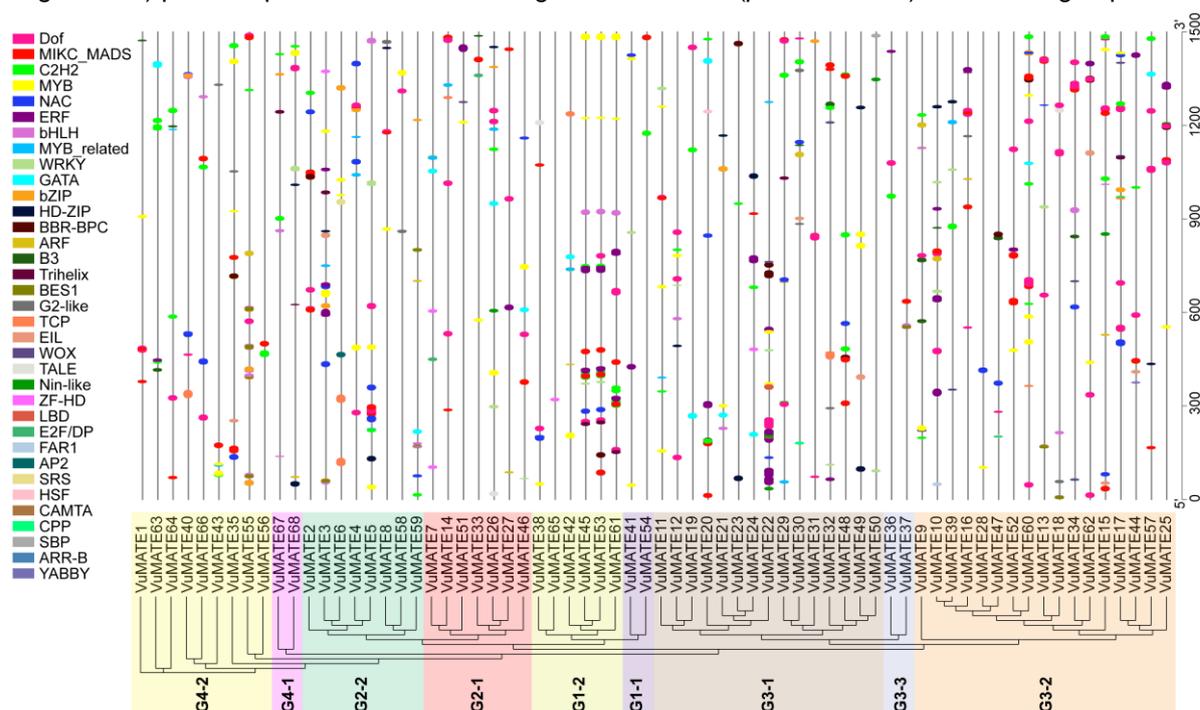


A razão Ka/Ks foi estimada para os pares de genes duplicados. Tal abordagem resultou nos valores de Ka/Ks variando de 0,09 a 0,31 (com média de 0,19) e de 0,16 a 0,45 (com média de 0,30) para os pares de genes com duplicação segmental e em tandem, respectivamente. Essa razão ka/ks menor que 1 para todos os pares de genes duplicados, sugere que os mesmos estão sob seleção purificadora (Tabela S4 e Tabela S5).

Fatores de transcrição associados a promotores VuMATEs

Os elementos regulatórios em *cis* identificados na região promotora (1500 bp) sugeriu os FTs que atuam na regulação de VuMATEs. Um total de 1324 sítios de ligação a 242 FTs (de 35 famílias) foram preditos a partir dos promotores dos 68 VuMATEs. As famílias Dof, MIKC_MADS, C2H2, MYB e NAC foram as mais abundantes, com sítios de ligação nos promotores de 44, 41, 38, 36 e 25 VuMATEs, respectivamente (Figura 6 e Tabela S6).

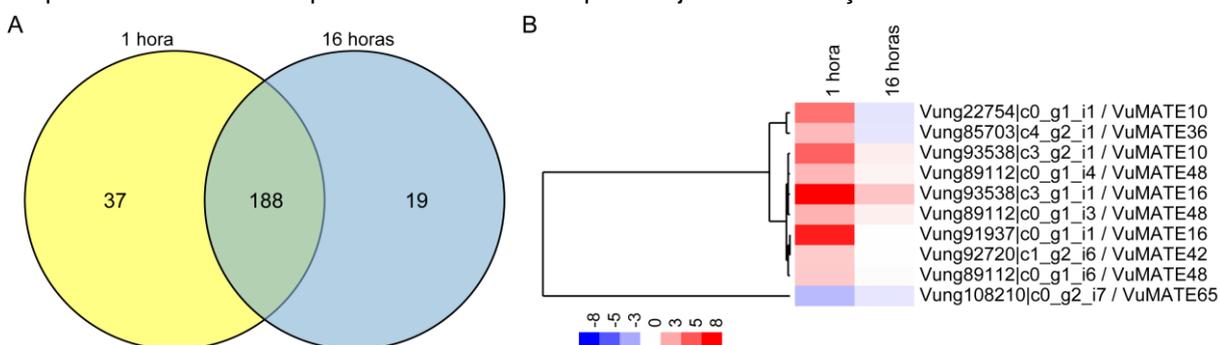
Figura 6 - Sítios de ligação a FTs nos promotores dos genes MATE de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) preditos pela ferramenta Binding Site Prediction ($p\text{-value} \leq 1e^{-5}$) no PlantRegMap.



Expressão dos VuMATEs em feijão-caupi sob estresse

A expressão dos VuMATEs foi investigada nas bibliotecas RNA-Seq geradas de folhas de feijão-caupi após 1 h e 16 h da injúria seguida da inoculação de CABMV. Os dados revelaram a expressão de 244 transcritos associados a 54 *loci* VuMATEs. A maioria dos transcritos (188) foram expressos em ambos os tempos analisados. Além disso, 37 e 19 transcritos foram exclusivos das bibliotecas de 1 h e 16 h, respectivamente. Um total de 10 transcritos, associados a seis *loci* VuMATEs modulou os níveis de expressão significativamente ($p\text{-value} \leq 0,001$ e $FDR \leq 0,05$) na biblioteca de 1 h após a injúria seguida da inoculação viral, com 9 UR ($\text{Log}_2\text{FC} > 1$) e um DR ($\text{Log}_2\text{FC} < -1$) (Figura 7). Em 16 h, todos os transcritos foram detectados com expressão não alterada significativamente.

Figura 7 - Transcritos associados a transportadores MATE identificados nas bibliotecas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), obtidas das folhas injuriadas com inoculação do patógeno *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). A) Diagrama de Venn mostrando os transcritos compartilhados e exclusivos associados a transportadores MATE em 1 hora e 16 horas após a injúria e inoculação viral. B) Heatmap da clusterização hierárquica dos transcritos diferencialmente expressos (p -value $\leq 0,001$, FDR $\leq 0,05$, $\text{Log}_2\text{FC} \geq 1$ (indução, vermelho) ou ≤ -1 (repressão, azul)] em 1 hora e seus respectivos valores de expressão em 16 horas após a injúria e inoculação viral.



Validação por qPCR

O perfil de transcrição de cinco transcritos VuMATEs, quatro UR e um DR nas bibliotecas RNA-Seq do tratamento de 1 h, foi monitorado via qPCR. Os pares de *primers* apresentaram eficiências de amplificação aceitáveis (Tabela S2) e os amplicons esperados nas curvas de *melting* (Figura S1). Quatro dos transcritos (80%) tiveram a expressão UR confirmada na primeira hora de exposição das folhas de genótipo de feijão-caupi (resistente ao CABMV) a injúria e inoculação viral. Em 16 h após a injúria/inoculação viral, quatro transcritos tiveram o perfil de expressão não alterado significativamente, concordando com os dados do RNA-Seq, e um transcrito (VuMATE16), apresentou o *quantification cycle* (Cq) tardio e não amplificou em algumas réplicas, impossibilitando o cálculo estatístico (Tabela 1).

Tabela 1 - Expressão relativa dos transcritos via qPCR em 1 hora (h) e 16 h após a injúria seguida da inoculação de *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) nas folhas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*).

Transcrito	Gene	Tempo	Expressão	Std. Error	95% C.I.	P(H1)	Res
Vung22754 c0_g1_i1	VuMATE10	1 h	9,467	2,559 - 25,685	1,335 - 33,806	0,000	UR
		16 h	0,831	0,435 - 1,513	0,321 - 2,793	0,387	n.s.
Vung93538 c3_g1_i1	VuMATE16	1 h	61,796	21,617 - 148,308	10,852 - 474,508	0,000	UR
		1 h	1,873	1,259 - 2,662	0,875 - 5,667	0,001	UR
Vung89112 c0_g1_i6	VuMATE48	16 h	1,248	0,801 - 1,915	0,697 - 2,669	0,118	n.s.
		1 h	1,892	1,221 - 3,153	0,711 - 4,426	0,004	UR
Vung85703 c4_g2_i1	VuMATE36	16 h	0,849	0,567 - 1,280	0,408 - 1,564	0,244	n.s.
		1 h	0,914	0,577 - 1,406	0,415 - 2,069	0,565	n.s.
Vung108210 c0_g2_i7	VuMATE65	16 h	1,051	0,735 - 1,602	0,565 - 2,248	0,725	n.s.

P(H1), probabilidade de hipótese alternativa (a diferença entre as amostras dos grupos tratado e controle é devido ao acaso); Res, resultado; UR, induzido; n.s., expressão não significativa.

Discussão

O crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas são afetados por uma diversidade de estresses abióticos (como seca e salinidade) e bióticos (como vírus e insetos) (KUMAR et al., 2019). Em tais condições, os vegetais devem responder rapidamente para atenuar as perdas metabólicas e adaptar as suas condições de crescimento. Nesse contexto, os transportadores de membrana desenvolvem um papel essencial, promovendo o transporte de substâncias de defesa, íons e a desintoxicação celular (VISHWAKARMA et al., 2019).

No presente estudo, a prospecção desses transportadores de membrana resultou na identificação de 68 VuMATEs distribuídos nos 11 cromossomos de feijão-caupi e divididos em quatro grupos funcionais de acordo com a árvore filogenética. Estudos prévios têm confirmado a participação dos transportadores MATE em processos fisiológicos estreitamente relacionados às funções das proteínas caracterizadas com as quais agruparam-se (MIN et al., 2019; LIU et al., 2016). Dentro desses grupos funcionais, alguns VuMATEs configuram como ortólogos de genes MATE caracterizados, reforçando seu potencial a desenvolver funções fisiológicas similares a de tais genes.

Membros do primeiro grupo (G1) são candidatos ao transporte de metabólitos secundários, como flavonoides e alcaloides. Por exemplo, VuMATE54 é candidato a

realizar a função do seu ortólogo MtMATE1, que transloca preferencialmente epicatequina 3'-O-glicosídeo (ZHAO; DIXON, 2009). VuMATE54 e VuMATE41 são ortólogos de AtTT12, que transporta flavon-3-ols glicosilados e antocianinas (DEBEAUJON et al., 2001; MARINOVA et al., 2007). Membros do segundo grupo (G2) são candidatos a participar do transporte de metabólitos secundários, resposta a estresse e do desenvolvimento vegetal. VuMATE46 é candidato a desempenhar a função de MtMATE2 no transporte glicosídeos de flavonoides preferencialmente malonilados (ZHAO et al., 2011). VuMATE46 e VuMATE51 são ortólogos, respectivamente, de AtFFT/DTX35 e AtDTX33, que funcionam como canais de cloreto vacuolar para a regulação do turgor durante os movimentos estomáticos e o alongamento dos pelos radiculares (ZHANG et al., 2017). VuMATE14 é relacionado por ortologia ao AtDTX30, que modula os níveis de auxina no desenvolvimento radicular e promove a tolerância ao alumínio (UPADHYAY; KAR; DATTA, 2020). VuMATE8 e VuMATE58 talvez possam participar do desenvolvimento vegetal e afetar negativamente a resistência a doença como seu ortólogo OsMATE1 (TIWARI et al., 2014).

Membros do terceiro grupo (G3) são candidatos a participar principalmente do desenvolvimento vegetal. VuMATE48, VuMATE49 e VuMATE50 são relacionados por ortologia ao OsMATE2, que afeta o desenvolvimento e negativamente a resistência a doença (TIWARI et al., 2014). VuMATE52 talvez esteja associado no desenvolvimento, homeostase de ferro e sinalização hormonal como seu ortólogo MtMATE55 (WANG, J. et al., 2017). VuMATE52 e VuMATE60 são candidatos a participar da regulação da iniciação dos órgãos laterais como AtZRIZI/ABS4 (BURKO et al., 2011). VuMATE13 e VuMATE18 são coortólogos de AtELS1/ABS3L1 e AtADS1/ABS3, ambos relacionados com a alongação das células do hipocótilo e a senescência (WANG et al., 2015; WANG, Z. et al., 2016; JIA et al., 2019). Além disso, AtADS1/ABS3 regula os níveis de auxina em regiões meristemática e afeta negativamente a resistência a doença (LI et al., 2014; SUN et al., 2011). AtBIGE1A e AtBIGE1B, ambos relatados na regulação da iniciação dos órgãos laterais (SUZUKI et al., 2015), são ortólogos de VuMATE25 e de VuMATE17 e VuMATE57, respectivamente. VuMATE9 talvez participe da via de sinalização do dióxido de carbono (CO₂) para indução do fechamento estomático como AtRHC1 (TIAN et al., 2015). AtDTX18 e AtALF5 são coortólogos de VuMATE36 e VuMATE37 e estão relacionados a translocação de amidas de ácido hidrocínâmico (HCAAs,

DOBRITZSCH et al., 2016) e na proteção da raiz de compostos inibitórios (DIENER; GAXIOLA; FINK, 2001), respectivamente. Membros do quarto grupo (G4) são candidatos principalmente ao transporte de citrato. VuMATE1 é ortólogo de GmFRD3a, GmFRD3b e MtMATE69, que são envolvidos na translocação de ferro (Fe) (ROGERS et al., 2009; WANG, J. et al., 2017) e em conjunto com VuMATE63 e VuMATE64 constituem co-órtólogos de AtFRD3, igualmente relacionado a translocação de Fe (DURRETT; GASSMANN; ROGERS, 2007; ROGERS; GUERINOT, 2002). VuMATE40 talvez esteja associado a translocação de Fe e desintoxicação por alumínio (Al) como MtMATE66 (WANG, J. et al., 2017). VuMATE40 e VuMATE66 são coortólogos de AtMATE, transportador associado a desintoxicação por Al (LIU et al., 2009; LIU et al., 2012).

Em relação a estrutura dos genes, em geral, genes pertencentes ao mesmo grupo exibiram uma estrutura gênica similar. O subgrupo G3-3 exibiu estrutura muito diferente dos demais, com poucos ou nenhum íntron. Similarmente, em outras espécies de plantas, evidenciou-se um grupo de genes MATE com nenhum ou poucos íntrons, como em milho (*Zea mays*), *Gossypium raimondii* e *Gossypium arboreum*, e sugeriram que a perda ou o ganho de íntrons pode desenvolver um papel importante na expansão de membros dessa família gênica (LU et al., 2018; ZHU et al., 2016). Já em relação aos motivos conservados, os três primeiros grupos (G1, G2 e G3) apresentaram o arranjo estrutural dos motivos similares e divergiram substancialmente do grupo G4, que apresentou cinco motivos exclusivos. Inclusive, dentro desse grupo, os dois subgrupos também foram diferenciados por 3 motivos presentes somente no subgrupo G4-2, associado ao transporte de citrato, indicando sua divergência funcional em relação as demais proteínas.

Além disso, na comparação das sequências proteicas das VuMATEs com duas MATEs de procaríotos, PfMATE e NorM-VC, e uma de eucariotos, AtDTX14, para as quais alguns resíduos de aminoácidos foram evidenciados como importantes para a atividade de transporte, percebeu-se a divergência em relação aos aminoácidos conservados entre aquelas relacionadas com transportadores de citrato e as demais associadas a outros substratos. Em geral, as VuMATEs associadas a transportadores de citrato contiveram os resíduos de D41 (D36 NorM-VC) e D84 de PfMATE conservados, que são supostos como sítios de ligação ao H⁺ (NISHIMA et al., 2016; TANAKA et al., 2013). Doshi et al. (2017) demonstraram que a substituição de D127 (equivalente ao D36 em NorM-VC) por asparagina (N) em

SbMATE, um transportador de citrato, afetou o transporte de cátions orgânicos. Isso evidencia que esses resíduos conservados podem desempenhar um papel importante na atividade de transportadores em eucariotos. Os resíduos correspondentes E255 de NorM-VC (E265 em AtDTX14) e N406 de AtDTX14 demonstraram-se bem conservados nos grupos G1, G2 e G3, enquanto resíduos equivalentes ao W266 de AtDTX14, D371 de NorM-VC (D383 AtDTX14) e Q443 de AtDTX14 demonstraram uma conservação grupo específica. Jin et al. (2014) mostraram uma drástica redução de atividade em NorM-VC mutante com a substituição E255Q e o papel de D371 no acoplamento de prótons. Em AtDTX14, E265 ou D383 é suposto como provável sítio de protonação e os mutantes W266A, D383A e Q443A tiveram a atividade de transporte diminuída (MIYAUCHI et al., 2017). Tanaka et al. (2017) em uma análise filogenética de proteínas MATE de plantas e de procariotos encontraram transportadores de citrato mais relacionados aos MATEs DinF e os demais aos MATEs NorM.

A duplicação gênica é um evento comum em genomas de plantas, que contribui para o surgimento de novas funções e adaptação aos estresses (PANCHY; LEHTI-SHIU; SHIU, 2016). Além disso, tal fator é importante na expansão das famílias gênicas (ZU et al., 2019). Nesse estudo, 80,88% dos VuMATES foram identificados em duplicações em tandem e/ou segmentais. Similarmente, tais eventos foram considerados importantes na amplificação da família MATE de arroz, *A. thaliana* e *Populus trichocarpa* (LI et al., 2017; WANG, L. et al., 2016).

A regulação transcricional de genes específicos impacta diversos processos fisiológicos dos vegetais, incluindo a resposta a estresse e fitormônios (WANG, H. et al., 2017), dentre outros. Nesse processo, os FTs desenvolvem um papel fundamental, controlando as taxas de expressão de seus genes alvo por meio do reconhecimento e ligação direta a sequências específicas no DNA, ou indireta via interação proteína-proteína com um cofator (JONES; VANDEPOELE, 2020). Neste estudo, a diversidade de sítios de ligação a diferentes famílias de fatores de transcrição sinaliza a multifuncionalidade dessa família gênica. As famílias de FTs mais abundantes nos promotores dos VuMATES, incluindo Dof, MIKC_MADS, C2H2, MYB e NAC, afetam diversos processos fisiológicos associados ao crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como a resposta aos estresses abióticos e bióticos (AGARWAL; KHURANA, 2019; EWAS et al., 2017; SHEN et al., 2018; YANG et al., 2019; ZHAO et al., 2020). Por exemplo, plantas de tomate (*Solanum*

lycopersicum) superexpressando *Tomato Dof Daily Fluctuations 1* (TDDF1) tiveram a indução do florescimento precoce, bem como o aumento da tolerância a seca, salinidade e da resistência ao *Phytophthora infestans* (EWAS et al., 2017). *TaMADS* de trigo (*Triticum aestivum*) superexpresso em *A. thaliana* resultou no florescimento precoce e tolerância ao estresse térmico em relação ao crescimento e rendimento (AGARWAL; KHURANA, 2019). GhSTOP1, um FT do tipo C2H2, é fundamental para a iniciação da raiz lateral e tolerância aos estresses de próton e alumínio em *G. hirsutum* (KUNDU et al., 2019). Adicionalmente, FTs dessa família são relatados na regulação da expressão de genes MATE de tolerância ao alumínio (DASPUTE et al., 2018; LIU et al., 2009; SAWAKI et al., 2014). MdMYB58 de *Malus domestica* é induzido na deficiência de ferro, ligando-se ao promotor de *MdMATE43* para modular a homeostase de ferro (WANG et al., 2018). Esses estudos reforçam a atividade dos fatores de transcrição na regulação de genes MATE e a importância fisiológica dessa família gênica para as plantas em condições estressantes.

Este estudo evidencia a expressão de transcritos associados a 54 *loci* VuMATEs nas folhas de acesso de feijão-caupi resistente ao CABMV exposto ao estresse combinado de injúria seguida da inoculação viral (CABMV), a partir da análise de bibliotecas RNA-Seq. Os VuMATEs tiveram sua expressão induzida no tempo precoce, 1 h após a aplicação dos estímulos, sugerindo que essa classe de transportadores são importantes do processo de resposta inicial a esses estresses. A qPCR confirmou a indução de quatro transcritos (VuMATE10, VuMATE16, VuMATE36 e VuMATE48) dos cinco alvos selecionados na primeira hora da injúria e inoculação viral, bem como sua posterior expressão constitutiva no tratamento de 16 h. A indução de genes MATE também foi observada em soja (também leguminosa) 2 h após a inoculação de *Soybean mosaic virus* (DEMERS et al., 2020), reforçando a importância desses transportadores na resposta inicial a patógenos. Em síntese, a resposta encontrada nesse estudo, mostra a participação de genes MATE na resposta vegetal precoce ao estresse analisado.

Conclusões

O presente estudo realizou a primeira abordagem em ômicas (caracterização genômica e transcriptômica) de transportadores MATE em feijão-caupi. Os VuMATEs apresentam uma notável variação na estrutura gênica e de motivos, sugerindo sua importância e multifuncionalidade para as plantas. As duplicações em tandem e segmentais são as principais contribuintes para a expansão dos VuMATEs. A filogenética associada à ortologia apontou alguns VuMATEs como excelentes candidatos a processos fisiológicos diversos em feijão-caupi. Os dados de transcriptômica de feijão-caupi em resposta à injúria seguida da inoculação viral, bem como sua confirmação por qPCR, revelam a modulação diferencial significativa dos VuMATEs de forma tempo-específica, evidenciando sua participação no processo de resposta precoce ao estresse composto analisado.

Referências

AGARWAL, P.; KHURANA, P. Overexpression of *TaMADS* from wheat promotes flowering by upregulating expression of floral promoters and provides protection against thermal stress. **Plant Gene**, v. 17, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2018.100168>

ALMAGRO ARMENTEROS, J. J.; SØNDERBY, C. K.; SØNDERBY, S. K.; NIELSEN, H.; WINTHER, O. DeepLoc: prediction of protein subcellular localization using deep learning. **Bioinformatics**, v. 33, n. 21, p. 3387-3395, 2017. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx431>

AMORIM, L. L. B.; FERREIRA-NETO, J. R. C.; BEZERRA-NETO, J. P.; PANDOLFI, V.; ARAÚJO, F. T.; MATOS, M. K. S.; SANTOS, M. G.; KIDO, E. A.; BENKO-ISEPPON, A. M. Cowpea and abiotic stresses: identification of reference genes for transcriptional profiling by qPCR. **Plant Methods**, v. 14, n. 1, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0354-z>

BAILEY, T. L.; ELKAN, C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in bipolymers. **Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology**, v. 2, p. 28-36, 1994.

BRUNETTI, C.; DI FERDINANDO, M.; FINI, A.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 2, p. 3540-3555, 2013. <https://doi.org/10.3390/ijms14023540>

BOURGEY, M.; DALI, R.; EVELEIGH, R.; CHEN, K. C.; LETOURNEAU, L.; FILLON, J.; MICHAUD, M.; CARON, M.; SANDOVAL, J.; LEFEBVRE, F.; LEVEQUE, G.; MERCIER, E.; BUJOLD, D.; MARQUIS, P.; VAN, P. T.; MORAIS, D. A. L.;

TREMBLAY, J.; SHAO, X.; HENRION, E.; GONZALEZ, E.; QUIRION, P.-O.; CARON, B.; BOURQUE, G. GenPipes: an open-source framework for distributed and scalable genomic analyses. **Gigascience**, v. 8, n. 6, p. giz037, 2019. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz037>

BURKO, Y.; GEVA, Y.; REFAEL-COHEN, A.; SHLEIZER-BURKO, S.; SHANI, E.; BERGER, Y.; HALON, E.; CHUCK., G.; MOSHELION, M.; ORI, N. From organelle to organ: ZRIZI MATE-Type transporter is an organelle transporter that enhances organ initiation. **Plant and Cell Physiology**, n. 52, n. 3, p. 518-527, 2011. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr007>

CANIATO, F. F.; HAMBLIN, M. T.; GUIMARAES, C. T.; ZHANG, Z.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHAES, J. V. Association mapping provides insights into the origin and the fine structure of the *sorghum* aluminum tolerance locus, Alt SB. **PLoS One**, 9, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087438>

CHEN, C.; CHEN, H.; ZHANG, Y.; THOMAS, H. R.; FRANK, M. H.; HE, Y.; XIA, R. TBtools-an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. **Molecular Plant**, v. 13, n. 8, p. 1194-1202, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>

CHEN, S.-Y.; TANG, Y.-M.; HU, Y.-Y.; WANG, Y.; SUN, B.; WANG, X.-R.; TANG, H.-R.; CHEN, Q. *FaTT12-1*, a multidrug and toxin extrusion (MATE) member involved in proanthocyanidin transport in strawberry fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 231, p. 158-165, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.032>

CRUZ, A. R. R.; ARAGÃO, F. J. L. RNAi-based enhanced resistance to *Cowpea severe mosaic virus* and *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in transgenic cowpea. **Plant Pathology**, v. 63, n. 4, p. 831-837, 2014. <https://doi.org/10.1111/ppa.12178>

DASPUTE, A. A.; KOBAYASHI, Y.; PANDA, S. K.; FAKRUDIN, B.; KOBAYASHI, Y.; TOKIZAWA, M.; IUCHI, S.; CHOUDHARY, A. K.; YAMAMOTO, Y. Y.; KOYAMA, H. Characterization of CcSTOP1; a C2H2-type transcription factor regulates Al tolerance gene in pigeonpea. **Planta**, v. 247, n. 1, p. 201-214, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2777-6>

DEBEAUJON, I.; PEETERS, A. J.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K. M.; KOORNNEEF, M. The TRANSPARENT TESTA12 gene of *Arabidopsis* encodes a multidrug secondary transporter-like protein required for flavonoid sequestration in vacuoles of the seed coat endothelium. **The Plant Cell**, v. 13, n. 4, p. 853-871, 2001. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.4.853>

DEMERS, L. C.; REDEKAR, N. R.; KACHROO, A.; TOLIN, S. A.; LI, S.; SAGHAI MAROOF, M. A. A transcriptional regulatory network of Rsv3-mediated extreme resistance against *Soybean mosaic virus*. **PloS One**, v. 15, n. 4, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231658>

DIENER, A. C.; GAXIOLA, R. A.; FINK, G. R. *Arabidopsis* ALF5, a multidrug efflux transporter gene family member, confers resistance to toxins. **The Plant Cell**, v. 13, n. 7, p. 1625-1638, 2001. <https://doi.org/10.1105/TPC.010035>

DOBRITZSCH, M.; LÜBKEN, T.; ESCHEN-LIPPOLD, L.; GORZOLKA, K.; BLUM, E.; MATERN, A.; MARILLONNET, S.; BÖTTCHER, C.; DRÄGER, B.; ROSAHL, S. MATE transporter-dependent export of hydroxycinnamic acid amides. **The Plant Cell**, v. 28, n. 2, p. 583-596, 2016. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00706>

DONG, B.; NIU, L.; MENG, D.; SONG, Z.; WANG, L.; JIAN, Y.; FAN, X.; DONG, M.; YANG, Q.; FU, Y. Genome-wide analysis of MATE transporters and response to metal stress in *Cajanus cajan*. **Journal of Plant Interactions**, v. 14, p. 265-275, 2019. <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1620884>

DOSHI, R.; MCGRATH, A. P.; PIÑEROS, M.; SZEWCZYK, P.; GARZA, D. M.; KOCHIAN, L. V.; CHANG, G. Functional characterization and discovery of modulators of SbMATE, the agronomically important aluminium tolerance transporter from *Sorghum bicolor*. **Scientific Reports**, v. 7, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18146-8>

DURRETT, T. P.; GASSMANN, W.; ROGERS, E. E. The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation. **Plant Physiology**, v. 144, n. 1, p. 197-205, 2007. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097162>

EWAS, M.; KHAMES, E.; ZIAF, K.; SHAHZAD, R.; NISHAWY, E.; ALI, F.; SUBTHAIN, H.; AMAR, M. H.; AYAAD, M.; GHALY, O.; LUO, J. The tomato DOF daily fluctuations 1, TDDF1 acts as flowering accelerator and protector against various stresses. **Scientific Reports**, v. 7, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10399-7>

FERREIRA-NETO, J. R. C.; BORGES, A. N. C.; SILVA, M. D.; MORAIS, D. A. L.; BEZERRA-NETO, J. P.; BOURQUE, G.; KIDO, E. A.; BENKO-ISEPPON, A. M. The Cowpea Kinome: Genomic and Transcriptomic Analysis Under Biotic and Abiotic Stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.667013>

HENG, T.; KAGA, A.; CHEN, X.; SOMTA, P. Two tightly linked genes coding for NAD-dependent malic enzyme and dynamin-related protein are associated with resistance to *Cercospora* leaf spot disease in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 2, p. 395-407, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03470-6>

HOANG, D. T.; CHERNOMOR, O.; VON HAESELER, A.; MINH, B. Q.; VINH, L. S. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 2, p. 518-522, 2018. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>

HU, B.; JIN, J.; GUO, A.-Y.; ZHANG, H.; LUO, J.; GAO, G. GSDB 2.0: an upgraded gene feature visualization server. **Bioinformatics**, v. 31, n. 8, p. 1296-1297, 2015. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu817>

JIA, M.; LIU, X.; XUE, H.; WU, Y.; SHI, L.; WANG, R.; CHEN, Y.; XU, N.; ZHAO, J.; SHAO, J.; QI, Y.; NA, L.; SHEEN, J.; YU, F. Noncanonical ATG8–ABS3 interaction controls senescence in plants. **Nature Plants**, v. 5, n. 2, p. 212-224, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0348-x>

JIN, Y.; NAIR, A.; VAN VEEN, H. W. Multidrug transport protein NorM from *Vibrio cholerae* simultaneously couples to sodium-and proton-motive force. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 21, p. 14624-14632, 2014. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.546770>

JONES, D. M.; VANDEPOELE, K. Identification and evolution of gene regulatory networks: Insights from comparative studies in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 54, p. 42-48, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.12.008>

KALYAANAMOORTHY, S.; MINH, B. Q.; WONG, T. K. F.; VON HAESELER, A.; JERMIIN, L. S. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nature Methods**, v. 14, n. 6, p. 587-589, 2017. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 4, p. 772-780, 2013. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

KUMAR, A.; PATEL, J. S.; MEENA, V. S.; SRIVASTAVA, R. Recent advances of PGPR based approaches for stress tolerance in plants for sustainable agriculture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101271>

KUNDU, A.; DAS, S.; BASU, S.; KOBAYASHI, Y.; KOBAYASHI, Y.; KOYAMA, H.; GANESAN, M. *GhSTOP1*, a C2H2 type zinc finger transcription factor is essential for Aluminum and proton stress tolerance and lateral root initiation in cotton. **Plant Biology**, v. 21, p. 35-44, 2019. <https://doi.org/10.1111/plb.12895>

KYEI-BOAHEN, S.; SAVALA, C. E.; CHIKOYE, D.; ABAIDOO, R. Growth and yield responses of cowpea to inoculation and phosphorus fertilization in different environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00646>

LI, N.; MENG, H.; XING, H.; LIANG, L.; ZHAO, X.; LUO, K. Genome-wide analysis of MATE transporters and molecular characterization of aluminum resistance in *Populus*. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 20, p. 5669-5683, 2017. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx370>

LI, R.; LI, J.; LI, S.; QIN, G.; NOVÁK, O.; PĚNČÍK, A.; LJUNG, K.; AOYAMA, T.; LIU, J.; MURPHY, A.; GU, H.; TSUGE, T.; QU, L.-J. ADP1 affects plant architecture by regulating local auxin biosynthesis. **PLoS Genetics**, v. 10, n. 1, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003954>

LIU, J.; LI, Y.; WANG, W.; GAI, J.; LI, Y. Genome-wide analysis of MATE transporters and expression patterns of a subgroup of MATE genes in response to aluminum toxicity in soybean. **BMC genomics**, v. 17, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2559-8>

LIU, J.; LUO, X.; SHAFF, J.; LIANG, C.; JIA, X.; LI, Z.; MAGALHAES, J.; KOCHIAN, L. V. A promoter-swap strategy between the AtALMT and AtMATE genes increased

Arabidopsis aluminum resistance and improved carbon-use efficiency for aluminum resistance. **The Plant Journal**, v. 71, n. 2, p. 327-337, 2012.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04994.x>

LIU, J.; MAGALHAES, J. V.; SHAFF, J.; KOCHIAN, L. V. Aluminum-activated citrate and malate transporters from the MATE and ALMT families function independently to confer *Arabidopsis* aluminum tolerance. **The Plant Journal**, v. 57, n. 3, p. 389-399, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03696.x>

LONARDI, S.; MUÑOZ-AMATRIAÍN, M.; LIANG, Q.; SHU, S.; WANAMAKER, S. I.; LO, S.; TANSKANEN, J.; SCHULMAN, A. H.; ZHU, T.; LUO, M.-C.; ALHAKAMI, H.; OUNIT, R.; HASAN, A. MD.; VERDIER, J.; ROBERTS, P. A.; SANTOS, J. R. P.; NDEVE, A.; DOLEŽEL, J.; VRÁNA, J.; HOKIN, S. A.; FARMER, A. D.; CANNON, S. B.; CLOSE, T. J. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). **The Plant Journal**, v. 98, n. 5, p. 767-782. <https://doi.org/10.1111/tpj.14349>.

LU, P.; MAGWANGA, R. O.; GUO, X.; KIRUNGU, J. N.; LU, H.; CAI, X.; ZHOU, Z.; WEI, Y.; WANG, X.; ZHANG, Z.; PENG, R.; WANG, K.; LIU, F. Genome-wide analysis of multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family in *Gossypium raimondii* and *Gossypium arboreum* and its expression analysis under salt, cadmium, and drought stress. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 8, n. 7, p. 2483-2500, 2018. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200232>

LU, P.; MAGWANGA, R. O.; KIRUNGU, J. N.; HU, Y.; DONG, Q.; CAI, X.; ZHOU, Z.; WANG, X.; ZHANG, Z.; HOU, Y.; WANG, K.; LIU, F. Overexpression of cotton a DTX/MATE gene enhances drought, salt, and cold stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00299>

MARINOVA, K.; POURCEL, L.; WEDER, B.; SCHWARZ, M.; BARRON, D.; ROUTABOUL, J. M.; DEBEAUJON, I.; KLEIN, M. The *Arabidopsis* MATE transporter TT12 acts as a vacuolar flavonoid/H⁺-antiporter active in proanthocyanidin-accumulating cells of the seed coat. **The Plant Cell**, v. 19, n. 6, p. 2023-2038, 2007. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046029>

MIN, X.; JIN, X.; LIU, W.; WEI, X.; ZHANG, Z.; NDAYAMBAZA, B.; WANG, Y. Transcriptome-wide characterization and functional analysis of MATE transporters in response to aluminum toxicity in *Medicago sativa* L. **PeerJ**, v. 7, 2019. <https://doi.org/10.7717/peerj.6302>

MIYAUCHI, H.; MORIYAMA, S.; KUSAKIZAKO, T.; KUMAZAKI, K.; NAKANE, T.; YAMASHITA, K.; HIRATA, K.; DOHMAE, N.; NISHIZAWA, T.; ITO, K.; MIYAJI, T.; MORIYAMA, Y.; ISHITANI, R.; NUREKI, O. Structural basis for xenobiotic extrusion by eukaryotic MATE transporter. **Nature Communications**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01541-0>

NGUYEN, L.-T.; SCHMIDT, H. A.; VON HAESELER, A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 268-274, 2015. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>

NISHIMA, W.; MIZUKAMI, W.; TANAKA, Y.; ISHITANI, R.; NUREKI, O.; SUGITA, Y. Mechanisms for two-step proton transfer reactions in the outward-facing form of MATE transporter. **Biophysical Journal**, v. 110, n. 6, p. 1346-1354, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.01.027>

OHLSON, E. W.; THIO, G. I.; SAWADOGO, M.; SÉRÉMÉ, P.; TIMKO, M. P. Quantitative trait loci analysis of brown blotch resistance in cowpea variety KN1. **Molecular Breeding**, v. 38, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0867-1>

OLIVEIRA, C. R. R. D.; FREIRE FILHO, F. R.; NOGUEIRA, M. D. S. D. R.; BARROS, G. B.; EIRAS, M.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, Â. C. D. A. Reação de genótipos de feijão-caupi revela resistência às coinfeções pelo *Cucumber mosaic virus*, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* e *Cowpea severe mosaic virus*. **Bragantia**, v. 71, n. 1, p. 59-66, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052012005000007>

PANCHY, N.; LEHTI-SHIU, M.; SHIU, S. H. Evolution of gene duplication in plants. **Plant Physiology**, v. 171, n. 4, p. 2294-2316, 2016. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00523>

PFAFFL, M. W.; HORGAN, G. W.; DEMPFFLE, L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n. 9, p. e36, 2002. <https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36>

POTTER, S. C.; LUCIANI, A.; EDDY, S. R.; PARK, Y.; LOPEZ, R.; FINN, R. D. HMMER web server: 2018 update. **Nucleic Acids Research**, v. 46, p. W200-W204, 2018. <https://doi.org/10.1093/nar/gky448>

ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, v. 26, p. 139-140, 2010. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>

ROGERS, E. E.; GUERINOT, M. L. FRD3, a member of the multidrug and toxin efflux family, controls iron deficiency responses in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 14, n. 8, p. 1787-1799, 2002. <https://doi.org/10.1105/tpc.001495>

ROGERS, E. E.; WU, X.; STACEY, G.; NGUYEN, H. T. Two MATE proteins play a role in iron efficiency in soybean. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 13, p. 1453-1459, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.02.009>

SAHU, S. S.; LOAIZA, C. D.; KAUNDAL, R. Plant-mSubP: a computational framework for the prediction of single-and multi-target protein subcellular localization using integrated machine-learning approaches. **AoB Plants**, v. 12, n. 3, 2020. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plz068>

SAWAKI, Y.; KOBAYASHI, Y.; KIHARA-DOI, T.; NISHIKUBO, N.; KAWAZU, T.; KOBAYASHI, M.; KOBAYASHI, Y.; IUCHI, S.; KOYAMA, H.; SATO, S. Identification of a STOP1-like protein in *Eucalyptus* that regulates transcription of Al tolerance

genes. **Plant Science**, v. 223, p. 8-15, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.02.011>

SHEN, X. J.; WANG, Y. Y.; ZHANG, Y. X.; GUO, W.; JIAO, Y. Q.; ZHOU, X. A. Overexpression of the wild soybean R2R3-MYB transcription factor GsMYB15 enhances resistance to salt stress and *Helicoverpa armigera* in transgenic *Arabidopsis*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 12, 2018.
<https://doi.org/10.3390/ijms19123958>

SHIH, M.-L.; MORGAN, J. A. Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants. **Metabolic Engineering Communications**, v. 10, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.mec.2020.e00123>

SHITAN, N.; YAZAKI, K. Dynamism of vacuoles toward survival strategy in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1862, n. 12, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183127>

SPRIGGS, A.; HENDERSON, S. T.; HAND, M. L.; JOHNSON, S. D.; TAYLOR, J. M.; KOLTUNOW, A. Assembled genomic and tissue-specific transcriptomic data resources for two genetically distinct lines of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Gates Open Research**, v. 2, 2018. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.12777.2>

SONNHAMMER, E. L. L.; ÖSTLUND, G. InParanoid 8: orthology analysis between 273 proteomes, mostly eukaryotic. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. D1, p. D234-D239, 2015. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1203>

SUN, X.; GILROY, E. M.; CHINI, A.; NURMBERG, P. L.; HEIN, I.; LACOMME, C.; BIRCH, P. R. J.; HUSSAIN, A.; YUN, B.-W.; LOAKE, G. J. ADS1 encodes a MATE-transporter that negatively regulates plant disease resistance. **New Phytologist**, v. 192, p. 471-482, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03820.x>

SUZUKI, M.; SATO, Y.; WU, S.; KANG, B. H.; MCCARTY, D. R. Conserved functions of the MATE transporter BIG EMBRYO1 in regulation of lateral organ size and initiation rate. **The Plant Cell**, v. 27, n. 8, p. 2288-2300, 2015.
<https://doi.org/10.1105/tpc.15.00290>

TANAKA, Y.; HIPOLITO, C. J.; MATURANA, A. D.; ITO, K.; KURODA, T.; HIGUCHI, T.; KATOH, T.; KATO, H. E.; HATTORI, M.; KUMAZAKI, K.; TSUKAZAKI, T.; ISHITANI, R.; SUGA, H.; NUREKI, O. Structural basis for the drug extrusion mechanism by a MATE multidrug transporter. **Nature**, v. 496, n. 7444, p. 247-251, 2013. <https://doi.org/10.1038/nature12014>

TANAKA, Y.; IWAKI, S.; TSUKAZAKI, T. Crystal structure of a plant multidrug and toxic compound extrusion family protein. **Structure**, v. 25, n. 9, p. 1455-1460, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.str.2017.07.009>

TIAN, F.; YANG, D.-C.; MENG, Y.-Q.; JIN, J.; GAO, G. PlantRegMap: charting functional regulatory maps in plants. **Nucleic Acids Research**, v. 48, p. D1104-D1113, 2020. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1020>

TIAN, W.; HOU, C.; REN, Z.; PAN, Y.; JIA, J.; ZHANG, H.; BAI, F.; ZHANG., P.; ZHU, H.; HE, Y.; LUO, S.; LI, L.; LUAN, S. A molecular pathway for CO₂ response in *Arabidopsis* guard cells. **Nature Communications**, v. 6, 2015.
<https://doi.org/10.1038/ncomms7057>

TIWARI, M.; SHARMA, D.; SINGH, M.; TRIPATHI, R. D.; TRIVEDI, P. K. Expression of OsMATE1 and OsMATE2 alters development, stress responses and pathogen susceptibility in *Arabidopsis*. **Scientific Reports**, v. 4, 2014.
<https://doi.org/10.1038/srep03964>

UPADHYAY, N.; KAR, D.; DATTA, S. A multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter modulates auxin levels in root to regulate root development and promotes aluminium tolerance. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, p. 745-759, 2020.
<https://doi.org/10.1111/pce.13658>

VISHWAKARMA, K.; MISHRA, M.; PATIL, G.; MULKEY, S.; RAMAWAT, N.; PRATAP SINGH, V.; DESHMUKH, R.; KUMAR TRIPATHI, D.; NGUYEN, H. T.; SHARMA, S. Avenues of the membrane transport system in adaptation of plants to abiotic stresses. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 39, n. 7, p. 861-883, 2019.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1616669>

WANG, H.; ZHAO, S.; GAO, Y.; YANG, J. Characterization of Dof transcription factors and their responses to osmotic stress in poplar (*Populus trichocarpa*). **PLoS One**, v. 12, n.1, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170210>

WANG, J.; HOU, Q.; LI, P.; YANG, L.; SUN, X.; BENEDITO, V. A.; WEN, J.; CHEN, B.; MYSORE, K. S.; ZHAO, J. Diverse functions of multidrug and toxin extrusion (MATE) transporters in citric acid efflux and metal homeostasis in *Medicago truncatula*. **The Plant Journal**, n. 90, v. 1, p. 79-95, 2017.
<https://doi.org/10.1111/tpj.13471>

WANG, L.; BEI, X.; GAO, J.; LI, Y.; YAN, Y.; HU, Y. The similar and different evolutionary trends of MATE family occurred between rice and *Arabidopsis thaliana*. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0895-0>

WANG, R.; LIU, X.; LIANG, S.; GE, Q.; LI, Y.; SHAO, J.; QI, Y.; AN, L.; YU, F. A subgroup of MATE transporter genes regulates hypocotyl cell elongation in *Arabidopsis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 6327-6343, 2015.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv344>

WANG, Y.; TANG, H.; DEBARRY, J. D.; TAN, X.; LI, J.; WANG, X.; LEE, T.-H.; JIN, H.; MARLER, B.; GUO, H.; KISSINGER, J. C.; PATERSON, A. H. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 7, 2012. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1293>

WANG, Z.; QIAN, C.; GUO, X.; LIU, E.; MAO, K.; MU, C.; CHEN, N.; ZHANG, W.; LIU, H. ELS1, a novel MATE transporter related to leaf senescence and iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 476, p. 319-325, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.05.121>

WANG, F.-P.; WANG, X.-F.; ZHANG, J.; MA, F.; HAO, Y.-J. MdMYB58 modulates Fe homeostasis by directly binding to the MdMATE43 promoter in plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 59, n. 12, p. 2476-2489, 2018. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy168>

XU, L.; SHEN, Z.-L.; CHEN, W.; SI, G.-Y.; MENG, Y.; GUO, N.; SUN, X.; CAI, Y.-P.; LIN, Y.; GAO, J.-S. Phylogenetic analysis of upland cotton MATE gene family reveals a conserved subfamily involved in transport of proanthocyanidins. **Molecular Biology Reports**, v. 46, p. 161-175, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4457-4>

YAMASAKI, K.; MOTOMURA, Y.; YAGI, Y.; NOMURA, H.; KIKUCHI, S.; NAKAI, M.; SHIINA, T. Chloroplast envelope localization of EDS5, an essential factor for salicylic acid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, 2013. <https://doi.org/10.4161/psb.23603>

YANG, X.; KIM, M. Y.; HA, J.; LEE, S. H. Overexpression of the soybean NAC gene *GmNAC109* increases lateral root formation and abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01036>

ZHANG, H.; ZHAO, F.-G.; TANG, R.-J.; YU, Y.; SONG, J.; WANG, Y.; LI, L.; LUAN, S. Two tonoplast MATE proteins function as turgor-regulating chloride channels in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, p. E2036-E2045, 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1616203114>

ZHANG, H.; ZHU, H.; PAN, Y.; YU, Y.; LUAN, S.; LI, L. A DTX/MATE-type transporter facilitates abscisic acid efflux and modulates ABA sensitivity and drought tolerance in *Arabidopsis*. **Molecular Plant**, v. 7, p. 1522-1532, 2014. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu063>

ZHAO, J.; DIXON, R. A. MATE transporters facilitate vacuolar uptake of epicatechin 3'-O-glucoside for proanthocyanidin biosynthesis in *Medicago truncatula* and *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 21, n. 8, p. 2323-2340, 2009. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.067819>

ZHAO, J.; HUHMANN, D.; SHADLE, G.; HE, X.-Z.; SUMNER, L. W.; TANG, Y.; DIXON, R. A. MATE2 mediates vacuolar sequestration of flavonoid glycosides and glycoside malonates in *Medicago truncatula*. **The Plant Cell**, v. 23, n. 4, p. 1536-1555, 2011. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.080804>

ZHAO, T.; WU, T.; ZHANG, J.; WANG, Z.; PEI, T.; YANG, H.; LI, J.; XU, X. Genome-Wide Analyses of the Genetic Screening of C2H2-Type Zinc Finger Transcription Factors and Abiotic and Biotic Stress Responses in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Based on RNA-Seq Data. **Frontiers in Genetics**, v. 11, 2020. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00540>

ZHU, H.; WU, J.; JIANG, Y.; JIN, J.; ZHOU, W.; WANG, Y.; HAN, G.; ZHAO, Y.; CHENG, B. Genomewide analysis of MATE-type gene family in maize reveals microsynteny and their expression patterns under aluminum treatment. **Journal of Genetics**, v. 95, n. 3, p. 691-704, 2016. <https://doi.org/10.1007/s12041-016-0686-2>

ZU, Q. L.; QU, Y. Y.; NI, Z. Y.; ZHENG, K.; CHEN, Q.; CHEN, Q. J. The Chalcone Isomerase Family in Cotton: Whole-Genome Bioinformatic and Expression Analyses of the *Gossypium barbadense* L. Response to *Fusarium* Wilt Infection. **Genes**, v. 10, n. 12, 2019. <https://doi.org/10.3390/genes10121006>

5 CONCLUSÕES

A presente pesquisa realizou a primeira abordagem global das respostas transcricionais das vias de biossíntese de fenilpropanoides e derivados em feijão-caupi. Os dados sugerem que, logo na primeira hora após o estímulo, o genótipo IT85F-2687 (resistente ao CABMV) ativa principalmente as vias de biossíntese de fenilpropanoides e isoflavonoides, possivelmente visando o reforço de barreiras físicas e químicas. Este estudo também realizou a primeira abordagem de transportadores MATE em feijão-caupi. Esses transportadores são variáveis em estrutura, evidenciando sua multifuncionalidade e importância para os vegetais. Os dados de transcriptômica mostraram a indução tempo-específica dos VuMATEs, sugerindo sua participação no tempo precoce de resposta (1 h) do feijão-caupi ao estímulo aplicado. Este estudo contribui para a compreensão da resposta molecular do feijão-caupi à injúria/inoculação de CABMV, auxiliando seus programas de melhoramento no desenvolvimento de estratégias para melhorar a produtividade das plantas sob estresse biótico.

REFERÊNCIAS

- AGATI, G.; AZZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67-76, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- ALEJANDRO, S.; LEE, Y.; TOHGE, T.; SUDRE, D.; OSORIO, S.; PARK, J.; BOVET, L.; LEE, Y.; GELDNER, N.; FERNIE, A. R.; MARTINOIA, E. *AtABCG29* is a monolignol transporter involved in lignin biosynthesis. **Current Biology**, v. 22, n. 13, p. 1207-1212, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.04.064>
- ALIFERIS, K. A.; FAUBERT, D.; JABAJI, S. A Metabolic profiling strategy for the dissection of plant defense against fungal pathogens. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e111930, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111930>
- ANDARGIE, M.; KNUDSEN, J. T.; PASQUET, R. S.; GOWDA, B. S.; MULUVI, G. M.; TIMKO, M. P. Mapping of quantitative trait loci for floral scent compounds in cowpea (*Vigna unguiculata* L.). **Plant Breeding**, v. 133, n. 1, p. 92-100, 2014. <https://doi.org/10.1111/pbr.12112>
- ANJANAPPA, R. B.; MEHTA, D.; OKONIEWSKI, M. J.; SZABELSKA-BERĘSEWICZ, A.; GRUISSEM, W.; VANDERSCHUREN, H. Molecular insights into *Cassava brown streak virus* susceptibility and resistance by profiling of the early host response. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 2, p. 476-489, 2018. <https://doi.org/10.1111/mpp.12565>
- ASHRAF, M. A.; IQBAL, M.; RASHEED, R.; HUSSAIN, I.; RIAZ, M.; ARIF, M. S. Environmental stress and secondary metabolites in plants: an overview. In: AHMAD, P.; AHANGER, M. A.; SINGH, V. P.; TRIPATHI, D. K.; ALAM, P.; ALYEMENI, M. N. **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress**. Academic Press, 2018. p. 153-167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812689-9.00008-X>
- ATKINSON, N. J.; JAIN, R.; URWIN, P. E. The Response of Plants to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress. In: MAHALINGAM, R. **Combined Stresses in Plants**. Springer International Publishing: Imprint: Springer, 2015. Cap. 9, p. 181-201. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-07899-1_9
- AWIKA, J. M.; DUODU, K. G. Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (*Vigna unguiculata*) and their health promoting properties: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 686-697, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.12.002>
- AYO, F. E.; AWOTUNDE, J. B.; OGUNDOKUN, R. O.; FOLORUNSO, S. O.; ADEKUNLE, A. O. A decision support system for multi-target disease diagnosis: a bioinformatics approach. **Heliyon**, v. 6, n. 3, p. e03657, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03657>
- BA, M. N.; HUESING, J. E.; TAMÒ, M.; HIGGINS, T. J.; PITTENDRIGH, B. R.; MURDOCK, L. L. An assessment of the risk of Bt-cowpea to non-target organisms in

West Africa. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 4, p. 1165-1179, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-0974-0>

BAICHO, S.; OUZOUNIS, C. A. Computational complexity of algorithms for sequence comparison, short-read assembly and genome alignment. **Biosystems**, v. 156, p. 72-85, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2017.03.003>

BALAN, B.; MARRA, F. P.; CARUSO, T.; MARTINELLI, F. Transcriptomic responses to biotic stresses in *Malus x domestica*: a meta-analysis study. **Scientific Reports**, v. 8, n.1, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19348-4>

BARROS, D. R.; ALFENAS-ZERBINI, P.; BESERRA, J. E. A.; ANTUNES, T. F.; ZERBINI, F. M. Comparative analysis of the genomes of two isolates of cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) obtained from different hosts. **Archives of Virology**, v. 156, n. 6, p. 1085-1091, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-0962-7>

BARROS, J.; DIXON, R. A. Plant Phenylalanine/Tyrosine Ammonia-lyases. **Trends in Plant Science**, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.011>

BASHIR, M.; AHMAD, Z.; GHAFOR, A. Cowpea aphid-borne mosaic potyvirus: a review. **International Journal of Pest Management**, v. 48, n. 2, p. 155-168, 2002. <https://doi.org/10.1080/09670870110118722>

BAYER, P. E.; GOLICZ, A. A.; SCHEBEN, A.; BATLEY, J.; EDWARDS, D. Plant pan-genomes are the new reference. **Nature Plants**, v. 6, n. 8, p. 914-920, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0733-0>

BERENDZEN, J.; BROWN, A. V.; CAMERON, C. T.; CAMPBELL, J. D.; CLEARY, A. M.; DASH, S.; HOKIN, S.; HUANG, W.; KALBERER, S. R.; NELSON, R. T.; REDSUN, S.; WEEKS, N. T.; WILKEY, A.; FARMER, A. D.; CANNON, S. B. The legume information system and associated online genomic resources. **Legume Science**, v. 13, n. 3, 2021. <https://doi.org/10.1002/leg3.74>

BIAŁA, W.; JASIŃSKI, M. The Phenylpropanoid case—it is transport that matters. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01610>

BLÄTKE, M.-A.; SZYMANSKI, J. J.; GLADILIN, E.; SCHOLZ, U.; BEIER, S. Editorial: Advances in Applied Bioinformatics in Crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.640394>

BOUKAR, O.; BELKO, N.; CHAMARTHI, S.; TOGOLA, A.; BATIENO, J.; OWUSU, E.; HARUNA, M.; DIALLO, S.; UMAR, M. L.; OLUFAJO, O.; FATOKUN, C. Cowpea (*Vigna unguiculata*): Genetics, genomics and breeding. **Plant Breeding**, v. 138, n. 4, p. 415-424, 2019. <https://doi.org/10.1111/pbr.12589>

BOUKAR, O.; FATOKUN, C. A.; HUYNH, B. L.; ROBERTS, P. A.; CLOSE, T. J. Genomic tools in cowpea breeding programs: status and perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00757>

BOUKAR, O.; MASSAWE, F.; MURANAKA, S.; FRANCO, J.; MAZIYA-DIXON, B.; SINGH, B.; FATOKUN, C. Evaluation of cowpea germplasm lines for protein and mineral concentrations in grains. **Plant Genetic Resources**, v. 9, n. 4, p. 515-522, 2011. <https://doi.org/10.1017/S1479262111000815>

BOURGAUD, F.; HEHN, A.; LARBAT, R.; DOERPER, S.; GONTIER, E.; KELLNER, S.; MATERN, U. Biosynthesis of coumarins in plants: A major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. **Phytochemistry Reviews**, v. 5, n. 2-3, p. 293-308, 2006. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9040-2>

BOUTROT, F.; ZIPFEL, C. Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, p. 257-286, 2017. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106>

BRANCO, I.; CHOUPINA, A. Bioinformatics: new tools and applications in life science and personalized medicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 937-951, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-11056-2>

BROWN, M. H.; PAULSEN, I. T.; SKURRAY, R. A. The multidrug efflux protein NorM is a prototype of a new family of transporters. **Molecular Microbiology**, v. 31, n. 1, p. 394-395, 1999. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01162.x>

BRUNETTI, C.; DI FERDINANDO, M.; FINI, A.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 2, p. 3540-3555, 2013. <https://doi.org/10.3390/ijms14023540>

BURKO, Y.; GEVA, Y.; REFAEL-COHEN, A.; SHLEIZER-BURKO, S.; SHANI, E.; BERGER, Y.; HALON, E.; CHUCK, G.; MOSHELION, M.; ORI, N. From organelle to organ: ZRIZI MATE-Type transporter is an organelle transporter that enhances organ initiation. **Plant and Cell Physiology**, n. 52, n. 3, p. 518-527, 2011. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr007>

CAMEJO, D.; GUZMÁN-CEDEÑO, Á.; MORENO, A. Reactive oxygen species, essential molecules, during plant-pathogen interactions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 103, p. 10-23, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.035>

CARDOSO, M. J.; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A. Ecofisiologia. In: CARDOSO, M. J.; BASTOS, E. A.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; SOBRINHO, C. A. **Feijão-caupi: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. p. 15-22.

CARETTO, S.; LINSALATA, V.; COLELLA, G.; MITA, G.; LATTANZIO, V. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 11, p. 26378-26394, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms161125967>

CARVALHO, M.; LINO-NETO, T.; ROSA, E.; CARNIDE, V. Cowpea: a legume crop for a challenging environment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 13, p. 4273-4284, 2017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8250>

CASS, C. L.; PERALDI, A.; DOWD, P. F.; MOTTIAR, Y.; SANTORO, N.; KARLEN, S. D.; BUKHMAN, Y. V.; FOSTER, C. E.; THROWER, N.; BRUNO, L. C.; MOSKVIN, O. V.; JOHNSON, E. T.; WILLHOIT, M. E.; PHUTANE, M.; RALPH, J.; MANSFIELD, S. D.; NICHOLSON, P.; SEDBROOK, J. C. Effects of phenylalanine ammonia lyase (PAL) knockdown on cell wall composition, biomass digestibility, and biotic and abiotic stress responses in *Brachypodium*. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 14, p. 4317-4335, 2015. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv269>

CHAO, N.; LI, N.; QI, Q.; LI, S.; LV, T.; JIANG, X.-N.; GAI, Y. (2017). Characterization of the cinnamoyl-CoA reductase (CCR) gene family in *Populus tomentosa* reveals the enzymatic active sites and evolution of CCR. **Planta**, v. 245, n. 1, p. 61-75, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2591-6>

CHEN, H.; WANG, L.; LIU, X.; HU, L.; WANG, S.; CHENG, X. De novo transcriptomic analysis of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) for genic SSR marker development. **BMC Genetics**, v. 18, n. 1, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0531-5>

CHEN, L.; SUN, D.; ZHANG, D.; SHAO, D.; LU, Y.; NA, Y. Transcriptome analysis of yellow passion fruit in response to cucumber mosaic virus infection. **PLoS One**, v. 16, n. 2, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247127>

CHEN, X.; FANG, X.; ZHANG, Y.; WANG, X.; ZHANG, C.; YAN, X.; ZHAO, Y.; WU, J.; XU, P.; ZHANG, S. Overexpression of a soybean 4-coumaric acid: coenzyme A ligase (GmPI4L) enhances resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. **Functional Plant Biology**, v. 46, n. 4, p. 304-313, 2019. <https://doi.org/10.1071/FP18111>

CHENG, G.; DONG, M.; XU, Q.; PENG, L.; YANG, Z.; WEI, T.; XU, J. Dissecting the Molecular Mechanism of the Subcellular Localization and Cell-to-cell Movement of the *Sugarcane mosaic virus* P3N-PIPO. **Scientific Reports**, v. 7, n.1, p. 9868, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10497-6>

CHENG, Q.; LI, N.; DONG, L.; ZHANG, D.; FAN, S.; JIANG, L.; WANG, X.; XU, P.; ZHANG, S. Overexpression of soybean isoflavone reductase (*GmIFR*) enhances resistance to *phytophthora sojae* in soybean. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01024>

CHENG, X.; WANG, A. The potyvirus silencing suppressor protein VPg mediates degradation of SGS3 via ubiquitination and autophagy pathways. **Journal of Virology**, v. 91, n. 1, p. e01478-16, 2017. <https://doi.org/10.1128/JVI.01478-16>

CHOMEL, M.; GUITTONNY-LARCHEVÊQUE, M.; FERNANDEZ, C.; GALLET, C.; DESROCHERS, A.; PARÉ, D.; JACKSON, B. G.; BALDY, V. Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. **Journal of Ecology**, v. 104, n. 6, p. 1527-1541, 2016. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12644>

CHUNG, B. Y. W.; MILLER, W. A.; ATKINS, J. F.; FIRTH, A. E. An overlapping essential gene in the *Potyviridae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n.15, p. 5897-5902, 2008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800468105>

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?limitstart=0>. Acessado em: 25 de maio de 2020.

CONESA, A.; MADRIGAL, P.; TARAZONA, S.; GOMEZ-CABRERO, D.; CERVERA, A.; MCPHERSON, A.; SZCZEŚNIAK, M. W.; GAFFNEY, D. J.; ELO, L. L.; ZHANG, X.; MORTAZAVI, A. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. **Genome Biology**, v. 17, n. 1, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0881-8>

COOPER, J.; QIU, F.; PAIVA, N. Biotransformation of an exogenously supplied isoflavonoid by transgenic tobacco cells expressing alfalfa isoflavone reductase. **Plant Cell Reports**, v. 20, n. 9, p. 876-884, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0404-1>

COSTA, A. F.; SOUZA, M. C. M.; SILVA, K. R. G. Feijão-caupi: do plantio ao armazenamento. In: COSTA, A. F. **Feijão-caupi no semiárido brasileiro**. Recife: CREA-PE: Editora UFRPE, 2020. p. 27-30.

COSTA, V.; ANGELINI, C.; FEIS, I.; CICCODICOLA, A. Uncovering the complexity of transcriptomes with RNA-Seq. **BioMed Research International**, v. 2010, 2010. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/853916>

CRUZ, A. R. R.; ARAGÃO, F. J. L. RNAi-based enhanced resistance to *Cowpea severe mosaic virus* and *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in transgenic cowpea. **Plant Pathology**, v. 63, n. 4, p. 831-837, 2014. <https://doi.org/10.1111/ppa.12178>

DASGUPTA, U.; MISHRA, G. P.; DIKSHIT, H. K.; MISHRA, D. C.; BOSAMIA, T.; ROY, A.; BHATI, J.; PRITI; ASKI, M.; KUMAR, R. R.; SINGH, A. K.; KUMAR, A.; SINHA, S. K.; CHAURASIA, S.; PRAVEEN, S.; NAIR, R. M. Comparative RNA-Seq analysis unfolds a complex regulatory network imparting yellow mosaic disease resistance in mungbean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek]. **PLoS One**, v. 16, n. 1, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244593>

DASH, S.; CAMPBELL, J. D.; CANNON, E. K.; CLEARY, A. M.; HUANG, W.; KALBERER, S. R.; KARINGULA, V.; RICE, A. G.; SINGH, J.; UMALE, P. E.; WEEKS, N. T.; WILKEY, A. P.; FARMER, A. D.; CANNON, S. B. Legume information system (LegumeInfo.org): a key component of a set of federated data resources for the legume family. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D1181-D1188, 2016. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1159>

DAVIDSON, R. M.; HANSEY, C. N.; GOWDA, M.; CHILDS, K. L.; LIN, H.; VAILLANCOURT, B.; SEKHON, R. S.; LEON, N.; KAEPLER, S. M.; JIANG, N.; BUELL, C. R. Utility of RNA sequencing for analysis of maize reproductive

transcriptomes. **The Plant Genome**, v. 4, n. 3, p. 191-203, 2011.
<https://10.3835/plantgenome2011.05.0015>

DAYHOFF, M. O.; LEDLEY, R. S. Comproteins: a computer program to aid primary protein structure determination. In: **Proceedings of the December 4-6, 1962, fall joint computer conference**. 1962. p. 262-274.

DEBEAUJON, I.; PEETERS, A. J.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K. M.; KOORNNEEF, M. The TRANSPARENT TESTA12 gene of *Arabidopsis* encodes a multidrug secondary transporter-like protein required for flavonoid sequestration in vacuoles of the seed coat endothelium. **The Plant Cell**, v. 13, n. 4, p. 853-871, 2001.
<https://doi.org/10.1105/tpc.13.4.853>

DENG, J.; QIN, W.; YANG, C.; IQBAL, N.; TAKPAH, D.; ZHANG, J.; YANG, W.; LIU, J. Seed quality deterioration dynamics for isoflavones biosynthesis in soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds against field mildew stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 5, p. 57, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2845-6>

DENG, P.; WU, Z.; WANG, A. The multifunctional protein CI of potyviruses plays interlinked and distinct roles in viral genome replication and intercellular movement. **Virology Journal**, v. 12, n. 1, p. 141, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0369-2>

DING, L.; HOFIUS, D.; HAJIREZAEI, M.-R.; FERNIE, A. R.; BÖRNKE, F.; SONNEWALD, U. Functional analysis of the essential bifunctional tobacco enzyme 3-dehydroquininate dehydratase/shikimate dehydrogenase in transgenic tobacco plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 8, p. 2053-2067, 2007.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erm059>

DIXON, R. A.; BARROS, J. Lignin biosynthesis: old roads revisited and new roads explored. **Open Biology**, v. 9, n. 12, 2019. <https://doi.org/10.1098/rsob.190215>

DOBRTZSCH, M.; LÜBKEN, T.; ESCHEN-LIPPOLD, L.; GORZOLKA, K.; BLUM, E.; MATERN, A.; MARILLONNET, S.; BÖTTCHER, C.; DRÄGER, B.; ROSAHL, S. MATE transporter-dependent export of hydroxycinnamic acid amides. **The Plant Cell**, v. 28, n. 2, p. 583-596, 2016. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00706>

DONG, B.; NIU, L.; MENG, D.; SONG, Z.; WANG, L.; JIAN, Y.; FAN, X.; DONG, M.; YANG, Q.; FU, Y. Genome-wide analysis of MATE transporters and response to metal stress in *Cajanus cajan*. **Journal of Plant Interactions**, v. 14, p. 265-275, 2019. <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1620884>

DONG, N.-Q.; LIN, H.-X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant–environment interactions. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 180-209, 2021. <https://doi.org/10.1111/jipb.13054>

DONKOR, E. S.; DAYIE, N. T. K. D.; ADIKU, T. K. Bioinformatics with basic local alignment search tool (BLAST) and fast alignment (FASTA). **Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis**, v. 6, n. 1, p. 1-6, 2014.
<https://doi.org/10.5897/IJBC2013.0086>

DU, Z.; SU, Q.; WU, Z.; HUANG, Z.; BAO, J.; LI, J.; TU, H.; ZENG, C.; FU, J.; HE, H. Genome-wide characterization of MATE gene family and expression profiles in response to abiotic stresses in rice (*Oryza sativa*). **BMC Ecology and Evolution**, v. 21, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12862-021-01873-y>

DUAN, L.; LIU, H.; LI, X.; XIAO, J.; WANG, S. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice. **Physiologia Plantarum**, v. 152, n. 3, p. 486-500, 2014. <https://doi.org/10.1111/ppl.12192>

DURRETT, T. P.; GASSMANN, W.; ROGERS, E. E. The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation. **Plant Physiology**, v. 144, n. 1, p. 197-205, 2007. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097162>

EMON, J. M. V. The omics revolution in agricultural research. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 36-44, 2015. <https://10.1021/acs.jafc.5b04515>

FELDMANN, K. A. Cytochrome P450s as genes for crop improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 4, n. 2, p. 162-167, 2001. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00154-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00154-0)

FERREIRA-NETO, J. R.; SILVA, M. D.; RODRIGUES, F. A.; NEPOMUCENO, A. L.; PANDOLFI, V.; MORAIS, D. A. L.; KIDO, E. A.; BENKO-ISEPPON, A. M. Importance of inositols and their derivatives in cowpea under root dehydration: An omics perspective. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 441-462, 2021. <https://doi.org/10.1111/ppl.13292>

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION CORPORATE STATISTICAL DATABASE (FAOSTAT). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acessado em: 25 de maio de 2020.

FOQUET, B.; SONG, H. There is no magic bullet: the importance of testing reference gene stability in RT-qPCR experiments across multiple closely related species. **PeerJ**, v. 8, p. e9618, 2020. <https://doi.org/10.7717/peerj.9618>

FORTUNATO, A. A.; ARAUJO, L.; RODRIGUES, F. A. Association of the production of phenylpropanoid Compounds at the Infection Sites of *Corynespora cassiicola* with soybean resistance against Target Spot. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 2, p. 131-142, 2017. <https://doi.org/10.1111/jph.12546>

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAUJO, J.P.P.; WATT, E.E. **O caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA / IITA, 1988. p. 26-46.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R.; RODRIGUES, E. V. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FRITH, M. C. How sequence alignment scores correspond to probability models. **Bioinformatics**, v. 36, n. 2, p. 408-415, 2020.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz576>

FUJII, M.; YOKOSHO, K.; YAMAJI, N.; SAISHO, D.; YAMANE, M.; TAKAHASHI, H.; SATO, K.; NAKAZONO, M.; MA, J. F. Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley. **Nature Communications**, v. 3, 2012.
<https://doi.org/10.1038/ncomms1726>

GANI, U.; SHARMA, P.; TIWARI, H.; NAUTIYAL, A. K.; KUNDAN, M.; WAJID, M. A.; KESARI, R.; NARGOTRA, A.; MISRA, P. Comprehensive genome-wide identification, characterization, and expression profiling of MATE gene family in *Nicotiana tabacum*. **Gene**, v. 783, p. 145554, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145554>

GAO, S.; YU, H. N.; XU, R. X.; CHENG, A. X.; LOU, H. X. Cloning and functional characterization of a 4-coumarate CoA ligase from liverwort *Plagiochasma appendiculatum*. **Phytochemistry**, v. 111, p. 48-58, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.12.017>

GAUTHIER, J.; VINCENT, A. T.; CHARETTE, S. J.; DEROME, N. A brief history of bioinformatics. **Briefings in Bioinformatics**, v. 20, n. 6, p. 1981-1996, 2019.
<https://doi.org/10.1093/bib/bby063>

GELL, G.; SEBESTYÉN, E.; BALÁZS, E. Recombination analysis of Maize dwarf mosaic virus (MDMV) in the *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) subgroup of potyviruses. **Virus Genes**, v. 50, n. 1, p. 79-86, 2015.
<https://doi.org/10.1007/s11262-014-1142-0>

GENIZA, M.; JAISWAL, P. Tools for building de novo transcriptome assembly. **Current Plant Biology**, v. 11, p. 41-45, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.cpb.2017.12.004>

GIANI, A. M.; GALLO, G. R.; GIANFRANCESCHI, L.; FORMENTI, G. Long walk to genomics: History and current approaches to genome sequencing and assembly. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 18, p. 9-19, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.11.002>

GIMENEZ, E.; SALINAS, M.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Worldwide research on plant defense against biotic stresses as improvement for sustainable agriculture. **Sustainability**, v. 10, n. 2, p. 391, 2018. <https://doi.org/10.3390/su10020391>

GOMEZ, C.; TERRIER, N.; TORREGROSA, L.; VIALET, S.; FOURNIER-LEVEL, A.; VERRIÈS, C.; SOUQUET, J.-M.; MAZAURIC, J.-P.; KLEIN, M.; CHEYNIER, V.; AGEORGES, A. Grapevine MATE-type proteins act as vacuolar H⁺-dependent acylated anthocyanin transporters. **Plant Physiology**, v. 150, n. 1, p. 402-415, 2009.
<https://doi.org/10.1104/pp.109.135624>

GOODSTEIN, D. M.; SHU, S.; HOWSON, R.; NEUPANE, R.; HAYES, R. D.; FAZO, J.; MITROS, T.; DIRKS, W.; HELLSTEN, U.; PUTNAM, N.; ROKHSAR, D. S.

Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. D1, p. D1178-D1186, 2012. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>

GRABHERR, M. G.; HAAS, B. J.; YASSOUR, M.; LEVIN, J. Z.; THOMPSON, D. A.; AMIT, I.; ADICONIS, X; FAN, L.; RAYCHOWDHURY, R.; ZENG, Q.; CHEN, Z.; MAUCELI, E.; HACOEN, N.; GNIRKE, A.; RHIND, N.; PALMA, F.; BIRREN, B. W.; NUSBAUM, C.; LINDBLAD-TOH, K.; FRIEDMAN, N.; REGEV, A. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. **Nature Biotechnology**, v. 29, n. 7, 2011. <https://doi.org/10.1038/nbt.1883>

GRAHAM, T. L.; GRAHAM, M. Y.; SUBRAMANIAN, S.; YU, O. RNAi silencing of genes for elicitation or biosynthesis of 5-deoxyisoflavonoids suppresses race-specific resistance and hypersensitive cell death in *Phytophthora sojae* infected tissues. **Plant Physiology**, v. 144, n. 2, p. 728-740, 2007. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097865>

GRANGEON, R.; JIANG, J.; WAN, J.; AGBECI, M.; ZHENG, H.; LALIBERTÉ, J. F. 6K2-induced vesicles can move cell to cell during turnip mosaic virus infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, 2013. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00351>

GUPTA, O. P.; DAHUJA, A.; SACHDEV, A.; JAIN, P. K.; KUMARI, S.; PRAVEEN, S. Cytosine methylation of Isoflavone synthase gene in the genic region positively regulates its expression and Isoflavone biosynthesis in soybean seeds. **DNA and Cell Biology**, v. 38, n. 6, p. 510-520, 2019. <https://doi.org/10.1089/dna.2018.4584>

GUTHA, L. R.; CASASSA, L. F.; HARBERTSON, J. F.; NAIDU, R. A. Modulation of flavonoid biosynthetic pathway genes and anthocyanins due to virus infection in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. **BMC Plant Biology**, v. 10, n. 1, p. 187, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-187>

HA, C. M.; ESCAMILLA-TREVINO, L.; YARCE, J. C. S.; KIM, H.; RALPH, J.; CHEN, F.; DIXON, R. A. An essential role of caffeoyl shikimate esterase in monolignol biosynthesis in *Medicago truncatula*. **The Plant Journal**, v. 86, n. 5, p. 363-375, 2016. <https://doi.org/10.1111/tpj.13177>

HAAS, B. J.; ZODY, M. C. Advancing RNA-Seq analysis. **Nature biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 421, 2010. <https://doi.org/10.1038/nbt0510-421>

HASIN, Y.; SELDIN, M.; LUSIS, A. Multi-omics approaches to disease. **Genome Biology**, v. 18, n. 1, p. 83, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1215-1>

HASSAN, S.; MATHESIUS, U. The role of flavonoids in root-rhizosphere signalling: Opportunities and challenges for improving plant-microbe interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9, p. 3429-3444, 2012. <https://doi.org/10.1093/jxb/err430>

HERRERO, J.; ESTEBAN-CARRASCO, A.; ZAPATA, J. M. Looking for *Arabidopsis thaliana* peroxidases involved in lignin biosynthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 67, p. 77-86, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.02.019>

HOFFMANN, L.; BESSEAU, S.; GEOFFROY, P.; RITZENTHALER, C.; MEYER, D.; LAPIERRE, C.; POLLET, B.; LEGRAND, M. Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme A shikimate/quinic acid hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 16, n. 6, p. 1446-1465, 2004. <https://doi.org/10.1105/tpc.020297>

HÖRAK, H. Defense, fast and slow: activation of different MAPK pathways in response to wounding. **The Plant Cell**, v. 32, n. 6, p. 1788-1789, 2020. <https://doi.org/10.1105/tpc.20.00282>

HOU, J.; WU, Q.; ZUO, T.; GUO, L.; CHANG, J.; CHEN, J.; WANG, Y.; HE, W. Genome-wide transcriptomic profiles reveal multiple regulatory responses of poplar to *Lonsdalea quercina* infection. **Trees - Structure and Function**, v. 30, n. 4, p. 1389-1402, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1376-7>

HOU, S.; LIU, Z.; SHEN, H.; WU, D. Damage-associated molecular pattern-triggered immunity in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00646>

HUANG, C.; CUN, Y.; YU, H.; TONG, Z.; XIAO, B.; SONG, Z.; WANG, B.; LI, Y.; LIU, Y. Transcriptomic profile of tobacco in response to *Tomato zonate spot orthotospovirus* infection. **Virology Journal**, v. 14, n. 1, p. 153, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0821-6>

HUANG, H.; ULLAH, F.; ZHOU, D. X.; YI, M.; ZHAO, Y. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>

HUANG, K.; LI, M.; LIU, Y.; ZHU, M.; ZHAO, G.; ZHOU, Y.; ZHANG, L.; WU, Y.; DAI, X.; XIA, T.; GAO, L. Functional Analysis of 3-Dehydroquinate Dehydratase/Shikimate Dehydrogenases Involved in Shikimate Pathway in *Camellia sinensis*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01268>

HUANG, K.; MELLOR, K. E.; PAUL, S. N.; LAWSON, M. J.; MACKEY, A. J.; TIMKO, M. P. Global changes in gene expression during compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) with the root parasitic angiosperm *Striga gesnerioides*. **BMC Genomics**, v. 13, n. 1, p. 1-15, 2012. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-402>

HUANG, Y.; HE, G.; TIAN, W.; LI, D.; MENG, L.; WU, D.; HE, T. Genome-wide identification of MATE gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.) and expression analysis in heavy metal stress. **Frontiers in Genetics**, v. 12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.650500>

HUYNH, B.-L.; EHLERS, J. D.; HUANG, B. E.; MUÑOZ-AMATRIÁN, M.; LONARDI, S.; SANTOS, J. R. P.; NDEVE, A.; BATIENO, B. J.; BOUKAR, O.; CISSE, N.; DRABO, I.; FATOKUN, C.; KUSI, F.; AGYARE, R. Y.; GUO, Y.-N.; HERNITER, I.; LO, S.; WANAMAKER, S. I.; XU, S.; CLOSE, T. J.; ROBERTS, P. A. A multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) population for genetic analysis and

improvement of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **The Plant Journal**, v. 93, n. 6, p. 1129-1142, 2018. <https://doi.org/10.1111/tpj.13827>

IVANOV, K. I.; ESKELIN, K.; LOHMUS, A.; MÄKINEN, K. Molecular and cellular mechanisms underlying potyvirus infection. **Journal of General Virology**, v. 95, n. 7, p. 1415-1429, 2014. <https://doi.org/10.1099/vir.0.064220-0>

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; GONZÁLEZ-AGUËRO, M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Cross-talk between signaling pathways: The link between plant secondary metabolite production and wounding stress response. **Scientific Reports**, v. 5, p. 8608, 2015. <https://doi.org/10.1038/srep08608>

JAFARZADEH, N.; IRANMANESH, A. On Graph-Based Data Structures to Multiple Genome Alignment. **MATCH-Communications in Mathematical and in Computer Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 33-62, 2020

JASIŃSKI, M.; KACHLICKI, P.; RODZIEWICZ, P.; FIGLEROWICZ, M.; STOBIECKI, M. Changes in the profile of flavonoid accumulation in *Medicago truncatula* leaves during infection with fungal pathogen *Phoma medicaginis*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, n. 9, p. 847-853, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.05.004>

JAYATHILAKE, C.; VISVANATHAN, R.; DEEN, A.; BANGAMUWAGE, R.; JAYAWARDANA, B. C.; NAMMI, S.; LIYANAGE, R. Cowpea: an overview on its nutritional facts and health benefits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 13, p. 4793-4806, 2018. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9074>

JEANDET, P. Phytoalexins: current progress and future prospects. **Molecules**, v. 20, n. 2, p. 2770-2774, 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules20022770>

JESÚS-PIRES, C.; FERREIRA-NETO, J. R.; BEZERRA-NETO, J. P.; KIDO, E. A.; SILVA, R. L. O.; PANDOLFI, V.; WANDERLEY-NOGUEIRA, A. C.; BINNECK, E.; COSTA, A. F.; PIO-RIBEIRO, G.; PEREIRA-ANDRADE, G.; SITTOLIN, I. M.; FREIRE-FILHO, F.; BENKO-ISEPPON, A. M. Plant Thaumatin-like Proteins: Function, Evolution and Biotechnological Applications. **Current Protein and Peptide Science**, v. 21, n. 1, p. 36-51, 2020. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190318164905>

JIA, M.; LIU, X.; XUE, H.; WU, Y.; SHI, L.; WANG, R.; CHEN, Y.; XU, N.; ZHAO, J.; SHAO, J.; QI, Y.; NA, L.; SHEEN, J.; YU, F. Noncanonical ATG8-ABS3 interaction controls senescence in plants. **Nature Plants**, v. 5, n. 2, p. 212-224, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0348-x>

JIANG, Y.; JI, X.; DUAN, L.; YE, P.; YANG, J.; ZHAN, R.; CHEN, W.; MA, D. Gene mining and identification of a flavone synthase II involved in flavones biosynthesis by transcriptomic analysis and targeted flavonoid profiling in *Chrysanthemum indicum* L. **Industrial Crops and Products**, v. 134, p. 244-256, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.009>

JOYCE, A. R.; PALSSON, B. Ø. The model organism as a system: integrating 'omics' data sets. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 3, p. 198, 2006. <https://doi.org/10.1038/nrm1857>

JUGDÉ, H.; NGUY, D.; MOLLER, I.; COONEY, J. M.; ATKINSON, R. G. Isolation and characterization of a novel glycosyltransferase that converts phloretin to phlorizin, a potent antioxidant in apple. **The FEBS Journal**, v. 275, n. 15, p. 3804-3814, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06526.x>

JUN, J. H.; LU, N.; DOCAMPO-PALACIOS, M.; WANG, X.; DIXON, R. A. Dual activity of anthocyanidin reductase supports the dominant plant proanthocyanidin extension unit pathway. **Science Advances**, v. 7, n. 20, 2021. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg4682>

JUNQUEIRA, D. M.; BRAUN, R. L.; VERLI, H. Alinhamentos. In: VERLI, H. **Bioinformática da Biologia à flexibilidade molecular**. São Paulo: SBBq, 2014. p. 39-61.

KADUCOVÁ, M.; MONJE-RUEDA, M. D.; GARCÍA-CALDERÓN, M.; PÉREZ-DELGADO, C. M.; ELIÁŠOVÁ, A.; GAJDOŠOVÁ, S.; PETRUŠOVÁ, C.; BETTI, M.; MÁRQUEZ, A. J.; PALÓVE-BALANG, P. Induction of isoflavonoid biosynthesis in *Lotus japonicus* after UV-B irradiation. **Journal of Plant Physiology**, v. 236, p. 88-95, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.03.003>

KANEHISA, M. Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms. **Protein Science**, v. 28, n. 11, p. 1947-1951, 2019. <https://doi.org/10.1002/pro.3715>

KANEHISA, M.; FURUMICHI, M.; SATO, Y.; ISHIGURO-WATANABE, M.; TANABE, M. KEGG: integrating viruses and cellular organisms. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D545-D551, 2021. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa970>

KANYUKA, K.; RUDD, J. J. Cell surface immune receptors: the guardians of the plant's extracellular spaces. **Current opinion in plant biology**, v. 50, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.02.005>

KATSU, K.; SUZUKI, R.; TSUCHIYA, W.; INAGAKI, N.; YAMAZAKI, T.; HISANO, T.; YASUI, Y.; KOMORI, T.; KOSHIO, M.; KUBOTA, S.; WALKER, A. R.; FURUKAWA, K.; MATSUI, K. A new buckwheat dihydroflavonol 4-reductase (DFR), with a unique substrate binding structure, has altered substrate specificity. **BMC Plant Biology**, v. 17, n. 1, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1200-6>

KEBEDE, E.; BEKEKO, Z. Expounding the production and importance of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Ethiopia. **Cogent Food & Agriculture**, v. 6, n. 1, p. 1769805, 2020. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1769805>

KHAN, M. I. R.; FATMA, M.; PER, T. S.; ANJUM, N. A.; KHAN, N. A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>

KHARE, S.; SINGH, N. B.; SINGH, A.; HUSSAIN, I.; NIHARIKA, K.; YADAV, V.; BANO, C.; YADAV, R. K.; AMIST, N. Plant secondary metabolites synthesis and their regulations under biotic and abiotic constraints. **Journal of Plant Biology**, v. 63, n. 3, p. 203-216, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12374-020-09245-7>

KIM, D. S.; HWANG, B. K. An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (*PAL1*) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 9, p. 2295-2306, 2014. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru109>

KOVAKA, S.; ZIMIN, A. V.; PERTEA, G. M.; RAZAGHI, R.; SALZBERG, S. L.; PERTEA, M. Transcriptome assembly from long-read RNA-seq alignments with StringTie2. **Genome Biology**, v. 20, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1910-1>

KRYVORUCHKO, I. S.; ROUTRAY, P.; SINHAROY, S.; TORRES-JEREZ, I.; TEJADA-JIMÉNEZ, M.; FINNEY, L. A.; NAKASHIMA, J.; PISLARIU, C. I.; BENEDITO, V. A.; GONZÁLEZ-GUERRERO, M.; ROBERTS, D. M.; UDVARDI, M. K. An iron-activated citrate transporter, MtMATE67, is required for symbiotic nitrogen fixation. **Plant Physiology**, v. 176, n. 3, p. 2315-2329, 2018. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01538>

KUKURBA, K. R.; MONTGOMERY, S. B. RNA sequencing and analysis. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2015, n. 11, 2015. <https://doi.org/10.1101/pdb.top084970>

KUMAR, A.; CHORDIA, N. Role of bioinformatics in biotechnology. **Research & Reviews in BioSciences**, v. 12, n. 1, 2017.

KUSAKIZAKO, T.; MIYAUCHI, H.; ISHITANI, R.; NUREKI, O. Structural biology of the multidrug and toxic compound extrusion superfamily transporters. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1862, n. 12, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183154>

KYEI-BOAHEN, S.; SAVALA, C. E.; CHIKOYE, D.; ABAIDOO, R. Growth and yield responses of cowpea to inoculation and phosphorus fertilization in different environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00646>

LATEEF, A.; PRABHUDAS, S. K.; NATARAJAN, P. RNA sequencing and de novo assembly of *Solanum trilobatum* leaf transcriptome to identify putative transcripts for major metabolic pathways. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 15375, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33693-4>

LE ROY, J.; HUSS, B.; CREACH, A.; HAWKINS, S.; NEUTELINGS, G. Glycosylation is a major regulator of phenylpropanoid availability and biological activity in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 735, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00735>

LEE, M.-H.; JEON, H. S.; KIM, S. H.; CHUNG, J. H.; ROPPOLO, D.; LEE, H.-J.; CHO, C. H. J.; TOBIMATSU, Y.; RALPH, J.; PARK, O. K. Lignin-based barrier restricts pathogens to the infection site and confers resistance in plants. **The EMBO Journal**, v. 38, p. e101948, 2019. <https://doi.org/10.15252/emboj.2019101948>

LEI, K. J.; ZHANG, L.; DU, X. Y.; AN, Y.; CHANG, G. H.; AN, G. Y. A chalcone synthase controls the verticillium disease resistance response in both *Arabidopsis thaliana* and cotton. **European Journal of Plant Pathology**, v. 152, n. 3, p. 769-781, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1521-9>

LI, H.; ZHANG, Z. Systems understanding of plant–pathogen interactions through genome-wide protein–protein interaction networks. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering**, v. 3, n. 2, p. 102-112, 2016. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2016100>

LI, M.-W.; MUÑOZ, N. B.; WONG, C.-F.; WONG, F.-L.; WONG, K.-S.; WONG, J. W.-H.; QI, X.; LI, K.-P.; NG, M.-S.; LAM, H.-M. QTLs regulating the contents of antioxidants, phenolics, and flavonoids in soybean seeds share a common genomic region. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 854, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00854>

LI, N.; MENG, H.; XING, H.; LIANG, L.; ZHAO, X.; LUO, K. Genome-wide analysis of MATE transporters and molecular characterization of aluminum resistance in *Populus*. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 20, p. 5669-5683, 2017. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx370>

LI, P.; LU, Y.-J.; CHEN, H.; DAY, H. The lifecycle of the plant immune system. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 39, n. 1, p. 72-100, 2020. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1757829>

LI, R.; LI, J.; LI, S.; QIN, G.; NOVÁK, O.; PĚNČÍK, A.; LJUNG, K.; AOYAMA, T.; LIU, J.; MURPHY, A.; GU, H.; TSUGE, T.; QU, L.-J. *ADP1* affects plant architecture by regulating local auxin biosynthesis. **PLoS Genetics**, v. 10, n. 1, p. e1003954, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003954>

LI, X.; LIN, Y.; ZHAO, S.; ZHAO, X.; GENG, Z.; YUAN, Z. Transcriptome changes and its effect on physiological and metabolic processes in tea plant during mechanical damage. **Forest Pathology**, v. 48, n. 4, p. e12432, 2018. <https://doi.org/10.1111/efp.12432>

LIU, J.; LI, Y.; WANG, W.; GAI, J.; LI, Y. Genome-wide analysis of MATE transporters and expression patterns of a subgroup of MATE genes in response to aluminum toxicity in soybean. **BMC Genomics**, v. 17, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2559-8>

LIU, M.; WU, F.; WANG, S.; LU, Y.; CHEN, X.; WANG, Y.; GU, A.; ZHAO, J.; SHEN, S. Comparative transcriptome analysis reveals defense responses against soft rot in Chinese cabbage. **Horticulture Research**, v. 6, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0149-z>

- LIU, Q.; WANG, X.; TZIN, V.; ROMEIS, J.; PENG, Y.; LI, Y. Combined transcriptome and metabolome analyses to understand the dynamic responses of rice plants to attack by the rice stem borer *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae). **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 259, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0946-6>
- LIU, X.; ROCKETT, K. S.; KØRNER, C. J.; PAJEROWSKA-MUKHTAR, K. M. Salicylic acid signalling: New insights and prospects at a quarter-century milestone. **Essays in Biochemistry**, v. 58, p. 101-113, 2015. <https://doi.org/10.1042/bse0580101>
- LIU, Y.; HASSAN, S.; KIDD, B. N.; GARG, G.; MATHESIUS, U.; SINGH, K. B.; ANDERSON, J. P. Ethylene signaling is important for isoflavonoid-mediated resistance to *rhizoctonia solani* in roots of *Medicago truncatula*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 30, n. 9, p. 691-700, 2017. [HTTPS://doi.org/10.1094/MPMI-03-17-0057-R](https://doi.org/10.1094/MPMI-03-17-0057-R)
- LONG, L.; LIU, J.; GAO, Y.; XU, F. C.; ZHAO, J. R.; LI, B.; GAO, W. Flavonoid accumulation in spontaneous cotton mutant results in red coloration and enhanced disease resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 143, p. 40-49, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.021>
- LONG, L.; ZHAO, J.-R.; XU, F.-C.; YANG, W.-W.; LIAO, P.; GAO, Y.; SONG, C.-P. Silencing of *GbANS* reduces cotton resistance to *Verticillium dahliae* through decreased ROS scavenging during the pathogen invasion process. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 135, p. 213-221, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1457-y>
- LU, P.; MAGWANGA, R. O.; GUO, X.; KIRUNGU, J. N.; LU, H.; CAI, X.; ZHOU, Z.; WEI, Y.; WANG, X.; ZHANG, Z.; PENG, R.; WANG, K.; LIU, F. Genome-wide analysis of multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family in *Gossypium raimondii* and *Gossypium arboreum* and its expression analysis under salt, cadmium, and drought stress. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 8, n. 7, p. 2483-2500, 2018. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200232>
- LU, Y.; CHEN, Q.; BU, Y.; LUO, R.; HAO, S.; ZHANG, J.; TIAN, J.; YAO, Y. Flavonoid Accumulation Plays an Important Role in the Rust Resistance of *Malus* Plant Leaves. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1286, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01286>
- MAEDA, H.; DUDAREVA, N. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 73-105, 2012. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105439>
- MAHER, E. A.; BATE, N. J.; NI, W.; ELKIND, Y.; DIXON, R. A.; LAMB, C. J. Increased disease susceptibility of transgenic tobacco plants with suppressed levels of preformed phenylpropanoid products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 16, p. 7802-7806, 1994. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.16.7802>
- MAMMAN, E. W.; SALAUDEEN, M. T.; WADA, A. C. Growth and Yield Variability in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Cultivars Infected with Cowpea Aphid-Borne

Mosaic Virus and Southern Bean Mosaic Virus. **Asian Journal of Research in Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2018. <https://doi.org/10.9734/AJRCS/2018/43107>

MARDIS, E. R. DNA sequencing technologies: 2006–2016. **Nature Protocols**, v. 12, n. 2, p. 213-218, 2017. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.182>

MARINOVA, K.; POURCEL, L.; WEDER, B.; SCHWARZ, M.; BARRON, D.; ROUTABOUL, J. M.; DEBEAUJON, I.; KLEIN, M. The *Arabidopsis* MATE transporter TT12 acts as a vacuolar flavonoid/H⁺-antiporter active in proanthocyanidin-accumulating cells of the seed coat. **The Plant Cell**, v. 19, n. 6, p. 2023-2038, 2007. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046029>

MARTIN, J. A.; WANG, Z. Next-generation transcriptome assembly. **Nature Reviews Genetics**, v. 12, n. 10, p. 671-682, 2011. <https://doi.org/10.1038/nrg3068>

MARTINEZ, V.; MESTRE, T. C.; RUBIO, F.; GIRONES-VILAPLANA, A.; MORENO, D. A.; MITTLER, R.; RIVERO, R. M. Accumulation of flavonols over hydroxycinnamic acids favors oxidative damage protection under abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 838, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00838>

MBEYAGALA, E. K.; TUKAMUHABWA, P.; BISIKWA, J.; HOLTON, T.; MUKASA, S. B. Next-generation sequencing reveals the first complete genome sequence of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* from Uganda. **Genome Announcements**, v. 6, n. 3, p. e01491-17, 2018. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01491-17>.

MHLONGO, M. I.; PIATER, L. A.; STEENKAMP, P. A.; MADALA, N. E.; DUBERY, I. A. Priming agents of plant defence stimulate the accumulation of mono- and di-acylated quinic acids in cultured tobacco cells. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 88, p. 61-66, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2014.09.002>

MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16240-16265, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules191016240>

MIKULIC-PETKOVSEK, M.; SCHMITZER, V.; JAKOPIC, J.; CUNJA, V.; VEBERIC, R.; MUNDA, A.; STAMPAR, F. Phenolic compounds as defence response of pepper fruits to *Colletotrichum coccodes*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 84, p. 138-145, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2013.09.003>

MIRANDA, M.; RALPH, S. G.; MELLWAY, R.; WHITE, R.; HEATH, M. C.; BOHLMANN, J.; CONSTABEL, C. P. The transcriptional response of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoids*) to infection by *Melampsora medusae* leaf rust involves induction of flavonoid pathway genes leading to the accumulation of proanthocyanidins. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 20, n. 7, p. 816-831, 2007. <https://doi.org/10.1104/pp.109.139071>

MISRA, P.; PANDEY, A.; TEWARI, S. K.; NATH, P.; TRIVEDI, P. K. Characterization of isoflavone synthase gene from *Psoralea corylifolia*: a medicinal plant. **Plant Cell Reports**, v. 29, n. 7, p. 747-755, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0861-5>

MIYAUCHI, H.; MORIYAMA, S.; KUSAKIZAKO, T.; KUMAZAKI, K.; NAKANE, T.; YAMASHITA, K.; HIRATA, K.; DOHMAE, N.; NISHIZAWA, T.; ITO, K.; MIYAJI, T.; MORIYAMA, Y.; ISHITANI, R.; NUREKI, O. Structural basis for xenobiotic extrusion by eukaryotic MATE transporter. **Nature Communications**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01541-0>

MLOTSHWA, S.; VERVER, J.; SITHOLE-NIANG, I.; VAN KAMPEN, T.; KAMMEN, A. V.; WELLINK, J. The genomic sequence of cowpea aphid-borne mosaic virus and its similarities with other potyviruses. **Archives of Virology**, v. 147, n. 5, p. 1043-1052, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00705-002-0800-z>

MORITA, M.; SHITAN, N.; SAWADA, K.; VAN MONTAGUA, M. C. E.; INZÉ, D.; RISCHER, H.; GOOSSENS, A.; OKSMAN-CALDENTY, K.-M.; MORIYAMA, Y.; YAZAKI, K. Vacuolar transport of nicotine is mediated by a multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter in *Nicotiana tabacum*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 7, p. 2447-2452, 2009. <https://doi.org/10.1073/pnas.0812512106>

MUNIR, N.; CHENG, C.; XIA, C.; XU, X.; NAWAZ, M. A.; IFTIKHAR, J.; CHEN, Y.; LIN, Y.; LAI, Z. RNA-Seq analysis reveals an essential role of tyrosine metabolism pathway in response to root-rot infection in *Gerbera hybrida*. **PLoS One**, v. 14, n. 10, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223519>

MUÑOZ-AMATRIAÍN, M.; MIREBRAHIM, H.; XU, P.; WANAMAKER, S. I.; LUO, M.; ALHAKAMI, H.; ALPERT, M.; ATOKPLE, I.; BATIENO, B. J.; BOUKAR, O.; BOZDAG, S.; CISSE, N.; DRABO, I.; EHLERS, J. D.; FARMER, A.; FATOKUN, C.; GU, Y. Q.; GUO, Y.-N.; HUYNH, B.-L.; JACKSON, S. A.; KUSI, F.; LAWLEY, C. T.; LUCAS, M. R.; MA, Y.; TIMKO, M. P.; WU, J.; YOU, F.; BARKLEY, N. A.; ROBERTS, P. A.; LONARDI, S.; CLOSE, T. J. Genome resources for climate-resilient cowpea, an essential crop for food security. **The Plant Journal**, v. 89, n. 5, p. 1042-1054, 2017. <https://doi.org/10.1111/tpj.13404>

MUSHTAQ, M.; MUKHTAR, S.; MUKHTAR, A.; DAR, A. A.; BHAT, R.; DESHMUKH, R.; MOLLA, K. KUNDOO, A. A.; DAR, M. S. Tweaking genome-editing approaches for virus interference in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 147, p. 242-250, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.12.022>

MUTUKU, J. M.; CUI, S.; HORI, C.; TAKEDA, Y.; TOBIMATSU, Y.; NAKABAYASHI, R.; MORI, T.; SAITO, K.; DEMURA, T.; UMEZAWA, T.; YOSHIDA, S.; SHIRASU, K. The structural integrity of lignin is crucial for resistance against *Striga hermonthica* parasitism in rice. **Plant Physiology**, v. 179, n. 4, p. 1796-1809, 2019. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01133>

NAGAI, A.; TORRES, P. B.; DUARTE, L. M. L.; CHAVES, A. L. R.; MACEDO, A. F.; FLOH, E. I. S.; OLIVEIRA, L. F.; ZUCCARELLI, R.; SANTOS, D. Y. A. C. Signaling pathway played by salicylic acid, gentisic acid, nitric oxide, polyamines and non-enzymatic antioxidants in compatible and incompatible *Solanum*-tomato mottle mosaic virus interactions. **Plant Science**, v. 290, p. 110274, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110274>

NAGALAKSHMI, U.; WANG, Z.; WAERN, K.; SHOU, C.; RAHA, D.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing. **Science**, v. 320, n. 5881, p. 1344-1349, 2008. <https://doi.org/10.1126/science.1158441>

NAGEGOWDA, D. A. Plant volatile terpenoid metabolism: biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation. **FEBS Letters**, v. 584, n. 14, p. 2965-2973, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.05.045>

NAIR, R. B.; BASTRESS, K. L.; RUEGGER, M. O.; DENAULT, J. W.; CHAPPLE, C. The *Arabidopsis thaliana* *REDUCED EPIDERMAL FLUORESCENCE1* gene encodes an aldehyde dehydrogenase involved in ferulic acid and sinapic acid biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 16, n. 2, p. 544-554, 2004. <https://doi.org/10.1105/tpc.017509>

NAKATA, R.; KIMURA, Y.; AOKI, K.; YOSHINAGA, N.; TERAISHI, M.; OKUMOTO, Y.; HUFFAKER, A.; SCHMELZ, E. A.; MORI, N. Inducible de novo biosynthesis of isoflavonoids in soybean leaves by *Spodoptera litura* derived elicitors: tracer techniques aided by high resolution LCMS. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 12, p. 1226-1236, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0786-8>

NAWRATH, C.; HECK, S.; PARINTHAWONG, N.; MÉTRAUX, J.-P. EDS5, an essential component of salicylic acid-dependent signaling for disease resistance in *Arabidopsis*, is a member of the MATE transporter family. **The Plant Cell**, v. 14, n. 1, p. 275-286, 2002. <https://doi.org/10.1105/tpc.010376>

NÉYA, B. J.; ZIDA, P. E.; SÉRÉMÉ, D.; LUND, O. S.; TRAORÉ, O. Evaluation of Yield Losses Caused by *Cowpea Aphid-borne mosaic virus* (CABMV) in 21 Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Varieties in Burkina Faso. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 7, p. 304-313, 2015. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2015.304.313>

NICAISE, V. Crop immunity against viruses: outcomes and future challenges. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 660, 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00660>

NICOLINI, C.; RABELO FILHO, F. A.; RESENDE, R. O.; ANDRADE, G. P.; KITAJIMA, E. W.; PIO-RIBEIRO, G.; NAGATA, T. Possible Host Adaptation as an Evolution Factor of Cowpea aphid-borne mosaic virus Deduced by Coat Protein Gene Analysis. **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 2, p. 82-87, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01861.x>

NIEHL, A.; WYRSCH, I.; BOLLER, T.; HEINLEIN, M. Double-stranded RNA s induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants. **New Phytologist**, v. 211, n. 3, p. 1008-1019, 2016. <https://doi.org/10.1111/nph.13944>

OHLSON, E. W.; THIO, G. I.; SAWADOGO, M.; SÉRÉMÉ, P.; TIMKO, M. P. Quantitative trait loci analysis of brown blotch resistance in cowpea variety KN1. **Molecular Breeding**, v. 38, n. 9, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0867-1>

- OLSPERT, A.; CARR, J. P.; FIRTH, A. E. Mutational analysis of the *Potyvirus* transcriptional slippage site utilized for expression of the P3N-PIPO and P1N-PISPO proteins. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. 16, p. 7618-7629, 2016. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw441>
- OMOTE, HIROSHI.; HIASA, M.; MATSUMOTO, T.; OTSUKA, M.; MORIYAMA, Y. The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic and xenobiotic organic cations. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 11, p. 587-593, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.09.001>
- PALLAS, J. A.; PAIVA, N. L.; LAMB, C.; DIXON, R. A. Tobacco plants epigenetically suppressed in phenylalanine ammonia-lyase expression do not develop systemic acquired resistance in response to infection by *tobacco mosaic virus*. **The Plant Journal**, v. 10, n. 2, p. 281-293, 1996. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1996.10020281.x>
- PALLAS, V.; GARCÍA, J. A. How do plant viruses induce disease? Interactions and interference with host components. **Journal of General Virology**, v. 92, n. 12, p. 2691-2705, 2011. <https://doi.org/10.1099/vir.0.034603-0>
- PANDEY, P.; RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: Physiological and molecular mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00723>
- PATRA, B.; SCHLUTTENHOFER, C.; WU, Y.; PATTANAIK, S.; YUAN, L. Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1829, v. 11, p. 1236-1247, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2013.09.006>
- PENG, Y.; VAN WERSCH, R.; ZHANG, Y. Convergent and divergent signaling in PAMP-triggered immunity and effector-triggered immunity. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 4, p. 403-409, 2018. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-17-0145-CR>
- PERTEA, M.; KIM, D.; PERTEA, G. M.; LEEK, J. T.; SALZBERG, S. L. Transcript-level expression analysis of RNA-Seq experiments with HISAT, StringTie and Ballgown. **Nature Protocols**, v. 11, n. 9, 2016. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.095>
- POURCEL, L.; ROUTABOUL, J. M.; CHEYNIER, V.; LEPINIEC, L.; DEBEAUJON, I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 29-36, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.11.006>
- PREISNER, M.; WOJTASIK, W.; KOSTYN, K.; BOBA, A.; CZUJ, T.; SZOPA, J.; KULMA, A. The cinnamyl alcohol dehydrogenase family in flax: Differentiation during plant growth and under stress conditions. **Journal of Plant Physiology**, v. 221, p. 132-143, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.11.015>

PYNE, M. E.; NARCROSS, L.; MARTIN, V. J. J. Engineering plant secondary metabolism in microbial systems. **Plant Physiology**, v. 179, n. 3, p. 844-861, 2019. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01291>

QIAN, Y.; LYNCH, J. H.; GUO, L.; RHODES, D.; MORGAN, J. A.; DUDAREVA, N. Completion of the cytosolic post-chorismate phenylalanine biosynthetic pathway in plants. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07969-2>

RAUPACH, M. J.; AMANN, R.; WHEELER, Q. D.; ROOS, C. The application of “-omics” technologies for the classification and identification of animals. **Organisms Diversity & Evolution**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13127-015-0234-6>

RAZAL, R. A.; ELLIS, S.; SINGH, S.; LEWIS, N. G.; TOWERS, G. N. Nitrogen recycling in phenylpropanoid metabolism. **Phytochemistry**, v. 41, n. 1, p. 31-35, 1996. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00628-1](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00628-1)

REKHTER, D.; LÜDKE, D.; DING, Y.; FEUSSNER, K.; ZIENKIEWICZ, K.; LIPKA, V.; WIERMER, M.; ZHANG, Y.; FEUSSNER, I. Isochorismate-derived biosynthesis of the plant stress hormone salicylic acid. **Science**, 365, n. 6452, p. 498-502, 2019. <https://10.1126/science.aaw1720>

REVERS, F.; GARCÍA, J. A. Molecular Biology of Potyviruses. **Advances in Virus Research**, v. 92, p. 101-199, 2015. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.11.006>

RIBEIRO, G. S.; FERREIRA, A. F.; NEVES, C. M. L.; SOUZA, F. S. M.; OLIVEIRA, C.; ALVES, E. M.; SODRÉ, G. S.; CARVALHO, C. A. L. Aspects of the floral biology and pollen properties of *Vigna unguiculata* L. Walp (Fabaceae). **African Journal of Plant Science**, v. 7, n. 5, p. 149-154, 2013. <https://10.5897/AJPS13.1014>

RÍPODAS, C.; DALLA VIA, V.; AGUILAR, O. M.; ZANETTI, M. E.; BLANCO, F. A. Knock-down of a member of the isoflavone reductase gene family impairs plant growth and nodulation in *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 68, p. 81-89, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.003>

ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, v. 26, n. 1, p. 139-140, 2010. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>

ROGERS, E. E.; GUERINOT, M. L. FRD3, a member of the multidrug and toxin efflux family, controls iron deficiency responses in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 14, n. 8, p. 1787-1799, 2002. <https://doi.org/10.1105/tpc.001495>

ROGERS, E. E.; WU, X.; STACEY, G.; NGUYEN, H. T. Two MATE proteins play a role in iron efficiency in soybean. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 13, p. 1453-1459, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.02.009>

RONG, W.; LUO, M.; SHAN, T.; WEI, X.; DU, L.; XU, H.; ZHANG, Z. A wheat cinnamyl alcohol dehydrogenase *TaCAD12* contributes to host resistance to the sharp eyespot disease. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01723>

SADE, D.; SHRIKI, O.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TOHGE, T.; SEMEL, Y.; HAVIV, Y.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R.; CZOSNEK, H.; BROTMAN, Y. Comparative metabolomics and transcriptomics of plant response to *Tomato yellow leaf curl virus* infection in resistant and susceptible tomato cultivars. **Metabolomics**, v. 11, n. 1, p. 81-97, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11306-014-0670-x>

SALEH, A. M.; MADANY, M. M. Y. Coumarin pretreatment alleviates salinity stress in wheat seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 88, p. 27-35, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.01.005>

SANGER, F.; AIR, G. M.; BARRELL, B. G.; BROWN, N. L.; COULSON, A. R.; FIDDES, J. C.; HUTCHISON, C. A.; SLOCOMBE, P. M.; SMITH, M. Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA. **Nature**, v. 265, n. 5596, p. 687-695, 1977. <https://doi.org/10.1038/265687a0>

SANTOS-BUELGA, C.; FELICIANO, A. S. Flavonoids: from structure to health issues. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 477, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22030477>

SANTOS-SÁNCHEZ, N. F.; SALAS-CORONADO, R.; HERNÁNDEZ-CARLOS, B.; VILLANUEVA-CAÑONGO, C. Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. In: SOTO-HERNÁNDEZ, M. **Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds**. IntechOpen, 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83815>

SAVATIN, D. V.; GRAMEGNA, G.; MODESTI, V.; CERVONE, F. Wounding in the plant tissue: the defense of a dangerous passage. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 470, 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00470>

SAYERS, E. W.; BECK, J.; BOLTON, E. E.; BOUREXIS, D.; BRISTER, J. R.; CANESE, K.; COMEAU, D. C.; FUNK, K.; KIM, S.; KLIMKE, W.; MARCHLER-BAUER, A.; LANDRUM, M.; LATHROP, S.; LU, Z.; MADDEN, T. L.; O'LEARY, N.; PHAN, L.; RANGWALA, S. H.; SCHNEIDER, V. A.; SKRIPCHENKO, Y.; WANG, J.; YE, J.; TRAWICK, B. W.; PRUITT, K. D.; STEPHEN T. SHERRY, S. T. Database resources of the national center for biotechnology information. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D10, 2021. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa892>

SAYERS, E. W.; CAVANAUGH, M.; CLARK, K.; OSTELL, J.; PRUITT, K. D.; KARSCH-MIZRACHI, I. GenBank. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D94-D99, 2019. <https://doi.org/10.1093/nar/gky989>

SCHOCH, G.; GOEPFERT, S.; MORANT, M.; HEHN, A.; MEYER, D.; ULLMANN, P.; WERCK-REICHHART, D. CYP98A3 from *Arabidopsis thaliana* is a 3'-hydroxylase of phenolic esters, a missing link in the phenylpropanoid pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 39, p. 36566-36574, 2001. <https://doi.org/10.1074/jbc.M104047200>

SEITZ, C.; AMERES, S.; FORKMANN, G. Identification of the molecular basis for the functional difference between flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3',5'-hydroxylase. **FEBS letters**, v. 581, n. 18, p. 3429-3434, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.06.045>

SERRANO, M.; WANG, B.; ARYAL, B.; GARCION, C.; ABOU-MANSOUR, E.; HECK, S.; GEISLER, M.; MAUCH, F.; NAWRATH, C.; MÉTRAUX, J.-P. Export of salicylic acid from the chloroplast requires the multidrug and toxin extrusion-like transporter EDS5. **Plant Physiology**, v. 162, n. 4, p. 1815-1821, 2013. <https://doi.org/10.1104/pp.113.218156>

SHAHIDI, F.; YEO, J. Insoluble-bound phenolics in food. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1216, 2016. <https://doi.org/10.3390/molecules21091216>

SHARMA, A.; SHAHZAD, B.; REHMAN, A.; BHARDWAJ, R.; LANDI, M.; ZHENG, B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. **Molecules**, v. 24, n. 13, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>

SHARMA, A.; TULI, H. S.; SHARMA, A. K. Chemistry and Synthetic Overview of Flavonoids. In: TULI, H. S. **Current Aspects of Flavonoids: Their Role in Cancer Treatment**. Singapore: Springer, 2019. p. 23-38. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5874-6_3

SHEN, Y.; SUN, T.; PAN, Q.; ANUPOL, N.; CHEN, H.; SHI, J.; LIU, F.; DEQIANG, D.; WANG, C.; ZHAO, J.; YANG, S.; WANG, C.; LIU, J.; BAO, M.; NING, G. RrMYB5- and RrMYB10-regulated flavonoid biosynthesis plays a pivotal role in feedback loop responding to wounding and oxidation in *Rosa rugosa*. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 11, p. 2078-2095, 2019. <https://doi.org/10.1111/pbi.13123>

SHENG, Q.; VICKERS, K.; ZHAO, S.; WANG, J.; SAMUELS, D. C.; KOUES, O.; SHYR, YU.; GUO, Y. Multi-perspective quality control of Illumina RNA sequencing data analysis. **Briefings in Functional Genomics**, v. 16, n. 4, p. 194-204, 2017. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elw035>

SHIMAMURA, M.; AKASHI, T.; SAKURAI, N.; SUZUKI, H.; SAITO, K.; SHIBATA, D.; AYABE, S.-I.; AOKI, T. 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase is a critical determinant of isoflavone productivity in hairy root cultures of *Lotus japonicus*. **Plant and Cell Physiology**, v. 48, n. 11, p. 1652-1657, 2007. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcm125>

SHITAN, N.; MINAMI, S.; MORITA, M.; HAYASHIDA, M.; ITO, S.; TAKANASHI, K.; OMOTE, H.; MORIYAMA, Y.; SUGIYAMA, A.; GOOSSENS, A.; MORIYASU, M.; YAZAKI, K. Involvement of the leaf-specific multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter Nt-JAT2 in vacuolar sequestration of nicotine in *Nicotiana tabacum*. **PLoS One**, v. 9, n. 9, p. e108789, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108789>

SHOJI, T.; INAI, K.; YAZAKI, Y.; SATO, Y.; TAKASE, H.; SHITAN, N.; YAZAKI, K.; GOTO, Y.; TOYOOKA, K.; MATSUOKA, K.; HASHIMOTO, T. Multidrug and toxic

compound extrusion-type transporters implicated in vacuolar sequestration of nicotine in tobacco roots. **Plant Physiology**, v. 149, n. 2, p. 708-718, 2009. <https://doi.org/10.1104/pp.108.132811>

SILVA, M. S.; ARRAES, F. B. M.; CAMPOS, M. A.; GROSSI-DE-SA, M.; FERNANDEZ, D.; CÂNDIDO, E. S.; CARDOSO, M. H.; FRANCO, O. L.; GROSSI-DE-SA, M. F. Potential biotechnological assets related to plant immunity modulation applicable in engineering disease-resistant crops. **Plant Science**, v. 270, p. 72-84, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.02.013>

SIMS, D.; SUDBERY, I.; ILOTT, N. E.; HEGER, A.; PONTING, C. P. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 2, p. 121-132, 2014 <https://doi.org/10.1038/nrg3642>

SINDHU, M.; KUMAR, A.; YADAV, H.; CHAUDHARY, D.; JAIWAL, R.; JAIWAL, P. K. Current advances and future directions in genetic enhancement of a climate resilient food legume crop, cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 139, n. 3, p. 429-453, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01695-3>

SINGH, B. B. Botany and Physiology. In: **Cowpea: The Food Legume of the 21st Century**. Madison, WI: Crop Science Society of America, 2014. p. 17-32. <https://doi.org/10.2135/2014.cowpea.c2>

SIVANKALYANI, V.; FEYGENBERG, O.; DISKIN, S.; WRIGHT, B.; ALKAN, N. Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 132-139, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.001>

SOUZA, P. F. N.; GARCIA-RUIZ, H.; CARVALHO, F. E. L. What proteomics can reveal about plant–virus interactions? Photosynthesis-related proteins on the spotlight. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 31, n. 1, p. 227-248, 2019. <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00142-0>

SÖZEN, C.; SCHENK, S. T.; BOUDSOCQ, M.; CHARDIN, C.; ALMEIDA-TRAPP, M.; KRAPP, A.; HIRT, H.; MITHÖFER, H.; COLCOMBET, J. Wounding and insect feeding trigger two independent MAPK pathways with distinct regulation and kinetics. **The Plant Cell**, v. 32, n. 6, p. 1988-2003, 2020. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00917>

SPRIGGS, A.; HENDERSON, S. T.; HAND, M. L.; JOHNSON, S. D.; TAYLOR, J. M.; KOLTUNOW, A. Assembled genomic and tissue-specific transcriptomic data resources for two genetically distinct lines of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Gates Open Research**, v. 2, p. 7, 2018. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.12777.2>

STRINGLIS, I. A.; JONGE, R.; PIETERSE, C. M. J. The Age of Coumarins in Plant–Microbe Interactions. **Plant and Cell Physiology**, v. 60, n. 7, p. 1405-1419, 2019. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz076>

SUDHEESH, S.; SAWBRIDGE, T. I.; COGAN, N. O.; KENNEDY, P.; FORSTER, J. W.; KAUR, S. De novo assembly and characterisation of the field pea transcriptome

using RNA-Seq. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 611, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1815-7>

SUGIYAMA, A. The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond—A review. **Journal of Advanced Research**, v. 19, p. 67-73, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.005>

SUN, X.; GILROY, E. M.; CHINI, A.; NURMBERG, P. L.; HEIN, I.; LACOMME, C.; BIRCH, P. R. J.; HUSSAIN, A.; YUN, B.-W.; LOAKE, G. J. ADS1 encodes a MATE-transporter that negatively regulates plant disease resistance. **New Phytologist**, v. 192, p. 471-482, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03820.x>

SUN, X.; ZHOU, D.; KANDAVELU, P.; ZHANG, H.; YUAN, Q.; WANG, B.-C.; ROSE, J.; YAN, Y. Structural insights into substrate specificity of Feruloyl-CoA 6'-Hydroxylase from *Arabidopsis thaliana*. **Scientific Reports**, v.5, p. 10355, 2015. <https://doi.org/10.1038/srep10355>

SUZUKI, M.; SATO, Y.; WU, S.; KANG, B. H.; MCCARTY, D. R. Conserved functions of the MATE transporter BIG EMBRYO1 in regulation of lateral organ size and initiation rate. **The Plant Cell**, v. 27, n. 8, p. 2288-2300, 2015. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00290>

SUZUKI, N.; RIVERO, R. M.; SHULAEV, V.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v. 203, n. 1, p. 32-43, 2014. <https://doi.org/10.1111/nph.12797>

SZATMÁRI, Á.; ZVARA, Á.; MÓRICZ, Á. M.; BESENYEI, E.; SZABÓ, E.; OTT, P. G.; PUKÁS, L. G.; BOZSÓ, Z. Pattern triggered immunity (PTI) in tobacco: isolation of activated genes suggests role of the phenylpropanoid pathway in inhibition of bacterial pathogens. **PLoS One**, v. 9, n. 8, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102869>

TAGUCHI, G.; IMURA, H.; MAEDA, Y.; KODAIRA, R.; HAYASHIDA, N.; SHIMOSAKA, M.; OKAZAKI, M. Purification and characterization of UDP-glucose: hydroxycoumarin 7-O-glucosyltransferase, with broad substrate specificity from tobacco cultured cells. **Plant Science**, v. 157, n. 1, p. 105-112, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00270-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00270-3)

TAKANASHI, K.; SHITAN, N.; YAZAKI, K. The multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family in plants. **Plant Biotechnology**, v. 31, p. 417-430, 2014. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.0904a>

TAKANASHI, K.; YAMADA, Y.; SASAKI, T.; YAMAMOTO, Y.; SATO, F.; YAZAKI, K. A multidrug and toxic compound extrusion transporter mediates berberine accumulation into vacuoles in *Coptis japonica*. **Phytochemistry**, v. 138, p. 76-82, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.03.003>

TAN, Y.; WANG, J.; DAVIS, R. E.; WEI, H.; ZONG, X.; WEI, W.; SHAO, J.; ZHAO, Y.; LIU, Q. Transcriptome analysis reveals a complex array of differentially expressed genes accompanying a source-to-sink change in phytoplasma-infected sweet cherry leaves. **Annals of Applied Biology**, v. 175, n. 1, p. 69-82, 2019. <https://doi.org/10.1111/aab.12511>

TANAKA, K.; HEIL, M. Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) in Plant Innate Immunity: Applying the Danger Model and Evolutionary Perspectives. **Annual Review of Phytopathology**, v. 59, 2021. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100146>

TARIQ, R.; WANG, C.; QIN, T.; XU, F.; TANG, Y.; GAO, Y.; JI, Z.; ZHAO, K. Comparative transcriptome profiling of rice near-isogenic line carrying Xa23 under infection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 717, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19030717>

TEIXEIRA, R. M.; FERREIRA, M. A.; RAIMUNDO, G. A.; LORIATO, V. A.; REIS, P. A.; FONTES, E. P. B. Virus perception at the cell surface: revisiting the roles of receptor-like kinases as viral pattern recognition receptors. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, n. 9, p. 1196-1202, 2019. <https://doi.org/10.1111/mpp.12816>

TIMKO, M. P.; EHLERS, J. D.; ROBERTS, P. A. Cowpea. In: KOLE C. **Pulses, sugar and tuber crops**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. p. 49-67. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34516-9_3

TIMKO, M. P.; SINGH, B. Cowpea, a Multifunctional Legume. In: MOORE, P. H.; MING, R. **Genomics of Tropical Crop Plants**. v. 1. New York: Springer, 2008. p. 227-258. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71219-2_10

TIWARI, M.; SHARMA, D.; SINGH, M.; TRIPATHI, R. D.; TRIVEDI, P. K. Expression of OsMATE1 and OsMATE2 alters development, stress responses and pathogen susceptibility in *Arabidopsis*. **Scientific Reports**, v. 4, 2014. <https://doi.org/10.1038/srep03964>

TOHGE, T.; WATANABE, M.; HOEFGEN, R.; FERNIE, A. R. Shikimate and phenylalanine biosynthesis in the green lineage. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, 2013. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00062>

TONG, Z.; LI, H.; ZHANG, R.; MA, L.; DONG, J.; WANG, T. Co-downregulation of the hydroxycinnamoyl-CoA: Shikimate hydroxycinnamoyl transferase and coumarate 3-hydroxylase significantly increases cellulose content in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Science**, v. 239, p. 230-237, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.08.005>

TORRES-CONTRERAS, A. M.; SENÉS-GUERRERO, C.; PACHECO, A.; GONZÁLEZ-AGÜERO, M.; RAMOS-PARRA, P. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. Genes differentially expressed in broccoli as an early and late response to wounding stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 145, p. 172-182, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.010>

TRÓPICOS. Missouri Botanical Garden. Disponível em:
<http://www.tropicos.org/Name/13035198>. Acessado em: 30 de outubro de 2019.

TUOMI, J. M.; VOORBRAAK, F.; JONES, D. L.; RUIJTER, J. M. Bias in the Cq value observed with hydrolysis probe based quantitative PCR can be corrected with the estimated PCR efficiency value. **Methods**, v. 50, n. 4, p. 313-322, 2010.
<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2010.02.003>

TZIN, V.; GALILI, G. New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. **Molecular Plant**, v. 3, n. 6, p. 956-972, 2010.
<https://doi.org/10.1093/mp/ssq048>

UCHIDA, K.; AKASHI, T.; AOKI, T. The missing link in leguminous pterocarpan biosynthesis is a dirigent domain-containing protein with isoflavanol dehydratase activity. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 2, p. 398-408, 2017.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcw213>

UPADHYAY, N.; KAR, D.; MAHAJAN, B. D.; NANDA, S.; RAHIMAN, R.; PANCHAKSHARI, N.; BHAGAVATULA, L.; DATTA, S. The multitasking abilities of MATE transporters in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 18, p. 4643-4656, 2019. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz246>

VADIVEL, A. K. A.; KRYSIAK, K.; TIAN, G.; DHAUBHADEL, S. Genome-wide identification and localization of chalcone synthase family in soybean (*Glycine max* [L] Merr). **BMC Plant Biology**, v. 18, n. 1, p. 325, 2018.
<https://doi.org/10.1186/s12870-018-1569-x>

VADIVEL, A. K. A.; SUKUMARAN, A.; LI, X.; DHAUBHADEL, S. Soybean isoflavonoids: role of GmMYB176 interactome and 14-3-3 proteins. **Phytochemistry Reviews**, v. 15, n. 3, p. 391-403, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9431-3>

VAN DER BURGH, A. M.; JOOSTEN, M. H. A. J. Plant immunity: thinking outside and inside the box. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 7, p. 587-601, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.04.009>

VANHOLME, B.; EL HOUARI, I.; BOERJAN, W. Bioactivity: phenylpropanoids' best kept secret. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 156-162, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.012>

VANHOLME, R.; DE MEESTER, B.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Lignin biosynthesis and its integration into metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 230-239, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.018>

VEGA-MUÑOZ, I.; DURAN-FLORES, D.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, A. D.; HEYMAN, J.; RITTER, A.; STAEL, S. Breaking Bad News: Dynamic Molecular Mechanisms of Wound Response in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2020.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.610445>

WANG, A. Dissecting the molecular network of virus-plant interactions: the complex roles of host factors. **Annual Review of Phytopathology**, v. 53, p. 45-66, 2015. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120001>

WANG, C.; TARIQ, R.; JI, Z.; WEI, Z.; ZHENG, K.; MISHRA, R.; ZHAO, K. Transcriptome analysis of a rice cultivar reveals the differentially expressed genes in response to wild and mutant strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39928-2>

WANG, L.; WANG, Y.; CAO, H.; HAO, X.; ZENG, J.; YANG, Y.; WANG, X. Transcriptome analysis of an anthracnose-resistant tea plant cultivar reveals genes associated with resistance to *Colletotrichum camelliae*. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, p. e0148535, 2016. <https://doi:10.1371/journal.pone.0148535>

WANG, M.; ZHU, X.; WANG, K.; LU, C.; LUO, M.; SHAN, T.; ZHANG, Z. A wheat caffeic acid 3-O-methyltransferase *TaCOMT-3D* positively contributes to both resistance to sharp eyespot disease and stem mechanical strength. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018. <https://doi:10.1038/s41598-018-24884-0>

WANG, R.; LIU, X.; LIANG, S.; GE, Q.; LI, Y.; SHAO, J.; QI, Y.; AN, L.; YU, F. A subgroup of MATE transporter genes regulates hypocotyl cell elongation in *Arabidopsis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 6327-6343, 2015. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv344>

WANG, X.; SHI, W.; RINEHART, T. Transcriptomes that confer to plant defense against Powdery Mildew Disease in *Lagerstroemia indica*. **International Journal of Genomics**, v. 2015, 2015. <https://dx.doi.org/10.1155/2015/528395>

WANG, Y.-N.; TANG, L.; HOU, Y.; WANG, P.; YANG, H.; WEI, C.-L. Differential transcriptome analysis of leaves of tea plant (*Camellia sinensis*) provides comprehensive insights into the defense responses to *Ectropis oblique* attack using RNA-Seq. **Functional & Integrative Genomics**, v. 16, n. 4, p. 383-398, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10142-016-0491-2>

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n. 1, 2009. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>

WANG, Z.; QIAN, C.; GUO, X.; LIU, E.; MAO, K.; MU, C.; CHEN, N.; ZHANG, W.; LIU, H. ELS1, a novel MATE transporter related to leaf senescence and iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 476, n. 4, p. 319-325, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.05.121>

WEI, T.; OU, B.; LI, J.; ZHAO, Y.; GUO, D.; ZHU, Y.; CHEN, Z.; GU, H.; LI, C.; QIN, G.; QU, L.-J. Transcriptional profiling of rice early response to *Magnaporthe oryzae* identified OsWRKYs as important regulators in rice blast resistance. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. e59720, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059720>

- WEI, T.; ZHANG, C.; HONG, J.; XIONG, R.; KASSCHAU, K. D.; ZHOU, X.; CARRINGTON, J. C.; WANG, A. Formation of complexes at plasmodesmata for potyvirus intercellular movement is mediated by the viral protein P3N-PIPO. **PLoS Pathogens**, v. 6, n. 6, 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000962>
- WEN, W.; ALSEEKH, S.; FERNIE, A. R. Conservation and diversification of flavonoid metabolism in the plant kingdom. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 55, p. 100-108, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.04.004>
- WILLIAMS, C. R.; BACCARELLA, A.; PARRISH, J. Z.; KIM, C. C. Trimming of sequence reads alters RNA-Seq gene expression estimates. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 1, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12859-016-0956-2>
- WU, L.; DU, G.; BAO, R.; LI, Z.; GONG, Y.; LIU, F. De novo assembly and discovery of genes involved in the response of *Solanum sisymbriifolium* to *Verticillium dahlia*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 4, p. 1009-1027, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00666-4>
- WU, Z.; WANG, N.; HISANO, H.; CAO, Y.; WU, F.; LIU, W.; BAO, Y.; WANG, Z.-Y.; FU, C. Simultaneous regulation of *F5H* in COMT-RNAi transgenic switchgrass alters effects of *COMT* suppression on syringyl lignin biosynthesis. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 4, p. 836-845, 2019. <https://doi.org/10.1111/pbi.13019>
- WYLIE, S. J.; ADAMS, M.; CHALAM, C.; KREUZE, J.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; OHSHIMA, K.; PRAVEEN, S.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; WANG, A.; ZERBINI, F. M. ICTV virus taxonomy profile: Potyviridae. **The Journal of General Virology**, v. 98, n. 3, p. 352-354, 2017. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000740>
- XIE, M.; ZHANG, J.; TSCHAPLINSKI, T. J.; TUSKAN, G. A.; CHEN, J.-G.; MUCHERO, W. Regulation of lignin biosynthesis and its role in growth-defense tradeoffs. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01427>
- XU, L.; SHEN, Z.-L.; CHEN, W.; SI, G.-Y.; MENG, Y.; GUO, N.; SUN, X.; CAI, Y.-P.; LIN, Y.; GAO, J.-S. Phylogenetic analysis of upland cotton MATE gene family reveals a conserved subfamily involved in transport of proanthocyanidins. **Molecular Biology Reports**, v. 46, p. 161-175, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4457-4>
- XU, Y.; ZOU, J.; ZHENG, H.; XU, M.; ZONG, X.; WANG, L. RNA-seq transcriptome analysis of rice primary roots reveals the role of flavonoids in regulating the rice primary root growth. **Genes**, v. 10, n. 3, p. 213, 2019. <https://doi.org/10.3390/genes10030213>
- YADAV, V.; WANG, Z.; WEI, C.; AMO, A.; AHMED, B.; YANG, X.; ZHANG, X. Phenylpropanoid pathway engineering: An emerging approach towards plant defense. **Pathogens**, v. 9, n. 4, p. 312, 2020. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040312>

- YAHYAA, M.; ALI, S.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; IBDAH, M.; SHACHTIER, A.; EYAL, Y.; LEWINSOHN, E.; IBDAH, M. Characterization of three chalcone synthase-like genes from apple (*Malus x domestica* Borkh.). **Phytochemistry**, v. 140, p. 125-133, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.022>
- YANG, A.; KISHORE, A.; PHIPPS, B.; HO, J. W. Cloud accelerated alignment and assembly of full-length single-cell RNA-seq data using Falco. **BMC Genomics**, v. 20, n. 10, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6341-6>
- YANG, J.; JI, L.; WANG, X.; ZHANG, Y.; WU, L.; YANG, Y.; MA, Z. Overexpression of 3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase gene from *Gossypium hirsutum* enhances *Arabidopsis* resistance to *Verticillium* wilt. **Plant Cell Reports**, v. 34, n. 8, p. 1429-1441, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1798-5>
- YANG, L.; WEN, K. S.; RUAN, X.; ZHAO, Y.-X.; WEI, F.; WANG, Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. **Molecules**, v. 23, n. 4, 2018. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- YAZAKI, K.; ARIMURA, G.-I.; OHNISHI, T. 'Hidden' terpenoids in plants: their biosynthesis, localization and ecological roles. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 10, p. 1615-1621, 2017. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx123>
- YE, J.; MCGINNIS, S.; MADDEN, T. L. BLAST: improvements for better sequence analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 34, n. suppl_2, p. W6-W9, 2006. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl164>
- YIM, W. C.; CUSHMAN, J. C. Divide and Conquer (DC) BLAST: fast and easy BLAST execution within HPC environments. **PeerJ**, v. 5, 2017. <https://doi.org/10.7717/peerj.3486>
- YIN, Y. C.; ZHANG, X. D.; GAO, Z. Q.; HU, T.; LIU, Y. The research progress of chalcone isomerase (CHI) in plants. **Molecular Biotechnology**, v. 61, n. 1, p. 32-52, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0130-3>
- YOKOSHO, K.; YAMAJI, N.; MA, J. F. Isolation and characterisation of two MATE genes in rye. **Functional Plant Biology**, v. 37, n. 4, p. 296-303, 2010. <https://doi.org/10.1071/FP09265>
- YONEKURA-SAKAKIBARA, K.; HIGASHI, Y.; NAKABAYASHI, R. The origin and evolution of plant flavonoid metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00943>
- YOO, H.; GREENE, G. H.; YUAN, M.; XU, G.; BURTON, D.; LIU, L.; MARQUÉS, J.; DONG, X. Translational Regulation of Metabolic Dynamics during Effector-Triggered Immunity. **Molecular Plant**, v. 13, p. 88-98, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.09.009>
- YOO, H.; WIDHALM, J. R.; QIAN, Y.; MAEDA, H.; COOPER, B. R.; JANNASCH, A. S.; GONDA, I.; LEWINSOHN, E.; RHODES, D.; DUDAREVA, N. An alternative

pathway contributes to phenylalanine biosynthesis in plants via a cytosolic tyrosine: phenylpyruvate aminotransferase. **Nature Communications**, v. 4, 2013. <https://doi.org/10.1038/ncomms3833>

YUAN, M.; NGOU, B. P. M.; DING, P.; XIN, X.-F. PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 62, p. 102030, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102030>

YUAN, W.; JIANG, T.; DU, K.; CHEN, H.; CAO, Y.; XIE, J.; LI, M.; CARR, J. P.; WU, B.; FAN, Z.; ZHOU, T. Maize phenylalanine ammonia-lyases contribute to resistance to Sugarcane mosaic virus infection, most likely through positive regulation of salicylic acid accumulation. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, n. 10, p. 1365-1378, 2019. <https://doi.org/10.1111/mpp.12817>

ZABALA, G.; ZOU, J.; TUTEJA, J.; GONZALEZ, D. O.; STEVEN J CLOUGH, S. J.; VODKIN, L. O. Transcriptome changes in the phenylpropanoid pathway of *Glycine max* in response to *Pseudomonas syringae* infection. **BMC Plant Biology**, v. 6, n. 1, 2006. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-6-26>

ZANARDO, L. G.; SOUZA, G. B.; ALVES, M. S. Transcriptomics of plant–virus interactions: a review. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 31, n. 1, p. 103-125, 2019. <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00143-z>

ZAYNAB, M.; FATIMA, M.; ABBAS, S.; SHARIF, Y.; UMAIR, M.; ZAFAR, M. H.; BAHADAR, K. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, p. 198-202, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034>

ZENG, W.; CAI, Z.; CHEN, H.; LAI, Z.; YANG, S.; TANG, X. Comparative transcriptome analysis of soybean response to bean pyralid larvae. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 871, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4256-7>

ZHANG, C.; WANG, X.; ZHANG, F.; DONG, L.; WU, J.; CHENG, Q.; QI, D.; YAN, X.; JIANG, L.; FAN, S.; LI, N.; LI, D.; XU, P.; ZHANG, S. Phenylalanine ammonia-lyase2.1 contributes to the soybean response towards *Phytophthora sojae* infection. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 7242, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07832-2>

ZHANG, H.; ZHAO, X.; ZHANG, J.; YANG, B.; YU, Y.; LIU, T.; NIE, B. Functional analysis of an anthocyanin synthase gene *StANS* in potato. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109569, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109569>

ZHANG, H.; ZHU, H.; PAN, Y.; YU, Y.; LUAN, S.; LI, L. A DTX/MATE-type transporter facilitates abscisic acid efflux and modulates ABA sensitivity and drought tolerance in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 7, n. 10, p. 1522-1532, 2014. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu063>

ZHANG, L.; CENCI, A.; ROUARD, M.; ZHANG, D.; WANG, Y.; TANG, W.; ZHENG, S.-J. Transcriptomic analysis of resistant and susceptible banana corms in response

to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 8199, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44637-x>

ZHANG, P.; DU, H.; WANG, J.; PU, Y.; YANG, C.; YAN, R.; YANG, H.; CHENG, H.; YU, D. Multiplex CRISPR/Cas9-mediated metabolic engineering increases soya bean isoflavone content and resistance to soya bean mosaic virus. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n. 6, p. 1384-1395, 2020. <https://doi.org/10.1111/pbi.13302>

ZHANG, W.; LIAO, L.; XU, J.; HAN, Y.; LI, L. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of MATE family genes in apple (*Malus x domestica* Borkh). **BMC Genomics**, v. 22, n. 1, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07943-1>

ZHANG, X.; ABRAHAN, C.; COLQUHOUN, T. A.; LIU, C. J. A proteolytic regulator controlling chalcone synthase stability and flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 29, n. 5, p. 1157-1174, 2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00855>

ZHANG, X.; LIU, C.-J. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Molecular Plant**, v. 8, n. 1, p. 17-27, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.001>

ZHANG, Y.; TIAN, L.; YAN, D. H.; HE, W. Genome-wide transcriptome analysis reveals the comprehensive response of two susceptible poplar sections to *marssonina brunnea* infection. **Genes**, v. 9, n. 3, p. 154, 2018. <https://doi.org/10.3390/genes9030154>

ZHAO, J.; DIXON, R. A. MATE transporters facilitate vacuolar uptake of epicatechin 3'-O-glucoside for proanthocyanidin biosynthesis in *Medicago truncatula* and *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 21, n. 8, p. 2323-2340, 2009. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.067819>

ZHAO, J.; HUHMANN, D.; SHADLE, G.; HE, X.-Z.; SUMNER, L. W.; TANG, Y.; DIXON, R. A. MATE2 mediates vacuolar sequestration of flavonoid glycosides and glycoside malonates in *Medicago truncatula*. **The Plant Cell**, v. 23, n. 4, p. 1536-1555, 2011. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.080804>

ZHAO, S.; ZHANG, Y.; GAMINI, R.; ZHANG, B.; SCHACK, D. V. Evaluation of two main RNA-Seq approaches for gene quantification in clinical RNA sequencing: polyA+ selection versus rRNA depletion. **Scientific Reports**, n. 8, v. 1, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23226-4>

ZHOU, G.; DELHAIZE, E.; ZHOU, M.; RYAN, P. R. The barley MATE gene, HvAACT1, increases citrate efflux and Al³⁺ tolerance when expressed in wheat and barley. **Annals of Botany**, v. 112, n. 3, p. 603-612, 2013. <https://doi.org/10.1093/aob/mct135>

ZHOU, H.; LIN, J.; JOHNSON, A.; MORGAN, R. L.; ZHONG, W.; MA, W. *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1 targets a host enzyme to suppress

isoflavone biosynthesis and promote infection in soybean. **Cell Host and Microbe**, v. 9, n. 3, p. 177-186, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.02.007>

ZHOU, Y.; HUANG, J. L.; ZHANG, X. L.; ZHU, L. M.; WANG, X. F.; GUO, N.; ZHAO, J. M.; XING, H. Overexpression of Chalcone Isomerase (CHI) Increases Resistance Against *Phytophthora sojae* in Soybean. **Journal of Plant Biology**, v. 61, n. 5, p. 309-319, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12374-018-0017-7>

ZHU, L.; NI, W.; LIU, S.; CAI, B.; XING, H.; WANG, S. Transcriptomics analysis of apple leaves in response to *Alternaria alternata* apple pathotype infection. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00022>

ZOU, D.; MA, L.; YU, J.; ZHANG, Z. Biological databases for human research. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 13, n. 1, p. 55-63, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.01.006>

ZULUAGA, D. L.; LIOI, L.; DELVENTO, C.; PAVAN, S.; SONNANTE, G. Genotyping-by-Sequencing in *Vigna unguiculata* Landraces and Its Utility for Assessing Taxonomic Relationships. **Plants**, v. 10, n. 3, p. 509, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10030509>