



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MOLECULAR**

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
COMPONENTES GENÉTICOS DE RESISTÊNCIA EM
Musa acuminata A *Pseudocercospora musae***

TATIANA DAVID MIRANDA PINHEIRO

**BRASÍLIA-DF
JULHO, 2020**

TATIANA DAVID MIRANDA PINHEIRO

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
COMPONENTES GENÉTICOS DE RESISTÊNCIA EM
Musa acuminata A *Pseudocercospora musae***

Tese apresentada à Universidade de Brasília
como requisito parcial para obtenção do
título de Doutor em Biologia Molecular pelo
Programa de Pós-graduação em Biologia
Molecular.

Orientador

Prof. Dr. Robert Neil Gerard Miller

**BRASÍLIA-DF
JULHO, 2020**

Tese de autoria de Tatiana David Miranda Pinheiro, intitulada “Identificação e caracterização de componentes genéticos de resistência em *Musa acuminata* a *Pseudocercospora musae*” realizada junto ao Departamento de Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Professor Dr. Robert Neil Gerard Miller, com apoio da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP/DF) e do INCT.

TESE APROVADA EM: 27 DE JULHO DE 2020.

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Robert Neil Gerard Miller

Departamento de Biologia Celular / Universidade de Brasília
Orientador

Profa. Dra. Marisa A. S. Velloso Ferreira

Departamento de Fitopatologia / Universidade de Brasília
Membro Interno

Profa. Dra. Eliane Ferreira Noronha

Departamento de Biologia Celular / Universidade de Brasília
Membro Interno

Dra. Maria Eugênia Lisei de Sá

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais Epamig
Membro Externo

Prof. Dr. Danilo Batista Pinho

Departamento de Fitopatologia / Universidade de Brasília
Suplente

À minha família, meu marido Vanderlei e minha filha,
Aos meus pais, irmãs, sobrinhos e cunhados,
por todo amor, paciência e apoio,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiro à Deus, por seu amor incondicional, por nunca me abandonar, mesmo nas dificuldades Ele me fez mais forte, em cada problema Ele me fez mais resiliente;

À Universidade de Brasília pela oportunidade de realização do Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular, e aos professores do Departamento de Biologia Celular, por todo conhecimento compartilhado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, e ao CNPq, FAPDF e INCT pelo apoio financeiro concedido;

Ao professor Robert Miller, pela orientação, incentivo, aprendizado e por todo crescimento que o senhor me proporcionou. Obrigada por acreditar e confiar em mim. O senhor é um exemplo de profissional, fico muito lisonjeada em ter participado da sua equipe;

À professora Marisa Ferreira, pela participação na banca de defesa desse trabalho, e, principalmente, por ter participado de toda minha caminhada até aqui. A senhora foi e continua sendo um exemplo para mim. Muito obrigada por todo incentivo e por todos os ensinamentos;

Aos membros da banca, Dra. Maria Eugênia, Dra. Marisa Ferreira e Dra. Eliane Noronha, deixo meus agradecimentos pelo interesse, pela disposição em ajudar a melhorar esse trabalho e por todos os apontamentos tão preciosos;

À equipe de bioinformática da Embrapa Cenargen, por todas as análises realizadas, tão fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho;

Aos professores Fernando, Gabriel e Dijair que foram de fundamental importância em todo desenvolvimento desse trabalho. Meus sinceros agradecimentos, sem vocês nada disso seria possível;

À toda a equipe do Laboratório de Interação Planta-Praga da UnB, o grupo mais sensacional ao qual já participei. Lá formamos parcerias para a vida. Às amigas queridas Erica, Amanda, Leticia, Taísa, Michelle e Deziane, e às alunas de iniciação científica. Muito obrigada por todo apoio operacional e experimental;

Ao professor Danilo Pinho, pela paciência, e por todo aprendizado e apoio durante a realização deste;

Ao meu marido Vanderlei, eterno companheiro, que esteve presente em cada dificuldade, que me apoiou, me fortaleceu quando mais precisei;

À minha filha Leticia, que foi paciente o suficiente para me permitir concluir essa etapa;

Aos meus pais, pelo apoio incondicional em todos os momentos, por me deixar segura durante a realização do doutorado;

Às minhas irmãs Ana Beatriz, Carol e Camila e aos meus cunhados por todo apoio e ajuda nos momentos que mais precisei;

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento desse trabalho, deixo meus sinceros agradecimentos.

*“Porque tudo é Dele, por Ele e para Ele.
A Ele a glória pelos séculos! Amém.”*
Rm 11, 36

RESUMO

PINHEIRO, Tatiana David Miranda. Identificação e caracterização de componentes genéticos de resistência em *Musa acuminata* a *Pseudocercospora musae*. 2020. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais importantes do mundo, base da alimentação familiar em diversos países, sendo uma relevante fonte nutricional, rica em carboidratos, fibras, vitaminas e minerais. Entretanto, as cultivares de maior interesse são suscetíveis ao ataque de fitopatógenos. A Sigatoka-amarela, causada pelo fungo *Pseudocercospora musae*, é uma das doenças mais destrutivas dessa cultura, resultando em perdas consideráveis na produção, afetando principalmente as cultivares do subgrupo Cavendish. A medida de controle mais eficiente é a criação de novas variedades resistentes ao patógeno, e a genômica pode ser uma grande aliada na descoberta de genes candidatos envolvidos em resistência, para que seja realizada sua introgressão em cultivares comerciais. O objetivo desse trabalho foi identificar e caracterizar os genes associados à resistência envolvidos na interação entre *Musa acuminata* e *P. musae*, a partir do RNA-seq de *M. acuminata* subsp. *burmannica* Calcutta 4. Para isso, folhas de bananeira do genótipo Calcutta 4 (genótipo resistente) e de *M. acuminata* cv. Cavendish Grande Naine (genótipo suscetível) foram inoculadas com uma suspensão de conídios de *P. musae*, e mantidas em câmara de crescimento sob condições controladas. O RNA total foliar foi extraído em dois tempos de coleta: 3 e 12 dias após a inoculação. O RNA-seq foi realizado via Illumina Hiseq 4000 e resultou em 325.264.847 reads, e um total de 30.613 genes foram mapeados contra o genoma de referência de *M. acuminata* ssp. *malaccensis* var. DH-Pahang. Após a realização das análises de bioinformática, 1.073 genes apresentaram expressão diferencial (DEGs) aos 3 DAI e 976 DEGs foram observados aos 12 DAI, ambos em relação ao controle não inoculado. Dentre estes, 612 genes estão potencialmente envolvidos em respostas de defesa em Calcutta 4, incluindo diversos genes que codificam para receptores PRR, proteínas PR, fatores de transcrição dos tipos WRKY, MYB e NAC, peroxidases, quitinases e genes de resistência (NRLs). A validação da expressão de 14 genes envolvidos nas respostas a estresse biótico identificados *in silico* foi realizada via RT-qPCR e demonstrou uma manutenção no padrão de expressão observado no RNA-seq. Foram identificados seis genes candidatos para serem introgridos em *Musa*, os dois principais codificam um para quitinase e o outro para endoquitinase. Ambos apresentaram superexpressão aos 3 DAI em Calcutta 4 e repressão em Cavendish, sendo genes potencialmente envolvidos nas respostas iniciais de defesa do genótipo resistente ao patógeno, atuando na degradação de quitina, de forma a

impedir o avanço do fungo na superfície foliar. Com isso, este estudo será de grande contribuição para a elucidação dos mecanismos de resistência em *Musa* e beneficiará futuros programas de melhoramento da espécie para a geração de novos genótipos resistentes.

Palavras-chave: bananeira, Sigatoka-amarela, rna-seq, genes de resistência, estresse biótico

ABSTRACT

PINHEIRO, Tatiana David Miranda. Identification and characterization of genetic components of resistance in *Musa acuminata* to *Pseudocercospora musae*. 2020. Thesis (Doctorate Degree in Molecular Biology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Banana (*Musa* spp.) is one of the world's most important monocotyledonous crops, providing a source of carbohydrates, fibre, vitamins and minerals, and contributing towards global food security. Whilst wild species are generally fertile, many commercial varieties are sterile. As a result of the limited genetic variation, such cultivars are frequently susceptible to pests and diseases. Sigatoka leaf spot, caused by the fungal pathogen *Pseudocercospora musae*, is one of the most destructive foliar diseases of *Musa*, which results in serious economic damage to cultivars in the important Cavendish subgroup, with reduced crop yield and fruit quality. Accessing the genomic information of disease resistant fertile wild genotypes of *Musa* can improve our understanding of resistance mechanisms and serve as a guide to develop disease resistant commercial cultivars, which is recognized as the most efficient strategy for disease control. The aim of this study was to identify and characterize genetic components of resistance to *P. musae* in *Musa acuminata*, using RNA-Seq technology. Leaf RNA samples were extracted from *M. acuminata* subsp. *burmannica* Calcutta 4 (resistant genotype) and *M. acuminata* cv. Cavendish Grande Naine (susceptible genotype) at 3 and 12 days after inoculation (DAI) with fungal conidiospores. Calcutta 4 samples were paired-end sequenced using Illumina HiSeq 4000 technology, which resulted in 325,264,847 reads. In the present study, 30,613 genes were accurately mapped against *M. acuminata* ssp. *malaccensis* var. DH-Pahang reference genome. A total of 1,073 differentially expressed genes (DEGs) were identified at 3 DAI, and 976 DEGs were identified at 12 DAI, in relation to non-inoculated controls. 612 DEGs are potentially involved in disease resistance and defense responses to the fungus, including PRR receptors, PR proteins, WRKY, MYB and NAC transcription factors, peroxidases, chitinases and resistance genes (NRLs). Of these, 14 were validated by RT-qPCR, demonstrating that the expression pattern tendencies, at each evaluated time point, were in broad agreement between RNA-Seq and RT-qPCR data for some of the analysed genes. Six candidate defense genes were identified and offer potential for use in development of Sigatoka leaf spot resistant cultivars. Chitinase and endochitinase genes were upregulated at 3 DAI only in the Calcutta 4 genotype, indicating its potential involvement in initial resistance responses to the pathogen, likely resulting in chitin degradation and fungal growth inhibition. DEGs identified as potentially involved in defense responses will contribute to the elucidation of disease resistance

mechanisms in the species, benefiting breeding programs for the development of resistant cultivars.

Key words: banana, Sigatoka Leaf Spot Disease, RNA-seq, resistance genes, biotic stress

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Sintomas foliares e conídios das três espécies de *Pseudocercospora* que compõem o complexo de doenças de Sigatoka em bananeiras. A-B. Sintomas na face adaxial foliar causados por *P. eumusae*. C. Conídios de *P. eumusae*, lisos, subcilíndricos, 3 a 8 septados, ápice obtuso, base subtruncada, direitos a curvos, 30-50µm x 2-3µm e têm hilo inconspícuo. D-E. Sintomas foliares presentes na face adaxial causadas por *P. fijiensis*. F. Conídios de *P. fijiensis*, obclavados a cilindro-obclavados, 5 a 7 septados, direitos ou curvos, 30-132µm x 2,5-5µm, obtuso no ápice e truncado ou arredondado na base, com hilo espesso (cicatriz basal). G-H. Sintomas na face adaxial das folhas causados por *P. musae*. I. Conídios de *P. musae*, obclavados a cilindro-obclavados, medem 10-109µm x 2-6µm, sem hilo basal distinto. Barras = 10 µm. Retirado de CHANG *et al.*, 2016.....29
- Figura 2. Aspectos gerais das estruturas sexuais do fungo *Pseudocercospora musae* em folhas de bananeira. A. Pseudotécio (seta) com abertura voltada para a face abaxial da folha, em microscopia eletrônica de varredura. B-C. Ascospores presentes no interior dos pseudotécios, de onde são liberados os ascósporos. Fotos de microscopia eletrônica de varredura. D. Ascósporos sob objetiva de 10x em microscopia de luz. Retirado de CORDEIRO, ROCHA e ARAÚJO, 2011.....31
- Figura 3. Aspectos gerais das estruturas assexuais do fungo *Pseudocercospora musae* na face adaxial de folhas de bananeira. A-B. Esporodóquios (seta) formados pelos conidióforos imersos em um estroma escuro, em microscópio estereoscópio. C-D. Conidióforos (cp) agregados em fascículos emergindo dos estômatos (st), de onde são liberados os conídios (co), sob microscopia eletrônica de varredura. Imagens C-D foram retiradas de FREITAS *et al.*, 2017.32
- Figura 4. Ciclo de vida de *Pseudocercospora musae*, agente causal da Sigatoka-amarela em bananeira. Adaptado de AGRIOS, 2005.33
- Figura 5. Estádios do desenvolvimento das lesões de Sigatoka-amarela na face adaxial foliar de *Musa*, causada por *Pseudocercospora musae*. A. Início dos sintomas com estria amarelada B-C. Estria apresentando o centro de cor vermelho-amarronzada. D-E. Mancha de forma oval alongada, de cor marrom, cercada por halo amarelo. F. Folha exibindo lesões em vários estádios de desenvolvimento. G. Folha com lesões coalescentes, em fase final do desenvolvimento, de coloração cinza, com o centro seco, onde estão presentes os esporodóquios do patógeno.....35
- Figura 6. Evolução das lesões na face adaxial foliar em *Musa acuminata* causadas pela Sigatoka-amarela, cujo agente patogênico é *Pseudocercospora musae*, observadas em microscópio estereoscópio. A. Pequena despigmentação em forma de estria. B. Estria oval alongada com centro deprimido e contornos mal definidos. C. Mancha marrom-escuro cercada por halo amarelo, apresentando esporodóquios (seta) no centro, na fase de maior esporulação. D. Lesão característica, de cor cinza, centro deprimido e seco, com bordos pretos e halo amarelo. Os esporodóquios (seta) são os pontos escuros visíveis no centro da lesão.36
- Figura 7. Principais receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) associados à membrana plasmática das plantas, capazes de perceber diferentes moléculas microbianas altamente conservadas (PAMPs/MAMPs) ou substâncias endógenas produzidas em situação de perigo (DAMPs). Os receptores LRR-RLKs FLS2, LysM-RLK1 CERK1 são responsáveis por reconhecer o peptídeo bacteriano flg22 da flagelina e a quitina fúngica, respectivamente. Com o reconhecimento dessas moléculas (PAMPs/MAMPs e DAMPs), as células rapidamente ativam o sistema de imunidade inata PTI. Adaptado de MAZZOTTA e KEMMERLING, 2011.....45

- Figura 8. As duas linhas do sistema imune inato vegetal: PTI e ETI. O reconhecimento do PAMP pelo receptor PRR desencadeia as respostas em PTI. Então, o patógeno secreta efetores dentro da célula da planta hospedeira, que interferem na PTI. Proteínas NB-LRR são capazes de reconhecer essas moléculas efectoras, disparando as respostas em ETI. Ilustração retirada de LI e ZHANG, 2016.47
- Figura 9. O esquema do sistema de imunidade vegetal, apresentado por DANGL, HORVATH e STASKAWICZ (2013), evidencia a detecção dos PAMPs/MAMPs através dos receptores PRRs extracelulares, que desencadeia a PTI (1). Os patógenos liberam então efetores de virulência para a célula de forma a bloquear a percepção dos PAMPs/MAMPs (2), suprimindo as respostas de PTI (3). Entretanto, a planta é capaz de reconhecer os efetores através de receptores intracelulares NLR, por três vias distintas: pela ligação direta entre a molécula efetora e o receptor (4a), através de modificações realizadas pelo efetor em uma proteína “*decoy*”, que mimetiza o alvo do efetor (4b); e pelo reconhecimento de modificações estruturais e/ou funcionais mediadas pelo efetor no alvo de virulência do hospedeiro, como o domínio citosólico de um PRR (4c). Essa detecção do efetor pelos receptores NLR ativa as respostas de ETI (5).....49
- Figura 10. Modelo de “zigue-zague” do sistema imune vegetal, proposto por JONES e DANGL (2006). Inicialmente, as plantas detectam PAMPs/MAMPs (losangos vermelhos), via PRRs e ativam a PTI. Os patógenos de sucesso produzem efetores que interferem na PTI, resultando em suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS). Quando um efetor (indicado em vermelho, Avr-R) é reconhecido pelas proteínas NB-LRR, disparam-se as respostas de ETI, que é uma versão amplificada de PTI, resultando na indução da morte celular e resposta de hipersensibilidade (HR). Com a evolução, isolados do patógeno podem perder efetores (em vermelho) e adquirir novos efetores através do fluxo gênico horizontal (em azul), o que pode resultar na supressão da ETI. Ocorre então a seleção de novos alelos NB-LRR da planta que podem reconhecer um dos efetores recém-adquiridos pelo patógeno, resultando novamente em ETI.51
- Figura 11. Diagrama, demonstrado por KLEMPNER *et al.* (2014), ilustrando em pormenores as respostas do sistema de defesa vegetal. *BAK1*: brassinosteroid insensitive 1 (*BR11*) -associated kinase; *BIK1*: Botrytis-induced kinase 1; *CC-NB-LRR*: coiled-coil nucleotide-binding leucine-rich-repeat; *CDPK*: calcium-dependent protein kinase; *EDS1*: enhanced disease susceptibility 1; *ET*: ethylene; *FLS2*: flagellin-sensitive 2; *JA*: jasmonic acid; *MAPK(K/K)*: mitogen-activated protein kinase (kinase/kinase); *MeSA*: methyl-SA; *NPR*: nonexpressor of PR gene; *PAD4*: phytoalexin deficient 4; *PR*: pathogenesis-related; *RLK*: receptor-like kinase; *ROS*: reactive oxygen species; *SA*: salicylic acid; *TIR*: Toll and Interleukin 1 transmembrane receptor; *TTSS*: type III secretion system.53
- Figura 12. Esquema dos mecanismos de defesa vegetal associados a diferentes patógenos, apresentado por MILLER, ALVES e VAN SLUYS (2017). PAMPs: padrões moleculares associados aos patógenos; PTI: imunidade disparada por PAMPs; DAMPs: padrões moleculares associados a danos; PRRs: receptores de reconhecimento de padrões; ROS: espécies reativas de oxigênio; ETI: imunidade disparada por efetores; NLR: nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor; HR: reação de hipersensibilidade; JA: jasmonic acid; ET: ethylene; AS: salicylic acid; *NPR1*: non-expressor of pathogenesis-related genes1; *PR*: pathogenesis-related protein; *COI1*: coronatine insensitive protein 1; *EIN2*: ethylene-insensitive protein2; *SAR*: resistência sistêmica adquirida; *TF*: fator de transcrição; *NSP*: nuclear shuttle protein; *NIK1*: NSP-interacting kinase 1; *RLP10*: receptor-like

<i>protein 10</i> ; dsDNA: DNA dupla fita; UPS: ubiquitin–proteasome system; MP: movement protein; CP: coat protein; miRNA: microRNA; dsRNA, RNA dupla fita; ARG: Argonaute-containing silencing complex.....	55
Figura 13. Visão geral da estratégia utilizada para as análises do transcrito e validação dos genes diferencialmente expressos na interação entre <i>Musa acuminata</i> e <i>Pseudocercospora musae</i>	59
Figura 14. Isolamento direto de <i>Pseudocercospora musae</i> a partir de lesões de Sigatoka-amarela em folhas de bananeira.	60
Figura 15. Diagrama da sequência das análises de bioinformática utilizadas nos dados de RNA-Seq da interação entre <i>Musa acuminata</i> e <i>Pseudocercospora musae</i>	67
Figura 16. Crescimento de <i>Pseudocercospora musae</i> na face abaxial da folha de bananeira. Imagens obtidas em microscópio confocal. As estruturas de quitina de <i>P. musae</i> foram coradas com Calcofluor (FB28, Sigma-Aldrich). A. Hifas aderidas à folha de bananeira. B. Crescimento de hifas próximo ao estômato (seta). C. Estádio final do desenvolvimento fúngico, com esporodóquios de <i>P. musae</i> dentro dos estômatos (seta). D. Mesma imagem de C, evidenciando apenas as hifas de <i>P. musae</i>	72
Figura 17. Em destaque, conídio do isolado 15 EB de <i>Pseudocercospora musae</i> , em folha de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4, 12 dias após a inoculação. Imagem obtida através de microscopia de luz, com as estruturas fúngicas coradas com azul de algodão em lactofenol.....	73
Figura 18. Análise da qualidade da extração final do RNA total foliar após a purificação para a realização do sequenciamento dos mRNAs, através de eletroforese em gel de agarose a 1%. O RNA total foi extraído de folhas de <i>Musa acuminata</i> ssp. <i>burmannica</i> Calcutta 4 não infectadas e artificialmente desafiadas com conidiósporos do isolado 15 EB de <i>Pseudocercospora musae</i> . Identificação das amostras conforme Tabela 9. As setas indicam as bandas dos RNAs ribossômicos (rRNAs) 28S e 18S. *Amostras não utilizadas para sequenciamento. MM = 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen).	75
Figura 19. <i>Volcano plot</i> representando os transcritos que foram expressos em folhas de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 inoculadas por até 12 dias com <i>Pseudocercospora musae</i> . À direita localizam-se os genes com $\log_2FC > 0$ (superexpressão) e à esquerda os que possuem $\log_2FC < 0$ (repressão). Os pontos em azul são os genes não significativos, e os pontos em vermelho representam os genes que apresentaram diferença significativa na sua expressão. A. 3 DAI, inoculado em comparação com o controle não inoculado. B. 12 DAI, inoculado em relação ao controle não inoculado.	77
Figura 20. Diagrama de Venn representando a correlação entre os genes diferencialmente expressos (DEGs) obtidos do RNA-seq de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 durante a interação com <i>Pseudocercospora musae</i> , aos 3 e 12 dias após infecção (DAI). A região de sobreposição do diagrama representa DEGs em comum a ambos os pontos de coleta. A. Diagrama de Venn global dos DEGs encontrados aos 3 e 12 DAI. B. Análise comparativa entre os DEGs superexpressos (↑) e reprimidos (↓) nos dois pontos de coleta estudados.....	90
Figura 21. <i>Heatmap</i> dos genes diferencialmente expressos em <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 aos 3 e 12 dias após a inoculação com <i>Pseudocercospora musae</i> . As comparações foram avaliadas a partir dos valores de <i>Log2Fold Change</i> de cada tratamento.....	91
Figura 22. Distribuição dos termos de GO enriquecidos, nas três categorias principais, para os genes diferencialmente expressos em <i>Musa acuminata</i> após interação com <i>Pseudocercospora musae</i> , aos 3 dias após inoculação.	93

- Figura 23. Distribuição dos termos de GO enriquecidos, nas três categorias principais, para os genes diferencialmente expressos em *Musa acuminata* após interação com *Pseudocercospora musae*, aos 12 dias após inoculação. 94
- Figura 24. Visão geral do perfil de expressão dos genes diferencialmente expressos (DEGs) em *Musa acuminata* var. Calcutta 4, 3 e 12 dias após inoculação com *Pseudocercospora musae*, a partir do software MapMan. O padrão de expressão gênica diferencial é baseado nos log₂FCs dos transcritos de mRNA dos tecidos foliares inoculados em comparação aos controles não inoculados. Cada ponto representa um gene parálogo que codifica determinada enzima envolvida na via metabólica. A cor vermelha indica um gene superexpresso no tecido inoculado em relação ao controle, enquanto que a cor azul indica a repressão do gene. 96
- Figura 25. Diagrama de Venn representando a correlação entre os genes diferencialmente expressos (DEGs) potencialmente envolvidos na resistência de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 a *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após infecção (DAI). A região de sobreposição do diagrama representa DEGs em comum a ambos os pontos de coleta. Análise comparativa entre os DEGs superexpressos (↑) e reprimidos (↓) nos dois pontos de coleta estudados. 97
- Figura 26. PCA do resultado da validação por PCR em tempo real por amostra, para os genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em resistência em *Musa acuminata*, nos genótipos Calcutta 4 (C4) e Cavendish Grande Naine (CAV), aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI) por *Pseudocercospora musae*. A. As amostras semelhantes são representadas por formas, cores e tamanhos iguais. B. Os vetores representam os genes analisados e as 24 amostras estudadas estão representadas pelos códigos de S1 a S24. I – amostra inoculada; NI – controle não inoculado. 132
- Figura 27. Níveis de expressão relativa (diferença entre inoculado e controle) dos genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em resistência nos genótipos Calcutta 4 e Cavendish Grande Naine de *Musa acuminata* infectados com *Pseudocercospora musae* aos 3 e 12 dias após inoculação, em comparação com o RNA-seq (Log₂FC). * Modulação gênica estatisticamente significativa entre o tratamento inoculado e o controle. 133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais países produtores de banana do mundo, com seus respectivos valores de área colhida e produtividade média.	25
Tabela 2. Descrição dos diferentes estádios das lesões associadas à Sigatoka-amarela, causada por <i>Pseudocercospora musae</i> , em bananeira.	34
Tabela 3. Principais cultivares de bananeira difundidas no Brasil e suas características frente às principais doenças da bananicultura brasileira.	38
Tabela 4. Sequências dos primers utilizados na amplificação do DNA para a identificação molecular de <i>Pseudocercospora musae</i> , com o tamanho esperado do amplicon específico.	62
Tabela 5. Delineamento experimental para o estudo dos genes candidatos envolvidos em resistência durante a interação entre <i>Musa acuminata</i> e <i>Pseudocercospora musae</i>	65
Tabela 6. Quantidade de amostras selecionadas para sequenciamento de <i>Musa acuminata</i> ssp. <i>burmannica</i> Calcutta 4, após interação com <i>Pseudocercospora musae</i>	65
Tabela 7. Resultado da identificação molecular de quatro isolados fúngicos retirados de folhas de bananeira, a partir da análise das sequências via BLASTn das seguintes regiões genômicas: ITS (<i>Internal Transcribed Spacer</i>), fator de alongação 1 α (<i>EF</i>), actina (<i>ACT</i>) e histona H3 (<i>HIS</i>).	71
Tabela 8. Média dos conídios germinados por fragmento foliar analisado de isolados de <i>Pseudocercospora musae</i> inoculados em folhas de <i>Musa acuminata</i> provenientes de dois genótipos contrastantes em resistência: Cavendish Grande Naine (suscetível) e Calcutta 4 (resistente).	73
Tabela 9. Quantificação do RNA total extraído de folhas de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 inoculadas com <i>Pseudocercospora musae</i> e controle não inoculado, em espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific). Amostras enviadas para sequenciamento Illumina 4000.	74
Tabela 10. Dados resultantes do sequenciamento do RNA extraído de folhas de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 desafiadas ou não com <i>Pseudocercospora musae</i> , via Illumina HiSeq 4000.	76
Tabela 11. Visão geral dos dados obtidos após a análise do RNA-Seq da interação entre <i>Musa acuminata</i> e <i>Pseudocercospora musae</i>	76
Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 durante interação com <i>Pseudocercospora musae</i> , aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).	78
Tabela 13. Total de genes diferencialmente expressos obtidos a partir do RNA-Seq de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 durante interação com <i>Pseudocercospora musae</i> , após 3 e 12 DAI.	90
Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 frente à infecção por <i>Pseudocercospora musae</i> , aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.	98
Tabela 15. Lista de genes diferencialmente expressos, envolvidos em resistência em <i>Musa acuminata</i> ssp. <i>burmannica</i> Calcutta 4 após interação com <i>Pseudocercospora musae</i> , exclusivos aos 3 dias após inoculação (DAI) (azul), ou aos 12 DAI (vermelho), ou ainda com expressão diferencial em ambos os tempos analisados.	128
Tabela 16. Seleção dos genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de defesa e resistência na interação entre <i>Musa acuminata</i> ssp. <i>burmannica</i>	

Calcutta 4 e <i>Pseudocercospora musae</i> , aos 3 e 12 dias após inoculação, para validação por RT-qPCR.....	131
Tabela 17. Seleção de genes-candidatos envolvidos na resistência de <i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4 (C4) a <i>Pseudocercospora musae</i> , aos 3 e 12 dias após infecção (DAI), para futura introgressão em genótipos suscetíveis de <i>Musa</i> , como o Cavendish Grande Naine (CAV). A cor vermelha indica a superexpressão (↑) do gene no tecido inoculado em relação ao controle, enquanto que a cor azul indica sua repressão (↓).	136
Tabela 18. Sequência dos primers desenhados para validação por RT-qPCR, dos genes envolvidos em resistência em <i>Musa acuminata</i> subsp. <i>burmannica</i> Calcutta 4 a <i>Pseudocercospora musae</i>	168
Tabela 19. Sequência dos genes-candidatos envolvidos em resistência em <i>Musa acuminata</i> subsp. <i>burmannica</i> Calcutta 4 a <i>Pseudocercospora musae</i> , para futura introgressão em cultivares comerciais de <i>Musa</i>	170

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1. <i>MUSA</i> SPP.....	23
2.1.1. Aspectos botânicos, classificação taxonômica e origem.....	23
2.1.2. Importância socioeconômica	24
2.2. ESTRESSES BIÓTICOS.....	26
2.2.1. Doenças de Sigatoka.....	28
2.2.1.1. Sigatoka-amarela	30
2.3. RECURSOS GENÉTICOS E MELHORAMENTO EM <i>MUSA</i>	37
2.4. RESPOSTAS A ESTRESSES BIÓTICOS EM PLANTAS.....	42
2.4.1. Imunidade disparada por PAMPs – PTI.....	44
2.4.2. Imunidade disparada por efetores – ETI.....	46
2.4.3. Indução de Resistência	52
3. JUSTIFICATIVA	56
4. OBJETIVOS	58
4.1. OBJETIVO GERAL.....	58
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	58
5. MATERIAL E MÉTODOS	59
5.1. <i>PSEUDOCERCOSPORA MUSAE</i>	59
5.1.1. Coleção de isolados, identificação, crescimento e manutenção	59
5.1.2. Extração do DNA.....	61
5.1.3. Identificação molecular	61
5.1.4. Inóculo	62
5.2. MATERIAL VEGETAL	63
5.3. BIOENSAIO TESTE	63
5.3.1. ANÁLISES MICROSCÓPICAS	63
5.4. BIOENSAIO FINAL.....	64
5.4.1. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO RNA TOTAL	65
5.4.2. RNA-SEQ – ILLUMINA	65
5.4.3. ANÁLISES DOS DADOS.....	66
5.4.3.1. Identificação dos genes diferencialmente expressos.....	67
5.4.3.2. Análise funcional.....	68
5.4.4. VALIDAÇÃO DOS GENES CANDIDATOS POR RT-QPCR.....	68
5.4.4.1. Desenho dos primers	69
5.4.4.2. Preparo do cDNA a partir das amostras foliares.....	69
5.4.4.3. PCR quantitativo em tempo real	70
6. RESULTADOS	71

6.1. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DOS ISOLADOS DE <i>PSEUDOCERCOSPORA MUSAE</i>	71
6.2. SELEÇÃO DO ISOLADO PARA INÓCULO	71
6.3. ANÁLISE DO RNA FOLIAR DE <i>M. ACUMINATA</i> VAR. CALCUTTA 4	74
6.4. RNA-SEQ E PROCESSAMENTO DAS SEQUÊNCIAS	75
6.4.1. Análise da expressão diferencial de genes.....	76
6.4.1.1. Anotação funcional.....	92
6.4.1.2. DEGs potencialmente envolvidos em resistência	97
6.4.1.2.1. DEGs envolvidos em PTI	129
6.4.1.2.2. DEGs envolvidos em ETI.....	130
6.4.1.2.3. DEGs envolvidos em SAR.....	130
6.5. VALIDAÇÃO DOS GENES CANDIDATOS POR RT-QPCR	130
6.6. SELEÇÃO DE GENES-CANDIDATOS PARA FUTURA INTROGRESSÃO EM <i>MUSA</i>	136
7. DISCUSSÃO	138
8. CONCLUSÕES	147
9. PERSPECTIVAS	148
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	149
ANEXOS	167

1. INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) produz frutos com altos índices de potássio, sendo uma das frutas mais consumidas e populares mundialmente, constituindo a base da alimentação familiar em diversos países tropicais (ANDERSSON *et al.*, 2017). No Brasil, a bananicultura ocupa o segundo lugar na produção de frutas, ficando atrás apenas da laranja (IBGE, 2019). Embora existam mais de mil cultivares em todo o mundo, poucas apresentam características favoráveis à exploração comercial, e as de maior interesse são altamente suscetíveis ao ataque de fitopatógenos. Mais de 40% da produção mundial de banana é proveniente de cultivares derivadas de um único genótipo: o Cavendish (PLOETZ *et al.*, 2007). O monocultivo de espécies com base genética restrita favorece uma pressão de seleção dos patógenos, que podem tornar-se virulentos, suplantando a resistência da planta, e, conseqüentemente, ameaçando toda sua produção (D'HONT *et al.*, 2012; MUSANET, 2016).

Os fungos são, indiscutivelmente, os agentes infecciosos de maior importância para o cultivo da banana no País e causam diversas doenças de pré e pós-colheita (CORDEIRO; KIMATI, 1997; CORDEIRO; MATOS; MEISSNER FILHO, 2004; MELO *et al.*, 2016; MORAES; ZAMBOLIM; LIMA, 2006; RAMOS *et al.*, 2018; SILVEIRA *et al.*, 2019). Uma das principais doenças da bananicultura, atualmente presente em todos os estados do País, é a Sigatoka-amarela, também conhecida como mal-de-Sigatoka, causada pelo fungo *Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton (teleomorfo: *Mycosphaerella musicola* Leach) (BRITO; FRAAIJE; MILLER, 2015; GOMES *et al.*, 2018; MOURICHON; CARLIER; FOURÉ, 1997). A Sigatoka-amarela é uma das doenças mais destrutivas da bananeira, responsável por provocar o surgimento de estrias e lesões na face adaxial das folhas, a diminuição do tamanho dos cachos e o amadurecimento precoce dos frutos (SIMMONDS, 1966). Essa doença reduz significativamente a qualidade dos frutos, podendo comprometer em até 100% a sua produção, em microclimas favoráveis (CORDEIRO; MATOS, 2005; CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016; CORDEIRO; MATOS; MEISSNER FILHO, 2004; RAMSEY; DANIELLS; ANDERSON, 1990; SOUZA-POLLO; GOES, 2020).

Boas práticas culturais são fundamentais no controle da doença, de forma a reduzir a formação de microclimas favoráveis, prevenir contaminações e reduzir o potencial do inóculo no interior do bananal (CORDEIRO; MATOS; MEISSNER FILHO, 2004). Entretanto, o controle da Sigatoka-amarela é realizado principalmente com o uso de fungicidas, por falta de opções mais eficazes, especialmente quando trata-se de variedades suscetíveis (BRITO *et al.*, 2020; BRITO; FRAAIJE; MILLER, 2015; CORDEIRO; KIMATI, 1997; CORDEIRO;

MATOS; HADDAD, 2016). O uso de agroquímicos exige aplicações frequentes, aumentando os custos de produção e os riscos de toxicidade ao ambiente e à saúde humana. Além disso, o constante uso de fungicidas favorece a seleção de patógenos resistentes, dificultando ainda mais o controle (ISAZA *et al.*, 2016).

A crescente preocupação com o desenvolvimento de métodos de controle menos poluentes e tóxicos resultou, inicialmente, na busca de cultivares resistentes, podendo ser obtidas dentro dos recursos genéticos já existentes ou a partir do melhoramento genético. Um excelente método de controle do mal-de-Sigatoka é a substituição do cultivo de genótipos de *Musa* suscetíveis, como o Cavendish, por uma cultura composta por variedades resistentes, por meio da introgressão de genes provenientes de genótipos selvagens resistentes, como Calcutta 4, de modo a reduzir ou até eliminar o controle químico (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016). O desenvolvimento de programas de melhoramento, associado às novas tecnologias de transformação genética, vem possibilitando o surgimento de novos genótipos de banana geneticamente modificados resistentes a doenças, sendo uma das estratégias de controle mais eficientes e que vem obtendo cada vez mais resultados (AHMAD *et al.*, 2020; DALE *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2020; TRIPATHI *et al.*, 2014; TRIPATHI; NTUI; TRIPATHI, 2020).

Baseado em técnicas convencionais ou biotecnológicas, o melhoramento genético possibilita a obtenção de genótipos com características agronômicas de interesse para uso comercial (AMORIM *et al.*, 2011). Avanços nos programas de melhoramento de *Musa* spp. podem estimular a geração de novos genótipos resistentes, trazendo benefícios para o pequeno produtor e para o consumidor, mitigando as perdas de produtividade e a utilização exacerbada de agroquímicos. Entretanto, o melhoramento convencional de *Musa* enfrenta uma série de dificuldades, como a esterilidade da maioria das cultivares comerciais e o desenvolvimento de frutos por partenocarpia. Em razão dessas adversidades, a utilização da genômica e de tecnologias de sequenciamento massal para a descoberta de genes de resistência a estresses bióticos e sua disponibilização para os programas de transformação genética tornou-se uma estratégia primordial (AMORIM *et al.*, 2016).

Diversas ferramentas podem ser utilizadas para a prospecção de genes envolvidos na defesa vegetal. A análise da modulação da expressão gênica durante a interação planta-patógeno, através do RNA-seq, é de grande importância no estudo dos genes de resistência e pode auxiliar na elucidação dos mecanismos de defesa vegetal em diferentes momentos da infecção (SILVA *et al.*, 2013). Essas respostas moleculares podem variar de planta para planta, em cada patossistema, sendo importante identificar as alterações transcricionais de cada espécie

sob estresse biótico e esclarecer quais elementos moleculares são específicos de cada estágio da imunidade vegetal (KANG *et al.*, 2012).

Os mecanismos moleculares envolvidos na interação entre *Musa acuminata* e o fungo *P. musae* ainda não estão completamente esclarecidos. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo identificar, caracterizar e validar a expressão de genes envolvidos em mecanismos de resistência e defesa de *M. acuminata* a *P. musae*. Os genes diferencialmente expressos identificados por meio do RNA-Seq serão validados em relação à expressão por meio da técnica de transcrição reversa do RNA por PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR) e disponibilizados para os programas de melhoramento genético da bananeira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Musa* spp.

2.1.1. Aspectos botânicos, classificação taxonômica e origem

As espécies do gênero *Musa* são plantas herbáceas, monocotiledôneas, monocárpicas, perenes, com sistema radicular fasciculado (FERREIRA, 2015). Possuem caule curto e subterrâneo, denominado rizoma. O pseudocaule é composto por bainhas foliares justapostas (ROBINSON, 2007). A partir do meristema apical do rizoma originam-se grandes e largas folhas alternas, espiraladas, com longos pecíolos e lâminas inteiras (DANTAS *et al.*, 2016a). A folha mais jovem, chamada folha-vela, permanece firmemente enrolada dentro do pseudocaule à medida que cresce, até despontar na roseta foliar, quando já está completamente formada. Em pouco tempo, essa desenrola-se e assume completa capacidade fotossintética. Os estômatos estão presentes em ambas as faces das folhas, com predominância na face abaxial. A planta pode atingir vários metros de altura e, muitas vezes, cresce em aglomerados densos (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015).

A bananeira pertence à classe Magnoliopsida, ordem Zingiberales, família Musaceae Juss. e ao gênero *Musa* L. A família Musaceae é dividida em três subfamílias: Musoideae, Strelitzioideae e Heliconioideae. Os gêneros *Ensete* Horan. e *Musa* L. pertencem à subfamília Musoideae. Inicialmente, o gênero *Musa* foi dividido em quatro subgêneros, de acordo com o número cromossômico e com as características morfológicas: *Eumusa*, *Rhodochlamys*, *Australimusa* e *Callimusa* (CHEESMAN, 1947). Entretanto, pelo menos duas espécies não se enquadraram dentro das seções existentes. Assim, foi realizado um estudo de reavaliação taxonômica de *Musa*, com a aplicação de técnicas moleculares, onde concluiu-se que o gênero possui apenas dois subgêneros: *Musa* e *Callimusa* (HÄKKINEN, 2013). O gênero *Musa* compreende cerca de 73 espécies e mais de 500 cultivares, com ampla distribuição geográfica (GOGOI; BORAH, 2013). A esse gênero pertencem as espécies comestíveis e de interesse tecnológico (DANTAS *et al.*, 2016b).

Originária do sudeste asiático e oeste do Pacífico, a bananeira está distribuída naturalmente do Sul da China ao Norte da Austrália, Himalaias, Filipinas e África, em regiões de clima tropical. Esse é o centro da diversidade de *Musa*, onde ainda pode ser observada a presença do fruto selvagem com sementes (JOE; SABU, 2016). As condições ideais para seu cultivo encontram-se entre 15°N e 15°S de latitude do Equador, mas seu cultivo ocorre tanto nos trópicos quanto nos subtropicais (DONATO *et al.*, 2016).

A domesticação de *Musa* começou há cerca de 11 mil anos e foi promovida pelas migrações humanas. A evolução da banana selvagem à comestível envolveu a ausência de sementes e o desenvolvimento da partenocarpia (PERRIER *et al.*, 2011). Desde cerca de 7 mil anos, evidências sugerem que a banana já era intensivamente cultivada no sudeste da Ásia (DENHAM *et al.*, 2003).

Segundo Simmonds & Shepherd (1955), a maioria das bananas comestíveis foram originadas a partir do cruzamento de duas espécies selvagens seminíferas, *Musa acuminata* Colla (genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (genoma B), resultando em bananeiras diploides, triploides e tetraploides estéreis. As bananeiras cultivadas foram ainda separadas em subgrupos, que abrangem as cultivares com características comerciais de origem específica, que surgiram a partir de mutações de uma única cultivar. No Brasil, predomina a cultura de cultivares dos subgrupos Cavendish (grupo AAA), Prata e Terra (AAB) (DANTAS *et al.*, 2016b).

2.1.2. Importância socioeconômica

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo, sendo uma das mais produzidas e comercializadas mundialmente. O fruto ocupa a primeira posição na produção mundial de frutas, conforme os dados disponibilizados pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), com aproximadamente 115,7 milhões de toneladas, uma área de plantio estimada em mais de 5,7 milhões de hectares e com comercialização global superior a 100 bilhões de dólares ao ano (FAO, 2020). Pouco mais de 19 milhões de toneladas da produção de bananas é destinada à exportação. Os países da América Latina e Caribe são os principais exportadores, representando 76% das exportações, enquanto os países importadores mais expressivos são os Estados Unidos, União Europeia, China e Rússia, que juntos são responsáveis por adquirir 75% do volume de banana exportado (FAO, 2019).

O Brasil é o quarto maior produtor de banana do mundo, ficando atrás apenas da Índia, China e Indonésia (Tabela 1) (FAO, 2020). A banana é uma das frutas com maior representatividade de vendas nas centrais de abastecimento (Ceasas) do País (CONAB, 2019), e é a fruta mais consumida por pessoa no Brasil (FAO, 2020; SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015). A produção brasileira é de cerca de 6,7 milhões de toneladas, com uma área plantada de aproximadamente 493 mil hectares. O Nordeste é a maior região produtora (35% da produção), seguida pelo Sudeste (34%), sendo que os estados de São Paulo e Bahia são os que mais produzem a fruta, com pouco mais de 1 milhão de toneladas cada um (IBGE, 2019).

Tabela 1. Principais países produtores de banana do mundo, com seus respectivos valores de área colhida e produtividade média.

Rank	País	Produção (t)	Área Colhida (ha)	Rendimento (kg/ha)
1	Índia	30.808.000	884.000	348.507
2	China	11.577.938	383.216	302.125
3	Indonésia	7.264.383	120.408	603.315
4	Brasil	6.752.171	449.284	150.287
5	Equador	6.505.635	161.583	402.619
6	Filipinas	6.144.374	484.247	126.885
7	Guatemala	4.026.547	80.754	498.618
8	Colômbia	3.707.152	131.260	282.429
9	Angola	3.492.184	123.017	283.879
10	Tanzânia	3.469.091	490.701	70.697
11	Costa Rica	2.528.788	47.750	529.589
12	México	2.354.479	78.533	299.808
13	Vietnã	2.087.275	128.508	162.424
14	Ruanda	1.739.007	464.321	37.453
15	Burúndi	1.654.955	208.603	79.335
16	Quênia	1.414.176	72.748	194.393
17	Egito	1.388.199	29.892	464.405
18	Papua Nova Guiné	1.383.174	81.532	169.648
19	Camarões	1.203.440	85.616	140.563
20	República Dominicana	1.175.710	28.020	419.604
Total Mundial		100.676.678	4.533.993	5.566.583

Adaptado de Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2020.

Juntamente com arroz, trigo e milho, a banana é considerada uma das principais fontes alimentares do mundo (PERRIER *et al.*, 2011). A banana e o plátano são alimentos da nutrição básica em muitos países em desenvolvimento, sendo uma das principais fontes de carboidratos. Os plátanos possuem mais amido, menor quantidade de água e de açúcar e são mais ácidos do que as bananas, e, por isso, muitas vezes são cozidos ou fritos antes do consumo (CHANDLER, 1995; FIORAVANÇO, 2003). Ambos são fontes ricas em carboidratos, vitaminas A, B1, B2, B3, B6, C e minerais como ferro, potássio, fósforo e cálcio (CHANDLER, 1995). O Brasil possui baixa expressividade na produção de plátanos, que é menos relevante do que a banana no comércio mundial (FAO, 2020; FIORAVANÇO, 2003).

A bananicultura possui grande relevância social e econômica. No Brasil, a atividade é realizada principalmente por pequenos produtores, por ser uma cultura que requer baixo investimento, possui fácil manutenção e comercialização (FERREIRA *et al.*, 2016a). As principais cultivares em uso no País são a ‘Prata’, a ‘Pacovan’, a ‘Prata Anã’, a ‘Maçã’, a

‘Mysore’, a ‘Terra’, e a ‘D’Angola’ do grupo genômico AAB; e a ‘Nanica’, a ‘Nanicão’ e a ‘Grane Naine’ do grupo AAA, pertencentes ao subgrupo Cavendish (SILVA *et al.*, 2016).

Embora o Brasil seja um dos principais produtores mundiais de banana, praticamente toda a produção nacional é voltada para suprir o mercado interno. A participação do País no comércio internacional é quase inexpressiva, menos de 1% da produção é voltado à exportação (FAO, 2019; IBGE, 2019). Além disso, a produtividade média brasileira é muito baixa (150.287 kg/ha), se comparada aos grandes produtores mundiais, como Índia (348.507 kg/ha), China (302.125 kg/ha) e Indonésia (603.315 kg/ha) (FAO, 2020) (Tabela 1). Esses fatos refletem os sérios problemas enfrentados na bananicultura nacional, principalmente nas etapas de produção e pós-colheita, que limitam a comercialização ao mercado exterior e o aumento da produtividade do fruto (SILVA; CORDEIRO, 2000).

As doenças são as principais causas de perdas no rendimento e na qualidade dos frutos na cultura da bananeira, e são os principais fatores limitantes para sua exploração comercial (BORGES; MATOS, 2006). Apesar de a cultura da banana ser de fundamental importância, somente um pequeno número de cultivares apresenta potencial produtivo para a exploração comercial, resistência a pragas e doenças, e frutos com boas características organolépticas.

2.2. Estresses bióticos

A cultura da banana pode ser afetada por estresses bióticos e abióticos, que podem resultar em perdas de até 100% da produção, e também comprometer a sobrevivência das plantas e a produção de biomassa (AGARWAL *et al.*, 2006). Além dos fatores abióticos, a bananicultura é afetada por diversas doenças que podem ser causadas por bactérias, vírus, nematoides e fungos, sendo este um verdadeiro problema para a agricultura mundial.

Dentre as doenças bacterianas que afetam o cultivo da bananeira, o moko ou murcha bacteriana é a que mais causa prejuízos na produção mundial, podendo levar a perdas totais (ÁLVAREZ *et al.*, 2015). Causada por *Ralstonia solanacearum* Smith (*Pseudomonas solanacearum*) raça 2, o moko é uma doença vascular sistêmica que atinge todos os órgãos da planta jovem ou adulta. Seu primeiro relato oficial no Brasil data de 1976, no estado do Amapá, e, desde então, tem limitado a produção em alguns estados brasileiros (TOKESHI; DUARTE, 1976). O controle deve ser realizado com a rápida erradicação das plantas infectadas, com aplicação de herbicida como o glifosato, sendo imprescindível a detecção precoce (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016).

As principais viroses que afetam a bananicultura no mundo são: *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), *Banana Streak Virus* (BSV), *Banana bunchy top virus* (BBTV), *Banana bract mosaic virus* (BBrMV), *Banana mild mosaic virus* (BanMMV) e *Banana virus X* (BVX) (TRIPATHI; PATIL; VERMA, 2016). Os nematoides de maior expressão mundial no cultivo da banana são o *Radopholus similis*, *Meloidogyne incógnita*, *Helicotylenchus multicinctus* e *Pratylenchus coffeae*. Esses destacam-se devido à extensão dos danos causados e por serem amplamente distribuídos nas principais regiões produtoras do mundo (CORDEIRO; KIMATI, 1997; SEENIVASAN, 2018; SILVA *et al.*, 2013).

Mais de 10 mil espécies de fungos são capazes de causar doenças em plantas (AGRIOS, 2005; SATYANARAYANA; DESHMUKH; DESHPANDE, 2019). Os patógenos fúngicos são os agentes infecciosos de maior importância para a cultura da banana no mundo, responsáveis por diversas patologias de pré e pós-colheita. A bananicultura no Brasil sofre grandes prejuízos causados principalmente pelas seguintes doenças: a Sigatoka-amarela, na qual o agente etiológico é *Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton, a Sigatoka-negra, causada por *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton, e o mal-do-Panamá, ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyder & H.N. Hansen (AMORIM *et al.*, 2016).

Também conhecida como fusariose ou murcha de *Fusarium* da bananeira, o mal-do-Panamá é uma das doenças mais devastadoras do mundo, afetando a produção de uma ampla gama de cultivares de banana (MOSTERT *et al.*, 2017). Responsável por uma das maiores epidemias da história da agricultura, a raça 1 de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* causou severos danos em uma única cultivar suscetível, Gros Michel, que era a principal banana de exportação da América Central. As perdas estimadas em cerca de 400 milhões de dólares forçaram a substituição da Gros Michel pelas cultivares resistentes do subgrupo Cavendish nos bananais comerciais (PLOETZ, 2000). Na década de 90, foi reportada uma nova raça do patógeno capaz de afetar também as variedades de Cavendish, a raça 4 (PLOETZ, 1990, 2000, 2006). Atualmente, o mal-do-Panamá tem causado grande preocupação mundial, principalmente, devido à ineficácia das medidas de controle e à disseminação desta raça, ameaçando, assim, outras regiões vitais do cultivo da bananeira (CORDEIRO; KIMATI, 1997; GARCÍA-BASTIDAS; ORDÓÑEZ, 2014). Estima-se que 80% do que é produzido no mundo seja suscetível a esta nova raça (PLOETZ, 2006). No Brasil, a raça 1 já causou sérios danos, contudo, o problema é ainda mais sério quando se trata da raça 4, devido a maioria das variedades cultivadas serem suscetíveis. Porém ainda não há relatos da presença dessa no País (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016) e o uso de variedades resistentes é a opção de controle mais efetiva e sustentável (PLOETZ, 2006).

2.2.1. Doenças de Sigatoka

O complexo de doenças de Sigatoka compreende as mais sérias e economicamente importantes patologias que acometem a bananeira, responsáveis por perdas expressivas na produção e na qualidade dos frutos, em função das manchas foliares ocasionadas, que, rapidamente progridem para necrose de grande área do limbo foliar, resultando em uma acentuada redução da superfície fotossintetizante (ARZANLOU *et al.*, 2008; CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016; SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015). Três espécies fúngicas com uma relação filogenética próxima e pertencentes ao gênero *Pseudocercospora*, antes denominado *Mycosphaerella*, compõem esse complexo: *P. eumusae* Crous & Mour., *P. fijiensis* e *P. musae* (ALAKONYA *et al.*, 2018). Esses três patógenos ocasionam sintomas muito semelhantes nas folhas infectadas, dificultando sua identificação (CHANG *et al.*, 2016).

O patógeno *P. eumusae* (teleomorfo: *Mycosphaerella eumusae* Crous & Mour.) é responsável por causar manchas foliares na bananeira, que começam com estrias marrom-claras e evoluem para manchas negras e necróticas (Figura 1) (CARLIER *et al.*, 2000; CROUS; MOURICHON, 2002). O fungo foi identificado pela primeira vez em 2000, quando estudos apontaram sua existência em diversas amostras, inclusive uma de 1989 proveniente da Nigéria (CARLIER *et al.*, 2000). Essa patologia pode ocorrer simultaneamente com as outras doenças de Sigatoka, podendo ser facilmente confundida com as demais, razão pela qual há a suspeita dessa estar mais disseminada do que consta na literatura (ALAKONYA *et al.*, 2018). Presente em vários países do continente asiático e africano, não há relatos da presença deste patógeno no Brasil (CARLIER *et al.*, 2000; CROUS; MOURICHON, 2002; ZANDJANAKOU-TACHIN *et al.*, 2009).

A Sigatoka-negra, causada por *P. fijiensis* (teleomorfo: *Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet), é a doença que causa maior impacto econômico na bananicultura mundial. Observada pela primeira vez em 1963 nas ilhas Fiji, distrito de Sigatoka, atualmente seu agente etiológico encontra-se presente nas principais regiões produtoras de banana do mundo (CORDEIRO; MATOS, 2000; STOVER, 1980). No Brasil, a doença foi relatada pela primeira vez em 1998, no Amazonas, e disseminou-se para todas as regiões do País, sendo recentemente reportada na Bahia (RAMOS *et al.*, 2018).

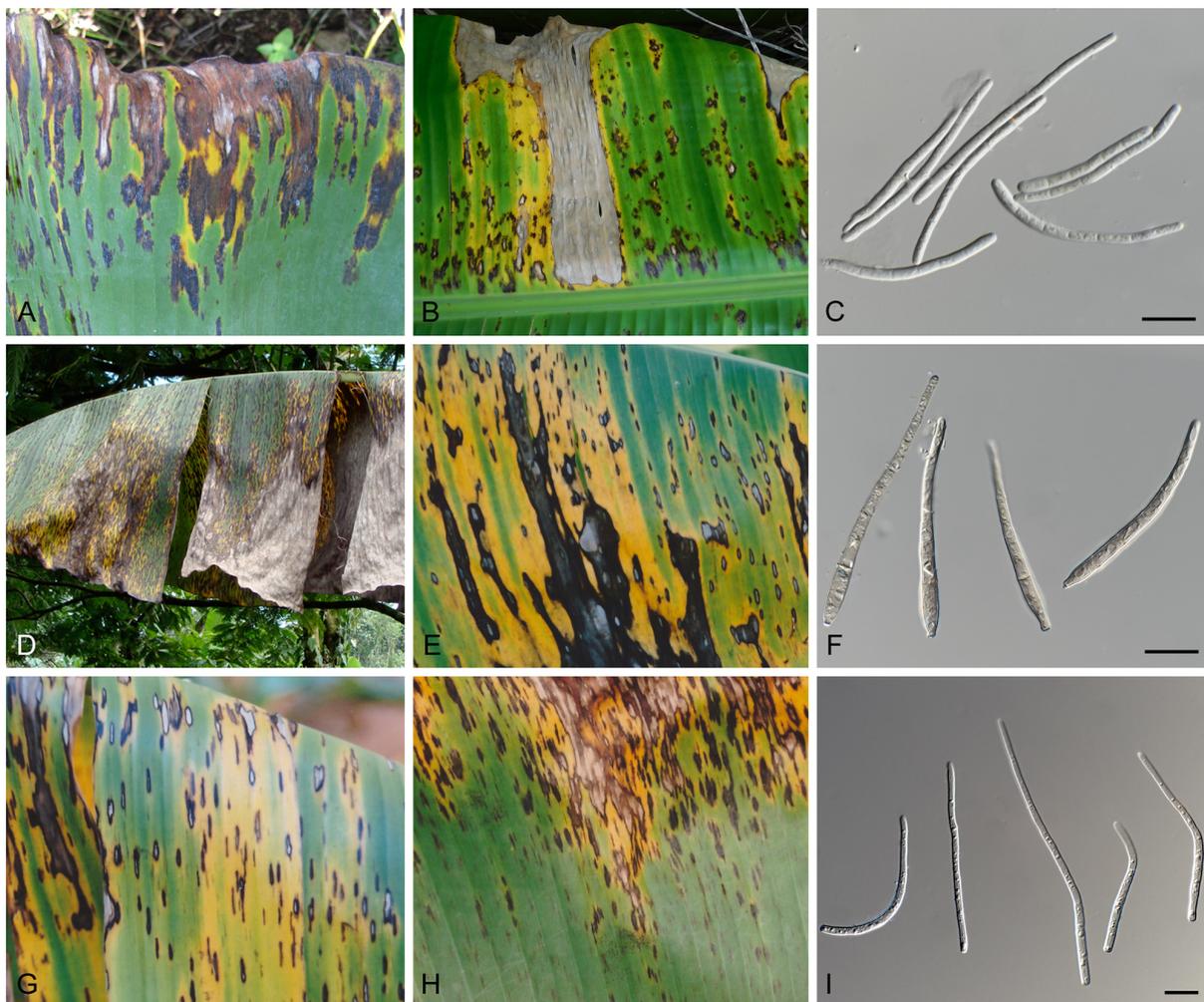


Figura 1. Sintomas foliares e conídios das três espécies de *Pseudocercospora* que compõem o complexo de doenças de Sigatoka em bananeiras. A-B. Sintomas na face adaxial foliar causados por *P. eumusae*. C. Conídios de *P. eumusae*, lisos, subcilíndricos, 3 a 8 septados, ápice obtuso, base subtruncada, direitos a curvos, 30-50 μ m x 2-3 μ m e têm hilo inconspícuo. D-E. Sintomas foliares presentes na face adaxial causadas por *P. fijiensis*. F. Conídios de *P. fijiensis*, obclavados a cilindro-obclavados, 5 a 7 septados, direitos ou curvos, 30-132 μ m x 2,5-5 μ m, obtuso no ápice e truncado ou arredondado na base, com hilo espesso (cicatriz basal). G-H. Sintomas na face adaxial das folhas causados por *P. musae*. I. Conídios de *P. musae*, obclavados a cilindro-obclavados, medem 10-109 μ m x 2-6 μ m, sem hilo basal distinto. Barras = 10 μ m. Retirado de CHANG *et al.*, 2016.

Dentre as espécies de *Pseudocercospora* que afetam a bananeira, *P. fijiensis* é a mais agressiva. A Sigatoka-negra pode causar perdas de até 100% nas variedades tipo Prata e Cavendish (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016). Os primeiros sintomas observados são estrias de cor marrom-clara na face abaxial das folhas, que evoluem para estrias marrom-escuras a negras. O número de lesões aumenta com a severidade da doença, surgindo uma grande concentração de estrias nas nervuras. Essas lesões, em estágio final, apresentam o centro

deprimido de cor cinza, podendo ser rodeada por um halo amarelo (Figura 1) (MEREDITH; LAWRENCE, 1969). O método de controle mais utilizado, e ainda indispensável para as cultivares suscetíveis, é a aplicação de fungicidas (BRITO, 2015; BRITO *et al.*, 2020; CORDEIRO; KIMATI, 1997).

2.2.1.1. Sigatoka-amarela

Dentre as principais doenças que acometem a bananicultura no Brasil está a Sigatoka-amarela, também conhecida como mal-de-Sigatoka, causada pelo fungo *P. musae* (teleomorfo: *Mycosphaerella musicola* R. Leach ex J.L. Mulder). Seu primeiro registro data de 1902, na Ilha de Java, e, desde 1962, a doença vem se disseminando para as regiões produtoras, razão pela qual é considerada uma das enfermidades mais importantes do mundo (MOURICHON; CARLIER; FOURÉ, 1997). No Brasil, foi descrita pela primeira vez em 1944, no estado do Amazonas, a partir disso a Sigatoka-amarela disseminou-se, rapidamente, para todos os estados do País (CORDEIRO; KIMATI, 1997). Especialmente nos estados brasileiros onde a bananicultura ocupa lugar de destaque na atividade agrícola, como a Bahia, o mal-de-Sigatoka constitui uma das principais causas de perdas na produção (BORGES; MATOS, 2006).

A infecção e a severidade da Sigatoka-amarela dependem, diretamente, das condições climáticas, além de outros fatores. O regime das chuvas, a ocorrência de orvalho e as variações de temperatura influenciam, fortemente, na produção e na dispersão dos esporos, exercendo papel decisivo no desenvolvimento de epidemias. O período chuvoso e quente é o mais favorável para o desenvolvimento da doença (CORDEIRO; KIMATI, 1997).

Pseudocercospora musae é um fungo ascomiceto, hemibiotrófico, que pode produzir três tipos de frutificações nas folhas sintomáticas: espermogônios, esporodóquios e pseudotécios (STOVER, 1980). Durante a infecção estão presentes dois tipos de esporos: os ascósporos (sexuais) e os conídios (assexuais). Períodos chuvosos favorecem a produção dos esporos sexuais, que, conseqüentemente, levam ao aumento da intensidade da doença (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016).

Os ascósporos são produzidos nos ascos, no interior dos pseudotécios, presentes nas folhas com lesões necróticas, surgindo mais tardiamente (

Figura 2). Sua dispersão é realizada pelo vento a longas extensões, podendo ultrapassar 50 km de distância da planta hospedeira, e sua distribuição ocorre principalmente no sentido ascendente e lateral, atingindo a ponta das folhas, inclusive da folha-vela, causando um padrão de manchas distinto, que vai do ápice da folha em direção ao centro (AGRIOS, 2005; STOVER,

1980). Para a germinação do ascósporo na superfície foliar, é necessário uma temperatura por volta de 25°C e alta umidade (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016).

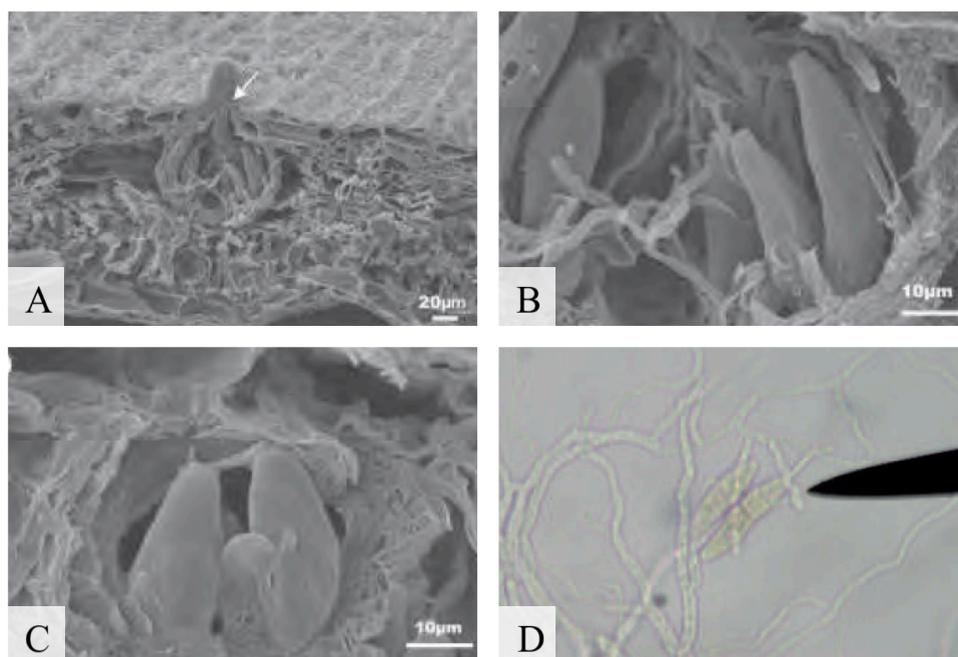


Figura 2. Aspectos gerais das estruturas sexuais do fungo *Pseudocercospora musae* em folhas de bananeira. A. Pseudotécio (seta) com abertura voltada para a face abaxial da folha, em microscopia eletrônica de varredura. B-C. Ascospores presentes no interior dos pseudotécios, de onde são liberados os ascósporos. Fotos de microscopia eletrônica de varredura. D. Ascósporos sob objetiva de 10x em microscopia de luz. Retirado de CORDEIRO, ROCHA e ARAÚJO, 2011.

Os conídios de *P. musae* são formados em densos conidióforos imersos em um estroma escuro, que formam o esporodóquio (Figura 3). São geralmente cilíndricos, retos a ligeiramente curvados, com 0 a 6 septos, mesma espessura por todo seu comprimento e não possuem hilo basal distinto (Figura 1). Essas características diferenciam-no de *P. fijiensis*, que possui conidióforos simples emergindo do estômato na face abaxial de lesões jovens nas folhas e conídios afinados com cicatriz basal (MEREDITH; LAWRENCE, 1969; STOVER, 1980).

Os esporos assexuais de *P. musae* ocorrem em maior frequência na face adaxial foliar, durante a maior parte do ano, e a esporulação atinge o ápice quando as lesões tornam-se marrom-escuro a preto com bordas bem definidas. Quando o centro da lesão torna-se cinza-claro, o número de conídios reduz drasticamente (STOVER, 1970). A esporulação ocorre, intensamente, durante a noite, quando há uma lâmina de água presente na superfície da folha e

temperatura em torno de 25°C. Estes são liberados pelas gotas de chuva e pelo orvalho que caem na superfície foliar, e são dispersos pela água a curtas distâncias, principalmente no sentido vertical (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015).

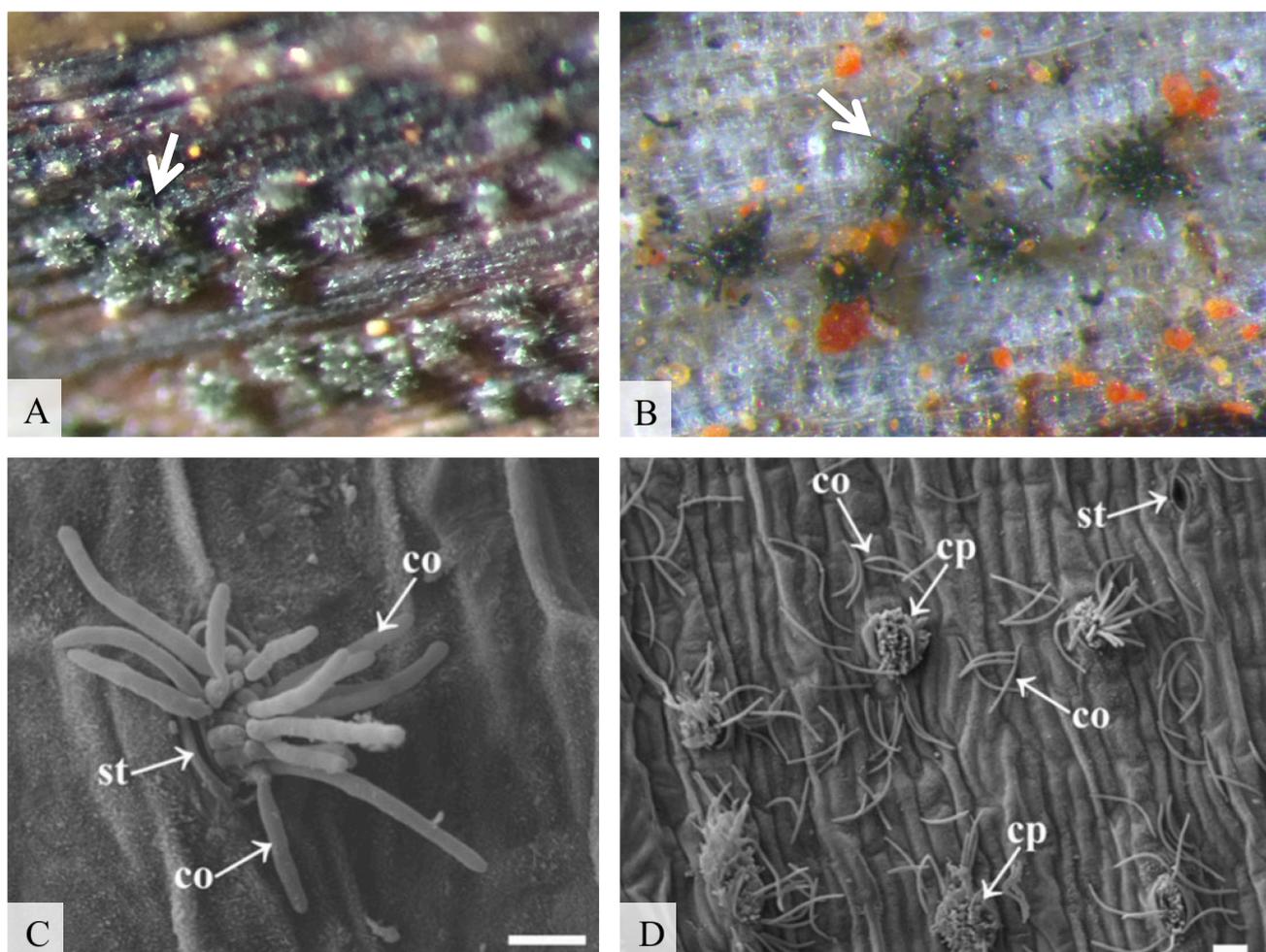


Figura 3. Aspectos gerais das estruturas assexuais do fungo *Pseudocercospora musae* na face adaxial de folhas de bananeira. A-B. Esporodóquios (seta) formados pelos conidióforos imersos em um estroma escuro, em microscópio estereoscópio. C-D. Conidióforos (cp) agregados em fascículos emergindo dos estômatos (st), de onde são liberados os conídios (co), sob microscopia eletrônica de varredura. Imagens C-D foram retiradas de FREITAS *et al.*, 2017.

O padrão de manchas da infecção causada pelos conídios difere-se da causada pelos ascósporos. Os esporos assexuais ocasionam manchas em linhas, concentradas no centro em direção às bordas das folhas (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016). Na Sigatoka-amarela, os conídios representam a maior fonte de inóculo para a dispersão do patógeno, principalmente

durante períodos de baixa umidade (STOVER, 1980). Ainda que as folhas infectadas permaneçam secas por longos períodos, os conídios ainda podem ser viáveis (STOVER, 1970).

Conforme estudo realizado por Freitas e colaboradores (2017), a infecção por *P. musae* inicia-se com a germinação dos esporos na face abaxial das folhas de bananeira, após 12h a 36h, com a presença de umidade. Os tubos germinativos penetram os estômatos após 4 a 6 DAI (dias após inoculação) em ambiente de alta umidade e temperatura acima de 20°C. Aos 36 DAI, é observada a colonização do parênquima esponjoso e, aos 50 DAI, também do parênquima paliádico. Assim que a infecção está bem estabelecida, após 50 DAI, as hifas emergem dos estômatos na região da lesão, na face adaxial foliar, formando os conidióforos em forma de esporodóquios (Figura 4) (FREITAS *et al.*, 2017; STOVER, 1980). Os pseudotécios são produzidos nas mesmas lesões necróticas de onde os conídios foram liberados e surgem mais tardiamente. Os ascósporos são liberados na presença de um filme de água na superfície foliar, principalmente a noite ou com a ocorrência de intenso orvalho durante o dia (SIMMONDS, 1966).

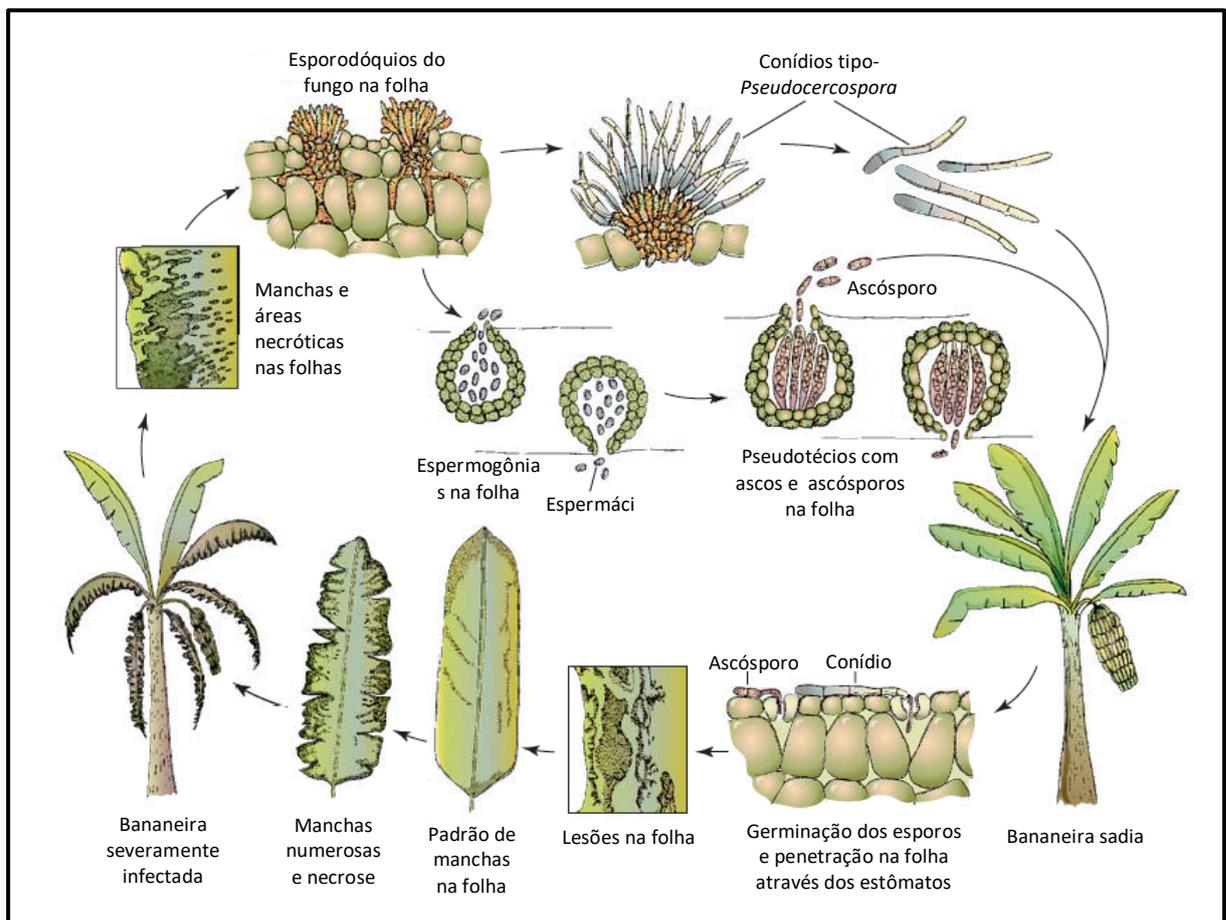


Figura 4. Ciclo de vida de *Pseudocercospora musae*, agente causal da Sigatoka-amarela em bananeira. Adaptado de AGRIOS, 2005.

A Sigatoka-amarela provoca desordem significativa na face superior das folhas das bananeiras infectadas (Figura 1). As manchas foliares passam por vários estádios de desenvolvimento (Tabela 2). Inicialmente, surgem delgadas estrias despigmentadas entre as nervuras da face adaxial das folhas (Figura 5) (MEREDITH; LAWRENCE, 1969), que evoluem para lesões elípticas com centro necrosado e bordos regulares, envoltas por um halo amarelo (Figura 6). Em estádios avançados da doença, ocorre a coalescência das lesões, provocando necrose de grande parte do limbo foliar, o que resulta na morte precoce das folhas e no enfraquecimento da planta. Com a redução da área foliar, a capacidade fotossintética também é prejudicada e, conseqüentemente, os cachos e frutos reduzem de tamanho e peso em comparação com as plantas sadias. Infecções severas em cultivares suscetíveis podem ainda afetar a fisiologia do fruto, levando ao seu amadurecimento prematuro (SIMMONDS, 1966).

Tabela 2. Descrição dos diferentes estádios das lesões associadas à Sigatoka-amarela, causada por *Pseudocercospora musae*, em bananeira.

Estádio da lesão	Descrição do sintoma
Estádio 1.	Pequena descoloração ou despigmentação em forma de estria ou de pontuação, de até 1mm de comprimento, na face adaxial da folha, que pode ocorrer após aproximadamente 36 dias de infecção
Estádio 2.	Estrias amareladas apresentando vários milímetros de comprimento
Estádio 3.	A estria apresenta leve dilatação, aumenta de tamanho e o centro torna-se de cor vermelho-amarronzada
Estádio 4.	A mancha apresenta forma oval alongada, cor levemente marrom, com contornos mal definidos
Estádio 5.	Mancha marrom-escura com centro deprimido, cercada por um halo amarelo. Fase de esporulação mais intensa (conídios), que ocorre com cerca de 50 dias após infecção
Estádio 6.	Fase final do desenvolvimento da mancha, de cor cinza com centro deprimido e necrosado, com borda marrom-escura a preta bem definida, visível mesmo após a necrose foliar, e halo amarelo

Adaptado de CORDEIRO; KIMATI, 1997 e FREITAS *et al.*, 2017.

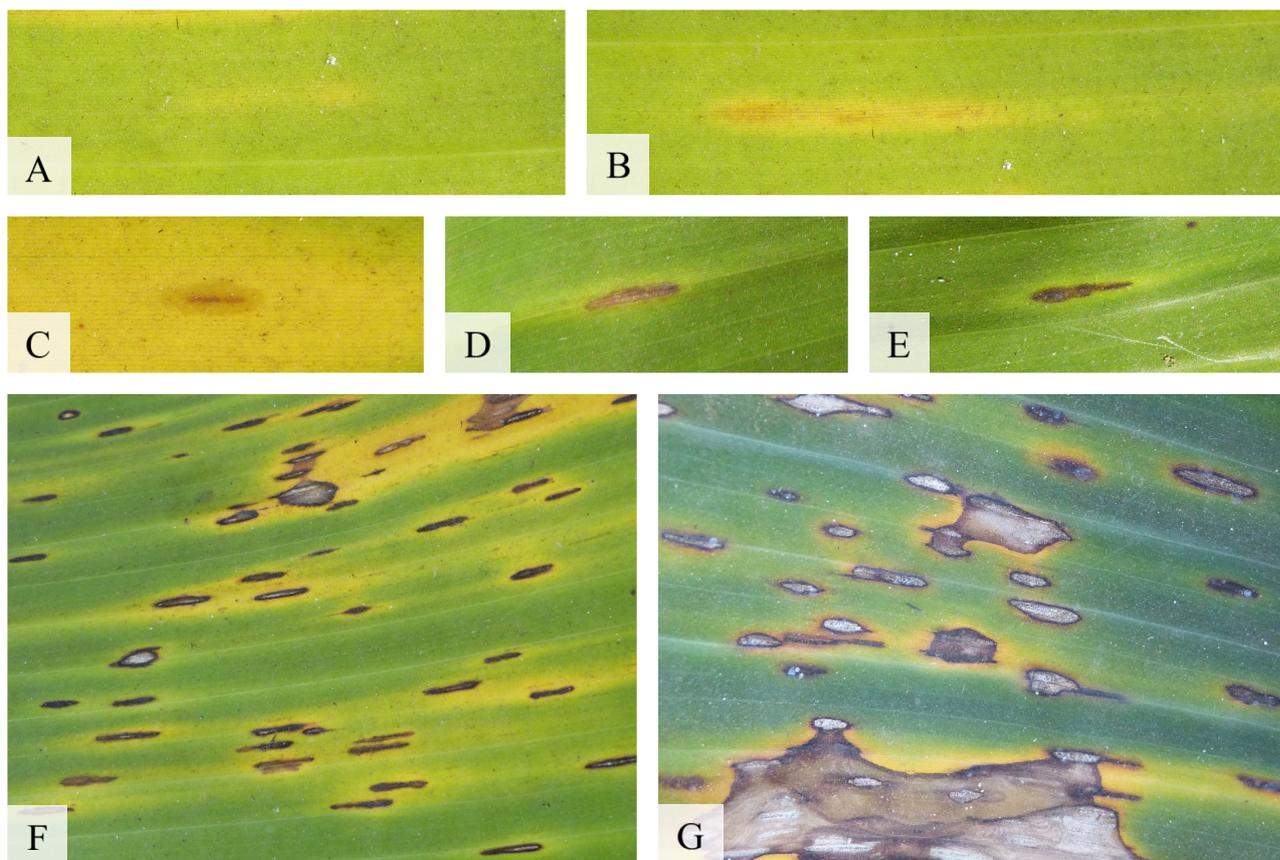


Figura 5. Estádios do desenvolvimento das lesões de Sigatoka-amarela na face adaxial foliar de *Musa*, causada por *Pseudocercospora musae*. A. Início dos sintomas com estria amarelada B-C. Estria apresentando o centro de cor vermelho-amarronzada. D-E. Mancha de forma oval alongada, de cor marrom, cercada por halo amarelo. F. Folha exibindo lesões em vários estádios de desenvolvimento. G. Folha com lesões coalescentes, em fase final do desenvolvimento, de coloração cinza, com o centro seco, onde estão presentes os esporodóquios do patógeno.



Figura 6. Evolução das lesões na face adaxial foliar em *Musa acuminata* causadas pela Sigatoka-amarela, cujo agente patogênico é *Pseudocercospora musae*, observadas em microscópio estereoscópio. A. Pequena despigmentação em forma de estria. B. Estria oval alongada com centro deprimido e contornos mal definidos. C. Mancha marrom-escuro cercada por halo amarelo, apresentando esporodóquios (seta) no centro, na fase de maior esporulação. D. Lesão característica, de cor cinza, centro deprimido e seco, com bordos pretos e halo amarelo. Os esporodóquios (seta) são os pontos escuros visíveis no centro da lesão.

A bananicultura no Brasil é seriamente afetada pelo mal-de-Sigatoka, principalmente devido às variedades mais cultivadas, como a Prata, a Pacovan e a Cavendish Grande Naine, serem suscetíveis à doença (GOMES *et al.*, 2018). As perdas causadas pela Sigatoka-amarela no País são estimadas em 30% de toda a produção (SALOMÃO; SIQUEIRA, 2015), entretanto, podem atingir até 100% dependendo da sua severidade e em microclimas muito favoráveis, onde a doença seja capaz de provocar o amadurecimento precoce e desuniforme dos frutos, perdendo seu valor comercial (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016).

A técnica mais recomendada para o controle da Sigatoka-amarela é aplicar o manejo integrado, associando o uso de fungicidas com estratégias de drenagem, nutrição, desfolha

sanitária, uso de variedades resistentes e demais práticas culturais que eliminem possíveis inóculos do bananal e reduzam a formação de microclimas favoráveis (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016; JIMÉNEZ; BRIOSO, 2018).

O controle do mal-de-Sigatoka é considerado de difícil execução. O uso de fungicidas de contato e sistêmicos ainda é imprescindível, principalmente no caso de cultivares suscetíveis. Os mais utilizados mundialmente são os inibidores de demetilação (DMIs, azoles) (BRITO; FRAAIJE; MILLER, 2015). Para o manejo da doença, é necessária a aplicação semanal de agroquímicos durante a fase de crescimento, podendo ser necessárias mais de 50 aplicações anuais desses produtos, dependendo do grau de infecção e da variedade cultivada (MANICOM, 2007). Além disso, o controle químico da Sigatoka-amarela é bastante dispendioso, podendo resultar em um acréscimo de 25 a 30% no custo total de produção, que propicia um alto impacto econômico, principalmente, para os pequenos produtores (KEMA, 2006; MARÍN *et al.*, 2003; SOWMYA *et al.*, 2016).

A utilização de fungicidas no controle da Sigatoka-amarela, além de causar significativo impacto socioeconômico, ainda expõe a sérios riscos o homem e o meio ambiente, bem como favorece a seleção de patógenos resistentes, reduzindo sua eficácia (FRIESEN, 2016). O excesso no uso de agroquímicos possivelmente propiciou, por exemplo, a ocorrência de linhagens de *P. musae* tolerantes às classes de fungicidas tebuconazole, triadimenol e cyproconazole (BRITO, 2015).

Atualmente, o cultivo de bananeiras do subgrupo Cavendish encontra-se ameaçado e totalmente dependente do uso de fungicidas (STOKSTAD, 2019). Levando em consideração que a produção de variedades suscetíveis pode se tornar inviável ao longo do tempo, é essencial a implementação de estratégias integradas, de forma a reduzir os custos de produção e evitar a seleção de linhagens resistentes a fungicidas (MILLER *et al.*, 2008). A melhor e mais eficaz alternativa de controle é a utilização de cultivares de bananeira resistentes obtidas através da seleção realizada dentro dos recursos genéticos existentes, ou a partir do melhoramento genético, com a geração de novas cultivares (AMORIM *et al.*, 2016; CORDEIRO; KIMATI, 1997; MOURICHON; CARLIER; FOURÉ, 1997).

2.3. Recursos genéticos e melhoramento em *Musa*

As bananeiras que produzem frutos comestíveis são da espécie *M. acuminata* ou do cruzamento dessa espécie com *M. balbisiana*, e pertencem aos grupos genômicos diploides (AA, BB e AB), triploides (AAA, AAB e ABB) e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB e

ABBB), possuindo 22, 33 e 44 cromossomos, respectivamente (SIMMONDS; SHEPHERD, 1955). No Brasil, há uma ampla diversidade de cultivares de bananeira, entretanto poucas apresentam potencial agrônomico e comercial, com tolerância aos estresses bióticos e abióticos, alta produtividade, porte adequado e que atenda a preferência dos consumidores (GOMES *et al.*, 2007). Dentre as variedades mais cultivadas estão a Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra, D'Angola, Nanica, Nanicão e Grande Naine. Todas são suscetíveis a fitopatógenos de importância (Tabela 3) (SILVA; SANTOS-SEREJO; CORDEIRO, 2004).

Tabela 3. Principais cultivares de bananeira difundidas no Brasil e suas características frente às principais doenças da bananicultura brasileira.

Variedade	Característica					
	GG	SA	SN	MP	MK	NM
Prata	AAB	S	AS	S	S	R
Pacovan	AAB	S	AS	S	S	R
Prata Anã	AAB	S	AS	S	S	R
Maçã	AAB	MS	AS	AS	S	R
Mysore	AAB	R	R	R	S	R
Terra	AAB	R	S	R	S	S
D'Angola	AAB	R	S	R	S	S
Nanica	AAA	S	AS	R	S	S
Nanicão	AAA	S	AS	R	S	S
Grande Naine	AAA	S	AS	R	S	S

Legenda: GG: grupo genômico; SA: Sigatoka-amarela; SN: Sigatoka-negra; MP: mal-do-Panamá; MK: moko; NM: nematoides dos gêneros *Radopholus*, *Meloidogyne* spp. e *Helicotylenchus*; S: suscetível; AS: altamente suscetível; MS: moderadamente suscetível; R: resistente. Adaptado de CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016.

Na bananeira, a variabilidade genética de maior importância é encontrada entre as diversas formas selvagens da espécie *Musa acuminata* e nas cultivares do grupo AA, as quais evidenciam grande variedade morfológica (SHEPHERD; DANTAS; ALVES, 1986). A bananeira *M. acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 é uma variedade selvagem, proveniente do centro de origem de *Musa*, que possivelmente coevoluiu com os patógenos em seu centro de diversidade, conquistando, assim, um arsenal de genes de resistência a estresses bióticos. Esse genótipo é fértil, diploide, e é amplamente utilizado em programas de melhoramento de cultivares comerciais, sendo uma importante fonte de resistência a fungos, bactérias e nematoides fitopatogênicos (MILLER *et al.*, 2010).

A diversidade genética de *Musa* é enorme e não pode ser desprezada. A introdução e avaliação de germoplasma é a primeira etapa do desenvolvimento de genótipos geneticamente melhorados. A conservação de seus recursos genéticos é essencial para os programas de melhoramento, que dependem do acesso a toda a gama de diversidade de *Musa* (SANTOS-SEREJO *et al.*, 2016). Para que isso seja realizado de forma efetiva, todo o conjunto de genes deve ser conservado perpetuamente em coleções *ex situ*, *in situ* e *on farm* (MUSANET, 2016). Além disso, técnicas como o cultivo *in vitro* e a criopreservação facilitam a conservação e o intercâmbio de germoplasma, sobretudo para as espécies propagadas vegetativamente (SANTOS-SEREJO *et al.*, 2016).

O processo de seleção de germoplasma deve ser contínuo, considerando que é difícil prever qual será a durabilidade da resistência das cultivares. Em estirpes de *P. musae* no Brasil, por exemplo, ocorre alta variabilidade genética, devido a alta recombinação sexual e ao fluxo gênico (BRITO, 2015). A ocorrência de reprodução sexual e assexuada nessa espécie favorece o surgimento de polimorfismos associados com fatores de avirulência que podem suplantar potenciais genes de resistência (GOMES *et al.*, 2018; PEIXOUTO *et al.*, 2015).

O emprego do melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares resistentes e/ou tolerantes às doenças pode resultar no aumento de produtividade e na redução dos custos de produção, devido ao menor uso de fungicidas e à diminuição nos gastos com o manejo da cultura. Conseqüentemente, evita a contaminação ocasionada pelo constante uso de defensivos agrícolas ao meio ambiente e aos trabalhadores rurais, além de melhorar a qualidade dos frutos, o que reflete no aumento da renda líquida do produtor (AMORIM *et al.*, 2016).

Os programas de melhoramento de *Musa* atuam no desenvolvimento de genótipos resistentes a pragas e doenças desde a década de 20. Aliado a resistência às enfermidades, outras características de interesse também são aprimoradas para que as novas variedades sejam adotadas pelos produtores, como a qualidade dos frutos, elevada produtividade, precocidade de produção, bom sistema radicular e a eficiência no uso de água e nutrientes (MUSANET, 2016).

No Brasil, a Embrapa foi a pioneira no melhoramento convencional de *Musa*, com o programa de melhoramento genético da bananeira (PMGB), que teve início em 1976 (SILVA *et al.*, 2013). Este envolveu a criação da coleção de germoplasma, a hibridação de genótipos triploides com diploides selvagens ou melhorados, a duplicação de cromossomos de diploides superiores, a hibridação de tetraploides com diploides selvagens ou melhorados, e a indução de mutação, com o objetivo de obter genótipos com potencial para serem utilizados como cultivares comerciais. O genótipo selvagem contribuiu com resistência às diversas doenças, além de outras características favoráveis (SILVA; MATOS; ALVES, 1998).

Entretanto, o melhoramento convencional em *Musa* é limitado, sobretudo quando comparado a outras grandes culturas. A maioria das cultivares comerciais são estéreis, possuem diferentes níveis de ploidia, com o desenvolvimento de frutos sem sementes ou com sementes não viáveis, ocorrendo através de partenocarpia (SILVA *et al.*, 2013; SIMMONDS; SHEPHERD, 1955). Essas variedades possuem variação genética restrita por terem evoluído, principalmente, através de reprodução vegetativa assexuada, o que resultou em uma cultura vulnerável a pragas e doenças.

Devido a essas limitações, novas técnicas vêm sendo desenvolvidas para a criação de variedades resistentes, de forma a complementar e dar suporte às atividades convencionais de melhoramento. A engenharia genética, as ferramentas da biologia molecular e a cultura de tecidos podem oferecer métodos alternativos (TRIPATHI, 2003), de modo a concentrar em um mesmo genótipo o maior número possível de características favoráveis. Para isso, podem ser utilizados recursos como a hibridação somática, a fertilização *in vitro*, a mutação, a duplicação nos cromossomos diploides, a seleção assistida e a engenharia genética, com o desenvolvimento de transgênicos (AMORIM *et al.*, 2016; SILVA; MORAIS; SANTOS-SEREJO, 2005).

O desenvolvimento de novas estratégias de melhoramento de plantas é altamente dependente das informações genéticas disponíveis. Esse fato evidencia a necessidade de se estudar e caracterizar a diversidade genética, bem como as relações entre acessos selvagens e diploides, e suas respectivas ploidias (FERREIRA *et al.*, 2016b). A ampliação de técnicas moleculares e os estudos envolvendo a identificação de marcadores moleculares em *Musa* e sua aplicação (AMORIM *et al.*, 2012; CRUZ *et al.*, 2013; MILLER *et al.*, 2010), a elucidação sobre os genes e sua expressão e a análise de análogos a genes de resistência (RGAs) (EMEDIATO *et al.*, 2009, 2013; MILLER *et al.*, 2008; PASSOS *et al.*, 2013) têm contribuído para grandes avanços no melhoramento genético da bananeira.

Ao longo das últimas décadas, as ferramentas moleculares e genômicas têm avançado consideravelmente. As tecnologias de sequenciamento, como o Illumina/Solexa, permitem gerar grande quantidade de informações sobre genomas e transcritomas em curto espaço de tempo (REUTER; SPACEK; SNYDER, 2015). A disponibilização das sequências do genoma de referência de *M. acuminata* DH-Pahang representa um grande progresso para a identificação de genes responsáveis por importantes características agrônômicas, como a resistência a doenças (D'HONT *et al.*, 2012).

Os recentes avanços nas tecnologias de sequenciamento massal forneceram novas perspectivas para avaliar as interações planta-patógeno. Os genomas das plantas podem codificar várias centenas de genes de resistência NBS-LRR, como demonstram vários trabalhos

que abordam o tema. Foram descritos cerca de 89 genes da família NBS-LRR em *M. acuminata* DH-Pahang (D'HONT *et al.*, 2012), 393 em *Arachis duranensis* e 437 em *A. ipaënsis* (SONG *et al.*, 2017), 104 em *Cicer arietinum* (SHARMA; RAWAT; SURESH, 2017), 149 em *Arabidopsis thaliana* (MEYERS *et al.*, 2003), 653 em *Oryza sativa* (SHANG *et al.*, 2009) e 319 em *Glycine max* (KANG *et al.*, 2012).

No entanto, a construção do genoma de uma espécie é uma atividade extremamente laboriosa, imersa em dificuldades. Para isso, existem outras técnicas que facilitam a obtenção de novas sequências de genes de resistência a partir do genoma de referência, como o RenSeq (*Resistance Gene Enrichment Sequencing*) (JUPE *et al.*, 2013). Foram identificados por essa técnica, por exemplo, 114 genes NLRs completos em *M. acuminata* Calcutta 4 (ARAÚJO, 2020), 401 em *Solanum americanum* (WITEK *et al.*, 2016), 105 novas sequências em *S. lycopersicum* (ANDOLFO *et al.*, 2014) e 438 genes em *S. tuberosum* (JUPE *et al.*, 2012).

O maior acesso a sequenciadores de nova geração possibilitou o surgimento de outras ferramentas capazes de avaliar, inclusive, os níveis de expressão gênica com base no genoma de referência, como o RNA-Seq (WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009). Essa técnica possibilita a análise do conjunto de transcritos de uma célula, incluindo RNA mensageiro (mRNA), RNAs não codificadores (ncRNA) e microRNAs (miRNA) (WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009). A compreensão do transcrito e da forma como ocorre a modulação da expressão gênica é essencial para interpretar os mecanismos moleculares envolvidos na resistência e defesa de plantas a estresses bióticos, permitindo ainda a identificação de genes de interesse, que podem futuramente ser utilizados em estratégias do melhoramento genético de *Musa* (SILVA *et al.*, 2013).

A necessidade de compreender os mecanismos moleculares que regulam a imunidade vegetal e a possibilidade do patógeno suplantar a resistência da planta reforçam que é imprescindível a busca contínua de genes de resistência e sua piramidização em cultivares comerciais (GÖHRE; ROBATZEK, 2008; MATIELLO; BARBIERI; CARVALHO, 1997). Diversos genes R que participam da defesa vegetal já foram caracterizados. Quando inserido no genoma da planta, os genes RGA2 (*resistance gene analog 2*) e Ced9 (*cell death abnormality*), por exemplo, demonstraram ser responsáveis por conferir resistência a *M. acuminata* ssp. *malaccensis* contra *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, raça tropical 4 (TR4) (DALE *et al.*, 2017), o gene RGA1 (*resistance gene analog 1*) tornou *Salix viminalis* resistente ao patógeno *Melampsora larici-epitea* (MARTIN *et al.*, 2016), e os genes RCC2 e RCG3, que codificam quitinases em arroz, quando introduzidos em *M. acuminata* 'Gros Michel' foram capazes de conferir resistência à Sigatoka-negra (KOVÁCS *et al.*, 2013).

Nesse contexto, pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de analisar a expressão diferencial dos genes durante a interação planta-patógeno. Dados de transcritoama estão sendo continuamente gerados durante a interação entre *Musa* e importantes fitopatógenos da bananeira, como o nematoide *Meloidogyne incognita* (CASTAÑEDA *et al.*, 2017), e os fungos *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (BAI *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2012, 2019b; WANG *et al.*, 2017), *Pseudocercospora fijiensis* (MILLER *et al.*, 2011; NOAR; DAUB, 2016) e *P. musae* (PASSOS *et al.*, 2013). O foco principal é a busca de genes de interesse em variedades selvagens, como Calcutta 4, que são fontes de resistência, para que, em seguida, possam ser transferidos às cultivares comerciais (KOTARI; SWARUPA; RAVISHANKAR, 2016).

2.4. Respostas a estresses bióticos em plantas

As plantas estão continuamente expostas ao ataque de diversos patógenos com diferentes modos de vida e várias estratégias de infecção. Assim, para garantir sua sobrevivência no complexo meio em que se encontram, estas desenvolveram, durante o processo de evolução, sofisticados mecanismos de defesa contra os agentes patogênicos. Seu sistema imune é capaz de reconhecer moléculas do patógeno, ativando respostas específicas (PIETERSE *et al.*, 2009).

As interações planta-patógeno podem ser classificadas de dois modos: compatíveis ou incompatíveis. A interação compatível ocorre quando o hospedeiro é suscetível e o patógeno é virulento, utilizando-se de estratégias para confundir os sistemas de defesa vegetal, como a síntese de mímicos de reguladores vegetais ou a degradação de compostos liberados pela planta, ou ainda secretando efetores, como toxinas e enzimas, no meio intracelular do hospedeiro, favorecendo o processo de infecção e colonização dos tecidos vegetais. Nas interações incompatíveis, o patógeno é avirulento e o hospedeiro é resistente, ativando eficientemente os seus mecanismos de defesa, que incluem a expressão da hipersensibilidade, a produção de metabólitos secundários antimicrobianos, o espessamento da parede e o aumento de lignificação dos tecidos, impedindo o estabelecimento do patógeno, conduzindo à resistência (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003).

Para que a planta ative respostas de defesa, esta precisa reconhecer o patógeno através da ligação de elicitores aos receptores presente na membrana plasmática vegetal. Os elicitores são moléculas capazes de induzir respostas de defesa locais ou sistêmicas em um organismo (HENRY; THONART; ONGENA, 2012). O reconhecimento do agente agressor pela planta dispara uma complexa cascata de sinalização que culmina com a ativação de uma série de

mecanismos. As respostas das plantas a estresses bióticos incluem a indução de proteínas relacionadas à patogênese (proteínas PR) e de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), a produção de metabólitos secundários antimicrobianos (fitoalexinas) e de compostos sinalizadores, como ácido salicílico (SA - *Salicylic Acid*), peróxido de hidrogênio e óxido nítrico, reação de hipersensibilidade (HR), resistência sistêmica adquirida (SAR) e resistência sistêmica induzida (ISR) (AGRIOS, 2005; FERNANDES *et al.*, 2009).

Em milhões de anos de coevolução entre populações geneticamente diversificadas de plantas e patógenos, em seu ecossistema natural o desenvolvimento de doenças era raro e geograficamente restrito. Em contrapartida, com o advento da agricultura, a utilização de monoculturas promoveu o ambiente perfeito para a seleção de raças virulentas dos patógenos, resultando em consideráveis perdas de produção (BOYD *et al.*, 2013; DANGL; HORVATH; STASKAWICZ, 2013; MILLER; ALVES; VAN SLUYS, 2017).

No início do século 20, experimentos realizados por Harold Flor demonstraram que a imunidade em plantas e a habilidade dos patógenos de causar doenças são controladas por pares de genes correspondentes. O fator genético da planta foi descrito como gene de resistência (R), e o fator genético do patógeno, que acreditava-se ser responsável por sua incapacidade de causar doença, foi referido como gene de avirulência (Avr). Entretanto, foi reconhecido que as moléculas do agente patogênico possuem funções intrínsecas de promover a virulência e, para isso, exercem a modulação de componentes do hospedeiro (THOMMA; NÜRNBERGER; JOOSTEN, 2011).

A habilidade das plantas em reconhecer um invasor e responder a ele é o que diferencia suscetibilidade de resistência em uma interação. Para que ocorra esse reconhecimento, as plantas detectam substâncias derivadas dos patógenos, como os PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) e os efetores. Os PAMPs são moléculas altamente conservadas de uma classe de microrganismos, com papel fundamental na sua sobrevivência e responsáveis por ativar o sistema de defesa em plantas hospedeiras e não-hospedeiras (BIGEARD; COLCOMBET; HIRT, 2015; HENRY; THONART; ONGENA, 2012). Já os efetores são proteínas e pequenas moléculas capazes de alterar a estrutura e função das células do hospedeiro, para facilitar o processo de colonização e infecção (fatores de virulência e toxinas) e/ou capazes de disparar respostas de defesa do sistema imune vegetal (HOGENHOUT *et al.*, 2009). Os efetores são moléculas codificadas ou produzidas pela ação de um gene Avr presente em uma raça específica do patógeno, capazes de disparar uma cascata de sinalização de defesa nas plantas resistentes, que possuem o gene de resistência correspondente (MONTESANO; BRADER; PALVA, 2003).

O sistema imune inato vegetal responde às infecções de duas formas distintas. A primeira, conhecida como imunidade disparada por PAMPs (PTI), reconhece e ativa respostas de defesa às moléculas comuns a muitas classes de microrganismos, incluindo os não-patogênicos. A segunda é chamada de imunidade disparada por efetores (ETI) e é responsável pelas respostas aos fatores de virulência do patógeno, diretamente ou através da sua ação em alvos da planta (JONES; DANGL, 2006).

O reconhecimento pela planta dos sinais de perigo que ocorrem nas imediações do local de penetração do patógeno, pode ativar ainda respostas de defesa sistêmicas. Existem duas formas de defesa sistêmica, que podem ser desencadeadas por diversos indutores bióticos e abióticos: a resistência sistêmica adquirida (SAR) e a resistência sistêmica induzida (ISR). Após a indução da resistência sistêmica, a planta passa a apresentar um estado geral de defesa, promovendo um amplo espectro de proteção efetivo contra novas infecções (AGRIOS, 2005; BOLLER; FELIX, 2009).

2.4.1. Imunidade disparada por PAMPs – PTI

O processo imune vegetal conhecido como imunidade disparada por PAMPs (*PAMP-triggered immunity* - PTI), também chamado de resistência basal, horizontal ou não-hospedeira, é intermediado por receptores de reconhecimento de padrões (*pattern recognition receptors* - PRRs) presentes na membrana plasmática. Os PRRs são ativados, em nível celular, após reconhecer os PAMPs (padrões moleculares associados aos patógenos), que são moléculas essenciais para a sobrevivência microbiana (JONES; DANGL, 2006; MONAGHAN; ZIPFEL, 2012; ZIPFEL, 2014). A ligação de um PAMP ao PRR correspondente ativa uma cascata de sinalização *downstream* que resulta na indução da PTI, que é a primeira linha de defesa das plantas contra a presença de patógenos em potencial (RESENDE *et al.*, 2007).

Os PRRs identificados nas plantas são receptores transmembrana que apresentam dois tipos estruturais básicos: *receptor-like kinases* (RLKs), que possuem um domínio quinase intracelular na região C-terminal, e *receptor-like proteins* (RLPs), que não possuem esse motivo. Ambos são codificados por centenas de genes e possuem um domínio funcional modular na região extracelular N-terminal (MONAGHAN; ZIPFEL, 2012). Os PRRs podem ser classificados em diferentes subfamílias de acordo com seus ectodomínios, podendo possuir domínio de repetições ricas em leucina (LRR – *Leucine-Rich Repeat*), domínio de lisina (LysM - *lysine motif*), domínio semelhante ao do fator de crescimento epidérmico (EGF-like - *Epidermal Growth Factor-like*) ou domínio de lectina (TANG; WANG; ZHOU, 2017; ZIPFEL, 2014).

Os receptores PRRs são os responsáveis pelo reconhecimento não apenas dos PAMPs, que derivam-se de agentes infecciosos, mas também das moléculas conservadas associadas aos microrganismos não-patogênicos, denominadas MAMPs (*Microbe-Associated Molecular Patterns*) (BITTEL; ROBATZEK, 2007), e de efetores endógenos chamados de DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*), que são moléculas produzidas pelas plantas após o ataque por patógenos e outros agressores (GUST; PRUITT; NÜRNBERGER, 2017; HENRY; THONART; ONGENA, 2012).

Os principais exemplos de PAMPs/ MAMPs são a flagelina, o fator de alongação Tu, os lipopolissacarídeos (LPS), os peptideoglicanos (PGN), e os fatores de quórum sensing de origem bacteriana; e o β -glucano, o ergosterol e a quitina, de origem fúngica (Figura 7) (BOLLER; FELIX, 2009; NÜRNBERGER *et al.*, 2004; ZIPFEL, 2014).

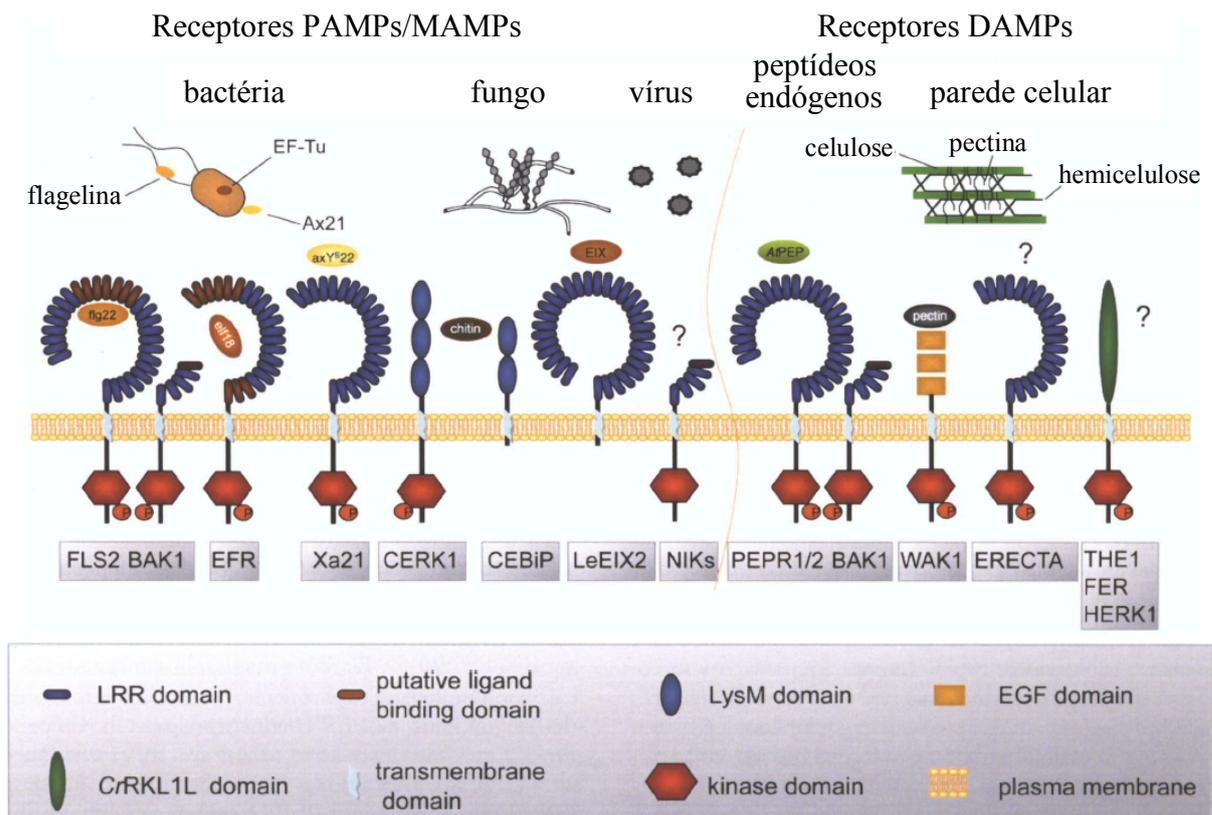


Figura 7. Principais receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) associados à membrana plasmática das plantas, capazes de perceber diferentes moléculas microbianas altamente conservadas (PAMPs/MAMPs) ou substâncias endógenas produzidas em situação de perigo (DAMPs). Os receptores LRR-RLKs FLS2, LysM-RLK1 CERK1 são responsáveis por reconhecer o peptídeo bacteriano flg22 da flagelina e a quitina fúngica, respectivamente. Com o reconhecimento dessas moléculas (PAMPs/MAMPs e DAMPs), as células rapidamente ativam o sistema de imunidade inata PTI. Adaptado de MAZZOTTA e KEMMERLING, 2011.

O reconhecimento de cada padrão molecular ocorre por PRRs específicos, os receptores FLS2 e EFR, do tipo LRR-RLK, são capazes de reconhecer a flagelina (flg22) e o EF-Tu bacterianos, respectivamente (GÓMEZ-GÓMEZ; BOLLER, 2000), e os receptores LysM-RLK1 CERK1 e LysM-RLP CEBiP são responsáveis pelo reconhecimento da quitina fúngica (KAKU *et al.*, 2006; SHIMIZU *et al.*, 2010), desencadeando as respostas de defesa do tipo PTI.

Após a interação dos PAMPs com os PRRs da planta, ocorre um rápido influxo iônico através da membrana, que resulta na alcalinização do meio extracelular e no aumento de íons de cálcio no citosol. As respostas de PTI seguem com a ativação de uma cascata de sinalização por MAP quinases (MAPKs - *Mitogen-Activated Protein Kinases*) e a ativação de fatores de transcrição do tipo WRKY (BOLLER; FELIX, 2009; RUSHTON *et al.*, 2010; ZIPFEL; ROBATZEK, 2010). Uma das primeiras respostas celulares de PTI geralmente envolvem a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS - *Reactive Oxygen Species*), que podem atuar como moléculas de sinalização ou de modo a impedir o crescimento dos microrganismos (KIMURA *et al.*, 2017).

A defesa vegetal durante o PTI inclui outras respostas, como a fortificação de paredes celulares com a deposição de calose e lignina, o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PR - *Pathogenesis-Related*), como quitinases e glucanases, responsáveis por degradar a parede celular de fungos e oomicetos, e a síntese de compostos secundários antimicrobianos, como as fitoalexinas, para conter o avanço dos patógenos nos tecidos vegetais, conferindo resistência à maioria dos agentes patogênicos em potencial (PIETERSE *et al.*, 2009).

2.4.2. Imunidade disparada por efetores – ETI

Com a coevolução, os patógenos desenvolveram mecanismos capazes de suprimir as respostas de PTI, através da liberação de efetores (fatores de avirulência) no citoplasma das células do hospedeiro, interferindo nos mecanismos do sistema imune vegetal, e resultando em agentes patogênicos capazes de causar infecções. Dessa forma, as doenças são consequência da suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS) (CHISHOLM *et al.*, 2006; GÖHRE; ROBATZEK, 2008; JONES; DANGL, 2006). Uma vez que as respostas de PTI foram superadas, as plantas otimizaram seu sistema imune inato desenvolvendo proteínas de resistência (R) específicas no citoplasma celular, para detectar e combater o ataque de microrganismos patogênicos. Essa é a segunda linha de defesa vegetal, chamada de imunidade

disparada por efetores (*effector-triggered immunity* - ETI), também conhecida como resistência vertical, gene-a-gene ou raça-específica (JONES; DANGL, 2006).

Enquanto os processos de PTI envolvem o reconhecimento de microrganismos patogênicos e não patogênicos, a planta, durante o ETI, é capaz de reconhecer apenas as proteínas e moléculas envolvidas na patogenicidade. A imunidade desencadeada por efetores é mediada por receptores intracelulares que monitoram a presença de efetores dos patógenos, de forma direta ou indireta (Figura 8) (CHISHOLM *et al.*, 2006; MONAGHAN; ZIPFEL, 2012). Os genes de resistência da planta (genes R) possuem um papel essencial no reconhecimento de proteínas específicas de genes Avr dos patógenos (BOYD *et al.*, 2013).

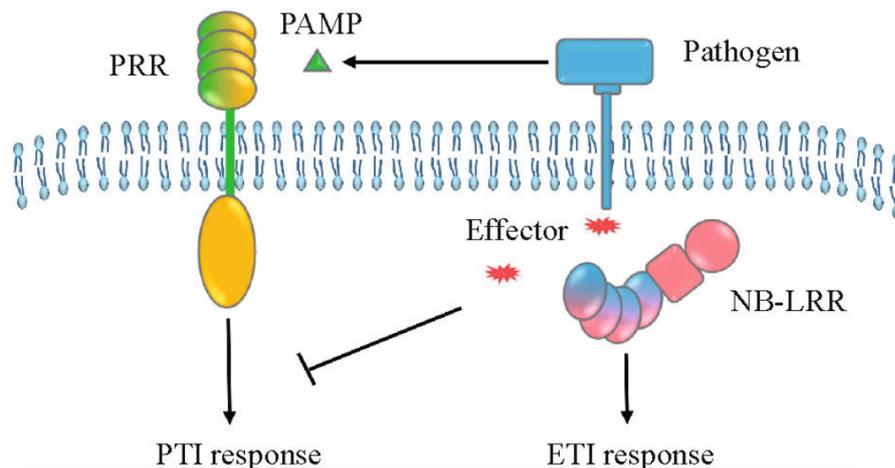


Figura 8. As duas linhas do sistema imune inato vegetal: PTI e ETI. O reconhecimento do PAMP pelo receptor PRR desencadeia as respostas em PTI. Então, o patógeno secreta efetores dentro da célula da planta hospedeira, que interferem na PTI. Proteínas NB-LRR são capazes de reconhecer essas moléculas efetoras, disparando as respostas em ETI. Ilustração retirada de LI e ZHANG, 2016.

A complementaridade entre o par de genes da planta hospedeira e do patógeno determinam a resistência gene-a-gene, cultivar-específica. Assim, um efector específico codificado por um gene Avr presente em uma raça particular do patógeno desencadeará respostas de resistência apenas na planta hospedeira que possuir o gene R correspondente. Dessa forma, a resistência mediada por esse gene é baseada no reconhecimento de um único efector. A ausência do gene R resultará em suscetibilidade do hospedeiro ao patógeno (COHN; SESSA; MARTIN, 2001; DANGL; JONES, 2001; MONTESANO; BRADER; PALVA, 2003).

Os genes de resistência da planta (genes R) codificam proteínas (R) receptoras intracelulares capazes de reconhecer, direta ou indiretamente, efetores codificados por genes de avirulência (Avr) do patógeno (PETIT-HOUDENOT; FUDAL, 2017). As proteínas R são classificadas em nove classes ou famílias, de acordo com a organização de motivos de aminoácidos conservados e seus domínios de membrana. A maioria desses receptores possuem ao menos três domínios principais: na região C-terminal encontra-se um domínio de repetições ricas em leucina (LRR), um domínio central conservado com sítios de ligação a nucleotídeos (NBS - *Nucleotide-Binding Site*), e um domínio variável na região N-terminal (DUBEY; SINGH, 2018; MCHALE *et al.*, 2006). O domínio NBS atua, principalmente, na sinalização e os LRRs são domínios envolvidos em interações proteína-proteína (DUBEY; SINGH, 2018). Esses receptores integram uma superfamília extremamente polimórfica, conhecida como NLR (NB-LRR-*related*), e demonstram semelhança estrutural e funcional aos NLRs envolvidos nas respostas imunes inflamatórias e inatas dos animais (BENTHAM *et al.*, 2017; JONES; DANGL, 2006).

Os receptores intracelulares, que contêm os domínios NB-LRR, estão intimamente envolvidos na detecção do patógeno, e na regulação da sinalização celular e da apoptose (DANGL; JONES, 2001; JONES; DANGL, 2006; TING *et al.*, 2008). As proteínas NLR específicas são ativadas por efetores específicos. Esses receptores podem detectar as moléculas efetoras de três formas distintas: a partir da ligação direta entre o efector e o receptor; de forma indireta, por meio da identificação de alterações mediadas pelo efector em proteínas “*decoy*” (isca), que mimetizam o alvo do efector, mas que não exercem outra função biológica; ou indiretamente, através do reconhecimento de modificações estruturais e/ou funcionais mediadas pelo efector no alvo de virulência do hospedeiro (Figura 9) (DANGL; HORVATH; STASKAWICZ, 2013; JACOB; VERNALDI; MAEKAWA, 2013).

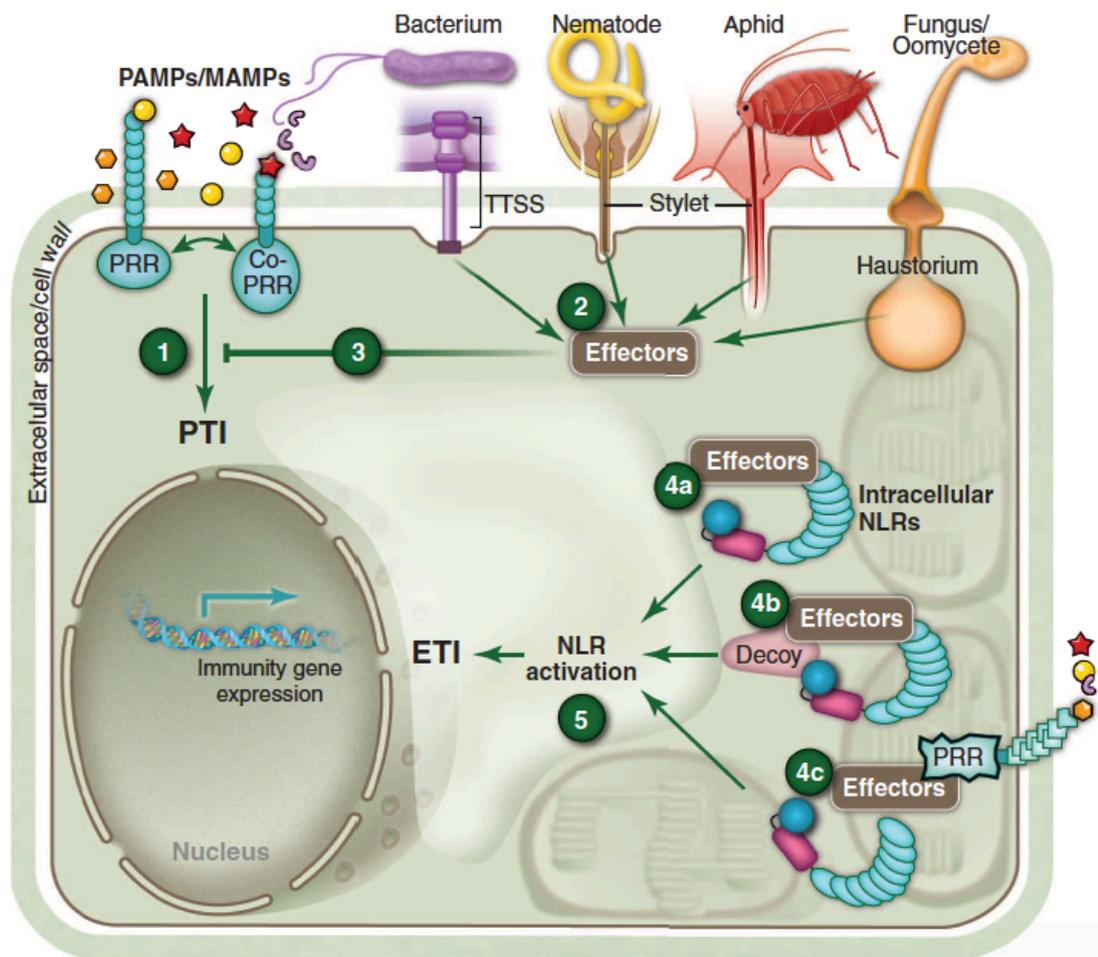


Figura 9. O esquema do sistema de imunidade vegetal, apresentado por DANGL, HORVATH e STASKAWICZ (2013), evidencia a detecção dos PAMPs/MAMPs através dos receptores PRRs extracelulares, que desencadeia a PTI (1). Os patógenos liberam então efetores de virulência para a célula de forma a bloquear a percepção dos PAMPs/MAMPs (2), suprimindo as respostas de PTI (3). Entretanto, a planta é capaz de reconhecer os efetores através de receptores intracelulares NLR, por três vias distintas: pela ligação direta entre a molécula efetora e o receptor (4a), através de modificações realizadas pelo efector em uma proteína “*decoy*”, que mimetiza o alvo do efector (4b); e pelo reconhecimento de modificações estruturais e/ou funcionais mediadas pelo efector no alvo de virulência do hospedeiro, como o domínio citosólico de um PRR (4c). Essa detecção do efector pelos receptores NLR ativa as respostas de ETI (5).

As respostas de ETI são mais rápidas e mais robustas quando comparadas às de PTI, e geralmente resultam na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), culminando em uma reação de hipersensibilidade (HR - *Hypersensitive Response*), que resulta em morte celular programada (PCD - *Programmed Cell Death*) localizada nos sítios de infecção (BOYD *et al.*, 2013; JONES; DANGL, 2006; MOLINA-MOYA *et al.*, 2019). Após o reconhecimento pela planta dos efetores do patógeno, inicia-se a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de óxido nítrico (NO - *Nitric Oxide*). Ocorre, então, nas células vizinhas ao sítio de infecção, a

síntese de diversos compostos tóxicos formados pela redução do oxigênio molecular, incluindo o peróxido de hidrogênio, o ânion superóxido e o radical hidroxila, sendo este o mais forte oxidante dentre as espécies ativas de oxigênio. A formação de ROS pode resultar na peroxidação lipídica, na degradação de ácidos nucleicos e na inativação de enzimas, podendo ocasionar a morte celular, contribuindo para a expressão da hipersensibilidade, ou atuar diretamente na morte do patógeno (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A ativação das respostas de hipersensibilidade ocorrem após o aumento de ROS e de NO. A morte celular programada ocorre devido ao acúmulo de compostos fenólicos nas células adjacentes ao local de infecção, causando a morte de várias células, formando uma lesão necrótica com o objetivo de limitar o crescimento do patógeno, privando-o de nutrientes e retardando sua colonização nos tecidos do hospedeiro (BOYD *et al.*, 2013; CHISHOLM *et al.*, 2006; JONES; DANGL, 2006). Entretanto, as respostas que envolvem HR favorecem o crescimento de patógenos necrotóxicos, tendo em vista que sua estratégia de virulência é provocar a morte das células do hospedeiro. Assim, acredita-se que as respostas de hipersensibilidade possuam papel ativo apenas contra patógenos biotróficos e hemibiotróficos (GLAZEBROOK, 2005).

Durante as respostas de ETI, eventos moleculares modulam a expressão de genes de defesa e as vias metabólicas hormonais, o que envolve a regulação do equilíbrio de fitormônios, como o ácido salicílico, o etileno (ET) e o ácido jasmônico (JA - *Jasmonic Acid*), os quais são considerados os principais hormônios envolvidos em respostas de defesa vegetal (ANDERSON *et al.*, 2004; BROWSE, 2009; PIETERSE *et al.*, 2012). A resistência mediada por genes R estão associadas também à ativação de vias de sinalização dependentes de SA, levando a expressão de proteínas PR, que contribuem para a defesa vegetal (GLAZEBROOK, 2005). As respostas que envolvem SA são mais efetivas contra patógenos com modo de vida biotrófico e hemibiotrófico, os microrganismos necrotóxicos são mais sensíveis às defesas reguladas por JA e ET (GLAZEBROOK, 2005; VERHAGE; VAN WEES; PIETERSE, 2010).

Estudos recentes demonstraram que as respostas de ETI junto com as de PTI têm resultados extremamente mais fortes. A ETI ocorre de modo a potencializar os efeitos da PTI, refletindo em uma resistência otimizada e efetiva (NGOU *et al.*, 2020). A evolução do sistema imune vegetal foi representada em quatro etapas, em um modelo denominado “zigue-zague”, proposto por Jones e Dangl (2006) (Figura 10). Na fase 1, os PAMPs/MAMPs são reconhecidos por PRRs ativando a PTI, impedindo a colonização dos microrganismos; na fase 2, os patógenos bem sucedidos liberam efetores que interferem na PTI, resultando em suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS); na fase 3, ocorre o reconhecimento específico do efector por

uma proteína NB-LRR, o que ativa as respostas de ETI, que são mais fortes e rápidas do que a PTI. Na fase 4, com a seleção natural, os patógenos podem perder efetores e adquirir novos, tornando-os capazes de suprimir a ETI. Tal seleção favorece também a evolução de novos alelos NB-LRR capazes de reconhecer os efetores recém-adquiridos, resultando na ativação das respostas de ETI novamente.

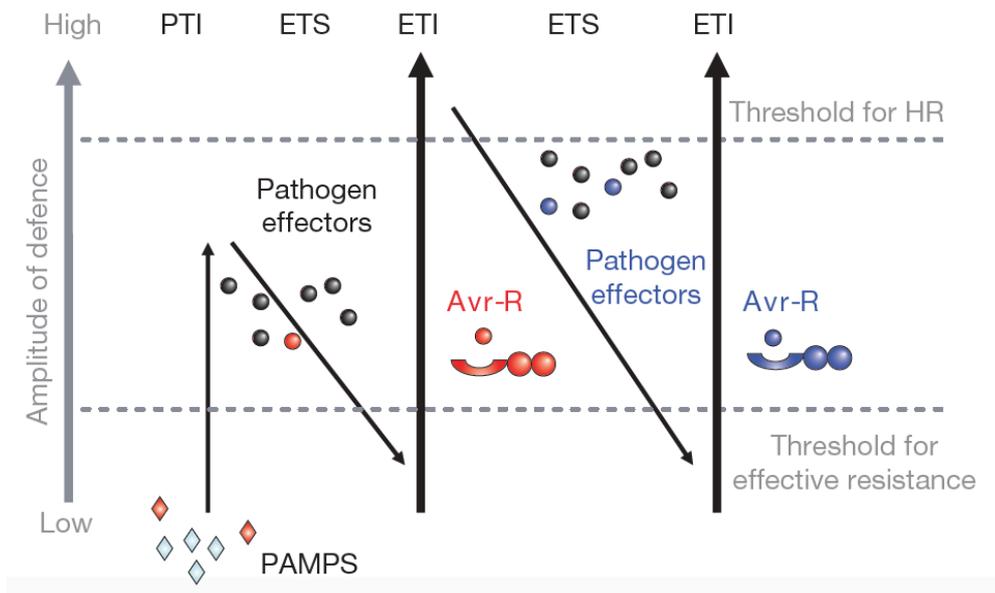


Figura 10. Modelo de “zigue-zague” do sistema imune vegetal, proposto por JONES e DANGL (2006). Inicialmente, as plantas detectam PAMPs/MAMPs (losangos vermelhos), via PRRs e ativam a PTI. Os patógenos de sucesso produzem efetores que interferem na PTI, resultando em suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS). Quando um efector (indicado em vermelho, Avr-R) é reconhecido pelas proteínas NB-LRR, disparam-se as respostas de ETI, que é uma versão amplificadora de PTI, resultando na indução da morte celular e resposta de hipersensibilidade (HR). Com a evolução, isolados do patógeno podem perder efetores (em vermelho) e adquirir novos efetores através do fluxo gênico horizontal (em azul), o que pode resultar na supressão da ETI. Ocorre então a seleção de novos alelos NB-LRR da planta que podem reconhecer um dos efetores recém-adquiridos pelo patógeno, resultando novamente em ETI.

2.4.3. Indução de resistência

O reconhecimento de elicitores de organismos patogênicos e não patogênicos induzem a uma ampla variedade de respostas de defesa vegetal. Além da ativação das vias de PTI e ETI, estes podem ainda ativar a defesa sistêmica nas plantas, podendo desencadear respostas de resistência sistêmica adquirida (SAR - *Systemic Acquired Resistance*) ou de resistência sistêmica induzida (ISR - *Induced Systemic Resistance*), de forma a potencializar a defesa vegetal e proteger os tecidos saudáveis contra novos ataques (BOLLER; FELIX, 2009). Esse tipo de defesa é denominada de resistência induzida, posto que as plantas reconhecem as agressões, mas conseguem sobreviver, ainda que fiquem comprometidas, devido à sua ampla capacidade de adaptação (BARROS *et al.*, 2010).

Fenotipicamente, SAR e ISR são semelhantes, contudo as rotas metabólicas que regulam ambas são diferentes. Após o reconhecimento de indutores, as duas formas de resistência sistêmica têm seus mecanismos de defesa ativados, não apenas no local de reconhecimento do elicitador, mas também em outros locais distantes do sítio de indução, de forma mais ou menos generalizada, tornando-as mais resistentes a futuras infecções (PIETERSE *et al.*, 2005; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997). Existe uma sobreposição parcial no espectro de efetividade de SAR e ISR, que também é divergente em alguns casos, o que sugere que as respostas de defesa que são ativadas durante os dois tipos de resistência induzida são distintas (PIETERSE *et al.*, 2005).

A SAR é induzida pelo ataque de microrganismos patogênicos que tem o SA como principal sinalizador, e fornece defesa de longo prazo contra um amplo espectro de patógenos (AGRIOS, 2005). A percepção de moléculas do agente patogênico no sítio da invasão ativa um sistema de respostas de defesa em regiões distantes da infecção. Para isso, ocorre o acúmulo endógeno de SA, que, mediado pela importante proteína reguladora NPR1, resulta na reprogramação transcricional de diversos genes que codificam proteínas PR. No local da infecção ocorre a produção de SA, que se move célula a célula sob a forma de metil salicilato, através do plasmodesmata ou através do floema, em direção às demais regiões da planta (Figura 11) (MUTHAMILARASAN; PRASAD, 2013).

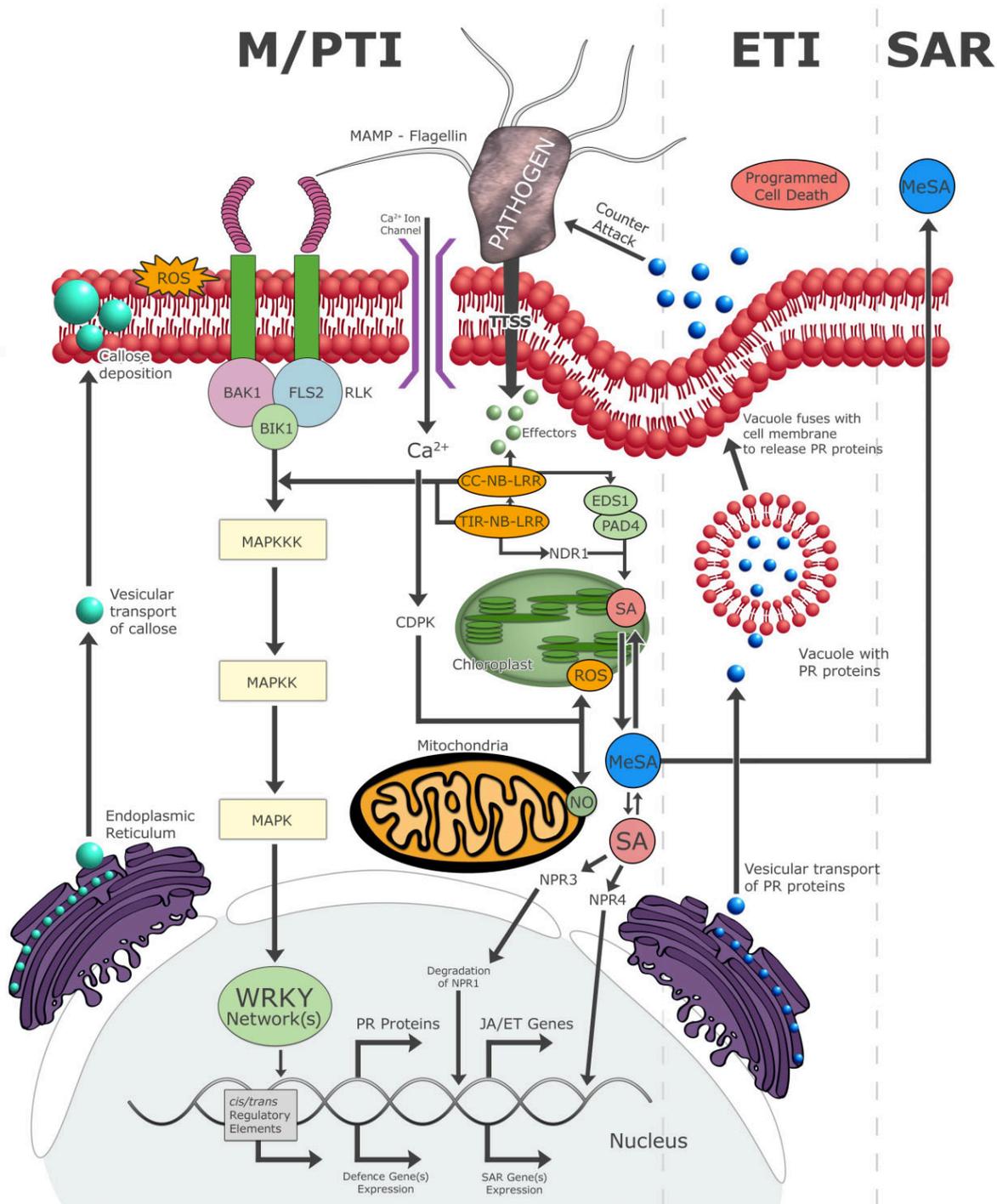


Figura 11. Diagrama, demonstrado por KLEMPNER *et al.* (2014), ilustrando em pormenores as respostas do sistema de defesa vegetal. BAK1: *brassinosteroid insensitive 1 (BR11) - associated kinase*; BIK1: *Botrytis-induced kinase 1*; CC-NB-LRR: *coiled-coil nucleotide-binding leucine-rich-repeat*; CDPK: *calcium-dependent protein kinase*; EDS1: *enhanced disease susceptibility 1*; ET: *ethylene*; FLS2: *flagellin-sensitive 2*; JA: *jasmonic acid*; MAPK(K/K): *mitogen-activated protein kinase (kinase/kinase)*; MeSA: *methyl-SA*; NPR: *nonexpressor of PR gene*; PAD4: *phytoalexin deficient 4*; PR: *pathogenesis-related*; RLK: *receptor-like kinase*; ROS: *reactive oxygen species*; SA: *salicylic acid*; TIR: *Toll and Interleukin 1 transmembrane receptor*; TTSS: *type III secretion system*.

A ISR é desencadeada por microrganismos benéficos, não patogênicos, como bactérias e fungos que vivem na rizosfera. Diversas substâncias bióticas ou abióticas podem induzir sua ativação, sendo necessários componentes das vias de ET e JA para sua expressão (PIETERSE et al., 1998, 2012; POZO; VAN LOON; PIETERSE, 2005). Na rota metabólica do ISR, a proteína NPR1 ativa a expressão de genes após a sinalização do JA e do ET, resultando na síntese de vários metabólitos secundários envolvidos nos mecanismos de defesa, como fitoalexinas e polifenóis, na deposição de calose, lignina e outros reforços da parede celular, e no aumento da atividade de enzimas como fenilalanina amônia-liase, quitinase, peroxidase e lipoxigenase (CHEN *et al.*, 2000; FATIMA; ANJUM, 2017; VERHAGEN *et al.*, 2010). A regulação das respostas de ISR está associada a diversos fatores de transcrição, principalmente os da família AP2/ERF (*Apetala2/Ethylene Responsive Factor*) (PIETERSE *et al.*, 2005). É necessário algum tempo para que mudanças específicas no metabolismo da planta ocorram, como a produção e/ou o acúmulo de substâncias, sendo estes fundamentais na expressão da resistência sistêmica induzida (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

O estudo da modulação da expressão dos genes da planta, durante diferentes momentos da infecção, é de extrema importância para a compreensão dos mecanismos de defesa vegetal, visto que as respostas moleculares variam de acordo com o patossistema (Figura 12) (SILVA *et al.*, 2013). Por isso, é essencial que pesquisas sejam realizadas com o intuito de identificar as alterações transcricionais de cada momento da interação planta-patógeno e esclarecer quais elementos moleculares são específicos (KANG *et al.*, 2012).

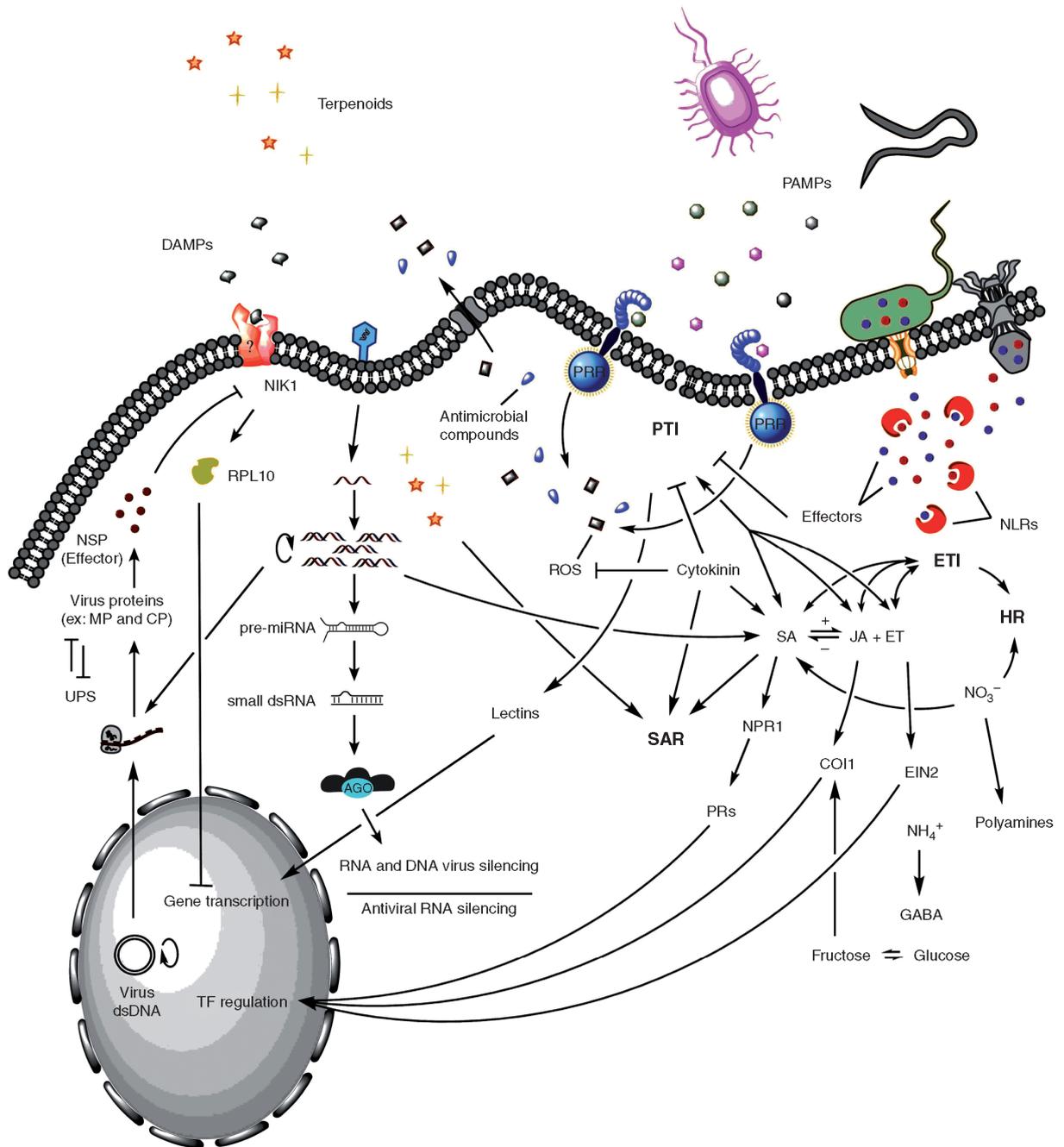


Figura 12. Esquema dos mecanismos de defesa vegetal associados a diferentes patógenos, apresentado por MILLER, ALVES e VAN SLUYS (2017). PAMPs: padrões moleculares associados aos patógenos; PTI: imunidade disparada por PAMPs; DAMPs: padrões moleculares associados a danos; PRRs: receptores de reconhecimento de padrões; ROS: espécies reativas de oxigênio; ETI: imunidade disparada por efetores; NLR: *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor*; HR: reação de hipersensibilidade; JA: *jasmonic acid*; ET: *ethylene*; AS: *salicylic acid*; NPR1: *non-expressor of pathogenesis-related genes1*; PR: *pathogenesis-related protein*; COI1: *coronatine insensitive protein 1*; EIN2: *ethylene-insensitive protein2*; SAR: resistência sistêmica adquirida; TF: fator de transcrição; NSP: *nuclear shuttle protein*; NIK1: *NSP-interacting kinase 1*; RLP10: *receptor-like protein 10*; dsDNA: DNA dupla fita; UPS: *ubiquitin-proteasome system*; MP: *movement protein*; CP: *coat protein*; miRNA: microRNA; dsRNA, RNA dupla fita; ARG: *Argonaute-containing silencing complex*.

3. JUSTIFICATIVA

Diante do exposto, fica evidente que a bananicultura apresenta grande importância social e econômica, entretanto, sofre elevadas perdas devido à sua suscetibilidade a um grande número de patógenos que causam doenças de alto impacto econômico, como as doenças de Sigatoka. A Sigatoka-amarela, causada por *Pseudocercospora musae*, está distribuída em todos os estados brasileiros e pode ocasionar perdas de até 100% na produção, em microclimas favoráveis (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016). Seu controle é realizado prioritariamente à base de fungicidas, o que representa mais de 30% dos custos totais de produção da fruta (KEMA, 2006).

Levando em consideração que mais de 40% da produção mundial de banana é composta apenas de cultivares derivadas do genótipo Cavendish, altamente suscetível à Sigatoka-amarela, o método mais eficaz para o controle da doença seria a substituição das cultivares suscetíveis por uma cultura composta por variedades resistentes (CORDEIRO; MATOS; HADDAD, 2016; PLOETZ *et al.*, 2007). O desenvolvimento de programas de melhoramento, associado às novas tecnologias de engenharia genética, vem possibilitando o surgimento de novas linhagens de banana geneticamente modificadas resistentes a doenças (DALE *et al.*, 2017; TRIPATHI *et al.*, 2014). Para isso, são utilizados genes provenientes de bananeiras selvagens, como a variedade *Musa acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4, que é amplamente utilizada em programas de melhoramento genético e é uma importante fonte de resistência às doenças de Sigatoka (MENON, 2016).

Nos últimos anos, o avanço das tecnologias de sequenciamento resultou em um crescente número de pesquisas envolvendo genômica e genética funcional de plantas, de microrganismos e de interações patógeno-hospedeiro (CHITTEM *et al.*, 2020; PETITOT *et al.*, 2016; RATHOD *et al.*, 2020; TRUJILLO-MOYA *et al.*, 2020; ZHU; LI; ZHENG, 2018). Como consequência, o conhecimento acerca dos mecanismos moleculares relacionados aos processos de infecção e às respostas de defesa e resistência vegetal aumentou consideravelmente, possibilitando que novos genes sejam selecionados e utilizados para fornecer às cultivares suscetíveis uma resistência duradoura e de amplo espectro. Entretanto, os patógenos possuem a capacidade de suplantar a resistência da planta, sendo esta uma possibilidade eminente, que reforça a imprescindibilidade da busca contínua a genes de resistência e sua piramidização em cultivares comerciais (GÖHRE; ROBATZEK, 2008; MATIELLO; BARBIERI; CARVALHO, 1997).

A compreensão das bases moleculares associadas à resistência de genótipos de *M. acuminata* é primordial para a obtenção de novas cultivares de bananeira resistentes, sobretudo para a prospecção de genes envolvidos nas respostas imunes a estresses bióticos, sendo este um importante foco para novas pesquisas científicas (JONES; DANGL, 2006; KEEN, 1990). Apesar da grande importância da banana para o mundo, da disponibilização dos genomas de *Musa* já sequenciados e da necessidade de pesquisas relacionados à defesa vegetal contra patógenos, os estudos abordando a base genética da resistência de Calcutta 4 frente à infecção com *P. musae* ainda são restritos (ARAÚJO, 2020; EMEDIATO et al., 2009, 2013; MILLER et al., 2009; PASSOS et al., 2013; REGO, 2018).

Diante disso, essa pesquisa foi realizada com intuito central de preencher essa lacuna no conhecimento científico, de modo a ampliar o entendimento acerca dos genes envolvidos na resistência e na defesa de *M. acuminata* a estresse biótico, durante a interação com *P. musae*, importante patógeno para a bananicultura nacional. Para a identificação desses genes, foi realizado o sequenciamento Illumina do transcrito foliar decorrente da interação entre *M. acuminata* e *P. musae*, utilizando-se a técnica de RNA-Seq. O genótipo de bananeira utilizado para o sequenciamento foi o Calcutta 4, devido à sua resistência a Sigatoka-amarela. Em seguida, foi feita a análise da expressão diferencial dos genes identificados *in silico*, que estão potencialmente envolvidos nas vias de sinalização das respostas de defesa da planta. Para a validação dos genes, foram utilizadas as variedades Cavendish (suscetível) e Calcutta 4, de modo a analisar as potenciais diferenças nos níveis de expressão em genótipos contrastando em resistência à *P. musae*. Dessa forma, esse estudo contribuirá para a elucidação dos mecanismos de defesa e resistência em *Musa*, e beneficiará futuros programas de melhoramento para a geração de novos genótipos resistentes por meio da transformação genética da espécie.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

- Investigar a interação entre *Musa acuminata* e o fungo *Pseudocercospora musae*, agente causal da Sigatoka-amarela, com foco na identificação de potenciais genes relacionados às respostas de resistência e defesa da planta ao patógeno.

4.2. Objetivos Específicos

- Identificar os genes envolvidos nas respostas de defesa em *M. acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 (genótipo resistente), durante a interação com *P. musae*;
- Analisar a expressão gênica diferencial dos genes-candidatos a partir dos dados gerados *in silico*, após a realização do sequenciamento do transcrito, via RNA-seq, de Calcutta 4 inoculado com *P. musae*, aos 3 e 12 dias após infecção;
- Validar os dados obtidos *in silico* referente aos principais genes-candidatos envolvidos na defesa de *M. acuminata* frente à infecção, nos genótipos contrastantes em resistência Calcutta 4 e Cavendish Grande Naine, através da técnica de transcrição reversa do RNA por PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Uma visão global da metodologia geral utilizada neste trabalho para investigar a interação entre *Musa acuminata* e *Pseudocercospora musae* está ilustrada na Figura 13.

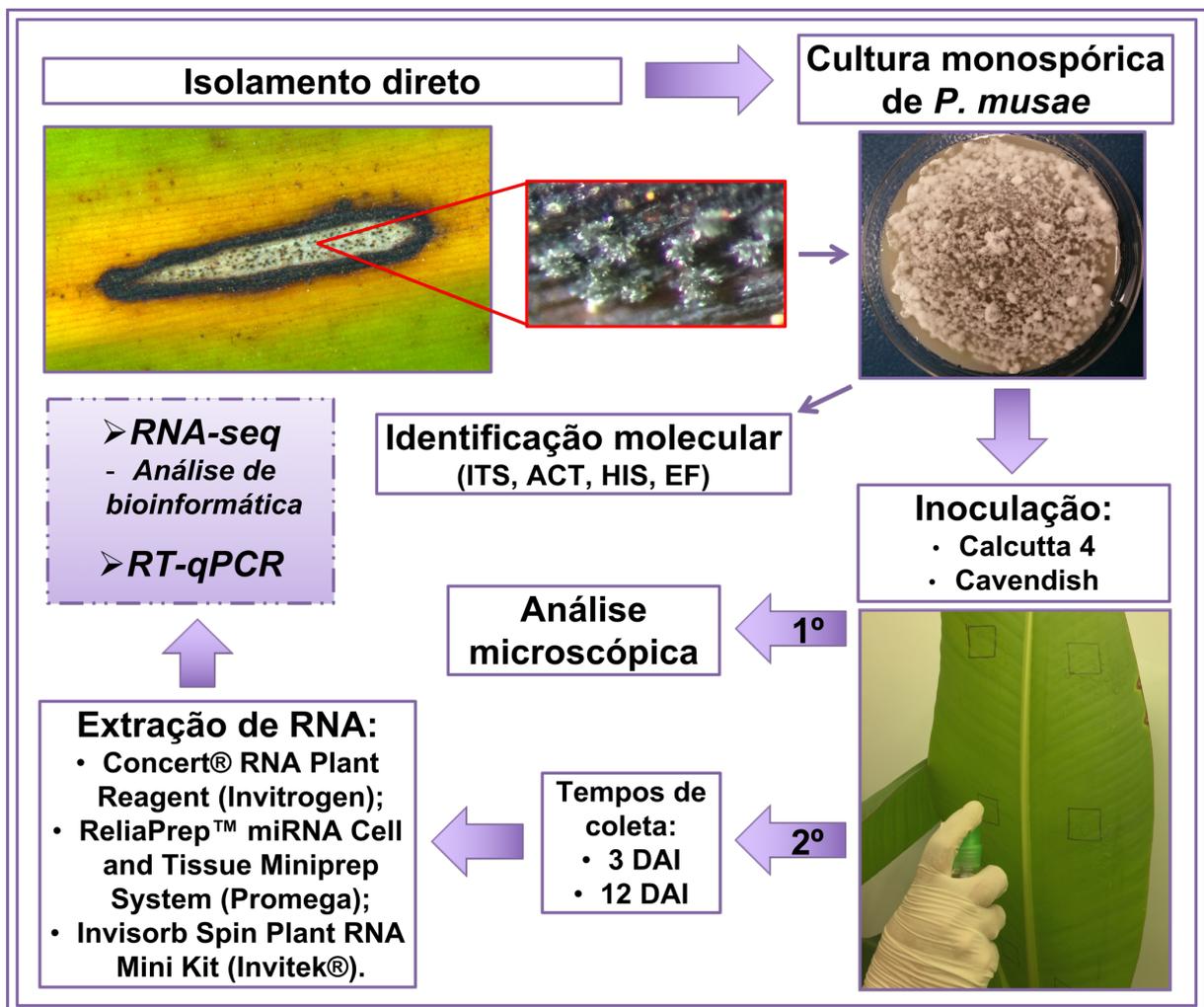


Figura 13. Visão geral da estratégia utilizada para as análises do transcrito e validação dos genes diferencialmente expressos na interação entre *Musa acuminata* e *Pseudocercospora musae*.

5.1. *Pseudocercospora musae*

5.1.1. Coleção de isolados, identificação, crescimento e manutenção

A coleção de *P. musae* possui mais de 100 isolados preservados pelo método de Castellani (CASTELLANI, 1939) e em papel filtro, dos quais foram selecionados quatro candidatos para a execução deste trabalho: o isolado 018bBA, proveniente da Embrapa

Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), Cruz das Almas, BA; e os isolados 12EB, 15EB e 90EB, originários de lesões foliares características de Sigatoka-amarela em bananeiras cultivadas na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (UnB) (Brasília-DF).

Foi realizado o isolamento direto de *P. musae* com o auxílio de microscópio estereoscópico. Para isso, conidiósporos coletados de esporodóquios, localizados no centro das lesões, foram transferidos para meio de cultura V8 (50mL de suco de vegetais Campbell's V8, 1g de CaCO₃, 9g de Ágar, 450mL de água destilada, 167mg de Cloranfenicol) e mantidos em câmara tipo BOD sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h (Figura 14).

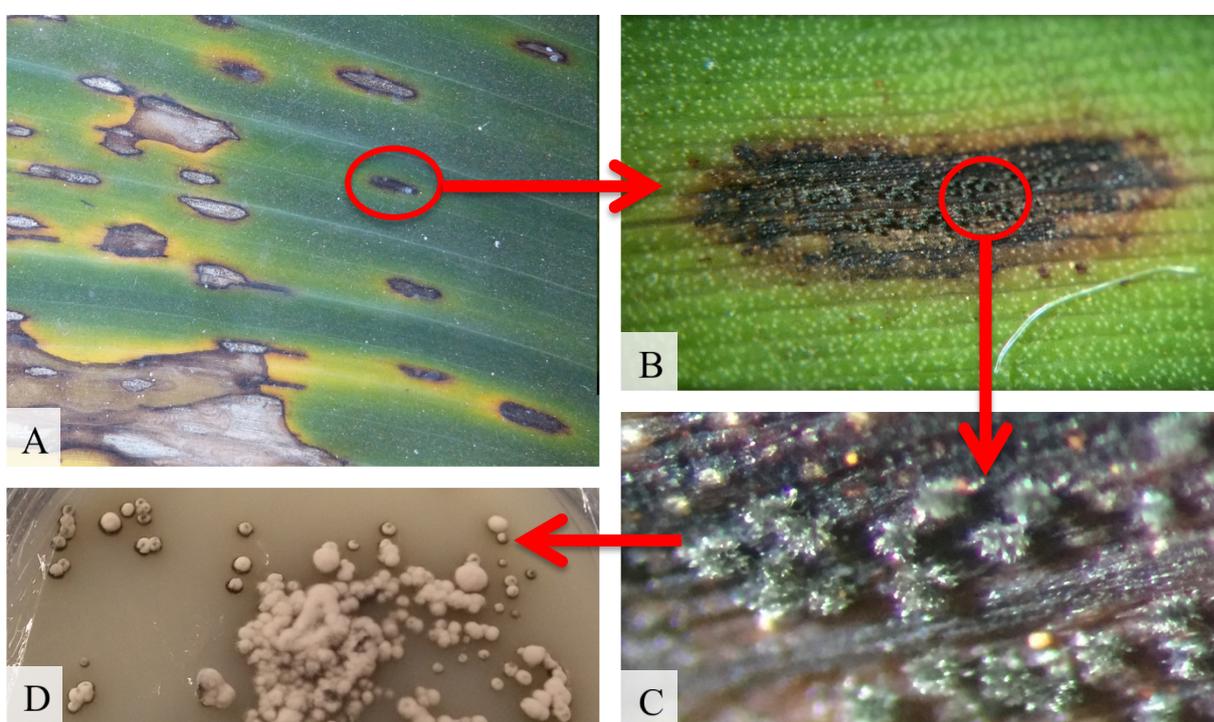


Figura 14. Isolamento direto de *Pseudocercospora musae* a partir de lesões de Sigatoka-amarela em folhas de bananeira.

Para promover o crescimento e a manutenção dos isolados, após 30 dias de cultivo, as colônias foram maceradas com auxílio de cadinho e pistilo com a adição de 5mL de água destilada esterilizada. A partir desta suspensão, foram transferidos 300µL para novas placas de Petri contendo meio de cultura V8, sendo espalhados com auxílio de uma alça de Drigalski. As novas placas foram mantidas em BOD sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h. Todos os isolados foram preservados utilizando-se o método de Castellani (CASTELLANI, 1939), em papel filtro a 4°C e em glicerol 10% sob a mesma temperatura.

5.1.2. Extração do DNA

A extração do DNA genômico de *P. musae* foi realizada seguindo-se o protocolo fenol-clorofórmio adaptado de GONZÁLEZ-MENDOZA *et al.* (2010). Para isso, os quatro isolados foram cultivados em meio de cultura V8 durante 30 dias, a 25°C e fotoperíodo de 12h. Em seguida, macerou-se o micélio em nitrogênio líquido, transferindo-o para tubos Eppendorf de 1,5mL, onde foi adicionado 500µL do tampão de extração (Tris HCl a 200mM e pH 8,5, EDTA a 25mM, NaCl a 250mM, Sódio Dodecil-Sulfato - SDS a 0,5%, água Milli-Q). Após homogeneização, adicionou-se 350µL de fenol e 150µL de clorofórmio. A solução foi levemente homogeneizada e centrifugada a 11.800 rpm em centrífuga Megafuge 16R, rotor *Microliter 30x2 sealed* (Thermo Scientific, EUA), por 30 minutos a 4°C. Coletou-se o sobrenadante, transferindo-o para novos tubos, onde foi adicionado 10 unidades de Ribonuclease A e incubados a 37°C por 15 minutos. Logo após, adicionou-se aproximadamente 1mL de clorofórmio, equivalente ao volume coletado, centrifugando, em seguida, as amostras a 11.800 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para novo tubo de 1,5mL, onde adicionou-se isopropanol gelado, na proporção de 0,54 vezes o volume coletado, para a precipitação do DNA. Centrifugou-se as amostras por dois minutos à temperatura ambiente e o sobrenadante foi descartado. O *pellet* de DNA passou por lavagem em 200µL de etanol 70%, sendo seco e ressuspendido em 50µL de TE (Tris HCl 10mM, EDTA 1mM, água ultra-pura). O DNA extraído foi armazenado a -20°C.

5.1.3. Identificação molecular

As regiões genômicas ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do DNA ribossômico, os genes da *actina* (*ACT*), do *fator de alongação 1α* (*EF*) e da *histona H3* (*HIS*) são frequentemente utilizadas em estudos de relações taxonômicas entre espécies do gênero *Pseudocercospora*, possuindo resolução suficiente para confirmar a identificação dos isolados a nível de espécie (ARZANLOU *et al.*, 2007, 2008; BRITO *et al.*, 2020; CROUS *et al.*, 2004). Dessa forma, essas quatro regiões genômicas foram sequenciadas e analisadas para confirmar a identidade molecular dos isolados.

A região ITS do rDNA foi amplificada com os primers universais ITS1 e ITS4. As reações em cadeia da polimerase (PCR - *Polymerase Chain Reaction*) foram preparadas em tubos Eppendorf de 0,2mL contendo 10ng de DNA, 6,25µL de MyTaq™ Mix (Bioline, EUA), de acordo com as instruções do fabricante, 10µM de cada primer e para completar o volume final de 12,5µL água Milli-Q esterilizada foi adicionada. A PCR foi realizada em termociclador

Sure Cyclor 8800 Agilent Technologies (EUA), e as reações foram conduzidas nas seguintes condições: 1 ciclo para etapa inicial de desnaturação (95°C por 5min), seguido de 35 ciclos com uma etapa de desnaturação (95°C por 20s), uma de anelamento (59°C por 45s) e uma de extensão (72°C por 50s), e um último ciclo de extensão final (72°C por 5 min). A amplificação de parte dos genes da actina, do EF e da histona seguiu-se conforme descrito anteriormente, com exceção da temperatura de anelamento utilizada, que foi de 58°C, 62°C e 52°C, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Sequências dos primers utilizados na amplificação do DNA para a identificação molecular de *Pseudocercospora musae*, com o tamanho esperado do amplicon específico.

Primers	Sequência (5' - 3')	Tamanho do amplicon (pb)	Referência
ITS-1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	600	(WHITE <i>et al.</i> , 1990)
ITS-4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC	300	(CARBONE; KOHN, 1999)
ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT		
EF1-728F	CATCGAAGTTCGAGAAGG	350	(CARBONE; KOHN, 1999)
EF1-986R	TACTTTGAAGGAACCCTTACC		
H3-1a	ACTAAGCAGACCGCCCGCAGG	350	(GLASS; DONALDSON, 1995)
H3-1b	GCGGGCGAGCTGGATGTCCTT		

Os amplicons resultantes foram purificados utilizando-se Exo-SAP (USB, Affymetrix, EUA), conforme as instruções do fabricante. As amostras foram quantificadas em gel de agarose 1% na presença de brometo de etídio (1µg/mL), através da comparação com o marcador padrão *Low DNA Mass Ladder* (Invitrogen, EUA). Foi utilizado um sequenciador Sanger ABI 3130xl (Applied Biosystem, EUA) para a realização do sequenciamento das amostras purificadas. A sequência consenso para cada região genômica foi montada com o auxílio do programa Geneious 8.1, e comparada via BLASTn (ALTSCHUL *et al.*, 1997), contra o banco de dados do GenBank/NCBI, para a confirmação da identidade dos isolados.

5.1.4. Inóculo

Para a realização dos bioensaios relacionados ao estudo da expressão dos genes potencialmente envolvidos nos processos de defesa em *M. acuminata* a *P. musae*, foi utilizada uma suspensão de conidiósporos como inóculo. Para o preparo dessa, o micélio do fungo foi

macerado com água destilada esterilizada e 300µL desta suspensão foram espalhadas, com auxílio de alça de Drigalski, em cada placa de Petri contendo meio de cultura V8. Estas foram mantidas em BOD, sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h. A partir destas placas, a suspensão de esporos foi preparada com a adição de Tween 20 a 0,05% em cada placa. Os esporos foram liberados com auxílio de um escalpelo. A suspensão obtida foi filtrada em peneira de malha fina e sua concentração foi ajustada para $1,7 \times 10^4$ conídios/mL, com câmara de Neubauer.

5.2. Material vegetal

Foram utilizadas plantas de *M. acuminata* cv. Cavendish Grande Naine (CAV), genótipo suscetível a *P. musae*, e de *M. acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 (C4), genótipo resistente. Todas foram fornecidas pela Embrapa CNPMF, provenientes de cultivo *in vitro*. Estas foram transplantadas em vasos metálicos de 24x20cm previamente lavados e desinfestados, preenchidos com substrato esterilizado, composto por partes iguais de solo, areia, húmus de minhoca e esterco de galinha. Anteriormente à realização dos bioensaios, as mudas passaram por um período de aclimação de 7 dias em câmara de crescimento (BioChambers, Canadá) a 25°C, fotoperíodo de 12h e umidade relativa de, no mínimo, 80%.

5.3. Bioensaio teste

Foi realizado um bioensaio piloto com a finalidade de definir o isolado a ser utilizado no estudo da interação entre *P. musae* e *M. acuminata* através do RNA-seq. Para isso, foram selecionados quatro isolados entre os que melhor cresceram em meio de cultivo: 12EB, 15EB, 018bBA e 90EB. Foram inoculadas quatro plantas de cada genótipo, uma para cada timepoint pré-definido: 3, 6, 12 e 18 dias. A inoculação foi realizada pela aspersão de 200 µL da suspensão de esporos em áreas pré-delimitadas de 2,5x2,5cm² nas quatro folhas mais jovens de cada planta, uma folha por isolado.

5.3.1. Análises microscópicas

Foram realizadas análises microscópicas preliminares, a partir do bioensaio teste, para observar importantes características entre os isolados, como a quantidade de conídios liberados, o número de esporos germinados na superfície foliar e a aderência à epiderme da folha. Foram

analisados 20 fragmentos foliares de 1x1cm para cada isolado, de cada genótipo, através de microscopia de luz. As amostras coletadas foram fixadas em ácido acético e etanol por 24 horas e mantidas em solução de etanol 70%. Para a observação, as lâminas foram coradas com azul de algodão (lactofenol) (NICOLSON, 1959).

Posteriormente à realização das análises microscópicas, com base na quantidade de conídios presentes na epiderme foliar, na avaliação da proporção de conídios germinados e não germinados, e na observação dos esporos e hifas aderidos à superfície da folha, demonstrando maior aderência à parede vegetal, foi determinado que o inóculo utilizado na condução do bioensaio final seria preparado a partir do isolado 15EB (dados apresentados nos resultados, item 6.2).

5.4. Bioensaio final

O bioensaio foi realizado na Estação Experimental de Biologia da UnB, em câmara de crescimento a 25°C, fotoperíodo de 12h e umidade relativa de 80%, por um período de 12 dias. Para sua condução, foram utilizadas 16 plantas da variedade Calcutta 4 e 16 da cultivar Cavendish Grande Naine. Após a aclimação das plantas, as duas folhas totalmente expandidas mais jovens foram inoculadas em seis áreas pré-delimitadas de 2,5x2,5cm por folha, com a aspersão de 200µL (equivalente a 2 borrifadas) da suspensão de conídios em cada região, com auxílio de um pulverizador manual.

Ao todo, oito plantas de Calcutta 4 e oito de Cavendish Grande Naine foram inoculadas com a suspensão de esporos de *P. musae* a $1,7 \times 10^4$ conídios/mL preparada com Tween 20 a 0,05% (tratamento inoculado). Na outra metade das plantas de cada genótipo, aspergiu-se apenas uma solução de Tween 20 a 0,05% (tratamento controle não inoculado). Após a inoculação, as plantas foram distribuídas aleatoriamente e mantidas em câmara de crescimento sob um fotoperíodo de 12h, a 25°C, com umidade relativa de cerca de 85%. Foram estabelecidos dois pontos de coleta do material foliar: 3 e 12 dias após a inoculação (DAI), com base em estudos anteriores (CAVALCANTE *et al.*, 2011). Para cada *timepoint* analisado, utilizou-se oito plantas de cada genótipo, quatro inoculadas e quatro controle, representando quatro réplicas biológicas (Tabela 5), as quais foram utilizadas tanto para a realização do RNA-seq quanto para a validação por RT-qPCR. Dessas, foram recortados os seis fragmentos delimitados por folha, totalizando 12 áreas inoculadas por planta, sendo imediatamente transferidos para nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenados a uma temperatura de -80°C até o momento da extração do RNA total.

Tabela 5. Delineamento experimental para o estudo dos genes candidatos envolvidos em resistência durante a interação entre *Musa acuminata* e *Pseudocercospora musae*.

DAI	Cavendish Grande Naine		Calcutta 4		Total
	Inoculado	Não inoculado	Inoculado	Não inoculado	
3	4	4	4	4	16
12	4	4	4	4	16

5.4.1. Extração e purificação do RNA total

Para a extração do RNA total, foram selecionadas três áreas foliares por amostra. O RNA foi extraído de cada fragmento utilizando-se o reagente Concert™ RNA Plant Reagent (Invitrogen, EUA), segundo as instruções do fabricante. Em seguida, o RNA isolado foi purificado com o kit ReliaPrep™ miRNA Cell and Tissue Miniprep System (Promega®, EUA), de acordo com o protocolo do fabricante. Para evitar a interferência causada pela presença de DNA genômico nas amostras de RNA durante a análise de RT-qPCR, as amostras foram submetidas ao tratamento com DNase I (New England BioLabs, UK), a 37°C por 20 minutos, seguida de desnaturação a 75°C por 10 minutos. A quantificação e a integridade do RNA foram avaliadas por meio de eletroforese em gel de agarose a 1% e em espectrofotômetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific, EUA).

5.4.2. RNA-Seq – Illumina

Foi realizado o sequenciamento dos mRNAs da interação entre *M. acuminata* e *P. musae*. Para isso, foram utilizadas três amostras de cada tratamento do genótipo resistente Calcutta 4 inoculadas ou não com conidiósporos do fungo (Tabela 6), e foram construídas 12 bibliotecas a partir do RNA total enviado.

Tabela 6. Quantidade de amostras selecionadas para sequenciamento de *Musa acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4, após interação com *Pseudocercospora musae*.

DAI	<i>Musa acuminata</i> var. Calcutta 4		Total
	Inoculado	Não inoculado	
3	3	3	6
12	3	3	6
Total de amostras sequenciadas →			12

A construção das bibliotecas de cDNA e o sequenciamento foram realizados pela Empresa McGill University / Génome Québec Innovation Centre – Canadá, utilizando a tecnologia Illumina Hiseq 4000 PE100 (<http://illumina.ucr.edu/ht/>). As amostras de RNA total da variedade C4 foram transportadas em RNASTable (Biomátrica), de acordo com as instruções do fabricante. Após ressuspensão, a integridade do RNA foi avaliada utilizando o sistema do Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, EUA). As bibliotecas foram construídas utilizando o TruSeq RNA Library Prep Kit (Illumina, EUA) e o sequenciamento *paired-end* (2x100 bases) foi conduzido usando TruSeq RNA Chemistry v3 (Illumina, EUA). As sequências geradas tiveram os adaptadores retirados e sequências com qualidade inferior a Phred Q>20 foram filtradas. Em seguida, foi realizado o mapeamento destas no genoma de referência de *Musa acuminata* DH-Pahang versão 2 (<http://banana-genome.cirad.fr/>). Os dados do sequenciamento serão depositados no NCBI Sequence Read Archive (SRA) database.

5.4.3. Análises dos dados

As sequências brutas, obtidas a partir do RNA-Seq, passaram por uma avaliação da qualidade por meio do programa FastQC Report (FastQC - <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Os fragmentos de sequências (*reads*) foram aferidos por qualidade superior a 20 e tamanho mínimo igual a 36 pares de bases (pb), com a utilização do programa Trimmomatic (BOLGER; LOHSE; USADEL, 2014). As sequências com alta qualidade foram alinhadas ao genoma de referência de *M. acuminata* DH-Pahang v.2 (disponível na plataforma Banana Genome HUB - <https://banana-genome-hub.southgreen.fr/organism/Musa/acuminata>), para o mapeamento das regiões gênicas. O alinhamento das sequências de cada biblioteca foi realizado em modo batch, permitindo a análise dos resultados de forma individualizada, utilizando programa STAR no modo *--twopassMode Basic* (DOBIN *et al.*, 2013). A sequência das análises de bioinformática estão resumidas na Figura 15.

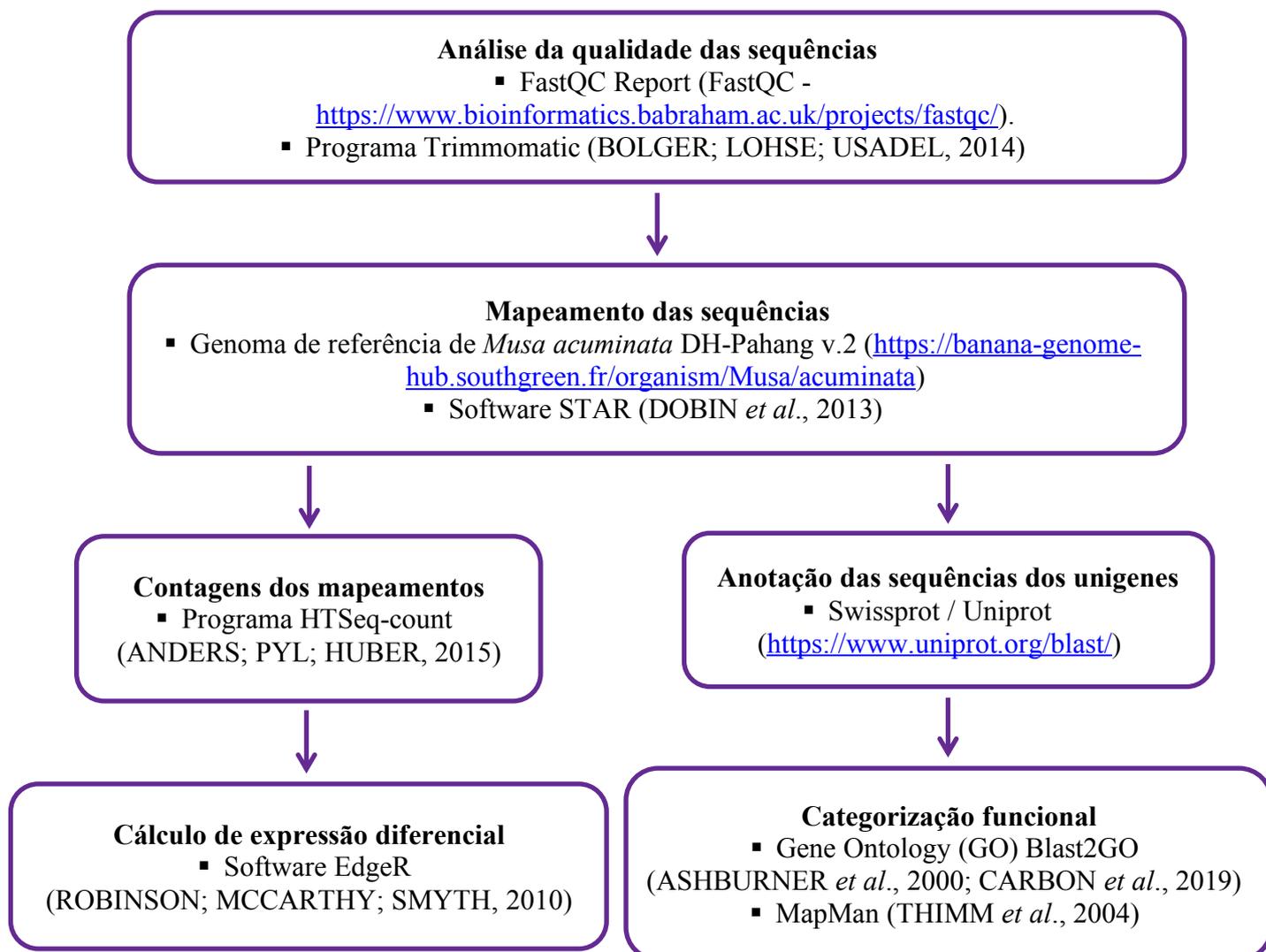


Figura 15. Diagrama da sequência das análises de bioinformática utilizadas nos dados de RNA-Seq da interação entre *Musa acuminata* e *Pseudocercospora musae*.

5.4.3.1. Identificação dos genes diferencialmente expressos

Após a realização do mapeamento dos *reads* contra o genoma de referência de *M. acuminata*, as sequências alinhadas foram utilizadas para a determinação da expressão gênica diferencial. A contagem do número de *reads* mapeados por módulos gênicos foi obtida pela plataforma HTSeq-count (Python Software Foundation, Portland, OR, EUA) (ANDERS; PYL; HUBER, 2015), um software aplicado para o processamento de dados a partir de ensaios de sequenciamento de alto rendimento.

Análises estatísticas foram executadas para identificar genes unicamente mapeados, com mudanças significativas no número de *reads* entre os tratamentos experimentais abordados (genótipo Calcutta 4, inoculado (I) e não inoculado (NI) com *P. musae*, em 3 e 12 DAI). Os

cálculos foram realizados por meio do programa EdgeR (ROBINSON; MCCARTHY; SMYTH, 2010). Para a realização da análise dos genes diferencialmente expressos (DEGs) com significância estatística, para cada tratamento, os parâmetros utilizados foram o valor de p ajustado por FDR (p_{adj} , FDR) utilizando o método Benjamini-HochBergh, e o valor da razão entre tratamentos na base logarítmica de 2 ($\log_2 \text{Fold Change} - \log_2 \text{FC}$). Para 3 DAI inoculado, em relação ao controle, aceitou-se como ponto de corte valores de FDR menores que 0,05. Para 12 DAI inoculado, em comparação ao não inoculado, foram aceitos valores de FDR menores que 0,8, devido à baixa confiança que esses dados apresentaram. Em ambos os tempos analisados, o valor aceito para $\log_2 \text{Fold Change}$ foi maior ou igual a 2, ou menor ou igual a -2 ($-2 \geq \log_2 \text{FC} \geq 2$), de modo que foram considerados como genes diferencialmente expressos aqueles cuja expressão foi igual ou maior que quatro vezes entre os tratamentos avaliados.

5.4.3.2. Análise funcional

Foram utilizadas duas estratégias de anotações funcionais para demonstrar quais principais processos e rotas metabólicas sofreram alterações em resposta ao estresse biótico: ontologia gênica (*Gene Ontology* – GO) e MapMan (THIMM *et al.*, 2004).

Para o GO, a anotação dos genes foi realizada por homologia, com o auxílio do software Blast2GO® versão 5.1 (CONESA *et al.*, 2005), entre as sequências genômicas mapeadas e as presentes no Banco de dados Uniprot/SWISSPROT, empregando o algoritmo BLASTp, e considerando um número máximo de cinco hits por entrada e o valor mínimo esperado de 10^{-6} ($E_{\text{value}} \leq 1.10^{-6}$). Adicionalmente, análises com o software InterproScan permitiram a atribuição de domínios funcionais às sequências. Em seguida, foi realizada a anotação das sequências em seus respectivos termos de ontologia gênica (ASHBURNER *et al.*, 2000; CARBON *et al.*, 2019) utilizando os parâmetros padrões do Blast2GO®. As análises de superexpressão e repressão associadas aos genes e produtos de acordo com a categoria de GO foram feitas com o teste hipergeométrico implementado no programa Blast2GO®. Posteriormente, os termos redundantes foram eliminados e as categorias sumarizadas pelo programa GOSlim. O software MapMan versão 3.5.1.R2 (THIMM *et al.*, 2004) foi utilizado para analisar as mudanças gerais no metabolismo relacionadas ao estresse biótico.

5.4.4. Validação dos genes candidatos por RT-qPCR

Após identificar os genes candidatos envolvidos nas vias associadas às respostas de defesa em *M. acuminata* durante infecção por *P. musae*, foram selecionados 14 genes que

apresentaram expressão diferencial *in silico*, para validação via RT-qPCR. Para isso, foram utilizados como genes de referência o *UBQ2* (Ubiquitina 2) e *RAN* (GTP - *Binding Nuclear Protein*) (REGO *et al.*, 2019) (Anexo 1).

5.4.4.1. Desenho dos primers

Os primers foram desenhados para os 14 genes selecionados, após a seleção prévia dos genes candidatos, considerando os que participam das vias de resposta de PTI, ETI e SAR descritos na literatura, e que foram diferencialmente expressos nesse trabalho (Anexo 2). Foram utilizadas sequências de cDNA de Calcutta 4 obtidas a partir de BLASTn contra sequências do genoma de referência de *M. acuminata*.

Para o desenho dos primers, foi utilizado o software Primer 3 Plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) (UNTERGASSER *et al.*, 2007), conforme os seguintes parâmetros: amplicon entre 80 e 90pb, tamanho do primer de 22pb, Tm 60°C e porcentagem de GC entre 45 e 55%. As sequências obtidas foram analisadas quanto à formação de estruturas secundárias e dímeros por meio dos programas OligoAnalyzer (IDT Integrated DNA Technologies, IA, EUA, <https://www.idtdna.com/calc/analyzer>) e Multiple Primer Analyzer (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA, <https://www.thermofisher.com/br/en/home/brands/thermo-scientific/molecular-biology/molecular-biology-learning-center/molecular-biology-resource-library/thermo-scientific-web-tools/multiple-primer-analyzer.html>). Para avaliar os primers desenhados em relação à especificidade de amplificação do gene alvo, foram realizadas PCRs eletrônicas a partir da ferramenta PrimerBlast no banco de dados não redundante (nr) do NCBI.

5.4.4.2. Preparo do cDNA a partir das amostras foliares

A extração do RNA total e o tratamento com DNase das amostras dos genótipos C4 e CAV de *M. acuminata*, aos 3 e 12 dias de infecção por *P. musae*, foram realizados conforme descrito no tópico 5.5. A purificação do RNA isolado foi realizada seguindo o protocolo do kit Invisorb Spin Plant RNA Mini Kit (Invitex®, Alemanha). Em seguida, foi realizada a síntese de cDNA, utilizando-se o kit SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, EUA), conforme as instruções do fabricante.

5.4.4.3. PCR quantitativo em tempo real

A validação dos genes candidatos foi realizada através da técnica de RT-qPCR, utilizando-se o kit iTaq™ universal SYBR® Green (Bio-Rad, EUA). As amplificações por qPCR foram realizadas em um termociclador Real-Time PCR da ABI StepOne® (Applied Biosystems, EUA), utilizando três repetições experimentais independentes e três replicatas técnicas por amplificação. Cada reação de qPCR possuía volume final de 10 µL, contendo 2µL de uma diluição de 1:20 de cada cDNA estoque, 0,2µM de cada primer e 5 µL do kit iTaq™ universal SYBR® Green. As amplificações foram realizadas seguindo os seguintes parâmetros: duas etapas iniciais de 50°C por 2 minutos, e de 95°C por 10 minutos, 40 ciclos de desnaturação a 95°C durante 15 segundos, e anelamento e extensão do primer a 60°C por 60s, e, para a obtenção da curva de *melting*, três etapas finais de 95°C por 15s, 60°C durante 60s e 95°C por 15s.

A especificidade dos primers foi verificada com base na T_m (dissociação) dos produtos amplificados. Os dados ΔR_n brutos, fornecidos pelo software StepOne v.2.3 (Applied Biosystems, EUA), foram utilizados para determinar a eficiência da qPCR para cada gene e para calcular os ciclos médios de quantificação (C_{qs}) por gene usando o programa LinRegPCR versão 2017.1 (RAMAKERS *et al.*, 2003). A análise da expressão diferencial para cada gene foi determinada por meio do programa qbase+ (v.3.1) (HELLEMANS *et al.*, 2007). Dentre os genes analisados, algumas amostras demonstraram expressão divergente em relação às demais, aumentando consideravelmente o erro padrão. Para sua regularização e correta eliminação das amostras não correlacionadas às restantes, foi realizada uma análise de componentes principais (*Principal Component Analysis - PCA*), com auxílio da plataforma RStudio v.1.3.959. Para a realização da análise da significância estatística entre os tratamentos e para a construção dos gráficos foi utilizado o software Prism8 v.8.4.3 (GraphPad Software, EUA, www.graphpad.com).

6. RESULTADOS

6.1. Identificação molecular dos isolados de *Pseudocercospora musae*

Após a realização do sequenciamento da região ITS do rDNA e dos genes da *ACT*, *HIS* e *EF* dos isolados obtidos, foi realizada uma busca por sequências homólogas via BLASTn na base de dados do GenBank, e os resultados confirmaram a identidade de todos os isolados como *Pseudocercospora musae* (Tabela 7).

Tabela 7. Resultado da identificação molecular de quatro isolados fúngicos retirados de folhas de bananeira, a partir da análise das sequências via BLASTn das seguintes regiões genômicas: ITS (*Internal Transcribed Spacer*), *fator de alongação 1 α* (*EF*), *actina* (*ACT*) e *histona H3* (*HIS*).

Isolado	Região genômica	Identidade	Resultado
12 EB	ITS	98,3%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>EF</i>	90,8%	<i>Pseudocercospora mapelanensis</i>
	<i>ACT</i>	71,5%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>HIS</i>	99,7%	<i>Pseudocercospora musae</i>
15 EB	ITS	98,6%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>EF</i>	92,6%	<i>Pseudocercospora mapelanensis</i>
	<i>ACT</i>	99,6%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>HIS</i>	99,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>
018b BA	ITS	99,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>EF</i>	92,4%	<i>Pseudocercospora mapelanensis</i>
	<i>ACT</i>	99,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>HIS</i>	98,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>
90 EB	ITS	98,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>EF</i>	87,0%	<i>Pseudocercospora mapelanensis</i>
	<i>ACT</i>	94,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>
	<i>HIS</i>	99,0%	<i>Pseudocercospora musae</i>

6.2. Seleção do isolado para inóculo

A partir das análises microscópicas realizadas previamente em folhas de bananeira (Figura 16), foram observados conídios (Figura 17) e tubos germinativos aos 3 DAI, e o crescimento de hifas próximo aos estômatos a partir de 6 DAI (dados não apresentados).

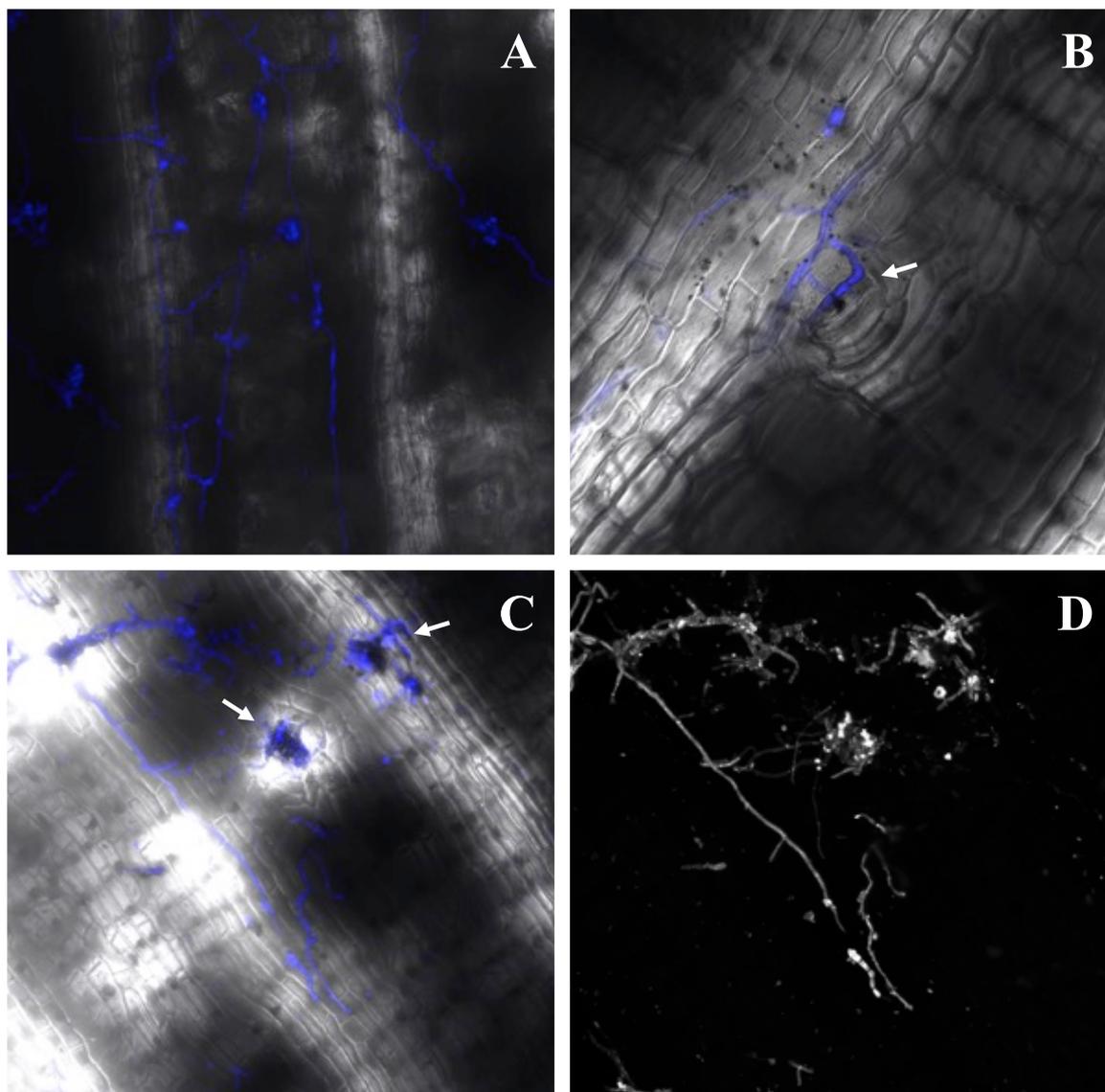


Figura 16. Crescimento de *Pseudocercospora musae* na face abaxial da folha de bananeira. Imagens obtidas em microscópio confocal. As estruturas de quitina de *P. musae* foram coradas com Calcofluor (FB28, Sigma-Aldrich). A. Hifas aderidas à folha de bananeira. B. Crescimento de hifas próximo ao estômato (seta). C. Estádio final do desenvolvimento fúngico, com esporóquios de *P. musae* dentro dos estômatos (seta). D. Mesma imagem de C, evidenciando apenas as hifas de *P. musae*.



Figura 17. Em destaque, conídio do isolado 15 EB de *Pseudocercospora musae*, em folha de *Musa acuminata* var. Calcutta 4, 12 dias após a inoculação. Imagem obtida através de microscopia de luz, com as estruturas fúngicas coradas com azul de algodão em lactofenol.

Foi observado ainda que o isolado 15 EB apresentou a maior média de conídios por fragmento foliar e de esporos germinados, tanto em Cavendish quanto em Calcutta 4 (Tabela 8). Observou-se também uma maior quantidade de hifas desse espécime aderidas à parede vegetal em relação aos demais isolados, em ambos os genótipos. Baseado nessas análises, o isolado 15 EB foi selecionado para a realização do bioensaio e posterior estudo da expressão gênica envolvida nas respostas de defesa de C4 a *P. musae*.

Tabela 8. Média dos conídios germinados por fragmento foliar analisado de isolados de *Pseudocercospora musae* inoculados em folhas de *Musa acuminata* provenientes de dois genótipos contrastantes em resistência: Cavendish Grande Naine (suscetível) e Calcutta 4 (resistente).

Isolado de <i>Pseudocercospora musae</i>	<i>Musa acuminata</i> Cavendish		<i>Musa acuminata</i> Calcutta 4	
	Esporos germinados	Esporos não germinados	Esporos germinados	Esporos não germinados
12 EB	1.9	2.2	0.4	0.7
15 EB	32.3	28.1	24.7	21.6
018b BA	10.2	4.5	0.1	1.1
90 EB	12.2	20.0	1.5	2.4

6.3. Análise do RNA foliar de *M. acuminata* var. Calcutta 4

O RNA total extraído de cada amostra foliar de *M. acuminata* Calcutta 4 apresentou quantidade e qualidade dentro dos padrões solicitados. As concentrações de RNA obtidas após a purificação apresentaram rendimento médio de 385,5 ng/μl, com razão entre as leituras das absorvâncias 260/280 entre 2,09 e 2,14 (Tabela 9). Conforme Fleige e Pfaffl (2006), uma relação OD 260/280 maior do que 1,8 é um indicativo de RNA de alta qualidade. Considerando ainda a análise da qualidade da extração final do RNA total foliar após a purificação, realizada através de eletroforese em gel de agarose (Figura 18), foi demonstrado que o RNA extraído apresentou-se íntegro, sem contaminação com DNA, apresentando as condições necessárias para a realização do RNA-Seq e da RT-qPCR.

Tabela 9. Quantificação do RNA total extraído de folhas de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 inoculadas com *Pseudocercospora musae* e controle não inoculado, em espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific). Amostras enviadas para sequenciamento Illumina 4000.

Tratamento	Amostra	Conc. (ng/μl)	Absorvância 260/280	Absorvância 260/230
Inoculado, 3 DAI*	P3	435.4	2.11	1.75
Inoculado, 3 DAI	P4	551.2	2.09	1.92
Inoculado, 3 DAI	P16	508.3	2.11	1.62
Inoculado, 12 DAI	P2	450.9	2.12	1.74
Inoculado, 12 DAI	P6	282.6	2.12	1.52
Inoculado, 12 DAI	P15	271.9	2.13	1.61
Não inoculado, 3 DAI	P8	274.6	2.13	1.6
Não inoculado, 3 DAI	P12	330.1	2.12	0.96
Não inoculado, 3 DAI	P14	609.1	2.09	1.43
Não inoculado, 12 DAI	P5	395.4	2.13	1.83
Não inoculado, 12 DAI	P9	168.1	2.14	1.05
Não inoculado, 12 DAI	P10	348.4	2.12	1.76

* DAI = dias após inoculação.

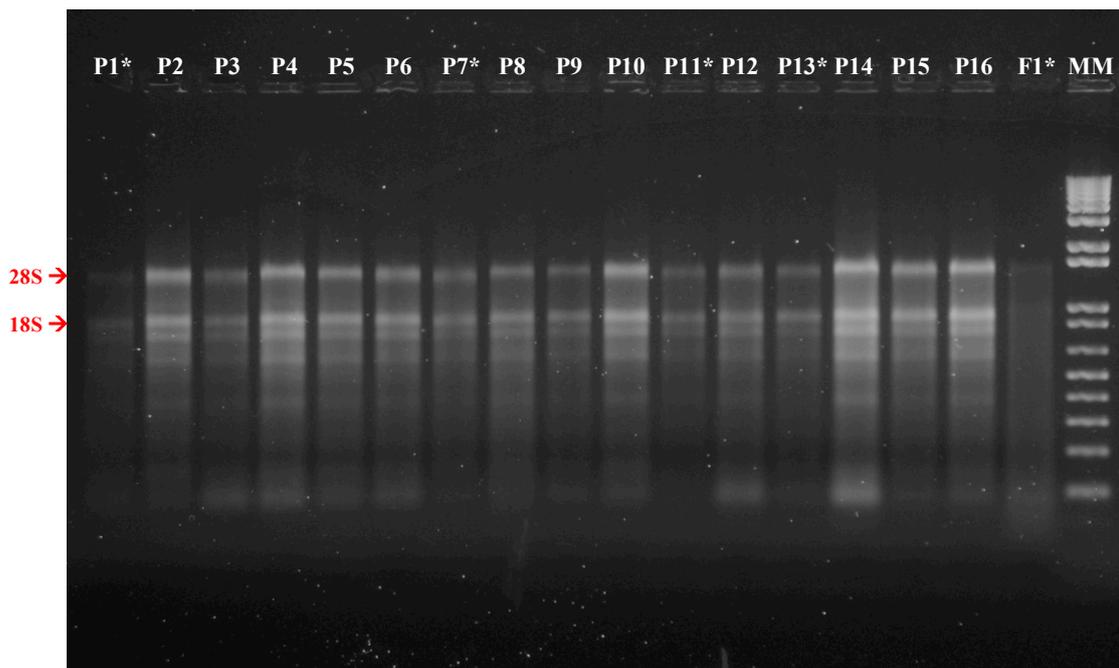


Figura 18. Análise da qualidade da extração final do RNA total foliar após a purificação para a realização do sequenciamento dos mRNAs, através de eletroforese em gel de agarose a 1%. O RNA total foi extraído de folhas de *Musa acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 não infectadas e artificialmente desafiadas com conidiósporos do isolado 15 EB de *Pseudocercospora musae*. Identificação das amostras conforme Tabela 9. As setas indicam as bandas dos RNAs ribossomais (rRNAs) 28S e 18S. *Amostras não utilizadas para sequenciamento. MM = 1 Kb *Plus DNA Ladder* (Invitrogen).

6.4. RNA-Seq e processamento das sequências

O sequenciamento via Illumina HiSeq 4000 dos mRNAs da interação entre *M. acuminata* e *P. musae* gerou um total de 325.264.847 *reads*. Os dados para cada amostra proveniente das coletas de 3 e 12 DAI estão apresentados na Tabela 10. As sequências geradas tiveram os adaptadores retirados e as que possuíam qualidade inferior a Phred $Q > 20$ foram filtradas. Um total de 304.844.363 sequências foram corretamente mapeadas no genoma de referência de *M. acuminata* DH-Pahang versão 2 (<https://banana-genome-hub.southgreen.fr/organism/Musa/acuminata>), ao longo de 30.613 modelos gênicos, o que corresponde a um total de 93,7% das sequências filtradas (Tabela 11).

Tabela 10. Dados resultantes do sequenciamento do RNA extraído de folhas de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 desafiadas ou não com *Pseudocercospora musae*, via Illumina Hiseq 4000.

Tratamento	Amostra	n° de Reads	n° de Bases	Q Score (Phred)
Inoculado, 3 DAI*	P3	21.153.039	4.230.607.800	39
Inoculado, 3 DAI	P4	20.876.628	4.175.325.600	39
Inoculado, 3 DAI	P16	25.905.528	5.181.105.600	39
Inoculado, 12 DAI	P2	14.849.725	2.969.945.000	39
Inoculado, 12 DAI	P6	30.753.190	6.150.638.000	39
Inoculado, 12 DAI	P15	21.739.957	4.347.991.400	39
Não inoculado, 3 DAI	P8	34.822.067	6.964.413.400	39
Não inoculado, 3 DAI	P12	27.183.050	5.436.610.000	39
Não inoculado, 3 DAI	P14	37.833.607	7.566.721.400	39
Não inoculado, 12 DAI	P5	34.965.852	6.993.170.400	39
Não inoculado, 12 DAI	P9	29.151.153	5.830.230.600	39
Não inoculado, 12 DAI	P10	26.031.051	5.206.210.200	39

* DAI = dias após inoculação.

Tabela 11. Visão geral dos dados obtidos após a análise do RNA-Seq da interação entre *Musa acuminata* e *Pseudocercospora musae*.

Tratamento		Total de reads	Total de bases	Reads mapeados	% dos reads mapeados
Inoculado	3DAI	67.935.195	13.587.039.000	63.710.360	93.8
	12DAI	67.342.872	13.468.574.400	63.285.096	94.0
Controle (não inoculado)	3DAI	99.838.724	19.967.744.800	93.454.650	93.6
	12DAI	90.148.056	18.029.611.200	84.394.257	93.6

6.4.1. Análise da expressão diferencial de genes

Com o intuito de avaliar a modulação gênica em *M. acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 diante da progressão da infecção por *P. musae*, foram realizadas análises comparativas de expressão gênica entre as amostras inoculadas (I) em relação às não inoculadas (NI). Na análise quantitativa da expressão gênica, foram identificados ao todo 2.002 genes diferencialmente expressos em Calcutta 4 frente à infecção por *P. musae*. Dentre esses, 1.073 DEGs (Differentially Expressed Genes) foram encontrados aos 3 DAI, e 976 DEGs foram identificados aos 12 DAI. A partir desses dados, foram elaborados gráficos Volcano Plot de modo a facilitar a visualização da superexpressão (upregulation) e repressão (downregulation) dos genes diferencialmente expressos (Figura 19). Os genes que apresentaram diferença

significativa na sua expressão, indicados em vermelho no *Volcano Plot*, estão apresentados na Tabela 12.

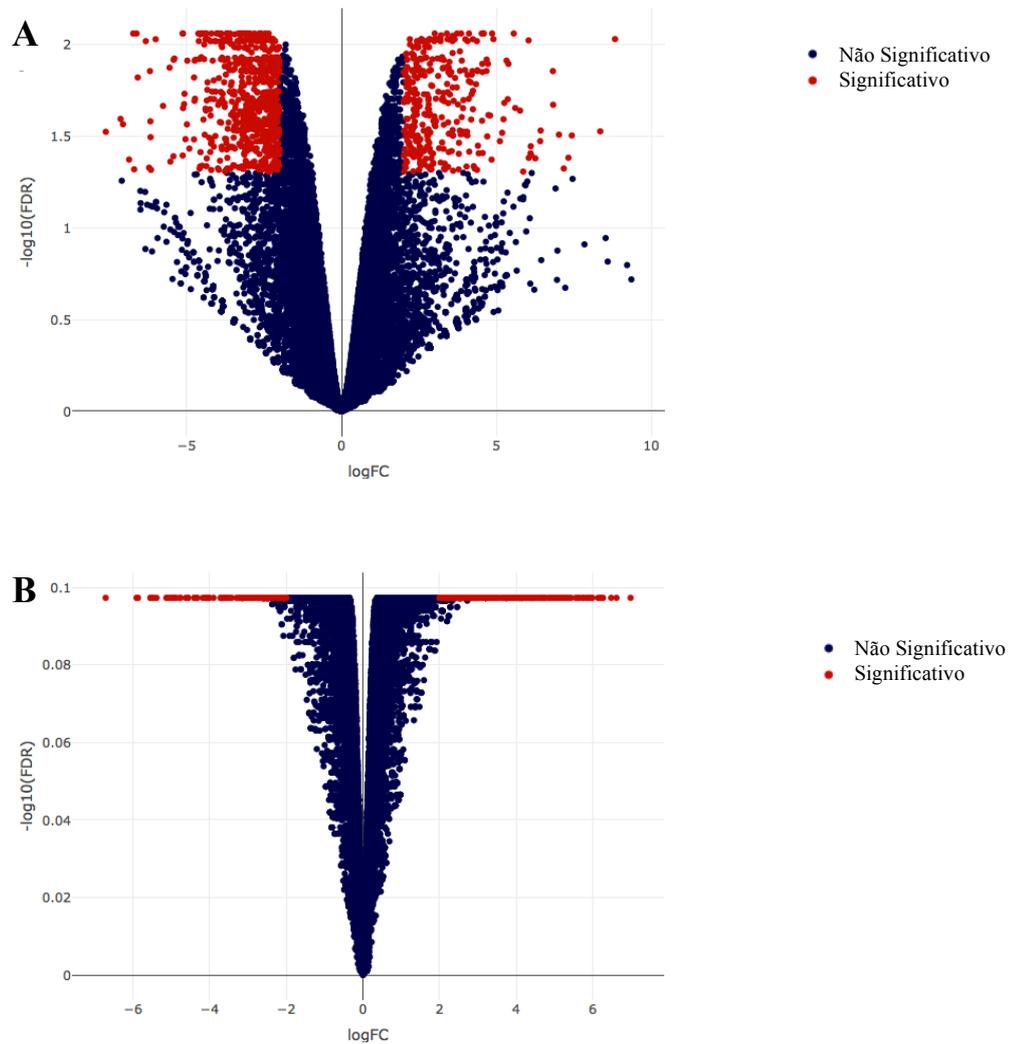


Figura 19. *Volcano plot* representando os transcritos que foram expressos em folhas de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 inoculadas por até 12 dias com *Pseudocercospora musae*. À direita localizam-se os genes com $\log_2\text{FC} > 0$ (superexpressão) e à esquerda os que possuem $\log_2\text{FC} < 0$ (repressão). Os pontos em azul são os genes não significativos, e os pontos em vermelho representam os genes que apresentaram diferença significativa na sua expressão. A. 3 DAI, inoculado em comparação com o controle não inoculado. B. 12 DAI, inoculado em relação ao controle não inoculado.

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

3 DAI – Superexpressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma06_g10880	8.83	0.01	<i>Piriformospora indica-insensitive protein 2-like</i>
Ma03_g32990	8.35	0.03	<i>Uncharacterized LOC103979709</i>
Ma05_g07370	7.43	0.03	<i>Thioredoxin-like 1-2, chloroplastic</i>
Ma10_g21310	7.32	0.04	<i>Uncharacterized LOC103968854</i>
Ma07_g10900	7.17	0.05	<i>Transcription factor bhlh149-like</i>
Ma06_g16670	7.02	0.03	<i>Mannose-specific lectin-like</i>
Ma09_g23450	6.83	0.02	<i>Transcription factor bhlh35-like</i>
Ma04_g02550	6.82	0.01	<i>G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g24080</i>
Ma02_g00950	6.43	0.03	<i>Homeobox protein knotted-1-like</i>
Ma09_g25980	6.41	0.03	<i>Jacalin-related lectin 35-like</i>
Ma01_g00460	6.26	0.04	<i>Uncharacterized LOC103981387</i>
Ma03_g15990	6.12	0.04	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase 11</i>
Ma05_g29180	6.11	0.04	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma01_g16010	6.10	0.04	<i>Uncharacterized LOC103990595</i>
Ma01_g09910	6.04	0.04	<i>Granule-bound starch synthase 1, chloroplastic amyloplastic</i>
Ma08_g34500	6.04	0.01	<i>Thiosulfate sulfurtransferase 16 chloroplastic-like</i>
Ma05_g11470	5.86	0.05	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase</i>
Ma04_g14490	5.76	0.02	<i>Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase-like</i>
Ma10_g07930	5.61	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g29360	5.56	0.01	<i>Uncharacterized LOC103995997</i>
Ma09_g13800	5.39	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma06_g29330	5.37	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma11_g07490	5.33	0.01	<i>Reticuline oxidase-like</i>
Ma07_g21820	5.25	0.02	<i>Anthranilate O-methyltransferase 3-like</i>
Ma05_g09330	5.23	0.03	<i>Bowman-Birk type proteinase inhibitor-like</i>
Ma06_g17460	5.18	0.03	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g16880	5.11	0.03	<i>Dirigent protein 21-like</i>
Ma08_g02220	4.90	0.01	<i>Uncharacterized LOC103994031</i>
Ma08_g22250	4.86	0.01	<i>Thioredoxin-like 1-2, chloroplastic</i>
Ma11_g11950	4.84	0.04	<i>Transcription factor bhlh75-like</i>
Ma08_g14610	4.79	0.02	<i>Transcription factor BEE 3-like</i>
Ma10_g27570	4.74	0.02	<i>Acid phosphatase 1-like</i>
Ma08_g29350	4.72	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

3 DAI – Superexpressão

Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma04_g08120	4.70	0.03	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma06_g18110	4.68	0.01	<i>Nuclear transcription factor Y subunit C-4-like</i>
Ma08_g26910	4.68	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g22530	4.59	0.01	<i>EID1-like F-box protein 3</i>
Ma08_g20280	4.58	0.01	<i>Horcolin</i>
Ma05_g23650	4.55	0.04	<i>Uncharacterized LOC103985606</i>
Ma07_g03980	4.55	0.01	<i>Zeaxanthin epoxidase chloroplastic-like</i>
Ma04_g24510	4.54	0.01	<i>3-ketoacyl- synthase 11</i>
Ma07_g19870	4.54	0.03	<i>Classical arabinogalactan protein 1-like</i>
Ma11_g20360	4.52	0.01	<i>Probable protein phosphatase 2C 68</i>
Ma05_g00970	4.43	0.04	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g27950	4.40	0.04	<i>Isoflavone 2'-hydroxylase-like</i>
Ma07_g09150	4.39	0.01	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 2-like</i>
Ma01_g12890	4.38	0.01	<i>18 kda seed maturation</i>
Ma01_g02630	4.37	0.05	<i>Endochitinase-like</i>
Ma08_g12880	4.37	0.01	<i>Probable protein phosphatase 2C 37</i>
Ma04_g39420	4.34	0.02	<i>Cytochrome P450 85A1-like</i>
Ma09_g28610	4.30	0.05	<i>Protein ALUMINUM SENSITIVE 3-like</i>
Ma08_g34370	4.27	0.05	<i>Probable ubiquitin-conjugating enzyme E2 23</i>
Ma03_g15420	4.24	0.02	<i>Cytochrome P450 71A1-like</i>
Ma02_g19340	4.24	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma04_g21650	4.24	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma01_g09200	4.22	0.01	<i>Protein ECERIFERUM 3-like</i>
Ma02_g18510	4.20	0.01	<i>GATA transcription factor 21-like</i>
Ma03_g31600	4.20	0.02	<i>Ninja-family protein 6-like</i>
Ma06_g26900	4.18	0.03	<i>Probable WRKY transcription factor 70</i>
Ma02_g05100	4.17	0.02	<i>BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated receptor kinase 1-like</i>
Ma05_g20740	4.12	0.04	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma05_g19810	4.11	0.01	<i>Photosystem II repair protein PSB27-H1 chloroplastic-like</i>
Ma10_g30220	4.11	0.02	<i>Zinc-finger homeodomain protein 2-like</i>
Ma01_g14490	4.10	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g27880	4.07	0.01	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 2-like</i>
Ma08_g14960	4.07	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

3 DAI – Superexpressão

Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma07_g24240	4.06	0.03	<i>Uncharacterized LOC103992576</i>
Ma09_g28960	4.05	0.03	<i>Expansin-A7-like</i>
Ma02_g18170	4.03	0.05	<i>Glycerol-3-phosphate acyltransferase 5-like</i>
Ma00_g04650	4.00	0.01	<i>SNF1-related protein kinase regulatory subunit beta-1-like</i>
Ma07_g17610	3.99	0.03	<i>Uncharacterized LOC103992058</i>
Ma02_g21880	3.98	0.01	<i>Uncharacterized LOC103976486</i>
Ma05_g14980	3.94	0.03	<i>Probable 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase 2, chloroplastic</i>
Ma03_g26420	3.93	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma06_g27560	3.92	0.02	<i>Carboxyvinyl-carboxyphosphonate phosphorylmutase chloroplastic-like</i>
Ma10_g21940	3.88	0.01	<i>Reticulon-like protein B2</i>
Ma05_g26760	3.88	0.02	<i>23 kda jasmonate-induced protein-like</i>
Ma04_g37350	3.86	0.01	<i>Putative GATA transcription factor 22</i>
Ma05_g12160	3.85	0.03	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g19000	3.82	0.01	<i>Chaperone protein dnaj 11 chloroplastic-like</i>
Ma08_g20300	3.82	0.01	<i>Jacalin-related lectin 19</i>
Ma08_g00450	3.82	0.03	<i>Uncharacterized LOC103994412</i>
Ma04_g17200	3.79	0.03	<i>Non-specific lipid-transfer protein 1-like</i>
Ma03_g12480	3.79	0.04	<i>Protein ODORANT1-like</i>
Ma10_g10490	3.78	0.05	<i>Serine decarboxylase 1-like</i>
Ma06_g14350	3.76	0.02	<i>Amino acid permease 4-like</i>
Ma08_g15040	3.73	0.01	<i>Ribosome-binding factor PSRP1, chloroplastic</i>
Ma08_g12680	3.72	0.03	<i>RING finger and CHY zinc finger domain-containing protein 1</i>
Ma04_g23480	3.72	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g17920	3.66	0.02	<i>Uncharacterized LOC103978513</i>
Ma11_g23790	3.65	0.01	<i>Uncharacterized LOC103972408</i>
Ma09_g21200	3.62	0.02	<i>(3S, 6E)-nerolidol synthase 1-like</i>
Ma04_g21910	3.61	0.01	<i>RING-H2 finger protein ATL45-like</i>
Ma10_g22460	3.60	0.03	<i>putative lipid-transfer protein DIR1</i>
Ma07_g21830	3.60	0.05	<i>anthranilate O-methyltransferase 3-like</i>
Ma11_g09360	3.59	0.02	<i>uncharacterized protein DDB_G0271670-like</i>
Ma08_g17510	3.59	0.01	<i>ACT domain-containing ACR4</i>
Ma10_g00760	3.59	0.03	<i>Lichenase</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

3 DAI – Repressão

Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma02_g10890	-7.61	0.03	<i>SNF1-related protein kinase regulatory subunit gamma-1-like</i>
Ma05_g01130	-7.13	0.03	<i>Uncharacterized LOC103983642</i>
Ma05_g26940	-7.05	0.03	<i>Ethylene-responsive transcription factor 2</i>
Ma01_g11890	-6.86	0.04	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma06_g08530	-6.73	0.01	<i>Vacuolar amino acid transporter 1</i>
Ma09_g27340	-6.69	0.05	<i>Cytochrome P450 78A5-like</i>
Ma07_g28720	-6.62	0.01	<i>Uncharacterized LOC103993122</i>
Ma10_g28190	-6.58	0.02	<i>Probable WRKY transcription factor 72</i>
Ma06_g19400	-6.32	0.01	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF110</i>
Ma04_g15060	-6.21	0.05	<i>Putative receptor protein kinase zmpk1</i>
Ma09_g17280	-6.18	0.01	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.1-like</i>
Ma03_g28630	-6.17	0.03	<i>Vegetative cell wall protein gp1-like</i>
Ma04_g14910	-6.16	0.03	<i>Protein RADIALIS-like 3</i>
Ma04_g19550	-6.15	0.05	<i>Glycine-rich cell wall structural protein 1.8-like</i>
Ma11_g03110	-6.00	0.01	<i>MATE efflux family protein 5-like</i>
Ma02_g10870	-5.76	0.02	<i>Protein RADIALIS-like 4</i>
Ma11_g01320	-5.55	0.01	<i>Uncharacterized LOC103970138</i>
Ma02_g16180	-5.52	0.04	<i>RNA exonuclease 4-like</i>
Ma03_g11310	-5.43	0.04	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>
Ma09_g14900	-5.42	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma04_g14610	-5.39	0.01	<i>Calcium uniporter 2, mitochondria</i>
Ma06_g09410	-5.13	0.04	<i>LOB domain-containing protein 37-like</i>
Ma10_g27630	-5.13	0.01	<i>Uncharacterized LOC103969951</i>
Ma09_g06280	-5.12	0.01	<i>Interactor of constitutive active rops 4-like</i>
Ma10_g25840	-5.12	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g20750	-5.08	0.02	<i>Uncharacterized LOC103995088</i>
Ma04_g03580	-5.07	0.02	<i>Indole-3-pyruvate monooxygenase YUCCA2-like</i>
Ma08_g13870	-5.04	0.03	<i>Uncharacterized LOC103994450</i>
Ma02_g06450	-4.99	0.03	<i>Homeobox-leucine zipper protein HAT22-like</i>
Ma10_g08690	-4.98	0.01	<i>Cytochrome P450 78A6-like</i>
Ma05_g09600	-4.91	0.04	<i>Acyl-protein thioesterase 2-like</i>
Ma01_g04230	-4.76	0.03	<i>ABC transporter G family member 9</i>
Ma11_g02430	-4.76	0.02	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.2-like</i>
Ma06_g15740	-4.75	0.02	<i>UDP-glycosyltransferase 72B1-like</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

3 DAI – Repressão

Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma06_g20900	-4.74	0.01	<i>WAT1-related At5g64700</i>
Ma04_g19710	-4.73	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g12500	-4.72	0.01	<i>Uncharacterized LOC104000641</i>
Ma04_g37320	-4.62	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g23040	-4.61	0.01	<i>Amino acid permease 3-like</i>
Ma10_g23630	-4.59	0.01	<i>Protein GLUTAMINE DUMPER 3-like</i>
Ma11_g20800	-4.58	0.05	<i>Uncharacterized LOC103972629</i>
Ma06_g23670	-4.56	0.05	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma09_g23870	-4.56	0.01	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase 2-like</i>
Ma06_g26590	-4.55	0.04	<i>Geranylgeranyl pyrophosphate synthase 7, chloroplastic-like</i>
Ma06_g02770	-4.54	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g24400	-4.53	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma05_g02100	-4.50	0.05	<i>Trihelix transcription factor GT-4-like</i>
Ma05_g15470	-4.48	0.01	<i>Probable inorganic phosphate transporter 1-8</i>
Ma04_g26390	-4.46	0.03	<i>Scarecrow-like protein 28</i>
Ma01_g01600	-4.44	0.01	<i>WEB family protein At3g02930, chloroplastic-like</i>
Ma06_g36600	-4.43	0.01	<i>L-ascorbate oxidase homolog</i>
Ma04_g08430	-4.42	0.03	<i>Probable membrane-associated kinase regulator 2</i>
Ma04_g20680	-4.39	0.01	<i>Uncharacterized LOC103980421</i>
Ma07_g19640	-4.39	0.01	<i>Trans-cinnamate 4-monooxygenase-like</i>
Ma01_g03210	-4.39	0.02	<i>Uncharacterized LOC103979167</i>
Ma09_g03090	-4.38	0.02	<i>Exocyst complex component EXO70A1-like</i>
Ma05_g27310	-4.36	0.05	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g33870	-4.36	0.01	<i>36.4 kda proline-rich protein-like</i>
Ma10_g28400	-4.35	0.04	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g30570	-4.35	0.02	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing protein Os05g0549800-like</i>
Ma05_g09420	-4.33	0.02	<i>Probable WRKY transcription factor 61</i>
Ma02_g24400	-4.33	0.02	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like</i>
Ma09_g11510	-4.30	0.01	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g15870	-4.27	0.03	<i>E3 ubiquitin-protein ligase PUB23-like</i>
Ma02_g19720	-4.25	0.02	<i>Probable 4-coumarate--coa ligase 2</i>
Ma02_g22720	-4.24	0.02	<i>Putative 12-oxophytodienoate reductase 5</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

3 DAI – Repressão

Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma11_g05490	-4.24	0.04	<i>Protein SRG1-like</i>
Ma02_g24190	-4.23	0.01	<i>Patatin-like protein 2</i>
Ma04_g26220	-4.22	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma02_g10880	-4.21	0.03	<i>Protein RADIALIS-like 3</i>
Ma11_g22870	-4.21	0.05	<i>Putative leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g19230</i>
Ma04_g14620	-4.20	0.03	<i>Probable vacuolar amino acid transporter YPQ1</i>
Ma04_g38880	-4.20	0.01	<i>Allene oxide synthase, chloroplastic</i>
Ma05_g06590	-4.19	0.03	<i>Probable inactive receptor kinase At4g23740</i>
Ma08_g34740	-4.18	0.02	<i>Polyphenol oxidase, chloroplastic-like</i>
Ma04_g34930	-4.16	0.01	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g17230</i>
Ma06_g35820	-4.12	0.02	<i>Laccase-24-like</i>
Ma05_g05530	-4.12	0.04	<i>Auxin-responsive SAUR32</i>
Ma08_g01420	-4.12	0.02	<i>Uncharacterized LOC103994096</i>
Ma04_g10410	-4.10	0.01	<i>Uncharacterized LOC103981649</i>
Ma09_g10950	-4.07	0.03	<i>WUSCHEL-related homeobox 4-like</i>
Ma05_g20110	-4.07	0.02	<i>Uncharacterized LOC103985296</i>
Ma04_g02090	-4.06	0.01	<i>Uncharacterized LOC103980289</i>
Ma10_g15060	-4.03	0.01	<i>Proline-rich protein 2-like</i>
Ma06_g34440	-4.01	0.01	<i>Abscisic acid receptor PYL4-like</i>
Ma09_g24260	-3.99	0.05	<i>BTB/POZ domain-containing protein At3g19850-like</i>
Ma09_g10260	-3.98	0.02	<i>BII-like protein</i>
Ma07_g14030	-3.98	0.01	<i>Probable WRKY transcription factor 41</i>
Ma11_g19450	-3.96	0.05	<i>Pearli1-like lipid transfer 2</i>
Ma09_g16070	-3.96	0.02	<i>Chitinase 10-like</i>
Ma03_g17210	-3.94	0.02	<i>Probable WRKY transcription factor 41</i>
Ma05_g05910	-3.93	0.03	<i>Boron transporter 4-like</i>
Ma01_g06150	-3.92	0.04	<i>Disease resistance RGA4</i>
Ma06_g06790	-3.92	0.01	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.2-like</i>
Ma04_g36340	-3.90	0.02	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma05_g10190	-3.90	0.01	<i>SPX domain-containing membrane protein OsI_17046-like</i>
Ma05_g09980	-3.89	0.01	<i>Naringenin,2-oxoglutarate 3-dioxygenase-like</i>
Ma06_g36340	-3.89	0.03	<i>Ankyrin repeat-containing protein At3g12360-like</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

12 DAI – Superexpressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma10_g18110	6.99	0.80	<i>Peamacleïn-like</i>
Ma11_g02090	6.62	0.80	<i>UPF0496 protein 3-like</i>
Ma05_g29880	6.48	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma04_g10560	6.27	0.80	<i>Uncharacterized LOC103981121</i>
Ma11_g05130	6.22	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g20670	6.19	0.80	<i>Uncharacterized LOC103968797</i>
Ma04_g36420	6.14	0.80	<i>Alpha-galactosidase-like</i>
Ma09_g14920	5.99	0.80	<i>Uncharacterized LOC103998007</i>
Ma04_g15520	5.96	0.80	<i>Protein TOO MANY MOUTHS-like</i>
Ma04_g06810	5.94	0.80	<i>Adenylate isopentenyltransferase-like</i>
Ma11_g19840	5.89	0.80	<i>MADS-box transcription factor 50-like</i>
Ma08_g03560	5.87	0.80	<i>Putative receptor-like protein kinase At4g00960</i>
Ma04_g24800	5.85	0.80	<i>Probable WRKY transcription factor 43</i>
Ma10_g20130	5.75	0.80	<i>Uncharacterized LOC103968744</i>
Ma10_g00720	5.75	0.80	<i>Zinc-finger homeodomain protein 2-like</i>
Ma07_g08480	5.75	0.80	<i>Disease resistance protein RPS2-like</i>
Ma08_g07510	5.65	0.80	<i>Growth-regulating factor 3-like</i>
Ma06_g12370	5.65	0.80	<i>Chalcone synthase 2-like</i>
Ma07_g10030	5.60	0.80	<i>Galactose oxidase-like</i>
Ma05_g22780	5.55	0.80	<i>Transcription repressor OFP4</i>
Ma04_g03850	5.43	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma06_g36540	5.39	0.80	<i>BTB/POZ domain-containing protein At3g50780-like</i>
Ma10_g22770	5.32	0.80	<i>Uncharacterized LOC103968997</i>
Ma04_g02760	5.28	0.80	<i>Uncharacterized LOC103980226</i>
Ma02_g19500	5.25	0.80	<i>Uncharacterized LOC103975261</i>
Ma04_g38760	5.21	0.80	<i>Probable xyloglucan glycosyltransferase 9</i>
Ma06_g19960	5.17	0.80	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK8</i>
Ma04_g21980	5.15	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g33650	5.12	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g06850	5.12	0.80	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g67720</i>
Ma07_g07220	5.12	0.80	<i>Uncharacterized LOC103991064</i>
Ma02_g14850	5.09	0.80	<i>Protein kinase PINOID-like</i>
Ma01_g19450	5.09	0.80	<i>Protein RALF-like 33</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

12 DAI – Superexpressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma08_g14720	5.07	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g10000	5.07	0.80	<i>Probable inactive receptor kinase At5g67200</i>
Ma03_g02220	5.02	0.80	<i>Ethylene-responsive transcription factor LEP</i>
Ma07_g10400	5.02	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma02_g10970	4.95	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g25710	4.95	0.80	<i>Probable calcium-binding protein CML30</i>
Ma11_g20480	4.92	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g09280	4.92	0.80	<i>Uncharacterized LOC103994275</i>
Ma03_g04410	4.89	0.80	<i>Atpase 9, plasma membrane-type</i>
Ma03_g22760	4.89	0.80	<i>F-box protein At5g07610-like</i>
Ma07_g07540	4.89	0.80	<i>Uncharacterized LOC103990369</i>
Ma03_g00080	4.86	0.80	<i>B3 domain-containing</i>
Ma06_g36760	4.86	0.80	<i>Uncharacterized LOC103990097</i>
Ma08_g17690	4.86	0.80	<i>Uncharacterized LOC103994921</i>
Ma08_g33110	4.75	0.80	<i>Cellulose synthase A catalytic subunit 5 [UDP-forming]-like</i>
Ma03_g32620	4.75	0.80	<i>Gibberellin 2-beta-dioxygenase 1-like</i>
Ma10_g31260	4.75	0.80	<i>Protein ALTERED XYLOGLUCAN 4-like</i>
Ma07_g26440	4.75	0.80	<i>Uncharacterized LOC103992782</i>
Ma09_g15340	4.74	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma04_g26350	4.72	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g31820	4.72	0.80	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM1</i>
Ma09_g06760	4.72	0.80	<i>Uncharacterized LOC103997136</i>
Ma05_g32000	4.69	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g01460	4.69	0.80	<i>Coenzyme Q-binding protein COQ10 homolog, mitochondrial-like</i>
Ma04_g38240	4.69	0.80	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At4g20940</i>
Ma09_g01380	4.69	0.80	<i>Uncharacterized LOC103996661</i>
Ma03_g03550	4.69	0.80	<i>Xylem cysteine proteinase 1-like</i>
Ma01_g08770	4.66	0.80	<i>Reveille 5</i>
Ma10_g18830	4.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g14480	4.66	0.80	<i>GDSL esterase/lipase At5g45910-like</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

12 DAI – Superexpressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma07_g28610	4.66	0.80	<i>Growth-regulating factor 6-like</i>
Ma07_g18190	4.66	0.80	<i>Uncharacterized LOC103992050</i>
Ma00_g03280	4.63	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma01_g06000	4.61	0.80	<i>Uncharacterized LOC103987662</i>
Ma06_g13260	4.55	0.80	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK10</i>
Ma04_g24650	4.48	0.80	<i>Dynamin-related protein 5A-like</i>
Ma02_g17990	4.48	0.80	<i>Osmotin-like protein</i>
Ma11_g24240	4.48	0.80	<i>Uncharacterized LOC103972447</i>
Ma04_g14490	4.45	0.80	<i>Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase-like</i>
Ma08_g04390	4.45	0.80	<i>Protein LONGIFOLIA 2-like</i>
Ma10_g17570	4.44	0.80	<i>Subtilisin-like protease</i>
Ma06_g34340	4.42	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma11_g07540	4.42	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g21510	4.42	0.80	<i>2-oxoglutarate-dependent dioxygenase AOP2-like</i>
Ma03_g28610	4.42	0.80	<i>Putative DNA-binding protein ESCAROLA</i>
Ma07_g08430	4.42	0.80	<i>Uncharacterized LOC103990289</i>
Ma10_g11020	4.42	0.80	<i>WEB family protein At1g75720-like</i>
Ma05_g03850	4.40	0.80	<i>Leucoanthocyanidin dioxygenase-like</i>
Ma04_g37540	4.39	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g27190	4.39	0.80	<i>BII-like protein</i>
Ma05_g12190	4.39	0.80	<i>Cytochrome P450 86A2-like</i>
Ma05_g03540	4.39	0.80	<i>DNA topoisomerase 2-like</i>
Ma09_g08570	4.39	0.80	<i>Extensin-like</i>
Ma11_g12600	4.39	0.80	<i>Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 3-like</i>
Ma06_g37170	4.39	0.80	<i>Malonyl-coa:anthocyanidin 5-O-glucoside-6"-O-malonyltransferase-like</i>
Ma08_g32460	4.39	0.80	<i>PTII-like tyrosine-protein kinase 1</i>
Ma00_g03330	4.39	0.80	<i>Uncharacterized LOC103974052</i>
Ma04_g34440	4.39	0.80	<i>Uncharacterized LOC103983384</i>
Ma06_g28400	4.36	0.80	<i>Aspartic proteinase nepenthesin-2-like</i>
Ma06_g26460	4.29	0.80	<i>Uncharacterized LOC103989011</i>
Ma05_g02850	4.26	0.80	<i>Sulfated surface glycoprotein 185-like</i>
Ma07_g00710	4.24	0.80	<i>Uncharacterized LOC103991163</i>
Ma05_g06440	4.16	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

12 DAI – Repressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma03_g15360	-6.72	0.80	<i>Basic endochitinase A</i>
Ma09_g01900	-5.91	0.80	<i>High-affinity nitrate transporter-activating protein 2.1</i>
Ma06_g31650	-5.90	0.80	<i>Protein RESTRICTED TEV MOVEMENT 2-like</i>
Ma03_g13130	-5.89	0.80	<i>Chaperone protein dnaj 8 chloroplastic-like</i>
Ma04_g17310	-5.88	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g16670	-5.55	0.80	<i>Fimbrin-1-like</i>
Ma08_g12690	-5.54	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma06_g30760	-5.53	0.80	<i>Probable carboxylesterase 18</i>
Ma06_g09790	-5.52	0.80	<i>Nudix hydrolase 12 mitochondrial-like</i>
Ma01_g03800	-5.47	0.80	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 8</i>
Ma04_g04140	-5.39	0.80	<i>Uncharacterized LOC103980564</i>
Ma04_g13680	-5.13	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g21750	-5.11	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g17370	-5.11	0.80	<i>UDP-glycosyltransferase 83A1-like</i>
Ma09_g19730	-5.05	0.80	<i>Zinc finger protein 1-like</i>
Ma04_g35710	-4.98	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g11100	-4.98	0.80	<i>Transcriptional activator Myb</i>
Ma05_g31850	-4.91	0.80	<i>Abscisic acid receptor PYL4-like</i>
Ma09_g09930	-4.91	0.80	<i>Protein TIFY 5A-like</i>
Ma10_g13580	-4.88	0.80	<i>Cucumisin-like</i>
Ma07_g08830	-4.77	0.80	<i>Cytokinin dehydrogenase 7-like</i>
Ma01_g16130	-4.77	0.80	<i>Probable polyol transporter 3</i>
Ma07_g09430	-4.63	0.80	<i>Dof zinc finger protein DOF3.4-like</i>
Ma03_g11310	-4.58	0.80	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>
Ma01_g10470	-4.57	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma05_g06900	-4.57	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g09150	-4.41	0.80	<i>Polyphenol oxidase chloroplastic-like</i>
Ma07_g14860	-4.39	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g02870	-4.39	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g00550	-4.39	0.80	<i>Uncharacterized LOC103991002</i>
Ma11_g05640	-4.36	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
mito3_g00130	-4.36	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g29970	-4.36	0.80	<i>Aluminum-activated malate transporter 9-like</i>
Ma08_g26500	-4.36	0.80	<i>Ras-related protein RAB1c-like</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

12 DAI – Repressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma07_g10930	-4.36	0.80	<i>Ribonuclease 3-like protein 2</i>
Ma03_g29170	-4.33	0.80	<i>Protein trichome birefringence-like 5</i>
Ma08_g20280	-4.18	0.80	<i>Horcolin</i>
Ma10_g23260	-4.10	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma11_g21270	-4.10	0.80	<i>Cation H(+) antiporter 18</i>
Ma09_g02800	-4.10	0.80	<i>F-box protein SKIP27</i>
Ma11_g03640	-4.10	0.80	<i>Monocopper oxidase-like protein SKU5</i>
Ma02_g21430	-4.10	0.80	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570</i>
Ma07_g14270	-4.10	0.80	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK1</i>
Ma10_g14690	-4.10	0.80	<i>Uncharacterized LOC104000826</i>
Ma06_g34590	-4.07	0.80	<i>Protein SRG1-like</i>
Ma03_g28820	-4.07	0.80	<i>Disease resistance RPP13 1</i>
Ma04_g19460	-4.07	0.80	<i>Cellulose synthase D2</i>
Ma08_g27520	-4.07	0.80	<i>EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-like protein 4</i>
Ma03_g32060	-4.07	0.80	<i>Lysosomal beta glucosidase-like</i>
Ma03_g28120	-4.07	0.80	<i>Molybdate transporter 1-like</i>
Ma06_g32560	-4.07	0.80	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein</i>
Ma11_g12820	-4.07	0.80	<i>Short-chain dehydrogenase reductase 3b-like</i>
Ma03_g00360	-4.03	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma03_g14980	-4.03	0.80	<i>Probable cytosolic oligopeptidase A</i>
Ma05_g22010	-4.03	0.80	<i>Ethylene-responsive transcription factor 1B</i>
Ma11_g05190	-4.03	0.80	<i>Pectinesterase-like</i>
Ma00_g02480	-4.03	0.80	<i>Retrovirus-related Pol poly from transposon opus</i>
Ma02_g10160	-4.03	0.80	<i>Uncharacterized LOC103976040</i>
Ma09_g14470	-4.03	0.80	<i>Uncharacterized LOC103997974</i>
Ma09_g27340	-4.01	0.80	<i>Cytochrome P450 78A5-like</i>
Ma06_g25690	-3.90	0.80	<i>Probable terpene synthase 9</i>
Ma04_g03110	-3.72	0.80	<i>Salicylic acid-binding protein 2-like</i>
Ma07_g18380	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g27370	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma10_g09440	-3.70	0.80	<i>Cysteine desulfurase, mitochondrial</i>
Ma02_g04780	-3.70	0.80	<i>BTB/POZ domain-containing protein At5g03250-like</i>
Ma07_g21470	-3.70	0.80	<i>Cyclin-D2-1-like</i>

Continuação

Tabela 12. Genes diferencialmente expressos gerados a partir do sequenciamento (RNA-Seq) de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI).

12 DAI – Repressão			
Gene ID	log2FC	FDR	Função Putativa
Ma03_g16970	-3.70	0.80	<i>GDSL esterase/lipase At5g45670-like</i>
Ma05_g31130	-3.70	0.80	<i>Mannose-specific lectin 3-like</i>
Ma11_g23330	-3.70	0.80	<i>Probable galacturonosyltransferase 7</i>
Ma05_g11460	-3.70	0.80	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase S.5</i>
Ma03_g11670	-3.70	0.80	<i>Protein MONOCULM 1</i>
Ma09_g17310	-3.70	0.80	<i>Sex determination protein tasselseed-2</i>
Ma11_g01520	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized LOC103970154</i>
Ma03_g15330	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized LOC103978307</i>
Ma06_g22190	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized LOC103988647</i>
Ma08_g19990	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized LOC103994651</i>
Ma04_g25820	-3.70	0.80	<i>ACT domain-containing ACR8</i>
Ma10_g04450	-3.70	0.80	<i>Uncharacterized LOC103999986</i>
Ma09_g23320	-3.70	0.80	<i>Zinc finger protein 2-like</i>
Ma06_g28760	-3.70	0.80	<i>Zinc finger protein NUTCRAKER-like</i>
Ma09_g26590	-3.69	0.80	<i>Glutathione S-transferase U20</i>
Ma05_g15200	-3.67	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma01_g19000	-3.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma01_g19010	-3.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma02_g13090	-3.66	0.80	<i>FD</i>
Ma05_g04200	-3.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma08_g18540	-3.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma09_g20120	-3.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma09_g26350	-3.66	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma07_g05660	-3.66	0.80	<i>Anthocyanin regulatory C1 protein-like</i>
Ma05_g11340	-3.66	0.80	<i>Auxin-induced protein 6B-like</i>
Ma03_g14100	-3.66	0.80	<i>Dnaj homolog subfamily B member 1-like</i>
Ma10_g27980	-3.66	0.80	<i>Monothiol glutaredoxin-S2-like</i>
Ma06_g23990	-3.66	0.80	<i>Protein trichome birefringence-like 26</i>
Ma04_g01190	-3.66	0.80	<i>Serine/arginine repetitive matrix protein 1-like</i>
Ma06_g31570	-3.61	0.80	<i>Uncharacterized protein</i>
Ma02_g06730	-3.56	0.80	<i>Caffeic acid 3-O-methyltransferase-like</i>
Ma02_g23680	-3.54	0.80	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF017</i>
Ma02_g15060	-3.49	0.80	<i>Pathogenesis-related protein 1-like</i>
Ma06_g19290	-3.43	0.80	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor SMR4</i>

No estágio inicial da interação, considerando os parâmetros analisados, apenas 31% dos genes apresentaram-se superexpressos em relação ao controle. Esse valor aumentou aos 12 DAI, sendo observados 59% dos genes com regulação positiva (Tabela 13). Do número total de DEGs encontrados, 3% desses foram comuns aos dois períodos analisados, 51% foram modulados apenas aos 3 DAI e 46% dos genes foram regulados aos 12 DAI. Três desses genes sofreram modulação positiva aos 3 DAI e negativa aos 12 DAI, enquanto que quatro foram modulados negativamente aos 3 DAI e positivamente aos 12 DAI (Figura 20).

Tabela 13. Total de genes diferencialmente expressos obtidos a partir do RNA-Seq de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante interação com *Pseudocercospora musae*, após 3 e 12 DAI.

Tratamento	Total de genes	Total de DEGs	Superexpressão	Repressão
3 DAI (I x NI)	29.757	1073	336	737
12 DAI (I x NI)	29.113	976	584	392

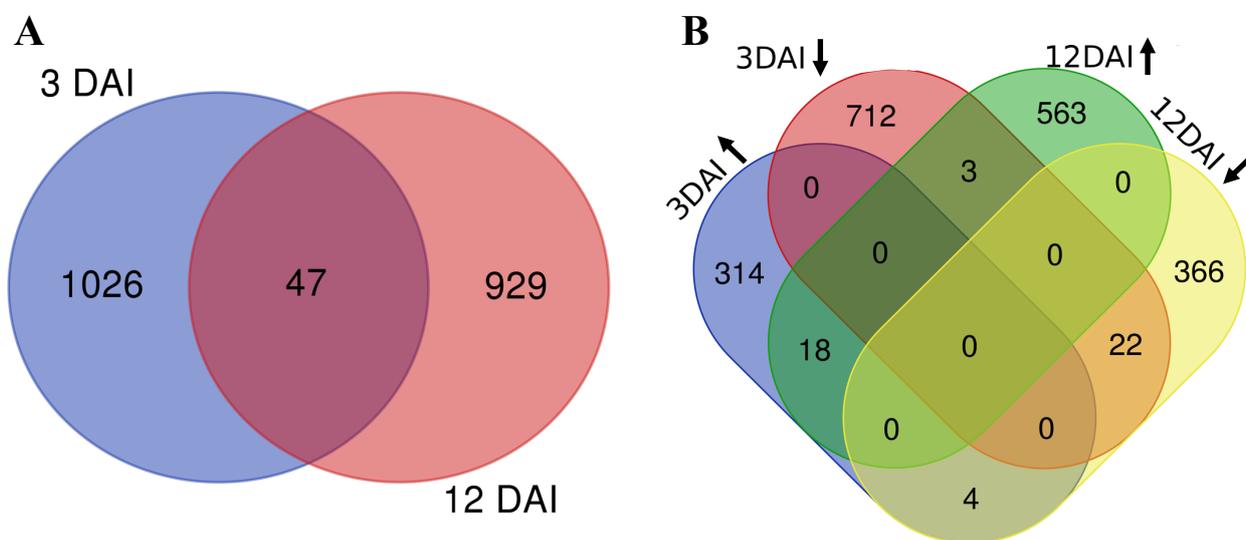


Figura 20. Diagrama de Venn representando a correlação entre os genes diferencialmente expressos (DEGs) obtidos do RNA-seq de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 durante a interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após infecção (DAI). A região de sobreposição do diagrama representa DEGs em comum a ambos os pontos de coleta. A. Diagrama de Venn global dos DEGs encontrados aos 3 e 12 DAI. B. Análise comparativa entre os DEGs superexpressos (↑) e reprimidos (↓) nos dois pontos de coleta estudados.

Os resultados demonstraram que a expressão gênica apresentou padrões distintos para cada tempo analisado. Essas diferenças no perfil transcricional podem ser observadas no *heatmap* abaixo (Figura 21), onde os tons de vermelho representam uma expressão gênica positiva (genes superexpressos) e os de azul representam uma expressão negativa (genes reprimidos). Foi observado que aos 3 DAI a maioria dos genes tiveram expressão reduzida em relação ao controle, com a presença de dois grupos de genes mais azuis, que correspondem a genes reprimidos, e um grupo de genes superexpressos de coloração vermelha. Em 12 DAI ocorreu uma mudança na modulação gênica, com a maioria dos genes sendo superexpressos em comparação com o controle.

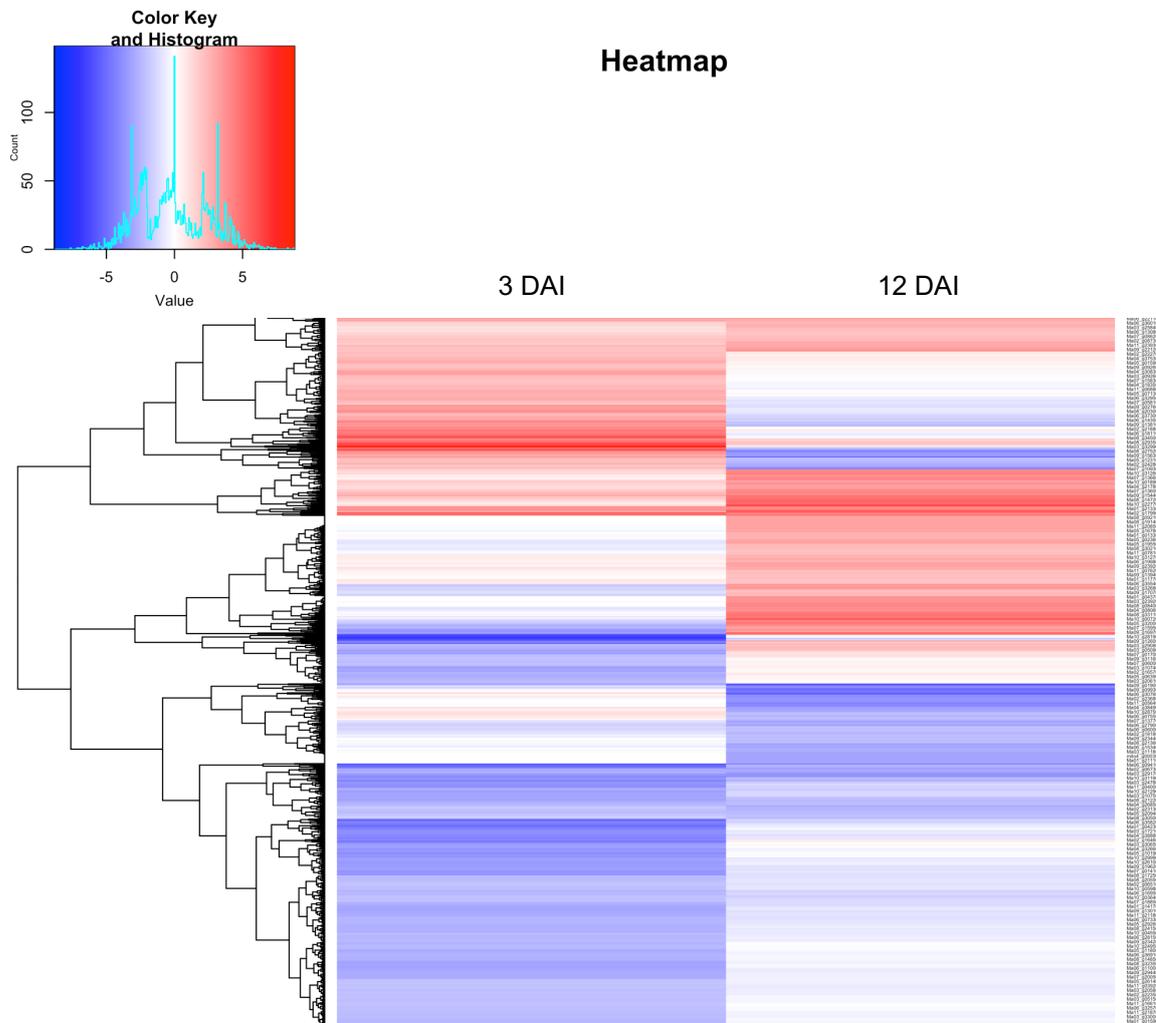


Figura 21. Heatmap dos genes diferencialmente expressos em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 aos 3 e 12 dias após a inoculação com *Pseudocercospora musae*. As comparações foram avaliadas a partir dos valores de Log2Fold Change de cada tratamento.

6.4.1.1. Anotação funcional

Para melhor compreender quais os principais processos e rotas metabólicas que sofreram alterações em Calcutta 4 em resposta ao estresse causado por *P. musae*, foram utilizadas duas estratégias de anotação funcional: a análise de enriquecimento por ontologia gênica (*Gene Ontology Enrichment Analysis*) e através do software MapMan.

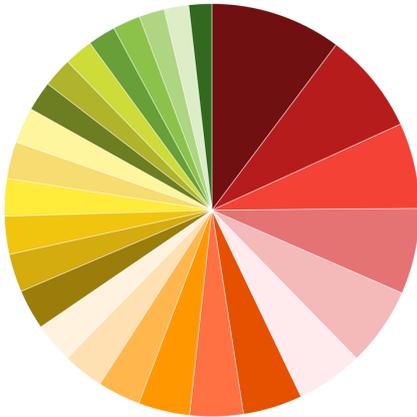
Foi utilizada a plataforma Blast2GO para realizar a anotação dos 30.613 genes expressos em *M. acuminata* Calcutta 4 em resposta ao patógeno *P. musae*, e a classificação dos conjuntos de unigenes de acordo com suas categorias funcionais, por meio do *Gene Ontology* (GO). Dentre os genes expressos, um total de 16.898 sequências estavam anotadas. Os genes anotados foram relacionados a 2.610 termos de GO, distribuídos em três categorias principais: função molecular (14.717 genes), processos biológicos (10.209 genes) e componente celular (3.787 genes).

Dos termos de GO que foram enriquecidos aos 3 DAI, 26 anotações estão relacionadas a função molecular, 47 a processos biológicos e sete a componente celular (Figura 22). Aos 12 DAI, foram identificados 27 termos enriquecidos associados a função molecular, 57 a processos biológicos e nove a componente celular (Figura 23).

De modo geral, as anotações de funções moleculares atribuídas aos unigenes, considerando os dois *timepoints* desse estudo, desempenham atividades de quitinase (GO:0004568), de hidrolase (GO:0017171, GO:0004553, GO:0016798), de ligação a tetrapirrol (GO:0046906) e de síntese de celulose (GO:0016759, GO:0016760). Os termos que apresentaram enriquecimento dentro da categoria de processos biológicos estão relacionados, principalmente, a processos associados à quitina (GO:0006030, GO:0006032), à parede celular (GO:0016998, GO:0044036), à síntese de trealose (GO:0005992, GO:0005991) e a processos regulatórios (GO:0006355, GO:0051252, GO:1903506, GO:2001141, GO:0019219, GO:0009889, GO:0010556, GO:0031326, GO:2000112, GO:0010468, GO:0051171, GO:0080090, GO:0031323, GO:0060255, GO:0019222, GO:0050794, GO:0050789). As subclasses presentes na categoria de componente celular estão em sua maioria associadas à membrana plasmática (GO:0031224, GO:0016021, GO:0016020), à parede celular (GO:0005618) e às regiões adjacentes (GO:0030312, GO:0005576, GO:0048046, GO:0071944).

3 DAI

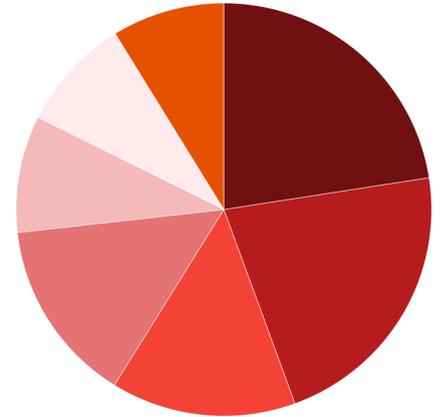
MOLECULAR FUNCTION



BIOLOGICAL PROCESS



CELLULAR COMPONENT



- Chitin binding
- Chitinase activity
- Pattern binding
- Polysaccharide binding
- Carbohydrate binding
- O-methyltransferase activity
- Xyloglucan:xyloglucosyl transferase activity
- Oxidoreductase activity, acting on single donors
- Dioxygenase activity
- Sequence-specific dna binding
- Iron ion binding
- Heme binding
- Tetrapyrrole binding
- Oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor
- Peroxidase activity
- Oxidoreductase activity, acting on paired donors
- Dna-binding transcription factor activity
- Transcription regulator activity
- Protein kinase activity
- Transporter activity
- Oxidoreductase activity
- Phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor
- Kinase activity
- Catalytic activity, acting on a protein
- Transferase activity
- Catalytic activity

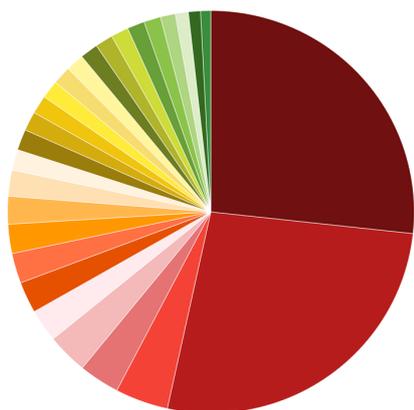
- Response to acid chemical
- Response to oxygen-containing compound
- Aminoglycan metabolic process
- Aminoglycan catabolic process
- Chitin metabolic process
- Chitin catabolic process
- Amino sugar metabolic process
- Cell wall macromolecule catabolic process
- Cell wall macromolecule metabolic process
- Amino sugar catabolic process
- Glucosamine-containing compound metabolic process
- Glucosamine-containing compound catabolic process
- Drug catabolic process
- Cell recognition
- Pollination
- Pollen-pistil interaction
- Multi-multicellular organism process
- Recognition of pollen
- Trehalose biosynthetic process
- Reproduction
- Reproductive process
- Trehalose metabolic process
- Disaccharide biosynthetic process
- Oligosaccharide biosynthetic process
- Multi-organism process
- Cellular carbohydrate metabolic process
- Regulation of transcription, dna-templated
- Regulation of rna metabolic process
- Regulation of nucleic acid-templated transcription
- Regulation of rna biosynthetic process
- Oxidation-reduction process
- Protein phosphorylation
- Regulation of nucleobase-containing compound metabolic process
- Regulation of cellular metabolic process
- Regulation of biosynthetic process
- Regulation of macromolecule biosynthetic process
- Regulation of cellular biosynthetic process
- Regulation of cellular macromolecule biosynthetic process
- Regulation of gene expression
- Regulation of nitrogen compound metabolic process
- Regulation of primary metabolic process
- Regulation of metabolic process
- Regulation of macromolecule metabolic process
- Phosphorylation
- Transcription, dna-templated
- Nucleic acid-templated transcription
- Rna biosynthetic process

- Extracellular region
- Apoplast
- Cell wall
- External encapsulating structure
- Intrinsic component of membrane
- Integral component of membrane
- Membrane

Figura 22. Distribuição dos termos de GO enriquecidos, nas três categorias principais, para os genes diferencialmente expressos em *Musa acuminata* após interação com *Pseudocercospora musae*, aos 3 dias após inoculação.

12 DAI

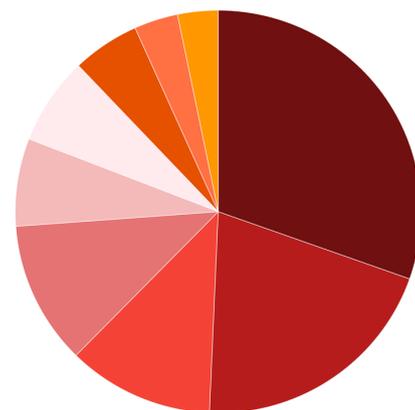
MOLECULAR FUNCTION



BIOLOGICAL PROCESS



CELLULAR COMPONENT



- Isocitrate lyase activity
- Oxo-acid-lyase activity
- Cytokinin dehydrogenase activity
- Cellulose synthase activity
- Cellulose synthase (udp-forming) activity
- O-methyltransferase activity
- Xyloglucan:xyloglucosyl transferase activity
- Serine-type endopeptidase activity
- Glucosyltransferase activity
- Udp-glucosyltransferase activity
- Polygalacturonase activity
- Serine-type peptidase activity
- Serine hydrolase activity
- Hydrolase activity, hydrolyzing o-glycosyl compounds
- Hydrolase activity, acting on glycosyl bonds
- Heme binding
- Tetrapyrrole binding
- Dna-binding transcription factor activity
- Iron ion binding
- Transferase activity, transferring hexosyl groups
- Oxidoreductase activity, acting on paired donors
- Transcription regulator activity
- Methyltransferase activity
- Transferase activity, transferring glycosyl groups
- Cofactor binding
- Oxidoreductase activity
- Catalytic activity

- Response to external biotic stimulus
- Response to other organism
- Defense response to other organism
- Cytokinin metabolic process
- Regulation of hormone levels
- Cellular hormone metabolic process
- Hormone metabolic process
- Dna-dependent dna replication
- Trehalose biosynthetic process
- Trehalose metabolic process
- Disaccharide biosynthetic process
- Disaccharide metabolic process
- Oligosaccharide biosynthetic process
- Oligosaccharide metabolic process
- Cellular carbohydrate metabolic process
- Cellular carbohydrate biosynthetic process
- Cellulose metabolic process
- Cellulose biosynthetic process
- Amine metabolic process
- Cellular glucan metabolic process
- Glucan metabolic process
- Cellular polysaccharide metabolic process
- Carbohydrate biosynthetic process
- Polysaccharide metabolic process
- Anion transport
- Carbohydrate metabolic process
- Regulation of transcription, dna-templated
- Regulation of rna metabolic process
- Regulation of nucleic acid-templated transcription
- Regulation of rna biosynthetic process
- Regulation of nucleobase-containing compound metabolic process
- Regulation of biosynthetic process
- Regulation of macromolecule biosynthetic process
- Regulation of cellular biosynthetic process
- Regulation of cellular macromolecule biosynthetic process
- Regulation of gene expression
- Regulation of nitrogen compound metabolic process
- Regulation of primary metabolic process
- Regulation of cellular metabolic process
- Regulation of macromolecule metabolic process
- Regulation of metabolic process
- Rna biosynthetic process
- Transcription, dna-templated
- Nucleic acid-templated transcription
- Nucleobase-containing compound biosynthetic process
- Aromatic compound biosynthetic process
- Biological regulation
- Regulation of cellular process
- Regulation of biological process
- Heterocycle biosynthetic process
- Organic cyclic compound biosynthetic process
- Rna metabolic process
- Nucleic acid metabolic process
- Cellular aromatic compound metabolic process
- Heterocycle metabolic process
- Nucleobase-containing compound metabolic process
- Organic cyclic compound metabolic process

- Golgi transport complex
- Proton-transporting V-type ATPase
- Extracellular region
- Apoplast
- Cell wall
- External encapsulating structure
- Cell periphery
- Integral component of membrane
- Membrane

Figura 23. Distribuição dos termos de GO enriquecidos, nas três categorias principais, para os

genes diferencialmente expressos em *Musa acuminata* após interação com *Pseudocercospora musae*, aos 12 dias após inoculação.

Dentre os termos que apresentaram enriquecimento e são compartilhados por ambos os tempos de coleta estudados, 10 estão associados a função molecular, destacando-se a atividade de o-metiltransferase, envolvida na via de síntese de compostos fenólicos; 23 estão relacionados a processos biológicos, e seis termos compartilhados estão associados a componente celular, sendo relativos à membrana, à parede celular e à região extracelular.

Foram identificados 16 termos enriquecidos dentro de função molecular exclusivos a 3 DAI, onde destacam-se os relativos à ligação a quitina e às atividades de quitinase, peroxidase, proteína quinase, e quinase. Para a mesma categoria, 17 subclasses foram particulares a 12 DAI, algumas dessas associadas às atividades de hidrolase e de síntese de celulose. Dentro de processos biológicos, 24 anotações foram exclusivas ao estágio inicial da infecção, destacando-se os processos envolvendo o metabolismo de quitina e de macromoléculas da parede celular; e 34 termos foram anotados apenas na fase final, dos quais destacam-se processos relacionados às respostas de defesa a estresse biótico, à regulação hormonal e à síntese de celulose. Quanto às anotações referentes a componente celular, a única que foi identificada apenas aos 3 DAI está associada a componentes da membrana, e, aos 12 DAI, dos três termos exclusivos, um refere-se à região periférica celular.

A anotação funcional sobre os DEGs, realizada por meio da plataforma MapMan, possibilitou ter uma visão geral da modulação que ocorre nos genes envolvidos nas vias de respostas de defesa em Calcutta 4, nos estádios inicial e tardio da infecção (Figura 24). Em 3 DAI, foram mapeados 1.210 categorias funcionais hierarquicamente organizadas (*bins*) para os 1.073 DEGs, das quais 432 anotações estão associadas às vias de estresse biótico. Em 12 DAI, foram mapeados 1.090 *bins* para os 976 DEGs, sendo identificados 322 *bins* relacionados a estresse biótico.

Na fase inicial da infecção, foi observado que as principais vias envolvidas em defesa foram reprimidas, entretanto as vias do ácido salicílico (SA), da síntese de cera e do estado redox apresentaram uma superexpressão significativa. Aos 12 DAI, os genes associados a sinalização, a fatores de transcrição, a receptores quinase, a MAP quinases, a brassinoesteróide, a degradação de proteínas e a parede celular evidenciaram regulação positiva. Todavia, a expressão foi reprimida nas vias do SA e do ácido jasmônico (JA) na fase tardia da infecção.

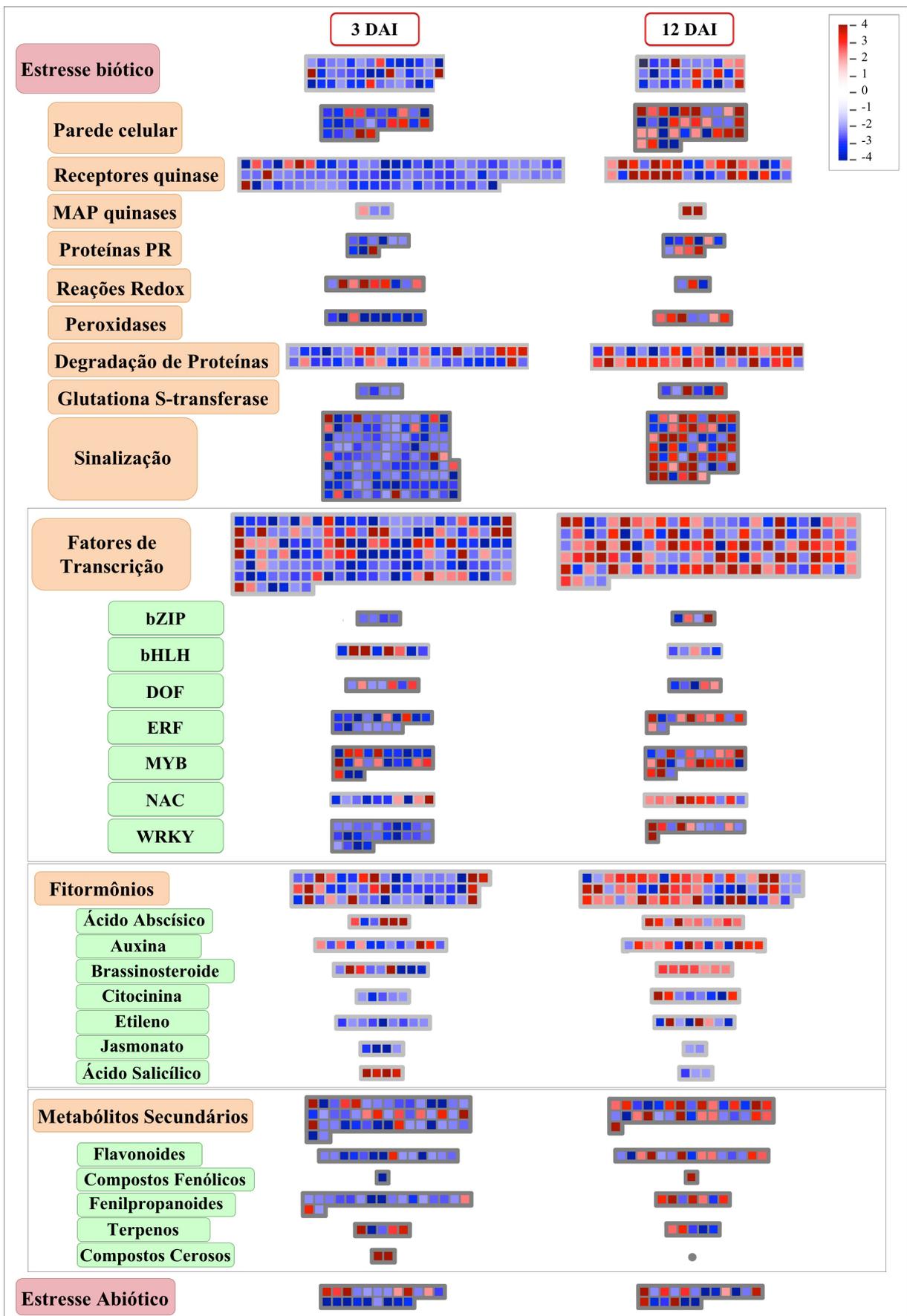


Figura 24. Visão geral do perfil de expressão dos genes diferencialmente expressos (DEGs) em *Musa acuminata* var. Calcutta 4, 3 e 12 dias após inoculação com *Pseudocercospora musae*, a partir do *software* MapMan. O padrão de expressão gênica diferencial é baseado nos log₂FCs

dos transcritos de mRNA dos tecidos foliares inoculados em comparação aos controles não inoculados. Cada ponto representa um gene parálogo que codifica determinada enzima envolvida na via metabólica. A cor vermelha indica um gene superexpresso no tecido inoculado em relação ao controle, enquanto que a cor azul indica a repressão do gene.

6.4.1.2. DEGs potencialmente envolvidos em resistência

Dentre os 2.002 genes diferencialmente expressos identificados nos pontos de coleta estudados, 602 estão, direta ou indiretamente, envolvidos em respostas de defesa em *M. acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 ao patógeno *P. musae*. Desses, 96 DEGs foram modulados positivamente e 271 foram reprimidos aos 3 DAI. Aos 12 DAI, 155 genes foram superexpressos e 103 sofreram regulação negativa. Foram detectados 23 DEGs comuns a ambos os *timepoints* avaliados, dos quais sete mantiveram-se superexpressos nos dois tempos de coleta, 12 foram reprimidos em ambos os tempos, um foi regulado negativamente no início da interação e superregulado no estágio mais avançado, e três foram superexpressos aos 3 DAI e reprimidos aos 12 DAI (Figura 25) (Tabela 14).

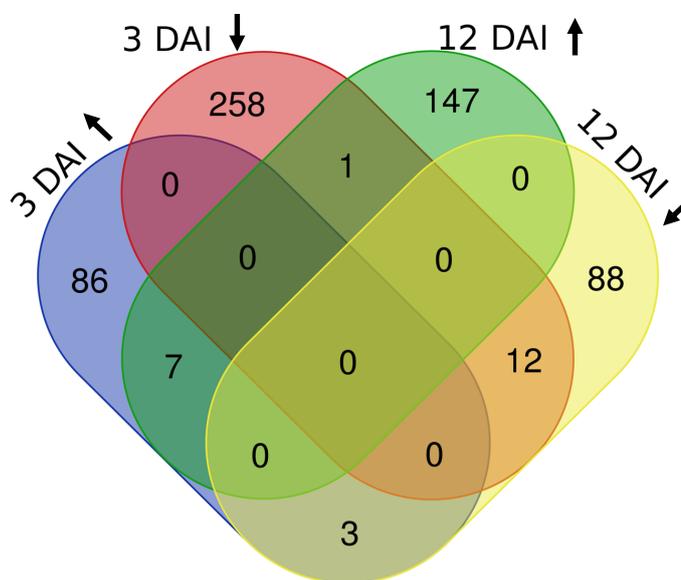


Figura 25. Diagrama de Venn representando a correlação entre os genes diferencialmente expressos (DEGs) potencialmente envolvidos na resistência de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 a *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após infecção (DAI). A região de sobreposição do diagrama representa DEGs em comum a ambos os pontos de coleta. Análise comparativa entre os DEGs superexpressos (↑) e reprimidos (↓) nos dois pontos de coleta estudados.

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
1	Ma11_g19280	<i>l-Cys peroxiredoxin</i>	2.51	0.02	-	-
2	Ma04_g36840	<i>14 kDa proline-rich protein DC2.15-like</i>	-	-	2.24	0.80
3	Ma05_g26760	<i>23 kDa jasmonate-induced protein-like</i>	3.88	0.02	-	-
4	Ma04_g24510	<i>3-Ketoacyl- synthase 11</i>	4.54	0.01	-	-
5	Ma07_g08400	<i>3-Ketoacyl- synthase 11</i>	-3.21	0.02	-	-
6	Ma08_g33870	<i>36.4 kDa proline-rich protein-like</i>	-4.36	0.01	-	-
7	Ma09_g20540	<i>4-Coumarate--CoA ligase-like 10</i>	-3.34	0.01	-	-
8	Ma07_g18310	<i>4-Coumarate--CoA ligase-like 10</i>	-2.10	0.03	-	-
9	Ma02_g05950	<i>4-Coumarate--CoA ligase-like 10</i>	-2.33	0.03	-	-
10	Ma08_g30300	<i>ABC transporter B family member 11-like</i>	-2.00	0.04	-	-
11	Ma08_g24920	<i>ABC transporter B family member 19</i>	-3.01	0.03	-	-
12	Ma10_g28480	<i>ABC transporter C family member 3-like</i>	-3.02	0.03	-	-
13	Ma08_g08670	<i>ABC transporter C family member 5</i>	-	-	-2.75	0.80
14	Ma03_g21230	<i>ABC transporter G family member 11-like</i>	-2.48	0.02	-	-
15	Ma05_g19730	<i>ABC transporter G family member 11-like</i>	-2.12	0.03	-	-
16	Ma02_g06540	<i>ABC transporter G family member 14</i>	-	-	4.13	0.80
17	Ma02_g08730	<i>ABC transporter G family member 23</i>	-	-	2.06	0.80
18	Ma09_g08290	<i>ABC transporter G family member 25</i>	-	-	2.62	0.80
19	Ma11_g10440	<i>ABC transporter G family member 25</i>	2.49	0.02	2.04	0.80
20	Ma05_g30820	<i>ABC transporter G family member 6-like</i>	-	-	3.21	0.80
21	Ma06_g34970	<i>ABC transporter G family member 6-like</i>	-	-	3.68	0.80
22	Ma02_g04610	<i>ABC transporter G family member 9</i>	-3.19	0.02	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
23	Ma01_g04230	<i>ABC transporter G family member 9</i>	-4.76	0.03	-	-
24	Ma05_g31850	<i>Abscisic acid receptor PYL4-like</i>	-	-	-4.91	0.80
25	Ma06_g34440	<i>Abscisic acid receptor PYL4-like</i>	-4.01	0.01	-	-
26	Ma10_g05210	<i>Abscisic acid receptor PYL4-like</i>	-3.17	0.01	-	-
27	Ma04_g15710	<i>Abscisic acid receptor PYL8-like</i>	3.23	0.01	-	-
28	Ma05_g13880	<i>Abscisic acid receptor PYR1-like</i>	-2.51	0.05	-	-
29	Ma02_g23300	<i>Acyl carrier protein 4, chloroplastic-like</i>	2.33	0.01	-	-
30	Ma02_g15160	<i>Allene oxide synthase 1, chloroplastic-like</i>	-3.04	0.01	-	-
31	Ma04_g38880	<i>Allene oxide synthase, chloroplastic</i>	-4.20	0.01	-	-
32	Ma06_g19940	<i>Alpha-humulene 10-hydroxylase-like</i>	-	-	3.72	0.80
33	Ma07_g21820	<i>Anthranilate O-methyltransferase 3-like</i>	5.25	0.02	-2.05	0.80
34	Ma07_g21960	<i>Anthranilate O-methyltransferase 3-like</i>	-	-	-2.00	0.80
35	Ma07_g21890	<i>Anthranilate O-methyltransferase 3-like</i>	-	-	2.37	0.80
36	Ma07_g21830	<i>Anthranilate O-methyltransferase 3-like</i>	3.60	0.05	-	-
37	Ma07_g00730	<i>AP2-like ethylene-responsive transcription factor ANT</i>	-	-	3.21	0.80
38	Ma03_g33690	<i>AP2-like ethylene-responsive transcription factor At1g16060</i>	-	-	4.16	0.80
39	Ma05_g04410	<i>AP2-like ethylene-responsive transcription factor At1g79700</i>	-	-	2.57	0.80
40	Ma01_g14600	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing protein Os05g0549800-like</i>	-	-	3.72	0.80
41	Ma03_g30570	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing protein Os05g0549800-like</i>	-4.35	0.02	-	-
42	Ma02_g24400	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like</i>	-4.33	0.02	-2.61	0.80
43	Ma05_g09690	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like</i>	-3.13	0.01	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
44	Ma01_g21800	<i>AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like</i>	-3.06	0.04	-	-
45	Ma11_g04120	<i>Aspartic proteinase nepenthesin-1</i>	-2.41	0.02	-	-
46	Ma04_g08200	<i>Aspartic proteinase nepenthesin-2-like</i>	-	-	3.21	0.80
47	Ma06_g28400	<i>Aspartic proteinase nepenthesin-2-like</i>	-	-	4.36	0.80
48	Ma03_g02960	<i>Aspartic proteinase nepenthesin-2-like</i>	-3.61	0.02	-	-
49	Ma01_g21380	<i>Aspartic proteinase oryzasin-1</i>	-	-	3.33	0.80
50	Ma04_g14220	<i>Aspartic proteinase-like protein 2</i>	-	-	-3.15	0.80
51	Ma06_g38940	<i>Auxin response factor 11-like</i>	-3.49	0.05	-	-
52	Ma06_g35720	<i>Auxin transporter-like protein 1</i>	-2.71	0.01	-	-
53	Ma09_g03600	<i>Auxin transporter-like protein 2</i>	-	-	2.06	0.80
54	Ma04_g17130	<i>Auxin-induced in root cultures protein 12-like</i>	-3.15	0.03	-	-
55	Ma11_g00920	<i>Auxin-induced protein 15A-like</i>	3.15	0.04	-	-
56	Ma05_g11340	<i>Auxin-induced protein 6B-like</i>	-	-	-3.66	0.80
57	Ma04_g38490	<i>Auxin-induced protein 6B-like</i>	-	-	-3.05	0.80
58	Ma08_g06830	<i>Auxin-induced protein 6B-like</i>	-2.13	0.05	-	-
59	Ma07_g18850	<i>Auxin-induced protein 6B-like</i>	-2.11	0.02	-	-
60	Ma04_g39810	<i>Auxin-repressed 12.5 kda protein</i>	2.62	0.03	-	-
61	Ma09_g13770	<i>Auxin-repressed 12.5 kda protein-like</i>	2.79	0.01	-	-
62	Ma07_g26620	<i>Auxin-responsive protein IAA16-like</i>	3.09	0.01	-	-
63	Ma10_g22140	<i>Auxin-responsive protein IAA21-like</i>	-	-	2.08	0.80
64	Ma09_g16090	<i>Auxin-responsive protein IAA4-like</i>	-	-	3.21	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
65	Ma07_g20210	<i>Auxin-responsive SAUR32</i>	-	-	-2.62	0.80
66	Ma05_g05530	<i>Auxin-responsive SAUR32</i>	-4.12	0.04	-	-
67	Ma03_g15360	<i>Basic endochitinase A</i>	-	-	-6.72	0.80
68	Ma03_g06240	<i>Basic leucine zipper 63</i>	-	-	2.49	0.80
69	Ma04_g35340	<i>Beta-glucosidase 18-like</i>	-	-	3.76	0.80
70	Ma01_g20240	<i>Beta-glucosidase 25-like</i>	-	-	-3.15	0.80
71	Ma06_g29240	<i>Beta-glucosidase 6-like</i>	-	-	2.53	0.80
72	Ma04_g36610	<i>BOI-related E3 ubiquitin-protein ligase 1-like</i>	2.27	0.03	-	-
73	Ma04_g24980	<i>Bowman-Birk type proteinase inhibitor-like</i>	-	-	-3.17	0.80
74	Ma05_g09330	<i>Bowman-Birk type proteinase inhibitor-like</i>	5.23	0.03	-	-
75	Ma02_g05100	<i>BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated receptor kinase 1-like</i>	4.17	0.02	-	-
76	Ma00_g01780	<i>Caffeic acid 3-O-methyltransferase</i>	-	-	-3.04	0.80
77	Ma02_g06730	<i>Caffeic acid 3-O-methyltransferase-like</i>	-2.62	0.05	-3.56	0.80
78	Ma09_g18130	<i>Caffeic acid 3-O-methyltransferase-like</i>	-	-	2.10	0.80
79	Ma00_g02580	<i>Caffeic acid 3-O-methyltransferase-like</i>	-2.43	0.01	-	-
80	Ma06_g38330	<i>Caffeoyl-coa O-methyltransferase</i>	-2.15	0.02	-	-
81	Ma04_g14610	<i>Calcium uniporter 2, mitochondria</i>	-5.39	0.01	-	-
82	Ma07_g13390	<i>Calcium-binding EF hand family protein</i>	-	-	3.72	0.80
83	Ma04_g23780	<i>Calcium-binding protein KIC-like</i>	-2.83	0.03	-	-
84	Ma05_g28740	<i>Calcium-binding protein KIC-like</i>	-2.42	0.05	-	-
85	Ma08_g22430	<i>Calcium-dependent protein kinase 17</i>	-	-	3.21	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
86	Ma03_g31290	<i>Calcium-transporting atpase 1, plasma membrane-type</i>	-	-	3.21	0.80
87	Ma05_g09720	<i>Calmodulin-binding 60 B</i>	-2.56	0.02	-	-
88	Ma09_g21910	<i>Calmodulin-binding 60 D</i>	-	-	-2.06	0.80
89	Ma11_g14590	<i>Calmodulin-like</i>	-2.24	0.02	-	-
90	Ma07_g01400	<i>Calmodulin-like protein 11</i>	-3.72	0.03	-	-
91	Ma07_g07670	<i>Calmodulin-like protein 8</i>	-	-	-2.68	0.80
92	Ma10_g15940	<i>Cationic peroxidase SPC4-like</i>	-3.27	0.01	-	-
93	Ma08_g33110	<i>Cellulose synthase A catalytic subunit 5 [UDP-forming]-like</i>	-	-	4.75	0.80
94	Ma05_g15620	<i>Cellulose synthase A catalytic subunit 7 [UDP-forming]</i>	-	-	3.76	0.80
95	Ma04_g19460	<i>Cellulose synthase D2</i>	-	-	-4.07	0.80
96	Ma11_g21750	<i>Cellulose synthase-like protein D2</i>	-2.84	0.04	-	-
97	Ma02_g17080	<i>Cellulose synthase-like protein D5</i>	-	-	3.43	0.80
98	Ma06_g12370	<i>Chalcone synthase 2-like</i>	-	-	5.65	0.80
99	Ma09_g16070	<i>Chitinase 10-like</i>	-3.96	0.02	-	-
100	Ma09_g20710	<i>Chitinase 6</i>	3.03	0.03	-	-
101	Ma06_g16120	<i>Covalently-linked cell wall protein 14-like</i>	-	-	3.16	0.80
102	Ma08_g21020	<i>Cytochrome P450 710A1-like</i>	-	-	-2.09	0.80
103	Ma10_g06670	<i>Cytochrome P450 710A1-like</i>	-	-	3.30	0.80
104	Ma08_g32910	<i>Cytochrome P450 71A1-like</i>	-3.30	0.03	-	-
105	Ma03_g15420	<i>Cytochrome P450 71A1-like</i>	4.24	0.02	-	-
106	Ma06_g05150	<i>Cytochrome P450 71B23-like</i>	-2.19	0.05	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
107	Ma07_g13070	<i>Cytochrome P450 734A6-like</i>	2.95	0.04	2.87	0.80
108	Ma10_g28420	<i>Cytochrome P450 734A6-like</i>	-2.55	0.03	-	-
109	Ma08_g30010	<i>Cytochrome P450 77A2-like</i>	-	-	2.38	0.80
110	Ma06_g22120	<i>Cytochrome P450 78A4-like</i>	2.14	0.02	-	-
111	Ma09_g27340	<i>Cytochrome P450 78A5-like</i>	-6.69	0.05	-4.01	0.80
112	Ma06_g32450	<i>Cytochrome P450 78A5-like</i>	-3.44	0.04	-2.42	0.80
113	Ma10_g08690	<i>Cytochrome P450 78A6-like</i>	-4.98	0.01	-2.44	0.80
114	Ma02_g15450	<i>Cytochrome P450 85A-like</i>	-2.33	0.03	-	-
115	Ma04_g39420	<i>Cytochrome P450 85A1-like</i>	4.34	0.02	2.76	0.80
116	Ma05_g12190	<i>Cytochrome P450 86A2-like</i>	-	-	4.39	0.80
117	Ma04_g21730	<i>Cytochrome P450 86B1</i>	-	-	2.82	0.80
118	Ma04_g33170	<i>Cytochrome P450 86B1-like</i>	-	-	-2.22	0.80
119	Ma11_g03400	<i>Cytochrome P450 89A2-like</i>	-2.18	0.04	-	-
120	Ma08_g27070	<i>Cytochrome P450 90B1-like</i>	-	-	2.90	0.80
121	Ma02_g10440	<i>Cytochrome P450 94A1-like</i>	-2.12	0.04	-	-
122	Ma03_g26150	<i>Cytochrome P450 94A1-like</i>	-2.05	0.02	-	-
123	Ma03_g20430	<i>Cytochrome P450 94B3-like</i>	-	-	-2.52	0.80
124	Ma08_g19720	<i>Dirigent protein 1-like</i>	-	-	-2.34	0.80
125	Ma08_g19700	<i>Dirigent protein 1-like</i>	-	-	-2.21	0.80
126	Ma07_g24890	<i>Dirigent protein 1-like</i>	-3.23	0.04	-	-
127	Ma09_g10850	<i>Dirigent protein 11-like</i>	-	-	-2.26	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
128	Ma09_g10840	<i>Dirigent protein 11-like</i>	-2.52	0.04	-	-
129	Ma05_g01220	<i>Dirigent protein 2-like</i>	-3.09	0.01	-	-
130	Ma05_g01210	<i>Dirigent protein 2-like</i>	-2.08	0.02	-	-
131	Ma09_g10830	<i>Dirigent protein 21-like</i>	-3.17	0.02	-	-
132	Ma10_g16880	<i>Dirigent protein 21-like</i>	5.11	0.03	-	-
133	Ma08_g19710	<i>Dirigent protein 22-like</i>	-	-	-2.52	0.80
134	Ma03_g28860	<i>Disease resistance protein RGA2-like</i>	-3.05	0.05	-	-
135	Ma03_g28980	<i>Disease resistance protein RGA2-like</i>	-2.19	0.05	-	-
136	Ma07_g08480	<i>Disease resistance protein RPS2-like</i>	-	-	5.75	0.80
137	Ma09_g02660	<i>Disease resistance RGA1</i>	-	-	3.76	0.80
138	Ma01_g06170	<i>Disease resistance RGA2</i>	-3.38	0.03	-	-
139	Ma09_g02400	<i>Disease resistance RGA4</i>	-	-	2.34	0.80
140	Ma09_g02650	<i>Disease resistance RGA4</i>	-	-	2.67	0.80
141	Ma01_g06150	<i>Disease resistance RGA4</i>	-3.92	0.04	-	-
142	Ma01_g06160	<i>Disease resistance RGA4</i>	-2.82	0.05	-	-
143	Ma06_g23890	<i>Disease resistance RPP13 1</i>	-2.18	0.01	-	-
144	Ma03_g28820	<i>Disease resistance RPP13 1</i>	-	-	-4.07	0.80
145	Ma03_g14800	<i>Dof zinc finger protein DOF1.4-like</i>	-2.10	0.03	-	-
146	Ma00_g00190	<i>Dof zinc finger protein DOF1.5</i>	-2.23	0.03	-	-
147	Ma02_g18400	<i>Dof zinc finger protein DOF1.7-like</i>	2.20	0.02	-	-
148	Ma10_g03380	<i>Dof zinc finger protein DOF2.1-like</i>	-2.80	0.03	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
149	Ma07_g24120	<i>Dof zinc finger protein DOF3.1</i>	-	-	2.60	0.80
150	Ma04_g19440	<i>Dof zinc finger protein DOF3.1-like</i>	-2.07	0.02	-	-
151	Ma07_g09430	<i>Dof zinc finger protein DOF3.4-like</i>	-	-	-4.63	0.80
152	Ma05_g22370	<i>Dof zinc finger protein DOF4.6-like</i>	-	-	-3.15	0.80
153	Ma11_g22190	<i>Dof zinc finger protein DOF5.3-like</i>	-	-	2.14	0.80
154	Ma05_g26280	<i>Dof zinc finger protein DOF5.4-like</i>	2.81	0.02	-	-
155	Ma06_g26960	<i>Dof zinc finger protein DOF5.7-like</i>	-	-	-2.60	0.80
156	Ma08_g31680	<i>E3 ubiquitin ligase BIG BROTHER-like</i>	-	-	2.92	0.80
157	Ma08_g30880	<i>E3 ubiquitin-protein ligase PUB23-like</i>	-	-	-2.91	0.80
158	Ma07_g03310	<i>E3 ubiquitin-protein ligase PUB23-like</i>	-	-	-2.72	0.80
159	Ma08_g33190	<i>E3 ubiquitin-protein ligase PUB23-like</i>	-	-	3.21	0.80
160	Ma10_g15870	<i>E3 ubiquitin-protein ligase PUB23-like</i>	-4.27	0.03	-	-
161	Ma05_g16120	<i>E3 ubiquitin-protein ligase RHA1B-like</i>	-3.66	0.01	-	-
162	Ma06_g11000	<i>E3 ubiquitin-protein ligase RHA2A-like</i>	-3.13	0.02	-	-
163	Ma08_g21570	<i>E3 ubiquitin-protein ligase RING1-like</i>	-2.49	0.01	-	-
164	Ma05_g23160	<i>E3 ubiquitin-protein ligase RMA1</i>	-2.87	0.02	-	-
165	Ma10_g18730	<i>E3 ubiquitin-protein ligase RNF181-like</i>	3.20	0.04	-	-
166	Ma08_g22530	<i>EID1-like F-box protein 3</i>	4.59	0.01	-	-
167	Ma01_g02630	<i>Endochitinase-like</i>	4.37	0.05	-	-
168	Ma11_g23940	<i>Ethylene-responsive transcription factor 11</i>	-2.16	0.05	-	-
169	Ma06_g01940	<i>Ethylene-responsive transcription factor 12</i>	-	-	2.11	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
170	Ma06_g06000	<i>Ethylene-responsive transcription factor 1A</i>	-	-	-2.10	0.80
171	Ma05_g12310	<i>Ethylene-responsive transcription factor 1A</i>	-	-	-2.05	0.80
172	Ma05_g22010	<i>Ethylene-responsive transcription factor 1B</i>	-	-	-4.03	0.80
173	Ma05_g26940	<i>Ethylene-responsive transcription factor 2</i>	-7.05	0.03	-	-
174	Ma04_g21160	<i>Ethylene-responsive transcription factor 2</i>	-2.80	0.01	-	-
175	Ma11_g19320	<i>Ethylene-responsive transcription factor 2</i>	-2.30	0.02	-	-
176	Ma09_g22060	<i>Ethylene-responsive transcription factor 3</i>	-	-	-2.68	0.80
177	Ma05_g29230	<i>Ethylene-responsive transcription factor 4</i>	-	-	-2.59	0.80
178	Ma01_g19330	<i>Ethylene-responsive transcription factor 9</i>	-3.09	0.04	-	-
179	Ma05_g25230	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF003-like</i>	-	-	4.16	0.80
180	Ma07_g05490	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF010</i>	-2.33	0.01	-	-
181	Ma02_g23680	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF017</i>	-	-	-3.54	0.80
182	Ma09_g13810	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF017</i>	-	-	-2.38	0.80
183	Ma07_g11230	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF017-like</i>	-	-	-2.09	0.80
184	Ma08_g23210	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF071</i>	-2.18	0.02	-	-
185	Ma06_g19400	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF110</i>	-6.32	0.01	-	-
186	Ma08_g07830	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF114</i>	-	-	-2.37	0.80
187	Ma02_g23280	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF114</i>	-2.87	0.02	-	-
188	Ma03_g02220	<i>Ethylene-responsive transcription factor LEP</i>	-	-	5.02	0.80
189	Ma04_g24880	<i>Ethylene-responsive transcription factor RAP2-13</i>	3.33	0.05	-	-
190	Ma11_g20290	<i>Expansin-A4-like</i>	-	-	2.06	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
191	Ma02_g18110	<i>Expansin-A7</i>	-	-	2.17	0.80
192	Ma04_g28140	<i>Expansin-A7-like</i>	-	-	2.14	0.80
193	Ma09_g28960	<i>Expansin-A7-like</i>	4.05	0.03	-	-
194	Ma09_g08570	<i>Extensin-like</i>	-	-	4.39	0.80
195	Ma02_g00730	<i>F-box protein At2g32560-like</i>	-	-	2.83	0.80
196	Ma03_g10530	<i>F-box protein At3g07870-like</i>	-	-	-3.15	0.80
197	Ma03_g22770	<i>F-box protein At3g26010-like</i>	-	-	4.02	0.80
198	Ma03_g22760	<i>F-box protein At5g07610-like</i>	-	-	4.89	0.80
199	Ma11_g17890	<i>F-box protein At5g49610-like</i>	-	-	2.95	0.80
200	Ma09_g20070	<i>F-box protein SKIP2-like</i>	-3.17	0.05	-	-
201	Ma02_g07200	<i>F-box protein SKIP2-like</i>	-2.87	0.02	-	-
202	Ma09_g02800	<i>F-box protein SKIP27</i>	-	-	-4.10	0.80
203	Ma07_g13140	<i>F-box/kelch-repeat protein At1g80440-like</i>	2.11	0.03	-	-
204	Ma05_g27150	<i>F-box/kelch-repeat protein At1g80440-like</i>	2.45	0.02	-	-
205	Ma01_g06080	<i>F-box/kelch-repeat protein At5g43190</i>	-2.35	0.03	-	-
206	Ma11_g16610	<i>F-box/LRR-repeat protein 3-like</i>	-2.12	0.01	-	-
207	Ma10_g17960	<i>G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g34300</i>	-2.16	0.02	-	-
208	Ma04_g02550	<i>G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g24080</i>	6.82	0.01	-	-
209	Ma08_g07280	<i>G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase B120</i>	-2.44	0.03	-	-
210	Ma06_g32570	<i>G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase SD2-5</i>	-2.20	0.02	-	-
211	Ma08_g10610	<i>Galactinol synthase 1</i>	2.12	0.02	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
212	Ma11_g14680	<i>Galactinol synthase 1-like</i>	4.13	0.05	4.05	0.80
213	Ma11_g20910	<i>Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 10-like</i>	-	-	4.16	0.80
214	Ma11_g12600	<i>Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 3-like</i>	-	-	4.39	0.80
215	Ma05_g09640	<i>Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 4-like</i>	-	-	4.13	0.80
216	Ma03_g28760	<i>Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 6-like</i>	-	-	2.75	0.80
217	Ma01_g16820	<i>Glutathione S-transferase</i>	-2.52	0.02	-	-
218	Ma05_g16940	<i>Glutathione S-transferase T1-like</i>	-2.19	0.03	-2.12	0.80
219	Ma09_g26590	<i>Glutathione S-transferase U20</i>	-	-	-3.69	0.80
220	Ma06_g36010	<i>Glycerol-3-phosphate acyltransferase 5</i>	-	-	2.45	0.80
221	Ma02_g18170	<i>Glycerol-3-phosphate acyltransferase 5-like</i>	4.03	0.05	-	-
222	Ma01_g03760	<i>Glycine-rich cell wall structural protein 1-like</i>	-2.33	0.05	2.24	0.80
223	Ma04_g19550	<i>Glycine-rich cell wall structural protein 1.8-like</i>	-6.15	0.05	-	-
224	Ma09_g26870	<i>Glycine-rich cell wall structural protein-like</i>	-	-	2.99	0.80
225	Ma08_g07510	<i>Growth-regulating factor 3-like</i>	-	-	5.65	0.80
226	Ma07_g28610	<i>Growth-regulating factor 6-like</i>	-	-	4.66	0.80
227	Ma08_g20280	<i>Horcolin</i>	4.58	0.01	-4.18	0.80
228	Ma06_g31520	<i>Horcolin</i>	-2.97	0.05	-	-
229	Ma08_g20300	<i>Jacalin-related lectin 19</i>	3.82	0.01	-	-
230	Ma09_g25980	<i>Jacalin-related lectin 35-like</i>	6.41	0.03	2.07	0.80
231	Ma08_g19690	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase</i>	-2.37	0.05	-	-
232	Ma09_g09500	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IV.1-like</i>	-2.62	0.02	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
233	Ma09_g28930	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IV.1-like</i>	-2.29	0.01	-	-
234	Ma09_g09510	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IV.2-like</i>	-2.97	0.01	-	-
235	Ma09_g25630	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IX.1-like</i>	-3.21	0.03	-	-
236	Ma08_g19680	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IX.1-like</i>	-2.56	0.03	-	-
237	Ma08_g03400	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IX.1-like</i>	-2.50	0.02	-	-
238	Ma08_g03410	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IX.1-like</i>	-2.48	0.01	-	-
239	Ma08_g03380	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IX.1-like</i>	-2.26	0.03	-	-
240	Ma08_g03330	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase IX.1-like</i>	-2.23	0.02	-	-
241	Ma09_g09520	<i>L-type lectin-domain containing receptor kinase S.4-like</i>	-2.47	0.02	-	-
242	Ma06_g35820	<i>Laccase-24-like</i>	-4.12	0.02	-	-
243	Ma06_g35830	<i>Laccase-25</i>	-	-	3.93	0.80
244	Ma04_g34930	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g17230</i>	-4.16	0.01	-	-
245	Ma07_g28510	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM1</i>	-	-	2.30	0.80
246	Ma04_g07360	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM1</i>	-	-	2.67	0.80
247	Ma03_g31820	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM1</i>	-	-	4.72	0.80
248	Ma02_g07950	<i>Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine/tyrosine-protein kinase SOBIR1</i>	-2.07	0.02	-	-
249	Ma03_g18450	<i>Leucine-rich repeat receptor-like tyrosine-protein kinase At2g41820</i>	-2.34	0.04	-	-
250	Ma11_g21020	<i>Lipid transfer-like protein VAS</i>	-2.32	0.02	-	-
251	Ma10_g14990	<i>LOB domain-containing protein 12-like</i>	-	-	3.21	0.80
252	Ma06_g09410	<i>LOB domain-containing protein 37-like</i>	-5.13	0.04	-2.24	0.80
253	Ma04_g14140	<i>LOB domain-containing protein 37-like</i>	2.81	0.02	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
254	Ma09_g00580	<i>LOB domain-containing protein 40-like</i>	-	-	4.13	0.80
255	Ma05_g28070	<i>LOB domain-containing protein 6-like</i>	-	-	3.72	0.80
256	Ma03_g29000	<i>LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO1</i>	-2.35	0.03	-	-
257	Ma05_g31130	<i>Mannose-specific lectin 3-like</i>	-	-	-3.70	0.80
258	Ma06_g16670	<i>Mannose-specific lectin-like</i>	7.02	0.03	-	-
259	Ma03_g18760	<i>Metallothionein-like protein type 2</i>	-	-	-2.25	0.80
260	Ma02_g23410	<i>Microsomal glutathione S-transferase 3-like</i>	-	-	-2.81	0.80
261	Ma06_g34790	<i>Mitogen-activated protein kinase 5</i>	-2.26	0.01	-	-
262	Ma04_g03870	<i>Mitogen-activated protein kinase 9-like</i>	-	-	4.16	0.80
263	Ma05_g13990	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase 10</i>	-	-	2.26	0.80
264	Ma08_g18850	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase 9-like</i>	-2.33	0.05	-	-
265	Ma06_g12740	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase 9-like</i>	2.09	0.01	-	-
266	Ma06_g18500	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase kinase A-like</i>	-2.94	0.05	-2.02	0.80
267	Ma03_g19810	<i>Myb-like protein Q</i>	-	-	3.72	0.80
268	Ma01_g17450	<i>Myb-related protein 305-like</i>	-	-	-2.43	0.80
269	Ma02_g16570	<i>Myb-related protein Hv1-like</i>	-3.17	0.03	-	-
270	Ma11_g16430	<i>Myb-related protein Zm1-like</i>	2.95	0.04	-	-
271	Ma03_g19110	<i>NAC domain-containing 100</i>	-	-	3.38	0.80
272	Ma10_g11090	<i>NAC domain-containing 104</i>	-	-	-3.15	0.80
273	Ma11_g01240	<i>NAC domain-containing 35</i>	-2.52	0.02	-	-
274	Ma10_g04910	<i>NAC domain-containing 79</i>	-	-	3.04	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
275	Ma10_g16990	<i>NAC domain-containing 83</i>	2.01	0.02	-	-
276	Ma08_g01310	<i>NAC domain-containing 90</i>	-	-	2.44	0.80
277	Ma10_g04550	<i>NAC domain-containing 90</i>	-2.45	0.02	-	-
278	Ma03_g31600	<i>Ninja-family protein 6-like</i>	4.20	0.02	-	-
279	Ma06_g36870	<i>Ninja-family protein AFP3-like</i>	2.43	0.01	-	-
280	Ma07_g28200	<i>Ninja-family protein AFP3-like</i>	3.20	0.01	-	-
281	Ma04_g39350	<i>Ninja-family protein AFP3-like</i>	3.41	0.02	-	-
282	Ma07_g23570	<i>Non-specific lipid-transfer protein 1-like</i>	-	-	-2.40	0.80
283	Ma04_g17190	<i>Non-specific lipid-transfer protein 1-like</i>	-2.12	0.04	-	-
284	Ma04_g17200	<i>Non-specific lipid-transfer protein 1-like</i>	3.79	0.03	-	-
285	Ma04_g30830	<i>Non-specific lipid-transfer protein 2-like</i>	3.19	0.01	-	-
286	Ma02_g19230	<i>Non-specific lipid-transfer protein-like protein At2g13820</i>	-	-	2.10	0.80
287	Ma11_g09490	<i>Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase</i>	-	-	3.31	0.80
288	Ma08_g16230	<i>Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase-like</i>	-	-	-3.02	0.80
289	Ma04_g14490	<i>Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase-like</i>	5.76	0.02	4.45	0.80
290	Ma02_g17990	<i>Osmotin-like protein</i>	-	-	4.48	0.80
291	Ma08_g03860	<i>Oxygen-evolving enhancer 1, chloroplastic</i>	2.04	0.05	-	-
292	Ma09_g26690	<i>Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic-like</i>	2.43	0.02	-	-
293	Ma04_g30440	<i>Oxygen-evolving enhancer protein 3-1, chloroplastic-like</i>	2.55	0.04	-	-
294	Ma09_g05410	<i>Pathogen-related protein</i>	-	-	-2.21	0.80
295	Ma06_g18530	<i>Pathogen-related protein-like</i>	-2.73	0.03	-2.89	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
296	Ma02_g15060	<i>Pathogenesis-related protein 1-like</i>	-	-	-3.49	0.80
297	Ma02_g15080	<i>Pathogenesis-related protein 1-like</i>	-	-	-2.91	0.80
298	Ma01_g19550	<i>Pathogenesis-related protein 1-like</i>	-3.31	0.01	-	-
299	Ma03_g08150	<i>Pathogenesis-related protein 1-like</i>	2.70	0.01	-	-
300	Ma03_g08140	<i>Pathogenesis-related protein 1-like</i>	3.02	0.03	-	-
301	Ma01_g16670	<i>Pathogenesis-related protein PR-4-like</i>	-	-	-2.33	0.80
302	Ma11_g19450	<i>pEARLII-like lipid transfer 2</i>	-3.96	0.05	-	-
303	Ma11_g05190	<i>Pectinesterase-like</i>	-	-	-4.03	0.80
304	Ma04_g40060	<i>Pectinesterase-like</i>	3.48	0.01	-	-
305	Ma09_g11490	<i>Peroxidase 1</i>	-3.86	0.04	-	-
306	Ma09_g14070	<i>Peroxidase 11</i>	-	-	2.01	0.80
307	Ma10_g25840	<i>Peroxidase 15</i>	-5.12	0.02	-	-
308	Ma07_g23680	<i>Peroxidase 4</i>	-2.17	0.05	-2.46	0.80
309	Ma06_g10290	<i>Peroxidase 4</i>	2.55	0.04	-	-
310	Ma06_g19750	<i>Peroxidase 47</i>	-	-	3.21	0.80
311	Ma07_g09210	<i>Peroxidase 52~ PRX112</i>	-	-	3.96	0.80
312	Ma05_g27310	<i>Peroxidase 55</i>	-4.36	0.05	-	-
313	Ma05_g27300	<i>Peroxidase 55</i>	-2.88	0.02	-	-
314	Ma06_g23670	<i>Peroxidase 56</i>	-4.56	0.05	-	-
315	Ma09_g17630	<i>Peroxidase 65</i>	-	-	3.21	0.80
316	Ma11_g21180	<i>Phenylalanine ammonia-lyase-like</i>	-2.76	0.01	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
317	Ma05_g20900	<i>Phenylalanine ammonia-lyase-like</i>	-2.69	0.01	-	-
318	Ma01_g04420	<i>Phenylalanine ammonia-lyase-like</i>	-2.37	0.02	-	-
319	Ma11_g22490	<i>Pleiotropic drug resistance protein 13</i>	-	-	4.10	0.80
320	Ma06_g36450	<i>Pleiotropic drug resistance protein 3-like</i>	-3.77	0.02	-	-
321	Ma09_g02930	<i>Pleiotropic drug resistance protein 3-like</i>	-3.48	0.03	-	-
322	Ma02_g03010	<i>Pleiotropic drug resistance protein 5-like</i>	-	-	3.17	0.80
323	Ma02_g19720	<i>Probable 4-coumarate--CoA ligase 2</i>	-4.25	0.02	-2.58	0.80
324	Ma04_g12600	<i>Probable 4-coumarate--CoA ligase 3</i>	-2.37	0.01	-	-
325	Ma08_g30210	<i>Probable auxin efflux carrier component 1b~ PIN3B</i>	-	-	2.29	0.80
326	Ma08_g09210	<i>Probable auxin efflux carrier component 1c</i>	-	-	3.21	0.80
327	Ma02_g23190	<i>Probable BOI-related E3 ubiquitin-protein ligase 2</i>	-2.55	0.01	-	-
328	Ma04_g38580	<i>Probable BOI-related E3 ubiquitin-protein ligase 3</i>	-2.06	0.03	-	-
329	Ma03_g18540	<i>Probable calcium-binding protein CML10</i>	-	-	-3.15	0.80
330	Ma01_g17160	<i>Probable calcium-binding protein CML14</i>	-	-	3.76	0.80
331	Ma06_g11330	<i>Probable calcium-binding protein CML18</i>	-	-	3.21	0.80
332	Ma10_g04830	<i>Probable calcium-binding protein CML27</i>	-2.21	0.01	-	-
333	Ma10_g25710	<i>Probable calcium-binding protein CML30</i>	-	-	4.95	0.80
334	Ma07_g22610	<i>Probable calcium-binding protein CML30</i>	-3.17	0.01	-	-
335	Ma09_g16970	<i>Probable calcium-binding protein CML45</i>	-	-	2.95	0.80
336	Ma10_g18710	<i>Probable calcium-binding protein CML45</i>	-3.66	0.01	-	-
337	Ma09_g01690	<i>Probable calcium-binding protein CML45</i>	-3.24	0.04	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
338	Ma02_g16730	<i>Probable calcium-binding protein CML45</i>	-2.96	0.02	-	-
339	Ma01_g03990	<i>Probable disease resistance At4g19060</i>	-2.58	0.01	-	-
340	Ma07_g13490	<i>Probable F-box protein At4g22030</i>	-3.22	0.03	-	-
341	Ma07_g01870	<i>Probable galactinol--sucrose galactosyltransferase 2</i>	3.39	0.01	-	-
342	Ma02_g02280	<i>Probable glucan endo-1,3-beta-glucosidase A6</i>	-2.05	0.03	-	-
343	Ma09_g26510	<i>Probable glutathione S-transferase parc</i>	-	-	-2.83	0.80
344	Ma02_g14630	<i>Probable inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At3g03770</i>	-	-	3.21	0.80
345	Ma06_g07550	<i>Probable inactive receptor kinase At1g48480</i>	-	-	-2.52	0.80
346	Ma03_g07390	<i>Probable inactive receptor kinase At1g48480</i>	-2.66	0.05	-	-
347	Ma05_g06590	<i>Probable inactive receptor kinase At4g23740</i>	-4.19	0.03	-	-
348	Ma10_g10000	<i>Probable inactive receptor kinase At5g67200</i>	-	-	5.07	0.80
349	Ma02_g23480	<i>Probable inactive receptor kinase RLK902</i>	-	-	2.11	0.80
350	Ma05_g11470	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase</i>	5.86	0.05	-	-
351	Ma05_g11460	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase S.5</i>	-	-	-3.70	0.80
352	Ma07_g22190	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase S.5</i>	-	-	-3.10	0.80
353	Ma00_g05050	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase S.5</i>	-	-	-2.28	0.80
354	Ma09_g11910	<i>Probable L-type lectin-domain containing receptor kinase S.5</i>	-3.77	0.01	-	-
355	Ma09_g19650	<i>Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At1g35710</i>	-2.66	0.02	-	-
356	Ma05_g22210	<i>Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At1g68400</i>	-	-	3.31	0.80
357	Ma11_g11880	<i>Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At1g68400</i>	2.50	0.04	-	-
358	Ma06_g08630	<i>Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At5g49770</i>	-	-	-3.15	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
359	Ma09_g17070	<i>Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At5g49770</i>	-	-	2.41	0.80
360	Ma06_g10770	<i>Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At5g63930</i>	-2.13	0.03	-	-
361	Ma06_g31750	<i>Probable LRR receptor-like serine threonine- kinase At1g56140</i>	-3.47	0.02	-	-
362	Ma10_g27320	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g14390</i>	2.68	0.02	-	-
363	Ma03_g06850	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g67720</i>	-	-	5.12	0.80
364	Ma03_g27330	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g16250</i>	-3.56	0.02	-	-
365	Ma02_g21430	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570</i>	-	-	-4.10	0.80
366	Ma04_g37310	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570</i>	-3.84	0.02	-	-
367	Ma05_g12860	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At4g08850</i>	-3.57	0.04	-	-
368	Ma04_g38240	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At4g20940</i>	-	-	4.69	0.80
369	Ma06_g33510	<i>Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At4g36180</i>	-	-	3.72	0.80
370	Ma05_g31380	<i>Probable protein phosphatase 2C 30</i>	2.29	0.03	-	-
371	Ma08_g12880	<i>Probable protein phosphatase 2C 37</i>	4.37	0.01	2.47	0.80
372	Ma02_g06510	<i>Probable protein phosphatase 2C 44</i>	-2.01	0.03	-	-
373	Ma11_g20360	<i>Probable protein phosphatase 2C 68</i>	4.52	0.01	-	-
374	Ma11_g02070	<i>Probable protein phosphatase 2C 75</i>	2.22	0.02	-	-
375	Ma03_g01350	<i>Probable receptor-like protein kinase At1g67000</i>	-2.54	0.01	-	-
376	Ma03_g21840	<i>Probable receptor-like protein kinase At1g67000</i>	-2.86	0.03	-	-
377	Ma03_g30610	<i>Probable receptor-like protein kinase At1g67000</i>	-2.58	0.02	-	-
378	Ma06_g11350	<i>Probable receptor-like protein kinase At1g67000</i>	-2.35	0.01	-	-
379	Ma03_g30630	<i>Probable receptor-like protein kinase At1g67000</i>	-2.02	0.01	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
380	Ma11_g02710	<i>Probable receptor-like protein kinase At5g24010</i>	-2.69	0.02	-	-
381	Ma11_g16300	<i>Probable receptor-like protein kinase At5g47070</i>	-2.46	0.01	-	-
382	Ma04_g36800	<i>Probable receptor-like protein kinase At5g47070</i>	-2.35	0.01	-	-
383	Ma06_g05440	<i>Probable receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g57670</i>	2.41	0.02	-	-
384	Ma03_g16390	<i>Probable strigolactone esterase D14</i>	-2.02	0.03	-	-
385	Ma06_g09370	<i>Probable strigolactone esterase DAD2</i>	2.58	0.01	-	-
386	Ma01_g22120	<i>Probable strigolactone esterase DAD2</i>	2.73	0.01	-	-
387	Ma06_g25690	<i>Probable terpene synthase 9</i>	-	-	-3.90	0.80
388	Ma08_g34370	<i>Probable ubiquitin-conjugating enzyme E2 23</i>	4.27	0.05	-	-
389	Ma03_g05150	<i>Probable WRKY transcription factor 11</i>	-2.22	0.01	-	-
390	Ma10_g27260	<i>Probable WRKY transcription factor 13</i>	-	-	4.16	0.80
391	Ma04_g33990	<i>Probable WRKY transcription factor 14</i>	-	-	2.95	0.80
392	Ma02_g11530	<i>Probable WRKY transcription factor 14</i>	-2.50	0.03	-	-
393	Ma09_g23420	<i>Probable WRKY transcription factor 17</i>	-2.42	0.01	-	-
394	Ma06_g01150	<i>Probable WRKY transcription factor 26</i>	-3.39	0.01	-	-
395	Ma03_g32510	<i>Probable WRKY transcription factor 28</i>	-2.60	0.02	-	-
396	Ma10_g15390	<i>Probable WRKY transcription factor 31</i>	-2.73	0.02	-	-
397	Ma10_g03640	<i>Probable WRKY transcription factor 40</i>	-2.02	0.02	-	-
398	Ma07_g14030	<i>Probable WRKY transcription factor 41</i>	-3.98	0.01	-	-
399	Ma03_g17210	<i>Probable WRKY transcription factor 41</i>	-3.94	0.02	-	-
400	Ma06_g07330	<i>Probable WRKY transcription factor 41</i>	-2.49	0.03	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
401	Ma06_g22520	<i>Probable WRKY transcription factor 43</i>	-	-	2.08	0.80
402	Ma07_g26170	<i>Probable WRKY transcription factor 43</i>	-	-	2.14	0.80
403	Ma04_g24800	<i>Probable WRKY transcription factor 43</i>	-	-	5.85	0.80
404	Ma03_g21270	<i>Probable WRKY transcription factor 50</i>	-3.43	0.03	-	-
405	Ma01_g23360	<i>Probable WRKY transcription factor 53</i>	-2.26	0.02	-	-
406	Ma04_g29870	<i>Probable WRKY transcription factor 57</i>	-2.83	0.02	-	-
407	Ma07_g05300	<i>Probable WRKY transcription factor 60</i>	-3.26	0.01	-	-
408	Ma05_g09420	<i>Probable WRKY transcription factor 61</i>	-4.33	0.02	-	-
409	Ma06_g26900	<i>Probable WRKY transcription factor 70</i>	4.18	0.03	-	-
410	Ma04_g24540	<i>Probable WRKY transcription factor 71</i>	-2.30	0.05	-	-
411	Ma07_g13260	<i>Probable WRKY transcription factor 72</i>	-	-	-2.06	0.80
412	Ma10_g28190	<i>Probable WRKY transcription factor 72</i>	-6.58	0.02	-	-
413	Ma06_g07970	<i>Probable WRKY transcription factor 75</i>	-2.45	0.03	-	-
414	Ma06_g04010	<i>Probable WRKY transcription factor 9</i>	-	-	4.13	0.80
415	Ma10_g29990	<i>Probable WRKY transcription factor 9</i>	-3.43	0.01	-	-
416	Ma07_g20190	<i>Probable WRKY transcription factor 9</i>	-2.71	0.03	-	-
417	Ma06_g32560	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23</i>	-	-	-4.07	0.80
418	Ma07_g15950	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23</i>	-	-	3.18	0.80
419	Ma03_g05090	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23</i>	-2.87	0.03	-	-
420	Ma03_g01940	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 28</i>	-	-	-3.15	0.80
421	Ma08_g15680	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 30</i>	-	-	3.76	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
422	Ma11_g07540	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 30</i>	-	-	4.42	0.80
423	Ma01_g01030	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 7</i>	-3.10	0.01	-	-
424	Ma08_g27200	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 7</i>	-2.49	0.03	-	-
425	Ma01_g03800	<i>Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 8</i>	-	-	-5.47	0.80
426	Ma07_g21310	<i>Probable xyloglucan glycosyltransferase 5</i>	-	-	2.59	0.80
427	Ma04_g38760	<i>Probable xyloglucan glycosyltransferase 9</i>	-	-	5.21	0.80
428	Ma06_g29690	<i>Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At3g28040</i>	-3.52	0.02	-	-
429	Ma05_g14250	<i>Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase IMK2</i>	-	-	2.35	0.80
430	Ma02_g10510	<i>Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase IMK2</i>	-3.15	0.02	-	-
431	Ma10_g15060	<i>Proline-rich protein 2-like</i>	-4.03	0.01	-	-
432	Ma07_g14270	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK1</i>	-	-	-4.10	0.80
433	Ma06_g13260	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK10</i>	-	-	4.55	0.80
434	Ma06_g29110	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK13</i>	-	-	3.21	0.80
435	Ma07_g14240	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK4</i>	-2.27	0.01	-	-
436	Ma06_g19960	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK8</i>	-	-	5.17	0.80
437	Ma04_g30920	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK9</i>	-2.20	0.03	-	-
438	Ma08_g25550	<i>Proline-rich receptor-like protein kinase PERK9</i>	2.13	0.03	-	-
439	Ma00_g00560	<i>Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 2</i>	-	-	2.17	0.80
440	Ma03_g03880	<i>Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 2-like</i>	-	-	-2.52	0.80
441	Ma10_g15290	<i>Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 2-like</i>	-2.53	0.03	-	-
442	Ma01_g09200	<i>Protein ECERIFERUM 3-like</i>	4.22	0.01	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
443	Ma04_g18120	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 2.13-like</i>	-	-	2.94	0.80
444	Ma07_g01700	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 2.13-like</i>	-2.36	0.03	-	-
445	Ma02_g18610	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 4.6-like</i>	-3.51	0.01	-	-
446	Ma09_g17280	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.1-like</i>	-6.18	0.01	-	-
447	Ma03_g09660	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.1-like</i>	-2.24	0.01	-	-
448	Ma11_g02430	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.2-like</i>	-4.76	0.02	-	-
449	Ma11_g06270	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.2-like</i>	-3.30	0.01	-	-
450	Ma05_g12690	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.2-like</i>	-2.16	0.02	-	-
451	Ma10_g22490	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.6-like</i>	-	-	3.21	0.80
452	Ma06_g06790	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.2-like</i>	-3.92	0.01	-	-
453	Ma04_g37230	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.2-like</i>	-3.48	0.02	-	-
454	Ma07_g08280	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.2-like</i>	-2.62	0.01	-	-
455	Ma08_g10980	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.3-like</i>	-3.12	0.05	-	-
456	Ma03_g18690	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.1-like</i>	-3.29	0.01	-	-
457	Ma06_g24230	<i>Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.1-like</i>	-2.30	0.02	-	-
458	Ma04_g15520	<i>Protein TOO MANY MOUTHS-like</i>	-	-	5.96	0.80
459	Ma02_g01270	<i>Protein YLS2-like</i>	2.72	0.01	-	-
460	Ma09_g22130	<i>Protein YLS3-like</i>	-	-	2.44	0.80
461	Ma09_g30270	<i>Protein YLS9</i>	-3.24	0.01	-	-
462	Ma03_g03430	<i>Protein YLS9-like</i>	-	-	3.21	0.80
463	Ma05_g14370	<i>Protein YLS9-like</i>	-	-	4.16	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
464	Ma11_g25010	<i>Protein YLS9-like</i>	-	-	4.16	0.80
465	Ma07_g03380	<i>Protein YLS9-like</i>	-3.12	0.01	-	-
466	Ma08_g34830	<i>Protein YLS9-like</i>	-3.02	0.01	-	-
467	Ma09_g30260	<i>Protein YLS9-like</i>	-2.52	0.01	-	-
468	Ma03_g13730	<i>Putative 4-coumarate--coa ligase-like 8</i>	-	-	3.21	0.80
469	Ma06_g05830	<i>Putative ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5-like protein 3</i>	-	-	2.27	0.80
470	Ma02_g24280	<i>Putative Auxin-induced protein</i>	-	-	-2.80	0.80
471	Ma07_g17550	<i>Putative Auxin-induced protein</i>	-	-	3.76	0.80
472	Ma05_g00970	<i>Putative Auxin-induced protein</i>	4.43	0.04	-	-
473	Ma03_g09070	<i>Putative Auxin-induced protein 5NG4</i>	-3.88	0.01	-	-
474	Ma08_g12940	<i>Putative Auxin-induced protein 5NG4</i>	-3.88	0.01	-	-
475	Ma02_g16460	<i>Putative Auxin-induced protein 5NG4</i>	-3.87	0.04	-	-
476	Ma09_g31160	<i>Putative cytochrome p450 71d8</i>	-2.08	0.04	-	-
477	Ma09_g28690	<i>Putative Disease resistance protein RPM1</i>	2.80	0.05	-	-
478	Ma09_g28700	<i>Putative Disease resistance protein RPM1~ RPP13L4</i>	-3.79	0.02	-	-
479	Ma04_g35240	<i>Putative Disease resistance protein RPS5~ RPS5</i>	-2.49	0.03	-	-
480	Ma03_g23340	<i>Putative disease resistance RPP13-like protein 1</i>	-	-	3.36	0.80
481	Ma06_g10170	<i>Putative E3 ubiquitin-protein ligase RING1-like</i>	-2.49	0.04	-	-
482	Ma04_g21570	<i>Putative Ethylene response factor~ RAP2-4</i>	-3.86	0.01	-	-
483	Ma03_g24970	<i>Putative Ethylene-responsive transcription factor 11</i>	-2.35	0.02	-	-
484	Ma04_g32660	<i>Putative Ethylene-responsive transcription factor ERF053</i>	-3.69	0.01	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
485	Ma05_g11800	<i>Putative Ethylene-responsive transcription factor ERF053</i>	-2.94	0.01	-	-
486	Ma05_g07840	<i>Putative glucan endo-1,3-beta-glucosidase GVI</i>	-	-	-2.63	0.80
487	Ma11_g22870	<i>Putative leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g19230</i>	-4.21	0.05	-	-
488	Ma10_g22460	<i>Putative lipid-transfer protein DIR1</i>	3.60	0.03	-	-
489	Ma11_g04630	<i>Putative peroxidase 1</i>	-3.46	0.05	-	-
490	Ma06_g16130	<i>Putative peroxidase 52</i>	-	-	2.55	0.80
491	Ma07_g08220	<i>Putative Probable disease resistance protein At4g33300</i>	-2.08	0.02	-	-
492	Ma05_g29880	<i>Putative Probable glutathione S-transferase</i>	-	-	6.48	0.80
493	Ma04_g23580	<i>Putative Probable glutathione S-transferase GSTU6</i>	-2.93	0.04	-	-
494	Ma05_g11740	<i>Putative Probable glutathione S-transferase~ MSR-1</i>	-2.24	0.01	-	-
495	Ma07_g16310	<i>Putative Probable WRKY transcription factor 40</i>	-	-	-2.23	0.80
496	Ma07_g20830	<i>Putative Probable WRKY transcription factor 40</i>	-2.72	0.01	-	-
497	Ma01_g00720	<i>Putative Probable WRKY transcription factor 40</i>	-2.30	0.01	-	-
498	Ma05_g19370	<i>Putative Probable WRKY transcription factor 60</i>	-	-	-2.47	0.80
499	Ma08_g02280	<i>Putative receptor protein kinase zmpk1</i>	-3.03	0.03	-	-
500	Ma04_g15060	<i>Putative receptor protein kinase zmpk1</i>	-6.21	0.05	-	-
501	Ma09_g11560	<i>Putative receptor-like protein kinase At4g00960</i>	-2.39	0.02	-	-
502	Ma08_g03550	<i>Putative receptor-like protein kinase At4g00960</i>	-	-	4.01	0.80
503	Ma08_g03560	<i>Putative receptor-like protein kinase At4g00960</i>	-	-	5.87	0.80
504	Ma07_g08910	<i>Putative transcription factor bhlh041</i>	-3.76	0.05	-	-
505	Ma06_g02630	<i>Putative transcription factor bhlh041</i>	-3.42	0.02	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
506	Ma03_g13060	<i>Putative WRKY transcription factor 18~ WRKY42</i>	-2.84	0.03	-	-
507	Ma02_g22020	<i>Putative WRKY transcription factor 6~ WRKY6</i>	-2.51	0.01	-	-
508	Ma10_g01610	<i>Receptor kinase FERONIA</i>	-2.07	0.02	-	-
509	Ma11_g20850	<i>Receptor-like cytosolic serine/threonine-protein kinase RBK1</i>	-	-	3.21	0.80
510	Ma02_g12670	<i>Receptor-like protein 12</i>	-3.04	0.02	-	-
511	Ma09_g25090	<i>Receptor-like serine/threonine-protein kinase SD1-8</i>	-2.36	0.03	-	-
512	Ma09_g05320	<i>Respiratory burst oxidase homolog protein A-like</i>	-3.61	0.01	-	-
513	Ma11_g07490	<i>Reticuline oxidase-like</i>	5.33	0.01	-	-
514	Ma08_g12680	<i>RING finger and CHY zinc finger domain-containing protein 1</i>	3.72	0.03	-	-
515	Ma03_g14160	<i>RING-H2 finger protein ATL16-like</i>	-2.62	0.01	-	-
516	Ma08_g10110	<i>RING-H2 finger protein ATL17-like</i>	-	-	-2.72	0.80
517	Ma07_g16650	<i>RING-H2 finger protein ATL2-like</i>	-3.27	0.01	-	-
518	Ma06_g32700	<i>RING-H2 finger protein ATL3-like</i>	-3.34	0.01	-	-
519	Ma07_g13860	<i>RING-H2 finger protein ATL39-like</i>	-	-	-2.49	0.80
520	Ma07_g26810	<i>RING-H2 finger protein ATL39-like</i>	-3.08	0.02	-	-
521	Ma09_g28620	<i>RING-H2 finger protein ATL43-like</i>	2.27	0.03	-	-
522	Ma04_g21910	<i>RING-H2 finger protein ATL45-like</i>	3.61	0.01	-2.00	0.80
523	Ma05_g11490	<i>RING-H2 finger protein ATL8-like</i>	-	-	-2.27	0.80
524	Ma04_g03110	<i>Salicylic acid-binding protein 2-like</i>	-	-	-3.72	0.80
525	Ma00_g04650	<i>SNF1-related protein kinase regulatory subunit beta-1-like</i>	4.00	0.01	-	-
526	Ma02_g10890	<i>SNF1-related protein kinase regulatory subunit gamma-1-like</i>	-7.61	0.03	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
527	Ma06_g12650	<i>Subtilisin-like protease</i>	-	-	-3.15	0.80
528	Ma07_g21300	<i>Subtilisin-like protease</i>	-	-	2.31	0.80
529	Ma09_g09160	<i>Subtilisin-like protease</i>	-	-	4.06	0.80
530	Ma10_g17570	<i>Subtilisin-like protease</i>	2.96	0.03	4.44	0.80
531	Ma03_g11310	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>	-5.43	0.04	-4.58	0.80
532	Ma03_g11170	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>	-	-	-2.19	0.80
533	Ma03_g11210	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>	-3.11	0.01	-	-
534	Ma03_g11270	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>	-2.99	0.02	-	-
535	Ma06_g27870	<i>Subtilisin-like protease SBT5.3</i>	-2.42	0.04	-	-
536	Ma10_g10200	<i>Subtilisin-like protease SBT5.4</i>	-2.23	0.01	-	-
537	Ma04_g37270	<i>Subtilisin-like protease SDD1</i>	-	-	-2.52	0.80
538	Ma06_g06960	<i>Subtilisin-like protease SDD1</i>	-	-	3.21	0.80
539	Ma04_g08150	<i>Terpene synthase 10-like</i>	2.87	0.05	-	-
540	Ma09_g22120	<i>Thaumatococcus-like protein</i>	-	-	3.47	0.80
541	Ma08_g12720	<i>Thaumatococcus-like protein 1b</i>	-	-	-3.15	0.80
542	Ma03_g12410	<i>Thaumatococcus-like protein 1b</i>	-2.33	0.01	-	-
543	Ma07_g23470	<i>Thioredoxin H4-1</i>	-	-	-2.35	0.80
544	Ma06_g33950	<i>Thioredoxin-like 1-2, chloroplastic</i>	2.32	0.01	-	-
545	Ma10_g25700	<i>Thioredoxin-like 1-2, chloroplastic</i>	3.29	0.04	-	-
546	Ma08_g22250	<i>Thioredoxin-like 1-2, chloroplastic</i>	4.86	0.01	-	-
547	Ma05_g07370	<i>Thioredoxin-like 1-2, chloroplastic</i>	7.43	0.03	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
548	Ma09_g30730	<i>Thioredoxin-like protein CXXS1</i>	2.93	0.01	-	-
549	Ma03_g26350	<i>TPR repeat-containing thioredoxin TTL1-like</i>	-2.27	0.01	-	-
550	Ma04_g17140	<i>Trans-resveratrol di-O-methyltransferase-like</i>	-	-	2.83	0,80
551	Ma08_g14610	<i>Transcription factor BEE 3-like</i>	4.79	0,02	-	-
552	Ma08_g22850	<i>Transcription factor bhlh101-like</i>	-	-	-2.75	0.80
553	Ma11_g01400	<i>Transcription factor bhlh111</i>	-	-	-3.17	0.80
554	Ma10_g15300	<i>Transcription factor bhlh144-like</i>	-	-	2.13	0.80
555	Ma08_g10520	<i>Transcription factor bhlh147-like</i>	2.35	0.02	-	-
556	Ma07_g10900	<i>Transcription factor bhlh149-like</i>	7.17	0.05	-	-
557	Ma09_g23450	<i>Transcription factor bhlh35-like</i>	6.83	0.02	-	-
558	Ma09_g28730	<i>Transcription factor bhlh49-like</i>	-2.75	0.04	-	-
559	Ma11_g11950	<i>Transcription factor bhlh75-like</i>	4.84	0.04	-	-
560	Ma04_g30910	<i>Transcription factor bhlh83-like</i>	-3.46	0.03	-	-
561	Ma06_g00910	<i>Transcription factor MYB105</i>	-3.51	0.04	-	-
562	Ma05_g23480	<i>Transcription factor MYB108-like</i>	-	-	-2.32	0.80
563	Ma08_g01760	<i>Transcription factor MYB44-like</i>	-	-	2.13	0.80
564	Ma09_g29660	<i>Transcription factor MYB44-like</i>	-	-	3.21	0.80
565	Ma09_g23100	<i>Transcription factor MYB44-like</i>	-2.95	0.01	-	-
566	Ma05_g22780	<i>Transcription repressor OFP4</i>	-	-	5.55	0.80
567	Ma10_g11100	<i>Transcriptional activator Myb</i>	-	-	-4.98	0.80
568	Ma06_g19030	<i>Transcriptional activator Myb-like</i>	-	-	4.16	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
569	Ma09_g23920	<i>Tricetin 3',4',5'-O-trimethyltransferase-like</i>	-	-	3.10	0.80
570	Ma02_g06380	<i>Tricetin 3',4',5'-O-trimethyltransferase-like</i>	-3.20	0.05	-	-
571	Ma02_g06330	<i>Tricetin 3',4',5'-O-trimethyltransferase-like</i>	-2.72	0.05	-	-
572	Ma03_g15990	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase 11</i>	6.12	0.04	-	-
573	Ma09_g23870	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase 2-like</i>	-4.56	0.01	-	-
574	Ma05_g19550	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase CVP2-like</i>	-	-	2.81	0.80
575	Ma07_g02370	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase CVP2-like</i>	-	-	3.21	0.80
576	Ma07_g11080	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase CVP2-like</i>	-2.50	0.01	-	-
577	Ma07_g01430	<i>Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase CVP2-like</i>	2.76	0.04	-	-
578	Ma10_g03260	<i>U-box domain-containing protein 14-like</i>	-	-	4.10	0.80
579	Ma09_g29440	<i>U-box domain-containing protein 17-like</i>	-2.89	0.02	-	-
580	Ma06_g12780	<i>U-box domain-containing protein 21-like</i>	-2.88	0.04	-	-
581	Ma02_g22630	<i>U-box domain-containing protein 25-like</i>	-3.76	0.03	-	-
582	Ma06_g27460	<i>U-box domain-containing protein 25-like</i>	-2.28	0.01	-	-
583	Ma06_g19500	<i>U-box domain-containing protein 27-like</i>	-2.79	0.02	-	-
584	Ma03_g26970	<i>U-box domain-containing protein 30-like</i>	-	-	2.70	0.80
585	Ma03_g14440	<i>U-box domain-containing protein 33-like</i>	2.34	0.01	-	-
586	Ma04_g10960	<i>U-box domain-containing protein 4-like</i>	-	-	-3.23	0.80
587	Ma04_g11050	<i>U-box domain-containing protein 4-like</i>	-2.05	0.01	-	-
588	Ma09_g13910	<i>U-box domain-containing protein 40-like</i>	-2.54	0.04	-	-
589	Ma07_g19070	<i>Ubiquitin-conjugating enzyme E2 5B-like</i>	-2.05	0.04	-	-

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
590	Ma04_g33010	<i>Uncharacterized calcium-binding protein At1g02270-like</i>	-2.18	0.02	-	-
591	Ma08_g06240	<i>Vegetative cell wall protein gp1-like</i>	-	-	2.38	0.80
592	Ma03_g28630	<i>Vegetative cell wall protein gp1-like</i>	-6.17	0.03	-	-
593	Ma04_g14030	<i>Vicilin-like antimicrobial peptides 2-2</i>	-	-	2.90	0.80
594	Ma09_g21500	<i>Wall-associated receptor kinase 1-like</i>	-	-	-2.47	0.80
595	Ma05_g19140	<i>Wall-associated receptor kinase 2-like</i>	-	-	-3.15	0.80
596	Ma11_g21150	<i>Wall-associated receptor kinase 2-like</i>	-2.68	0.03	-	-
597	Ma01_g13220	<i>Wall-associated receptor kinase 2-like</i>	-2.04	0.03	-	-
598	Ma04_g36300	<i>Wall-associated receptor kinase 3-like</i>	-2.20	0.04	-	-
599	Ma02_g12780	<i>Wall-associated receptor kinase 3-like</i>	-2.07	0.01	-	-
600	Ma07_g22940	<i>Wall-associated receptor kinase 5-like</i>	-3.15	0.01	-	-
601	Ma07_g22950	<i>Wall-associated receptor kinase 5-like</i>	-3.05	0.04	-	-
602	Ma07_g22960	<i>Wall-associated receptor kinase 5-like</i>	-2.91	0.01	-	-
603	Ma04_g36330	<i>Wall-associated receptor kinase-like 2</i>	-3.07	0.03	-	-
604	Ma01_g02070	<i>Walls are thin 1</i>	-	-	-2.46	0.80
605	Ma08_g21220	<i>WRKY transcription factor 22-like</i>	-	-	-2.25	0.80
606	Ma04_g39840	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 2-like</i>	-	-	3.21	0.80
607	Ma10_g27880	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 2-like</i>	4.07	0.01	-	-
608	Ma07_g09150	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 2-like</i>	4.39	0.01	-	-
609	Ma05_g30610	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 33-like</i>	-2.25	0.03	-	-
610	Ma05_g30170	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 53-like</i>	-	-	2.90	0.80

Continuação

Tabela 14. Genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de resistência em *Musa acuminata* var. Calcutta 4 frente à infecção por *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após a inoculação. Os tons de vermelho indicam genes superexpressos e os tons de azul representam os genes reprimidos.

	Gene ID	Função Putativa	3 DAI		12 DAI	
			log2FC	FDR	log2FC	FDR
611	Ma01_g06260	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 54-like</i>	2.46	0.03	-	-
612	Ma04_g06520	<i>Zinc finger CCCH domain-containing protein 9-like</i>	-	-	-2.18	0.80

De modo geral, foi observado que há DEGs associados às vias de estresse biótico superexpressos apenas aos 3 DAI, como *jasmonate-induced protein* (Ma05_g26760), *thioredoxin* (Ma06_g33950, Ma10_g25700, Ma08_g22250, Ma05_g07370, Ma09_g30730), *mannose-specific lectin* (Ma06_g16670), *reticuline oxidase* (Ma11_g07490), *horcolin* (Ma08_g20280), *ninja-family protein* (Ma03_g31600, Ma06_g36870, Ma07_g28200, Ma04_g39350) e *l-Cys peroxiredoxin* (Ma11_g19280), evidenciando as respostas mais rápidas que ocorrem no início da infecção. Há genes que estão modulados positivamente apenas aos 12 DAI, como *cellulose synthase* (Ma08_g33110, Ma05_g15620, Ma02_g17080), *glucan endo-1,3-beta-glucosidase* (Ma11_g20910, Ma11_g12600, Ma05_g09640, Ma03_g28760), *xyloglucan glycosyltransferase* (Ma04_g38760, Ma07_g21310), *xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein* (Ma07_g15950, Ma08_g15680, Ma11_g07540), *protein too many mouths* (Ma04_g15520), *chalcone synthase* (Ma06_g12370), *transcription repressor OFP4* (Ma05_g22780), *osmotin protein* (Ma02_g17990), que revelam que determinadas respostas de defesa em Calcutta 4 ocorrem de forma mais tardia. E os genes que estão presentes em ambos os *timepoints* analisados (Tabela 15).

Tabela 15. Lista de genes diferencialmente expressos, envolvidos em resistência em *Musa acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 após interação com *Pseudocercospora musae*, exclusivos aos 3 dias após inoculação (DAI) (azul), ou aos 12 DAI (vermelho), ou ainda com expressão diferencial em ambos os tempos analisados.

Chitinase	3DAI	
PR protein	3DAI	
Thioredoxin	3DAI	
Dirigent protein	3DAI	
Jasmonate-induced protein	3DAI	
BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated receptor kinase 1 – BAK1		3DAI
PRRs	3DAI	12DAI
MAPKs	3DAI	12DAI
WRKYs	3DAI	12DAI
NAC	3DAI	12DAI
MYB	3DAI	12DAI
Peroxidase	3DAI	12DAI
Subtilisin-like protease	3DAI	12DAI
bHLH TF	3DAI	12DAI
Ethylene-responsive TF		12DAI
Protein NRT1/ PTR FAMILY		12DAI
NLRs		12DAI
AP2/ERF		12DAI
Calcium-binding protein		12DAI
Cellulose synthase		12DAI

Nesse estudo, foi constatada a presença de DEGs potencialmente relacionados a cada um dos diferentes mecanismos do sistema imune inato da planta. Foram encontrados genes envolvidos na defesa basal do tipo PAMP-triggered immunity (PTI), genes de resistência específica que participam das vias de respostas do tipo effector-triggered immunity (ETI), e genes associados à resistência sistêmica.

6.4.1.2.1. DEGs envolvidos em PTI

Dentre os DEGs associados a PTI que foram identificados, destacam-se os receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), os componentes da cascata de sinalização via quinases, os fatores de transcrição do tipo WRKY, as proteínas relacionadas à patogênese (PR) e as quitinases.

Foram modulados genes que codificam receptores RLKs (*leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase*), que são PRRs e contêm repetições ricas em leucina (LRR-RLK), como *Ma10_g27320* e *Ma11_g11880*, que foram superexpressos aos 3 DAI, como *Ma04_g34930* e *Ma11_g22870* que foram reprimidos na fase inicial da interação, assim como *Ma03_g31820* e *Ma04_g07360* que apresentaram superexpressão significativa aos 12 DAI. Nesse estudo, 78 receptores PRRs demonstraram expressão diferencial. Foi observado que, no início da infecção, a maioria dos PRRs estavam modulados negativamente, e, na fase tardia, estes estavam, em sua maioria, regulados positivamente.

Em ambos os tempos avaliados, foram encontrados também genes que codificam MAP quinases (MAPK - *Mitogen-Activated Protein Kinase*), como *Ma06_g12740*, *Ma06_g34790*, *Ma08_g18850*, *Ma04_g03870* e *Ma05_g13990*. O primeiro apresentou regulação positiva aos 3 DAI, enquanto os dois seguintes foram reprimidos no mesmo *timepoint*; os dois últimos foram superexpressos aos 12 DAI. Observou-se um aumento na expressão das MAPKs aos 12 DAI, em relação a 3 DAI.

Foram detectados 35 genes que codificam para fatores de transcrição do tipo WRKY, como *Ma07_g14030*, *Ma06_g26900*, *Ma04_g24800*, *Ma06_g04010*, *Ma10_g27260*, *Ma06_g22520*, *Ma07_g26170* e *Ma04_g33990*. Do total, 3% foram superexpressos e 69% foram reprimidos aos 3 DAI, e, aos 12 DAI, 17% foram regulados positivamente e 11% sofreram modulação negativa.

Dentre os genes que codificam proteínas PR (*Pathogenesis-Related Protein*) identificados, *Ma03_g08140* e *Ma03_g08150* tiveram regulação positiva aos 3 DAI, e *Ma01_g16670*, *Ma02_g15060*, *Ma01_g19550* foram reprimidos aos 12 DAI. Foi observada

ainda a modulação nos genes que codificam para quitinases, como *Ma09_g20710*, *Ma01_g02630*, regulados positivamente aos 3 DAI, *Ma09_g16070*, reprimido no mesmo *timepoint*, e *Ma03_g15360*, modulado negativamente aos 12 DAI. Não foram encontradas proteínas PR e quitinases superexpressas no estágio tardio da infecção, apenas na fase inicial.

6.4.1.2.2. DEGs envolvidos em ETI

Foram encontrados 17 genes R, responsáveis por codificar proteínas NLR, envolvidos em ETI. Desses, um foi regulado positivamente (*Ma09_g28690*) e dez estavam reprimidos (*Ma07_g08220*, *Ma06_g23890*, *Ma03_g28980*, *Ma04_g35240*, *Ma01_g03990*, *Ma01_g06160*, *Ma03_g28860*, *Ma01_g06170*, *Ma09_g28700*, *Ma01_g06150*) aos 3 DAI. Aos 12 DAI, cinco foram superexpressos (*Ma07_g08480*, *Ma09_g02660*, *Ma03_g23340*, *Ma09_g02650*, *Ma09_g02400*), e um foi reprimido (*Ma03_g28820*), demonstrando uma maior ativação dessa via na fase mais avançada da interação.

6.4.1.2.3. DEGs envolvidos em SAR

Foram encontrados 8 DEGs associados à resistência sistêmica, que codificam para fatores de transcrição do tipo AP2/ERF. Os genes *Ma01_g21800*, *Ma05_g09690*, *Ma03_g30570* sofreram repressão aos 3 DAI, *Ma02_g24400* foi reprimido em ambos os tempos de coleta, e *Ma05_g04410*, *Ma03_g33690*, *Ma01_g14600*, *Ma07_g00730* apresentaram superexpressão em 12 DAI, evidenciando que essa via é ativada apenas no estágio tardio da infecção.

6.5. Validação dos genes candidatos por RT-qPCR

Foram selecionados 14 genes potencialmente envolvidos em respostas de defesa em *Musa* durante a interação com *P. musae*, a partir dos dados de expressão gênica diferencial obtidos *in silico* (Tabela 16). Para isso, foram utilizados os genes de referência descritos por Rego e colaboradores (2019). Foi realizada a análise do perfil de expressão gênica dos DEGs selecionados para validação através de PCR em tempo real, tanto em Calcutta 4 quanto em Cavendish Grande Naine, e os resultados obtidos foram dados pela diferença das médias da expressão relativa entre o tratamento inoculado e o controle.

Tabela 16. Seleção dos genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em respostas de defesa e resistência na interação entre *Musa acuminata* ssp. *burmannica* Calcutta 4 e *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após inoculação, para validação por RT-qPCR.

Gene ID	Anotação	log2FC		Envolvido em
		3 DAI	12 DAI	
Ma01_g21800	AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like	-3.06	-	SAR
Ma09_g20710	Chitinase 6	3.03	-	PTI
Ma09_g10840	Dirigent protein 11-like	-2.52	-	Metabolismo secundário
Ma09_g10850	Dirigent protein 11-like	-	-2.26	Metabolismo secundário
Ma09_g10830	Dirigent protein 21-like	-3.17	-	Metabolismo secundário
Ma08_g22530	EID1-like F-box protein 3	4.59	-	Degradação de proteínas
Ma01_g02630	Endochitinase-like	4.37	-	PTI
Ma06_g35820	Laccase-24-like	-4.12	-	PTI
Ma06_g12740	Mitogen-activated protein kinase kinase 9-like	2.09	-	PTI
Ma01_g19550	Pathogenesis-related protein 1-like	-3.31	-	PTI
Ma03_g08140	Pathogenesis-related protein 1-like	3.02	-	PTI
Ma11_g20360	Probable protein phosphatase 2C 68	4.52	-	Sinalização
Ma07_g14030	Probable WRKY transcription factor 41	-3.98	-	PTI
Ma00_g04650	SNF1-related protein kinase regulatory subunit beta-1	4.00	-	Transdução de sinais

Após a realização das qPCRs e das análises de controle de qualidade, foi observado que algumas amostras estavam divergentes das restantes, elevando o erro padrão. Para sua regularização e correta eliminação das amostras não correlacionadas às demais, foi realizada uma análise de componentes principais (Principal Component Analysis - PCA).

O PCA (Figura 26) considerou as três variáveis existentes nesse estudo: genótipo, tratamento e tempo de coleta. O componente principal 1 (PC1) corresponde à maior parcela da variabilidade existente entre as amostras analisadas, e, nesse caso, está associado à variável tempo. O PC2 representa a segunda maior parte da variância total, e está correlacionado à variável genótipo, nesse contexto. Na figura 26-A, é possível observar que as amostras semelhantes, representadas por forma, cor e tamanho iguais, formam grupos, evidenciando aquelas que apresentam-se divergentes das demais. Com o auxílio da figura 26-B, é possível identificar as amostras a partir de um código pré-definido (S1 a S24), representando as 24

amostras existentes. Dessa forma, a análise do PCA sugeriu que amostras como S6 (C4, 3DAI, NI), S17 (CAV, 03DAI, NI) e S24 (CAV, 12DAI, NI) poderiam ser retiradas, devido à sua divergência, sem comprometer os resultados das análises de qPCR.

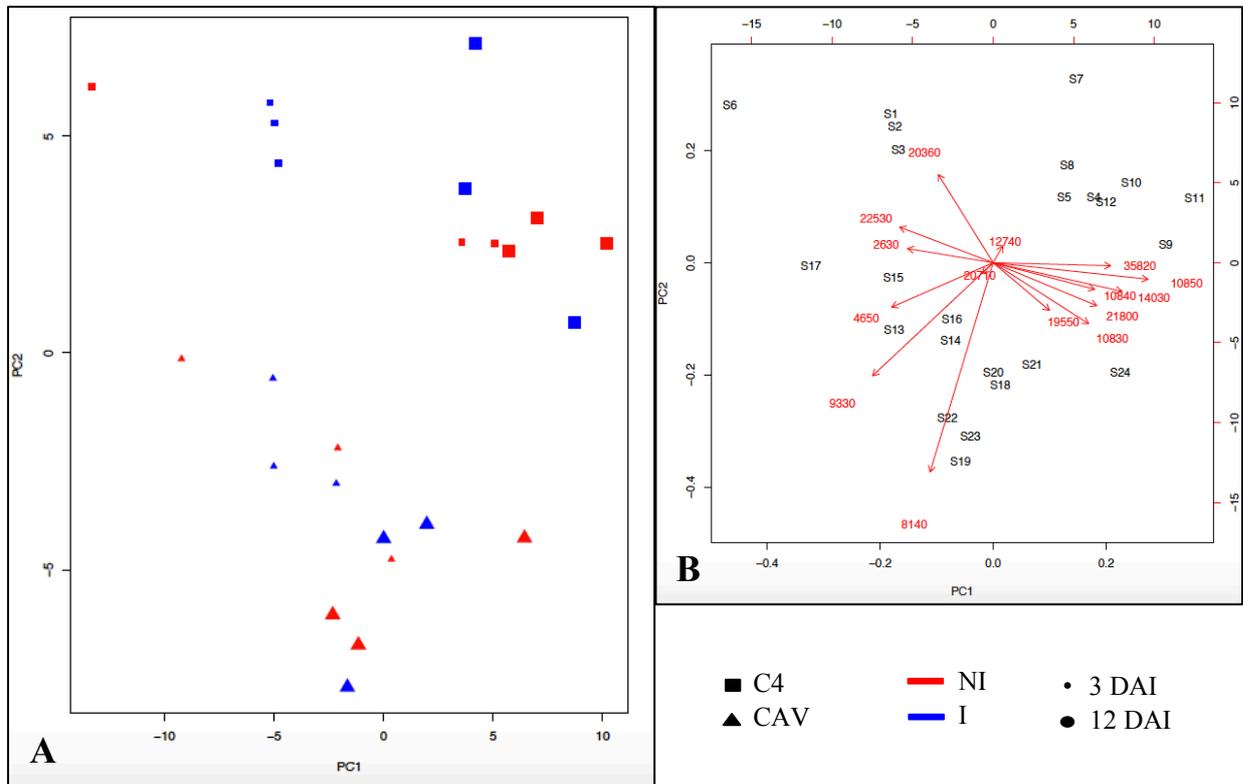


Figura 26. PCA do resultado da validação por PCR em tempo real por amostra, para os genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em resistência em *Musa acuminata*, nos genótipos Calcutta 4 (C4) e Cavendish Grande Naine (CAV), aos 3 e 12 dias após a infecção (DAI) por *Pseudocercospora musae*. A. As amostras semelhantes são representadas por formas, cores e tamanhos iguais. B. Os vetores representam os genes analisados e as 24 amostras estudadas estão representadas pelos códigos de S1 a S24. I – amostra inoculada; NI – controle não inoculado.

Os resultados apresentados na Figura 27 evidenciaram que tanto o gene da quitinase (*Ma09_g20710*), quanto o da endoquitinase (*Ma01_g02630*) apresentaram, para C4, uma regulação positiva significativa aos 3 DAI, em relação ao não inoculado, sendo ambos reprimidos aos 12 DAI. Para a quitinase, nos dois *timepoints* avaliados em CAV, observou-se regulação negativa, sendo que na fase inicial houve expressão relativa significativa de -1,65, ocorrendo um aumento no estágio tardio para -0,48. O gene da endoquitinase, em CAV, manteve-se reprimido aos 3 DAI e aos 12 DAI, com expressão relativa de 0,60 e 0,31, respectivamente.

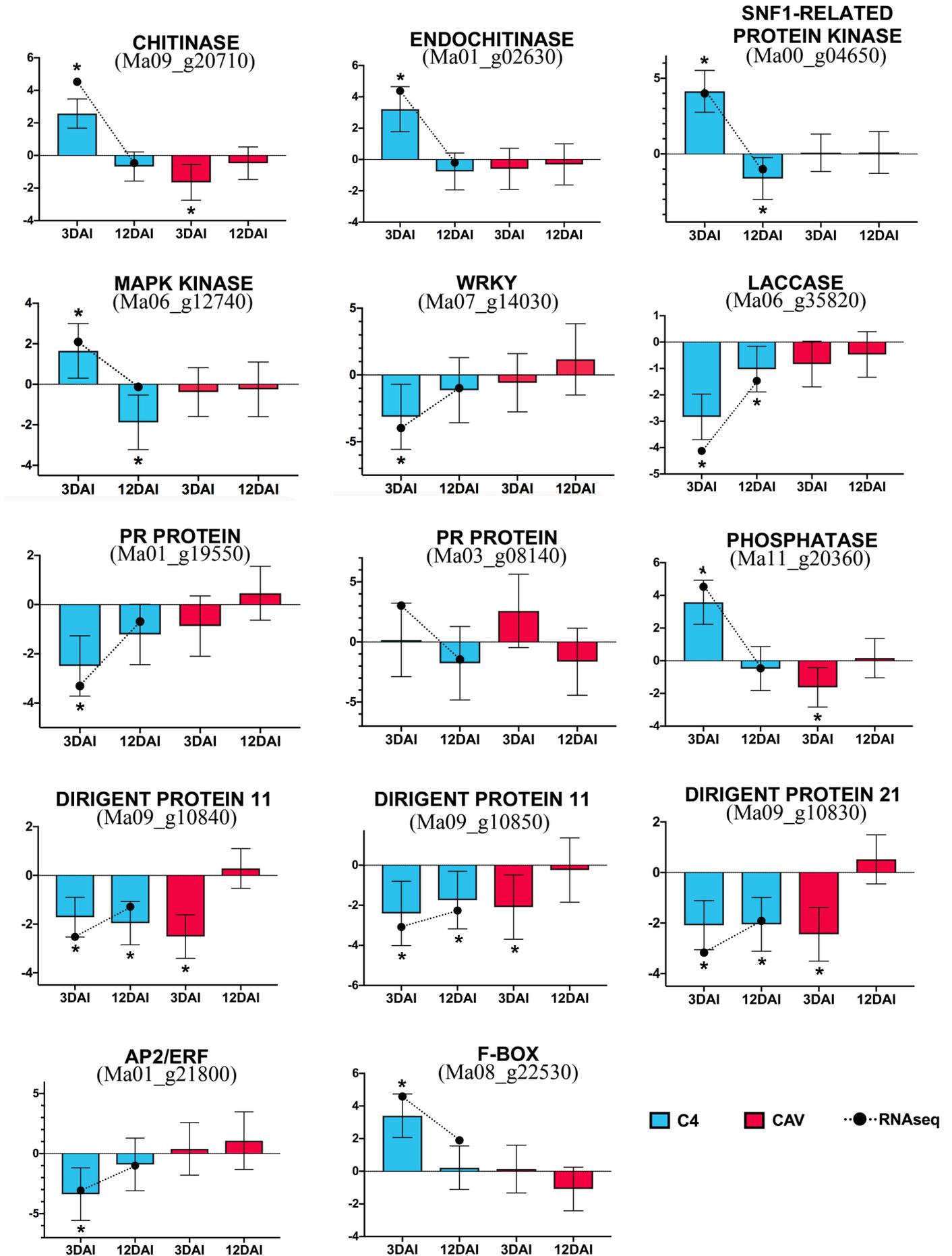


Figura 27. Níveis de expressão relativa (diferença entre inoculado e controle) dos genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em resistência nos genótipos Calcutta 4

e Cavendish Grande Naine de *Musa acuminata* infectados com *Pseudocercospora musae* aos 3 e 12 dias após inoculação, em comparação com o RNA-seq (Log2FC). * Modulação gênica estatisticamente significativa entre o tratamento inoculado e o controle.

Dessa forma, pode-se observar que tanto o gene da quitinase quanto o da endoquitinase demonstraram uma maior tendência à superexpressão apenas na variedade resistente e somente na fase inicial da interação.

Foi observada modulação significativa em C4 do gene *SNF1-related protein kinase regulatory subunit beta-1-like (Ma00_g04650)*, o qual apresentou expressão relativa de 4,14 no estágio inicial da interação, e de -1,63 na fase mais tardia. Em CAV, a expressão relativa verificada foi próxima a 0 em ambos os *timepoints*. Esse gene tende a sofrer modulação significativa somente no genótipo resistente, com tendência a superexpressão no início da infecção.

O gene *Ma06_g12740*, que codifica para uma *Mitogen-activated protein kinase kinase 9-like* (MAPKK ou MKK), apresentou-se significativamente superexpresso apenas aos 3 DAI de C4, em comparação com o tratamento não inoculado, tendo significativa regulação negativa aos 12 DAI. Em CAV, foi observada repressão em ambos os tempos de coleta analisados, evidenciando sua tendência de superexpressão apenas na fase inicial da interação em C4.

O fator de transcrição do tipo WRKY, codificado pelo gene *Ma07_g14030*, sofreu significativa repressão em C4 aos 3 DAI, sofrendo um aumento da sua expressão aos 12 DAI. Não houve regulação estatisticamente significativa em CAV, com expressão relativa de -0,59 e 1,17 aos 3 DAI e aos 12 DAI, respectivamente. O resultado corrobora os dados obtidos *in silico* a partir do RNA-seq, os quais mostram que aos 3 DAI o Log2 de Fold Change foi igual a -3,98 em C4.

A proteína lacase, codificada pelo gene *Ma06_g35820*, sofreu repressão em todos os tratamentos analisados, em ambos os genótipos. Em C4, a repressão foi significativa tanto em 3 DAI, quanto em 12 DAI, em relação ao controle. Esse resultado confirma o obtido no RNA-seq, onde aos 3 DAI foi observado um log2FC igual a -4,12 em C4.

As proteínas PR também estão possivelmente envolvidas em respostas de defesa, assim duas foram selecionadas para validação por reações de qPCR. Os genes *Ma01_g19550* e *Ma03_g08140* demonstraram modulação tanto em CAV, quanto em C4. O primeiro gene obteve expressão relativa igual a -2,50, sendo estatisticamente significativa em relação ao tratamento não inoculado para C4, aos 3 DAI, e, aos 12 DAI, sofreu um aumento para -1,22. No genótipo suscetível, foi observada a repressão do gene na fase inicial e um aumento de

expressão no estágio tardio da interação. Os resultados obtidos para esse gene validaram as análises *in silico* realizadas a partir do RNA-seq. O gene *Ma03_g08140* apresentou, em C4, expressão relativa de 0,17 no estágio inicial, diferente do encontrado *in silico*, e de -1,77 na fase tardia da infecção, semelhante ao resultado do RNA-seq. Em CAV, houve superexpressão aos 3 DAI e repressão em 12 DAI.

O gene da fosfatase (*Ma11_g20360*), cujo log2FC foi igual a 4,52 aos 3 DAI no RNA-seq, evidenciou superexpressão significativa na fase inicial da interação, e, aos 12 DAI, o gene foi reprimido, corroborando os dados obtidos *in silico*. Para CAV, no primeiro timepoint ocorreu uma repressão expressiva do gene, enquanto que no segundo houve um aumento na sua regulação.

Foram avaliados ainda três genes que codificam para proteínas dirigentes: *Ma09_g10830*, *Ma09_g10840* e *Ma09_g10850*. Todos mostraram uma expressão gênica semelhante para C4, onde foram modulados negativamente em ambos os tempos de coleta. Os genes *Ma09_g10830* e *Ma09_g10840* apresentaram expressão análoga também para CAV, sendo a expressão relativa do primeiro igual a -2,44 aos 3 DAI e de 0,52 aos 12 DAI; e do segundo gene igual a -2,51 na fase inicial e de 0,28 no estágio tardio. O gene *Ma09_g10850* demonstrou repressão em ambos os *timepoints* em CAV, sofrendo um aumento da expressão aos 12 DAI em comparação com o observado em 3 DAI. Os três genes avaliados por RT-qPCR apresentaram resultados semelhantes aos obtidos através das análises *in silico* do RNA-seq de C4.

O gene *Ma01_g21800*, que codifica para *AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like*, apresentou-se reprimido em C4 e superexpresso em CAV. Na variedade resistente, ocorreu uma repressão significativa aos 3 DAI, com um aumento da expressão aos 12 DAI, corroborando o encontrado *in silico*. No genótipo suscetível, ocorreu um aumento da expressão em 12 DAI em relação ao demonstrado no estágio inicial.

Foi analisado ainda o gene da proteína F-box (*Ma08_g22530*), o qual estava significativamente superexpresso (3,40) aos 3 DAI em C4, sofrendo uma redução da sua expressão (0,22) na fase tardia. O mesmo foi regulado positivamente (0,14) em CAV, aos 3 DAI, alterando sua expressão gênica aos 12 DAI, onde foi modulado negativamente (-1,09). Foi observada uma tendência do gene ser mais expresso em C4 do que em CAV. Esses resultados comprovam os obtidos através das análises do RNA-seq.

6.6. Seleção de genes-candidatos para futura introgressão em *Musa*

Dentre os DEGs envolvidos em resistência no genótipo Calcutta 4 durante a interação com *P. musae*, a partir dos dados de expressão gênica obtidos *in silico* e das análises da validação por RT-qPCR, foram selecionados seis genes-candidatos para serem futuramente introgridos em *Musa*, de modo a avaliar sua superexpressão em cultivares suscetíveis a *P. musae*.

Os dois principais genes selecionados são o da quitinase (Ma09_g20710) e o da endoquitinase (Ma01_g02630), pertencentes a família das proteínas PR, os quais apresentaram-se superexpressos em Calcutta 4 aos 3 DAI, tanto nos dados obtidos *in silico* quanto na validação, e a qPCR evidenciou que esses genes são reprimidos em Cavendish. A expressão dos demais genes-candidatos não foi validada por RT-qPCR.

Foram selecionados ainda os genes *Disease resistance protein RPS2-like* (Ma07_g08480), *Ethylene-responsive transcription factor 12* (Ma06_g01940), *Ethylene-responsive transcription factor ERF003-like* (Ma05_g25230) e *Ethylene-responsive transcription factor LEP* (Ma03_g02220). Todos esses genes apresentaram modulação positiva aos 12 DAI em Calcutta 4 (Tabela 17).

Tabela 17. Seleção de genes-candidatos envolvidos na resistência de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 (C4) a *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após infecção (DAI), para futura introgressão em genótipos suscetíveis de *Musa*, como o Cavendish Grande Naine (CAV). A cor vermelha indica a superexpressão (↑) do gene no tecido inoculado em relação ao controle, enquanto que a cor azul indica sua repressão (↓).

Gene ID	Função Putativa	log2FC RNAseq		Validação RT-qPCR				Referência
		C4 3DAI	C4 12DAI	C4 3DAI	C4 12DAI	CAV 3DAI	CAV 12DAI	
Ma09_g20710	Chitinase 6	3.03	-	↑	↓	↓	↓	HU <i>et al.</i> , 2013; KOVÁCS <i>et al.</i> , 2013.
Ma01_g02630	Endochitinase-like	4.37	-	↑	↓	↓	↓	HU <i>et al.</i> , 2013; KOVÁCS <i>et al.</i> , 2013.
Ma07_g08480	Disease resistance protein RPS2-like	-	5.75	-	-	-	-	DALE <i>et al.</i> , 2017.

Continuação

Tabela 17. Seleção de genes-candidatos envolvidos na resistência de *Musa acuminata* var. Calcutta 4 (C4) a *Pseudocercospora musae*, aos 3 e 12 dias após infecção (DAI), para futura introgressão em genótipos suscetíveis de *Musa*, como o Cavendish Grande Naine (CAV). A cor vermelha indica a superexpressão (↑) do gene no tecido inoculado em relação ao controle, enquanto que a cor azul indica sua repressão (↓).

Gene ID	Função Putativa	log2FC RNaseq		Validação RT-qPCR				Referência
		C4 3DAI	C4 12DAI	C4 3DAI	C4 12DAI	CAV 3DAI	CAV 12DAI	
<i>Ma06_g01940</i>	<i>Ethylene-responsive transcription factor 12</i>	-	2.11			-		CHEN <i>et al.</i> , 2008.
<i>Ma05_g25230</i>	<i>Ethylene-responsive transcription factor ERF003-like</i>	-	4.16			-		CHEN <i>et al.</i> , 2008.
<i>Ma03_g02220</i>	<i>Ethylene-responsive transcription factor LEP</i>	-	5.02			-		CHEN <i>et al.</i> , 2008.

7. DISCUSSÃO

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo. Dentre as variedades de *Musa* existentes, Calcutta 4 é considerada uma importante fonte de resistência a fungos, bactérias e nematoides. Esse genótipo é um diplóide selvagem fértil, e atua como um doador de genes de resistência, sendo amplamente empregado em programas de melhoramento de cultivares comerciais (MILLER *et al.*, 2010). Devido a isso, C4 tem sido utilizado como um modelo para a genômica comparativa em arroz (LESCOT *et al.*, 2008), na genômica funcional (SANTOS *et al.*, 2005), e na descoberta de potenciais genes associados a resistência (AZHAR; HESLOP-HARRISON, 2008; MILLER *et al.*, 2008; RODRIGUEZ *et al.*, 2020).

Os resultados das análises microscópicas realizadas em folhas de bananeira inoculadas com *Pseudocercospora musae* foram corroborados por Passos e colaboradores (2013b), que realizaram estudo através de microscopia eletrônica de varredura, no qual evidenciaram que após 3 DAI já era possível observar os tubos germinativos e o crescimento das hifas de *P. musae* em folhas de *M. acuminata* Cavendish Grande Naine. Aos 6 DAI, foi constatada a penetração das hifas nos estômatos. Conforme estudo realizado por Freitas e colaboradores (2017), a infecção por *P. musae* inicia-se com a germinação dos esporos, que ocorre entre 12h e 36h após a inoculação, e os tubos germinativos penetram os estômatos após 4 a 6 DAI. A partir de 36 DAI, é notada a colonização dos parênquimas esponjoso e paliçádico (FREITAS *et al.*, 2017; STOVER, 1980). Segundo Cavalcante e colaboradores (2011), no quinto dia após a inoculação de *P. fijiensis* em *M. acuminata* Calcutta 4, ocorre a penetração dos estômatos. Aos 10 DAI, já é possível observar lesões necróticas nos estômatos, a presença de clorose e modificações na parede celular. Com base nesses estudos, foi definido que 3 e 12 DAI seriam os *timepoints* ideais para o presente trabalho.

Foi observado nas análises microscópicas desse estudo que os isolados de *P. musae* possuem maior dificuldade para aderir e germinar na superfície foliar em Calcutta 4. Estudos anteriores demonstraram a presença de cera cuticular nesse genótipo (cerca de 2.000 $\mu\text{g dm}^{-2}$), sendo uma das suas principais funções a proteção da planta contra patógenos (SAMPANGI-RAMAIHAH *et al.*, 2016). Entretanto, Sánchez-García e colaboradores (2010) observaram que não há diferenças significativas na quantidade de cera de Calcutta 4 em comparação com a de Cavendish Grande Naine, concluindo que as diferenças observadas entre as respostas de ambos os genótipos ao fungo *P. fijiensis* se deve a fatores bioquímicos. A cera epicuticular ajuda a prevenir a germinação de esporos fúngicos, e a sua composição pode variar entre genótipos de

uma mesma espécie, o que pode ter influenciado na adesão e na germinação dos conídios do fungo (CARVER; GURR, 2006).

Diversos genes estão envolvidos na síntese e no transporte de compostos cerosos para a matriz extracelular em direção à cutícula foliar, como a proteína cetoacil sintase, a proteína carreadora de acil, a proteína Eceriferum e os transportadores do tipo ABC (BERNARD; JOUBÈS, 2013; SAMPANGI-RAMAIHAH *et al.*, 2019; SAMUELS; KUNST; JETTER, 2008; WANG *et al.*, 2020). Nesse trabalho, foram superexpressos aos 3 DAI, em C4, os genes *3-ketoacyl- synthase 11 (Ma04_g24510)*, *ABC transporter G family member (Ma11_g10440)*, *acyl carrier protein 4 (Ma02_g23300)* e *protein ECERIFERUM 3 (Ma01_g09200)*, e aos 12 DAI, os genes *Ma02_g06540*, *Ma02_g08730*, *Ma09_g08290*, *Ma11_g10440*, *Ma05_g30820*, *Ma06_g34970*, que codificam para a proteína *ABC transporter G family member*. Um gene homólogo a esse último foi identificado também em *M. acuminata* ‘Manoranjitham’ após infecção por *P. eumusae* (UMA *et al.*, 2016). A proteína Eceriferum 3 encontrada nesse estudo, responsável pela síntese de cera epicuticular, não foi descrita em nenhum outro trabalho de transcriptoma abordando a interação planta-patógeno envolvendo *Musa*.

Outro fator que pode estar envolvido na defesa de C4 a *P. musae* é a densidade estomática. A densidade estomática entre os genótipos C4 e CAV são significativamente diferentes. Em C4 valor médio foi de 224,54 estômatos/mm², enquanto em CAV foi de 154,80 estômatos/mm² (SÁNCHEZ-GARCÍA *et al.*, 2010). A densidade estomática é uma das barreiras físicas que impedem a penetração do patógeno na planta, além de indicar a eficiência de uma espécie no processo de respiração e fotossíntese. Isso contribui para a formação de compostos químicos que possuem um efeito fungitóxico, responsáveis por retardar o avanço dos patógenos na folha (BEVERAGGI; MOURICHON; SALLÉ, 1995).

A técnica de RNA-Seq é considerada eficiente para a geração de informações do perfil de expressão gênica (CASTAÑEDA *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2012; NOAR; DAUB, 2016). Assim, esse foi o método de sequenciamento utilizado para investigar os genes de resistência em Calcutta 4 após inoculação com *P. musae*. Os resultados da análise quantitativa da expressão de genes evidenciaram 1.073 DEGs aos 3 DAI, e 976 aos 12 DAI, ambos em relação ao controle não inoculado. O panorama geral dos genes envolvidos em defesa evidenciou que a resposta da planta ao fungo ocorreu tanto nos dias iniciais do processo infectivo, quanto na fase mais avançada da infecção. Estudos anteriores indicaram que os mecanismos de defesa da variedade de bananeira resistente Yangambi foram ativados logo após a penetração do fungo *P. fijiensis* nos estômatos foliares, o que ocorreu do 3º ao 6º dia após as plantas serem desafiadas (BEVERAGGI; MOURICHON; SALLÉ, 1995), corroborando os resultados obtidos.

Foram observados em C4 diversos genes potencialmente envolvidos nas vias de respostas a estresse biótico que também foram identificados em outros estudos em *Musa*. Nesse trabalho, foram identificados genes relacionados a ROS, como as peroxidases que foram moduladas positivamente em 3 DAI (*Ma06_g10290*, *Ma11_g19280*) e em 12 DAI (*Ma07_g09210*, *Ma06_g19750*, *Ma09_g17630*, *Ma06_g16130*, *Ma09_g14070*). As peroxidases fazem parte das proteínas PR, assim como as quitinases, e, ao serem expressas em tecidos vegetais infectados, podem resultar na produção de ROS, na tentativa de impedir o crescimento do patógeno e sua dispersão nos tecidos saudáveis da planta (BOLWELL; WOJTASZEK, 1997; HIRAGA *et al.*, 2001). Resultados semelhantes foram encontrados em Calcutta 4 em resposta a *P. musae*, onde a infecção resultou no aumento da produção de ROS, de peroxidases e proteínas PRs (PASSOS *et al.*, 2013). Em *M. acuminata* Cavendish cv. 'Guijiao 9', genótipo resistente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) raça tropical 4, também apresentou genes que codificam proteínas homólogas às peroxidases com modulação positiva durante a interação com Foc (SUN *et al.*, 2019).

De modo geral, nesse estudo foram observados genes diferencialmente expressos que codificam para PRRs, MAPKs, WRKYs, PRs, fatores de transcrição (TF) NAC e MYB, quitinases, NLRs e glutathione S-transferase. Na interação de *M. acuminata* genótipo 4297-06 com o nematoide *Meloidogyne incognita*, também foram encontradas evidências de respostas imunes que incluíam a superexpressão de genes homólogos aos das proteínas PRRs, peroxidases, TFs MYB e NAC, das envolvidas na síntese de calose e das proteínas PR (CASTAÑEDA *et al.*, 2017). Em Cavendish, desafiada com *P. musae*, foram relatadas também as proteínas F-box, calmodulina, WRKY, MAPK, glutathione S-transferase e a proteína taumatina, envolvida na degradação da parede celular fúngica (PASSOS *et al.*, 2013).

Foram observadas em Calcutta 4 desafiada com o fungo *P. musae* diversos genes potencialmente envolvidos em respostas de PTI, ETI e em SAR. Vários dos DEGs encontrados estão potencialmente relacionados aos diferentes mecanismos de defesa inatos da planta. Os genes de defesa basal, responsáveis pelas respostas de imunidade desencadeada por PAMPs (PTI), também foram identificados neste trabalho. Dentre esses, encontram-se os receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), presentes na membrana plasmática, responsáveis por reconhecer os PAMPs, ativando a via de defesa vegetal. O reconhecimento dos agentes patogênicos deve ocorrer de forma imediata para que as respostas de defesa sejam devidamente eficientes e capazes de controlar a infecção (SOMSSICH; HAHNBROCK, 1998). Os PRRs são constituídos por proteínas RLKs (*Receptor-Like Kinases*) e RLPs (*Receptor-Like Proteins*) (TANG; WANG; ZHOU, 2017).

Neste trabalho, foram identificados 78 genes com expressão diferencial que codificam proteínas homólogas aos receptores PRRs, como o gene BAK1 (*Ma02_g05100*), que codifica para a proteína *Brassinosteroid Insensitive 1-associated receptor kinase 1-like*. Foi demonstrado que o gene BAK1 está envolvido em PTI, atuando no controle de morte celular programada (PCD - *programmed cell death*), e contribuindo para a resistência a doenças em *Arabidopsis* contra patógenos hemibiotróficos, como a bactéria *Pseudomonas syringae*, e biotróficos, como o oomiceto *Hyaloperonospora arabidopsidis* (KEMMERLING *et al.*, 2007; POSTEL *et al.*, 2010; ROUX *et al.*, 2011). Um gene homólogo ao BAK1 foi superexpresso apenas em 3 DAI, bem como os genes *Ma04_g02550*, *Ma05_g11470*, *Ma10_g27320* e *Ma11_g11880*, sugerindo que houve a ativação dessa via ainda no início da infecção, e confirmando que o genótipo resistente foi capaz de realizar um rápido reconhecimento do patógeno, podendo ativar as vias de defesa da planta de forma eficiente, conforme Somssich e Hahlbrock (1998).

Foram identificados também diversos genes que codificam para proteínas da classe LRR-RLKs, dos quais dois foram superexpressos em 3 DAI (*Ma10_g27320*, *Ma11_g11880*) e 10 foram modulados positivamente em 12 DAI (*Ma03_g31820*, *Ma03_g06850*, *Ma07_g28510*, *Ma05_g14250*, *Ma09_g17070*, *Ma04_g07360*, *Ma02_g14630*, *Ma05_g22210*, *Ma06_g33510*, *Ma04_g38240*). Receptores LRR-RLKs foram previamente identificados na defesa basal de *M. acuminata* genótipo 4297-06 (tolerante) ao nematoide *Meloidogyne incognita*, sendo superexpressos apenas no início da infecção, aos 3 DAI (CASTAÑEDA *et al.*, 2017).

Com o desenvolvimento do processo infeccioso, aos 12 DAI, foram observados 18 genes de PRRs superexpressos, indicando um aumento das respostas de PTI com a evolução da infecção. Na interação entre *Arabidopsis* e *F. oxysporum*, esses receptores foram induzidos em ambos os momentos analisados (1 e 6 DAI), sugerindo que sua superexpressão contínua ocorre devido ao reconhecimento de múltiplos efetores liberados pelo patógeno (ZHU *et al.*, 2013). Tal fato justificaria o ocorrido no presente trabalho, onde o perfil de expressão dos genes que codificam PRRs demonstra que a ação destes ocorre tanto na fase inicial quanto em um momento mais avançado da infecção.

Após o reconhecimento dos PAMPs pela planta, através dos PRRs, uma série de respostas de PTI são ativadas. Os receptores PRRs, por sua vez, ativam a via MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), responsável por transmitir e amplificar sinais para as proteínas quinases, envolvidas nas respostas aos estímulos externos, como o ataque de fitopatógenos (BENT; MACKEY, 2007; ZHANG; KLESSIG, 2001). Nesse trabalho, foi observado que aos 3 DAI o gene *MKK9* (*Ma06_g12740*) foi superexpresso, e, aos 12 DAI, foram modulados

positivamente os genes *MKK10* (*Ma05_g13990*) e *MPK9* (*Ma04_g03870*). A especificidade das respostas das MAPKs aos diferentes estímulos é possivelmente determinada pela sua identidade, pelo número de MAPKs ativadas e pela cinética e magnitude da sua ativação, podendo resultar em respostas das vias do JA, ET, fitoalexinas, HR, SAR, de genes associados à defesa, entre outros (OUAKED *et al.*, 2003; REN *et al.*, 2008; REN; YANG; ZHANG, 2002; ZHANG; KLESSIG, 2001).

Em *Arabidopsis*, foi demonstrado que MKK9 é responsável por induzir a biossíntese de ET e de camalexina, uma fitoalexina; que o efector HopF2, proveniente de *Pseudomonas syringae*, interage com MKK10; e que MPK9 regula positivamente a sinalização de ABA na indução do fechamento estomático, a produção de ROS e a sinalização de cálcio (JAMMES *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2010; XU *et al.*, 2008; YOO *et al.*, 2008). Considerando os resultados desse estudo, a ativação de MAPK na fase inicial indica que as respostas de defesa foram iniciadas de forma precoce, não havendo evidências da síntese de ET ocasionada por MAPK nesse caso, e nem de fitoalexinas. Entretanto, as vias de ROS, de cálcio e de ABA estão positivamente reguladas em 12 DAI, podendo ter relação com as MAPKs encontradas.

Na via de MAPK, o cálcio é um componente essencial na cascata de transdução de sinais (CHENG *et al.*, 2002). Inclusive, estudos sugerem que há possível envolvimento da cascata de MAPKs na sinalização do Ca^{2+} (NOMURA *et al.*, 2012). No presente trabalho, foram encontrados mobilizadores de íons Ca^{2+} em ambos os momentos analisados. Aos 3 DAI, esses foram suprimidos (*Ma04_g33010*, *Ma10_g04830*, *Ma05_g28740*, *Ma04_g23780*, *Ma02_g16730*, *Ma07_g22610*, *Ma09_g01690*, *Ma10_g18710*, *Ma04_g14610*), enquanto que aos 12 DAI a maioria apresentou regulação positiva (*Ma09_g16970*, *Ma08_g22430*, *Ma03_g31290*, *Ma06_g11330*, *Ma07_g13390*, *Ma01_g17160*, *Ma10_g25710*), indicando que sua ativação ocorre após um maior tempo de infecção em C4. O Ca^{2+} é um mensageiro secundário essencial nas cascatas de transdução de sinais das plantas. As proteínas de ligação ao cálcio possuem importante papel nas respostas a estresses bióticos e abióticos, sendo capazes de agir como receptores e sensores dos sinais de cálcio, captando as mudanças que ocorrem nos níveis de Ca^{2+} intercelular e citosólico (CHENG *et al.*, 2002; FENG *et al.*, 2011).

As cascatas de MAPK constituem componentes chave da sinalização de defesa da planta. Atuando como intermediários, os fatores de transcrição WRKY podem se associar com MAP quinases no núcleo celular (PANDEY; SOMSSICH, 2009; RUSHTON *et al.*, 2010). Foram encontrados 35 genes para essa superfamília de fatores de transcrição, dos quais um foi modulado positivamente aos 3 DAI (*Ma06_g26900*) e seis foram superexpressos aos 12 DAI (*Ma06_g22520*, *Ma07_g26170*, *Ma04_g33990*, *Ma06_g04010*, *Ma10_g27260*,

Ma04_g24800), indicando a progressão das respostas de defesa de acordo com o tempo de infecção para essa via. Em *Musa*, já foi demonstrada a importância das proteínas WRKY no processo imune, entretanto sabe-se que a superexpressão apenas desse fator de transcrição não é capaz de impedir uma infecção, mas pode ser responsável por controlar a expressão de outros genes envolvidos nas vias de defesa a estresses bióticos em bananeira (SHEKHAWAT; GANAPATHI, 2013).

As respostas de PTI compreendem também as proteínas relacionadas à patogênese (PR), que são definidas como proteínas codificadas pela planta hospedeira, que são induzidas em situações de estresse biótico. As PRs localizam-se intra e extracelularmente, e podem se acumular em resposta ao ataque de patógenos, não apenas no local da infecção, mas também podem ser induzidos sistemicamente, estando associados ao desenvolvimento de resistência sistêmica adquirida (SAR), atuando contra novas infecções (ALI *et al.*, 2018; VAN LOON; VAN STRIEN, 1999). No presente trabalho, foram identificadas aos 3 DAI duas PRs moduladas positivamente (*Ma03_g08150* e *Ma03_g08140*), ocorrendo apenas modulação negativa nas PRs aos 12 DAI. Ao menos dez famílias de proteínas PR possuem componentes que atuam diretamente contra patógenos fúngicos (CAMPOS *et al.*, 2007). As PR-1 (*pathogenesis-related protein 1*), que é a proteína codificada pelos dois genes superexpressos na fase inicial da interação, foram associadas com uma maior resistência contra os oomicetos e são frequentemente utilizadas como marcadores de vias de defesa dependentes do ácido salicílico em plantas (VAN LOON; REP; PIETERSE, 2006).

Após a presença do patógeno ter sido reconhecida pela planta e ocorrer a ativação das vias de PTI, o agente patogênico pode ter a capacidade de suplantar essas respostas com a liberação de efetores. Esses são reconhecidos pela planta através das proteínas de resistência intracelulares, codificadas por genes de resistência (genes R), ativando a segunda via de defesa vegetal, denominada ETI (*Effector-Triggered Immunity*) (JONES; DANGL, 2006). Foram identificados, nesse estudo, 17 genes NRLs sendo modulados. Dos 11 DEGs identificados aos 3 DAI, um foi regulado positivamente (*Ma09_g28690*), e, aos 12 DAI, cinco genes apresentaram-se superexpressos (*Ma07_g08480*, *Ma09_g02660*, *Ma03_g23340*, *Ma09_g02650* e *Ma09_g02400*). Passos e colaboradores (2013b) evidenciaram 14 genes NLRs na interação de C4 e *P. musae*, entretanto esse trabalho foi desenvolvido utilizando a técnica de pirosequenciamento 454 da Roche, na qual não é possível determinar os genes diferencialmente expressos.

O gene RPM1 (*putative disease resistance protein RPM1*) apresentou modulação positiva em *Musa balbisiana* 12 horas após infecção por *Xanthomonas campestris* pv.

musacearum (TRIPATHI *et al.*, 2019). Um homólogo desse gene foi superexpresso nesse trabalho aos 3 DAI (*Ma09_g28690*), representando uma potencial ativação desse nas fases iniciais da infecção. Em geral, as repostas de ETI são observadas mais tardiamente, entretanto, nesse trabalho o comportamento evidenciado sugere que as primeiras repostas de ETI começaram ainda nos momentos iniciais da infecção, com a provável liberação de efetores pelo patógeno e o reconhecimento desses pelas proteínas R. Porém, foi necessário um maior tempo para que ocorressem as repostas mais robustas da segunda via de defesa vegetal.

A ativação das repostas de ETI desencadeia o estresse oxidativo, a indução da via de sinalização do ácido salicílico, a entrada de íons Ca^{2+} e H^+ nas células, e as repostas de hipersensibilidade culminando em morte celular programada, com o objetivo de limitar a dispersão da doença no tecido infectado (BOLWELL *et al.*, 2002). Os genes que codificam proteínas mobilizadoras de cálcio foram superexpressas aos 12 DAI, o indica possíveis alterações nos níveis de Ca^{2+} citoplasmático e/ou intercelular, resultante das repostas dessa via de defesa. Análises anteriores demonstraram que a sinalização de cálcio é capaz de ativar o estresse oxidativo, conduzindo à reação de hipersensibilidade e à morte celular programada em soja (LEVINE *et al.*, 1996).

Alguns dos genes diferencialmente expressos foram exclusivos a esse trabalho para *Musa*, como *EID1-like F-box protein 3* (*Ma08_g22530*), *strigolactone esterase* (*Ma03_g16390*, *Ma01_g22120*, *Ma06_g09370*), *Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 2* (*Ma00_g00560*, *Ma03_g03880*, *Ma10_g15290*), *Protein NRT1/ PTR FAMILY* (*Ma07_g01700*, *Ma04_g18120*, *Ma02_g18610*, *Ma09_g17280*, *Ma03_g09660*, *Ma11_g06270*, *Ma11_g02430*, *Ma05_g12690*, *Ma10_g22490*, *Ma06_g06790*, *Ma07_g08280*, *Ma04_g37230*, *Ma08_g10980*, *Ma03_g18690*, *Ma06_g24230*), *Protein YLS* (*Ma02_g01270*, *Ma09_g22130*, *Ma09_g30270*, *Ma03_g03430*, *Ma05_g14370*, *Ma11_g25010*, *Ma09_g30260*, *Ma08_g34830*, *Ma07_g03380*), *Type I inositol 1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase* (*Ma03_g15990*, *Ma09_g23870*, *Ma05_g19550*, *Ma07_g02370*, *Ma07_g11080*, *Ma07_g01430*), *Cationic peroxidase SPC4-like* (*Ma10_g15940*), *Diacylglycerol O-acyltransferase 2-like* (*Ma05_g26140*), *Protein kinase PINOID-like* (*Ma02_g14850*), *Protein RADIALIS-like* (*Ma06_g23530*, *Ma04_g14910*, *Ma02_g10880*, *Ma02_g10870*), *Tryptophan synthase alpha chain-like* (*Ma10_g09700*). Dentre estes, o gene *Protein RADIALIS* é um membro da família dos fatores de transcrição MYB, que estão envolvidos em repostas de defesa vegetal contra fitopatógenos (HAMAGUCHI *et al.*, 2008; YANHUI *et al.*, 2006).

Dentre os DEGs exclusivos a esse estudo em *Musa*, estão os envolvidos na biossíntese e na organização da parede celular, como *3-Ketoacyl- synthase 11* (*Ma04_g24510*,

Ma07_g08400), *Cellulose synthase D2* (*Ma04_g19460*, *Ma11_g21750*), *Cellulose synthase-like protein D5* (*Ma02_g17080*), *Covalently-linked cell wall protein 14-like* (*Ma06_g16120*), *Delta(24)-sterol reductase-like* (*Ma10_g25060*), *Galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase-like* (*Ma10_g25060*), *KNR4/SMI1 homolog* (*Ma03_g05180*), *pEARLII-like lipid transfer* (*Ma11_g19450*) e *Walls are thin 1* (*Ma01_g02070*), que participam da síntese de celulose, de lignina, de fibras e dos demais componentes presentes nas várias camadas dessa estrutura (BERNARD; JOUBÈS, 2013; SAMPANGI-RAMAIAH *et al.*, 2019; SAMUELS; KUNST; JETTER, 2008; WANG *et al.*, 2020). Além disso, já foi relatado que a superexpressão de genes da família do *pEARLII-like lipid transfer* resultou em resistência em *Arabidopsis* ao fungo *Botrytis cinerea* (CHASSOT; NAWRATH; MÉTRAUX, 2007).

Os citocromos P450 estão envolvidos na síntese de vários metabólitos secundários, incluindo terpenos e substâncias envolvidas na defesa vegetal (YU *et al.*, 2011; ZHAO *et al.*, 2014). Foram identificados neste trabalho 23 enzimas P450 (*Ma08_g21020*, *Ma10_g06670*, *Ma03_g15420*, *Ma08_g32910*, *Ma06_g05150*, *Ma07_g13070*, *Ma10_g28420*, *Ma08_g30010*, *Ma06_g22120*, *Ma09_g27340*, *Ma06_g32450*, *Ma10_g08690*, *Ma02_g15450*, *Ma04_g39420*, *Ma05_g12190*, *Ma04_g21730*, *Ma04_g33170*, *Ma11_g03400*, *Ma08_g27070*, *Ma03_g26150*, *Ma02_g10440*, *Ma03_g20430*, *Ma09_g31160*), das quais quatro foram superexpressas aos 3 DAI, e sete foram reguladas positivamente aos 12 DAI. Os genes *Ma04_g39420* e *Ma07_g13070* foram upregulados em ambos os *timepoints*. Além de participar da síntese de metabólitos secundários, a ampla família de enzimas do tipo citocromo P450 está envolvida em diversas funções biológicas e catalíticas nas plantas, como a peroxidação e a hidroxialquilação (RASOOL; MOHAMED, 2015; ZHAO *et al.*, 2014).

Participam ainda das vias dos metabólitos secundários os seguintes genes, exclusivos a este trabalho em *Musa*: *Alpha-humulene 10-hydroxylase* (*Ma06_g19940*), *Transcription factor BEE* (*Ma08_g14610*), *(3S,6E)-nerolidol synthase 1-like* (*Ma09_g21200*), *Dirigent protein 21-like* (*Ma09_g10830*, *Ma10_g16880*), *Flavone O-methyltransferase 1-like* (*Ma02_g06370*), *Isoflavone 2'-hydroxylase-like* (*Ma07_g27950*), *Malonyl-CoA:anthocyanidin 5-O-glucoside-6''-O-malonyltransferase-like* (*Ma06_g37170*, *Ma05_g13180*, *Ma05_g13190*). Os metabólitos secundários possuem importante papel antifúngico, além de terem participação na resistência sistêmica adquirida (PUSZTAHELYI; HOLB; PÓCSI, 2015).

Os fitormônios também estão envolvidos na regulação da defesa da planta aos patógenos, participando das repostas de ETI, que envolvem a regulação do equilíbrio das vias metabólicas hormonais, como as do ácido salicílico (SA), do etileno (ET) e do ácido jasmônico (JA) (ANDERSON *et al.*, 2004; BROWSE, 2009; PIETERSE *et al.*, 2012). O SA foi regulado

negativamente aos 12 DAI (Ma04_g03110), enquanto o JA foi upregulado aos 3 DAI (Ma05_g26760). Os genes do ET aos 3DAI apresentaram-se, em sua maioria, downregulados (Ma05_g26940, Ma06_g19400, Ma04_g21570, Ma04_g32660, Ma01_g19330, Ma05_g11800, Ma02_g23280, Ma04_g21160, Ma03_g24970, Ma07_g05490, Ma11_g19320, Ma08_g23210, Ma11_g23940), e aos 12DAI tiveram genes superexpressos (Ma06_g01940, Ma05_g04410, Ma07_g00730, Ma03_g33690, Ma05_g25230, Ma03_g02220) e genes reprimidos (Ma05_g22010, Ma02_g23680, Ma09_g22060, Ma05_g29230, Ma09_g13810, Ma08_g07830, Ma06_g06000, Ma07_g11230, Ma05_g12310). Outros hormônios também presentes nesse trabalho participam das vias de resistência na planta, ativando a expressão de importantes genes de defesa, como é o caso do ácido abscísico, da auxina, do brassinosteróide, do ácido giberélico, da citocinina e da estrigolactona (LI *et al.*, 2019a).

Nesse trabalho, foi observado que, no geral, as respostas de defesa em *Musa* ocorreram na fase mais avançada da infecção, com a ativação de genes envolvidos em sinalização, fatores de transcrição ERF, MYB, NAC e WRKY, vias relacionadas aos fitormônios e aos metabólitos secundários, receptores PRR, MAPKs, vias de degradação de proteínas e de síntese de compostos da parede celular. Tudo isso indica que as respostas em Calcutta 4 ocorrem de forma mais tardia, o que pode estar relacionado a possível liberação de substâncias pelo fungo, como celulases e pectinases, por exemplo, responsáveis por degradar a parede celular vegetal. Com isso, a planta expressa genes relacionados à síntese e organização da parede celular, como foi observado nesse estudo, com maior expressão aos 12 DAI. Inclusive, em fungos hemibiotróficos e necrotróficos já foi comprovada a secreção de toxinas fúngicas, enzimas degradantes da parede celular, metabólitos secundários e pequenas proteínas, que tem um papel fundamental em desencadear respostas de defesa na planta (CONDON *et al.*, 2013; HOWLETT, 2006; PUSZTAHELYI; HOLB; PÓCSI, 2015).

8. CONCLUSÕES

O atual cenário da bananicultura mundial com a presença de doenças de pré-colheita, como a Sigatoka-amarela, que ocasiona elevadas perdas de produção principalmente nas cultivares comerciais mais difundidas, como as do grupo Cavendish, evidencia a imprescindibilidade de que avanços consideráveis sejam realizados no melhoramento das culturas de forma a permitir uma resistência durável às doenças. Nesse contexto, esse trabalho fornece dados que contribuem para a elucidação dos mecanismos de defesa em *Musa acuminata* a *Pseudocercospora musae*, com a caracterização de componentes genéticos envolvidos nas cascatas de respostas imunes da planta ao fungo. Foram identificados 612 genes diferencialmente expressos potencialmente envolvidos em defesa e resistência em *M. acuminata* Calcutta 4 a *P. musae*. Os dados obtidos por meio deste estudo não só aumentam a compreensão dos processos moleculares envolvidos na resistência a doenças em *Musa*, mas também oferecem um potencial para o desenvolvimento de uma gestão eficaz da doença com base no melhoramento genético da cultura, através da introgressão de genes-candidatos em cultivares superiores, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de uma ampla e estável resistência a patógenos.

9. PERSPECTIVAS

- Realizar o sequenciamento das amostras de *M. acuminata* Cavendish Grande Naine (genótipo suscetível), inoculadas com *P. musae*, resultantes do bioensaio previamente realizado, para fins de comparação com os genes diferencialmente expressos obtidos em Calcutta 4;
- Realizar introgressão dos genes-candidatos selecionados em cultivares comerciais de *Musa* suscetíveis a *P. musae*, a fim de testar sua eficácia nas respostas de defesa da planta;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, P. K. *et al.* Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Plant Cell Reports**, v. 25, n. 12, p. 1263–1274, 2006.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego, EUA: Elsevier Academic Press, 2005.
- AHMAD, S. *et al.* CRISPR/Cas9 for development of disease resistance in plants: recent progress, limitations and future prospects. **Briefings in Functional Genomics**, v. 19, n. 1, p. 26–39, 2020.
- ALAKONYA, A. E. *et al.* Progress in understanding *Pseudocercospora banana* pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. **Plant Pathology**, v. 67, n. 4, p. 759–770, 2018.
- ALI, S. *et al.* Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. **Microbiological Research**, v. 212–213, p. 29–37, 2018.
- ALTSCHUL, S. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 17, p. 3389–3402, 1 set. 1997.
- ÁLVAREZ, E. *et al.* **Current status of Moko Disease and black Sigatoka in Latin America and the Caribbean, and options for managing them**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2015.
- AMORIM, E. P. *et al.* Quality improvement of cultivated *Musa*. In: PILLAY, M.; TENKOUANO, A. (Eds.). **Banana breeding: progress and challenges**. New York: CRC Press, 2011. p. 252–280.
- AMORIM, E. P. *et al.* New microsatellite markers for bananas (*Musa* spp). **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 2, p. 1093–1098, 2012.
- AMORIM, E. P. *et al.* Melhoramento genético. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 171–200.
- ANDERS, S.; PYL, P. T.; HUBER, W. HTSeq - a Python framework to work with high-throughput sequencing data. **Bioinformatics**, v. 31, n. 2, p. 166–169, 2015.
- ANDERSON, J. P. *et al.* Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 16, n. 12, p. 3460–3479, 2004.
- ANDERSSON, M. *et al.* Progress update: crop development of biofortified staple food crops under harvestplus. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 17, n. 2, p. 11905–11935, 2017.
- ANDOLFO, G. *et al.* Defining the full tomato NB-LRR resistance gene repertoire using genomic and cDNA RenSeq. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 120, 2014.
- ARAÚJO, A. **Caracterização de genes envolvidos em respostas ao estresse biótico nas**

espécies diploides selvagens *Arachis stenosperma* e *Musa acuminata* Calcutta 4.
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

ARZANLOU, M. *et al.* Molecular diagnostics for the Sigatoka disease complex of banana. **Phytopathology**, v. 97, n. 9, p. 1112–1118, 2007.

ARZANLOU, M. *et al.* Multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several novel species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on banana. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 20, p. 19–37, 2008.

ASHBURNER, M. *et al.* Gene Ontology: tool for the unification of biology. **Nature Genetics**, v. 25, n. 1, p. 25–29, maio 2000.

AZHAR, M.; HESLOP-HARRISON, J. S. Genomes, diversity and resistance gene analogues in *Musa* species. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 121, n. 1, p. 59–66, 2008.

BAI, T. T. *et al.* Transcriptome and Expression Profile Analysis of Highly Resistant and Susceptible Banana Roots Challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* Tropical Race 4. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, 2013.

BARROS, F. C. *et al.* Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 231–239, 2010.

BENT, A. F.; MACKAY, D. Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. **Annual Review of Phytopathology**, v. 45, n. 1, p. 399–436, 2007.

BENTHAM, A. *et al.* Animal NLRs provide structural insights into plant NLR function. **Annals of Botany**, v. 119, n. 5, p. 689–702, 2017.

BERNARD, A.; JOUBÈS, J. *Arabidopsis* cuticular waxes: advances in synthesis, export and regulation. **Progress in Lipid Research**, v. 52, n. 1, p. 110–129, 2013.

BEVERAGGI, A.; MOURICHON, X.; SALLÉ, G. Étude comparée des premières étapes de l'infection chez des bananiers sensibles et résistants infectés par le *Cercospora fijiensis* (*Mycosphaerella fijiensis*) agent responsable de la maladie des raies noires. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. 1328–1337, 1995.

BIGEARD, J.; COLCOMBET, J.; HIRT, H. Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). **Molecular Plant**, v. 8, n. 4, p. 521–539, 2015.

BITTEL, P.; ROBATZEK, S. Microbe-associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 335–341, 2007.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 2014.

BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 379–406, 2009.

BOLWELL, G. P. *et al.* The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a

three-component system. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1367–1376, 2002.

BOLWELL, G. P.; WOJTASZEK, P. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence – a broad perspective. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 51, n. 6, p. 347–366, 1997.

BORGES, A. L.; MATOS, A. P. **Banana: instruções práticas de cultivo**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006.

BOYD, L. A. *et al.* Plant-pathogen interactions: disease resistance in modern agriculture. **Trends in Genetics**, v. 29, n. 4, p. 233–240, 2013.

BRITO, F. **Diversidade genética de populações de *Mycosphaerella musicola* e caracterização do efector LysM em *Mycosphaerella graminicola***. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

BRITO, F. S. D. *et al.* Genetic diversity and azole fungicide sensitivity in *Pseudocercospora musae* field populations in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 99, p. 1–13, 2020.

BRITO, F. S. D.; FRAAIJE, B.; MILLER, R. N. G. Sigatoka disease complex of banana in Brazil: management practices and future directions. **Outlooks on Pest Management**, v. 26, n. 2, p. 78–81, 2015.

BROWSE, J. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, n. 1, p. 183–205, 2009.

CAMPOS, M. A. *et al.* PR gene families of citrus: their organ specific-biotic and abiotic inducible expression profiles based on ESTs approach. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 3, p. 917–930, 2007.

CARBON, S. *et al.* The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D330–D338, 8 jan. 2019.

CARBONE, I.; KOHN, L. M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **The Mycological Society of America**, v. 91, n. 3, p. 553–556, 1999.

CARLIER, J. *et al.* Septoria leaf spot of banana: a newly discovered disease caused by *Mycosphaerella eumusae* (anamorph *Septoria eumusae*). **Phytopathology**, v. 90, n. 8, p. 884–890, 2000.

CARVER, T. L. W.; GURR, S. J. Filamentous fungi on plant surfaces. In: RIEDERER, M.; MÜLLER, C. (Eds.). **Biology of the plant cuticle**. Wurtzburgo, Alemanha: Blackwell Publishing, 2006. p. 368–397.

CASTAÑEDA, N. E. N. *et al.* Gene expression analysis in *Musa acuminata* during compatible interactions with *Meloidogyne incognita*. **Annals of Botany**, v. 119, n. 5, p. 915–930, 2017.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225–226, 1939.

- CAVALCANTE, M. J. B. *et al.* Reactive oxygen species and cellular interactions between *Mycosphaerella fijiensis* and banana. **Tropical Plant Biology**, v. 4, n. 2, p. 134–143, 2011.
- CHANDLER, S. The nutritional value of bananas. In: GOWEN, S. (Ed.). **Bananas and plantains**. Dordrecht: Springer, 1995. p. 468–480.
- CHANG, T. C. *et al.* Comparative genomics of the Sigatoka disease complex on banana suggests a link between parallel evolutionary changes in *Pseudocercospora fijiensis* and *Pseudocercospora eumusae* and increased virulence on the banana host. **Plos Genetics**, v. 12, n. 8, p. e1005904, 2016.
- CHASSOT, C.; NAWRATH, C.; MÉTRAUX, J. P. Cuticular defects lead to full immunity to a major plant pathogen. **Plant Journal**, v. 49, n. 6, p. 972–980, 2007.
- CHEESMAN, E. E. Classification of the bananas: the genus *Musa* L. **Kew Bulletin**, v. 2, n. 2, p. 106–117, 1947.
- CHEN, C. *et al.* Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 56, n. 1, p. 13–23, 2000.
- CHEN, L. *et al.* Overexpression of *TiERF1* enhances resistance to sharp eyespot in transgenic wheat. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 15, p. 4195–4204, 2008.
- CHENG, S. *et al.* Calcium signaling through protein kinases: the *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family. **Plant Physiology**, v. 129, n. 2, p. 469–485, 2002.
- CHISHOLM, S. T. *et al.* Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. **Cell**, v. 124, n. 4, p. 803–814, 2006.
- CHITTEM, K. *et al.* Transcriptome analysis of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* interaction with resistant and susceptible canola (*Brassica napus*) lines. **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, p. e0229844, 2020.
- COHN, J.; SESSA, G.; MARTIN, G. B. Innate immunity in plants. **Current Opinion in Immunology**, v. 13, n. 1, p. 55–62, 2001.
- CONAB. **Indicadores da Agropecuária**. Brasília: Ano XXVIII, n. 12, 2019.
- CONDON, B. J. *et al.* Comparative genome structure, secondary metabolite, and effector coding capacity across *Cochliobolus* pathogens. **PLoS Genetics**, v. 9, n. 1, 2013.
- CONESA, A. *et al.* Blast2GO : a universal tool for annotation , visualization and analysis in functional genomics research. **Bioinformatics**, v. 21, n. 18, p. 3674–3676, 2005.
- CORDEIRO, Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H. *et al.* (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo : Editora Agronômica Ceres, 1997. p. 113–136.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças fúngicas e bacterianas. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Ed.). **Banana: fitossanidade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 36–65.

- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Expressão da resistência de variedades de banana à Sigatoka-amarela. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 532–534, 2005.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; HADDAD, F. Doenças fúngicas e bacterianas In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 545–576.
- CORDEIRO, Z. J. M.; ROCHA, H. S.; ARAÚJO, A. **Metodologias para manuseio de *Mycosphaerella musicola* em laboratório**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011.
- CORDEIRO, Z.; MATOS, A.; MEISSNER FILHO, P. Doenças e métodos de controle. In: BORGES, A.; SOUZA, L. (Eds.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2004. p. 146–182.
- CROUS, P. W. *et al.* Cryptic speciation and host specificity among *Mycosphaerella* spp. occurring on Australian Acacia species grown as exotics in the tropics. **Studies in Mycology**, v. 50, n. 2, p. 457–469, 2004.
- CROUS, P. W.; MOURICHON, X. *Mycosphaerella eumusae* and its anamorph *Pseudocercospora eumusae* spp. nov.: causal agent of eumusae leaf spot disease of banana. **Sydowia**, v. 54, n. 1, p. 35–43, 2002.
- CRUZ, V. O. *et al.* SSR mining in 454 transcriptome sequencing-derived *Musa acuminata* unigenes. **Acta Horticulturae**, v. 986, p. 247–250, 2013.
- D'HONT, A. *et al.* The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. **Nature**, v. 488, n. 7410, p. 213–217, 2012.
- DALE, J. *et al.* Transgenic Cavendish bananas with resistance to *Fusarium* wilt tropical race 4. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 1496, 2017.
- DANGL, J. L.; HORVATH, D. M.; STASKAWICZ, B. J. Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. **Science**, v. 341, n. 6147, p. 746–751, 2013.
- DANGL, J. L.; JONES, J. D. G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. **Nature**, v. 411, n. 6839, p. 826–833, 2001.
- DANTAS, A. C. V. L. *et al.* Estrutura da planta. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016a. p. 29–44.
- DANTAS, J. L. L. *et al.* Filogenia, história, evolução, distribuição geográfica e habitat. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016b. p. 15–28.
- DENHAM, T. P. *et al.* Origins of agriculture at Kuk Swamp in the highlands of New Guinea. **Science**, v. 301, n. 5630, p. 189–193, 2003.
- DOBIN, A. *et al.* STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner. **Bioinformatics**, v. 29, n. 1, p. 15–21, 2013.
- DONATO, S. L. R. *et al.* Considerações ecológicas, fisiológicas e de manejo. In: FERREIRA,

- C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 45–110.
- DUBEY, N.; SINGH, K. Role of NBS-LRR proteins in plant defense. In: SINGH, A.; SINGH, I. K. (Eds.). **Molecular aspects of plant-pathogen interaction**. Singapore: Springer Nature, 2018. p. 115–138.
- EMEDIATO, F. L. *et al.* Characterization of resistance gene analogs in *Musa acuminata* cultivars contrasting in resistance to biotic stresses. **Induced Plant Mutations in the Genomics Era**, p. 443–445, 2009.
- EMEDIATO, F. L. *et al.* Analysis of expression of NBS-LRR resistance gene analogs in *Musa acuminata* during compatible and incompatible interactions with *Mycosphaerella musicola*. **Acta Horticulturae**, v. 986, p. 255–258, abr. 2013.
- FAO. **Banana market review: preliminary results for 2018**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019.
- FAO. **FAOSTAT Food and agriculture data - 2018**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 13 abr. 2020.
- FATIMA, S.; ANJUM, T. Identification of a potential ISR determinant from *Pseudomonas aeruginosa* PM12 against *Fusarium* wilt in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1, p. 249–260, 2017.
- FENG, H. *et al.* Cloning and characterization of a calcium binding EF-hand protein gene TaCab1 from wheat and its expression in response to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* and abiotic stresses. **Molecular Biology Reports**, v. 38, n. 6, p. 3857–3866, 2011.
- FERNANDES, C. DE F. *et al.* **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. Porto Velho - RO: Embrapa Rondônia, 2009.
- FERREIRA, C. F. *et al.* (EDS.). **O agronegócio da banana**. Brasília: EMBRAPA, 2016a.
- FERREIRA, C. F. *et al.* Técnicas moleculares. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O Agronegócio da Banana**. Brasília: Embrapa, 2016b. p. 243–276.
- FERREIRA, J. P. R. **Musaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB60917>>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- FIORAVANÇO, J. C. Mercado mundial da banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações econômicas**, v. 33, n. 10, p. 15–27, 2003.
- FLEIGE, S.; PFAFFL, M. W. RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 2–3, p. 126–139, 2006.
- FREITAS, A. S. *et al.* Infection process of *Pseudocercospora musae* on banana leaf. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 3, p. 317–324, 2017.
- FRIESEN, T. L. Combating the Sigatoka disease complex on banana. **Plos Genetics**, v. 12, n. 8, p. e1006234, 2016.
- GARCÍA-BASTIDAS, F.; ORDÓÑEZ, N. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

tropical race 4 associated with Panama disease of banana outside Southeast Asia. **Plant Disease**, v. 98, n. 5, p. 694, 2014.

GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1323–1330, 1995.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, n. 1, p. 205–227, 2005.

GOGOI, R.; BORAH, S. *Musa markkui* (Musaceae), a new species from Arunachal Pradesh, India. **Gardens' Bulletin Singapore**, v. 65, n. 1, p. 19–26, 2013.

GÖHRE, V.; ROBATZEK, S. Breaking the barriers: microbial effector molecules subvert plant immunity. **Annual Review of Phytopathology**, v. 46, p. 189–215, 2008.

GOMES, C. *et al.* Avaliação de germoplasma elite de bananeira. **Ceres**, v. 54, n. 312, p. 186–191, 2007.

GOMES, L. I. S. *et al.* Yellow Sigatoka epidemics caused by a panmictic population of *Mycosphaerella musicola* in Brazil. **Plant Pathology**, v. 67, n. 2, p. 295–302, 2018.

GÓMEZ-GÓMEZ, L.; BOLLER, T. FLS2: an LRR receptor–like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. **Molecular Cell**, v. 5, n. 6, p. 1003–1011, 2000.

GONZÁLEZ-MENDOZA, D. *et al.* A rapid method for isolation of total DNA from pathogenic filamentous plant fungi. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 1, p. 162–166, 2010.

GUST, A. A.; PRUITT, R.; NÜRNBERGER, T. Sensing danger: key to activating plant immunity. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 9, p. 779–791, 2017.

HÄKKINEN, M. Reappraisal of sectional taxonomy in *Musa* (Musaceae). **Taxon**, v. 62, n. 4, p. 809–813, 2013.

HAMAGUCHI, A. *et al.* A small subfamily of *Arabidopsis* *RADIALIS-LIKE SANT/MYB* genes: a link to *HOOKLESS1*-mediated signal transduction during early morphogenesis. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 72, n. 10, p. 2687–2696, 2008.

HELLEMANS, J. *et al.* qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. **Genome Biology**, v. 8, n. 2, p. R19, 2007.

HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, n. 2, p. 257–268, 2012.

HIRAGA, S. *et al.* A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 5, p. 462–468, 2001.

HOGENHOUT, S. A. *et al.* Emerging concepts in effector biology of plant-associated

- organisms. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 2, p. 115–122, 2009.
- HOWLETT, B. J. Secondary metabolite toxins and nutrition of plant pathogenic fungi. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 4, p. 371–375, 2006.
- HU, C. H. *et al.* An efficient protocol for the production of chit42 transgenic Furenzhi banana (*Musa* spp. AA group) resistant to *Fusarium oxysporum*. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 49, n. 5, p. 584–592, 2013.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa>>. Acesso em: 9 jan. 2020.
- ISAZA, R. *et al.* Combating a global threat to a clonal crop: banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (synonym *Mycosphaerella fijiensis*) genomes reveal clues for disease control. **Plos Genetics**, v. 12, n. 8, p. e1005876, 2016.
- JACOB, F.; VERNALDI, S.; MAEKAWA, T. Evolution and conservation of plant NLR functions. **Frontiers in Immunology**, v. 4, p. 297, 2013.
- JAMMES, F. *et al.* MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 48, p. 20520–20525, 2009.
- JIMÉNEZ, J. L. S.; BRIOSO, P. S. T. Surgery or surgical defoliation in ‘Grand Naine’ banana in the control of black sigatoka in the state of Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 5, p. 1–7, 2018.
- JOE, A.; SABU, M. Wild ornamental bananas in India : an overview. **South Indian Journal Of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 213–221, 2016.
- JONES, J. D. G.; DANGL, J. L. The plant immune system. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 323–329, 2006.
- JUPE, F. *et al.* Identification and localisation of the NB-LRR gene family within the potato genome. **BMC Genomics**, v. 13, n. 1, p. 75, 2012.
- JUPE, F. *et al.* Resistance gene enrichment sequencing (RenSeq) enables reannotation of the NB-LRR gene family from sequenced plant genomes and rapid mapping of resistance loci in segregating populations. **The Plant Journal**, v. 76, n. 3, p. 530–544, 2013.
- KAKU, H. *et al.* Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 29, p. 11086–11091, 2006.
- KANG, Y. J. *et al.* Genome-wide mapping of NBS-LRR genes and their association with disease resistance in soybean. **BMC Plant Biology**, v. 12, p. 139, 2012.
- KEEN, N. T. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. **Annual Reviews of Genetics**, v. 24, n. 1, p. 447–463, 1990.
- KEMA, G. H. J. **The pesticide reduction plan for banana**. (E. Soprano *et al.*, Eds.)XVII Reunión Internacional ACORBAT. **Anais...Joinville: Bananicultura: um negócio sustentável**

ACORBAT, 2006

KEMMERLING, B. *et al.* The BRI1-associated kinase 1, BAK1, has a brassinolide-independent role in plant cell-death control. **Current Biology**, v. 17, n. 13, p. 1116–1122, 2007.

KIMURA, S. *et al.* Bound by fate: the role of reactive oxygen species in receptor-like kinase signaling. **The Plant Cell**, v. 29, n. 4, p. 638–654, 2017.

KLEMPNER, R. L. *et al.* Ergosterol, an orphan fungal microbe-associated molecular pattern (MAMP). **Molecular Plant Pathology**, v. 15, n. 7, p. 747–761, 2014.

KOTARI, P.; SWARUPA, V.; RAVISHANKAR, K. V. Genomics of biotic stress tolerance in banana. In: MOHANDAS, S.; RAVISHANKAR, K. V. (Eds.). **Banana: Genomics and Transgenic Approaches for Genetic Improvement**. Singapore: Springer, 2016. p. 61–75.

KOVÁCS, G. *et al.* Expression of a rice chitinase gene in transgenic banana (“Gros Michel”, AAA genome group) confers resistance to black leaf streak disease. **Transgenic Research**, v. 22, n. 1, p. 117–130, 2013.

LESCOT, M. *et al.* Insights into the *Musa* genome: syntenic relationships to rice and between *Musa* species. **BMC Genomics**, v. 9, n. 1, p. 58, 2008.

LEVINE, A. *et al.* Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response. **Current Biology**, v. 6, n. 4, p. 427–437, 1996.

LI, C. Y. *et al.* Combating *Fusarium* wilt of banana by developing cultivars with resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* tropical race 4. **Acta Horticulturae**, v. 1272, p. 57–65, 2020.

LI, C. Y. *et al.* Transcriptome profiling of resistant and susceptible Cavendish banana roots following inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* tropical race 4. **BMC Genomics**, v. 13, n. 1, p. 374, 2012.

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.

LI, N. *et al.* Signaling crosstalk between salicylic acid and ethylene/jasmonate in plant defense: do we understand what they are whispering? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 3, p. 671, 2019a.

LI, W. *et al.* Dual species transcript profiling during the interaction between banana (*Musa acuminata*) and the fungal pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 519, 2019b.

MANICOM, B. Q. Diseases. In: ROBINSON, J. C.; DE VILLIERS, E. A. (Eds.). **The cultivation of banana**. Nelspruit, South Africa: ARC - Institute for Tropical and Subtropical Crops / DuRoi Laboratory, 2007. p. 171–193.

MARÍN, D. H. *et al.* Black Sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. **Plant Disease**, v. 87, n. 3, p. 208–222, 2003.

- MARTIN, T. *et al.* Identification of a differentially expressed TIR-NBS-LRR gene in a major QTL associated to leaf rust resistance in *Salix*. **Plos One**, v. 11, n. 12, p. e0168776, 2016.
- MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. DE. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. **Ciência Rural**, v. 27, n. 1, p. 161–168, 1997.
- MAZZOTTA, S.; KEMMERLING, B. Pattern recognition in plant innate immunity. **Journal of Plant Pathology**, v. 93, n. 1, p. 7–17, 2011.
- MCHALE, L. *et al.* Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. **Genome Biology**, v. 7, n. 4, p. 212, 2006.
- MELO, M. *et al.* *Thielaviopsis musarum* causes postharvest crown and fruit rot of banana in Northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 4, p. 258–263, 2016.
- MENON, R. Banana Breeding. In: MOHANDAS, S.; RAVISHANKAR, K. V. (Eds.). **Banana: genomics and transgenic approaches for genetic improvement**. India: Springer, 2016. p. 13–34.
- MEREDITH, D. S.; LAWRENCE, J. S. Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 52, n. 3, p. 459–476, 1969.
- MEYERS, B. C. *et al.* Genome-wide analysis of NBS-LRR–encoding genes in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 15, n. 4, p. 809–834, 2003.
- MILLER, R. N. G. *et al.* Analysis of non-TIR NBS-LRR resistance gene analogs in *Musa acuminata* Colla: isolation, RFLP marker development, and physical mapping. **BMC Plant Biology**, v. 8, n. 1, p. 15, 2008.
- MILLER, R. N. G. *et al.* Understanding plant responses to biotic stress: ongoing research in *Musa*. **Acta Horticulturae**, v. 828, p. 255–272, 2009.
- MILLER, R. N. G. *et al.* Characterization of novel microsatellite markers in *Musa acuminata* subsp. *burmannicoides*, var. Calcutta 4. **BMC Research Notes**, v. 3, n. 1, p. 148, 2010.
- MILLER, R. N. G. *et al.* Candidate resistance gene discovery: resistance gene analog characterisation and differential gene expression analysis in *Musa-Mycosphaerella* host-pathogen interactions. **Acta Horticulturae**, v. 897, p. 179–186, 2011.
- MILLER, R. N. G.; ALVES, G. S. C.; VAN SLUYS, M.A. Plant immunity: unravelling the complexity of plant responses to biotic stresses. **Annals of Botany**, v. 119, n. 5, p. 681–687, 2017.
- MOLINA-MOYA, E. *et al.* Reactive oxygen species and nitric oxide production, regulation and function during defense response. **Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants**, v. 1, p. 573–590, 2019.
- MONAGHAN, J.; ZIPFEL, C. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, n. 4, p. 349–357, 2012.
- MONTESANO, M.; BRADER, G.; PALVA, E. T. Pathogen derived elicitors: searching for

- receptors in plants. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, n. 1, p. 73–79, 2003.
- MORAES, W. S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J. D. Incidência de fungos em pós-colheita de banana ‘Prata anã’ (*Musa AAB*). **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 67–70, 2006.
- MOSTERT, D. *et al.* The distribution and host range of the banana *Fusarium* wilt fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, in Asia. **Plos One**, v. 12, n. 7, p. e0181630, 2017.
- MOURICHON, X.; CARLIER, J.; FOURÉ, E. **Sigatoka leaf spot diseases**. Montpellier: INIBAP, 1997.
- MUSANET. **Global Strategy for the Conservation and Use of *Musa* (Banana) Genetic Resources**. Montpellier, France: Biodiversity International, 2016.
- MUTHAMILARASAN, M.; PRASAD, M. Plant innate immunity: an updated insight into defense mechanism. **Journal of Biosciences**, v. 38, n. 2, p. 433–449, 2013.
- NGOU, B. *et al.* Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. **BioRxiv**, 2020.
- NICOLSON, T. H. Mycorrhiza in the Gramineae. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 42, n. 4, p. 421-IN3, 1959.
- NOAR, R. D.; DAUB, M. E. Transcriptome sequencing of *Mycosphaerella fijiensis* during association with *Musa acuminata* reveals candidate pathogenicity genes. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 690, 2016.
- NOMURA, H. *et al.* Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. **Nature Communications**, v. 3, n. 1, p. 926, 2012.
- NÜRNBERGER, T. *et al.* Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. **Immunological Reviews**, v. 198, n. 1, p. 249–266, 2004.
- OUAKED, F. *et al.* A MAPK pathway mediates ethylene signaling in plants. **The EMBO Journal**, v. 22, n. 6, p. 1282–1288, 2003.
- PANDEY, S. P.; SOMSSICH, I. E. The role of WRKY transcription factors in plant immunity. **Plant Physiology**, v. 150, n. 4, p. 1648–1655, 2009.
- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. 3, v. 1. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995.
- PASSOS, M. A. N. *et al.* Understanding plant immunity: transcriptome profiling in *Musa*-pathogen interactions using next generation sequencing. **Acta horticulturae**, n. 986, p. 227–240, 2013a.
- PASSOS, M. A. N. *et al.* Analysis of the leaf transcriptome of *Musa acuminata* during interaction with *Mycosphaerella musicola*: gene assembly, annotation and marker development. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 78, 2013b.
- PEIXOUTO, Y. S. *et al.* Estimation of genetic structure of a *Mycosphaerella musicola*

- population using inter-simple sequence repeat markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, p. 8046–8057, 2015.
- PERRIER, X. *et al.* Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa spp.*) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 28, p. 11311–11318, 2011.
- PETIT-HOUDENOT, Y.; FUDAL, I. Complex interactions between fungal avirulence genes and their corresponding plant resistance genes and consequences for disease resistance management. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1072, 2017.
- PETITOT, A. S. *et al.* Dual RNA-seq reveals *Meloidogyne graminicola* transcriptome and candidate effectors during the interaction with rice plants. **Molecular Plant Pathology**, v. 17, n. 6, p. 860–874, 2016.
- PIETERSE, C. M. J. *et al.* A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 10, n. 9, p. 1571–1580, 1998.
- PIETERSE, C. M. J. *et al.* Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Rapp**, v. 13, p. 277–295, 2005.
- PIETERSE, C. M. J. *et al.* Networking by small-molecule hormones in plant immunity. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 5, p. 308–316, 2009.
- PIETERSE, C. M. J. *et al.* Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 28, n. 1, p. 489–521, 2012.
- PLOETZ, R. C. Population biology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. In: PLOETZ, R. C. (Ed.). **Fusarium wilt of banana**. St. Paul: APS Press, 1990. p. 63–76.
- PLOETZ, R. C. Panama disease: a classic and destructive disease of banana. **Plant Health Progress**, v. 1, n. 1, p. 10, 2000.
- PLOETZ, R. C. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytopathology**, v. 96, n. 6, p. 653–656, 2006.
- PLOETZ, R. C. *et al.* Banana and plantain — an overview with emphasis on Pacific island cultivars Musaceae (banana family). In: **Species profiles for Pacific Island agroforestry**. Honolulu, HI, USA: Permanent Agriculture Resources, 2007. p. 27.
- POSTEL, S. *et al.* The multifunctional leucine-rich repeat receptor kinase BAK1 is implicated in *Arabidopsis* development and immunity. **European Journal of Cell Biology**, v. 89, n. 2–3, p. 169–174, 2010.
- POZO, M. J.; VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J. Jasmonates - signals in plant-microbe interactions. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 23, n. 3, p. 211–222, 2005.
- PUSZTAHELYI, T.; HOLB, I. J.; PÓCSI, I. Secondary metabolites in fungus-plant interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 573, 2015.
- RAMAKERS, C. *et al.* Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. **Neuroscience Letters**, v. 339, n. 1, p. 62–66, 2003.

- RAMOS, J. *et al.* First report of black Sigatoka of banana caused by *Mycosphaerella fijiensis* in Bahia, Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 10, p. 2035, 2018.
- RAMSEY, M. D.; DANIELLS, J. W.; ANDERSON, V. J. Effects of Sigatoka leaf spot (*Mycosphaerella musicola* Leach) on fruit yields, field ripening and greenlife of bananas in North Queensland. **Scientia Horticulturae**, v. 41, n. 4, p. 305–313, 1990.
- RASOOL, S.; MOHAMED, R. Plant cytochrome P450s: nomenclature and involvement in natural product biosynthesis. **Protoplasma**, v. 253, n. 5, p. 1197–1209, 2015.
- RATHOD, V. *et al.* Peanut (*Arachis hypogaea*) transcriptome revealed the molecular interactions of the defense mechanism in response to early leaf spot fungi (*Cercospora arachidicola*). **Plant Gene**, p. 100243, 2020.
- REGO, E. C. S. **Caracterização da interação *Musa acuminata*-*Pseudocercospora musae***. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2018.
- REGO, E. C. S. *et al.* Stable reference genes for RT-qPCR analysis of gene expression in the *Musa acuminata* - *Pseudocercospora musae* interaction. **Scientific Reports**, v. 9, n. 14592, p. 1–11, 2019.
- REN, D. *et al.* A fungal-responsive MAPK cascade regulates phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 14, p. 5638–5643, 2008.
- REN, D.; YANG, H.; ZHANG, S. Cell death mediated by MAPK is associated with hydrogen peroxide production in *Arabidopsis*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 1, p. 559–565, 2002.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 123–130, 2003.
- RESENDE, M. L. V. *et al.* Percepção e transdução de sinais para a ativação de respostas de defesa em plantas contra patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 15, p. 173–242, 2007.
- REUTER, J. A.; SPACEK, D. V.; SNYDER, M. P. High-throughput sequencing technologies. **Molecular Cell**, v. 58, n. 4, p. 586–597, 2015.
- ROBINSON, J. C. Morphological characteristics. In: ROBINSON, J. C.; VILLIERS, E. A. (Eds.). **The cultivation of banana**. Nelspruit, South Africa: ARC - Institute for Tropical and Subtropical Crops / DuRoi Laboratory, 2007. p. 6–16.
- 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.
- RODRIGUEZ, H. A. *et al.* Differential regulation of jasmonic acid pathways in resistant (Calcutta 4) and susceptible (Williams) banana genotypes during the interaction with *Pseudocercospora fijiensis*. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 872–882, 2020.

- ROUX, M. *et al.* The *Arabidopsis* leucine-rich repeat receptor–like kinases BAK1/SERK3 and BKK1/SERK4 are required for innate immunity to hemibiotrophic and biotrophic pathogens. **The Plant Cell**, v. 23, n. 6, p. 2440–2455, 2011.
- RUSHTON, P. J. *et al.* WRKY transcription factors. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 5, p. 247–258, 2010.
- SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L. **Cultivo da bananeira**. Viçosa: Editora UFV, 2015.
- SAMPANGI-RAMAIAH, M. H. *et al.* Barrier against water loss: relationship between epicuticular wax composition, gene expression and leaf water retention capacity in banana. **Functional Plant Biology**, v. 43, n. 6, p. 492–501, 2016.
- SAMPANGI-RAMAIAH, M. H. *et al.* Developmental changes in the composition of leaf cuticular wax of banana influenced by wax biosynthesis gene expression: a case study in *Musa acuminata* and *Musa balbisiana*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 8, 2019.
- SAMUELS, L.; KUNST, L.; JETTER, R. Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 683–707, 2008.
- SÁNCHEZ-GARCÍA, C. *et al.* Relación entre caracteres fenotípicos de plantas de “Grande naine” y “Calcutta 4” cultivadas in vitro y su respuesta a la inoculación con *Mycosphaerella fijiensis* en casa de cultivo. **Bioteología Vegetal**, v. 10, n. 1, p. 21–30, 2010.
- SANTOS-SEREJO, J. A. *et al.* Germoplasma de Musa: conservação, caracterização e uso. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 111–136.
- SANTOS, C. M. R. *et al.* Analysis of expressed sequence tags from *Musa acuminata* ssp. *burmannicoides*, var. Calcutta 4 (AA) leaves submitted to temperature stresses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, n. 8, p. 1517–1522, 2005.
- SATYANARAYANA, T.; DESHMUKH, S. K.; DESHPANDE, M. V. **Advancing frontiers in mycology & mycotechnology**. Singapore: Springer Singapore, 2019.
- SEENIVASAN, N. Nematostatic activity of root extracts of banana (*Musa* spp.) genotypes as pre-infectious resistance mechanism against the burrowing nematode, *Radopholus similis*. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 94, n. 1, p. 49–62, 2018.
- SHANG, J. *et al.* Identification of a new rice blast resistance gene, Pid3, by genomewide comparison of paired nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes and their pseudogene alleles between the two sequenced rice genomes. **Genetics**, v. 182, n. 4, p. 1303–1311, 2009.
- SHARMA, R.; RAWAT, V.; SURESH, C. G. Genome-wide identification and tissue-specific expression analysis of nucleotide binding site-leucine rich repeat gene family in *Cicer arietinum* (kabuli chickpea). **Genomics Data**, v. 14, p. 24–31, 2017.
- SHEKHAWAT, U. K. S.; GANAPATHI, T. R. MusaWRKY71 overexpression in banana plants leads to altered abiotic and biotic stress responses. **Plos One**, v. 8, n. 10, p. e75506, 2013.
- SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira.

Informe Agropecuário, v. 12, n. 133, p. 11–19, 1986.

SHIMIZU, T. *et al.* Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. **Plant Journal**, v. 64, n. 2, p. 204–214, 2010.

SILVA, J. R.; CORDEIRO, Z. J. M. Fitossanidade na exportação de banana. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Ed.). **Banana: fitossanidade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 9–14.

SILVA, S. DE O.; MATOS, A. P. DE; ALVES, É. J. Melhoramento genético da bananeira. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 693–703, 1998.

SILVA, S. O. *et al.* Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 919–931, 2013.

SILVA, S. O. *et al.* Cultivares. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (Eds.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 137–170.

SILVA, S. O.; MORAIS, L. S.; SANTOS-SEREJO, J. A. Melhoramento genético de bananeira para resistência às doenças. In: **Recursos genéticos vegetais no Estado da Bahia**. Feira de Santana: UEFS, 2005. p. 49–67.

SILVA, S.; SANTOS-SEREJO, J.; CORDEIRO, Z. Variedades. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Eds.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 45–58.

SILVEIRA, A. L. *et al.* Genetic diversity of isolates of *Colletotrichum* spp. In banana. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 599–606, 2019.

SIMMONDS, N. W. Diseases. In: **Bananas**. 2. ed. Londres: Longmans, 1966. p. 366–408.

SIMMONDS, N. W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **Journal of the Linnean Society of London, Botany**, v. 55, n. 359, p. 302–312, 1955.

SOMSSICH, I. E.; HAHLBROCK, K. Pathogen defence in plants - a paradigm of biological complexity. **Trends in Plant Science**, v. 3, p. 86–90, 1998.

SONG, H. *et al.* Comparative analysis of NBS-LRR genes and their response to *Aspergillus flavus* in *Arachis*. **Plos One**, v. 12, n. 2, p. e0171181, 2017.

SOUZA-POLLO, A.; GOES, A. Banana Pathology and Diseases. In: SIDDIQ, M.; AHMED, J.; LOBO, M. G. (Eds.). **Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition**. John Wiley & Sons Ltd, 2020. p. 45–59.

SOWMYA, H. *et al.* Engineering resistance to Sigatoka. In: MOHANDAS, S.; RAVISHANKAR, K. V. (Eds.). **Banana: genomics and transgenic approaches for genetic improvement**. India: Springer, 2016. p. 211–226.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235–270, 1997.

STOKSTAD, E. Banana fungus puts Latin America on alert. **Science**, v. 365, n. 6450, p. 207,

2019.

STOVER, R. H. Leaf spot of bananas caused by *Mycosphaerella musicola*: role of conidia in epidemiology. **Phytopathology**, v. 60, n. 5, p. 856–860, 1970.

STOVER, R. H. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. **Plant Disease**, v. 64, n. 8, p. 750–756, 1980.

SUN, J. *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals resistance-related genes and pathways in *Musa acuminata* banana “Guijiao 9” in response to *Fusarium* wilt. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 141, p. 83–94, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TANG, D.; WANG, G.; ZHOU, J.-M. Receptor kinases in plant-pathogen interactions: more than pattern recognition. **The Plant Cell**, v. 29, n. 4, p. 618–637, 2017.

THIMM, O. *et al.* MAPMAN: a user-driven tool to display genomics data sets onto diagrams of metabolic pathways and other biological processes. **The Plant Journal**, v. 37, n. 6, p. 914–939, 2004.

THOMMA, B. P. H. J.; NÜRNBERGER, T.; JOOSTEN, M. H. A. J. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. **The Plant Cell**, v. 23, n. 1, p. 4–15, 2011.

TING, J. P. Y. *et al.* The NLR gene family: an official nomenclature. **Immunity**, v. 28, n. 3, p. 285–287, 2008.

TOKESHI, H.; DUARTE, M. L. R. Moko da bananeira no território federal do Amapá. **Summa Phytopathologica**, v. 2, n. 3, p. 224–229, 1976.

TRIPATHI, J. N. *et al.* Transgenic expression of the rice Xa21 pattern-recognition receptor in banana (*Musa* sp.) confers resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, n. 6, p. 663–673, 2014.

TRIPATHI, L. Genetic engineering for improvement of *Musa* production in Africa. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 12, p. 503–508, 2003.

TRIPATHI, L. *et al.* Molecular basis of disease resistance in banana progenitor *Musa balbisiana* against *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 2019.

TRIPATHI, L.; NTUI, V. O.; TRIPATHI, J. N. CRISPR/Cas9-based genome editing of banana for disease resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 56, p. 118–126, 2020.

TRIPATHI, S.; PATIL, B. L.; VERMA, R. Viral diseases of banana and their management. In: **Plant Viruses: Evolution and Management**. Singapore: Springer Singapore, 2016. p. 289–308.

TRUJILLO-MOYA, C. *et al.* RNA-Seq and secondary metabolite analyses reveal a putative defence-transcriptome in Norway spruce (*Picea abies*) against needle bladder rust (*Chrysomyxa rhododendri*) infection. **BMC Genomics**, v. 21, n. 336, p. 1–21, 2020.

- UMA, S. *et al.* Identification of *Mycosphaerella eumusae* responsive unique genes/transcripts from a resistant banana cultivar. **Acta Horticulturae**, v. 1, n. 1114, p. 111–118, 2016.
- UNTERGASSER, A. *et al.* Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. **Nucleic Acids Research**, v. 35, p. W71–W74, 2007.
- VAN LOON, L. C.; REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, n. 1, p. 135–162, 2006.
- VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, n. 2, p. 85–97, 1999.
- VERHAGE, A.; VAN WEES, S. C. M.; PIETERSE, C. M. J. Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? **Plant Physiology**, v. 154, n. 2, p. 536–540, 2010.
- VERHAGEN, B. W. M. *et al.* *Pseudomonas* spp.-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 1, p. 249–260, 2010.
- WANG, X. *et al.* Update on cuticular wax biosynthesis and its roles in plant disease resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 1–15, 2020.
- WANG, Y.-G. *et al.* Differential gene expression in banana roots in response to *Fusarium* wilt. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 39, n. 2, p. 163–175, 2017.
- WANG, Y. *et al.* A *Pseudomonas syringae* ADP-ribosyltransferase inhibits *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinases. **The Plant Cell**, v. 22, n. 6, p. 2033–2044, 2010.
- WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n. 1, p. 57–63, 2009.
- WHITE, T. J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315–322, 1990.
- WITEK, K. *et al.* Accelerated cloning of a potato late blight-resistance gene using RenSeq and SMRT sequencing. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 6, p. 656–660, 2016.
- XU, J. *et al.* Activation of MAPK kinase 9 induces ethylene and camalexin biosynthesis and enhances sensitivity to salt stress in *Arabidopsis*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 40, p. 26996–27006, 2008.
- YANHUI, C. *et al.* The MYB transcription factor superfamily of *Arabidopsis*: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family. **Plant Molecular Biology**, v. 60, n. 1, p. 107–124, 2006.
- YOO, S. D. *et al.* Dual control of nuclear *EIN3* by bifurcate MAPK cascades in C2H₄ signalling. **Nature**, v. 451, p. 789–795, 2008.
- YU, F. *et al.* *Zingiber zerumbet* *CYP71BA1* catalyzes the conversion of α -humulene to 8-hydroxy- α -humulene in zerumbone biosynthesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.

68, n. 6, p. 1033–1040, 2011.

ZANDJANAKOU-TACHIN, M. *et al.* Identification and genetic diversity of *Mycosphaerella* species on banana and plantain in Nigeria. **Plant Pathology**, v. 58, n. 3, p. 536–546, 2009.

ZHANG, S.; KLESSIG, D. F. MAPK Cascades in Plant Defense Signaling. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 11, p. 520–527, 2001.

ZHAO, Y. J. *et al.* Research progress relating to the role of cytochrome P450 in the biosynthesis of terpenoids in medicinal plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 6, p. 2371–2383, 2014.

ZHU, C.; LI, X.; ZHENG, J. Transcriptome profiling using Illumina- and SMRT-based RNA-seq of hot pepper for in-depth understanding of genes involved in CMV infection. **Gene**, v. 666, p. 123–133, 2018.

ZHU, Q. H. *et al.* Characterization of the defense transcriptome responsive to *Fusarium oxysporum*-infection in *Arabidopsis* using RNA-seq. **Gene**, v. 512, n. 2, p. 259–266, 2013.

ZIPFEL, C. Plant pattern-recognition receptors. **Trends in Immunology**, v. 35, n. 7, p. 345–351, 2014.

ZIPFEL, C.; ROBATZEK, S. Pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity: veni, vidi...? **Plant Physiology**, v. 154, n. 2, p. 551–554, 2010.

Anexo 1.

REGO, E. C. S., PINHEIRO, T. D. M., ANTONINO, J. D., ALVES, G. S. C., COTTA, M. G., FONSECA, F. C. A., MILLER, R. N. G. Stable reference genes for RT-qPCR analysis of gene expression in the *Musa acuminata* - *Pseudocercospora musae* interaction. **Scientific Reports**, v. 9, n. 14592, p. 1–11, 2019.

www.nature.com/scientificreports

**SCIENTIFIC
REPORTS**
nature research

OPEN **Stable reference genes for RT-qPCR analysis of gene expression in the *Musa acuminata*-*Pseudocercospora musae* interaction**

Received: 7 January 2019
Accepted: 20 September 2019
Published online: 10 October 2019

Erica Cristina Silva Rego¹, Tatiana David Miranda Pinheiro¹, Jose Djair Antonino^{1,2}, Gabriel Sergio Costa Alves², Michelle Guitton Cotta¹, Fernando Campos De Assis Fonseca¹ & Robert Neil Gerard Miller¹

Leaf pathogens are limiting factors in banana (*Musa* spp.) production, with *Pseudocercospora* spp. responsible for the important Sigatoka disease complex. In order to investigate cellular processes and genes involved in host defence responses, quantitative real-time PCR (RT-qPCR) is an analytical technique for gene expression quantification. Reliable RT-qPCR data, however, requires that reference genes for normalization of mRNA levels in samples are validated under the conditions employed for expression analysis of target genes. We evaluated the stability of potential reference genes *ACT1*, α -*TUB*, *UBQ1*, *UBQ2*, *GAPDH*, *EF1 α* , *APT* and *RAN*. Total RNA was extracted from leaf tissues of *Musa acuminata* genotypes Calcutta 4 (resistant) and Cavendish Grande Naine (susceptible), both subjected to *P. musae* infection. Expression stability was determined with NormFinder, BestKeeper, geNorm and RefFinder algorithms. *UBQ2* and *RAN* were the most stable across all *M. acuminata* samples, whereas when considering inoculated and non-inoculated leaf samples, *APT* and *UBQ2* were appropriate for normalization in Calcutta 4, with *RAN* and α -*TUB* most stable in Cavendish Grande Naine. This first study of reference genes for relative quantification of target gene expression in the *M. acuminata*-*P. musae* interaction will enable reliable analysis of gene expression in this pathosystem, benefiting elucidation of disease resistance mechanisms.

Banana (*Musa* spp.) is an important monocotyledonous fruit crop in over 100 tropical and sub-tropical countries, contributing significantly as the world's most consumed fruit towards global food security and poverty alleviation. Leaf pathogens are important limiting factors in global banana production, with reduced photosynthetic capacity causing negative impact on crop yield, especially in tropical growing regions¹. Numerous leaf diseases are caused by fungal pathogens that include *Cladosporium musae*, *Cloridium musae*, *Cordana musae*, *Curvularia* sp., *Drechslera gigantea*, *Hendersonia toruloides*, *Helminthosporium* sp., *Phyllacora musicola*, *Phyllosticta* sp., and the Dothideomycete *Pseudocercospora* sp. responsible for the important Sigatoka disease complex in *Musa*. *Pseudocercospora fitlensis*, *Pseudocercospora musae* and *Pseudocercospora eumusae* cause necrotic leaf lesions that can reduce functional leaf area to such an extent that crop yields can be reduced by 20–50% in affected areas^{2,3}. The majority of commercial banana cultivars lack genetic resistance to pathogens and, in situations where disease pressure is high, are dependent upon integrated disease management strategies that employ programmed applications of systemic or protective fungicides. Such dependence on agrochemical disease control, however, can increase production costs, with a negative impact on the environment, and increased selective pressure for emergence of resistant strains in pathogen populations^{4,5}. In order to advance the genetic improvement and the development of resistant *Musa* cultivars, elucidation of the cellular mechanisms and identification of genes involved in resistance responses to foliar pathogens is of fundamental importance. For this, high-throughput next-generation sequencing approaches (NGS) are applicable

¹Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, DF, Brazil. ²Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brazil. Erica Cristina Silva Rego and Tatiana David Miranda Pinheiro contributed equally. Correspondence and requests for materials should be addressed to R.N.G.M. (email: robertmiller@unb.br)

SCIENTIFIC REPORTS | (2019) 9:14592 | https://doi.org/10.1038/s41598-019-51040-z

1

Anexo 2.

Tabela 18. Sequência dos primers desenhados para validação por RT-qPCR, dos genes envolvidos em resistência em *Musa acuminata* subsp. *burmannica* Calcutta 4 a *Pseudocerospora musae*.

Anotação	ID do Gene	Sequência (5' → 3')	Produto Esperado (pb)
SNF1-related protein kinase regulatory subunit beta-1-like	Ma00_g04650_F	CCCAATCGAAAATGGAATTG	87
	Ma00_g04650_R	GTCCAGTTGTCCCATGATCC	
Endochitinase-like	Ma01_g02630_F	TGGAGACAACCTTGGACTGCT	87
	Ma01_g02630_R	AAGCCGACACACATTTAGCC	
Pathogenesis-related protein 1-like	Ma01_g19550_F	CACGCTGAGGTACAAGACGA	90
	Ma01_g19550_R	TCGCTCAACGCTTCATATCT	
AP2/ERF and B3 domain-containing transcription repressor RAV2-like	Ma01_g21800_F	GATGTGACGGAGGGTAATGG	85
	Ma01_g21800_R	TCCTCAACAGCTCCCTTGAT	
Pathogenesis-related protein 1-like	Ma03_g08140_F	TCTCTCTCTCAGGCTTTTCG	84
	Ma03_g08140_R	TACGACAACCAAACGCACTC	
EID1-like F-box protein 3	Ma08_g22530_F	TGGTGCATTCTCGCTTGTTA	87
	Ma08_g22530_R	AATTGGGACTGATCGCATTC	
Probable protein phosphatase 2C 68	Ma11_g20360_F	AGGAAGGGATGTGTTGAAGG	87
	Ma11_g20360_R	TCGTACCCACATTGCCTGTA	
Mitogen-activated protein kinase kinase 9-like	Ma06_g12740_F	GACCCCTGCGACTCCTATGT	80
	Ma06_g12740_R	TAGTCCCCACCGTACGACTC	
Chitinase 6	Ma09_g20710_F	AAGAACCCAGCGACAGTCAA	87
	Ma09_g20710_R	AGTGAGGTTGTCTCCGGTGT	

Probable WRKY transcription factor 41	Ma07_g14030_F	ACATGCACGATCAAGTCCTG	85
	Ma07_g14030_R	GAGAAGACACGGCTTTGAGG	
Laccase-24-like	Ma06_g35820_F	CGCAACACAGTCCAAGACAT	86
	Ma06_g35820_R	CCCTCTATCGCCGTGTTCT	
Dirigent protein 21-like	Ma09_g10830_F	CCATGGCGTTCTCCTCTCTA	83
	Ma09_g10830_R	ATCTGCAGCGCCAAAAGAG	
Dirigent protein 11-like	Ma09_g10840_F	CTCGTCTTCCTTGGCATCAT	82
	Ma09_g10840_R	AGAAATGCAGGTGGGTCATC	
Dirigent protein 11-like	Ma09_g10850_F	CTCCCTCTCTGCCTTTGTTG	80
	Ma09_g10850_R	AGAAGTGGAGGTGCGTCATC	

Anexo 3.

Tabela 19. Sequência dos genes-candidatos envolvidos em resistência em *Musa acuminata* subsp. *burmannica* Calcutta 4 a *Pseudocerospora musae*, para futura introgressão em cultivares comerciais de *Musa*.

Gene ID	Gene	N° de cópias do gene no genoma de referência de <i>Musa acuminata</i> DH Pahang	Sequência codificadora (5'-3')	Referência
Ma09_g20710	Chitinase 6	1	<p>ATGGCACATCAGAACAGGATGGCGTTTCTGCTAGGCCTCCTCCTTGCCGGAGTTATCGCCGTGGCCGGCCAG AACTGCGGCTGCTCTTCCGACCTTTGCTGCAGCAAGTGGGGCTACTGCGGCACCCGGCAGCGACTACTGCGGC GCCGGGTGCCAGTCGGGGCCGTGCGAGGCTTCTCCTCCTGCTAACGACGCTCTCGGTGGCCGACATCGTGACG CAGAGCTTCTTCGACGGCATCATCGGCCAGGCTGACGGCGGGTGCCTCGGCAAGAGCTTCTACACGCGCGAC GCCTTCTGAGTGGCTTGGCTCCTACACCAGCTTCGGCCCGCTCGGCACGGTTCGACGACTCCAAGCGGGAG ATCGCCGCTTCTTCGCGCACGTCACGCATGAGACCCGACGTAAGTTGTGCATCTGCGTGCATGGTTTCTGC AACTGCTGCTGTCGTCGACGCCGAGCAGCAGCTTCTTCTCCCAAGTCAAATGGATCATCTTAACTCATCTC GAACCCTGCAGATTTCTGCTACATAGAGGAGATCGACGGCGCATCGAAGGACTACTGCGACAAGACGAACAC CCAGTACCCATGCGTGGCGGGGAAGGGCTACTACGGCCGCGCCCATCCAGCTGTCGTGGAACCTCAACTA TGGCCCCGCCGGGAAAGCATCGGGTTCGACGGCTCAGCGGCCAGAGACGGTTCGCCAACGACGTCGTTCAT CTCCTTCAAGACCGCTTGTGGTACTGGATGAACAACAGTCCACTCGCTCATAACCTCTGGCCAGGGATTCCG AGCCACCATTTCGAGCAATCAACGGCGCTCTCGAGTGCACGGCAAGAACCCAGCGACAGTCAACGCCCGCGT CGGGTACTACCAGGACTACTGCGGCCAGTTTGGCGTTGACACCCGGAGACAACCTCACTTGCTAAGTGTCTGG TTCTCTCTGCTGCACCCAAACACAACAATAAATGAGCTGCTTGGAAACGAAAGTATGAATCCAATGGATTAC ACATTTACAGAATAAAAAGGCTATGCATTTCAACTACAATTAATTTAGATGAGAACTTGTGTCGGGAATTTCTT TCCTACTTACCTTACTTTGCACCATATAGTCGAGGGTTTAGAATCAAATCAAGGAGGAAAACGGGAAGACCA TTTCAACCACGGTTCTCATATAGTTAGTTCTAAGTCAGCTGACTTGCACAGGGA</p>	HU <i>et al.</i> , 2013; KOVÁCS <i>et al.</i> , 2013.
Ma01_g02630	Endochitinase-like	1	<p>AAGAGATCCTCGTTTCAAATACATGCGTCTCAGCATGCTTTAGACAAGGTCAAGAGTCAACGGGGCGATAT ATTGCGAAGCAAACACGCCACGATCGAGCATTTAAGGTGGTTCGGATGCAAAAGCAAAGCAAAGATGAAGA TATTGTTCTTGACCTCTTAAGCGTGGCCGCGTTGTTTCGGCGGCTCGCCGAGCAATGCGGAACGAGGCGG GGGGTGCGTTATGCCCGGGGGACTATGCTGCAGCCAGTATGGCTTCTGCGGGTCCACTGAGGCATACTGCG GCTCCGGTTGCCAGAGCCAGTGCGGCGGCGACGTGGCTCCATCATCAGCTCTTCCCTCTTCGACCAAATGC TGAAGCATCGGAACCCCTTTTACAAGTACGACGCTTTCATAGCCCGCGGAACTCCTTCAGCGGGTTTCGGGA CGACCGGTGATGCCACCCTCGTGCAGGGAGATCGCTGCCTTCTTAGCACAAACCTCCCACGAAACAACCTG GTAATTAAGGAGCTTTCGACATGTTAAGCTTCGCTAGCTGAATCATGCATGATAAGGTAAACAAACTGTTGA TGTCGAAAGGTGGGTGGGCAACGGCCCCGACGGTCCATATGCTTGGGGCTACTATTATGTCACGGAAACAA TCCGACACATCGGATCACTGCCAATGGAGCCGGAGTGCCATGCGCTCCCGCAAGAAGTACTATGGCCGA</p>	HU <i>et al.</i> , 2013; KOVÁCS <i>et al.</i> , 2013.

GGACCCATGCAGATCTCCTTGTAAAGTTGATGCACCTCCCCCTCTTGTAAAGCATGCAGTGGATATCTCCTCTA
AACAACTACCTCACGCTTCAGCAACTACAACCTACGGACCGGGCGGGCAAGCCATCGGCCGTCGACCTGCTCAA
CAACCCGGACCTGGTCGCCACCGACCCGGTCTGCTCGTTCAAGACGGCCTTGTGGTTCTGGATGACGCCGCA
GTCGCCGAAGCCGTCGTGCCACGACGTGATCACCGGGCGGTGGACCCCGTCGACCGCCGATCAGTCCGCAGG
GAGGTTGCCGGGATACGGTGTCTGTCACCAACATCATTAACGGAGGGTTGGAGTGCGGGATAGGGCCCGATGC
CCGGGTTGCCGACCGGATCGGATTCTACAAGACGTA CTGTGACCTCCTGGGAGTGAGCTATGGAGACAACCTT
GGACTGCTACGGCCAGAGGCCTTTTGGATTTGCCCTTATCCGAGAGTCGAGAAGGCTAAATGTGTGTCGG
CTTCAGCCGCATGATGGATGTACTAAACAAAGCAGCCGCTCTCTTATCGCTACAATGTGTGGCAGCCAGG
ATAAATCACCTGTGCCTGTTGTCACTCGAGAAATGTTCTCGAGTTCTTAATTTCCCGTATCCTGTAATAATAA
TCTTGTT

TCACATCTATTTATTTATCTTCTCCGCTATGAGCTCTCTTACAGAGATCTTCGACTCCGCCGTCAGGGATTG
CTGCTCTCCTTCACGCGAACACCTCATGTCACTTGAGAAGGACCTCGGCTTCTTGGCCGGAGAGGTGCAAGA
GCTGAAGTGCAAAAGAGAGGGCCGTCAGCCGAGAGGTGGAAGTGGCAAAAGTTCCGGGGCTCGAGCCCAAGCG
CAGAGTGATCGAGTGGATGAAATCCATTCAACAACCTTGAAACAGAAACCAGATCGCTGAACGAGGAGTTTCCAG
CAGGTTGAAGAGGAGGGGCGCTTGCAGCAGCCTCTCTGCGAATTTGTCTTCTCCAGCGAGCAGCTTAGAAG
AAAAGCCGAGATAGCAGTCGCGACCGGGGAAGCTGAAACGGAACGGCAAAATCCGCAAGTTGGCCTTGCC
CGATGAAACGCTCGTCCCAGACGAGGCGTTTCGAGCAGCTCCGACGCATGCAAGCGACGGCAGCGTGAGCTT
CATCGGGTCCACGGGATGGGTCTGGCGGGCAAGACGGCACTCCTGAGAAGTCTCTACGATGACTTCTTGAA
ACGCCAAACGGATTATGACGTGGTTATCTACCTCGAGGTACGTGGTGAAGTGATGGACGTCCAGAGCTCGCT
CTGCAAAACAACCTGAGCTTGCCGTGTCCAGAAACGCAGATCGAGAGAAGAGACCTGCTTTTCGGCGTCTTAAG
TAAGTCGAACCTTCGCACTCTTGCTGGACGACTTGTGGGAACCGTTGAATTACGAGCTCGTGGGAATTTCAAT
TCCCAATCCGTCCACGTCCAAGATCATCGTGCATCCCGACTGGAGGACGTTTGCAGTAGGATGGGTGCACA
GAAGACGATCGAAGTGGAAAGCCTTGCAGGAGGAGCAGGCCGGGATCTCTTCCAGTCCACTCTGTGGGGGAA
GGAACCCAACAACGTGGACATGATCATAATCTATCGCGCTAAAGCGATGGTGTACAAGTGCGGTGGATTGGC
CGCGGCACTCGTCACCACCGCTCGAGAAATGAAAGACCAAAAGACATCCGAGGAATGGAAAGGAGAAAGGCCA
CATCATGAAGAATGCACCCACGAGCTTCCAGGTATGGAAAAAGAGTTCTTGGTCTCTCAAACGCAGCTA
CGATCGTCTGTCCGGTGAATTGCAGAAATGTGCCCTCTGCTTCGCGCTACAGGCAGAAAGGGCGCCCATCAG
AAAGGACCTACTTATGGAACATATGGATAGCCGAAGGATCATAGCCGACTTTGAGAACATCGGCATGCCAT
GAGCAGGGCGTCGCTTTGCTGCAGGAGCTGACTGCAGCGCTTTTGATAAAAAGGCTGGATGACGAGACCTT
CGAGATGCACCCATGGTTCTGTGCCATGATACTGTGGGTTGCAAAATGGCTGCGAGGAAAGGAAGCAAAATG
GTATGTACGAGTCAAAGAATGGGCGAAAGAAACGCCAGACGCTGGCATTGGAACGTCGCGGAGAGAATAGC
ACTGTCTGGGAACGTAATAGAACTCTACCGACAATCTGGATTGTCTAAGTTGGTTTATTTGGATCTTGG
AAACAATCGACGACTCGAGCCGATACCAGATGGCTTCTTCGGCTGCATTCGGTGCCTCAGGGTCTAAATCT
GCAACATGTTGATATAGAAACGATTCCGGCAAACATTTGGCCATCTGGTCCATCTGGAATATCTTAGTCTGTG
TGGCACGAGAATCGAGTCTCTGCCATCGAGCATTCGAGACCTGGTAAATTTGAAGCATTTGATATTGCTATC
GACGAATTCCTTGAGGGATATTGCCGGTGGAAATATGTCAGGGCTGGAGAAACTGATGTGGCTGCATATGAT
GGACAGCTATAGTGGATGGTCGACGGGAGAGGCCAGAGAGATGGGGTCTGCTTGGGAGAGCTGGAAGGCTT
GGATGATCTAAGGGTTCTTGGCATCACCATCGCCACAGAGGCTGCTCTTCAAGGACTCTGTGGTTTACGACG

Ma07_g08480

Disease resistance
protein RPS2-like

1

DALE *et al.*, 2017.

GCTAGCAATGCGCACGCACTGGCTCCAGATAGAAGACTGCGACGGATTGACCAGTTTCACAATTCCATGCTC
GTTTTCTCTCGGGAAAGCCATGCTCAATTTGATAGAGCTCCGACTGCACAAATTACATGAGCTAAAAGAGGT
GGTGTTTAGTGAGAGTGATGCTGCGCTTTCGAATCTAAAACGCCCTCGTCTCTCGGATCTACGGAGAGCCAA
GCTCACCTGGGCGGGCAGCTGCCTTCAGAACCCTCGAGGAGTTGGAGATTGAAGAGTGCAACGGGAATAGGTCC
TGCACTGATAGAACTGGAGGACGAGGGGGCAATGGATGGCTTGCAAGACCATCACTATCCTCCCTGATCTCAA
ACGAATCAAGCTCGAGAATTTGCGGAGGTTGCAGAGCCTGAGCCATGGGGCTGGAGTATTTGCGTTTCGGAG
GCTGGAGACCATGGAGGTGGCAGATTGCCCAAGCTCAACAAGCTGAGCTTGGTTGCCCGGAGCTGAAAAGA
GATCAGATGCGAGGTGCGGTGGTGGCGGCAGCTGGATTGGAAGGACGAACGAACCAAGTGCTTCGACAAGCT
CTTCAAACCGCTGTAGCTTCTTCGTTTCCGCCCGGAGACCATGGCTTCCACGGATGTGACGTGAGTGCAT
GTGCTGTCCGAGTTGTGTGTGAGTGTCTGCTTGCAGATTGGTTTTGTGTTGTGCTTGGCGTGCGAAGCTAAA
CTACCTTATCAAATGCTGGTTTTGATTCTATTTTAGCCATTGAAGCCAAATGTA

Ma06_g01940

Ethylene-responsive
transcription factor
12

1

CCCCCTGTCTCTCTCTCTCTCTGCTGGCTTTATTCCTTCCGCTTTATCTACGCTCAGCGAGACTTGTGTGCGT
GGGCAGCGACGGGACGGAGAGAGAGAAAAGGTGGTGAATAAAAAATTAATCATGTGTCAGGCGCCGTGACAGTCC
GTACATGAGGGAAGAGGGCTGCAGAGGCGTATAGGGCTGACGTCAGGATTTGGTGGCTGGTAGTGTGAGAGC
GTTGGCGAGAATAGTAGTCACATGACGCCCTCTGCGACACGTCAAATCAGACGGCGGCTCGCTCTCATTTTC
TTTCGTTGTCTCTTTGAAGGAGAGTAGCACGCCCTCCTCTCCCGTCCCTCGGTCTCTTTGGCTAGAAGATA
CGGAATAGAAAAGAGAGAGCGAGAGAGGGGAGAAATCGACATGGGATCGAGAGGAGACGGGCATCATTACAGAGG
GGTCCGGAAGAGGCCGTGGGGGGCGGTACGCGGCGGAGATAAGGGACCCGTTGGAAGAAGACCCGGGTGTGGCT
CGGCACGTTTCGACACCCCCGAGGAGGCCGCGCTCGCCTACGATCGCGCCGCCGCTCCCTGCGCGGCGCAAA
GGCCAAGACCAACTTCCCCTACCACCACACCTCGGCCCTCCGCCGCTGCACCTCCCGCTTCCGCCACTCT
CGACCTCAACCTCCCGTGCCACTGCTGGCTCGTCCCCGCGCCACCGCAGGCCGTTCCCTCCCTCTCCGCCACC
CCCGCCGTCGACGGCGCTAGTCCTAGGCAGTTTCGCACTCTATGACCCCGCAAGACTCCGTCACCGGAAGC
GAGGAACGCGGCAGCTCCAGACACGCGCGCTCGTCCCTCGGCCCTCCCTCTTCCGGGACGTCGGGAGGGATTT
GCTTCTCGATCTCAACGAGCCGCCGCGCATCGTCACTGCTGATTGGTTGAGCAGCTATTTAACTACTGT
TCTCTTCCGTCTACTCTTTGCTCATCTCTCCTCCTCAAAGTTGTTTTCCCCCGTCTACCTCTTGGCGCTGGAA
TCATATCTCTGTT

CHEN *et al.*, 2008.

Ma05_g25230

Ethylene-responsive
transcription factor
ERF003-like

1

ATGGCCAGCTCCCAGAAGCGGTACCGAGGTGTTTCGACAGCGGCACTGGGGTTCTGGGTCTCCGAGATCCGC
CACCTCTCCTGTAAGCACGCACTGCACCTCACTCCCTGTGCTGATGAGTTCCCTCCACATCTCTTCCACAA
TTCTCTGTCACTTCTTCTAGGAAGATGCGGATATGGCTGGGCACGTTTCGAGACCGCGGAGGACGCCGCGAG
AGCCTACGACGAGGCGGCAGTTCTAATGTGCGGAGCGGGCGAAAACCAACTTCCCTTGCACTCCCATCG
CCCCCGTCTGTCACACTGCAAGTACCTGTGCGCGGCTCTCACCGCAAGCTGCACCGCTGCAACTTACTCTC
CCTTCAGGCCGCGCAGCCAGTCTGTCATGCATGCGCCGCAAGGCCCTCCGTTGGCGGCAGAGCACAAGGAAGA
GACCAGTCGGGTGCGGAAGAGAACGGCCATGGCGGGTGGAAATTCAGTTGCTTAGAGGAGCATCACGTGGA
AGAGATGATCGAGGAGCTGCTCGACTCCAACCTCTCCATGGAGCTCTGCTGCGCTGCTCTGTAG

CHEN *et al.*, 2008.

Ma03_g02220 Ethylene-responsive
transcription factor
LEP 1

TGTAGACTCCACTGTCCATCCAATAGAACATAGGAATCATATATGTACATCAACTTGTCTATAAAACCCCTCA
CCATGCAAACCCAGCCACACACAAACATCGCTGCCTGCTGTTGCCTTCTCTTTCTATCTCGAATGGGTTTCT
CTTTCTTCTTCTCTACCTCATCCTCCTCCTTTCGTCTTCTACTCCAGTCTCTGGTACGGCTCAGGACAAGA
AAAGCAAACGCAGGCAACCGCAAGACAACGGCGACGAGGCCAACGGCAGTGGCGGGAGCAACACGACCACGG
AGGGAGGCGGCATGAGGTACCTTGGCGTGCCTCGTCGGCCGTGGGGGCGGTACGCGGCGGAGATACGCGACC
CGGCGACGAAGGAGCGGCACTGGCTCGGCACCTTCGACACGGCGGAGGAGGCGGCCGTGCGGTACGACCGAG
CCGCCCCGCCCCCTCCGCGGCCCCCGCGCCCGCACCAACTTCGCCTACCCCGACCTCCCGCCGGCTCCTCCC
TAACCCCTTCTCTCCCCTGACCTCCAGCCCCCGCCCTGCTCCTTCTCGTTTCCACGCCGCCGCTGTCC
AGGCTACCTTCCCAGCGCCGTGGGAGGTCAGGGAGGCTACTACAACGCTACCACCAGCACAATTCCTGACG
ACGGGGTGAGTTGCTATCGCCAGCAGCAGCAACAACATCAGGAACAGGGTCTGCAGTACCCGGCATCCG
CGCTGCCGCCCTTTGCCGCAGTCTCCACCGCCGGCGCCGGAGGTGGCATCGCCGTGGGACTTCGGTGGTGCTA
CGGCAGGGGGTGAGGAGCACCTGGCGGGACTGGGGGAGTTCGGCGGGTACGGATCCCCAGCCTCGCACGGGA
TCTTCTTCGAGGAAGGCTACGTGCACAGCCCCTTGTTCCGGTCCGATGCCAGCGGTGGACGACGCCGCCGCCG
ATGGGTTCAGCTCGGAGGCTCCTCCTCCTTACTACTACTGATGGGTGGGCGAAGGGCTTCAATCTCAGT
ACGCGCCCGCCGGTGGACGTGGCGTTTTCTTTGCCCTTCCAAGTGTGTTGTCCCTTCTCCTCTCTCTCTC

CHEN *et al.*, 2008.

