



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

Brunara Evely de Araujo Lima

PERFIL TRANSCRICIONAL DE GENES DE DEFESA EM
PLANTAS DE *Passiflora edulis* MICORRIZADAS E SOB
ESTRESSE CAUSADO POR FUSARIOSE

Petrolina-PE

2023

BRUNARA EVELY DE ARAUJO LIMA

**PERFIL TRANSCRICIONAL DE GENES DE DEFESA EM
PLANTAS DE *Passiflora edulis* MICORRIZADAS E SOB
ESTRESSE CAUSADO POR FUSARIOSE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal do *Campus* Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Nataniel Franklin de Melo, Embrapa Semiárido

Coorientadoras: Dra. Adriana Mayumi Yano de Melo, Univasf

Dra. Roberta Lane de Oliveira Silva, Univasf

Petrolina-PE

2023

Lima, Brunara Evely de Araujo

L732p

Perfil transcricional de genes de defesa em plantas de *passiflora edulis* micorrizadas e sob estresse causado por fusariose/ Brunara Evely de Araujo Lima.– Petrolina-PE, 2023.

96f.: il.; 29 cm

Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal.) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Nataniel Franklin de Melo

1. Planta - Ácido fusárico- Estudo. 2. Estresse biótico3. Maracujazeiro amarelo4. Glomeromycota I. Título. II. Melo, Nataniel Franklin de (Orient.). III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 631.52

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF
Bibliotecário: Fábio Santiago

CRB5/1785

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

Brunara Evelyn de Araujo Lima

PERFIL TRANSCRICIONAL DE GENES DE DEFESA EM PLANTAS DE *Passiflora edulis* MICORRIZADAS E SOB ESTRESSE CAUSADO POR FUSARIOSE

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 14 de dezembro de 2023.

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **NATONIEL FRANKLIN DE MELO**
Data: 09/02/2024 09:02:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Nataniel Franklin de Melo (Orientador)
Embrapa Semiárido

Documento assinado digitalmente
 **JOAO JOSE DE SIMONI GOUVEIA**
Data: 09/02/2024 15:03:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. João José de Simoni Gouveia
Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf)

Documento assinado digitalmente
 **JOAO RICARDO GONCALVES DE OLIVEIRA**
Data: 09/02/2024 07:46:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. João Ricardo Gonçalves de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

A minha família e amigos pelo apoio e contribuição.

AGRADECIMENTOS

A Deus e aos meus pais, José Valdir e Cleciana Alves, e minha irmã Bruna Cristina, pelo apoio incondicional e incentivo sempre prestado na realização dos meus sonhos.

A meu orientador, Nataniel Franklin de Melo, e às minhas co-orientadoras, Roberta Lane e Adriana Mayumi, pelo apoio, paciência, motivação e conhecimentos doados a mim durante essa jornada.

À Univasf e a EMBRAPA Semiárido, por ceder as instalações para o desenvolvimento do projeto.

Aos amigos do laboratório, em especial, Luiz Dantas, Lilian Araújo, Maria Clara, Marcos Augusto, Érick Oliveira, Paulo Henrique, Esther Novic e Jayslane Santos pela companhia e risadas no laboratório, e pelo incentivo que cada um me deu.

Aos meus amigos, que de forma direta ou indireta auxiliaram neste trabalho, em especial, Lucas Eugênio, Mirele Xavier, Angélica Jericó, Rogério Oliveira, Vladimir Nunes, Jefferson Brito, Daniela Souza, Maria Carolina e Ana Caroline. Com quem tive o privilégio de aprender a cada dia sobre o significado de amizade e companheirismo, amo vocês.

Às minhas amigas, Naine Nunes e Larice Amorim, que sempre foram meus pilares durante a pós-graduação, me deram suporte, apoio e carinho, principalmente quando eu mais precisei, amo vocês meninas e obrigada por estarem sempre ao meu lado.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de estudos e auxílio financeiro que possibilitou a dedicação integral aos estudos.

Aos membros titulares e suplentes da banca examinadora, Dr. João José de Simoni Gouveia, Dr. João Ricardo Gonçalves de Oliveira, Dr. Flávio de França Souza e Dr. Bruno Coutinho Moreira, expresse meu profundo agradecimento pelas correções e sugestões.

RESUMO

A cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims) possui alto valor econômico, porém, as plantações têm sido afetadas pela murcha vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (FoP), tornando seu cultivo inviável em algumas regiões. Este trabalho objetivou conhecer os mecanismos de defesa relacionados à interação do maracujazeiro amarelo inoculado com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e sob indução de fusariose, além de selecionar genes associados à defesa vegetal promissores para validação por PCR quantitativa em tempo real (qPCR). Foi conduzido um experimento em casa de vegetação utilizando plantas inoculadas ou não com o mix de FMA (*Gigaspora albida* + *Entrophospora etunicata*). Após 70 dias da inoculação com FMA, aplicou-se o estresse nas plantas utilizando FoP (2.10^6 conídios/mL) e o ácido fusárico – AF (400 mg/L), em tratamentos isolados ou associados. A coleta de tecidos radiculares foi realizada com 24 horas e sete dias após a inoculação de FoP e aplicação de AF. O material coletado foi conservado em ultrafreezer (-80°C) até a realização das análises moleculares (extração de DNA e RNA total, síntese de cDNA e reações de qPCR). Foram utilizadas três repetições para cada tratamento/tempo. Foram analisados os parâmetros de crescimento das plantas antes da imposição do estresse, além da avaliação da colonização micorrízica e do número de glomerosporos após a aplicação do estresse. Quatro pares de *primers* foram desenhados e/ou selecionados na literatura para detectar a presença de DNA dos FMA e FoP nas amostras de tecido radicular. Além disso, foram desenhados cinco pares de *primers* referentes a genes de sinalização e defesa de *P. edulis* para uso nas análises de expressão gênica. De forma geral, os parâmetros morfoagronômicos nas plantas micorrizadas foram superiores àsquelas sem a inoculação. Ao final do experimento, os números de glomerosporos dos tratamentos micorrizados diferiram dos não-micorrizados, com exceção do tratamento AF. Na colonização micorrízica, os tratamentos micorrizados com a aplicação de FoP e AF diferiram significativamente na frequência e intensidade micorrízica em relação aos demais tratamentos. Embora a intensidade de arbúsculos tenha diferido entre os tratamentos micorrizados e não micorrizados, não houve diferença significativa entre si. Os *primers* desenhados para *E. etunicata* e *G. albida* foram eficientes em detectar a presença das espécies de FMA nas raízes, tanto após 24h como aos sete dias da indução de estresse por FoP e AF. Os resultados de expressão relativa demonstraram que todos os genes candidatos (*PeLecRK*, *PePR-1*, *PePR-12*, *PeSERK1*, *PeWRKY*) foram diferencialmente expressos (induzidos ou reprimidos), a depender do tratamento analisado. Além disso, o tempo de estresse foi determinante para alterar o perfil de expressão dos genes avaliados. O fator de transcrição WRKY se destacou entre os demais, apresentando indução em todos os tratamentos com sete dias de estresse. Em contraste, a PR-1 manteve sua expressão constitutiva em quase todos os tratamentos em ambos os tempos (24horas e 7 dias). Os resultados obtidos neste estudo permitiram ampliar o conhecimento sobre a expressão diferencial de genes alvos que possivelmente participam de vias de sinalização e defesa em *P. edulis* e fornecem candidatos promissores para aplicação no melhoramento genético da cultura.

Palavras-Chave: Ácido fusárico. Estresse biótico. Glomeromycota. *Fusarium oxysporum*. Maracujazeiro amarelo.

ABSTRACT

The cultivation of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) holds significant economic value, however, plantations have been impacted by vascular wilting caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (FoP), rendering its cultivation unfeasible in certain regions. This study aimed to understand the defense mechanisms related to the interaction of yellow passion fruit inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and under fusarium induction. Additionally, it aimed to select promising plant defense genes for validation through real-time quantitative PCR (qPCR). An experiment was conducted in a greenhouse using plants inoculated or not with the AMF mix (*Gigaspora albida* + *Entrophospora etunicata*). After 70 days of AMF inoculation, stress was induced in the plants using FoP (2.10^6 conidia/mL) and fusaric acid – AF (400 mg/L), in isolated or combined treatments. Root tissue collection was performed 24 hours and seven days after FoP inoculation and AF application. The collected material was stored in an ultrafreezer (-80°C) until molecular analyses (total DNA and RNA extraction, cDNA synthesis, and qPCR reactions) were conducted. Three repetitions were used for each treatment/time. Plant growth parameters were analyzed before stress imposition, along with evaluation of mycorrhizal colonization and the number of glomerosporos after stress application. Four primer pairs were designed and/or selected in the literature to detect the presence of AMF and FoP DNA in root tissue samples. Additionally, five primer pairs related to signaling and defense genes of *P. edulis* were designed for use in gene expression analyses. Overall, morpho-agronomic parameters in mycorrhizal plants were superior to those without inoculation. At the experiment's conclusion, the glomerosporos numbers in mycorrhized treatments differed from non-mycorrhized ones, except for the AF treatment. In mycorrhizal colonization, treatments mycorrhized with FoP and AF application significantly differed in mycorrhizal frequency and intensity compared to other treatments. Although arbuscular intensity differed between mycorrhizal and non-mycorrhizal treatments, there was no significant difference between them. Primers designed for *E. etunicata* and *G. albida* efficiently detected the presence of AMF species in the roots, both 24 hours and seven days after FoP and AF stress induction. The results of relative expression demonstrated that all candidate genes (*PeLecRK*, *PePR-1*, *PePR-12*, *PeSERK1*, *PeWRKY*) were differentially expressed (induced or repressed), depending on the analyzed treatment. Moreover, stress duration was crucial in altering the expression profile of the evaluated genes. The WRKY transcription factor stood out among others, showing induction in all treatments with seven days of stress. In contrast, PR-1 maintained its constitutive expression in almost all treatments at both time points (24 hours and 7 days). The results obtained in this study contribute to expanding knowledge about the differential expression of target genes that likely participate in signaling and defense pathways in *P. edulis*, providing promising candidates for application in the genetic improvement of the crop.

Keywords: Fusaric acid. Biotic stress. Glomeromycota. *Fusarium oxysporum*. Yellow passion fruit.

LISTA DE FIGURAS

	Pág
	.
Figura 1. Características da morfologia externa do maracujazeiro amarelo (<i>P.edulis</i>).....	19
Figura 2. Sintomas causados pelas principais doenças que afetam o maracujazeiro.....	21
Figura 3. Sintomas causados pelo <i>F. oxysporum</i> no maracujazeiro.....	22
Figura 4. Estruturas morfológicas de FMA.....	25
Figura 5. Mecanismos de defesa das plantas pelo PTI e ETI.....	29
Figura 6. Esquema da metodologia de Trouvelot <i>et al.</i> (1986) para quantificação da colonização micorrízica.....	41
Figura 7. Número de glomerosporos em mudas de maracujazeiro micorrizadas ou não por 70 dias e induzidas ao estresse com aplicação de <i>Fusarium oxysporum</i> e/ou ácido fusárico por sete dias.....	46
Figura 8. Frequência (F) e intensidade micorrízica (m); intensidade arbuscular da parte micorrízica (a) e intensidade arbuscular no sistema radicular de <i>P. edulis</i> seguindo o método de avaliação de Trouvelot <i>et al.</i> (1986).....	47
Figura 9. Detecção do FMA <i>E. etunicata</i> utilizando os primers desenhados para a espécie em amostras de raiz após sete dias de estresse.....	49
Figura 10. Detecção do FMA <i>G. albida</i> utilizando os primers desenhados para a espécie em amostras de raiz após sete dias de estresse.....	50
Figura 11. Detecção de amostras de DNA de <i>P. edulis</i> utilizando o <i>primer 1</i> desenhado para <i>F. oxysporum 1</i>	52
Figura 12. Detecção de amostras de DNA de <i>P. edulis</i> utilizando o <i>primer 2</i> de <i>F. oxysporum</i> , selecionado da literatura.....	53
Figura 13. Estimativa dos coeficientes de correlação entre os Ciclos de quantificação (Cq) e número de glomerosporos (NG) de <i>G. albida</i> (GA) e <i>E. etunicata</i> (EE).....	54
Apêndice A. Eletroforese em gel de agarose demonstrativa de amostras de RNA total de <i>P. edulis</i> no tempo de 24 horas após aplicação de indutores da fusariose e inoculação com FMA.....	96

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Sumarização dos benefícios da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em <i>Passiflora</i>	27
Tabela 2. Tratamentos aplicados em experimento com <i>P. edulis</i> micorrizado ou não e submetido ao estresse biótico causado por <i>Fusarium oxysporum</i> e micotoxina (ácido fusárico).....	39
Tabela 3. <i>Primers</i> utilizados nos testes de detecção por qPCR das amostras de DNA de tecidos radiculares via qPCR.....	42
Tabela 4. <i>Primers</i> utilizados nas análises de expressão gênica via qPCR.....	43
Tabela 5. Avaliação da altura (cm), número de folhas, diâmetro de caule (mm) e incrementos (%) de mudas de <i>P. edulis</i> durante 1, 30, 45 e 70 dias com e sem inoculação com mix de FMA (<i>E. etunicata</i> e <i>G. albida</i>).....	45
Tabela 6. Validação da expressão gênica em plantas de <i>P. edulis</i> micorrizadas (M) ou não, com indução, após 24h e sete dias, de estresse pela aplicação de <i>Fusarium oxysporum</i> (FoP) e/ou ácido fusárico (AF).....	56
Apêndice B. Valores médios de quantificação e pureza de amostras de RNA total de tecidos radiculares e foliares de <i>P. edulis</i>	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a	Frequência arbuscular
A	Intensidade arbuscular
AF	Ácido fusárico
Avr	Avirulência
BDA	Meio de cultura batata dextrose-água
Ca ²⁺	Íon cálcio
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CMV	Vírus do mosaico do pepino
Cqs	Ciclos de quantificação
DAMPs	Damage associated molecular patterns
DAS	Tricoteceno 4,15-diacetoxiscirpenol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
eLRRs	Proteínas com lrrs extracitoplasmáticas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ENN	Eniatinas
ET	Etileno
ETI	Effector-triggered immunity
F	Frequência micorrízica
FBs	Fumonisin
FC	Foldchange
FMA	Fungos Micorrízicos Arbusculares
FoP	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i>
FR	Fatores de resistência
FTs	Fatores de transcrição
GRs	Genes de referência
HAMPS	Herbivorous associated molecular patterns
HR	Reação de hipersensibilidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISR	Resposta sistêmica induzida
ja	Ácido jasmônico
KOH	Hidróxido de potássio
LecRK	Receptor quinase de lectina do tipo-L
M	Intensidade micorrízica
MAMPs	Microbe associated molecular patterns
MAPK	MAP quinases
MeSA	Ácido metilsalicílico
NBS-LRRs	Proteínas citoplasmáticas de repetição rica em leucina
NG	Número de glomerosporos
NO	Óxido nítrico
NTC	Controles negativos
PA	Fosfatase ácida
PAMPs	Pathogen associated molecular patterns
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial de hidrogênio
PRs	Genes relacionados à patogênese
PRRs	PAMP-recognition receptor
PTI	PAM-triggered immunity
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa
RLKs	Receptor-like kinase

RLPs	Receptor-like protein
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RT-qPCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
SA	Ácido salicílico
SAR	Resistência sistêmica adquirida
SERK1	Somatic embryogenesis receptor-like kinase-1
TM	Domínio transmembranar
ZEN	Zearalenona

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Maracujazeiro amarelo: aspectos botânicos e importância econômica....	18
2.1.1 Principais doenças que afetam a cultura do maracujá.....	20
2.2 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i> W. L. Gordon.....	21
2.2.1 Ácido fusárico.....	23
2.3 Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	24
2.3.1 FMA em maracujazeiro.....	26
2.4 Mecanismos de defesa de plantas.....	27
2.4.1 Genes de resistência (R).....	30
2.4.2 Fatores de transcrição.....	31
2.4.3 Proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas PR).....	32
3 OBJETIVOS.....	36
3.1 Objetivo Geral.....	36
3.2 Objetivos Específicos.....	36
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Local de estudo.....	37
4.2 Material vegetal.....	37
4.3 Preparação do inoculo e aplicação de FMA.....	37
4.4 Produção do patógeno fúngico e solução de ácido fusárico.....	38
4.5 Imposição do estresse biótico.....	38
4.6 Desenho experimental e tratamentos.....	39
4.7 Avaliação dos parâmetros de crescimento e colonização micorrízica.....	39
4.8 Quantificação da colonização micorrízica.....	40
4.9 Extração de DNA e seleção/desenho de <i>primers</i>	41
4.10 Extração de RNA de <i>P. edulis</i>	42
4.11 Síntese de cDNA.....	42
4.12 Seleção de genes de interesse e desenho de <i>primers</i> para análise de expressão relativa.....	42
4.13 Reações de qPCR.....	44
4.14 Análise estatística.....	44
5 RESULTADOS.....	45
5.1 Influência de FMA nos parâmetros de crescimento do maracujazeiro antes da indução ao estresse biótico.....	45
5.2 Contagem de glomerosporos e colonização radicular de FMA ao final do experimento.....	45
5.3 Extração de DNA e testes de detecção em qPCR.....	48
5.4 Seleção de genes de interesse e análise de expressão gênica por RT-qPCR.....	54
6 DISCUSSÃO.....	57
6.1 Influência de FMA nos parâmetros de crescimento do maracujazeiro antes da indução do estresse biótico.....	57
6.2 Contagem de glomerosporos.....	58
6.3 Colonização radicular de FMA.....	59
6.4 qPCR e <i>primers</i> específicos para FMA e <i>F. oxysporum</i>	60
6.4.1 Correlação entre ciclos de quantificação e número de glomerosporos.....	62
6.5 Expressão de PRs (PR-1 e PR-12) em resposta a <i>F. oxysporum</i>	64

6.6 Expressão de SERK1 em resposta a <i>F. oxysporum</i>	65
6.7 Expressão de LecRK em resposta a <i>F. oxysporum</i>	66
6.8 Expressão de WRKY em resposta a <i>F. oxysporum</i>	67
6.9 Expressão gênica e a relação com FMA.....	68
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
REFERÊNCIAS.....	71
APÊNDICES.....	96

1 INTRODUÇÃO

O maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) é uma espécie de grande importância econômica no Brasil (Cervi *et al.*, 1997), sendo um dos principais produtos agrícolas do país, pois seus frutos são utilizados para o consumo *in natura* e produção de sucos, geleias, doces, remédios e cosméticos em geral (Sakalem; Negri; Tabach, 2012). A produção do maracujá é especialmente significativa na região Nordeste, onde o clima é favorável para o cultivo da fruta, com a região sendo responsável por mais de 68% da produção total do maracujá no Brasil (IBGE, 2022). Contudo, inúmeras doenças afetam a cultura do maracujazeiro, tornando o seu cultivo inviável em muitas regiões do país e causando danos econômicos significativos na produção (Machado *et al.*, 2017).

Uma das principais doenças que afetam a cultura do maracujazeiro é a fusariose, causada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (FoP) (Flores *et al.*, 2012). A fusariose é uma doença vascular que afeta a planta, causando murcha e morte dos tecidos. Os sintomas da fusariose incluem amarelecimento das folhas, murcha das plantas, morte dos ramos e raízes, além de redução na produção de frutos (Laranjeira *et al.*, 2018). Essa espécie produz estruturas de resistência chamadas clamidósporos, que podem sobreviver no solo por longos períodos, tornando difícil o controle da doença (Liberato; Costa, 2001; Viana *et al.*, 2003). Além disso, o fungo produz micotoxinas, que são metabólitos secundários tóxicos, como o ácido fusárico (AF), que possui um papel importante na patogênese da fusariose (Ji *et al.*, 2019). O AF é tóxico para as células da planta, causando danos aos tecidos e inibindo o crescimento das raízes. Além disso, pode induzir a produção de enzimas que degradam a parede celular da planta, facilitando a penetração do fungo nos tecidos (Jiao *et al.*, 2013).

Apesar de receber grande atenção devido a seu impacto nas plantações, a fusariose ainda necessita de alternativas de controle sustentáveis, e ao fato de ainda não terem sido desenvolvidas culturas totalmente resistentes à fusariose (Gomes Filho *et al.*, 2020). Assim, uma estratégia promissora para o controle da fusariose é a utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Os FMA são fungos simbiotes que formam associação mutualística com as raízes das plantas, e essa associação gera uma série de impactos positivos em plantas infectadas, como o aumento da absorção de água e translocação dos nutrientes,

como o fósforo, nitrogênio, cobre, zinco e magnésio. A planta, em troca, disponibiliza carboidratos e lipídeos para o desenvolvimento e esporulação dos fungos (Keymer *et al.*, 2017).

Ademais, a colonização das raízes por FMA pode trazer diversos benefícios às plantas, como o aumento da absorção de nutrientes, maior taxa fotossintética, resultando em incremento na biomassa aérea e radicular e maior crescimento de mudas (Anjos *et al.*, 2005; Cavalcante *et al.*, 2002; Hashem *et al.*, 2021). Os FMA ainda proporcionam aumento na resistência à doenças a partir da indução de expressão de genes relacionados às respostas de defesa vegetal (Weng *et al.*, 2022). Diversos estudos têm demonstrado que a colonização micorrízica pode aumentar a resistência das plantas a patógenos radiculares, dentre estes, *Fusarium oxysporum* (Borges *et al.*, 2007; Chu *et al.*, 1997; Johansson *et al.*, 2004; Ren *et al.*, 2010; Al-Askar; Rashad, 2010). Para o efetivo benefício proporcionado pelos FMA é imprescindível o estabelecimento da colonização micorrízica, tornando importante a sua quantificação no sistema radicular. Nesse sentido, a abordagem mais utilizada para quantificar a colonização de FMA é a observação das estruturas fúngicas em raízes previamente clarificadas e coradas por métodos que utilizam corantes, em geral tóxicos. Os métodos de microscopia mais comumente usados para determinar a taxa de colonização são os métodos de interseção dos quadrantes (Giovanetti; Mosse, 1980), de ampliação das interseções (McGonigle *et al.*, 1990) e o sistema de cinco classes de Trouvelot *et al.* (1986). Molecularmente, uma das técnicas utilizadas para a quantificação de FMA é a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) (Kokkoris *et al.*, 2019).

A qPCR é uma técnica que permite a amplificação, detecção e quantificação de sequências específicas de DNA. É considerada uma técnica sensível e precisa que permite a quantificação de FMA em amostras de solo e raízes de plantas (Bodenhausen *et al.*, 2021). As plataformas de análise da qPCR permitem a quantificação absoluta de determinadas espécies de FMA, empregando *primers* específicos (Alkan *et al.*, 2004; Thonar *et al.*, 2012; Heller e Carrara, 2022), ou utilizam *primers* desenhados para amplificação de variadas espécies do filo Glomeromycota com o objetivo de abranger a diversidade total de FMA (Hewins *et al.*, 2015; Bodenhausen *et al.*, 2021). Além da quantificação de FMA, a qPCR também pode ser utilizada para a detecção e quantificação de

patógenos, como *F. oxysporum* (Priyanka, Dubey e Singh, 2015; Haegi *et al.*, 2013). A detecção precoce de patógenos é importante para o controle efetivo da doença e a prevenção de perdas na produção. Dessa forma, o desenvolvimento de *primers* específicos para a detecção de patógenos é uma estratégia promissora para o monitoramento e identificação molecular de doenças em plantas, como a fusariose (Zhu *et al.*, 2016).

A literatura mostra que a inoculação com FMA proporciona benefícios para várias plantas sob condições de estresse biótico, neste estudo partimos da hipótese de que os FMA melhoram o desenvolvimento das mudas de *P. edulis* e podem induzir respostas de defesa contra a infecção por FoP. Desta forma, o objetivo deste estudo foi conhecer os mecanismos de defesa relacionados à interação do maracujazeiro amarelo micorrizado (FMA) e sob indução da fusariose, selecionando genes R, PRs e FTs diferencialmente expressos e promissores para aplicação em programas de melhoramento genético, visando resistência ao *F. oxysporum*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

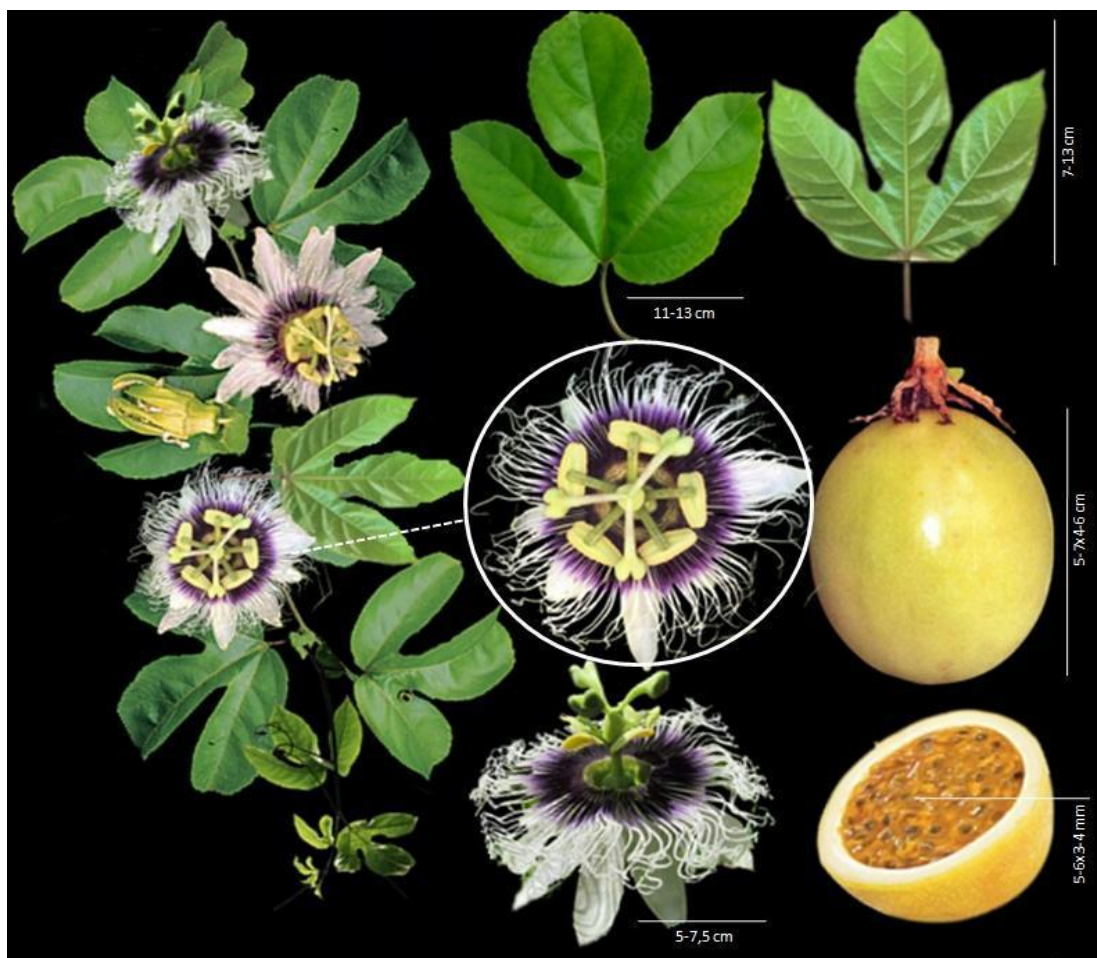
2.1 Maracujazeiro amarelo: aspectos botânicos e importância econômica

A família Passifloraceae possui quatro gêneros no Brasil: *Dilkea* Mast., *Ancistrothyrus* Harms (ambos com ocorrência na região Norte e no Centro-oeste), *Mitostemma* Mast. (encontrado nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste) e *Passiflora* L. (de ocorrência em todo o País) (Bernacci *et al.*, 2022). O gênero *Passiflora* se destaca por apresentar o maior número de espécies, cerca de 576 espécies, dentro de Passifloraceae, encontradas em regiões tropicais e subtropicais (Reis *et al.*, 2018).

Dentre as espécies de maracujá, *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* (maracujazeiro-amarelo) é a que possui maior importância dentro da família Passifloraceae, devido à qualidade dos frutos, consumo *in natura* e incentivo à agroindústria, bem como pelo seu uso como matéria-prima para a fabricação de medicamentos e cosméticos em geral (Zeraik, 2010; Sakalem; Negri; Tabach, 2012).

O maracujazeiro amarelo se caracteriza por ser uma liana ou trepadeira, possuir um caule cilíndrico, ramificado, anguloso, apresentando gavinhas, com folhas alternadas simples e trilobadas. Os frutos do maracujazeiro apresentam forma ovóide ou globosa, com uma polpa mucilagínosa amarela, envolta por uma casca coriácea, quebradiça e lisa (Kato, 2010; Bernacci *et al.*, 2022). As flores são axilares, a corola é pentâmera, com as pétalas brancas, apresentando uma coroa composta por centenas de filamentos organizados em quatro ou cinco séries, os discos nectaríferos ficam na base do hipanto (Judd *et al.*, 1999; Gazzoni, 2022) (Figura 1).

Figura 1. Características da morfologia externa do maracujazeiro amarelo (*P. edulis*)



Fonte: Gilbert; Alves; Favoreto (2022); Faleiro *et al.* (2020); Gazzoni (2022).

O plantio do maracujazeiro só teve início no Brasil na década de 1970 e era apenas uma alternativa ao cultivo de café. No entanto, na década de 90, após grandes perdas na plantação, ocasionadas por geadas que dizimaram a cafeicultura no sul do país, a produção do maracujá aumentou ano após ano, causando a expansão dessa cultura em todo o país (São José; Pires, 2011).

Atualmente, a cultura do maracujazeiro apresenta uma produção de 697.859 toneladas, obtidas em uma área de 45.602 hectares (IBGE, 2022), e o Brasil destaca-se como um dos principais produtores e consumidor mundial de maracujá. Todos os estados brasileiros são produtores da fruta, com destaque para o Nordeste (IBGE, 2022). A região Nordeste respondeu por quase 70% da produção nacional em 2022, sendo Bahia, Maranhão, Ceará, Piauí e Pernambuco os estados com as maiores produções. Os estados da Bahia e Pernambuco responderam por 37% do cultivo de maracujá, equivalente a

265.027 toneladas produzidas e mais de 20 mil ha de área colhida (IBGE, 2022).

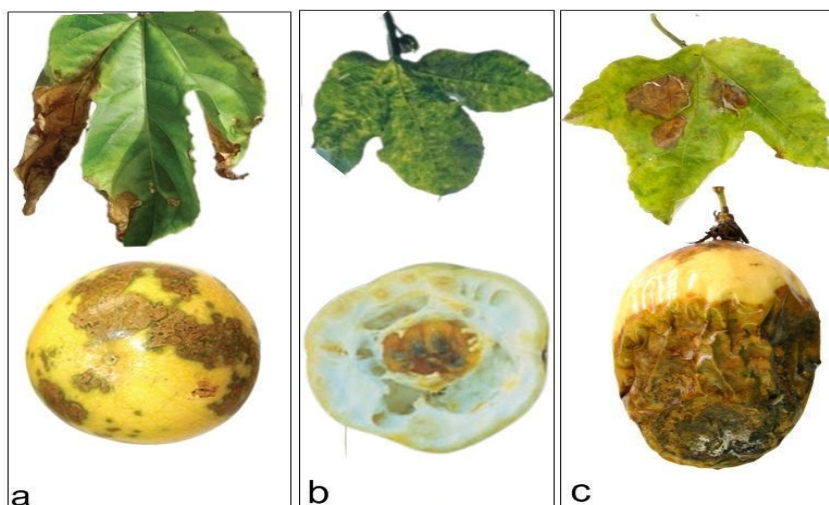
2.1.1 Principais doenças que afetam a cultura do maracujazeiro

Diversas patologias afetam a cultura do maracujazeiro resultando na inviabilidade dos plantios de maracujá e ocasionando danos econômicos significativos (Machado *et al.*, 2017). Dentre os patógenos bacterianos, destaca-se *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, que causa bacteriose nos maracujazeiros e promove perdas expressivas em todas as regiões onde o maracujazeiro é cultivado, sendo mais grave em regiões com temperatura e umidade elevadas (Tahara, Mehta, Rosato, 2003; Munhoz *et al.*, 2011) (Figura 2a).

As viroses também prejudicam a cultura do maracujazeiro, como o vírus do endurecimento dos frutos, conhecido como “woodiness” (Cerqueira-Silva *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2015) (Figura 2b), vírus do mosaico do pepino (Anjos *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2021) e vírus do mosaico amarelo (Crestani *et al.*, 1986). Por sua vez, a ocorrência da virose da pinta verde é dependente do ácaro-da-leprose (*Brevipalpus phoenicis*), que transmite uma partícula virótica, causando manchas típicas nos frutos e flores, além de lesões nos ramos (Kitajima, Rezende, Rodrigues, 2003; Saito, 2020).

Em relação às doenças causadas por fungos, destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, que é considerada uma das doenças mais comuns em todas as regiões de produção do maracujá (Figura 2c), afetando toda a parte aérea da planta (flores, frutos, ramos e folhas). Em regiões úmidas, causa danos significativos durante a estação chuvosa, no semiárido, danos severos e de difícil controle são verificados durante a estação chuvosa e quente (Hindorf, 1999; Júnior *et al.*, 2010; Du *et al.*, 2017). Outra doença fúngica limitante para o cultivo do maracujazeiro é a murcha do *Fusarium*, que tem como agente causador a espécie *F. oxysporum* Schl. f. sp. *passiflorae* (Flores *et al.*, 2012; Teixeira, 2015; Marostega *et al.*, 2019), que pode ser encontrada em diferentes regiões geográficas do mundo.

Figura 2. Sintomas causados pelas principais doenças que afetam o maracujazeiro.



Legenda: a) Sintomas da mancha bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) nas folhas e fruto do maracujá; b) Sintomas sistêmicos induzidos pelo vírus do endurecimento dos frutos (PWV) nas folhas e frutos; c) Sintomas da antracnose nas folhas e frutos de *P. edulis*.

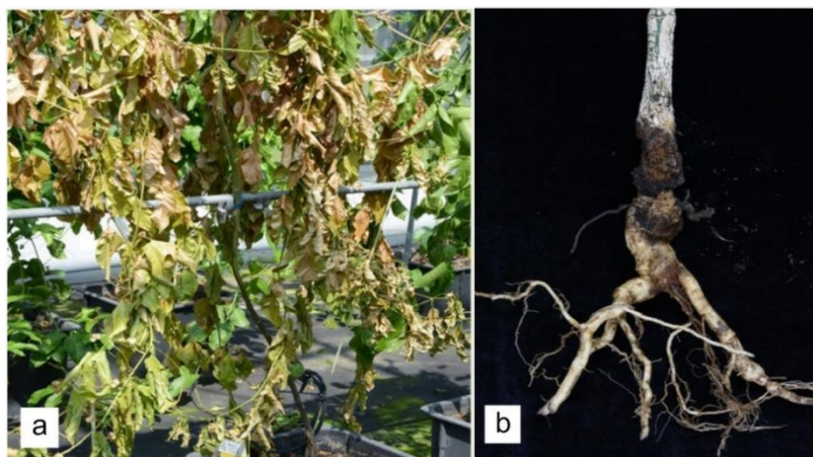
Fonte: Figura a: Ishida; Halfeld-Vieira (2009); Figura b: Anjos; Junqueira; Charchar (2001); Figura c: Ichida (2018).

2.2 *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* W. L. Gordon

Fusarium oxysporum é um fungo que produz clamidósporos globulares, macroconídios fusiformes com cinco a nove septos, bem como microconídios cilíndricos, asseptados ou unisseptados (Töfoli *et al.*, 2013). Os clamidósporos são estruturas de resistência que possibilitam ao fungo sobreviver por vários anos no solo, impossibilitando o cultivo de maracujazeiro em algumas áreas (Liberato; Costa, 2001; Viana *et al.*, 2003).

A doença pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento da planta, causando perda de turgescência da parte aérea, iniciando-se com o murchamento dos ramos ponteiros, e posteriormente, a murcha generalizada das folhas (Flores, 2008). Esse patógeno ataca também o sistema vascular e radicular, provocando a morte prematura da planta, fato que reduz o número de plantas presentes no campo e a produtividade (Laranjeira *et al.*, 2018) (Figura 3).

Figura 3. Sintomas causados por *F. oxysporum* no maracujazeiro.



Legenda: a) Ocorrência de murcha causada por *F. oxysporum* em uma planta de maracujá; b) Caule infectado pela murcha.

Fonte: Joa *et al.* (2018).

A disseminação do fungo ocorre por meio do contato entre plantas infectadas e sadias, bem como pela água de irrigação e equipamentos agrícolas (Viana *et al.*, 2003). A infecção do patógeno ocorre através de aberturas naturais das coifas, lesões causadas por nematóides, práticas culturais como capinas, uso de sementes e mudas contaminadas (Pio-Ribeiro; Mariano, 1997).

A fusariose necessita de medidas de controle, tendo em vista que não existe controle químico eficaz, e ainda não foram desenvolvidas variedades totalmente resistentes a doença (Gomes Filho *et al.*, 2020). Como prevenção, recomenda-se usar materiais de propagação livres de patógenos (Flores, 2008), evitar o plantio em áreas ricas em matéria orgânica e mal drenadas, tratar o solo ao redor das sementes tentando impedir o crescimento de fungos e controlar nematoides. Se a doença já estiver presente, aconselha-se que os maracujazeiros afetados sejam erradicados (Pio-Ribeiro; Mariano, 1997).

Os fitopatógenos do solo são geralmente controlados com o uso de cultivares resistentes, tornando este o método mais acessível e simples (Pio-Ribeiro; Mariano, 1997). As espécies de *Passiflora* nativas do Brasil, tais como *P. giberti*, *P. nitida*, *P. alata*, *P. quadrangularis* e *P. macrocarpa* foram as que apresentaram maior resistência ao patógeno (Roncatto *et al.*, 2004; Pio-Ribeiro; Mariano, 1997).

Vale salientar que as espécies nativas do gênero *Passiflora* possuem características intrigantes que podem ser adicionadas aos maracujazeiros

comerciais para aumentar a resistência a doenças. Dessa forma, é importante que sejam investigadas em programas de melhoramento, uma vez que podem reduzir o uso de defensivos agrícolas e aumentar a produção por área (Meletti, 2011).

2.2.1 Ácido fusárico

Os fitopatógenos do solo pertencentes ao gênero *Fusarium* sintetizam metabólitos secundários tóxicos, denominados de micotoxinas, durante o seu crescimento e armazenamento (Agrios, 2005; Ji *et al.*, 2019). Estimativas indicam que todos os anos, entre 60% e 80%, das colheitas em todo o mundo são contaminadas por esses compostos (Eskola *et al.*, 2020). As micotoxinas são transmitidas de alimentos contaminados para animais e, subsequentemente, para humanos (Marin *et al.*, 2013), levando a efeitos tóxicos graves e crônicos. O surto de toxicidade do *Fusarium* foi relatado em vários países da Europa, Ásia, África, Nova Zelândia e América do Sul (Marin *et al.*, 2013). Algumas das micotoxinas produzidas por espécies de *Fusarium* são: tricotecenos, zearalenona (ZEN), fumonisinas (FBs), eniatinas (ENN), ácido fusárico (AF), entre outros (Perincherry; Lalak-Kańczugowska; Stępień, 2019; Ji *et al.*, 2019).

Durante a infecção, toxinas e enzimas celulolíticas são produzidas pelo patógeno visando reter vias metabólicas secundárias para melhorar o seu estabelecimento e absorção de nutrientes do hospedeiro (Perincherry; Lalak-Kańczugowska; Stępień, 2019). O ácido fusárico é uma das toxinas fúngicas conhecidas por sua fitotoxicidade, cuja produção é regulada pelo gene *fub1*, encontrado em cepas de *F. oxysporum* (López-Díaz *et al.*, 2017). Esses autores observaram que quando este gene foi desativado, a virulência do patógeno foi reduzida, tanto em mudas de tomate quanto em camundongos imunossuprimidos, sugerindo que o AF é essencial para a completa virulência do patógeno. Outras evidências sugerem que o AF atua como elicitor de defesa em plantas, desencadeando respostas como transdução de sinais, síntese de fitoalexinas e morte celular programada (Bouizgarne *et al.*, 2006; Jiao *et al.*, 2013).

A presença de um grupo carboxila na posição α do anel nitrogenado é o principal responsável pela toxicidade do AF. Como resultado, o AF atua como

agente quelante, principalmente de ferro, inibindo enzimas oxidativas que têm íons metálicos, alterando assim a respiração das células. Além disso, em plantas, o AF causa murcha, alterações no equilíbrio iônico, perda de eletrólitos e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Agrios, 2005; Singh *et al.*, 2017; Pascholati; Dalio, 2018).

Flores *et al.* (2008) realizaram um experimento com sementes e plântulas de maracujá cultivadas *in vitro* sob ação de filtrado de culturas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* ou de AF, verificaram que em todos os tratamentos com AF a germinação das sementes diminuiu com o aumentada concentração no meio. Além disso, nos genótipos sensíveis, o desenvolvimento radicular foi completamente inibido e houve também a presença de 83% de folhas senescentes. Por fim, os autores concluíram que todas as plântulas, independentemente de sua sensibilidade, foram afetadas pelo filtrado da cultura de FoP.

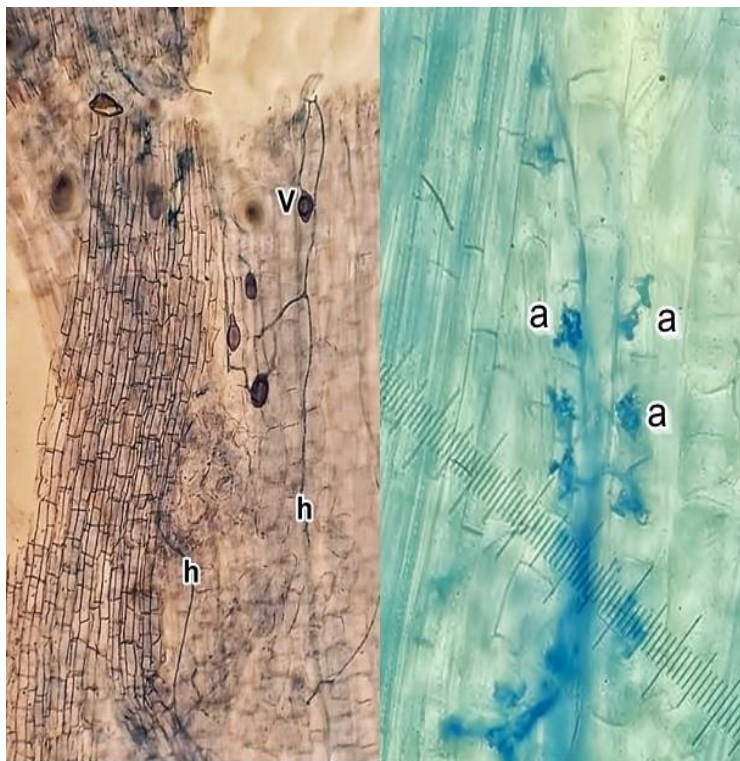
2.3 Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pertencem ao Filo Glomeromycota, que possui três classes: Archaeosporomycetes, Glomeromycetes e Paraglomeromycetes; cinco ordens: Archaeosporales, Diversisporales, Gigasporales, Glomales e Paraglomerales (Wijayawardene *et al.*, 2020). Caracterizam-se como biotróficos obrigatórios, que se associam ao sistema radicular da maioria das plantas, recebendo fotoassimilados para o seu desenvolvimento e esporulação e, em troca, promovem aumento na absorção de nutrientes (especialmente fósforo) e água, disponibilizando-as às plantas.

Além disso, os FMA formam estruturas denominadas de arbúsculos, que são essenciais para a troca de nutrientes e fotoassimilados entre o fungo e a planta (Smith; Smith, 2012), e, em alguns gêneros, as vesículas, estruturas de armazenamento de nutrientes, podem estar presentes (Saggin-Júnior; Silva, 2005) (Figura 4). Os fungos colonizam o córtex radicular, formando uma rede micelial nas regiões inter e intracelulares, então, as hifas são diferenciadas em arbúsculos, estruturas de troca entre o FMA e a planta (Oliveira *et al.*, 2019). Ademais, pode ocorrer a formação de vesículas, que armazenam energia (Choi *et al.*, 2018), e a formação dos glomerosporos, que são um dos propágulos

eficazes para iniciar uma nova colonização (Berruti *et al.*, 2016).

Figura 4. Estruturas morfológicas de FMA.



Legenda: a) arbúsculo; h) hifas; v) vesículas.

Fonte: Lima (2023).

A colonização micorrízica nas raízes é relatada como benéfica, mostrando efeitos positivos como maior crescimento de mudas de *P. edulis* (Cavalcante *et al.*, 2001; Silveira *et al.*, 2003), e de outras frutíferas como aceroleira (*Malpighiae marginata* D.C.) (Balota *et al.*, 2011), bananeira (*Musa* sp. cultivar Prata-Manteiga) (Leal *et al.*, 2005), pinheira (*Annonas quamosa* L.) (Coelho *et al.*, 2012) e abacaxizeiro (*Ananas comosus*) (Santos *et al.*, 2011).

Diversos estudos relataram que os FMA podem aumentar a resistência das plantas ao ataque de patógenos radiculares (Vila *et al.*, 2021), causado por diversos fungos, incluindo *F. oxysporum*, conforme reportado em mudas de bananeira (Borges *et al.*, 2007), pimenta-do-reino (Chu *et al.*, 1997), pepino (Hu *et al.*, 2010), tomate (Johansson *et al.*, 2004; Ren *et al.*, 2010), feijão comum (Al-Askar; Rashad, 2010), craveiro (Atakan; Ozkaya, 2021) e em aspargo (Matsubara *et al.*, 2001). Embora o estudo de Ismail, McCormick, Hijri (2013) tenha demonstrado que *Rhizoglosum irregulare* foi capaz de inibir o

crescimento de *F. sambucinum* e reduzir significativamente a produção do tricoteceno 4,15-diacetoxiscirpenol (DAS) em raízes e tubérculos de plantas de batata (*Solanum tuberosum*), pouco é conhecido sobre a relação entre FMA e micotoxinas, i.e. ácido fusárico.

Os FMA são capazes de aumentar a tolerância das plantas hospedeiras a uma variedade de estresses biológicos, incluindo bactérias, fungos, vírus, nematóides, fitopatógenos e herbívoros. No entanto, os mecanismos que levam à tolerância das plantas frente ao estresse biótico ainda não são totalmente claros. Especula-se que os FMA podem competir por nutrientes, espaço e fotossíntese com os patógenos do solo, além de trazer mudanças na rizosfera e induzir a defesa do hospedeiro (Dowarah *et al.*, 2021). A colonização micorrízica pode ainda levar a planta a desenvolver mecanismos de defesa, como aumentar a produção de proteínas, regular a expressão gênica e melhorar as concentrações de fitohormônios (Weng *et al.*, 2022).

2.3.1 FMA em maracujazeiro

Diversos estudos demonstraram que a inoculação micorrízica é uma alternativa promissora para a produção de mudas de maracujazeiro, pois apresenta respostas favoráveis possibilitando mudas com melhor desenvolvimento e em tempo reduzido (Tabela 1).

Tabela 1. Sumarização dos benefícios da inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em *Passiflora*.

Espécie de FMA	Espécie de maracujazeiro	Benefícios da micorrização	Referência
<i>Gigaspora albida</i> ; <i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Acaulospora longula</i> ; <i>Glomus etunicatum</i> (= <i>Entrophospora etunicata</i>); <i>Scutellospora heterogama</i> (= <i>Dentiscutata heterogama</i>)	<i>P. edulis</i>	Maior crescimento vegetal	Cavalcante <i>et al.</i> (2002)
<i>S. heterogama</i> (= <i>D. heterogama</i>); <i>Acaulospora scrobiculata</i> ; <i>Glomus clarum</i> (= <i>Rhizoglossum clarum</i>); <i>G. margarita</i> ; <i>Glomus</i> sp.; <i>Acaulospora</i> sp.	<i>P. edulis</i>	Aumento no crescimento vegetal e da produção de matéria seca	Silveira <i>et al.</i> (2003)

<i>G. albida</i> ; <i>S. heterogama</i> (= <i>D. heterogama</i>); FMA nativo	<i>P. alata</i>	Aumento do crescimento vegetal e redução no tempo de transplântio das mudas	Anjos et al. (2005)
<i>G. albida</i> ; <i>S. heterogama</i> (= <i>D. heterogama</i>);	<i>P. alata</i>	Aumento do crescimento das mudas	Silva et al. (2009)
<i>G. margarita</i> ; <i>G. clarum</i> (= <i>R. clarum</i>);	<i>P. alata</i>	Aumento da altura, massa seca da parte aérea e da área foliar	Filho et al. (2012)
<i>C. etunicatum</i> (= <i>E. etunicata</i>)	<i>P. setacea</i>	Aumento no crescimento	Silva et al. (2015)
<i>G. albida</i>	<i>P. alata</i>	Aumento da área foliar, matéria fresca da raiz, matéria seca da parte aérea e da raiz, produção de metabólitos primários e compostos fenólicos	Oliveira et al. (2015)
<i>Glomus fasciculatum</i> (= <i>Rhizoglosum fasciculatum</i>)	<i>P. edulis</i>	Aumento do diâmetro do caule, altura e biomassa seca	Gil et al. (2015)
<i>A. longula</i> ; <i>G. albida</i> ; <i>C. etunicatum</i> (= <i>E. etunicata</i>)	<i>P. edulis</i>	Aumento na produção de metabólitos secundários	Oliveira et al. (2019)
<i>A. longula</i> ; <i>G. albida</i>	<i>P. alata</i>	Aumento na produção de saponinas e fenóis totais	Muniz et al. (2021)

Fonte: Lima (2023)

2.4 Mecanismos de defesa em plantas

Durante o processo evolutivo, as plantas desenvolveram uma complexa rede de defesa para combater fitopatógenos, com mecanismos diversificados que podem operar antes (fatores de resistência- FR pré-formados) ou depois (FR pós-formados) da interação planta-patógeno e essas categorias podem ser subdivididas em mecanismos estruturais e bioquímicos (Agrios, 2005).

A primeira linha de defesa vegetal são as barreiras físicas pré-formadas, ou seja, aquelas que estão presentes nas plantas antes do contato com patógenos, como a formação de tricomas, cutículas, estômatos (tamanho e forma) e presença de fibras. Já os FR bioquímicos pré-formados, são substâncias que naturalmente estão presentes nos tecidos sadios em altas

quantidades e quando ocorre a entrada e infecção de patógenos podem vir a se tornar altamente tóxicas, incluindo fenóis, alcalóides, terpenóides e lactonas (Pascholati, 2018).

Por outro lado, os FR pós-formados estão ausentes ou em baixos níveis antes da infecção e são ativados ou produzidos a partir do contato com o patógeno. Os FR estruturais pós-formados são representados pela formação de halos, papilas, lignificação e produção de camadas de cortiça e tiloses. Como exemplo de FR bioquímicos pós-formados, encontram-se as ROS, fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (Devi *et al.*, 2017).

O sistema imune das plantas divide o processo de reconhecimento de patógenos em: PTI, resposta imune ativada por padrões (*PAM-triggered immunity*), e ETI, imunidade desencadeada por efetores (*effector-triggered immunity*) (Monaghan, 2012; Boller, 2009) (Figura 5). A PTI envolve as proteínas PRRs (*PAMP-recognition receptor*) da classe das RLPs (*receptor-like protein*) e RLKs (*receptor-like kinase*), que reconhecem os padrões moleculares inespecíficos associados à PAMPs/MAMPs/HAMPS (*pathogen, or microbe, or herbivorous associated molecular patterns*) e são responsáveis por detectar a presença de DAMPs (*damage associated molecular patterns*), desencadeando a resposta imune ativada por padrões (PTI, *PAM-triggered immunity*) (Miya *et al.*, 2007; Schwessinger; Zipfel, 2008; Forde; Roberts, 2014).

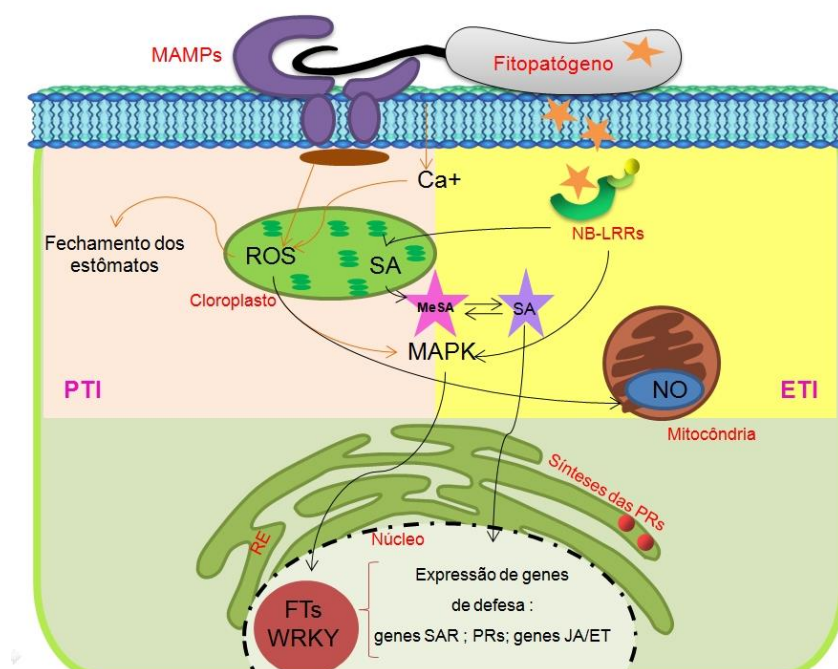
A PTI ocorre como resultado de mudanças estruturais nos receptores, ativando diversas vias metabólicas que resultam em alterações na forma como a planta e o patógeno interagem. Além disso, pode desencadear o aumento intracelular de Ca^{2+} , estresse oxidativo intracelular, produção de óxido nítrico (NO) induzindo a fosfatase ácida (PA), ativação de MAP quinases (MAPK), fitoalexinas e outros compostos de defesa, como ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA), etileno (ET), síntese de compostos antimicrobianos e fatores reguladores da transcrição (Grant *et al.*, 2006, Miya *et al.*, 2007; Bigeard *et al.*, 2015).

Em contraste, na ETI, ocorre uma interação altamente específica entre um gene de resistência (*Genes R*) da planta e o produto de um gene de avirulência dominante (*Avr; avirulence*) correspondente ao patógeno, ativando a reação de hipersensibilidade (HR), que confere resistência a uma ampla

variedade de patógenos (Mandadi *et al.*, 2013, Huang, 2021).

Após a interação entre a planta e o patógeno, uma complexa rede de vias de transdução envolvendo muitas moléculas sinalizadoras são sintetizadas. Isso resulta na indução de fluxos iônicos através da membrana plasmática, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), reprogramação da expressão gênica através da ação de fatores de transcrição (FT) e proteínas quinase. Posteriormente, ocorre a produção de SA, JA, ET e compostos antimicrobianos como as fitoalexinas, resultando na morte celular, o que impede o patógeno de colonizar a planta (Huang, 2021).

Figura 5. Mecanismos de defesa das plantas pelo PTI e ETI.



Legenda: O PTI é desencadeado por MAMPs, levando à elevação de íons de cálcio citosólicos, geração de ROS e fechamento estomático. Os efetores desencadeiam a ETI através da ligação às proteínas R (NBS-LRRs) que induzem a sinalização de SA e a subsequente indução de genes relacionados à PR, genes relacionados a ISR dependentes de JA/ET e genes relacionados a SAR. SA é convertido em MeSA que é transportado para partes distais da planta, bem como outras moléculas sinalizadoras, estabelecendo SAR ou ISR. Os nomes dos processos imunológicos estão coloridos em rosa. Os nomes dos compartimentos celulares são coloridos em vermelho. Setas em laranja apontam o destino celular em resposta ao patógeno pelo PTI; setas pretas apontam o destino celular em resposta ao patógeno pelo ETI. SA: ácido salicílico; JA: ácido jasmônico; ET: etileno; MeSA: Ácido metilsalicílico; FTs: Fatores de transcrição; ROS: espécies reativas de oxigênio.

Fonte: Adaptado de Balakireva *et al.* (2018).

Outro tipo de resistência conhecida como resistência sistêmica adquirida (SAR) é induzida quando plantas sob estresse são expostas a numerosos elicitores, ou micro-organismos, bem como incitadores químicos sintéticos como quitosana e SA (Newman *et al.*, 2013). A indução de SAR ocorre em resposta a patógenos biotróficos, o que resulta na necrose dos tecidos onde os patógenos estão presentes (Nishad *et al.*, 2020). A SAR inicia seu mecanismo de defesa combinando SA, que ativa outros genes relacionados à patogênese (PRs), particularmente PR-1, e frequentemente leva a respostas localizadas de hipersensibilidade. A expressão de genes PR codifica proteínas como quitinases e β -1,3- glucanases e desempenha papel significativo na prevenção ou desaceleração do acúmulo de patógenos em plantas hospedeiras (Zribi; Ghorbel; Brini, 2021; Jain; Khurana, 2018, Jibril *et al.*, 2016).

Atualmente, os estudos apontam para a necessidade de compreender a complexidade da comunicação microbiana e dos fatores que regulam a expressão de genes, como sua inibição ou inativação. Destaca-se ainda o conjunto de respostas de defesa desencadeado por genes *R*, PRs e FTs (Zhang; Coaker, 2017).

2.4.1 Genes de resistência (R)

Os genes *R* são responsáveis por reconhecer moléculas efetoras intracelulares de patógenos e iniciar respostas de defesa para impedir a invasão de organismos patogênicos, a fim de torná-los inofensivos (Dangl; Jones, 2001). Esses genes contribuem para a imunidade comum a plantas e animais. No entanto, a rápida evolução dos sistemas imunes das plantas levou a uma enorme diversidade genética, o que revelou que as proteínas codificadas pelos genes *R* exibem estruturas de domínio específico para realizar sua função de reconhecer patógenos. Isso ocorre porque eles interagem adequadamente com proteínas *Avr* e são formados complexos denominados "sinalizadores", que ativam uma resposta imune ineficaz, impedindo a propagação do patógeno que infecta a planta (Pryor; Ellis, 1993).

De acordo com a ordem de seus domínios funcionais, os genes *R* podem ser agrupados em cinco classes, com base na presença de domínios

específicos (Miller, 2008). A classe mais abundante são as proteínas citoplasmáticas de repetição rica em leucina (NBS-LRR). As outras classes compreendem proteínas com LRRs extracitoplasmáticas (eLRRs), ancoradas a um domínio transmembranar (TM), e um motivo C-terminal citoplasmático curto, sem o domínio quinase, *receptor-like* Ser/Thr quinases sem LRRs, além de proteínas com uma âncora de membrana fundida a um domínio enrolado (CC) (Sanseverino *et al.*, 2012; Hammond-Kosack; Jones, 1997; Chisholm *et al.*, 2006).

As proteínas NBS-LRR estão presentes em várias culturas, onde alguns genes desempenham papel na resistência a doenças (Zhou *et al.*, 2004). Diversos estudos avaliaram a superexpressão de genes NBS-LRR e observaram que houve aumento na resistência vegetal tanto em ambientes laboratoriais como no campo (Brunner *et al.*, 2011; Dangl *et al.*, 2013; Borrelli; Mazzucotelli *et al.*, 2018).

2.4.2 Fatores de transcrição

Os FTs são proteínas que regulam a expressão gênica e funcionam ligando-se a certas sequências de DNA na região promotora do gene para ativar ou inibir a expressão de um gene alvo (Ptashne, 1988). Um FT típico é composto por pelo menos dois domínios distintos, um para ligação ao DNA e outro para ativação e repressão, que trabalham juntos para regular uma variedade de processos físicos e biológicos, incluindo crescimento e desenvolvimento, bem como fatores ambientais (Ptashne, 1988; Jalali *et al.*, 2006; Riaño-Pachón *et al.*, 2007). O domínio de ligação do DNA é uma região altamente conservada que é usada para classificar FTs em muitas famílias gênicas, incluindo DOF, NAC, MYC, ERF, Whirly, MYB, bZIP e WRKY (Remenyi *et al.*, 2004; Watson, 2006).

Adicionalmente, os FTs participam ativamente das etapas iniciais do processo de percepção e sinalização em situações de estresse, podendo atuar como ativadores ou repressores da expressão gênica, mediando o acréscimo ou decréscimo no acúmulo do RNA mensageiro, regulando a expressão de vários grupos de genes. Uma das maiores famílias de reguladores transcricionais em plantas são os FTs WRKY (Rushton *et al.*, 2010). Os FTs

WRKY são membros integrantes de redes de sinalização que regulam inúmeros processos vegetais e estão envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas e na resposta a mudanças ambientais (Chen *et al.*, 2017; Rushton *et al.*, 2010).

Além disso, novas descobertas demonstram que as proteínas WRKY frequentemente agem nos dois ramos do sistema imunológico inato da planta (PTI e ETI) (Jones; Dangl, 2006). Em *Arabidopsis*, mais de 70% dos integrantes da família de genes WRKY, demonstraram resposta à infecção por patógenos, indicando um papel significativo desta família de genes na defesa vegetal (Dong *et al.*, 2003). Em *P. edulis* inoculado com o vírus do mosaico do pepino (CMV) foram obtidos 1.545 genes expressos diferencialmente (701 *upregulated* e 884 *downregulated*), desses, genes associados à transdução de sinal de hormônio vegetal, fatores de transcrição (WRKY e NAC), fotossíntese e metabolismo da clorofila foram regulados positivamente pela infecção por CMV (Chen *et al.*, 2021).

Foi relatado um extenso número de genes WRKY envolvidos na resistência de plantas contra infecções por patógenos (Zheng *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2020). Por exemplo, o FT *AtWRKY18* conferiu resistência a *Pseudomonas syringae* em plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana* (Chen; Chen, 2002). Em *Brassica napus*, a superexpressão do gene *BnWRKY33* resultou em um aumento significativo na resistência da planta à *Sclerotinia sclerotiorum* (Wang *et al.*, 2014). Em *Oryza sativa*, a superexpressão de *OsWRKY71* conferiu resistência à infecção por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Liu *et al.*, 2007). Estudos em algodão revelaram que *GhWRKY3* teve sua transcrição aumentada quando inoculado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Guo *et al.*, 2011), o qual também provocou acúmulo de *GhWRKY15* (Yu *et al.*, 2012).

2.4.3 Proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas PR)

As proteínas PR foram descritas pela primeira vez em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) infectadas pelo vírus do mosaico do tabaco. Inicialmente, o termo “Proteínas PR” foi utilizado para identificar proteínas extracelulares acumuladas em *N. tabacum*, porém, duas décadas depois Bowles (1990)

expandiu essa definição e incluiu também as proteínas intracelulares. Em condições normais, algumas proteínas PR estão expressas em baixos níveis, porém quando a planta é exposta ao estresse, seus níveis de expressão são aumentados (Bernards *et al.*, 1999; Martins-Miranda, 2002).

Essas proteínas são resistentes a proteases, têm baixo peso molecular e são bioquimicamente solúveis em ácido (Leubner-Metzger, 1999; Neuhaus, 1999) e podem ser divididas em PRs ácidas e básicas, com base em seus pontos isoelétricos. A maioria das PRs ácidas é transportada extracelularmente, enquanto as PRs básicas são encontradas principalmente no vacúolo das células vegetais (Niki *et al.*, 1998; Weller, 1988).

As PRs compartilham diversas características físicas, químicas e imunológicas, o que permite que sejam agrupadas e classificadas em diferentes grupos com base em sua similaridade (Ali *et al.*, 2018). As PR são divididas em 19 grupos, variando de PR-1 a PR-19. A maioria das PRs são antifúngicas (PR-1, PR-2, PR-3, PR-4, PR-5, PR-7, PR-12, PR-13, PR-14, PR-18 e PR-19), algumas possuem atividade endoquitinase (PR-8 e PR-11); enquanto duas outras são oxalato oxidases (PR-15 e PR-16). Por fim, as proteínas PR-17 desempenham várias funções na defesa vegetal contra vários fitopatógenos (Islam *et al.*, 2023).

As PR-1 são altamente expressas e representam cerca de 10% de todas as proteínas encontradas nos tecidos infectados por patógenos. Possuem peso molecular de aproximadamente 15-17 kD, são encontradas em isoformas ácidas e básicas e exibem semelhanças com proteínas ricas em cisteínas (Van Loon, 1999). Em *N. tabacum*, foi observado que proteínas PR-1 ácidas estavam presentes no xilema das folhas, já as proteínas básicas foram encontradas nos espaços extracelulares (Gordon-Weeks *et al.*, 1997).

As proteínas PR-1 são geralmente conhecidas por serem secretadas e se acumularem principalmente no espaço extracelular/apoplástico, facilitado pelo seu peptídeo de secreção N-terminal. No entanto, em contraste com essa característica, foi observado que certas PR-1 são proteínas que se acumulam nos vacúolos de protoplastos de tabaco (Sessa *et al.*, 1995). Além disso, é importante destacar que as proteínas PR-1 desempenham um papel na inibição da morte celular programada após infecção por patógenos. Isso ocorre

por meio da liberação de um peptídeo sinal de defesa conhecido como CAPE1 (peptídeo 1 derivado de CAP) (Chen *et al.*, 2014). A região CAP contém um motivo de ligação à caveolina (CBM) que desempenha papel crucial na interação com esteróis e é responsável por suas propriedades antimicrobianas (Breen *et al.*, 2017).

A atividade antimicrobiana das proteínas PR-1 foi inicialmente comprovada em 1995 em plantas de tabaco e tomate, onde *in vitro*, as proteínas PR-1 demonstraram uma redução de mais de 90% na germinação dos zoósporos de *P. infestans* (Niderman *et al.*, 1995). Além disso, a superexpressão das proteínas PR-1 em plantas inibiu a colonização por oomicetos em tomate (Niderman *et al.*, 1995) e tabaco (Li *et al.*, 2011), bem como pelo fungo da ferrugem *Uromyces fabae* em plantas de fava (Rauscher *et al.*, 1999). Após essas descobertas notáveis, estudos subsequentes revelaram ainda mais a capacidade das proteínas PR-1 de exibir atividade antimicrobiana direta *in vitro* contra diversos fitopatógenos, incluindo oomicetos, fungos e bactérias (Sarowar *et al.*, 2005; Shin *et al.*, 2014; Gamir *et al.*, 2017; Ghorbel *et al.*, 2021; Guo *et al.*, 2022).

As PR-12, conhecidas como defensinas vegetais, são pequenas proteínas catiônicas e suas propriedades estruturais e funcionais assemelham-se às defensinas presentes em insetos e mamíferos (Broekaert *et al.*, 1995). Essas proteínas possuem cerca de 45 a 54 aminoácidos e contêm uma estrutura altamente conservada, caracterizada por uma conformação $\alpha\beta$ estabilizada através de ligações dissulfeto de cisteína (Parisi *et al.*, 2018). Essas ligações dissulfeto, geralmente de três a cinco, conferem uma estrutura compacta que proporciona resistência à degradação por proteases, variações de temperatura e condições de pH extremas (Batta *et al.*, 2009).

As defensinas vegetais podem ser categorizadas em dois grupos distintos com base em sua estrutura precursora (Lay *et al.*, 2005). As defensinas pertencentes à classe I são produzidas com a inclusão de um peptídeo sinal N-terminal, além de um domínio de defensina madura. Esse peptídeo sinal desempenha o papel de direcionar a defensina, inicialmente para o retículo endoplasmático e, posteriormente, para a via secretora. As defensinas da classe I representam a primeira barreira de proteção contra

invasores patogênicos no ambiente extracelular das plantas. Por outro lado, as defensinas da classe II, embora menos frequentes, apresentam uma característica adicional: um prodomínio C-terminal (CTTP) responsável por guiar a defensina até o vacúolo da célula vegetal, sendo posteriormente removido (Lay *et al.*, 2014; Vriens *et al.*, 2014).

Possuem uma estrutura tridimensional que consiste em folhas β antiparalelas e uma hélice α paralela à folha β , sendo estabilizadas por motivos com resíduos de cisteína (Cs) (Lay *et al.*, 2005). Além disso, algumas defensinas vegetais, como PhD1 e PhD2 de *Petunia hybrida*, exibem um padrão estrutural ligeiramente diferente, com uma ligação dissulfeto adicional (Pelegrini *et al.*, 2008). Além disso, são amplamente distribuídas nas plantas, sendo encontradas em diversas partes, como sementes, folhas, flores, raízes e caules (Lay *et al.*, 2005). Elas desempenham um papel importante na proteção dos pontos de entrada de potenciais invasores e sua expressão pode ser induzida por ataques de patógenos (Lacerda *et al.*, 2014; Vriens *et al.*, 2014) e estresses abióticos (Sarowar *et al.*, 2005).

Diversas defensinas vegetais foram identificadas conferindo resposta de defesa contra patógenos em diferentes espécies de plantas, como a defensina SlyDF1 em plantas de tomate, onde sua superexpressão conferiu maior resistência à infecção por *P. infestans* (Cui *et al.*, 2018). Outras defensinas como a AtPDF1.1 de *A. thaliana* promoveu resistência a *Botrytis cinerea* (Coninck *et al.*, 2010), a defensina J1-1 quando superexpressa em pimenta resultou em resistência a antracnose (Seo *et al.*, 2014), e a Def2.2 que aumentou a resistência de *Nicotiana benthamiana* e amendoim a *R. solanacearum* (Zhao *et al.*, 2022).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Conhecer os mecanismos de defesa relacionados à interação do maracujazeiro amarelo micorrizado (FMA) e sob indução da fusariose, selecionando genes R, PRs e FTs diferencialmente expressos e promissores na aplicação em programas de melhoramento genético visando resistência ao *Fusarium oxysporum*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o efeito da inoculação com FMA sobre o crescimento de mudas de maracujá amarelo;
- Avaliar a influência de *F. oxysporum* e ácido fusárico na colonização micorrízica;
- Detectar, via qPCR, a presença de *Gigaspora albida*, *Entrophospora etunicata* e *F. oxysporum* nas amostras de DNA de tecidos radiculares utilizadas no ensaio experimental;
- Selecionar sequências de genes sinalização e defesa no genoma de *P. edulis* para utilização no desenho de *primers*;
- Validar por qPCR genes diferencialmente expressos nos diferentes tratamentos e tempos de coleta.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de estudo

O experimento foi realizado na casa de vegetação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Semiárido), localizada na Rodovia BR-428, km 152, Zona Rural, Petrolina- PE nas coordenadas 9°04'37,7"S 40°18'57,1"W. O solo (latossolo amarelo) foi coletado na Embrapa Semiárido, armazenado em sacos plásticos e autoclavado a 121 °C por três ciclos de uma hora, e adicionados em vasos de 4 litros. Posteriormente, procedeu-se à análise do solo autoclavado, revelando as seguintes propriedades físicas e químicas: Condutividade elétrica de 2,03 dS m⁻¹, pH de 7,4, teor de fósforo de 101,35 mg kg⁻¹, potássio de 0,72 cmol c dm⁻³, sódio de 0,23 cmol cdm⁻³, cálcio de 4 cmol cdm⁻³. Em relação à granulometria, os valores foram os seguintes: areia total - 810 g kg⁻¹, silte - 21 g kg⁻¹, argila - 168 g kg⁻¹, classificado como Franco Arenoso.

4.2 Material vegetal

As sementes de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* foram obtidas comercialmente e desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,05 % (v/v) por 10 minutos, lavadas com água destilada e semeadas em bandejas plásticas contendo vermiculita como substrato. Após a germinação e surgimento de três folhas definitivas, duas plântulas foram então transplantadas para cada vaso plástico, com capacidade de 4000 ml, contendo solo autoclavado e vermiculita (1:1 v/v).

4.3 Preparo do inóculo e aplicação de FMA

Duas espécies de FMA, *G. albida* e *E. etunicata*, foram selecionadas do banco de inóculos do Laboratório de Microbiologia, da Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf), Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE. Os inóculos foram multiplicados tendo como planta-isca o milho (*Zea mays* L.) por um período de três meses em casa de vegetação. No momento do transplântio, o mix de FMA foi aplicado nas raízes das plântulas na forma de solo-inóculo

com cerca de 800 glomerosporos, sendo 400 de *G. albida* e 400 glomerosporos de *E. etunicata*.

4.4. Produção do patógeno fúngico e solução de ácido fusárico

O inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* foi obtido da coleção de micro-organismos da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. O isolado foi transferido para placas com meio de cultura batata dextrose-ágar (BDA) e, posteriormente, colocado em câmara de crescimento a 25 °C até a esporulação. Os conídios foram coletados esfregando levemente uma lâmina de vidro sobre as colônias e suspendidos em 10 mL de água destilada esterilizada em placa de Petri. A concentração da suspensão conidial foi determinada em câmara de Neubauer visando a obtenção de suspensão do inóculo, por meio de diluição, de 10^6 conídios mL⁻¹. A concentração de ácido fusárico (Merck) utilizada foi de 400 µM, dose efetiva para indução da fusariose para cultura de *Passiflora edulis* (Flores *et al.*, 2012).

4.5. Imposição do estresse biótico

Após o período de 70 dias da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares e mantidas em casa de vegetação, as plantas foram submetidas aos diferentes tratamentos de indução da fusariose. O método de inoculação utilizado foi o de ferimento na raiz. Para isso, uma seringa contendo 0,5 mL de solução com concentração de 2×10^6 conídios/planta foi inserida no caule da planta (Rodrigues, 2006 adaptado). A solução de AF foi aplicada pelo mesmo método, tendo sido aplicados 0,5 mL de solução com concentração de 400 µM de AF/planta. Por fim, foram coletados tecidos radiculares nos tempos 24 horas e 7 dias horas após exposição aos indutores, sendo este material conservado em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises moleculares. Em cada tempo, foram utilizadas três repetições de cada tratamento.

4.6. Desenho experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido da seguinte forma:

- I. No primeiro momento, foi realizado o plantio de plântulas de *P. edulis* em um total de 64 vasos contendo solo+vermiculita. Desses, 32 vasos foram inoculados com o mix de FMA e 32 vasos não foram inoculados. Nesta etapa, os tratamentos inoculados e não inoculados com FMA foram comparados em relação a algumas variáveis de crescimento.
- II. Após o período de 70 dias, foi aplicado o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial com oito tratamentos de inoculação x dois tempos (24 horas e 7 dias) de avaliação após a inoculação com *F. oxysporum* (FoP) e/ou aplicação com ácido fusárico (AF), com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais. Os tratamentos estão detalhados na Tabela 2.

Tabela 2. Tratamentos aplicados em experimento com *P. edulis* micorrizado ou não e submetido ao estresse biótico causado por *Fusarium oxysporum* e micotoxina (ácido fusárico).

Tratamentos	Descrição
1. Controle	Plantas não micorrizadas e sem indução ao estresse biótico (doença e AF)
2. M	Plantas micorrizadas
3. AF	Plantas com aplicação de ácido fusárico
4. AFM	Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusárico
5. FO	Plantas com adição de suspensão do inóculo de <i>F. oxysporum</i>
6. FOM	Plantas micorrizadas com adição de <i>F. oxysporum</i>
7. AFFO	Plantas com aplicação de ácido fusárico e de <i>F. oxysporum</i>
8. AFFOM	Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusárico e de <i>F. oxysporum</i>

4.7. Avaliação dos parâmetros de crescimento e colonização micorrízica

A mensuração dos parâmetros de crescimento (altura, diâmetro de caule e número de folhas) foi realizada após 1, 30, 45 e 70 dias com o auxílio de régua e paquímetro.

A colonização micorrízica foi avaliada somente após a imposição do estresse, as raízes das plantas foram coletadas e imersas em álcool 50% para conservação até a análise. Para a coloração das raízes foi utilizado o protocolo

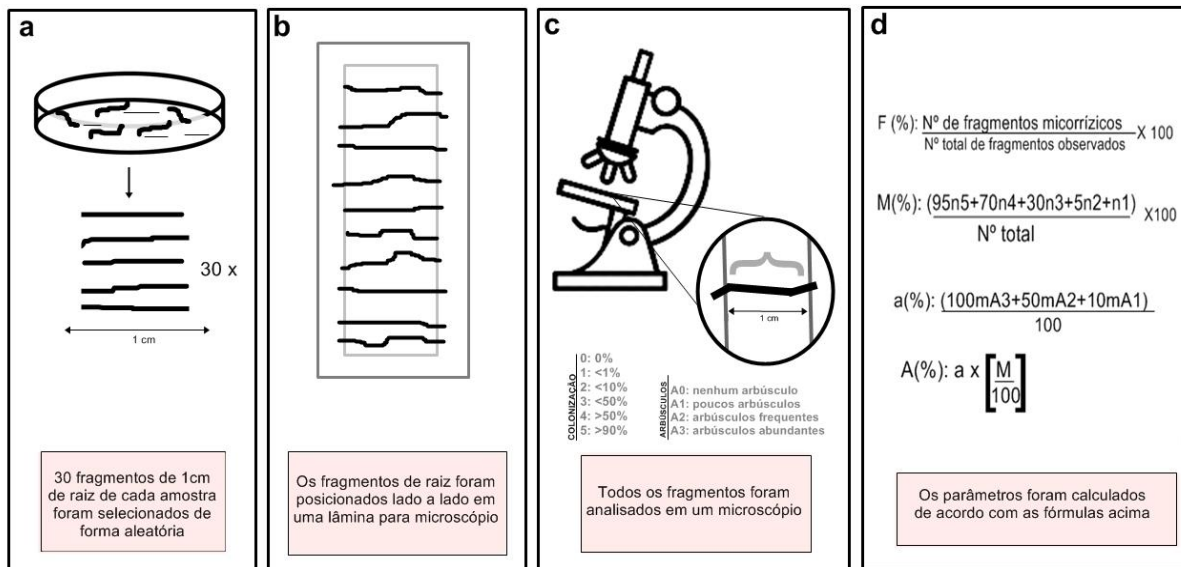
de Dalpé e Seguin (2013). As raízes foram limpas em água corrente para retirada de solo e vermiculita, foram adicionados 20 mL de KOH 2,5% e as raízes foram submetidas a aquecimento por 20 segundos em micro-ondas. Posteriormente, as raízes foram lavadas com água até a retirada do KOH. Em seguida, foram adicionados 20 mL de ácido acético 5% por 5 minutos. As raízes foram coradas em uma solução de azul de Trypan 0,05% e submetidas ao aquecimento de 20 segundos no micro-ondas. Por fim, as raízes foram submersas em álcool 50% e armazenadas sob refrigeração até a análise.

Para a contagem de glomerosporos, foram separados 50 gramas do solo de cada planta e os esporos foram extraídos pela técnica de peineiramento úmido (Gerdemann; Nicholson, 1963). Em seguida, o material foi centrifugado em água destilada por 3 minutos em 2500 rpm e novamente centrifugado em solução de sacarose 40% por 1 minuto em 2500 rpm (Jenkins, 1964, com modificações). Os esporos extraídos foram armazenados e mantidos sob refrigeração para a conservação até o momento da contagem. A contagem foi realizada com o auxílio de uma placa canaletada, um microscópio estereoscópico e um contador manual.

4.8. Quantificação da colonização micorrízica

Para a quantificação da colonização micorrízica foi utilizado o método de Trouvelot *et al.* (1986) (Figura 6), onde foram produzidas lâminas contendo 30 segmentos de raiz com 1 cm de comprimento escolhidas aleatoriamente para representar cada amostra (Figura 6a e 6b). Cada fragmento foi avaliado em microscópio visando confirmar a presença de arbúsculos, hifas ou vesículas (Figura 6c), e cada segmento recebeu um nível de colonização de 0 a 5, sendo 0: 0% colonizada, 1: <1%, 2: <10%, 3: <50%, 4: >50% e 5: >90%. Os arbúsculos receberam nível de classificação de 0 a 3, onde A0: nenhum arbúsculo, A1: poucos arbúsculos, A2: arbúsculos frequentes e A3: arbúsculos em abundância. Em seguida, os valores atribuídos a cada fragmento das amostras foram submetidos aos cálculos para a determinação de quatro parâmetros (Figura 6d), estabelecidos por Trouvelot *et al.* (1986): frequência micorrízica (F) e intensidade micorrízica (M), que correspondem a valores relacionados a colonização micorrízica; frequência arbuscular (a) e intensidade arbuscular (A), que são dois valores relacionados a abundância de arbúsculos.

Figura 6. Esquema da metodologia de Trouvelot *et al.* (1986) para quantificação da colonização micorrízica.



Fonte: Lima (2023).

4.9. Extração de DNA e seleção/desenho de *primers*

A extração de DNA foi realizada a partir do protocolo CTAB (Cetil-Trimetil Amônio-Brometo) proposto por Doyle e Doyle (1987) utilizando 48 amostras de tecidos radiculares de *P. edulis*. Após a extração, as amostras foram submetidas a uma etapa de purificação utilizando a coluna do PCR Purification Kit (CELLCO, DPK-1065), conforme sugestões do fabricante. A integridade, pureza e concentração das amostras foram analisadas em eletroforese em gel de agarose 1% e NanoDrop 2000c, respectivamente. Quatro pares de *primers* foram selecionados na literatura e/ou desenhados para os FMA candidatos e patógeno de interesse visando confirmar sua presença nas amostras de DNA extraídas através de qPCR (Tabela 3).

Tabela 3. *Primers* utilizados nos testes de detecção das amostras de DNA de tecidos radiculares via qPCR.

Espécie	<i>Primers</i>	Amplicon	Referência
<i>E. etunicata</i>	F: GGTGCAAGGTAAAAATCTTCG R: TTGAACAAGCCTAAAATCAATACAT	112 pb	Heller e Carrara (2022)

<i>G. albida</i>	F: AAAGGACGGTGTACGGTTG R: TTTTCTTTACCTGGCACCAAG	76 pb	Este estudo
<i>F. oxysporum</i> 1	F: GTCCCCGATCCTGGTAAGAG R: ATCTCCCTCCCCAAAGTCTC	126 pb	Este estudo
<i>F. oxysporum</i> 2	F: ACATACCACTTGTTGCCTCG R: CGCCAATCAATTTGAGGAACG	340 pb	Mishra <i>et al.</i> (2013)

4.10. Extração de RNA de *P. edulis*

A extração do RNA total dos tecidos radiculares foi realizada a partir do Kit SV Total RNA Isolation System (Promega), que inclui uma etapa de tratamento com DNase. Após a extração, as amostras foram avaliadas quanto à sua integridade em eletroforese em gel de agarose 1%, e em seguida, foram quantificadas e analisadas quanto a sua pureza em espectrofotômetro Nanodrop (Thermo Fisher Scientific).

4.11. Síntese de cDNA

A etapa de conversão dos RNAs totais em cDNA foi realizada com o GoScript Reverse Transcription Mix - Oligo (dT), sendo utilizado 1000 ng/μL de RNA mensageiro por amostra a cada 20 μL de volume final do mix de reação. Considerando que o rendimento das extrações foi alto, foi possível construir bibliotecas de cDNA de 100 μL de cada amostra para tecidos radiculares e foliares de *P. edulis* em todos os tratamentos avaliados no experimento, sendo possível garantir uma quantidade de cDNA bastante considerável para uso nas reações de RT-qPCR.

4.12. Seleção de genes de interesse e desenho de *primers* para análise de expressão relativa

Foram desenhados cinco pares de *primers* referentes a genes de sinalização e defesa em *P. edulis* (Tabela 4), os quais foram previamente minerados e caracterizados no genoma *draft* da espécie com o auxílio de ferramentas de bioinformática, sendo eles: fator de transcrição WRKY, receptor

quinase de lectina do tipo-L (LecRK), *Somatic embryogenesis receptor-like kinase-1* (SERK1) e duas proteínas relacionadas à patogênese dos grupos PR-1 e PR-12 (Defensina). O desenho dos *primers* e testes de especificidade foram realizados por meio dos programas Primer3Plus (Untergasser *et al.*, 2007) e Primer-BLAST (Ye *et al.*, 2012), respectivamente, considerando parâmetros adequados para uso em qPCR: conteúdo de GC 50%, tamanho do fragmento entre 70 e 150 pares de base e temperatura de *Melting* entre 40°C e 60°C. Adicionalmente, foi analisada a formação de dímeros de *primers* pelo programa PerlPrimer (Marshall, 2004). Por fim, foram selecionados três genes de referência (GRs) candidatos (ADP, EF1 α e NDID) por meio de busca na literatura envolvendo trabalhos específicos sobre seleção de GRs em maracujá (ou espécies relacionadas taxonomicamente) e estresses bióticos.

Tabela 4. *Primers* utilizados nas análises de expressão gênica via qPCR.

Gene	Acesso	<i>Primers</i>	Amplicon	Referência
<i>PeLecRK</i>	MUZH01080488.1	F: AGTCGGCTCTATTGGCCTTC R: ACCGGGAAGGCTACAACAAG	90 pb	Este estudo
<i>PeSERK1</i>	KT373980.1	F: GGACCGGCCTAAGATGTCAG R: CACCTTTTGCCACTCATCCC	82 pb	Este estudo
<i>PeWRKY</i>	MUZH01152844.1	F: AGGAAGTGAGAACCCACGTAG R: TTTGTCCATCCGGAGACCTC	89 pb	Este estudo
<i>PePR-1</i>	MUZH01001854.1	F: TGGGTTGCATTGGGGAGTC R: TCTTTGACCAGCCCACCATC	128 pb	Este estudo
<i>PePR-12</i>	MUZH01199879.1	F: AGGACATGCGAGTCACAGAG R: CACTTGCCACCGATGAAACC	101 pb	Este estudo
EF1 α	DQ447160.1	F: GTTAAGGATTGAAGCGTGG R: ATGTGTGATGTGTGGCAGT	155 pb	Munhoz (2011)
NDID	AB304270.1	F: GTCGTCACTCTCTTTACG R: TCATTTCACTACCGTCCATC	172 pb	Munhoz (2011)
ADP	XM_015716874.2	F: GAGAGATGCTGTGCTGCTTG R: TGAAGGCCGAGCTTATCAGT	90 pb	Cassol <i>et al.</i> (2016)

4.13. Reações de qPCR

As análises de expressão relativa foram realizadas em equipamento LineGene9660 modelo FQD-96A (Bioer), utilizando triplicatas biológicas e

técnicas, detecção por SYBR Green e três genes de referência para a normalização dos resultados. As reações seguiram as seguintes condições: desnaturação inicial de 95 °C por 2 minutos, seguida por 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto, com um volume final de 10 µl [5 µl do GoTaqPCR Master Mix 2x (Promega), 1 µl de cDNA, 0,3 µl dos *primers* (5 µM) e 3,4 µl de água ultrapura. As curvas de *melting* foram analisadas em 65 – 95 °C por 20 minutos após os 40 ciclos visando confirmar a especificidade dos *primers*. Em todas as reações foram utilizados controles negativos (NTC). Os valores de eficiência de amplificação ($E = 10^{-1/\text{slope}}$), coeficiente de correlação (R), *interception* (y) e *slope* foram calculados pelo método da curva padrão no *software* do equipamento. Os níveis de expressão relativa foram analisados pelo programa REST (Pfaffl *et al.*, 2002).

Para as reações de detecção dos FMA e FoP, foram utilizadas condições de termociclagem e preparo do mix reação idênticas as mencionadas anteriormente, exceto para a concentração final dos *primers*, que foi aumentada, pelo uso de 1 µl de DNA genômico (10 ng/µl) por amostra biológica.

4.14. Análise estatística

Os resíduos referentes aos dados dos parâmetros morfoagronômicos de *P. edulis* e número de glomerosporos foram testados quanto à homogeneidade das variâncias e normalidade, obedecendo aos pressupostos, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando significativos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para o incremento da altura, as análises foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis com correções de Bonferroni utilizando o pacote AgroR (Shimizu; Marubayashi; Gonçalves, 2023). As análises foram realizadas com o auxílio do programa R Core Team (2016).

Os pacotes utilizados foram Ramf (Chiapello *et al.*, 2019) para colonização micorrízica, gsheets (Conway, 2020), ExpDes.pt (Ferreira, Cavalcanti e Nogueira, 2021) e ggplot2 (Wickham, 2016) para construção dos gráficos. O gráfico de correlação entre os ciclos de quantificações e a abundância de glomerosporos foi gerado utilizando o pacote corrplot (Wei; Simko, 2021).

5. RESULTADOS

5.1 Influência de FMA nos parâmetros de crescimento do maracujazeiro antes da indução ao estresse biótico

A comparação entre as plantas micorrizadas e não-micorrizadas evidenciou que houve diferença significativa para altura (F: 49,582, $p < 0,001$) em todas as medições (Tabela 5). Sendo que o maior incremento foi registrado no período de 45 a 70 dias, com uma média de crescimento de 33 cm nas plantas com FMA. Para o número de folhas (F: 20,442, $p < 0,001$) e diâmetro do caule (F: 46,732, $p < 0,001$), apenas em 45 dias e 70 dias, respectivamente, as plantas micorrizadas diferiram significativamente das não micorrizadas (Tabela 5).

Tabela 5. Avaliação da altura (cm), número de folhas, diâmetro de caule (mm) e incrementos (%) de mudas de *P. edulis* durante 1, 30, 45 e 70 dias com e sem inoculação com mix de FMA (*E. etunicata* e *G. albida*).

	Dia 01		Dia 30		Dia 45		Dia 70	
	Sem FMA	Com FMA	Sem FMA	Com FMA	Sem FMA	Com FMA	Sem FMA	Com FMA
Altura (cm)	9,44b	11,09a	11,69b	15,47a	19,49b	43,33a	61,12b	89,92a
Incremento			2,25 b	4,38 a	7,80 b	27,86 a	41,63 a	46,58 a
Número de folhas	3,03a	3,03a	7,12a	7,12a	10,05b	13,08a	12,47b	14,16a
Diâmetro do caule (mm)	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,14b	0,41a	0,48b	0,59a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

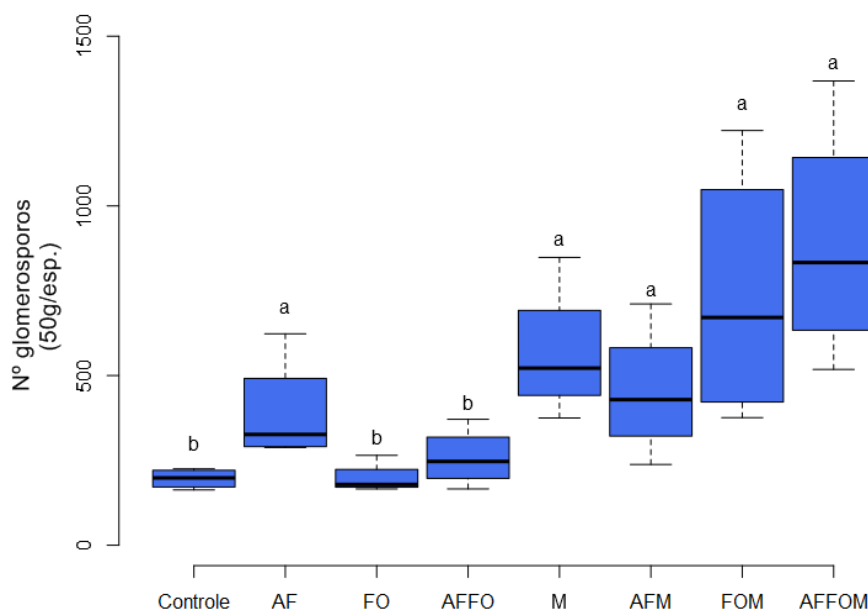
Fonte: Lima (2023).

5.2 Contagem de glomerosporos e colonização radicular por FMA ao final do experimento

O número de glomerosporos nos tratamentos micorrizados diferiu dos tratamentos não micorrizados, com exceção do tratamento com AF (F: 33,057,

$p < 0,001$), o que evidencia a presença de contaminação neste tratamento (Figura 7).

Figura 7. Número de glomerosporos em mudas de maracujazeiro micorrizadas ou não por 70 dias e induzidas ao estresse com aplicação de *Fusarium oxysporum* e/ou ácido fusárico por sete dias.



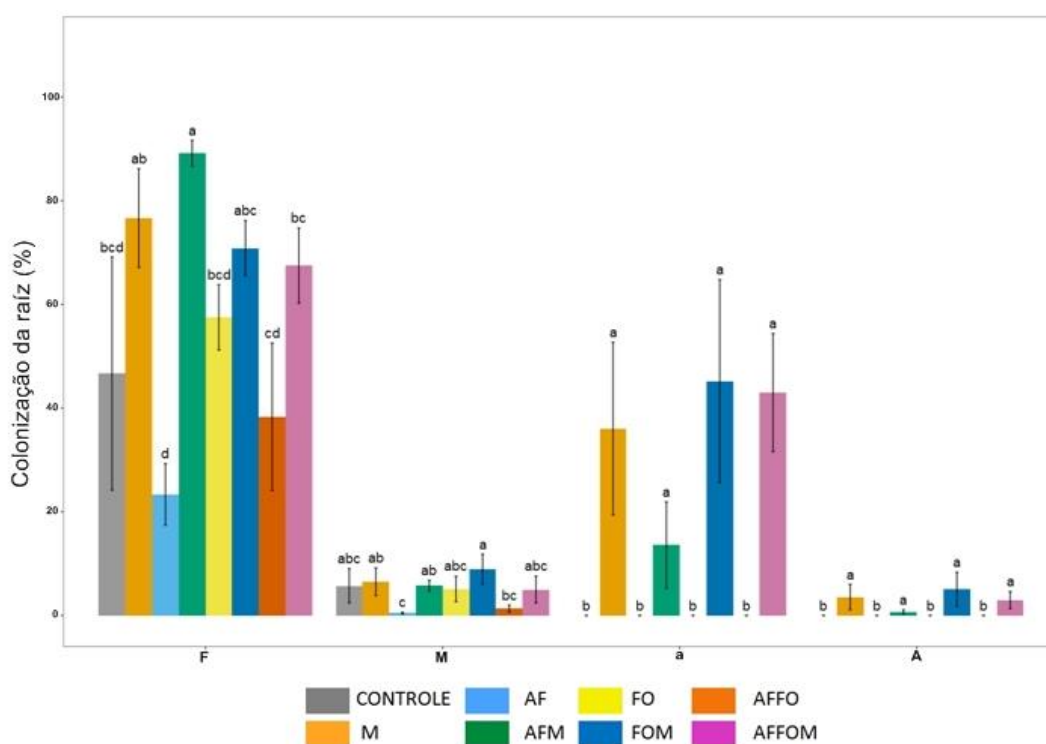
Legenda: Tratamentos: AF= Plantas com aplicação de ácido fusárico; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusárico e de *F. oxysporum*; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusárico e de *F. oxysporum*; AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusárico; FO = Plantas com adição de suspensão do inóculo de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas. Mesma letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Lima (2023).

Embora o tratamento AF tenha apresentado glomerosporos na rizosfera de maracujazeiro (Figura 7), constata-se que os menores percentuais de colonização micorrízica foram encontrados nesse tratamento, incluindo a ausência de arbúsculos (Figura 8). Os tratamentos M, AFM e FOM não diferiram entre si, mas apenas AFM difere dos demais tratamentos no que se refere à frequência micorrízica (F). Para a intensidade micorrízica (M), os tratamentos controle, M, AFM e FOM apresentaram diferenças significativas em relação à AF. Esses dados indicam que houve contaminação nos tratamentos não inoculados com FMA.

Por outro lado, a análise da frequência (a) e intensidade arbuscular (A) demonstrou que apenas os tratamentos micorrizados, ou seja, os que foram inoculados, apresentaram percentuais superiores a 10% para frequência, diferindo dos não-micorrizados (Figura 8). Entre os tratamentos que foram inoculados com FMA não houve diferença significativa entre si (Figura 8).

Figura 8. Frequência (F) e intensidade micorrízica (m); Frequência (a) e intensidade arbuscular (A) no sistema radicular de *P. edulis* seguindo o método de avaliação de Trouvelot *et al.* (1986).



Legenda: Tratamentos: AF= Plantas com aplicação de ácido fusário; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusário; FO = Plantas com adição de suspensão do inóculo de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas. Mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Lima (2023).

5.3 Extração de DNA e testes de detecção em qPCR

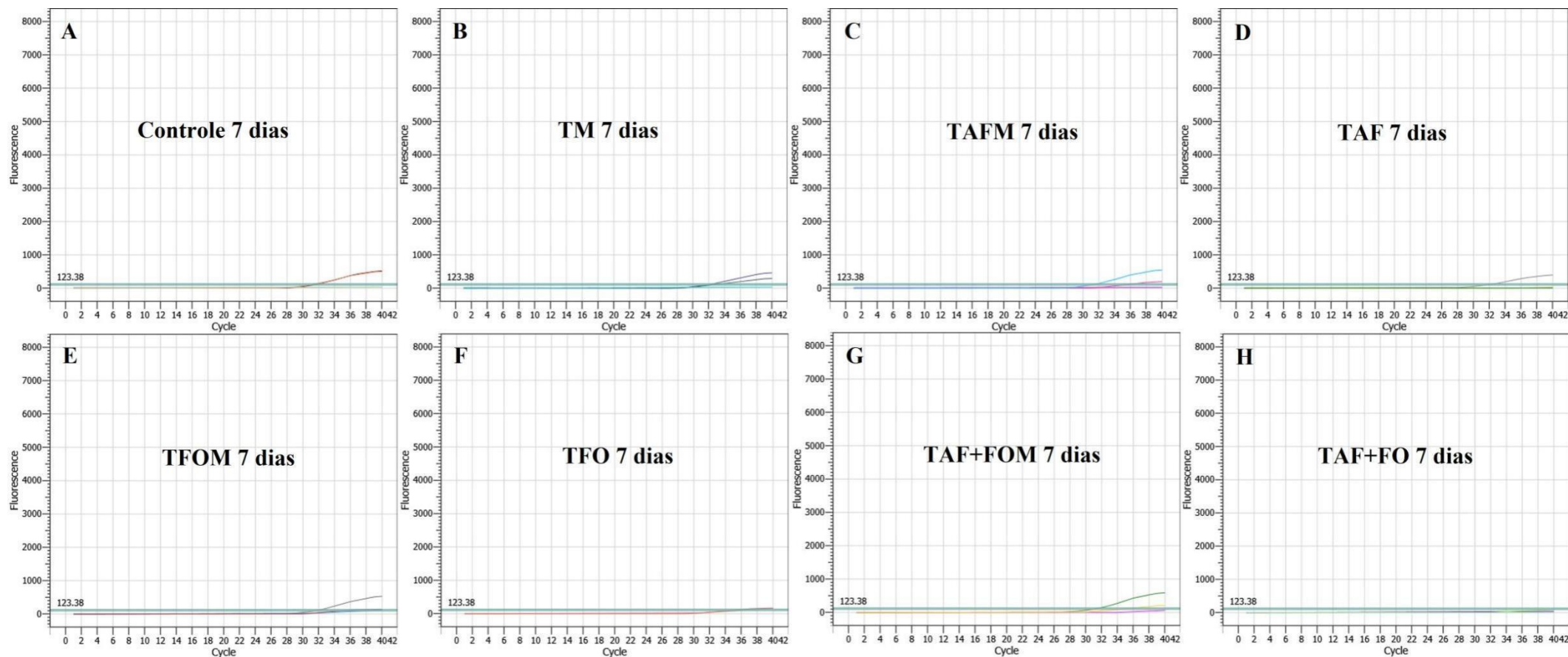
Os *primers* desenhados para *E. etunicata* e *G. albida* foram eficientes

em detectar a presença das espécies de FMA nos dois tempos de estresse, confirmando que os mesmos foram adequados para identificação molecular das espécies de FMA avaliadas.

Para *E. etunicata*, houve amplificação nas amostras de DNA de todos os tratamentos micorrizados com Cqs variando entre 31 e 33, assim como observado para as amostras dos tratamentos controle e AF, devido a contaminação mencionada anteriormente (Figura 9).

Por sua vez, para *G. albida*, foram verificadas amplificações entre 26 e 32 Cqs apenas nos tratamentos micorrizados (Figura 10). Não foi detectada a presença do FMA na maioria das amostras não micorrizadas, ou foram verificadas amplificações após o Cq 35, o que indica que havia pouco ou quase nenhum material genômico de *G. albida*, fato confirmado pela análise morfológica.

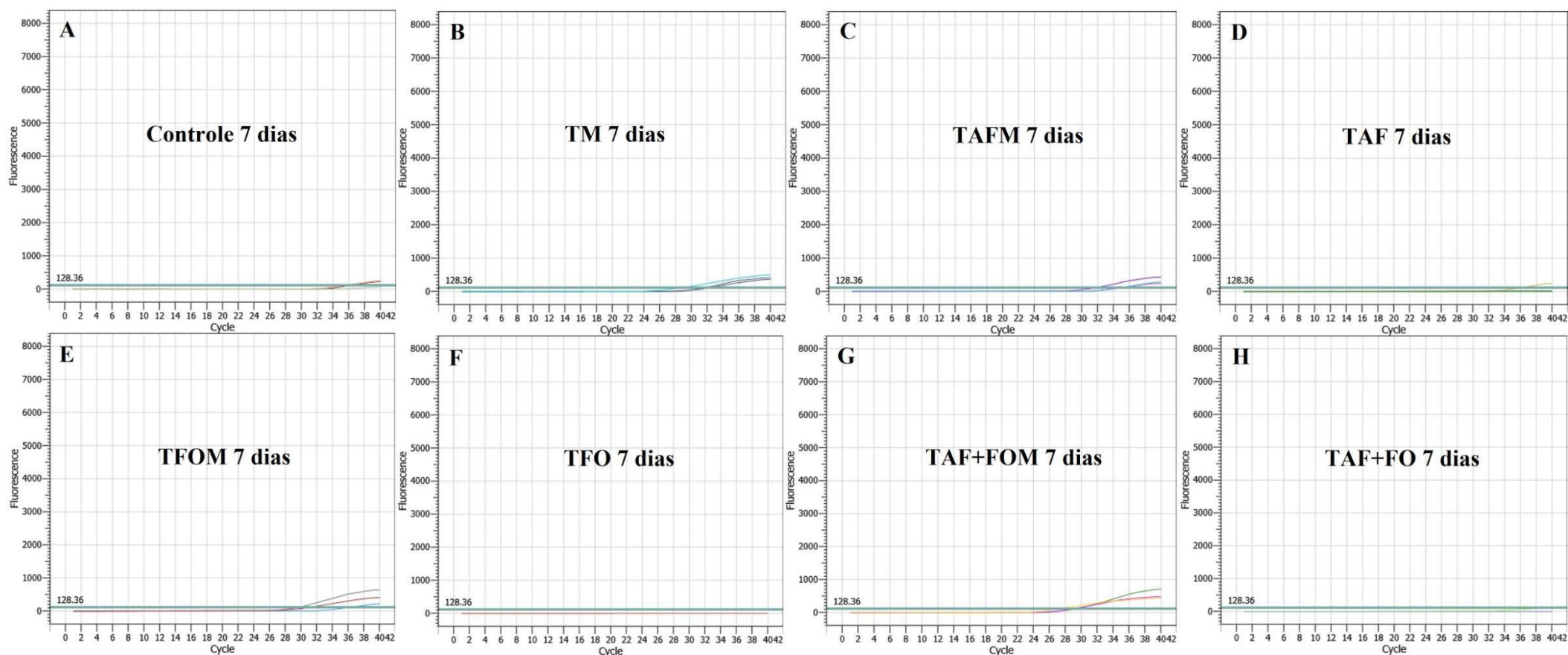
Figura 9. Detecção do FMA *E. etunicata* utilizando os *primers* desenhados para a espécie em amostras de raiz após sete dias de estresse.



Legenda: Tratamentos: AF= Plantas com aplicação de ácido fusário; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusário; FO = Plantas com adição de suspensão do inóculo de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas.

Fonte: Lima (2023).

Figura 10. Detecção do FMA *G. albida* utilizando os *primers* desenhados para a espécie em amostras de raiz após sete dias de estresse.

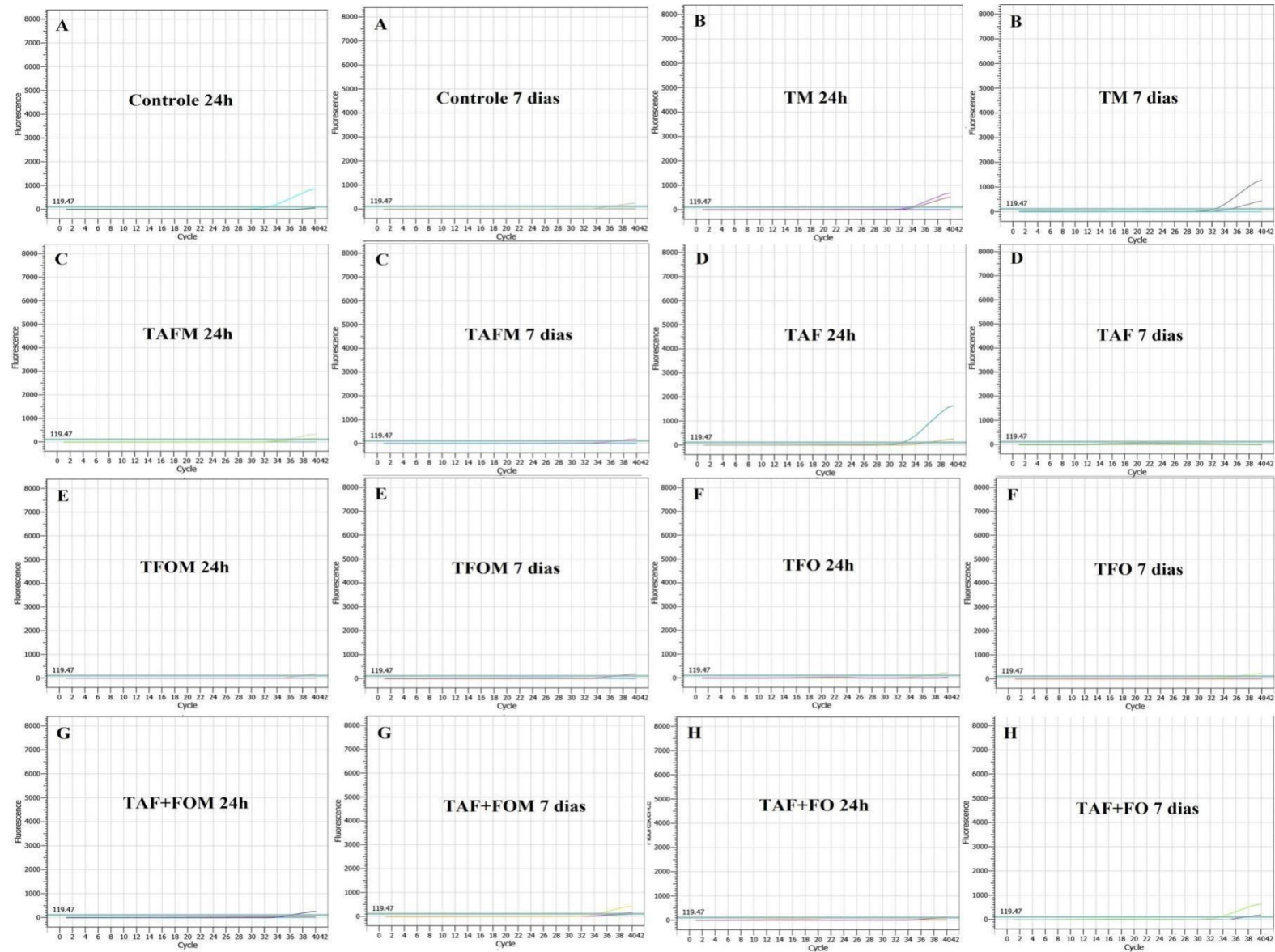


Legenda: Tratamentos: AF= Plantas com aplicação de ácido fusário; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusário; FO = Plantas com adição de suspensão do inóculo de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas.

Fonte: Lima (2023).

No que se refere aos *primers* para *F. oxysporum* (1 e 2), maiores Cqs foram observados (aproximadamente 34 ciclos), sugerindo menor abundância do patógeno nas amostras analisadas (Figuras 11 e 12). Adicionalmente, foram verificadas amplificações (acima de 36 Cqs) em tratamentos não inoculados com o patógeno (controle, M, AF e AFM) nos dois *primers* testados nos dois tempos de estresse (Figuras 11 e 12), que podem representar uma contaminação mínima do patógeno nestes tratamentos, ruído de reação ou inespecificidade dos *primers*. Uma vez que os resultados obtidos não foram conclusivos para os *primers* testados para *F. oxysporum*, análises adicionais serão realizadas utilizando DNA genômico extraído de cultura pura do patógeno visando avaliar a eficiência de amplificação e especificidade dos *primers*.

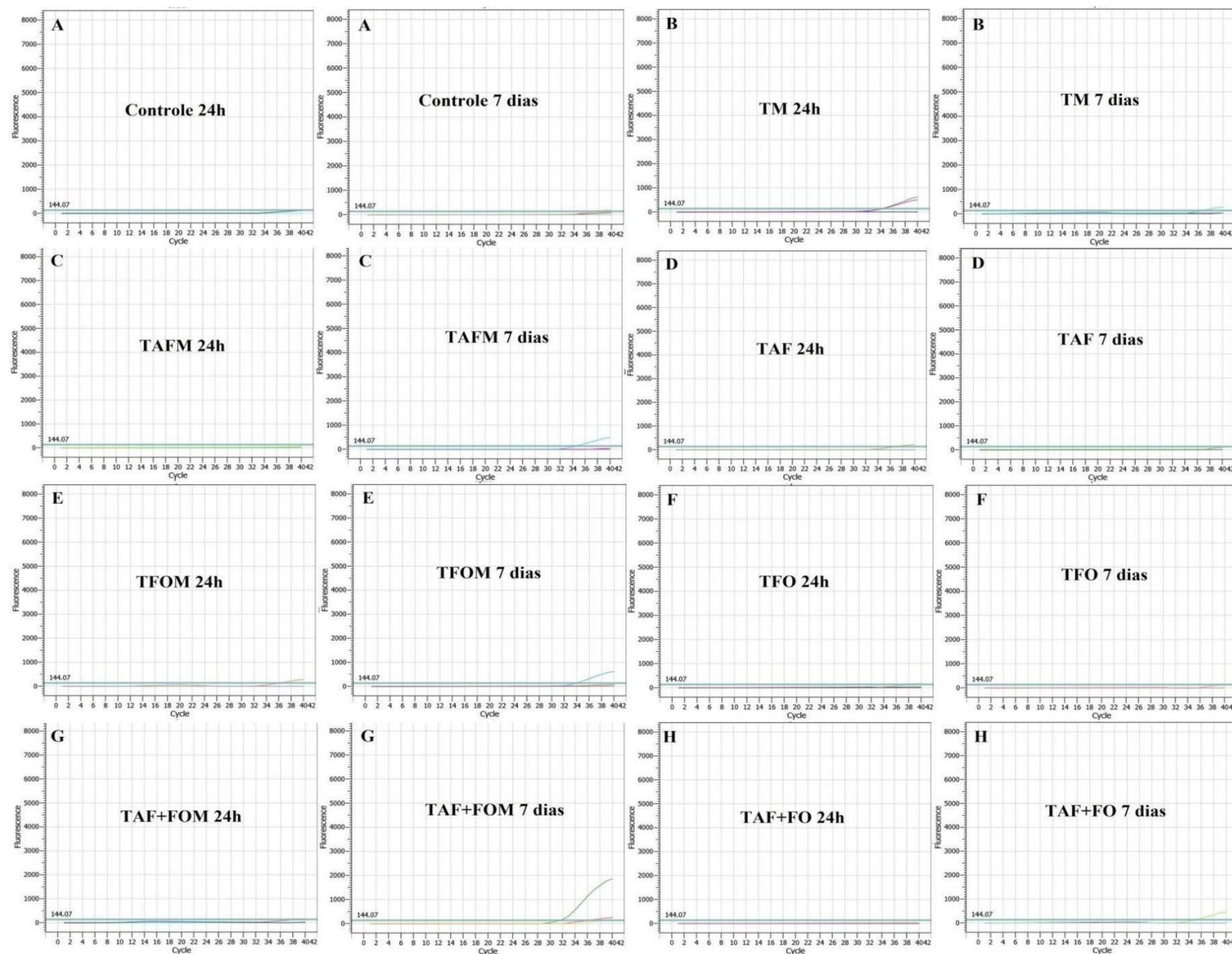
Figura 11. Detecção de amostras de DNA de *P. edulis* utilizando o *primer* 1 desenhado para *F. oxysporum* 1.



Legenda: Tratamentos: AF= Plantas com aplicação de ácido fusário; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusário; FO = Plantas com adição de suspensão do inóculo de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas.

Fonte: Lima (2023).

Figura 12. Detecção de amostras de DNA de *P. edulis* utilizando o *primer* 2 de *F. oxysporum*, selecionado da literatura.



Legenda: Tratamentos: AF= Plantas com aplicação de ácido fusário; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusário; FO = Plantas com adição de suspensão do inóculo de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas.

Fonte: Lima (2023).

A análise de correlação entre os Cqs e o número de glomerosporos (NG) para *G. albida* e *E. etunicata* indicou que o NG de *G. albida* apresentou correlação negativa com os Cqs. Por outro lado, foi observada correlação positiva entre os Cqs e o NG de *E. etunicata* (Figura 13).

Os números de glomerosporos das espécies de FMA (GA e EE) foram correlacionados positivamente, enquanto os Cqs (GA e EE) apresentaram baixa correlação.

Figura 13. Estimativa dos coeficientes de correlação entre os Ciclos de quantificação (Cq) e número de glomerosporos (NG) de *G. albida* (GA) e *E. etunicata* (EE).



Fonte: Lima (2023).

5.4 Seleção de genes de interesse e análise de expressão gênica por RT-qPCR

A análise do gel de agarose revelou que as duas bandas do RNA ribossomal estavam nítidas e íntegras, bem como foi possível verificar que não

havia presença de contaminantes (polissacarídeos ou DNA), indicando que as etapas de lavagens e tratamento de DNase foram eficientes para a maioria das amostras (Apêndice A). Quando necessário, foram realizados novos tratamentos de DNase e etapas de purificação.

No que se refere a quantificação de RNA total, as amostras apresentaram concentração variando de 224,90 a 1564,20 ng/ μ L para raiz e de 91,60 a 1626,00 ng/ μ L para folha (Apêndice B). Além disso, todas as amostras atingiram o padrão de pureza recomendado (A260/280 - 1,9 a 2,1) nos dois tecidos de *P. edulis* (Apêndice B), e, portanto, foram consideradas adequadas para uso nas etapas subsequentes.

Todos os *primers* testados para os genes alvos e de referência amplificaram e foram eficientes nas amostras de cDNA de tecidos radiculares de *P. edulis*. A eficiência dos *primers* variou de 98,69 a 109,81% para os alvos e de 91,74 a 98,72% para os genes de referência (dados não mostrados), ficando dentro do padrão recomendado (entre 90 e 110%) do *MIQE Guidelines* (Bustin *et al.*, 2009).

De forma geral, os resultados da RT-qPCR demonstraram que todos os genes candidatos foram diferencialmente expressos a depender do tratamento analisado e que o tempo de aplicação do estresse foi determinante para alterar o perfil de expressão desses alvos (Tabela 6).

A maioria dos genes candidatos teve sua expressão reduzida após 24 horas de aplicação do AF, inoculação com FoP, e/ou nos tratamentos micorrizados, apresentando valores de modulação (*Foldchange*- FC) menores que 0,66 (Tabela 6). Em contraste, a PR-1 manteve sua expressão constitutiva em quase todos os tratamentos, exceto em AF após 24h e FO e AFM após sete dias (Tabela 6). Os resultados sugerem que neste momento inicial do estresse, a planta pode não ter ativado seus mecanismos de defesa ou recrutado tais genes para se defender do ataque do patógeno. Ou ainda, há a possibilidade de que o tempo de expressão desses genes seja em outro momento do que os propostos nesse projeto.

Tabela 6. Validação da expressão gênica em plantas de *P. edulis* micorrizadas (M) ou não, com indução, após 24h e sete dias, de estresse pela aplicação de *Fusarium oxysporum* (FoP) e/ou ácido fusárico (AF).

Gene	PR-1		PR-12		SERK1		LecRK		WRKY	
Tempo	24h	7d	24h	7d	24h	7d	24h	7d	24h	7d
M	NS	NS	NS	NS	NS	2.21	NS	NS	0.13	31.58
AF	0.30	NS	0.35	NS	0.37	NS	0.32	NS	0.10	15.08
FO	NS	0.42	0.26	2.54	NS	2.39	NS	1.78	0.26	160.89
AFFO	NS	NS	0.30	6.01	NS	2.44	0.63	2.31	NS	148.64
AFM	NS	1.87	0.06	2.29	0.47	1.65	0.41	1.84	0.32	15.35
FOM	NS	NS	0.16	3.85	0.48	3.51	0.66	4.26	0.06	191.12
AFFOM	NS	NS	0.40	6.01	NS	3.21	NS	2.44	NS	60.24

Legenda: M= Tratamento Micorrizado; AF= Tratamento com ácido fusárico; FO = Tratamento com *F. oxysporum*; AF+FO= Tratamento com Ácido Fusárico + *F. oxysporum*; AFM= Tratamento com Ácido Fusárico Micorrizado; FOM = Tratamento com *F. oxysporum* Micorrizado; AF+FOM= Tratamento com Ácido Fusárico + *F. oxysporum* Micorrizado. NS= Não significativo ou constitutivo. Em verde= Genes down-regulated. Em vermelho=. Genes up-regulated.

Fonte: Lima (2023).

Por sua vez, quando avaliado o tempo mais prolongado de estresse verificou-se que quatro genes (PR-12, SERK1, LecRK e WRKY) apresentaram indução em quase todos os tratamentos (Tabela 6), o que indica a participação desses alvos no processo de defesa do maracujazeiro frente a fusariose. O gene WRKY se destacou entre os demais, uma vez que apresentou indução em todos os tratamentos (Tabela 6). Vale destacar a alta indução observada para WRKY nos tratamentos com a presença do patógeno (FO, FOM e AFFO), onde os níveis de expressão foram aumentados mais que 140 vezes quando comparado ao observado nas plantas controle. Além disso, WRKY foi o único gene induzido (FC - 15.084) no tratamento com AF.

6 DISCUSSÃO

6.1 Influência de FMA nos parâmetros de crescimento do maracujazeiro antes da indução do estresse biótico

Neste estudo, as plantas inoculadas com o mix de FMA (*G. albida* e *E. etunicata*) apresentaram diferença em todos os parâmetros morfológicos quando comparadas com as não-micorrizadas. O incremento da altura apresentou diferença em todas as medições, com exceção do 70º dia, o número de folhas e o diâmetro do caule somente após 45 dias de inoculação com FMA. Esses resultados corroboram aos encontrados na literatura, que demonstram que diversas espécies de plantas inoculadas com FMA apresentam parâmetros vegetativos superiores às aquelas sem inoculação (Cavalcante *et al.*, 2002; Anjos *et al.*, 2005; Gil *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2015).

Mudas de *P. alata* inoculadas com *G. albida* exibiram maior número de folhas e altura do que as plantas não inoculadas, respectivamente, após 70 e 90 dias (Cavalcante *et al.*, 2002). Resultados semelhantes foram encontrados por Anjos *et al.* (2005) que verificaram que tratamentos com inoculação de *G. albida* e *D. heterogama* proporcionaram maior crescimento, número de folhas e diâmetro do caule em mudas de *P. alata* em relação ao controle, após 30 e 45 dias, respectivamente. Plantas de *P. edulis* inoculadas com *F. fasciculatum* e nível de P de 0,02 mg L⁻¹ apresentaram aumentos significativos de 255% no diâmetro da base do caule, 727% na altura e 2.274% na área foliar em comparação com os tratamentos não inoculados (Gil *et al.*, 2015). Silva *et al.* (2015) observaram que mudas de *P. setacea* inoculadas com *E. etunicata* apresentaram um aumento significativo na altura da planta, número de folhas, área da folha e biomassa em comparação com as plantas não micorrizadas. Além disso, a adição de fósforo também teve um efeito positivo na produção de biomassa e área foliar, mas não foi tão eficaz quanto à micorrização.

Em oliveiras, o tratamento sem estresse hídrico e inoculado com *R. irregulare* apresentou maior altura e número de folhas em comparação com o tratamento não micorrizado (Aganchich *et al.*, 2022), resultado também

encontrado por Boutaj *et al.* (2020) com a inoculação com *R. irregulare* em oliveiras (cultivar Picholine Marocaine) após o período de 9 meses. Felföldi *et al.* (2022) verificaram que diferentes genótipos de tomate micorrizados apresentavam colonização radicular com a inoculação do mix de FMA (*Acaulospora laevis*, *Funneliformis geosporus*, *F. mosseae* e *Cetraspora armeniacae*), influenciando positivamente o comprimento das raízes, altura das plantas e o número de folhas por planta, diferindo das plantas não micorrizadas.

O crescimento aprimorado de plantas inoculadas com FMA em várias culturas demonstra que a inoculação pode ter possibilitado que as raízes alcançassem locais além da rizosfera por conta da maior extensão das hifas. O tempo e os benefícios proporcionados pelos FMA podem variar em função da responsividade das plantas ao fungo utilizado e os resultados sugerem que o uso do mix de *E. etunicata* e *G. albida* propicia mudas mais vigorosas e potencialmente aptas ao estresse biótico (Smith; Smith, 2012; Tanwar *et al.*, 2013).

6.2 Contagem de glomerosporos

Os resultados dos números de glomerosporos nesse estudo mostraram que todos os tratamentos micorrizados, com ou sem estresse, e o tratamento AF não micorrizado diferiram em comparação aos demais tratamentos, mas não diferiram entre si, o que sugere que a presença do patógeno e do AF teve pouco ou nenhum impacto nos glomerosporos. Tal fato pode ser decorrente do tempo entre a indução do estresse biótico e a quantificação dos glomerosporos, ou seja, sete dias. Este tempo pode ter sido insuficiente para que a influência de *F. oxysporum* ou mesmo do AF sobre a esporulação pudesse ser detectada. Além disso, alguns estudos evidenciaram resultados semelhantes a esse, em diferentes culturas e patógenos, como por exemplo, Dehariya *et al.* (2015) que avaliaram plantas de feijão-guandu (*Cajanus cajan* L.) inoculadas com mix de FMA (*F. mosseae*, *Glomus cerebriforme*, *R. irregulare*) e *F. udum*, e demonstraram que a densidade de esporos não foi

afetada pela presença do patógeno. Ainda no feijoeiro, a densidade de esporos foi maior no tratamento inoculado com o *mix* de FMA (*Glomus hoi*, *G. margarita* e *Scutellosporagigantea*) com adição de *F. solani* f. sp. *phaseoli* comparados aos outros tratamentos, ou seja, apenas FMA, *F. solani* ou *mix* de FMA com o patógeno (Eke *et al.*, 2016). Em plantas de tomate, pimenta e berinjela (solanáceas), foi observado que a densidade de esporos no solo com *R. intraradices* *F. mosseae* era maior, independente da presença de *Verticillium dahliae*, em todas as culturas (Demir *et al.*, 2015).

Entretanto, resultados contrários ao obtido em nosso estudo foram demonstrados por Hage-Ahmed *et al.* (2013) e Hashem *et al.* (2021), que tiveram redução no número de esporos de FMA em plantas de tomate micorrizadas e infectadas por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersi*.

6.3 Colonização radicular de FMA

Quanto à colonização micorrízica, os tratamentos micorrizados e sob estresse diferiram dos demais, resultados semelhantes foram encontrados em estudos que demonstraram que houve estímulo na colonização de FMA após infecção por *F. oxysporum* em diferentes culturas (McAllister *et al.*, 1994; Garcia-Romera *et al.*, 1998; Fracchia *et al.*, 2000). Como observado no estudo de Jie *et al.* (2015), as taxas de colonização de *F. mosseae* em raízes de diferentes cultivares de soja, após a inoculação com *F. oxysporum*, foram maiores do que nas amostras que não foram inoculadas com o patógeno. Por sua vez, as plantas de trigo co-inoculadas (*R. intraradices* + *F. oxysporum*) apresentaram alta porcentagem de colonização micorrízica, comparadas com plantas que foram inoculadas apenas com FMA, sugerindo que a presença do patógeno estimulou a colonização micorrízica (Spagnoletti *et al.*, 2021).

Assim, entende-se que a presença do patógeno faz com que haja um aumento na taxa de colonização micorrízica nas plantas, tal fato pode ser explicado pela competição entre os patógenos radiculares e FMA por locais de invasão, uma vez que eles ocupam o mesmo nicho ecológico (Cordier *et al.*, 1996), dessa forma haveria um aumento na colonização micorrízica causado

pela competição. Ademais, McAllister *et al.* (1994) sugeriram que a capacidade do patógeno modular a colonização micorrízica pode variar dependendo da planta hospedeira e da espécie de FMA. Dessa forma, há estudos que relatam que a infecção por patógenos radiculares reduziu a colonização micorrízica no feijoeiro (Aysan; Demir, 2009; Al-Askar; Rashad, 2010), no aspargo (Nahiyani; Matsubara, 2012), na soja (Spagnoletti *et al.*, 2017) e no tomateiro (Hashem *et al.*, 2021). Em maracujazeiro, a presença de *F. oxysporum* após sete dias foi insuficiente para reduzir a colonização micorrízica, fato que pode ter sido influenciado pela planta apresentar dependência micorrízica.

Em relação aos arbúsculos, os tratamentos micorrizados apresentaram diferenças significativas comparados aos não-micorrizados, esses resultados indicam que a contaminação dos tratamentos não micorrizados (controle, AF, FO e AFFO) não foi efetiva, já que os arbúsculos são estruturas essenciais para a funcionalidade da simbiose micorrízica, pois são responsáveis pela troca de nutrientes entre as plantas e FMA (Smith; Smith, 2012). Sem os arbúsculos, a transferência de nutrientes às plantas pode ser comprometida, o que pode afetar negativamente os benefícios advindos da micorrização para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

Além disso, observou-se que não houve redução na ocorrência de arbúsculos nos tratamentos com estresse nesse estudo. Resultados semelhantes foram observados em plantas de trigo, onde o percentual de arbúsculos não sofreu alteração pela presença de *F. pseudograminearum* (Spagnoletti *et al.*, 2021) após 55 dias da interação entre o *R. intraradices* e o patógeno. Em tomateiro tratado com inóculo comercial Symbivit (*Claroideoglomus claroideum*, *E. etunicata*, *F. geosporus*, *F. mosseae*, *Glomus micro-agregado* e *R. intraradices*) e *T. harzianum*, os arbúsculos foram mais abundantes na presença dos patógenos, *V. dahliae* ou *F. oxysporum*, do que apenas no tratamento com FMA (Meddad-Hamza *et al.*, 2023). Por sua vez, também no tomateiro, a presença de *F. oxysporum* resultou na redução dos arbúsculos (52,14%) após seis semanas da manutenção da convivência de FMA com o patógeno (Hashem *et al.*, 2021). Essas divergências sugerem que a forma como as plantas, os FMA e os patógenos interagem pode variar dependendo das condições específicas. Além disso, destaca-se a importância

de considerar o tempo em que ocorrem a inoculação com FMA, a infecção pelo patógeno e a interação entre eles para entender completamente os padrões de colonização micorrízica.

6.4 qPCR e *primers* específicos para FMA e *F. oxysporum*

A utilização de *primers* específicos para detecção e quantificação de FMA através das técnicas de qPCR/ RT-qPCR são práticas cada vez mais comuns evidenciadas em grande parte dos trabalhos em culturas de interesse, a exemplo em plantas de grão-de-bico onde Tavasolee *et al.* (2011) desenvolveram *primers* para *R. intraradices* e *F. mosseae* como também na cultura da videira onde Duret *et al.* (2023) desenvolveram para *R. irregulare*. Neste estudo, os *primers* desenhados para *E. etunicata* e *G. albida* foram eficientes em detectar a presença das espécies de FMA após sete dias da aplicação dos estresses (FoP e AF).

Di Bonito *et al.* (1995) empregaram PCR para detectar *R. intraradices* em raízes de diferentes espécies de plantas (*Lactuca sativa* L., *Allium porrum* L., *Zinnia elegans* Jacq., *Cichorium endívia* L. e *Capsicum annuum* L.), e confirmaram que os *primers* foram eficientes em todas as espécies de plantas analisadas. Nos trabalhos de Alkan *et al.* (2004) e Alkan *et al.* (2006) foram testados *primers* específicos, utilizando qPCR/RT-qPCR, respectivamente, para quantificar a colonização de *R. intraradices* e *F. mosseae* em diferentes plantas (*Lycopersicon esculentum*, *Medicago truncatula* e *Daucus carota*). Os *primers* demonstraram alta especificidade, possibilitando a detecção sensível dos FMA nos tecidos radiculares das plantas hospedeiras, sem amplificar o DNA de outras espécies ou da planta hospedeira. Adicionalmente, Alkan *et al.* (2006), evidenciaram que os *primers* desenvolvidos permitiram uma quantificação precisa da abundância relativa de cada espécie de FMA nas amostras. Ao avaliar a tolerância à salinidade em plantas de *M. truncatula*, observou-se que a presença de *R. intraradices* foi superior à de *F. mosseae*, sugerindo que *R. intraradices* poderia ser uma espécie promissora para uso em condições de campo.

Primers específicos também foram desenvolvidos para diversas espécies de patógenos, como *Fusarium* spp., permitindo a rápida e precisa identificação e quantificação desses fungos em amostras de solo e plantas (Priyanka; Dubey; Singh, 2015; Haegi *et al.*, 2013). Em plantas de grão-de-bico, *primers* desenvolvidos para detectar e quantificar *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, por meio de métodos de PCR/qPCR, revelaram alta sensibilidade e especificidade (Priyanka; Dubey; Singh, 2015). Da mesma forma, Haegi *et al.* (2013) utilizando qPCR, elaboraram *primers* para detectar e quantificar o patógeno *F. oxysporum* f. sp. *melonis* em plantas de melão, os quais demonstraram elevada sensibilidade e especificidade. Em amostras de solo e sementes, os *primers* também foram eficientes e específicos, mostrando sensibilidade na detecção de DNA de *F. avenaceum* por meio de qPCR (Pollard *et al.*, 2019). No estudo de Zhu *et al.* (2016), *primers* para *F. commune*, aplicados através de qPCR, mostraram-se eficientes para uma detecção rápida e específica desse patógeno em amostras de plantas e solo. Fillion *et al.* (2003) alcançaram a detecção e quantificação de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* a partir de substrato de solo utilizando qPCR, proporcionando uma ferramenta valiosa para o monitoramento de doenças causadas pelo gênero *Fusarium*. Embora, nesse estudo, a detecção de *F. oxysporum* com a utilização dos *primers* precise ser otimizada, a utilização de *primers* pode ser uma ferramenta valiosa para a detecção dos patógenos do solo. Portanto, incentiva-se a realização de futuras pesquisas direcionadas à otimização na seleção e no desenho desses *primers*, visando aprimorar a eficácia e precisão desse método de detecção. Esses esforços contribuirão para fortalecer as estratégias de diagnóstico de patógenos em ambientes agrícolas, promovendo práticas mais eficientes e direcionadas no controle fitossanitário.

6.4.1 Correlação entre ciclos de quantificação e número de glomerosporos

Em relação aos resultados obtidos para a correlação de Cq_Ga x NG_GA e NG_EE x Cq_EE, negativa e positiva, respectivamente, alguns estudos relataram diferenças na correlação entre o número de glomerosporos e qPCR dependendo da espécie de FMA (Gamper *et al.*, 2008; Arruda *et al.*,

2022). Gamper *et al.* (2008), correlacionaram os resultados de qPCR e os números de esporos de oito táxons de FMA e verificaram que os números estimados de *loci* gênicos correlacionaram-se de forma positiva com o número de esporos usados. Arruda *et al.* (2022) utilizaram duas espécies de plantas, *brachiaria* e *crotalaria*, inoculadas com três espécies de FMA, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus clarus* e *Dentiscutata heterogama*, onde compararam os dados de microscopia e qPCR das amostras, mostrando que a eficácia dos métodos de quantificação de FMA pode variar dependendo da espécie de planta e da espécie de FMA. Nesse caso, *A. colombiana* e *D. heterogama* apresentaram uma melhor correlação, positiva, em comparação com a inoculação de *R. clarus*. Esses autores sugerem que a diferença do resultado da correlação entre o NG e qPCR em algumas espécies vegetais podem ser atribuídas à visibilidade das estruturas dos FMA nas raízes, conforme observado por Alkan *et al.* (2004) e Arruda *et al.* (2022), utilizando os métodos de microscopia para quantificação dos fungos micorrízicos, ressaltando as limitações dos métodos microscópicos, tais como a localização intracelular das estruturas fúngicas, a complexidade das raízes e interferências na visualização devido à coloração, impactando a precisão da quantificação e compreensão da interação planta-FMA.

Ademais, outra explicação para a correlação negativa encontrada nesse estudo (NG_GA X Cq_GA) seria a quantidade de núcleos presentes nas diferentes estruturas de FMA (Gamper *et al.*, 2008). Embora não existam muitas informações disponíveis acerca do estudo dos núcleos dos glomerosporos, reporta-se que o número de núcleos pode variar entre as espécies de FMA e até mesmo dentro de uma mesma espécie (Böhm *et al.*, 1999; Gamper *et al.*, 2008). Dessa forma, no nosso estudo, a baixa quantidade de esporos encontrados nas amostras para essa espécie contradiz com a elevada quantidade de material genético em *G. albida*, que pode ser atribuída à presença de vários núcleos nos esporos, como evidenciado no trabalho de Silva *et al.* (2015), onde a quantificação dos núcleos em glomerosporos de *G. albida* sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica revelou variação no

número de núcleos, com valores absolutos variando de 87 a 1.657, com média de 353 núcleos em todos os tratamentos.

6.5 Expressão de PRs (PR-1 e PR-12) em resposta a *F. oxysporum*

Nesse estudo, os genes PR-1 apresentaram expressão constitutiva na maioria dos tratamentos e tempos avaliados (24 horas e 7 dias de estresse). Por outro lado, exibiram expressão reduzida nos tratamentos com AF (24 horas) e FO (7 dias) e indução exclusiva no tratamento AFM com 7 dias. Apesar das PR-1 pertencerem a um grupo de proteínas frequentemente associadas por atuarem na resposta de defesa ao ataque de patógenos, estudos sugerem que os membros desta família não são regulados uniformemente (Breen *et al.*, 2017), sendo a expressão constitutiva um padrão relatado na literatura (Tornerio *et al.*, 1994).

Diversos estudos relataram o acúmulo, efeito inibitório direto ou a expressão diferencial dessas proteínas frente a infecções por fungos fitopatogênicos, como *Uromyces fabae*, *Phytophthora infestans* e *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (Niderman *et al.*, 1995; Rauscher *et al.*, 1999; Tellis *et al.*, 2017; Anisimova *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022). Pritsch *et al.* (2000) observaram que as PR-1 demonstraram, inicialmente, uma regulação negativa em raízes infectadas por *F. graminearum*, e após 24 horas de infecção atingiram o pico de expressão, permanecendo assim até o quarto dia após a inoculação. Song *et al.* (2015) relataram a indução de PR-1 em tomateiro sob inoculação de *A. solani* + *F. mosseae* nos tempos de 18, 65, 100 e 140 horas após a inoculação com os patógenos, bem como foi induzido no tratamento com inoculação apenas por *F. mosseae* com 100 e 140 horas.

Recentemente, Tolba *et al.* (2021) avaliando plantas de banana sob estresse biótico, demonstraram que a inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ou *Phytophthora infestans* reduziu a expressão de PR-1, enquanto a inoculação com o fungo endofítico *Pochonia chlamydosporia* induziu a expressão de PR-1 em 7 dias após a inoculação; já na presença de *P. chlamydosporia* e *F. oxysporum*, a expressão de PR-1 foi reduzida.

Uma possível explicação para a ausência de indução de PR-1 em nosso estudo pode estar relacionada à alta indução de WRKY em todos os tratamentos, uma vez que FTs podem regular a expressão de outros genes relacionados à defesa, como observado por Zheng *et al.* (2006) em *A. thaliana* que relataram que PR-1, PR-2, PR-5 e PDF1.2 (defensina) foram induzidas em resposta à infecção por *Botrytis* em plantas selvagens, mas foram reguladas negativamente em mutantes WRKY33. Em plantas transgênicas com superexpressão de WRKY33, houve aumento na expressão basal desses genes. Oh *et al.* (2008) superexpressaram o gene WRKY1 em plantas transgênicas de *Capsicum annuum* e verificaram que poucos genes relacionados à defesa (PR, SAR8.2, GST e APX) foram induzidos em resposta ao tratamento com SA. Porém, quando o gene CaWRKY1 foi silenciado, ocorreu aumento na resposta de defesa das plantas modulada por esses genes. Resultados semelhantes foram observados por Chakraborty *et al.* (2020) que superexpressaram CaWRKY70 em grão-de-bico e observaram que CaPR-1, CaPR-5 e CaDefensin, tiveram sua expressão reduzida após a infecção com o patógeno.

Em nosso estudo, a expressão de PR-12 foi aumentada em todos os tratamentos com a presença de *F. oxysporum* após 7 dias de estresse, sugerindo que essa defensina participa da resposta da defesa do maracujá contra a fusariose. Wu *et al.* (2014) relataram que o gene PR-12 foi induzido em trigo sob infecção por *F. graminearum* nas primeiras 12 horas após a inoculação. No entanto, após 24 horas, a regulação de PR-12 foi negativa em algumas cultivares. A expressão de defensinas também foi relatada em plantas de melancia após a inoculação de *F. oxysporum* em sistema de consórcio com trigo, onde CIPDF2.1 e CIPDF2.4, genes semelhantes à defensina, tiveram suas expressões aumentadas após a infecção. A expressão de CIPDF2.1 foi maior com um dia após a infecção, enquanto CIPDF2.4 teve maior expressão nos dias 1 e 5 após o estresse (Lv *et al.*, 2022).

6.6 Expressão de SERK1 em resposta a *F. oxysporum*

Estudos apontam que os genes SERK desempenham um papel importante na ativação de mecanismos de defesa de diversas culturas sob estresses bióticos (Huang *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2018; Qi *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2022). Em nosso estudo, os genes SERK1 foram induzidos em todos os tratamentos em 7 dias, exceto no tratamento AF. A indução de MaSERK1 foi relatada por Huang *et al.*, (2010) em folhas de *Musa paradisiaca* L., inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Li *et al.* (2018) relataram a indução do gene HvSERK2 em folhas infectadas com o oídio da cevada (Bgh). Recentemente, Li e colaboradores (2022), avaliaram a resposta de defesa de *Vitis quinquangularis* à infecção por *Erysiphe necator* e verificaram que os genes VqSERK1, VqSERK3e VqSERK4 foram induzidos nos tempos de 24, 48 e 96 horas após infecção com o patógeno fúngico, enquanto a expressão de VqSERK2 foi regulada negativamente com 24 e 120 horas. A expressão de 20 genes TaSERK foi investigada em trigo após inoculação com *R. cerealis*, e foi verificado que seis genes foram induzidos, enquanto os demais mantiveram expressão constitutiva (Qi *et al.*, 2023).

6.7 Expressão de LecRK em resposta a *F. oxysporum*

Os receptores quinase de lectina do tipo-L (LecRKs) são diferencialmente expressos em plantas durante o crescimento e exposição a estímulos externos, desempenhando papel essencial à imunidade das plantas (Wang; Bouwmeester, 2017). Nessa pesquisa, os genes LecRKs apresentaram indução na maioria dos tratamentos, após 7 dias, com exceção dos tratamentos M e AF. A participação desses genes na defesa das plantas contra patógenos é demonstrada em alguns estudos (Huang *et al.*, 2013; Woo *et al.*, 2020). Balagué *et al.*, (2017) observaram que a expressão de LecRK-I.9 foi regulada positivamente em resposta ao ataque de *Pseudomonas syringae* em *A. thaliana*, atingindo o pico de indução com 4 horas após a inoculação e mostrou-se necessária para a resistência à essa bactéria conforme reportado por Singh *et al.* (2012), onde plantas mutantes de *A. thaliana* foram mais resistentes a infecções bacterianas (*P. syringae* e *P. carotovorum*) quando LecRK-VI.2 foi superexpresso do que nas plantas selvagens, que se mostram

susceptíveis ao patógeno. Tehrani *et al.* (2020) avaliaram diferentes genótipos da planta ornamental *Iris* infectada com *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* e observaram que os genes LecRK foram regulados positivamente em amostras infectadas com o patógeno em comparação com os controles não inoculados. Por outro lado, nas plantas de soja, LecRKs exibiram diferentes padrões de expressão após a infecção por *Phytophthora sojae*, onde alguns genes GmLecRK foram expressos constitutivamente, enquanto outros foram induzidos durante os estágios iniciais da infecção por *P. sojae* ou apenas nos estágios tardios da infecção (Zeng *et al.*, 2021).

6.8 Expressão de WRKY em resposta a *F. oxysporum*

WRKY foi o único gene induzido em todos os tratamentos avaliados nesse estudo após 7 dias de aplicação do estresse. Alguns trabalhos demonstram o papel de FTs WRKY na resposta de defesa das plantas a estresses bióticos (Zhang *et al.*, 2019; Jiang *et al.*, 2017). Em açafrão e *A. thaliana*, a superexpressão de WRKY2 e WRKY4 resultou em uma defesa aprimorada contra fungos necrotróficos, incluindo *Alternaria tenuis*, *B. cinerea* e *Pythium* (Mzid *et al.*, 2007; Lai *et al.*, 2008). Em arroz, a resistência a *Magnaporthe oryzae* foi aumentada por meio da ativação transcricional de OsWRKY13 (Viana *et al.*, 2018).

Linhagens de tabaco exibindo alta expressão de WRKY2 foram investigadas e demonstraram maior resistência ao patógeno *F. oxysporum* em comparação com as plantas selvagens (Li *et al.*, 2021). Resultados semelhantes foram observados por Zheng *et al.* (2022) que superexpressaram o gene *PnWRKY9* em tabaco e verificaram que o mesmo conferiu resistência a *F. solani*, enquanto que sua expressão reduzida resultou em aumento na suscetibilidade ao patógeno. Recentemente, nove genes WRKY que apresentaram expressão diferencial após infecção por *F. oxysporum* foram identificados em plantas de grão de bico. Desses, seis foram altamente induzidos em 2 dias após a inoculação com o patógeno.

Resultados divergentes foram encontrados por outros autores, como Wang *et al.* (2014) que observaram que a superexpressão de WRKY15 em

Brassica napus ocasionou a inibição da ativação transcricional de *BnWRKY33*, resultando em maior suscetibilidade da planta a *Sclerotinia sclerotiorum*. Assim como verificado em pimenta (*Capsicum annuum*) por Khan *et al.* (2018), que demonstraram a regulação negativa de *CaWRKY40b* contra *Ralstonia solanacearum*, que resultou na diminuição da imunidade da planta. Recentemente, Miao *et al.* (2023) verificaram que linhagens transgênicas de pimenta que superexpressavam *CmWRKY8-1-VP64* levaram ao aumento da suscetibilidade a *F. oxysporum*.

O papel do AF é essencial na virulência do fungo *F. oxysporum* (Ding *et al.*, 2018), e em nosso estudo, o único gene a apresentar indução (FC - 15.084) no tratamento com aplicação de AF foi o WRKY. Resultado semelhante foi verificado por Mao *et al.* (2017) que conduziram experimento com linhagens de Chieh-qua (*Benincasa hispida* Cogn. var. Chieh-quaHow) resistentes e suscetíveis a *F. oxysporum* após aplicação de AF e relataram a indução acentuada de três genes *CqWRKY* (*CqWRKY31*, *CqWRKY34* e *CqWRKY45*), em ambas as linhagens.

6.9 Expressão gênica e a relação com FMA

Neste estudo, descobriu-se que, sete dias após a aplicação dos estresses, os tratamentos micorrizados apresentaram uma maior indução na expressão gênica em comparação com aqueles sem a inoculação. Além disso, PR-1 foi induzida apenas no tratamento AFM, enquanto SERK1 e WRKY foram os únicos genes induzidos no tratamento M. Os genes LecRK e PR-12, também foram induzidos em plantas micorrizadas (AFM) em sete dias, enquanto no tratamento com AF foram constitutivos, o que sugere que a presença de FMA pode modular a expressão de genes relacionados à defesa vegetal, corroborando ao reportado em alguns estudos, como o de Ismail *et al.* (2011) que relataram que a presença de *R. irregulare*, em raízes de batatas, reduziu a expressão de três genes biossintéticos da micotoxina tricoteceno (TRI4, TRI13 e TRI101), que é produzida por *F. sambucinum*.

Marques *et al.* (2018) investigaram alterações na expressão gênica em raízes de soja micorrizadas e não-micorrizadas após a infecção por *F. virguliforme* (Fv) e observaram que as plantas micorrizadas apresentaram maior expressão de

genes de defesa (PR-1, PR-5, LecRKs e serina proteases) em comparação com plantas sem FMA. Em um estudo conduzido por Zhang *et al.* (2020) identificaram 11.562 genes com expressão diferencial em plantas de soja que foram inoculadas com *F. mosseae*. Algumas das proteínas identificadas como diferencialmente expressas no estudo incluem a fenilalanina amônia-liase (PAL) e a proteína quinase dependente de cálcio (CPK), as quais desempenham papéis na defesa contra infecções microbianas. Recentemente, Rashad *et al.* (2021), observaram que a colonização micorrízica aumentou significativamente a expressão do gene PR-1 em plantas de tomate submetidas a estresse salino.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Plantas micorrizadas demonstraram um crescimento superior em todos os parâmetros avaliados, destacando-se a altura após 30 dias e o número de folhas e diâmetro do caule após 45 dias de inoculação. Esses resultados confirmam a eficácia do estabelecimento da simbiose micorrízica em promover o crescimento e desenvolvimento das plantas de maracujazeiro;
- Após sete dias da adição de ácido fusárico em plantas micorrizadas, ocorre ligeiro estímulo na frequência colonização micorrízica, porém a aplicação conjunta com *F. oxysporum* reduz esta ação. Tal estímulo não é detectado na formação de arbúsculo, sugerindo que avaliações ao longo do tempo são necessárias para melhor elucidação dos desdobramentos da ação do ácido fusárico, como possível indutor de resistência das plantas;
- Os *primers* desenvolvidos para *Gigaspora albida* e *Entrophospora etunicata* são eficientes em detectar a presença dessas espécies de FMA em amostras de raízes de maracujazeiros submetidos a diferentes tratamentos de indução a fusariose, podendo ser úteis para avaliar a colonização micorrízica em outras espécies vegetais.
- A inoculação com FMA pode modular a expressão de genes de defesa do maracujazeiro contra a infecção por *F. oxysporum*, como PR-12, SERK1, LecRK e WRKY, visto que nos tratamentos com FMA foi observada maior indução desses genes, o que sugere uma possível ativação das vias de sinalização que fortalecem a resistência do maracujazeiro contra o patógeno.
- Os resultados obtidos até o momento permitem ampliar o conhecimento sobre a expressão diferencial de genes alvos (PR-12, SERK1, LecRK e WRKY) que possivelmente participam de vias de sinalização e defesa em *P. edulis* e fornecem candidatos promissores para aplicação no melhoramento genético da cultura.

REFERÊNCIAS

- AGANCHICH, B.; WAHBI, S.; YAAKOUBI, A.; EL-AOUOUAD, H.; BOTA, J. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on growth and physiology performance of olive trees under regulated deficit irrigation and partial rootzone drying. **South African Journal of Botany**, v. 148, p. 1-10, 2022.
- AGRIOS, G.N. Plant pathology. 5th ed. Oxford: **Elsevier Academic Press**. 922p, 2005.
- ALI, S.; GANAI, B. A.; KAMILI, A. N.; BHAT, A. A.; MIR, Z. A.; BHAT, J. A.; GROVER, A. Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. **Microbiological research**, v. 212, p. 29-37, 2018.
- AL-ASKAR, A.; RASHAD, Y. Arbuscular mycorrhizal fungi: a biocontrol agent against common. **Plant Pathology Journal**, v. 9, n. 1, p. 31-38, 2010.
- ALKAN, N.; GADKAR, V.; COBURN, J.; YARDEN, O.; KAPULNIK, Y. Quantification of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in host tissue using real-time polymerase chain reaction. **New Phytologist**, v. 161, n. 3, p. 877-885, 2004.
- ALKAN, N.; GADKAR, V.; YARDEN, O.; KAPULNIK, Y. Analysis of quantitative interactions between two species of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus mosseae* and *G. intraradices*, by real-time PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 6, p. 4192-4199, 2006.
- ANISIMOVA, O. K.; SHCHENNIKOVA, A. V.; KOCHIEVA, E. Z.; FILYUSHIN, M. A. Pathogenesis-related genes of PR1, PR2, PR4, and PR5 families are involved in the response to *Fusarium* infection in garlic (*Allium sativum* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 6688, 2021.
- ANJOS, J. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; CHARCHAR, M. D. A. Incidência e distribuição do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro no cerrado do Brasil Central. Embrapa Cerrados-Documents (**INFOTECA-E**), 2001.
- ANJOS, É. C. T. D.; CAVALCANTE, U. M. T.; SANTOS, V. F. D.; MAIA, L. C. Produção de mudas de maracujazeiro-doce micorrizadas em solo desinfestado e adubado com fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40, 345-351, 2005.
- ARRUDA, B.; RODRIGUES, Y. F.; HERRERA, W. F. B.; ROBIN, A.; COTTA, S. R.; ANDREOTE, F. D. Experimental validation under controlled conditions of real time PCR to quantify arbuscular mycorrhizal colonization in root. **Journal of Microbiological Methods**, v. 192, p. 106382, 2022.

ATAKAN, A.; OZKAYA, H. O. Induced resistance to *Fusarium* wilt in carnation with mixture of mycorrhizal fungi. **Fresenius Environmental Bulletin**, 30(4), 4217-4227, 2021.

AYSAN, E.; DEMIR, S.. Using arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium leguminosarum*, Biovar phaseoli Against *Sclerotinia sclerotiorum*(Lib.) de bary in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Pathol J**, v. 8, p. 74-78, 2009.

BALAGUÉ, C.; GOUGET, A.; BOUCHEZ, O.; SOURIAU, C.; HAGET, N.; BOUTET-MERCEY, S.; CANUT, H. The *Arabidopsis thaliana* lectin receptor kinase LecRK-I. 9 is required for full resistance to *Pseudomonas syringae* and affects jasmonatesignalling. **Molecular plant pathology**, v. 18, n. 7, p. 937-948, 2017.

BALAKIREVA, A. V.; ZAMYATNIN, A. A. . Indispensable role of proteases in plant innate immunity. **Internationaljournalof molecular sciences**, v. 19, n. 2, p. 629, 2018.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrícosarbusculares em solo com diferentes níveis fósforo. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p.166-175, 2011.

BATTA, G.; BARNA, T.; GASPARI, Z.; SANDOR, S.; KÖVÉR, K. E.; BINDER, U.; MARX, F. Functional aspects of the solution structure and dynamics of PAF—a highly-stable antifungal protein from *Penicillium chrysogenum*. **The FEBS journal**, v. 276, n. 10, p. 2875-2890, 2009.

BERNACCI, L.C.; NUNES, T.S.; MEZZONATO, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; D.C. IMIG; CERVI, A.C. *Passifloraceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB182>>. Acessoem: 12 dez. 2022.

BERNARDS, M. A.; FLEMING, D. W.; LLEWELLYN, D. B.; PRIEFER, R.; YANG, X.; SABATINO, A.; PLOURDE, G. L. Biochemical characterization of the suberisation-associated anionic peroxidase of potato. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 121, p. 135-146, 1999.

BERRUTI, A.; LUMINI, E.; BALESTRINI, R.; BIANCIOTTO, V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1559, 2016.

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

BODENHAUSEN, N.; DESLANDES-HÉROLD, G.; WAELCHLI, J.; HELD, A.; VAN DER HEIJDEN, M. G.; SCHLAEPP, K. Relative qPCR to quantify colonization of

plant roots by arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, v. 31, n. 2, p. 137-148, 2021.

BÖHM, J.; HAHN, A.; SCHUBERT, R.; BAHNWEG, G.; ADLER, N.; NECHWATAL, J.; OBSZWALD, W. Real-time quantitative PCR: DNA determination in isolated spores of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and monitoring of *Phytophthora infestans* and *Phytophthora citricola* in their respective host plants. **Journal of Phytopathology**, v. 147, n. 7-8, p. 409-416, 1999.

BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annu. Rev. Plant Biol.**, 2009.

BORRELLI, V. M.; MAZZUCOTELLI, E. Pathogen-Induced Responses in Plants: Growing Resistance in an Attempt to Evade. In **Plant Signaling Molecules** (pp. 1-23). Humana Press, New York, NY, 2018.

BORGES, A.J.S.; TRINDADE, A.V.; MATOS, A.P.; PEIXOTO, M.F.S. Redução do mal-do-panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízicoarbuscular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42(1): 35-41. 2007.

BOUIZGARNE, B.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; FRANKART, C.; REBOUTIER, D.; MADIONA, K.; PENNARUN, A. M.; BRAULT, M. Early physiological responses of *Arabidopsis thaliana* cells to fusaric acid: toxic and signalling effects. **New Phytologist**, 169(1), 209-218, 2006.

BOUTAJ, H.; MEDDICH, A.; WAHBI, S.; MOUKHLI, A.; EL ALAOUI-TALIBI, Z.; DOUIRA, A.; EL MODAFAR, C. Improvement of growth and development of olive tree by mycorrhizal autochthonous inoculum. **Res J Biotechnol**, v. 15, p. 76-84, 2020.

BOWLES, D. J. Defense-related proteins in higher plants. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 59, p. 873-907, 1990.

BREEN, S.; WILLIAMS, S. J.; OUTRAM, M.; KOBE, B.; SOLOMON, P. S. Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. **Trends in plant science**, v. 22, n. 10, p. 871-879, 2017.

BROEKAERT, W. F.; TERRAS, F. R.; CAMMUE, B. P.; OSBORN, R. W. Plant defensins: novel antimicrobial peptides as components of the host defense system. **Plant physiology**, v. 108, n. 4, p. 1353, 1995.

BRUNNER, F.; ROSAHL, S.; LEE, J.; RUDD, J. J.; GEILER, C.; KAUPPINEN, S.; SCHEEL, D. Pep-13, a plant defense-inducing pathogen-associated pattern from *Phytophthora* transglutaminases. *The EMBO Journal*, 30 (22), 4346-4356, 2011.

BUSTIN S.A.; BENES V.; GARSON J.A.; HELLEMANS J.; HUGGETT J.; KUBISTA M.; MUELLER R.; NOLAN T.; PFAFFL M.W.; SHIPLEY G.L.; VANDESOMPELE J.; WITTEWER C.T. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. **Clinical Chemistry** 55(4): 611-622. 2009.

CASSOL, D.; CRUZ, F. P.; ESPINDOLA, K.; MANGEON, A.; MÜLLER, C.; LOUREIRO, M. E.; SACHETTO-MARTINS, G. Identification of reference genes for quantitative RT-PCR analysis of microRNAs and mRNAs in castor bean (*Ricinus communis* L.) under drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 101-107, 2016.

CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; MELO, A.M.M.; SANTOS, V.F. Influência da densidade de fungos micorrízicosarbusculares na produção de maracujazeiro amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 37(5): 643-649, 2002.

CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SANTOS, V.F. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. F. *Flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicosarbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta Botanica Brasilica** 15(3): 379–390, 2001.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; SOUZA, A. P.; CORRÊA, R. X. A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. **European Journal of Plant Pathology**, v. 139, n. 2, p. 261-270, 2014.

CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Ciano**, 1997.

CHAKRABORTY, J.; SEN, S.; GHOSH, P.; JAIN, A.; DAS, S. Inhibition of multiple defense responsive pathways by CaWRKY70 transcription factor promotes susceptibility in chickpea under *Fusarium oxysporum* stress condition. **BMC plant biology**, v. 20, n. 1, p. 1-23, 2020.

CHEN, C.; CHEN, Z. Potentiation of developmentally regulated plant defense response by AtWRKY18, a pathogen-induced Arabidopsis transcription factor. **Plant physiology**, v. 129, n. 2, p. 706-716, 2002.

CHEN, Y. L.; LEE, C. Y.; CHENG, K. T.; CHANG, W. H.; HUANG, R. N.; NAM, H. G.; CHEN, Y. R. Quantitative peptidomics study reveals that a wound-induced peptide from PR-1 regulates immune signaling in tomato. **The Plant Cell**, v. 26, n. 10, p. 4135-4148, 2014.

CHEN, F.; HU, Y.; VANNOZZI, A.; WU, K.; CAI, H.; QIN, Y.; ZHANG, L. The WRKY transcription factor family in model plants and crops. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 36, n. 5-6, p. 311-335, 2017.

CHEN, L.; SUN, D.; ZHANG, X.; SHAO, D.; LU, Y.; AN, Y. Transcriptome analysis of yellow passion fruit in response to cucumber mosaic virus infection. **PloS one**, v. 16, 2021.

CHIAPELLO, M.; DAS, D.; GUTJAHR, C. Ramf: an open-source R package for statistical analysis and display of quantitative root colonization by arbuscular mycorrhiza fungi. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1184, 2019.

CHISHOLM, S. T.; COAKER, G.; DAY, B.; STASKAWICZ, B. J. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. **Cell**, 124(4), 803-814, 2006.

CHOI, J.; SUMMERS, W.; PASZKOWSKI, U. Mecanismos subjacentes ao estabelecimento de simbioses micorrízicas arbusculares. **Revisão Anual de Fitopatologia**, v. 56, p. 135-160, 2018.

CHU, E.Y.; ENDO, T.; STELN, R.L.H.; ALBUQUERQUE, F.C. Avaliação da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares sobre a incidência da fusariose da pimenta-do-reino. **Fitopatologia brasileira**, 22: 205-208, 1997.

COELHO, I. R.; CAVALCANTE, U. M. T.; CAMPOS, M. A. S.; SILVA, F. S. B. Uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na promoção do crescimento de mudas de pinheira (*Annonas quamosa* L., Annonaceae). **Acta Botânica Brasílica**, v.26, p.933-937, 2012.

CONINCK, B. M.; SELS, J.; VENMANS, E.; THYS, W.; GODERIS, I. J.; CARRON, D.; MATHYS, J. Arabidopsis thaliana plant defensin AtPDF1. 1 is involved in the plant response to biotic stress. **New Phytologist**, v. 187, n. 4, p. 1075-1088, 2010.

CONWAY, M. gsheets: download Google sheets using just the URL. R **package version** 0.4. 5, 2020.

CORDIER, C.; POZO, M. J.; BAREA, J. M.; GODEAS, A.; GIANINAZZI, S. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 9(7), 662–668, 1996.

CRESTANI, O. A.; KITAJIMA, E. W.; LIN, M. T.; MARINHO, V. L. A. Passion fruit yellow mosaic virus, a new tymovirus found in Brazil. **Phytopathology**, v. 76, n. 9, p. 951-955, 1986.

CUI, J.; JIANG, N.; MENG, J.; HOU, X.; YANG, G.; LUAN, Y. Identification and characterization of defensin genes conferring *Phytophthora infestans* resistance in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 103, p. 28-35, 2018.

DALPÉ, Y., SÉGUIN, S. M. Microwave-assisted technology for the clearing and staining of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. **Mycorrhiza**, v.23, n.4, p. 333-340, mai. 2013.

DANGL, J. L.; JONES, J. D. G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. **Nature**, v.411, p.826-833. jun. 2001.

DANGL, J. L.; HORVATH, D. M.; STASKAWICZ, B. J. Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. **Science**, 341(6147), 746-751, 2013.

DEMIR, S.; ŞENSOY, S.; OCAK, E.; TÜFENKÇİ, Ş.; DURAK, E. D.; ERDINC, C.; ÜNSAL, H. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus, humic acid, and whey on wilt disease caused by *Verticillium dahliae* Kleb. in three solanaceous crops. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 39, n. 2, p. 300-309, 2015.

DEHARIYA, K.; SHUKLA, A.; SHEIKH, I. A.; VYAS, D. Trichoderma and arbuscular mycorrhizal fungi based biocontrol of *Fusarium udum* butler and their growth promotion effects on pigeon pea. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 505-517, 2015.

DEVI, E. L.; KUMAR, S.; SINGH, T. B.; SHARMA, S. K.; BEEMROTE, A.; DEVI, C. P.; WANI, S. H. Adaptation strategies and defence mechanisms of plants during environmental stress. **Medicinal plants and environmental challenges**, p. 359-413, 2017.

DI BONITO, R.; ELLIOTT, M. L.; DES JARDIN, E. A. Detection of an arbuscular mycorrhizal fungus in roots of different plant species with the PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 7, p. 2809-2810, 1995.

DING, Z.; YANG, L.; WANG, G.; GUO, L.; LIU, L.; WANG, J.; HUANG, J. Fusaric acid is a virulence factor of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* on banana plantlets. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, p. 297-305, 2018.

DONG, J.; CHEN, C.; CHEN, Z. Expression profiles of the Arabidopsis WRKY gene superfamily during plant defense response. **Plant molecular biology**, v. 51, p. 21-37, 2003.

DOWARAH, B.; GILL, S. S.; AGARWALA, N. Arbuscular mycorrhizal fungi in conferring tolerance to biotic stresses in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, 1-16, 2021.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L.. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**, 1987.

DU, Y. X.; SHI, N. N.; CHEN, W. L.; RUAN, H. C.; YANG, X. J.; GAN, L.; CHEN, F. R. Identification of *Colletotrichum brevisporum* causing anthracnose on passion fruit. **Canadian journal of plant pathology**, v. 39, n. 4, p. 527-532, 2017.

DUFFY, B. K.; DÉFAGO, G. Zinc improves biocontrol of *Fusarium* crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorescens* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. **Phytopathology**, v. 87, n. 12, p. 1250-1257, 1997.

DURET, M.; ZHAN, X.; BELVAL, L.; LE JEUNE, C.; HUSSENET, R.; LALOUE, H.; VALAT, L. Use of a RT-qPCR Method to Estimate Mycorrhization Intensity and Symbiosis Vitality in Grapevine Plants Inoculated with *Rhizophagus irregularis*. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 3237, 2023.

EKE, P.; CHATUE, G. C.; WAKAM, L. N.; KOUIPOU, R. M. T.; FOKOU, P. V. T.; BOYOM, F. F. Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (*Fusarium solanif. sp. phaseoli*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Biological Control**, v. 103, p. 240-250, 2016.

EPPEL, P.; APEL, K.; BOHLMANN, H. Overexpression of an endogenous thionin enhances resistance of Arabidopsis against *Fusarium oxysporum*. **The Plant Cell** 9(4): 509-520, 1997.

ESKOLA, M.; KOS, G.; ELLIOT, C.T.; HAJSLOVA, J.; MAYAR, S.; KRSKA, R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2020.

EULGEM, T. Dissecting the WRKY Web of Plant Defense Regulators. **Plos pathogens** 2(11): e126, 2006.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; DE JESUS, O. N.; MACHADO, C. D. F.; ROSA, R.; COSTA, A.; JUNGHANS, T. **Maracuyá: *Passiflora edulis* Sims**. In: CARLOSOMA, A. R.; FALEIRO, F. G.; MORERA, M. P.; COSTA, A. M. (Ed.). Pasifloras: especies cultivadas en el mundo. Brasília, DF: ProImpress: Cepass, 2020.

FELFÖLDI, Z.; VIDICAN, R.; STOIAN, V.; ROMAN, I. A.; SESTRAS, A. F.; RUSU, T.; SESTRAS, R. E. Arbuscular mycorrhizal fungi and fertilization influence yield, growth and root colonization of different tomato genotype. **Plants**, v. 11, n. 13, p. 1743, 2022.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes. pt: pacote experimental designs (Portugues). **R package version**, v. 1, n. 2, 2021.

FILHO, J. A. V.; LIMA, K. B.; FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A.; OLIVARES, F. L. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 34, 442-450, 2012.

FILION, M.; ST-ARNAUD, M.; JABAHI-HARE, S. H. Direct quantification of fungal DNA from soil substrate using real-time PCR. **Journal of microbiological methods**, v. 53, n. 1, p. 67-76, 2003.

FLORES, P. S. Filtrado de culturas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* ácido fusárico na seleção in vitro de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) – Viçosa, MG, 2008.

FLORES, P. S.; OTONI, W. C.; DHINGRA, O. D.; SOUZA DINIZ, S. P. S.; SANTOS, T. M. D.; BRUCKNER, C. H. In vitro selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to *Fusarium* vascular wilt. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 108, n. 1, p. 37-45, 2012.

FORDE, B. G.; ROBERTS, M. R. Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence?. **F1000prime reports**, v. 6, 2014.

FRACCHIA, S.; GARCIA-ROMERA, I.; GODEAS, A.; OCAMPO, J. A. Effect of the saprophytic fungus *Fusarium oxysporum* on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of plants in greenhouse and field trials. **Plant and Soil**, v. 223, n. 1-2, p. 177-186, 2000.

GAMIR, J.; DARWICHE, R.; VAN'T HOF, P.; CHOUDHARY, V.; STUMPE, M.; SCHNEITER, R.; MAUCH, F. The sterol-binding activity of PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 1 reveals the mode of action of an antimicrobial protein. **The Plant Journal**, v. 89, n. 3, p. 502-509, 2017.

GAMPER, H. A.; YOUNG, J. P. W.; JONES, D. L.; HODGE, A. Real-time PCR and microscopy: are the two methods measuring the same unit of arbuscular mycorrhizal fungal abundance?. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 5, p. 581-596, 2008.

GAO, Y. F.; LIU, J. K.; YANG, F. M.; ZHANG, G. Y.; WANG, D.; ZHANG, L.; YAO, Y. A. The WRKY transcription factor WRKY8 promotes resistance to pathogen infection and mediates drought and salt stress tolerance in *Solanum lycopersicum*. **Physiologia plantarum**, v. 168, n. 1, p. 98-117, 2020.

GARCIA-ROMERA, I.; GARCIA-GARRIDO, J. M.; MARTIN, J.; FRACCHIA, S.; MUJICA, M. T.; GODEAS, A.; OCAMPO, J. A. Interactions between saprotrophic *Fusarium* strains and arbuscular mycorrhizas of soybean plants. **Symbiosis**, 1998.

GAZZONI, D. L. **Plantas que os polinizadores gostam**. Páginas: p. 457-459. In: SEKINE, E. S. et al., *Passiflora edulis*. Brasília, DF: Embrapa, 2022.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. Hs. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GHORBEL, M.; ZRIBI, I.; MISSAOUI, K.; DRIRA-FAKHFEKH, M.; AZZOUZI, B.; BRINI, F. Differential regulation of the durum wheat Pathogenesis-related protein (PR1) by Calmodulin TdCaM1. 3 protein. **Molecular Biology Reports**, v. 48, p. 347-362, 2021.

GIL, J.G.R.; AGUDELO, M.M.; BEDOYA, L.O.; OSORIO, N.W.; OSORIO, J.G.M. Germinação e crescimento de mudas de maracujazeiro roxo submetidas a tratamentos pré-germinativos e inoculação micorrízica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 3, 2015.

GILBERT, B.; ALVES, L. F.; FAVORETO, R. F. *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata*. In: Monografias de Plantas Medicinais Brasileiras e Aclimatadas: Volume II [online]. Rio de Janeiro: Abifisa; Editora **FIOCRUZ**, 2022.

GIOVANNETTI, M; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New phytologist**, p. 489-500, 1980.

GOMES FILHO, J.; SANTOS, E. B.S.; AMORIM, E. P. R. Controle da fusariose (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) em pimenta-do-reino cv. Bragantina com extratos brutos aquosos e fungicida. **Summa Phytopathologica**, v. 46, p. 49-52, 2020.

GORDON-WEEKS, R.; SUGARS, J. M.; ANTONIW, J. F.; WHITE, R. F. Accumulation of a novel PR1 protein in *Nicotiana langsdorfii* leaves in response to virus infection or treatment with salicylic acid. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 50, n. 4, p. 263-273, 1997.

GRANT, S. R.; FISHER, E. J.; CHANG, J. H.; MOLE, B. M.; DANGL, J. L. Subterfuge and manipulation: type III effector proteins of phytopathogenic bacteria. **Annual review of microbiology**, v.60, p. 425-49, 2006.

GUO, R.; YU, F.; GAO, Z.; AN, H.; CAO, X.; GUO, X. GhWRKY3, a novel cotton (*Gossypium hirsutum* L.) WRKY gene, is involved in diverse stress responses. **Molecular biology reports**, v. 38, p. 49-58, 2011.

GUO, J.; BAI, Y.; WEI, Y.; DONG, Y.; ZENG, H.; REITER, R. J.; SHI, H. Fine-tuning of pathogenesis-related protein 1 (PR1) activity by the melatonin biosynthetic enzyme ASMT2 in defense response to cassava bacterial blight. **Journal of pineal research**, v. 72, n. 2, p. e12784, 2022.

HAEGI, A.; CATALANO, V.; LUONGO, L.; VITALE, S.; SCOTTON, M.; FICCADENTI, N.; BELISARIO, A. A newly developed real-time PCR assay for detection and quantification of *Fusarium oxysporum* and its use in compatible and incompatible interactions with grafted melon genotypes. **Phytopathology**, v. 103, n. 8, p. 802-810, 2013.

HAGE-AHMED, K.; MOYSES, A.; VOGLGRUBER, A.; HADACEK, F.; STEINKELLNER, S. Alterations in Root exudation of intercropped tomato mediated by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the soilborne pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Journal of Phytopathology**, v. 161, n. 11-12, p. 763-773, 2013.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. Plant disease resistance genes. **Annual review of plant biology**, 48(1), 575-607, 1997.

HASHEM, A.; AKHTER, A.; ALQARAWI, A. A.; SINGH, G.; ALMUTAIRI, K. F.; ABD_ALLAH, E. F. Mycorrhizal fungi induced activation of tomato defense system mitigates *Fusarium* wilt stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 10, p. 5442-5450, 2021.

HELLER, W. P.; CARRARA, J. E. Multiplex qPCR assays to distinguish individual species of arbuscular mycorrhizal fungi from roots and soil. **Mycorrhiza**, v. 32, n. 2, p. 155-164, 2022.

HEWINS, C. R.; CARRINO-KYKER, S. R.; BURKE, D. J. Seasonal variation in mycorrhizal fungi colonizing roots of *Allium tricoccum* (wild leek) in a mature mixed hardwood forest. **Mycorrhiza**, v. 25, n. 6, p. 469-483, 2015.

HINDORF, H. *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of tropical crops. In: II ISHS **Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics** 531. p. 275-282, 1999.

HU, J. L.; LIN, X. G.; WANG, J. H.; SHEN, W.S.; WU, S.; PENG, S. P.; MAO, T.T. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation enhances suppression of cucumber *Fusarium* wilt in greenhouse soils. **Pedosphere**, v. 20, n. 5, p. 586-593, 2010.

HUANG, X.; LU, X. Y.; ZHAO, J. T.; CHEN, J. K.; DAI, X. M.; XIAO, W.; HUANG, X. L. MaSERK1 gene expression associated with somatic embryogenic competence and disease resistance response in banana (*Musa* spp.). **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 28, p. 309-316, 2010.

HUANG, P.; JU, H. W.; MIN, J. H.; ZHANG, X.; KIM, S. H.; YANG, K. Y.; KIM, C. S. Overexpression of L-type lectin-like protein kinase 1 confers pathogen resistance and regulates salinity response in *Arabidopsis thaliana*. **Plant science**, v. 203, p. 98-106, 2013.

HUANG, C. From player to pawn: Viral avirulence factors involved in plant immunity. **Viruses**, v. 13, n. 4, p. 688, 2021.

IBGE – **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA**. Produção agropecuária de maracujá, 2022.

ICHIDA, A. K. Repositório Digipathos Base de Imagens de Sintomas de Doenças de Plantas PDDB. **Maracujá – Antracnose**, 2018. Recuperado de <https://www.digipathos-rep.cnptia.embrapa.br/jspui/handle/123456789/999>

ISHIDA, A. K. N.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Mancha-bacteriana do maracujazeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*): etiologia e estratégias de controle. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2009.

ISLAM, M. M.; EL-SAPPAH, A. H.; ALI, H. M.; ZANDI, P.; HUANG, Q.; SOAUD, S. A.; LIANG, Y. Pathogenesis-related proteins (PRs) countering environmental stress in plants: A review. **South African Journal of Botany**, v. 160, p. 414-427, 2023.

ISMAIL, Y.; MCCORMICK, S.; HIJRI, M. A fungal symbiont of plant-roots modulates mycotoxin gene expression in the pathogen *Fusarium sambucinum*. **PloS one**, v. 6, n. 3, p. e17990, 2011.

ISMAIL, Y.; MCCORMICK, S.; HIJRI, M. The arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus irregulare*, controls the mycotoxin production of *Fusarium sambucinum* in the pathogenesis of potato. **FEMS microbiology letters**, 348(1), 46-51, 2013.

JAIN, D.; KHURANA, J. P. Role of pathogenesis-related (PR) proteins in plant defense mechanism. **Molecular aspects of plant-pathogen interaction**, p. 265-281, 2018.

JALALI, B.L.; BHARGAVA, S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defense responses. **J. Phytopathol.** 154: 65-74, 2006.

JENKINS, W. R. B. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant disease reporter**, v. 48, n. 9, 1964.

Ji, F.; HE, D.; OLANIRAN, A. O.; MOKOENA, M. P.; XU, J.; SHI, J. Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: A review. **Food Production, Processing and Nutrition**, 1(1), 1-14, 2019.

JIANG, C., SHEN, Q. J., WANG, B., HE, B., XIAO, S., CHEN, L., YU, T., KE, X., ZHONG, Q., FU, J., CHEN, Y., WHANG, L., YIN, F., ZHANG, D., GHIDAN, W., HUANG, X., CHENG, Z. Transcriptome analysis of WRKY gene family in *Oryza officinalis* Wall ex Watt and WRKY genes involved in responses to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* stress. **PlosOne**. 12(11), e0188742, 2017.

JIAO, J.; ZHOU, B.; ZHU, X.; GAO, Z.; LIANG, Y. Fusaric acid induction of programmed cell death modulated through nitric oxide signalling in tobacco suspension cells. **Planta**, 238(4), 727-737, 2013.

JIBRIL, S. M. et al. Plant and pathogens: pathogen recognition, invasion and plant defense mechanism. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 6, p. 247-257, 2016.

JIE, W.; BAI, L.; YU, W.; CAI, B. Analysis of interspecific relationships between *Funneliformis mosseae* and *Fusarium oxysporum* in the continuous cropping of soybean rhizosphere soil during the branching period. **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 9, p. 1036-1051, 2015.

JOA, J. H.; CHOI, I. Y.; CHOI, M. K.; HEO, B. S.; JANG, J. O.; SHIN, H. D. Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* on passionfruit in Korea. **Research in Plant Disease**, v. 24, n. 1, p. 75-80, 2018.

JOHANSSON, J. F.; PAUL, L. R.; FINLAY, R. D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. **FEMS microbiology ecology**, v. 48, n. 1, p. 1-13, 2004.

JONES, J. D.; DANGL, J. L. The plant immune system. **nature**, v. 444, n. 7117, p. 323-329, 2006.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. Plant systematics: a phylogenetic approach. **Ecología mediterránea**, v. 25, n. 2, p. 215, 1999.

JÚNIOR, H. J.; FISCHER, I. H.; CAMARA, M. P. S.; JÚNIOR, N. S. First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 5, n. 1, p. 70-72, 2010.

KATO, E. T. M. Leaf and stem morphoanatomy of *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 2, p. 233-239, 2010.

KEYMER, A.; PIMPRIKAR, P.; WEWER, V.; HUBER, C.; BRANDS, M.; BUCERIUS, S. L.; GUTJAHR, C. Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. **elife**, v. 6, p. e29107, 2017.

KHAN, M.; ZHANG, Y.; LIU, Z.; HU, J.; LIU, C.; YANG, S.; HE, S. CaWRKY40b in pepper acts as a negative regulator in response to *Ralstonia solanacearum* by directly modulating defense genes including CaWRKY40. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, p. 1403, 2018.

KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M.; RODRIGUES, J. C. V. Passion fruit green spot virus vectored by *Brevipalpusphoenicis*(Acari: Tenuipalpidae) on passion fruit in Brazil. **Experimental & applied acarology**, v. 30, n. 1, p. 225-231, 2003.

KOKKORIS, V.; POGIATZIS, A.; HART, M. M. Contrasting common measures of arbuscular mycorrhizal fungal root colonization. **Journal of microbiological methods**, v. 167, p. 105727, 2019.

LACERDA, A. F.; VASCONCELOS, É. A.; PELEGRINI, P. B.; GROSSI DE SA, M. F. Antifungal defensins and their role in plant defense. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 116, 2014.

LAI, Z.; VINOD, K. M.; ZHENG, Z.; FAN, B.; CHEN, Z. Roles of Arabidopsis WRKY3 and WRKY4 transcription factors in plant responses to pathogens. *BMC plantbiology*, 8, 1-13, 2008.

LARANJEIRA, F.F.; LIMA, G.S.; LIMA, L.K.S.; GIRARDI, E.A.; JESUS, O.N. Fusariose do maracujazeiro: etiologia, epidemiologia e estratégias de manejo.Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil. In: Lopes, U.P.; Michereff, S.I.J. (Ed.) Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. 1 ed. Recife: **EDUFRPE**. 208p., 2018.

LAY, F. T.; ANDERSON, M. A. Defensins-components of the innate immune system in plants. **Current protein and peptide science**, v. 6, n. 1, p. 85-101, 2005.

LAY, F. T.; POON, S.; MCKENNA, J. A.; CONNELLY, A. A.; BARBETA, B. L.; MCGINNESS, B. S.; ANDERSON, M. A. The C-terminal propeptide of a plant defensin confers cytoprotective and subcellular targeting functions. **BMCplantbiology**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2014.

LEAL, P. L.; MARTINS, M. A.; RODRIGUES, L. A.; SCHIAVO, J. A. Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira micorrizadas em diferentes recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.1, 84-87. 2005.

LEUBNER-METZGER, G.; MEINS, F. Functionsandregulationofplant β - (PR-2). Pathogenesis-Related Proteins in Plants; **CRC Press: Boca Raton, FL, USA**, 1999.

LI, Z.T.; DHEKNEY, S.A.; GRAY, D.J. PR-1 gene family of grapevine: a uniquely duplicated PR-1 gene from a *Vitis* interspecific hybrid confers high level resistance to bacterial disease in transgenic tobacco. *Plant Cell Reports*, **30**, 1–11, 2011.

LI, Y.; LI, Q.; GUO, G.; HE, T.; GAO, R.; FAHEEM, M.; LIU, C. Transient overexpression of HvSERK2 improves barley resistance to powdery

mildew. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 4, p. 1226, 2018.

LI, S.; HAI, J.; WANG, Z.; DENG, J.; LIANG, T.; SU, L.; LIU, D. *Lilium regale* Wilson WRKY2 regulates chitinase gene expression during the response to the root rot pathogen *fusarium oxysporum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 741463, 2021.

LI, Y.; JIAO, C.; WEI, Z.; CHAI, S.; JIA, H.; GAO, M.; WANG, X. Analysis of Grapevine's Somatic Embryogenesis Receptor Kinase (SERK) Gene Family: VqSERK3/BAK1 Overexpression Enhances Disease Resistance. **Phytopathology**, v. 112, n. 5, p. 1081-1092, 2022.

LIBERATO, J. R.; COSTA, H. Doenças fúngicas, bacterianas e fitonematóides. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Eds.). Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Porto Alegre: **Cinco continentes**, p.243-245, 2001.

LIU, X. Q.; BAI, X. Q.; QIAN, Q.; WANG, X. J.; CHEN, M. S.; CHU, C. C. OsWRKY03, a rice transcriptional activator that functions in defense signaling pathway upstream of OsNPR1. **Cell Research**, 15(8), 593-603, 2005.

LIU, X.; BAI, X.; WANG, X.; CHU, C. OsWRKY71, a rice transcriptionfactor, isinvolved in rice defense response. **Journal of plant physiology**, v. 164, n. 8, p. 969-979, 2007.

LÓPEZ-DÍAZ, C.; RAHJOO, V.; SULYOK, M.; GHIONNA, V.; MARTÍN-VICENTE, A.; CAPILLA, J.; LÓPEZ-BERGES, M. S. Fusaric acid contributes to virulence of *Fusarium oxysporum* on plant and mammalian hosts. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 2, p. 440-453, 2018.

LV, H.; LU, J.; HUANG, Y.; WANG, M.; YAN, C.; BIE, Z. Priming Watermelon Resistance by Activating Physiological Response and Defense Gene Expression to Alleviate *Fusarium* Wilt in Wheat-Watermelon Intercropping. **Horticulturae**, v. 9, n. 1, p. 27, 2022.

MACHADO, C. D. F.; FALEIRO, F. G.; SANTOS FILHO, H. P.; FANCELLI, M.; CARVALHO, R. D. S.; RITZINGER, C.; de NOVAES, Q. S. **Guia de identificação e controle de pragas na cultura do maracujazeiro**, 2017.

MANDADI, K.K.; SCHOLTHOF, K.B. Respostas imunes de plantas contra vírus: como um vírus causa doenças?.**Plant Cell**, 25 , 1489–1505, 2013.

MAO, Y.; JIANG, B.; PENG, Q.; LIU, W.; LIN, Y.; XIE, D.; LI, S. Cloning and characterization of WRKY gene homologs in Chieh-qua (*Benincasahispida*Cogn. var. Chieh-qua How) and their expression in response to fusaric acid treatment. **3 Biotech**, v. 7, p. 1-10, 2017.

MARIN, S.; RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food and Chemical Toxicology**: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association., 60, 218–237. 2013.

MARQUEZ, N.; GIACHERO, M. L.; GALLOU, A.; DEBAT, H. J.; DECLERCK, S.; DUCASSE, D. A. Transcriptome analysis of mycorrhizal and nonmycorrhizal soybean plantlets upon infection with *Fusarium virguliforme*, one causal agent of sudden death syndrome. **Plant Pathology**, v. 68, n. 3, p. 470-480, 2018.

MAROSTEGA, T. N.; LARA, L. P.; OLIVEIRA, D. S.; CHIMELLO, A. M.; GILIO, T. A. S.; PREISIGKE, S. D. C.; NEVES, L. G..Molecular and aggressiveness characterization of isolates of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* sp. passiflorae associated to passion fruit wilting. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 3, p. 407-420, 2019.

MARSHAL, O.J. PerlPrimer: cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. **Bioinformatics**: 20(15):2471-2472, 2004.

MARTINS-MIRANDA, A. S. Atividade de enzimas relacionadas com estresses bióticos e abióticos em plântulas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata*(L.) Walp.] expostas à salinidade e deficiência hídrica. 85f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

MATSUBARA, Y.; OHBA, N.; FUKUI, H. Effect of arbuscular mycorrhizal fungus infection on the incidence of *Fusarium* root rot in asparagus seedlings. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 70, n. 2, p. 202-206, 2001.

MCALLISTER, C. Á.; GARCIA-ROMERA, I.; GODEAS, A.; OCAMPO, J. A. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 10, p. 1363-1367, 1994.

MEDDAD-HAMZA, A.; BENZINA, F.; MEDDAD, C.; HAMZA, N.; REGHMIT, A; ZIANE, H.; KSENTINI, H. Controle biológico de fungos micorrízicos arbusculares e *Trichoderma harzianum* contra *Fusarium oxysporum* e *Verticillium dahliae* induzindo murcha em tomateiro. **Jornal Egípcio de Controle Biológico de Pragas** , v. 1, pág. 91, 2023.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p. 83-91, 2011.

MIAO, W.; GE, L.; WANG, Y.; LI, S.; SUN, D.; LIU, Y.; ZHAO, S. Overexpression of CmWRKY8-1–VP64 Fusion Protein reduces resistance in response to *Fusarium oxysporum* by modulating the salicylic Acid Signaling

Pathway in *Chrysanthemum morifolium*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3499, 2023.

MILLER, G. Protein tyrosine phosphatases: emerging regulators of apoptosis. **Cell Cycle**, 7(24), 3820-3825, 2008.

MCGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. **New phytologist**, v. 115, n. 3, p. 495-501, 1990.

MISHRA, R. K.; PANDEY, B. K.; SINGH, V.; MATHEW, A. J.; PATHAK, N.; ZEESHAN, M. Molecular detection and genotyping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *psidii* isolates from different agro-ecological regions of India. **Journal of Microbiology**, v. 51, p. 405-412, 2013.

MIYA, A.; ALBERT, P.; SHINYA, T.; DESAKI, Y.; ICHIMURA, K.; SHIRASU, K.; SHIBUYA, N. CerK1, a lysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.104, n.49, p.19613- 19618, dec., 2007.

MONAGHAN, J.; ZIPFEL, C. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. **Current opinion in plantbiology**, v. 15, n. 4, p. 349-357, 2012.

MUNHOZ, C.F.; WEISS, B.; HANAI, L.R.; ZUCCHI, M.I.; FUNGARO, M.H.P.; OLIVEIRA, A.L.M.; VIEIRA, M.L.C. Genetic diversity and a PCR-based method for *Xanthomonas axonopodis* detection in passionfruit. **Phytopathology**, v. 101, n. 4, pág. 416-424, 2011.

MUNIZ, B.C.; FALCÃO, E.L.; MONTEIRO, R.P.; SANTOS, E.L.; BASTOS FILHO, C.J.A.; DA SILVA, F.S.B. *Acaulospora longula* Spain & NC Schenck: Um bioinsumo de baixo custo para otimizar a produção de fenólicos e saponinas em *Passiflora alata* Curtis. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 167, p. 113498, 2021.

MZID, R.; MARCHIVE, C.; BLANCARD, D.; DELUC, L.; BARRIEU, F.; CORIO-COSTET, M.-F.; HAMDI, S. Overexpression of VvWRKY2 in tobacco enhances broad resistance to necrotrophic fungal pathogens. **Physiologia Plantarum**, 131(3), 434–447, 2007.

NAHIYAN, A. S. M.; MATSUBARA, Y. I. Tolerance to *Fusarium* root rot and changes in antioxidative ability in mycorrhizal asparagus plants. **HortScience**, v. 47, n. 3, p. 356-360, 2012.

NEUHAUS, J. M. Plant chitinases (PR-3, PR-4, PR-8, PR-11). **The Chitin System**, 153-166, 1999

NEWMAN, M.A.; SUNDELIN, T.; NIELSEN, J.T.; ERBS, G. MAMP (microbe-associated molecular pattern) triggered immunity in plants. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 139, 2013.

NIDERMAN, T.; GENETET, I.; BRUYÈRE, T.; GEES, R.; STINTZI, A.; LEGRAND, M.; FRITIG, B.; MÖSINGER, E. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal. Isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. **Plant Physiology** 108: 17-27, 1995.

NIKI, T.; MITSUHARA, I.; SEO, S.; OHTSUBO, N.; OHASHI, Y. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. **Plant Cell Physiol.**, 1998.

NISHAD, R. et al. Modulation of plant defense system in response to microbial interactions. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1298, 2020.

OH, S. K.; BAEK, K. H.; PARK, J. M.; YI, S. Y.; YU, S. H.; KAMOUN, S.; CHOI, D. *Capsicum annuum* WRKY protein CaWRKY1 is a negative regulator of pathogen defense. **New Phytologist**, v. 177, n. 4, p. 977-989, 2008.

OLIVEIRA, M.S.; CAMPOS, M.A.; SILVA, F.S. Fungos micorrízicos arbusculares e vermicomposto para maximizar a produção de biomoléculas foliares em mudas de *Passiflora alata* Curtis. **Revista da Ciência da Alimentação e Agricultura**, v. 95, n. 3, pág. 522-528, 2015.

OLIVEIRA, P. T. F.; DOS SANTOS, E. L.; DA SILVA, W. A. V.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; DA SILVA, F. A.; DA SILVA, F. S. B. Production of biomolecules of interest to the anxiolytic herbal medicine industry in yellow passionfruit leaves (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) promoted by mycorrhizal inoculation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 7, p. 3716-3720, 2019.

PARISI, K.; SHAFEE, T. M.; QUIMBAR, P.; VAN DER WEERDEN, N. L.; BLEACKLEY, M. R.; ANDERSON, M. A. The evolution, function and mechanisms of action for plant defensins. In: Seminars in cell & developmental biology. **Academic Press**, 2018. p. 107-118.

PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. **Fisiologia do parasitismo**: Como os patógenos atacam as plantas. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos, 1, 2018.

PELEGRINI, P. B.; LAY, F. T.; MURAD, A. M.; ANDERSON, M. A.; FRANCO, O. L. Novel insights on the mechanism of action of α -amylase inhibitors from the plant defensin family. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 73, n. 3, p. 719-729, 2008.

PERINCHERRY, L.; LALAK-KAŃCZUGOWSKA, J.; STĘPIEŃ, Ł. Fusarium-produced mycotoxins in plant-pathogen interactions. **Toxins**, v. 11, n. 11, p. 664, 2019.

PFAFFL, M. W.; HORGAN, G. W.; DEMPFFLE, L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. **Nucleicacidsresearch**, v. 30, n. 9, p. e36-e36, 2002.

PIO-RIBEIRO, G; MARIANO, R. L. R. Doenças do maracujazeiro. in: H. Kimati; L. Amorim; A. Bergamim Filho; L. E. A. Camargo & J. A. M. (eds.) Manual de fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas. vol 2, 3^a ed., 774p., 1997.

POLLARD, A. T.; OKUBARA, P. A. Real-time PCR quantification of *Fusarium avenaceum* in soil and seeds. **Journal of microbiological methods**, v. 157, p. 21-30, 2019.

PRITSCH, C.; MUEHLBAUER, G. J.; BUSHNELL, W. R.; SOMERS, D. A.; VANCE, C. P. Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 13, n. 2, p. 159-169, 2000.

PRIYADARSHINI, P.; SAHU, S.; KALWAN, G.; YADAVA, Y. K.; NAGAR, R.; RAI, V.; JAIN, P. K. Unravelling the mechanism of Fusarium wilt resistance in chickpea seedlings using biochemical studies and expression analysis of NBS-LRR and WRKY genes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 124, p. 101958, 2023.

PRIYANKA, K.; DUBEY, S. C.; SINGH, A. K. Conventional and real-time PCR assays for specific detection and quantification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in plants using intergenic spacer region-based marker. **Biologia**, v. 70, n. 3, p. 314-319, 2015.

PRYOR, T.; ELLIS, J. The genetic complexity of fungal resistance genes in plants. **Advances in Plant Pathology**, v. 10, p. 281-305, 1993.

PTASHNE, M. Genetic Switch: Phage Lambda and Higher Organisms. Editora: **Cell Press**, 1988.

QI, H.; YU, J.; YUAN, X.; SHEN, W.; ZHANG, Z. The somatic embryogenesis receptor kinase TaSERK1 participates in the immune response to *Rhizoctonia cerealis* infection by interacting and phosphorylating the receptor-like cytoplasmic kinase TaRLCK1B in wheat. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 228, p. 604-614, 2023.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2016.

RASHAD, Y. M.; FEKRY, W. M.; SLEEM, M. M.; ELAZAB, N. T. Effects of mycorrhizal colonization on transcriptional expression of the responsive factor JERF3 and stress-responsive genes in banana plantlets in response to combined biotic and abiotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 742628, 2021.

RAUSCHER, M.; ÁDÁM, A.L.; WIRTZ, S.; GUGGENHEIM, R.; MENDGEN, K.; DEISING, H.B. PR-1 protein inhibits the differentiation of rust infection hyphae in leaves of acquired resistant broad bean. **The Plant Journal** 19(6): 625-633, 1999.

REIS, L. C.; FORESTI, A. C.; RODRIGUES, E. T. Desempenho de cultivares de maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) no sistema de produção orgânico. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 117, 2018.

REMENYI, A.; SCHOLER, H.; WILMANN, M. Combinatorial control of gene expression. **Nature Structural and Molecular Biology**, v. 11, p. 812–815, 2004.

REN, L.; LOU, Y.; SAKAMOTO, K.; INUBUSHI, K.; AMEMIYA, Y.; SHEN, Q.; XU, G. Effects of arbuscular mycorrhizal colonization on microbial community in rhizosphere soil and Fusarium wilt disease in tomato. *Communications in soil science and plant analysis*, 41(11), 1399-1410, 2010.

RIAÑO-PACHÓN, D. M.; RUZICIC, S.; DREYER, I.; MUELLER-ROEBER, B. PlnTFDB: an integrative plant transcription factor database. **BMC bioinformatics**, v. 8, n. 1, p. 42, 2007.

RODRIGUES, A. A. C.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 492-499, 2006.

RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J. C. D.; RUGGIERO, C.; NOGUEIRA FILHO, G. C.; CENTURION, M. A. P.; FERREIRA, F. R. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 552-554, 2004.

RUSHTON, P.J.; SOMSSICH, I.E.; RINGLER, P.; SHEN, Q.J. Fatores de transcrição WRKY. **Trends Plant Sci** 15: 247- 58, 2010.

SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; SILVA, E.M.R. Micorriza Arbuscular: Papel, funcionamento e aplicação da simbiose. **Miolo Biota**, v. 12, n. 32, p. 101-150, 2005.

SAITO, M. S. G. O vírus da pinta verde do maracujazeiro (passionfruit green spot virus-PfGSV), isolado de ligustro: suas relações com o ácaro vetor *Brevipalpus*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2020.

SAKALEM, M. E.; NEGRI, G.; TABACH, R. Chemical composition of hydroethanolic extracts from five species of the *Passiflora* genus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 22, 1219-1232, 2012.

SANSEVERINO, W.; HERMOSO, A.; D'ALESSANDRO, R.; VLASOVA, A.; ANDOLFO, G.; FRUSCIANTE, L.; & ERCOLANO, M. R. PRGdb 2.0: towards a community-based database model for the analysis of R-genes in plants. **Nucleic acids research**, 41(D1), D1167-D1171, 2012.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; OLIVEIRA FREITAS, J. C.; LIMA E SILVA, F. H.; RODRIGUES, R.; EIRAS, M. Resistance to Cowpea aphid-borne mosaic virus in species and hybrids of *Passiflora*: advances for the control of the passion fruit woodiness disease in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 143, n. 1, p. 85-98, 2015.

SANTOS, P. C.; JESUS FREITAS, S. D.; FREITAS, M. S. M.; SOUSA, L. B. D.; CARVALHO, A. J. C. D. Produção de mudas do tipo rebentão, utilizando coroas de três cultivares de abacaxi inoculadas com fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 3, p.954-961, 2011.

SAROWAR, S.; KIM, E.N.; KIM, Y.J.; OK, S.H.; KIM, K.D.; HWANG, B.K. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhances tolerance to oxidative stress and pathogens. **Plant Science**, 169, 55-63, 2005.

SÃO JOSÉ, A.R.; PIRES, M.M. ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MARACUJÁ NO BRASIL. In: PIRES, M.M.; SÃO JOSÉ, A.R.; CONCEIÇÃO, A. O. Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade. Ilhéus: **Editus**. 237p. 13-21p, 2011.

SCHWESSINGER, B.; ZIPFEL, C. News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.11, n.4, p.389–395, 2008.

SEO, H. H.; Park, S.; Park, S.; Oh, B. J.; Back, K.; Han, O.; Kim, Y. S. Overexpression of a defensin enhances resistance to a fruit-specific anthracnose fungus in pepper. **PloS one**, v. 9, n. 5, p. e97936, 2014.

SESSA, G.; YANG, X. Q.; RAZ, V.; EYAL, Y.; FLUHR, R. Dark induction and subcellular localization of the pathogenesis-related PRB-1b protein. **Plant Molecular Biology**, v. 28, p. 537-547, 1995.

SHIMIZU, G.; MARUBAYASHI, R.; GONCALVES, L. _AgroR: Experimental Statistics and Graphics for Agricultural Sciences_. R package version 1.3.4, <<https://CRAN.R-project.org/package=AgroR>>, 2023.

SHIN, S. H.; PAK, J. H.; KIM, M. J.; KIM, H. J.; OH, J. S.; CHOI, H. K.; CHUNG, Y. S. An acidic PATHOGENESIS-RELATED1 gene of *Oryza grandiglumis* is involved in disease resistance response against bacterial infection. **The plantpathologyjournal**, v. 30, n. 2, p. 208, 2014.

SILVA, T. F. B.; SANTOS, Á. B. D. S.; ROZAS, C. E. D. O.; DOS SANTOS, A. C.; PAIVA, L. M. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Caatinga**, 22(4), 1-6, 2009.

SILVA, E. M.; MELO, N. F.; MENDES, A. M. S.; DE ARAUJO, F. P.; MAIA, L. C.; YANO-MELO, A. M. Response of *Passiflora setacea* to mycorrhization and phosphate fertilization in a Semiarid Region of Brazil. **Journal of Plant Nutrition**, 38(3), 431-442, 2015.

SILVA, E.M.; MAIA, L.C.; MENEZES, K.M.S.; BRAGA, M.B.; MELO, N.D.; YANO-MELO, A.M. Disponibilidade hídrica e formação de propágulos de fungos micorrízicos arbusculares associados ao sorgo. **Ecologia Aplicada do Solo**, v. 94, p. 15-20, 2015.

SILVEIRA, S. V. D.; SOUZA, P. V. D. D.; KOLLER, O. C. Influência de fungos micorrízicosarbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 303-309, 2003.

SINGH, P.; KUO, Y. C.; MISHRA, S.; TSAI, C. H.; CHIEN, C. C.; CHEN, C. W.; ZIMMERLI, L. The lectin receptor kinase-VI. 2 is required for priming and positively regulates Arabidopsis pattern-triggered immunity. **The Plant Cell**, v. 24, n. 3, p. 1256-1270, 2012.

SINGH, V. K.; SINGH, H. B.; UPADHYAY, R. S. Role of fusaric acid in the development of 'Fusarium wilt' symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. **Plant physiologyandbiochemistry**, 118, 320-332, 2017.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. **Mycologia**, v. 104, n. 1, p. 1-13, 2012.

SONG, Y.; CHEN, D.; LU, K.; SUN, Z.; ZENG, R. Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 786, 2015.

SPAGNOLETTI, F.; CARMONA, M.; GÓMEZ, N. E. T.; CHIOCCHIO, V.; LAVADO, R. S. Arbuscular mycorrhiza reduces the negative effects of *M. phaseolina* on soybean plants in arsenic-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v. 121, p. 41-47, 2017.

- SPAGNOLETTI, F. N., CARMONA, M., BALESTRASSE, K., CHIOCCHIO, V., GIACOMETTI, R., & LAVADO, R. S. The arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus intraradices* reduces the root rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in wheat. **Rhizosphere**, v. 19, p. 100369, 2021.
- TAHARA, S.T.; MEHTA, A.; ROSATO, Y.B. Proteins induced by *Xanthomonas axonopodispv. passiflorae* with leaf extract of the host plant (*Passiflorae edulis*). **Proteomics**, v. 3, n. 1, p. 95-102, 2003.
- TANWAR, A.; AGGARWAL, A.; PANWAR, V.. Arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride* mediated *Fusarium* wilt control in tomato. **Biocontrol Science and Technology**, v. 23, n. 5, p. 485-498, 2013.
- TAVASOLEE, A.; ALIASGHARZAD, N.; SALEHI, G. R.; MARDI, M.; ASGHARZADEH, A.; AKBARIVALA, S. Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on fungal occupancy in chickpea root and nodule determined by real-time PCR. **Current microbiology**, v. 63, p. 107-114, 2011.
- TEHRANI, M. M.; ESFAHANI, M. N.; MOUSAVI, A.; MORTEZAIINEZHAD, F.; AZIMI, M. H. Regulation of related genes promoting resistant in Iris against root rot disease, *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. **Genomics**, v. 112, n. 5, p. 3013-3020, 2020.
- TEIXEIRA, L. M. Caracterização de isolados de *Fusarium oxysporum* e resistência de genótipos de *Passiflora* à fusariose, **UFU**, 2015.
- TELLIS, M.; MATHUR, M.; GURJAR, G.; KADDOO, N.; GUPTA, V. Identification and functionality prediction of pathogenesis-related protein 1 from legume family. **Proteins** 85: 2066–2080, 2017.
- THONAR, C.; ERB, A.; JANSKA, J. Real-time PCR to quantify composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities—marker design, verification, calibration and field validation. **Molecular Ecology Resources**, v. 12, n. 2, p. 219-232, 2012.
- TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R.; PARISI, M. C. M.; SINIGAGLIA, C. Doenças fúngicas. **Hortaliças-fruto**, 21, 296-313, 2013.
- TOLBA, S. R.; ROSSO, L. C.; PENTIMONE, I.; COLAGIERO, M.; MOUSTAFA, M. M.; ELSHAWAF, I. I.; CIANCIO, A. Root endophytism by *Pochonia chlamydosporia* affects defense-gene expression in leaves of monocot and dicot hosts under multiple biotic interactions. **Plants**, v. 10, n. 4, p. 718, 2021.
- TORNERO, P.; CONEJERO, V.; VERA, P. A gene encoding a novel isoform of the PR-1 protein family from tomato is induced upon viroid infection. **Molecular & general genetics**: MGG243: 47–53, 1994.

TROUVELOT, A. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S (Ed.). **Physiological and genetical aspects of mycorrhizae**. Proceedings of the 1st European Symposium on mycorrhizae. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, p. 217-221, 1986.

UNTERGASSER, A.; NIJVEEN, H.; RAO, X.; BISSELING, T.; GEURTS, R.; LEUNISSEN, J. A. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. **Nucleic Acids Research** 35: W71–W74, 2007.

VAN LOON, L. C. Occurrence and properties of HR-inducing proteins. In: Mechanisms of Resistance to Plant Diseases (pp. 121-136). **Springer**, 1999.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. Principais doenças do maracujazeiro na região nordeste e seu controle. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, p.1-11, 2003.

VILA, V. V.; REZENDE, R.; MALDONADO-SILVA, L. H.; FARIA NOCCHI, R. C.; ANDREAN, A. F. B.; WENNECK, G. S.; MATUMOTO-PINTO, P. T. Microbiota do solo na tolerância de doenças em plantas: Uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e25910817161-e25910817161, 2021.

VRIENS, K.; CAMMUE, B. P.; THEVISEN, K. Antifungal plant defensins: mechanisms of action and production. **Molecules**, v. 19, n. 8, p. 12280-12303, 2014.

WANG, Z.; FANG, H.; CHEN, Y.; CHEN, K.; LI, G.; GU, S.; TAN, X. Overexpression of BnWRKY33 in oilseed rape enhances resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Molecular Plant Pathology**, v. 15, n. 7, p. 677-689, 2014.

WANG, Y.; BOUWMEESTER, K. L-type lectin receptor kinases: New forces in plant immunity. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 8, p. e1006433, 2017.

WATSON, J. D.; BAKER, T. A.; BELL, S. P.; GANN, A.; LEVINE, M.; LOSICKE, R. Biologia molecular do gene. 5. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2006.

WEI, T.; SIMKO, V. R. Package “Corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.92). **Package Corrplot for R Software**, 2021.

WELLER, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual review of phytopathology**, 1988.

WENG, W.; YAN, J.; ZHOU, M.; YAO, X.; GAO, A.; MA, C.; RUAN, J. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi as a biocontrol agent in the control of plant diseases. *Microorganisms*, 10(7), 1266, 2022.

WICKHAM, H.; CHANG, W.; WICKHAM, M. H. Package 'ggplot2'. Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. **Package for R Software** Version, v. 2, n. 1, p. 1-189, 2016.

WIJAYAWARDENE, N. N.; HYDE, K. D.; AL-ANI, L. K. T.; TEDERSOO, L.; HAELEWATERS, D.; RAJESHKUMAR, K. C.; SUIJA, A. Outline of Fungi and fungus-like taxa. **Mycosphere Online: Journal of Fungal Biology**, 11(1), 1060-1456, 2020.

WOO, J. Y.; KIM, Y. J.; PAEK, K. H. CaLecRK-S. 5, a pepper L-type lectin receptor kinase gene, accelerates *Phytophthora* elicitor-mediated defense response. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 524, n. 4, p. 951-956, 2020.

WU, S. W.; WANG, H. W.; YANG, Z. D.; KONG, L. R. Expression comparisons of pathogenesis-related (PR) genes in wheat in response to infection/infestation by *Fusarium*, Yellow dwarf virus (YDV) aphid-transmitted and hessian fly. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 5, p. 926-936, 2014.

WU, G.; LI, W.; TIAN, N.; WANG, X.; WU, W.; ZHENG, S. Cloning and functional identification of setaria italica somatic embryogenesis receptor-like kinase1 gene (SiSERK1). **Gene**, v. 813, p. 146119, 2022.

YANG, W.; LI, Y.; ZHAO, Q.; GUO, Y.; DONG, Y. Intercropping alleviated the phytotoxic effects of cinnamic acid on the root cell wall structural resistance of faba bean and reduced the occurrence of *Fusarium* wilt. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 6, p. e13827, 2022.

YE, J.; COULOURIS, G.; ZARETSKAYA, I. J.; CUTCUTACHE, I.; ROZEN, S.; MADDEN, T. L. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. **BMC Bioinformatics**, 13: 134. 2012.

YU, F.; Huaxia, Y.; Lu, W.; Wu, C.; Cao, X.; Guo, X. GhWRKY15, a member of the WRKY transcription factor family identified from cotton (*Gossypium hirsutum* L.), is involved in disease resistance and plant development. **BMC plant biology**, v. 12, n. 1, p. 1-18, 2012.

ZENG, M.; WAN, B.; WANG, L.; CHEN, Z.; LIN, Y.; YE, W.; WANG, Y. Identification and characterization of L-type lectin receptor-like kinases involved in *Glycine max*–*Phytophthora sojae* interaction. **Planta**, v. 254, p. 1-15, 2021.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 459-471, 2010.

ZHANG, M.; COAKER, G. Harnessing effector-triggered immunity for durable disease resistance. **Phytopathology**, v. 107, n. 8, p. 912-919, 2017.

ZHANG, Y.; YAO, J.L.; FENG, H.; JIANG, J.; FAN, X.; JIA, Y.F.; WANG, R.; LIU, C. Identification of the defense-related gene VdWRKY53 from the wild grapevine *Vitis davidii* using RNA sequencing and ectopic expression analysis in *Arabidopsis*. **Hereditas**. 156(14), 2019.

ZHANG, X. Q.; BAI, L.; SUN, H. B.; YANG, C.; CAI, B. Y. Transcriptomic and proteomic analysis revealed the effect of *funneliformis mosseae* in soybean roots differential expression genes and proteins. **Journal of proteome research**, v. 19, n. 9, p. 3631-3643, 2020.

ZHAO, K.; REN, R.; MA, X.; ZHAO, K.; QU, C.; CAO, D.; YIN, D. Genome-wide investigation of defensin genes in peanut (*Arachis hypogaea* L.) reveals AhDef2. 2 conferring resistance to bacterial wilt. **The Crop Journal**, v. 10, n. 3, p. 809-819, 2022.

ZHENG, Z.; QAMAR, S. A.; CHEN, Z.; MENGISTE, T. *Arabidopsis* WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens. **The Plant Journal**, v. 48, n. 4, p. 592-605, 2006.

ZHENG, L.; QIU, B.; SU, L.; WANG, H.; CUI, X.; GE, F.; LIU, D. *Panax notoginseng* WRKY transcription factor 9 is a positive regulator in responding to Root Rot pathogen *Fusarium solani*. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 930644, 2022.

ZHOU, T.; WANG, Y.; CHEN, J. Q.; ARAKI, H.; JING, Z.; JIANG, K.; TIAN, D. Genome-wide identification of NBS genes in japonica rice reveals significant expansion of divergent non-TIR NBS-LRR genes. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 271, p. 402-415, 2004.

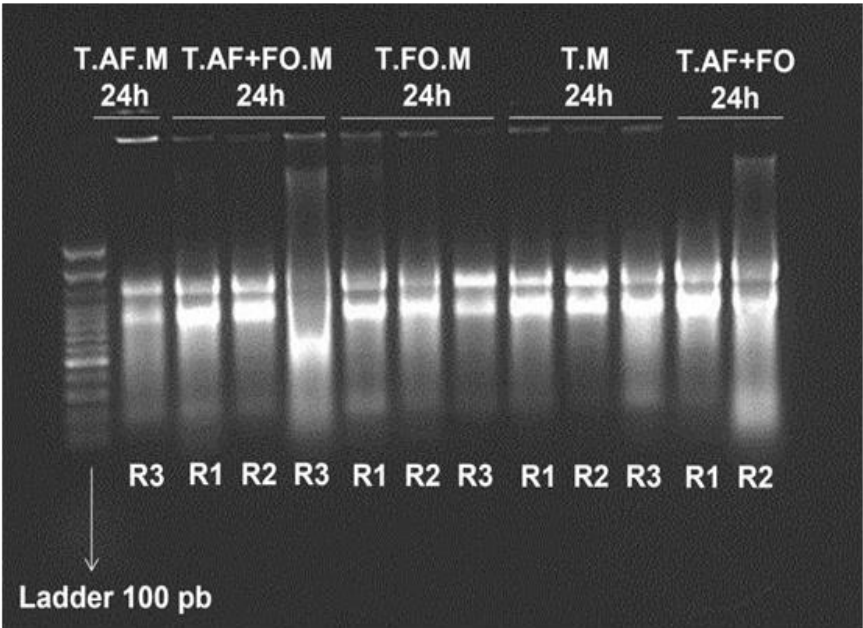
ZHOU, R.; WANG, Y.; ZHANG, X.; JIA, F.; LIU, Y. Cloning and expression analysis of SERK1 gene in *Diospyros lotus*. **Open Life Sciences**, v. 17, n. 1, p. 1296-1308, 2022.

ZHU, Z. X.; ZHENG, L.; HSIANG, T.; YANG, G. L.; ZHAO, D. L.; LV, B.; HUANG, J. B.. Detection and quantification of *Fusarium commune* in host tissue and infested soil using real-time PCR. **Plant Pathology**, v. 65, n. 2, p. 218-226, 2016.

ZRIBI, I.; GHORBEL, M.; BRINI, F. Pathogenesis related proteins (PRs): From cellular mechanisms to plant defense. **Current Protein and Peptide Science**, v. 22, n. 5, p. 396-412, 2021.

APÊNDICES

Apêndice A. Eletroforese em gel de agarose demonstrativa de amostras de RNA total de *P. edulis* no tempo de 24 horas após aplicação de indutores da fusariose e inoculação com FMA.



Legenda: Tratamentos: AFM= Plantas micorrizadas e com aplicação de ácido fusário; AFFOM= Plantas micorrizadas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*; FOM = Plantas micorrizadas com adição de *F. oxysporum*; M= Plantas micorrizadas; AFFO= Plantas com aplicação de ácido fusário e de *F. oxysporum*. 24h= Tempo de inoculação; RB = Réplica biológica.
Fonte: Lima (2023).

Apêndice B. Valores médios de quantificação e pureza de amostras de RNA total de tecidos radiculares e foliares de *P. edulis*.

Ácido nucléico	Tecido	NanoDrop (ng/μl)	A260/280	Total de amostras
RNA	Raiz	595,20 (224,90 a 1564,20)	2,14	48
RNA	Folha	335,90 (91,60 a 1626,00)	2,04	48
DNA	Raiz	1279,07 (167,50 a 2418,30)	1,85	48

() Concentração mínima e máxima obtida para cada tecido