



GABRIEL CÉSAR FERREIRA

Bases científicas e moleculares da antracnose em *Phaseolus vulgaris*: da cienciometria à caracterização genômica da família gênica WAK/WAKL

**LAVRAS – MG
2026**

GABRIEL CÉSAR FERREIRA

**Bases científicas e moleculares da antracnose em *Phaseolus vulgaris*: da
cienciometria à caracterização genômica da família gênica WAK/WAKL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Welison Andrade Pereira
Orientador

**LAVRAS – MG
2026**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ferreira, Gabriel César.

Bases científicas e moleculares da antracnose em *Phaseolus vulgaris* : da
cienciometria à caracterização genômica da família gênica WAK/WAKL / Gabriel
César Ferreira. - 2025.

73 p. : il.

Orientador: Welison Andrade Pereira

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. Antracnose. 3. WAK/WAKLike. 4. Cienciometria. I.
Pereira, Welison Andrade. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

GABRIEL CÉSAR FERREIRA

**Bases científicas e moleculares da antracnose em *Phaseolus vulgaris*: da
cienciometria à caracterização genômica da família gênica WAK/WAKL**

**Scientific and molecular bases of anthracnose in *Phaseolus vulgaris*: from
scientometrics to genomic characterization of the WAK/WAKL gene family**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 12 de dezembro de 2025

Dra. Caroline Marcela da Silva Dambroz UFLA

Dr. Evandro Novaes UFLA

Dr. Welison Andrade Pereira UFLA

Dr. Welison Andrade Pereira
Orientador

**LAVRAS – MG
2026**

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas e a Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela oportunidade de aperfeiçoamento pessoal e pela disponibilidade de recursos e infraestrutura para execução da pesquisa.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e, principalmente, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudo, amparo financeiro e recursos para a realização de pesquisas nas instituições de ensino.

Agradeço ao corpo docente da UFLA, assim como os técnicos de laboratório, que acompanharam minha jornada e estiveram presentes para auxiliar e compartilhar ensinamentos. Agradeço especialmente ao meu orientador, Prof. Dr. Welison Andrade Pereira, pela parceria e orientação.

Aos meus pais e familiares, que acompanharam o processo desta etapa na minha vida, constantemente me incentivando e fazendo acreditar que iria dar certo. E principalmente, aos meus amigos. Sem o apoio de vocês, nada disso seria possível. Muito obrigado!

RESUMO

A antracnose, doença do feijoeiro causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma das principais causas da perda de produção. Compreender a interação “planta x patógeno” e quais os possíveis genes associados à resistência é o início para a busca de alternativas viáveis no melhoramento genético da cultura, visando reduzir os danos causados pela doença por meio da seleção de genótipos resistentes. Este trabalho buscou (i) realizar uma análise cienciométrica sobre o patossistema *Phaseolus vulgaris* – *Colletotrichum lindemuthianum*, propiciando a consolidação de um artigo de revisão sobre o tema; (ii) apresentar uma análise genômica ampla da família de genes WAK/WAKLike do feijão comum, com o intuito de caracterizar os membros desta família de genes e investigar os seus perfis de expressão em plantas resistentes e susceptíveis a inoculação com o isolado Lv134 de *C. lindemuthianum*, raça 65. Neste contexto, buscou-se identificar genes candidatos a reações de susceptibilidade ou de resistência da planta à antracnose. Entre os principais resultados, consolidou-se um referencial teórico para o tema, apresentando uma base para o estudo do patossistema da antracnose, baseando em quantidade de publicações, autores que mais dissertaram sobre o tema e artigos mais citados. No âmbito da análise genômica ampla, a caracterização da família gênica WAK/WAKLike em *P. vulgaris* resultou na identificação de 7 PvWAKs e 42 PvWAKLikes. Em síntese, esta família mostrou diversidade de domínios proteicos e motivos estruturais, estrutura gênica e exons codificantes, cis-elementos regulatórios associados a estresses abióticos, bióticos, responsivos a hormônios, à luz, relacionados ao desenvolvimento, além de sintonia com genes de *Arabidopsis thaliana* e *Glycine max*. Em termos de expressão gênica, revelaram-se genes importantes tanto para o tempo de 48 (PvWAKL02 e PvWAKL22 foram up regulados) quanto de 96 horas após a inoculação (PvWAKL15 e PvWAKL26 foram up regulados), dando indícios de possível relação com as fases biotróficas e necrotróficas da antracnose. Ressalta-se que PvWAKL32 e PvWAKL33 foram contrastantes na trajetória transcricional, possivelmente envolvidos na percepção da sinalização inicial. Estes resultados revelaram genes potencialmente relevantes para os sistemas de respostas das plantas ao patógeno, requerendo assim o aprofundamento das pesquisas. Desta forma, este trabalho contribui para futuros estudos sobre genes de resistência, revelando oportunidades para o aprimoramento e elucidação de novos e importantes conhecimentos acerca dos genes PvWAK/PvWAKLike, que até então não apresentavam caracterização na literatura.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; antracnose; raça 65; WAK/WAKLike; cienciométrica

ABSTRACT

Anthracnose, a disease of common bean caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, is one of the main causes of yield losses. Understanding the “plant × pathogen” interaction and identifying possible genes associated with resistance is the starting point for developing viable alternatives in crop breeding, aiming to reduce disease damage through the selection of resistant genotypes. This study aimed to (i) perform a scientometric analysis of the *Phaseolus vulgaris* – *Colletotrichum lindemuthianum* pathosystem, contributing to the consolidation of a review article on the topic; and (ii) present a comprehensive genomic analysis of the WAK/WAKLike gene family in common bean, in order to characterize the members of this gene family and investigate their expression profiles in resistant and susceptible plants inoculated with the Lv134 isolate of *C. lindemuthianum*, race 65. In this context, we aimed to identify candidate genes associated with plant susceptibility or resistance to anthracnose. Among the main results, a theoretical framework on the topic was consolidated, providing a basis for the study of the anthracnose pathosystem, considering the number of publications, the authors who most frequently addressed the topic, and the most cited articles. Regarding the genomic analysis, characterization of the WAK/WAKLike gene family in *P. vulgaris* resulted in the identification of 7 PvWAKs and 42 PvWAKLikes. In summary, this gene family showed diversity in protein domains and structural motifs, gene structure and coding exons, regulatory cis-elements associated with abiotic and biotic stresses, hormone-responsive elements, light-responsive elements, development-related elements, as well as synteny with genes from *Arabidopsis thaliana* and *Glycine max*. In terms of gene expression, important genes were identified at both 48 hours (PvWAKL02 and PvWAKL22 were upregulated) and 96 hours after inoculation (PvWAKL15 and PvWAKL26 were upregulated), suggesting a possible relationship with the biotrophic and necrotrophic phases of anthracnose. It is noteworthy that PvWAKL32 and PvWAKL33 showed contrasting transcriptional trajectories, possibly being involved in the perception of initial signaling. These results revealed genes potentially relevant to plant response systems against the pathogen, thus requiring further investigation. Therefore, this study contributes to future research on resistance genes, revealing opportunities for the improvement and elucidation of new and important knowledge regarding PvWAK/PvWAKLike genes, which had not yet been characterized in the literature.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; anthracnose; race 65; WAK/WAKLike; scientometrics.

INDICADORES DE IMPACTO

O estudo apresenta impactos relevantes nos tópicos sociais, ambientais e tecnológicos, podendo ser aplicado e replicado em programas de melhoramento genético de feijão-comum, e até mesmo em outras culturas. Os resultados ampliam a compreensão do patossistema, ressaltando potenciais genes de resistência que a planta pode apresentar quando infectada com o fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. O trabalho visa avaliar os possíveis genes associados a resistência de feijão-comum a antracnose, especificamente da família quinases associadas a parede (Wall Associated Kinases – WAK/WAKLike). O estudo utilizou de metodologias funcionais já descritas na literatura, aplicando métodos tecnológicos que acompanham a evolução da pesquisa científica, utilizando dados *in silico* e bancos de dados disponíveis. O presente trabalho apresentou uma definição da possível subfamília gênica das WAK/WAKLike, ainda não descrita na literatura para *Phaseolus vulgaris*, subfamília que está relacionada a resistência de outras culturas conforme a literatura, corroborando com inovação para a bibliografia científica e acadêmica. Não houve caráter extensionista direto no trabalho para fora da universidade, porém apresentou participação de docentes, discentes de pós-graduação e graduação, iniciação científica e técnicos de laboratório, corroborando com a imersão de pessoas de diferentes áreas na pesquisa. O estudo foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), sul de Minas Gerais, contribuindo com a formação profissional e ingresso na pesquisa científica de discentes da faculdade, podendo ser aplicado em diversas outras áreas produtoras de feijão-comum do país. Quanto a Política Nacional de Extensão, o trabalho se enquadra em (5) Meio ambiente ao buscar meios de produção limpos e com menos dejetos ao meio ambiente e (7) Tecnologia e produção visando uma produção menos custosa ao produtor, com uma produtividade que atenda a população, além de utilizar estratégias e metodologias aliadas ao desenvolvimento tecnológico. Finalizando, o trabalho agregou com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, destacando: “ODS 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável” ao contribuir com a pesquisa para que haja maior disponibilidade de feijão-comum à população, possibilitando seu consumo e “ODS 12 – Consumo e Produção Responsáveis” ao buscar genes de resistência que possam diminuir os efeitos da antracnose no feijoeiro, visando redução de agrotóxicos e danos ao meio ambiente.

IMPACT INDICATORS

The study presents relevant impacts in social, environmental, and technological domains, and may be applied and replicated in common bean breeding programs, as well as in other crops. The results expand the understanding of the pathosystem, highlighting potential resistance genes that the plant may express when infected by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. The work aimed to evaluate possible genes associated with resistance of common bean to anthracnose, specifically those belonging to the Wall-Associated Kinase family (WAK/WAKLike). The study employed functional methodologies already described in the literature, applying technological approaches aligned with the advancement of scientific research, using *in silico* data and publicly available databases. The present work proposed a definition of a possible WAK/WAKLike gene subfamily not yet described in the literature for *Phaseolus vulgaris*, a subfamily associated with resistance in other crops according to previous studies, thereby contributing innovative insights to the scientific and academic bibliography. Although the study did not have a direct extension/outreach component beyond the university, it involved the participation of faculty members, graduate and undergraduate students, scientific initiation scholars, and laboratory technicians, promoting interdisciplinary engagement in research. The study was conducted at the Federal University of Lavras (UFLA), in southern Minas Gerais, contributing to professional training and the integration of students into scientific research, with potential application in various other common bean-producing regions of the country. Regarding the Brazilian National Extension Policy, the study is aligned with (5) Environment, by seeking cleaner production methods with reduced environmental waste, and (7) Technology and Production, by aiming for cost-effective production systems that meet population demand, while employing strategies and methodologies linked to technological development. Finally, the study contributes to the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly: “SDG 2 – Zero Hunger and Sustainable Agriculture,” by supporting research that enhances the availability of common bean for the population, enabling its consumption; and “SDG 12 – Responsible Consumption and Production,” by identifying resistance genes that may reduce the effects of anthracnose in common bean, aiming to decrease pesticide use and environmental damage.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	11
1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Cienciometria	14
2.2 A cultura do feijoeiro	15
2.3 Antracnose no feijoeiro	16
2.4 Variabilidade do <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	17
2.4.1 Variabilidade do patógeno	17
2.4.2 Controle genético da resistência	18
2.5 Mecanismos de resistência de plantas	20
2.6 Proteínas quinases	21
2.6.1 WAK/WAKlike	21
REFERÊNCIAS	24
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	32
ARTIGO 1 - <i>Phaseolus vulgaris</i> e antracnose: uma abordagem cienciométrica	33
ARTIGO 2 - The WAK/WAKL gene family in <i>Phaseolus vulgaris</i>: genomic characterization and expression under <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> infection	53
TERCEIRA PARTE	73
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	73

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

A cienciometria é uma abordagem teórica para aquisição de referencial e avaliação da evolução da pesquisa científica em determinado tema. A cienciometria é definida, portanto, como o método quantitativo de pesquisa no desenvolvimento da ciência como processo informativo (NALIMOV et al., 1971). Esta metodologia é utilizada para adquirir conhecimento em determinado assunto ou tema que o autor possua interesse, visto que ela possibilita categorizar publicações baseadas em seus impactos sociais, número de citações, elucidar países ou regiões onde o assunto está sendo mais pesquisado e difundido (ROTOLO, 2014).

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*) é um dos principais grãos na alimentação global sendo fonte de proteínas, vitaminas, carboidratos e minerais (HUERTAS et al, 2022). Além da importância na alimentação, a cultura do feijoeiro é responsável por movimentar o mercado econômico e financeiro com exportações, geração de empregos e fontes de renda (SILVA; WANDER, 2013). No Brasil, o feijoeiro pode ser cultivado em três safras durante o ano, sendo constantemente cultivado, fator essencial para suprir a necessidade de consumo da população. O Brasil, em 2023, encontrava-se na segunda colocação do ranking de maiores produtores da leguminosa segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2025), com destaque para as regiões do Paraná e Minas Gerais como maiores estados produtores.

Por ser amplamente cultivado, conseqüentemente, a cultura está propensa a diversos fatores ambientais e patogênicos, que podem prejudicar a produção. A antracnose é uma das principais doenças a acometer o feijoeiro, causando perdas consideráveis da produção e do material armazenado (BARBOSA, 2012). A doença é causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, que possui maior ocorrência em regiões com alta umidade e temperatura moderada (PRABHA et al., 2021). Este patógeno causa escurecimento das veias foliares e lesões em regiões aéreas da planta, assim como nas vagens e sementes, impossibilitando o consumo e comercialização destes grãos (GUPTA et al., 2022), prejudicando economicamente o produtor e diminuindo o acesso da população ao alimento.

O uso de sementes saudáveis ou resistentes são alternativas eficazes e mais baratas, porém demandam um amplo estudo e melhoramento genético desta cultura (RAVA, 1994). Tem-se observado que a pesquisa destinada à seleção de linhagens resistentes a doenças vem reafirmando o seu impacto ao longo do tempo. Em termos históricos, o melhoramento genético do feijoeiro visando ganho de produção teve seu início nos anos 70's, com a seleção de

linhagens puras. Posteriormente, as estratégias incorporaram as hibridizações ao longo dos anos 80's, evoluindo para a seleção recorrente nos anos 90's (BARCELOS et al., 2024). Com esta base, outros estudos foram possibilitados como a seleção para arquitetura de plantas (TEIXEIRA et al., 1999), resistência à patógenos (BOREL et al., 2011; COSTA, 2019) e florescimento (MARTINS et al., 2017; LEMOS et al., 2020).

Devido ao fato do *C. lindemuthianum* possuir diversas raças e variação em seus isolados, não há uma resistência definitiva ao fungo. No Brasil já foram identificadas 89 raças diferentes do fungo, sendo 65, 73 e 81 as mais frequentes (NUNES et al., 2021). Mais de 20 locos gênicos já foram associados com a resistência do feijoeiro a antracnose. Na literatura, tem-se descrito alelos de resistência a *C. lindemuthianum* originados de variados genes, sendo eles: *Co-1*, *Co-2*, *Co-3*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-7* (ou *Co-3*), *Co-8*, *Co-9* (ou *Co-33*), *Co-10* (ou *Co-34*), *Co-11*, *Co-12*, *Co-13*, *Co-14*, *Co-15*, *Co-16*, *Co-17*, *Co-u*, *Co-v*, *Co-w*, *Co-x*, *Co-y* e *Co-z* distribuídos entre os 11 cromossomos do feijão. Alguns locos apresentam alelismo múltiplo, como *Co-1*, *Co-3*, *Co-4* e *Co-5* (GONÇALVES-VIDIGAL, 2013; ZUIDERVEEN et al, 2016).

A resistência genética de plantas é mediada por genes específicos de resistência (genes R), cujas proteínas reconhecem moléculas efetoras produzidas pelo patógeno. Essa interação é explicada pela teoria gene-a-gene proposta Flor (1956), segundo o qual para cada gene de resistência no hospedeiro existe um gene correspondente de avirulência (Avr) no patógeno. A ativação da resistência ocorre quando a proteína R reconhece o produto do gene Avr complementar, desencadeando uma cascata de sinalização que culmina na resposta de defesa.

Além da imunidade por genes R, chamada imunidade desencadeada por efetores (ETI), as plantas possuem mecanismos de defesa associados ao reconhecimento de padrões moleculares conservados de patógenos (PAMPs/MAMPs). Esse reconhecimento é realizado por receptores localizados na membrana plasmática, dentre os quais se destacam as proteínas quinases do tipo receptor (Receptor-like Kinases - RLKs). As RLKs são proteínas transmembranares compostas por um domínio extracelular responsável pela percepção de moléculas sinalizadoras, um domínio transmembrana e um domínio intracelular com atividade quinase. Ao reconhecer padrões moleculares associados ao patógeno, essas proteínas iniciam vias de transdução de sinais que levam à ativação da imunidade desencadeada por padrões (PTI) (VAID et al., 2013).

As quinases associadas a parede (wall-associated kinase – WAK) são uma subfamília que participam ativamente na defesa vegetal, fixadas na membrana plasmática, estas agem como mediadoras da informação extracelular para o meio intracelular, estimulando respostas rápidas e efetivas (AMSBURY, 2020). Na literatura, há descrição das proteínas

WAK/WAKLike de diversas espécies, porém ainda não há uma descrição para a espécie de *P. vulgaris*, sendo este um tópico de interesse do presente trabalho.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cienciometria

Cienciometria é uma abordagem quantitativa e estatística que revela os processos de desenvolvimento da ciência e tecnologia (LIU; He, 2023). A cienciometria evoluiu ao longo dos anos para ser aplicada em identificação da pesquisa e seus parâmetros (crescimento, interrelação, produtividade etc.) de forma quantitativa, pontos emergentes no assunto, além de ser uma alternativa para aquisição de conhecimento e treinamento em novos tópicos de estudo ou assuntos ainda desconhecidos para o autor (ROTOLO, 2014).

Com o avanço tecnológico e a praticidade de possuir banco de dados digitais, a internet viria a ser a principal fonte de dados para aquisição de conteúdos científicos, possibilitando uma aceleração na obtenção de referencial teórico, visto a capacidade de filtrar os conteúdos pelos títulos ou palavras chaves, direcionando o autor ao assunto desejado imediatamente (HOOD, WILSON; 2001).

Com a grande quantidade de publicações e explosão de conteúdos científicos, apenas ler artigos científicos não é capaz de suprir a necessidade do autor, há a carência de encontrar e entender pontos quentes, atuais e inovadores, que agreguem na pesquisa (WANG et al, 2013). Filtros de qualidade, importância e relevância são necessários para o bom preparo de uma pesquisa científica (NEYLON AND WU, 2009). O sistema de aquisição de referencial teórico mudou com o tempo, se antes a busca era feita através de cópias em papel de determinado artigo ou periódico (que deveria estar fisicamente presente em uma biblioteca ou universidade, sendo bastante restrito a localidade), atualmente estas cópias tornaram-se downloads a serem feitos de artigos em variadas línguas, assuntos e propostas. Porém esses downloads apresentam uma defasagem no sistema de busca do autor, que ao ser apresentado para um número imensurável de artigos, acaba enviesando sua pesquisa para os seus pontos de interesse, não preocupando com as métricas que este artigo alcançou, como fator de impacto, número de citações e referencial do mesmo, sendo estes tópicos cruciais para um conteúdo de qualidade (KURTZ AND BOLLEN, 2010; WANG et al, 2013).

O’Leary (2008) relacionou “citação e número de downloads” como métricas para um bom referencial e para o fator de impacto de um artigo, sendo os 25 artigos mais citados ou baixados de determinado banco de dados (Scopus, Web of Science etc.) pontos de interesse para a tomada de decisão do autor, visto como boas referências no assunto pesquisado. A cienciometria vem para auxiliar nesta aquisição e percepção de conteúdo, ao fazer uma busca sobre *Phaseolus vulgaris* e *Colletotrichum lindemuthianum*, é possível identificar artigos de

interesse e compreender o andamento da pesquisa científica globalmente, inserindo o autor no assunto mesmo que ele não possua experiência na área. A cienciometria vai além de um sistema de métricas e avaliação, ela funciona como ferramenta para novos autores se inserirem no mercado e acompanhar a evolução científica de seu interesse.

2.2 A cultura do feijoeiro

O feijão comum é um dos grãos de leguminosa mais importantes para o consumo humano em escala global. Pertencente à família *Fabaceae*, ele é composto por 11 pares de cromossomos, sendo o tamanho do seu genoma de 473Mb (SCHMUTZ et al., 2014; GUPTA et al., 2022).

O feijão comum é uma importante fonte de proteínas, vitaminas, carboidratos e minerais, compondo parte significativa do cardápio diário da população e, logo, representando protagonismo para a nutrição e saúde das pessoas (HUERTAS et al., 2022). Para ilustrar sua relevância, trata-se de uma das principais fontes de ferro de origem vegetal, proporcionando 22-30% do mineral em níveis de recomendação diária (SHIMELIS et al., 2005). Destaca-se na prevenção de doenças crônicas, dada sua natureza como fonte de fibras, propriedades antioxidantes, oligossacarídeos prebióticos; atuação na regulação do funcionamento gastrointestinal, redução dos riscos de complicações cardiovasculares, obesidade, diabetes mellitus e câncer (CARDADOR-MARTINEZ et al., 2002; HAYAT et al., 2014).

Baseado em características fenotípicas e genotípicas, o feijão comum divide-se em dois “pools” gênicos, sendo mesoamericano e andino. Evidências históricas, arqueológicas, botânicas e moleculares informam que houve dois grandes eventos na domesticação do feijão comum: uma ocorrendo em regiões da Mesoamérica e outra nos Andes, sendo estas a origem das duas espécies centrais. Estas duas apresentam diferenciação no tamanho de semente e habitat de crescimento, adaptação ambiental, barreiras de infertilização, resistência a doenças, dentre outras características (BECERRA, 2011). A nível molecular, estudos indicam que o feijão é de origem mesoamericano, tendo originado no México (BITOCCHI et al., 2012).

A cultura apresenta três épocas de safra durante o ano: “Safra das águas” ou primeira safra, “safra da seca” ou segunda safra e “safra irrigada” ou terceira safra. Logo a cultura apresenta relevante valor socioeconômico, têm-se a produção destinada a autoconsumo familiar e ao mercado, abrangendo a população. Há demanda de mão de obra em grandes produções, principalmente para época de colheita, acarretando empregos em três períodos do ano (SILVA; WANDER, 2013).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2025), em 2023 o Brasil encontrava-se na segunda colocação do ranking global de produção de feijão, ficando atrás apenas da Índia, que liderava as produções. Já pelos dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2025), segundo o 11º levantamento referente a 2024/25, o estado do Paraná e de Minas Gerais foram os maiores produtores da cultura, destacando o sul e sudeste na produção de feijão.

Porém durante a safra das águas, devido à alta pluviosidade, a incidência de doenças fúngicas é aumentada, propiciando a ocorrência da antracnose.

2.3 Antracnose no feijoeiro

A antracnose, causada pelo fungo *C. lindemuthianum*, é uma das doenças mais nocivas para a cultura do feijoeiro em função de seu alto poder destrutivo e potencial responsável por grandes quebras de produção.

Sua dispersão pode ocorrer a pequenas distâncias devido a respingos de chuva, insetos e animais, ou por ação humana, assim como por implementos agrícolas que entram em contato com a planta contaminada. Há também incidência de contaminação a longas distâncias, ao armazenar ou transportar sementes infectadas que entrarão em contato com outros materiais suscetíveis ao patógeno, sendo está mais comum (BARBOSA, 2012).

A antracnose tem maior ocorrência em climas tropicais e subtropicais, presente em regiões da América Latina, África Central e África Oriental (MIKLAS et al., 2006), sendo alta umidade e temperaturas moderadas (13 a 27°C) as condições favoráveis ao seu desenvolvimento (PRABHA et al., 2021). Estados brasileiros como Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul destacam-se na ocorrência da doença, sendo estes grandes produtores da cultura do feijoeiro (VIEIRA, 2005).

Os sintomas podem ser observados na parte aérea da planta, tais como folhas, caules e vagens, sendo os efeitos mais proeminentes caracterizados por lesões escurecidas e esporos rosáceos (GUPTA et al., 2022). Nas folhas, a ocorrência da doença é marcada inicialmente por coloração avermelhada a negra das nervuras presentes na parte abaxial, posteriormente desenvolvendo na parte superior foliar. Já nas vagens, ocorrem lesões semelhantes a cancos, com tamanhos variados delimitados por anel preto. Nas sementes, quando atingido o cotilédone e o tegumento destas, ocorre a perda da cor e formação de lesões e cancos semelhante aos visualizados nas vagens (MOHAMMED, 2013).

O *C. lindemuthianum* apresenta duas fases de infecção, sendo considerado um patógeno hemibiotrófico. A primeira fase, biotrófica, ocorre crescimento de hifas intracelulares, fixando-

se no hospedeiro. Na segunda fase, necrotrófica, ocorre crescimento de hifas secundárias que ramificam intra e extracelularmente, danificando as células vegetais. Nesta última fase, os sintomas são manifestados macroscopicamente, sendo possível a visualização da doença. Esse processo de infecção pode acontecer entre 6 à 9 horas após o contato do patógeno com o material suscetível (O'CONNELL; BAILEY; RICHMOND, 1985).

Logo o processo infeccioso evidencia o potencial adaptativo do fungo frente às respostas imunológicas da planta. Essa plasticidade do ataque patogênico relaciona-se à diversidade genética observada na espécie, a qual influencia nos mecanismos de reconhecimento do feijoeiro para se defender. Compreender a variabilidade do patógeno torna-se importante para interpretar as diferenças entre isolados, sendo este um dos principais obstáculos para a resistência durável (HAILEMARIAM et al, 2023).

2.4 Variabilidade do *Colletotrichum lindemuthianum*

2.4.1 Variabilidade do patógeno

O *C. lindemuthianum* apresenta alta variabilidade patogênica, sendo um obstáculo na resistência genética definitiva deste. As primeiras observações sobre variabilidade deste fungo foram observadas por Barrus (1911), descrevendo que uma cultivar de feijão respondia de maneira diferente para isolados de *C. lindemuthianum*, sendo o patógeno oriundo de regiões diferentes. Consequentemente diversas raças foram sendo identificadas e sendo nomeadas: Alfa, Beta, Gama, Delta, Mexicano I, Mexicano II, Brasileiro I, Brasileiro II (CARBONELL et al., 1999).

Logo, necessitou a padronização e organização da nomenclatura dos isolados, visando facilitar a identificação e troca de informações científicas. Utilizando um sistema binário (HABGOOD, 1970) e 12 cultivares diferentes de feijão (PASTOR-CORRALES, 1991), estabeleceu-se uma codificação para identificação da raça dos isolados de *C. lindemuthianum*. Cada cultivar possui um valor binário, e para cada reação de suscetibilidade ao isolado esse valor será atribuído, podendo ser somado com os de outras cultivares, por exemplo: Raça 65 possui essa numeração devido a suscetibilidade das cultivares Michelite (2⁰) e México (2⁶). O resultado da equação é 1 e 64, respectivamente, sendo o somatório 65.

Tabela 1 - Diferentes cultivares, alelos de resistência, valor binário e valor numérico de diferentes cultivares de feijão comum interagindo com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Differential cultivars	Gene pool	Resistant genes	Binary value	Numeric value
Michelite	MA	<i>Co</i> -11	2 ⁰	1
Michigan Dark	A	<i>Co</i> -1	2 ¹	2
Red Kidney				
Perry Marrow	A	<i>Co</i> -1 ³	2 ²	4
Cornell 49-242	MA	<i>Co</i> -2	2 ³	8
Widusa	A	<i>Co</i> -1 ⁵	2 ⁴	16
Kaboon	A	<i>Co</i> -1 ²	2 ⁵	32
Mexico 222	MA	<i>Co</i> -3	2 ⁶	64
PI 207262	MA	<i>Co</i> -3 ³ ; <i>Co</i> -4 ³	2 ⁷	128
TO	MA	<i>Co</i> -4	2 ⁸	256
TU	MA	<i>Co</i> -5	2 ⁹	512
AB 136	MA	<i>Co</i> -6	2 ¹⁰	1.024
G 2333	MA	<i>Co</i> -3 ⁵ ; <i>Co</i> -4 ² ; <i>Co</i> -5 ²	2 ¹¹	2.048

MA – Mesoamericano / A - Andino

Fonte: NUNES et al., (2021).

Há registro de 298 raças do fungo distribuídas entre 29 países, com 89 raças identificadas no Brasil, sendo 65, 73 e 81 as mais frequentes (NUNES et al., 2021). A raça 65 destaca-se por possuir alta variabilidade de isolados e por acometer produções com maior frequência. A alta variabilidade do fungo pode ser explicada por recombinações sexuais, ciclos parassexuais e anastomose entre conídios (PINTO et al., 2012).

2.4.2 Controle genético da resistência

Assim como na classificação dos isolados, houve necessidade de padronização e organização na identificação dos genes de resistência, Kelly e Young (1996) instauraram uma base de classificação utilizando o símbolo “*Co*”, referenciando *Colletotrichum*.

Têm-se descrito mais de 20 locos independentes de *Co* de resistência, encontrados entre os 11 cromossomos do feijoeiro, a partir de diferentes cultivares, sendo em sua maioria alelos dominantes (apenas *Co*-8 é descrito como alelo recessivo). Estudos localizaram genes de resistência a antracnose em regiões teloméricas dos cromossomos Pv01 e Pv04, chamando a atenção para estes (MURUBE et al., 2019). Locos como *Co*-1, *Co*-3, *Co*-4 e *Co*-5 possuem alelismo múltiplo, por exemplo *Co*-1 que pode variar alelicamente para *Co*-12, *Co*-13, *Co*-14 e *Co*-15. Os genes *Co*-7, *Co*-9 e *Co*-10 sofreram alteração na nomenclatura passando a ser denominados como *Co*-35, *Co*-33 e *Co*-34, respectivamente, todos pertencentes ao loco *Co*-3, sendo comprovado ligação entre estes através de marcadores moleculares (VIDIGAL FILHO et al., 2020).

Tabela 2 - Alelos de resistência a *Colletotrichum lindemuthianum*, cultivar em que o alelo foi identificado e seu respectivo cromossomo.

Loco	Cultivar	Cromossomo	Referência
Co-1	MDRK	Pv01	(MCROSTIE, 1919)
Co-1 ²	Kaboon	Pv01	(MELOTTO; KELLY, 2000)
Co-1 ³	Perry Marrow	Pv01	(MELOTTO; KELLY, 2000)
Co-1 ⁴	Widusa	Pv01	(GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2011)
Co-1 ⁵	Widusa	Pv01	(GONÇALVES-VIDIGAL; KELLY, 2006)
Co-2	Cornel 49-242	Pv11	(MASTENBROEK, 1960)
Co-3	México 222	Pv04	(BANNEROT, 1965)
Co-3 ²	México 226	Pv04	(FOUILLOUX, 1976, 1979)
Co-3 ³ (Co-9)	BAT 93	Pv04	(GEFFROY et al. 2008)
Co-3 ⁴ (Co-10)	Ouro Negro	Pv04	(VALENTINI et al., 2017)
Co-4	TO	Pv08	(FOUILLOUX, 1976, 1979)
Co-4 ²	G2333	Pv08	(YOUNG et al., 1998)
Co-4 ³	PI 207.262	Pv08	(ALZATE-MARIN et al., 2007)
Co-5	TU	Pv07	(ALZATE-MARIN et al., 2007)
Co-5 ²	G2333	Pv07	(VALLEJO; KELLY, 2009)
Co-6	AB 136	Pv07	(KELLY, J.D.; YOUNG, 1996)
Co-8	AB 136	-	(ALZATE-MARIN et al., 1997)
Co-11	Michelite	-	(GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2007)
Co-12	Jalo Vermelho	-	(GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2008)
Co-13	Jalo Listras Pretas	Pv03	(LACANALLO; GONÇALVES-VIDIGAL, 2015)
Co-14	Pitanga	-	(GONÇALVES-VIDIGAL et al., 2012)
Co-15	Corinthiano	Pv04	(SOUSA et al., 2015)
Co-16	Crioulo 159	Pv04	(COIMBRA-GONÇALVES et al., 2016)
Co-17	Paloma	Pv01	(CASTRO et al., 2017)
Co-u	BAT 93	Pv02	(GEFFROY et al., 2008)
Co-v	BAT 93	Pv07	(GEFFROY, 1997)
Co-x	Jalo EEP 558	Pv01	(RICHARD et al., 2014)
Co-w	Jalo EEP 558	Pv01	(GEFFROY et al., 2008)
Co-y	Jalo EEP 558	Pv04	(GEFFROY et al., 1999)
Co-z	Jalo EEP 558	Pv04	(GEFFROY et al., 1999)

Fonte: Tese de COSTA, 2019.

Costa et al. (2021) verificou que dois genes no Pv04 apresentavam resistência a dois isolados da raça 65 (Lv134 e Lv238). Neste estudo, observando a segregação 15R:1S na geração F2, percebeu-se que os alelos dominantes estariam conferindo resistência específica ao isolado utilizado. Desta forma, grande número de alelos estão envolvidos na resistência, o que dificultaria uma cultivar com resistência duradoura, visto que estes genes de resistência variam em função do isolado.

Vaz Bisneta et al. (2020) realizou um mapeamento genético de 465 genes candidatos a resistência contra antracnose. Dentre estes genes, 265 são codificadores de proteínas com domínios de ligação de nucleotídeos e regiões ricas em leucina (nucleotide-binding site e leucine-rich repeats - NBS-LRR), sendo as 200 restantes codificadoras de proteínas receptoras do tipo quinase (Receptor like-kinase – RLK).

2.5 Mecanismos de resistência de plantas

Ingle et al. (2015) diz que o fator determinante da resistência ou suscetibilidade de uma planta reside na sua especificidade de reconhecimento do patógeno, e efetiva resposta defensiva. Porém, para que estes eventos ocorram, torna-se necessária a comunicação entre o meio extracelular e o intracelular, visto que é esta interação que culmina na resposta imunológica da planta e, com isso, uma possível inibição das ações do patógeno.

A sinalização ocorre na detecção da presença do patógeno, ou de algum agente externo, pelos receptores de reconhecimento de padrão (Pattern Recognition Receptors – PRR) capazes de reconhecer padrões moleculares associados ao patógeno (Pathogen-associated Molecular Patterns – PAMP) ou microrganismos (Microbe-associated Molecular Patter – MAMP) (DE LA RUBIA et al., 2021). Estes reconhecimentos de padrões desencadeiam as respostas imunológicas, recebendo o nome de imunidade desencadeada por padrões (Pattern or PRR-triggered immunity – PTI). Este reconhecimento pode ser feito antes mesmo do patógeno adentrar a célula vegetal e causar danos. Porém o PTI “pressiona” o patógeno a desenvolver proteínas ou outras moléculas efetoras que possam suprimir esse reconhecimento e sistema de defesa da planta, inibindo sua ação. Neste caso, ocorre a suscetibilidade desencadeada por efetores (Effector-triggered susceptibility – ETS) (SAIJO et al., 2018; STERGIPOULOS et al., 2009).

Segundo a teoria gene-a-gene de Flor (1971), genes específicos de um hospedeiro e de um patógeno interagem entre si e determinam resistência ou suscetibilidade. Desta forma cada gene que condiciona resistência (um alelo dominante) no hospedeiro, existe um gene complementar no patógeno associado a avirulência (também sendo um alelo dominante). Quando estas proteínas de resistência (proteínas R) estão no meio extracelular, há uma sinalização e reconhecimento do patógeno, desencadeando uma cascata de reação da resposta imune específica. Caso o hospedeiro não possua o gene de reconhecimento do seu complementar presente no patógeno, esta planta não será capaz de responder imunologicamente, logo sendo suscetível.

Os efetores são proteínas específicas do patógeno, e recebem este nome assim que este consegue ultrapassar as barreiras extracelulares e começam a interferir intracelularmente. As proteínas R e os efetores são os genes complementares defendidos por Flor, ocorrendo uma interação entre os dois no sistema interno da célula, causando uma sensibilidade celular e consequentemente uma resposta de resistência ao serem percebidos um pelo outro (ANDERSEN et al., 2018).

Há duas diferenciações de resistência, chamadas de resistência genética vertical (qualitativa) ou horizontal (quantitativa). Vanderplank (1963) caracterizou estas resistências da seguinte forma: Resistência vertical é específica ao patógeno, controlada por um ou poucos genes, sendo seus alelos de resistência geralmente dominantes. A resistência horizontal é mais ampla, responsiva a várias raças do patógeno, contendo maior quantidade de genes de resistência, logo sendo mais duradoura.

2.6 Proteínas quinases

As sinalizações até aqui mencionadas podem ser explicadas a partir da interação de proteínas e moléculas, sendo as quinases do tipo receptoras (Receptor-like kinase - RLK) uma das principais responsáveis pela imunidade vegetal. As RLK's compõem uma grande família de proteínas, protagonistas como PRR, atuando como parte de um complexo de múltiplas proteínas de superfície celular (VAID et al., 2013).

2.6.1 WAK/WAKlike

Um grupo de grande destaque entre as RLKs, as kinases associadas à parede celular (WAK's) integram uma subfamília muito importante na sinalização celular. Como proteínas transmembrana, as WAK's apresentam um domínio extracelular, chamado galacturonan-binding domain (GUB), um domínio diferencial e exclusivo de fator de crescimento epidermal (EGF), um domínio transmembrana e um domínio intracelular serina-treonina quinase (Ser/Thr) (LIU et al., 2021). É importante ressaltar as proteínas WAK-like, que possuem funções relativamente semelhantes às WAK's na sinalização, porém, com seu domínio extracelular apresentando apenas um destes, GUB ou EGF (LI et al., 2022).

A interação entre meio externo e interno da célula permite a comunicação entre estas regiões, com os receptores identificando estímulos externos e os transmitindo ao espaço intracelular, resultando em respostas de expansão celular, tolerância a metais, defesa contra patógenos e resistência a estresses (ZHANG et al., 2021). Estudos mostram que as WAK possuem afinidade por pequenos oligossacarídeos de pectina, semelhante aos fragmentos de

degradação da parede celular, do que por cadeias maiores de pectina (KOHORN et al., 2014), logo as WAKs são associadas com a detecção da integridade da parede celular e respostas imunológicas (AMSBURY, 2020).

Diversas espécies de plantas modelos e cultivadas já possuem seu repertório de proteínas WAK/WAKL descrito e analisado. Para *Arabidopsis* 5 WAKs (AtWAK) e 22 WAKL (AtWAKL) foram catalogadas (VERICA; He, 2002). A subfamília WAK/WAKL também tem sido bem investigada no gênero *Gossypium*. Duas espécies diploides do gênero, *G. arboreum* (16 WAKs e 42 WAKLs) e *G. raimondii* (11 WAKs e 55 WAKLs), além de uma tetraploide, *G. hirsutum* (23 WAKs e 76WAKLs) já foram estudadas (ZHANG et al., 2021). Foram publicados outros estudos sobre WAK's em *Triticum aestivum*, *Pisum sativum*, *Oryza sativa* e *Nicotiana tabacum* (XIA et al., 2022; LI et al., 2023; ZHANG et al.,2005; LI et al., 2025).

Tabela 3 - Ploidia, tamanho do genoma, monocotiledonea ou dicotiledonea, número de WAK/WAKL e referências de algumas espécies

Species (Common name)	Ploidy	Genome size (Mb)	Monocot or Dicot	Number of WAKs	Number of WAKLs	Reference
<i>Brassica rapa</i> (Chinese cabbage)	Allotetraploid	352.8	Dicot	11	85	Zhang et al. (2020)
<i>Cannabis sativa</i> (Cannabis)	Diploid	875.7	Dicot	23	30	Sipahi et al. (2022)
<i>Gossypium arboreum</i> (Cotton)	Diploid	1 621	Dicot	16	42	Zhang et al. (2021)
<i>Gossypium raimondii</i> (Cotton)	Diploid	750.2	Dicot	11	55	Zhang et al. (2021)
<i>Gossypium hirsutum</i> (Cotton)	Allotetraploid	~2 250 - 2 430	Dicot	23	76	Zhang et al. (2021)
<i>Gossypium hirsutum</i> (Cotton)	Allotetraploid	~2 250 - 2 430	Dicot	29	N/A	Dou et al. (2021)
<i>Hordeum vulgare</i> (Barley)	Diploid	4 226	Monocot	91	N/A	Tripathi et al. (2021)
<i>Juglans mandshurica</i> (Walnut)	Diploid	528.2	Dicot	5	9	Li et al. (2022)
<i>Juglans regia</i> (Walnut)	Diploid	572.8	Dicot	11	16	Li et al. (2022)

<i>Malus domestica</i> (Apple)	Di- or triploid	703	Dicot	44	N/A	Zuo et al. (2019)
<i>Medicago truncatula</i> (Barrel medic)	Diploid	429.6	Dicot	54	N/A	Kong et al. (2023)
<i>Nicotiana benthamiana</i> (Tobacco)	Amphidiploid	N/A	Dicot	15	23	Zhong et al. (2023)
<i>Pisum sativum</i> (Pea)	Diploid	3 796	Dicot	24	N/A	Li et al. (2023)
<i>Rosa chinensis</i> (Rose)	Diploid	515.1	Dicot	23	45	Liu et al. (2021)
<i>Saccharum spontaneum</i> (Wild sugarcane)	Autopolyploid	2 761	Monocot	19	N/A	Wang et al. (2023)
<i>Sorghum bicolor</i> (Sorghum)	Diploid	708.8	Monocot	37	N/A	Wang et al. (2023)
<i>Sesame indicum</i> (Sesame)	Diploid	357	Dicot	N/A	31	Yan et al. (2023)
<i>Solanum lycopersicum</i> (Tomato)	Diploid	950	Dicot	11	18	Sun et al. (2020)
<i>Solanum lycopersicum</i> (Tomato)	Diploid	950	Dicot	5	N/A	Kurt et al. (2020)
<i>Solanum tuberosum</i> (Potato)	Tetraploid	705.8	Dicot	16	13	Yu et al. (2022)
<i>Triticum aestivum</i> (bread wheat)	Hexaploid	14 567	Monocot	320	N/A	Xia et al. (2022)
<i>Zea mays</i> (Maize)	Diploid	2 400	Monocot	N/A	58	Hu et al. (2023)

N/A – Nenhum dado registrado no referido artigo

Fonte: Adaptado de HARVEY (2024)

Apesar de sua significativa relevância, não se encontra estabelecida na literatura uma caracterização das proteínas WAK/WAKLs de *P. vulgaris*. Conforme observado para o tomateiro (*Solanum lycopersicum*), a compreensão sobre as funções das proteínas WAK no âmbito da interação planta-patógeno podem fornecer informações fundamentais para o melhoramento genético visando resistência a diversos patógenos (ZHANG et al., 2020).

REFERÊNCIAS

- AMSBURY, Sam. Sensing attack: the role of wall-associated kinases in plant pathogen responses. 2020.
- ANDERSEN, Ethan J. et al. Disease resistance mechanisms in plants. **Genes**, v. 9, n. 7, p. 339, 2018.
- ALZATE-MARIN, Ana Lilia et al. Inheritance of anthracnose resistance in common bean differential cultivar AB 136. **Plant Disease**, v. 81, n. 9, p. 996-998, 1997.
- ALZATE-MARIN, Ana Lilia et al. Genetic characterization of anthracnose resistance genes Co-4 3 and Co-9 in common bean cultivar tlalnepantla 64 (PI 207262). **Euphytica**, v. 154, n. 1, p. 1-8, 2007.
- BANNEROT, H. Résultats de l' infection d' une collection de haricots par six races physiologiques d' anthracnose. *Annales de l' Amelioration des Plantes, Paris*, v. 15, n. 2, p. 201–222, 1965.
- BARBOSA, Flávia Rabelo. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. 2012.
- BARCELOS, Quélen de Lima et al. Investigating the resistance of common bean germplasm to *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. e499324412, 2024.
- BARRUS, M. F. Variation of varieties of bean in their susceptibility to anthracnose. *Phytopathology*, v. 1, p. 190–195, 1911.
- BECERRA, Viviana; PAREDES, Mario; DEBOUCK, Daniel. Genetic relationships of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) race Chile with wild Andean and Mesoamerican germplasm. 2011.
- BITOCCHI, Elena et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. E788-E796, 2012.
- BOREL, Jerônimo Constantino et al. Genetic control of the angular leaf spot reaction in common bean leaves and pods. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 661-664, 2011.
- CARBONELL, S. A. M. et al. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. *Fitopatologica Brasileira*, v. 24, p. 60–65, 1999.
- CARDADOR-MARTÍNEZ, Anaberta; LOARCA-PIÑA, Guadalupe; OOMAH, B. Dave. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 24, p. 6975-6980, 2002.
- CASTRO, S. A. L. et al. Genetics and mapping of a new anthracnose resistance locus in Andean common bean Paloma. **BMC Genomics**, London, v. 18, n. 1, p. 1–12, Apr. 2017.

COIMBRA-GONÇALVES, Gislayne K. et al. Characterization and mapping of anthracnose resistance gene in Mesoamerican common bean cultivar Crioulo 159. **Crop Science**, v. 56, n. 6, p. 2904-2915, 2016.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 12, safra 2024/25, n. 11 décimo primeiro levantamento, agosto 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/safra/safra-de-graos/boletim-da-safra-de-graos/11o-levantamento-safra-2024-25/11o-levantamento-safra-2024-25>

COSTA, Larissa Carvalho et al. Different loci control resistance to different isolates of the same race of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, n. 2, p. 543-556, 2021.

COSTA, L. C. et al. Mapeamento de genes de resistência a diferentes isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* e seleção recorrente visando à resistência a antracnose do feijoeiro. Orientadora: Dra. Elaine Aparecida de Souza. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

DA SILVA, Osmira Fátima; WANDER, Alcido Elenor. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2013.

DE LA RUBIA, Alfonso Gonzalo et al. Perception and first defense responses against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in *Phaseolus vulgaris*: Identification of Wall-Associated Kinase Receptors. **Phytopathology®**, v. 111, n. 12, p. 2332-2342, 2021.

DOU, Lingling et al. Genome-wide characterization of the WAK gene family and expression analysis under plant hormone treatment in cotton. **BMC genomics**, v. 22, n. 1, p. 85, 2021.

FAO. (2025). FAOSTAT Statistical Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QI>. Acesso em: 10 jul. 2025.

FLOR, H. H. The complementary genic systems in flax and flax rust. **Advances in genetics**, v. 8, p. 29-54, 1956.

FLOR, Harold H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual review of phytopathology**, v. 9, n. 1, p. 275-296, 1971.

FOUILLOUX, G. Bean anthracnose: new genes of resistance. **Ann Rep Bean Improv Coop**, v. 19, p. 36-37, 1976.

FOUILLOUX, G. New races of bean anthracnose and consequences on our breeding programs. 1979.

GEFFROY, V. Dissection génétique de la résistance à *Colletotrichum lindemuthianum*, agente de l' anthracnose, chez deux génotypes représentatifs des pools géniques de *Phaseolus vulgaris* L. 1997. 263 p. Thesis (PhD) - Institut National Agronomique Paris Grignon, France, 1997.

GEFFROY, V. et al. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 12, n. 9, p. 774-784, Sept. 1999.

GEFFROY, Valérie et al. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in *Phaseolus vulgaris*: a case study for mapping two independent genes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 116, n. 3, p. 407-415, 2008.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; KELLY, J. D. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. *Euphytica*, Wageningen, v. 151, n. 3, p. 411–419, Sept. 2006.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Allelic relationships of anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) resistance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Michelite and the proposal of a new anthracnose resistance gene, Co-11. *Genetics and Molecular Biology*, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 589–593, 2007.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; LACANALLO, G. F.; VIDIGAL FILHO, P. S. A new gene conferring resistance to anthracnose in Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar ‘Jalo Vermelho’. **Plant Breeding**, v. 127, n. 6, p. 592-596, 2008.

GONÇALVES-VIDIGAL, Maria Celeste et al. Linkage mapping of the Phg-1 and Co-1 4 genes for resistance to angular leaf spot and anthracnose in the common bean cultivar AND 277. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 122, n. 5, p. 893-903, 2011.

GONÇALVES-VIDIGAL, Maria C. et al. Genetic analysis of anthracnose resistance in ‘Pitanga’ dry bean cultivar. **Plant breeding**, v. 131, n. 3, p. 423-429, 2012.

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. et al. Co-segregation analysis and mapping of the anthracnose Co-10 and angular leaf spot Phg-ON disease-resistance genes in the common bean cultivar Ouro Negro. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 9, p. 2245-2255, 2013.

GUPTA, Chainika et al. Phylogeny and pathogenicity of *Colletotrichum lindemuthianum* causing anthracnose of *Phaseolus vulgaris* cv. Bhaderwah-Rajmash from northern Himalayas, India. **3 Biotech**, v. 12, n. 8, p. 169, 2022.

GUPTA, C. et al. Screening of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm against *Colletotrichum lindemuthianum* inciting bean anthracnose. **Research Journal of Biotechnology Vol**, v. 17, p. 1, 2022.

HABGOOD, R. M. Designation of physiological races of plant pathogens. **Nature**, v. 227, n. 5264, p. 1268-1269, 1970.

HAILEMARIAM, Nebiyat; WADA, Eyasu; REZENE, Yayis. Virulence and genetic variability among *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara isolates from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 37, n. 1, p. 2206493, 2023.

HARVEY, Aaron; VAN DEN BERG, Noelani; SWART, Velushka. Describing and characterizing the WAK/WAKL gene family across plant species: a systematic review. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1467148, 2024.

HAYAT, Imran et al. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 5, p. 580-592, 2014.

HOOD, William W.; WILSON, Concepción S. The literature of bibliometrics, scientometrics, and informetrics. **Scientometrics**, v. 52, n. 2, p. 291-314, 2001.

HU, Kun et al. Insights into ZmWAKL in maize kernel development: genome-wide investigation and GA-mediated transcription. **BMC genomics**, v. 24, n. 1, p. 760, 2023.

HUERTAS, Raul et al. Iron and zinc bioavailability in common bean (*Phaseolus vulgaris*) is dependent on chemical composition and cooking method. **Food Chemistry**, v. 387, p. 132900, 2022.

INGLE, Robert A. et al. Jasmonate signalling drives time-of-day differences in susceptibility of *Arabidopsis* to the fungal pathogen *Botrytis cinerea*. **The Plant Journal**, v. 84, n. 5, p. 937-948, 2015.

KELLY, J. D.; YOUNG, R. A. Proposed symbols for anthracnose resistance genes. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, v. 39, p. 20-24, 1996.

KOHORN, Bruce D. et al. Requirement for pectin methyl esterase and preference for fragmented over native pectins for wall-associated kinase-activated, EDS1/PAD4-dependent stress response in *Arabidopsis*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 27, p. 18978-18986, 2014.

KONG, Weiyi et al. Genome-wide analysis of the wall-associated kinase (WAK) genes in *Medicago truncatula* and functional characterization of MtWAK24 in response to pathogen infection. **Plants**, v. 12, n. 9, p. 1849, 2023.

KURTZ, M.J. and BOLLEN, J. (2010), Usage bibliometrics. *Ann. Rev. Info. Sci. Tech.*, 44: 1-64.

KURT, Firat; KURT, Barış; FILİZ, Ertugrul. Wall associated kinases (WAKs) gene family in tomato (*Solanum lycopersicum*): Insights into plant immunity. **Gene Reports**, v. 21, p. 100828, 2020.

LACANALLO, Giselly Figueiredo; GONÇALVES-VIDIGAL, Maria Celeste. Mapping of an andean gene for anthracnose resistance ('Co-13') in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Jalo Listras Pretas landrace. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 5, p. 394-400, 2015.

LEMOS, Roxane do Carmo et al. A half century of a bean breeding program in the South and Alto Paranaíba regions of Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 2, p. e295420211, 2020.

LI, Mengdi et al. Identification and characterization of wall-associated kinase (WAK) and WAK-like (WAKL) gene family in *Juglans regia* and its wild related species *Juglans mandshurica*. **Genes**, v. 13, n. 1, p. 134, 2022.

LI, Xuewen et al. The wall-associated kinase gene family in pea (*Pisum sativum*) and its function in response to B deficiency and Al toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v. 287, p. 154045, 2023.

LI, Ling et al. Identification and functional analysis of Wall-Associated Kinase genes in *Nicotiana tabacum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, p. 1543437, 2025.

LIU, Xintong et al. Characterization of wall-associated kinase/wall-associated kinase-like (WAK/WAKL) family in rose (*Rosa chinensis*) reveals the role of RcWAK4 in *Botrytis* resistance. **BMC plant biology**, v. 21, n. 1, p. 526, 2021.

LIU, Yang; HE, Hailong. Scientometrics of scientometrics based on web of science core collection data between 1992 and 2020. **Information**, v. 14, n. 12, p. 637, 2023.

MARTINS, E. S. et al. Genetic control of number of flowers and pod set in common bean. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, p. 1-14, 2017.

MASTENBROEK, C. A breeding programme for resistance to anthracnose in dry shell haricot beans, based on a new gene. 1960.

MCROSTIE, G. P. Inheritance of anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistant and a susceptible bean. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 9, p. 141–148, 1919.

MELOTTO, M.; KELLY, J. D. An allelic series at the Co-1 locus conditioning resistance to anthracnose in common bean of Andean origin. *Euphytica*, Wageningen, v. 116, n. 2, p. 143–149, Nov. 2000.

MIKLAS, Phillip N. et al. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. **Euphytica**, v. 147, n. 1, p. 105-131, 2006.

MOHAMMED, Amin. An overview of distribution, biology and the management of common bean anthracnose. **J Plant Pathol Microbiol**, v. 4, n. 8, p. 1-6, 2013.

MURUBE, Ester; CAMPA, Ana; FERREIRA, Juan José. Integrating genetic and physical positions of the anthracnose resistance genes described in bean chromosomes Pv01 and Pv04. **PLoS One**, v. 14, n. 2, p. e0212298, 2019.

NALIMOV, Vasilliĭ Vasil'evich; MULCHENKO, Zinaida Maksimovna. Measurement of Science. Study of the Development of Science as an Information Process. 1971.

NEYLON, Cameron; WU, Shirley. level metrics and the evolution of scientific impact. **PLoS biology**, v. 7, n. 11, p. e1000242, 2009.

NUNES, Maria Paula Barion A. et al. Relationship of *Colletotrichum lindemuthianum* races and resistance loci in the *Phaseolus vulgaris* L. genome. **Crop Science**, v. 61, n. 6, p. 3877-3893, 2021.

O'CONNELL, R. J.; BAILEY, J. A.; RICHMOND, D. V. Cytology and physiology of infection of *Phaseolus vulgaris* by *Colletotrichum lindemuthianum*. **Physiological plant pathology**, v. 27, n. 1, p. 75-98, 1985.

O'LEARY, Daniel E. The relationship between citations and number of downloads in Decision Support Systems. **Decision support systems**, v. 45, n. 4, p. 972-980, 2008.

PASTOR-CORRALES, M. A. Estandarizacion de variedades diferenciales y de designacion de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Phytopathology*, v. 81, p. 694, 1991.

PINTO, J. M. A. et al. Investigating phenotypic variability in *Colletotrichum lindemuthianum* populations. **Phytopathology**, v. 102, n. 5, p. 490-497, 2012.

PRABHA, Deepti et al. Multiple genes confer anthracnose resistance in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions of Garhwal Himalayas. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 69, n. 2, p. 809-821, 2022.

- RAVA, C. A. Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. 1994.
- RICHARD, Manon MS et al. Fine mapping of Co-x, an anthracnose resistance gene to a highly virulent strain of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, n. 7, p. 1653-1666, 2014.
- ROTOLO, Daniele et al. Scientometric Mapping as a Strategic Intelligence Tool for the Governance of Emerging Technologies. 2014.
- SAIJO, Yusuke; LOO, Eliza Po-iiian; YASUDA, Shigetaka. Pattern recognition receptors and signaling in plant–microbe interactions. **The Plant Journal**, v. 93, n. 4, p. 592-613, 2018.
- SCHMUTZ, Jeremy et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707-713, 2014.
- SHIMELIS, Emire Admassu; RAKSHIT, Sudip Kumar. Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. **LWT-Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 331-338, 2005.
- SOUSA, Lorenna L. et al. Genetic characterization and mapping of anthracnose resistance of common bean landrace cultivar Corinthiano. **Crop Science**, v. 55, n. 5, p. 1900-1910, 2015.
- SIPAHI, Hülya et al. Genome-Wide identification and expression analysis of Wall-Associated Kinase (WAK) gene family in *Cannabis sativa* L. **Plants**, v. 11, n. 20, p. 2703, 2022.
- STERGIOPOULOS, I.; DE WIT, P. J. G. M. Fungal effector proteins. Annual review of phytopathology, v. 47, p. 233–263, 2009.
- SUN, Zongyan et al. Genome-wide identification, classification, characterization, and expression analysis of the wall-associated kinase family during fruit development and under wound stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Genes**, v. 11, n. 10, p. 1186, 2020.
- TEIXEIRA, Flavia França; RAMALHO, Magno Antonio Patto; ABREU, Ângela de Fátima Barbosa. Genetic control of plant architecture in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 577-582, 1999.
- TRIPATHI, Rajiv K.; AGUIRRE, John A.; SINGH, Jaswinder. Genome-wide analysis of wall associated kinase (WAK) gene family in barley. **Genomics**, v. 113, n. 1, p. 523-530, 2021.
- VAID, Neha; MACOVEI, Anca; TUTEJA, Narendra. Knights in action: lectin receptor-like kinases in plant development and stress responses. **Molecular plant**, v. 6, n. 5, p. 1405-1418, 2013.
- VALENTINI, Giseli et al. High-resolution mapping reveals linkage between genes in common bean cultivar Ouro Negro conferring resistance to the rust, anthracnose, and angular leaf spot diseases. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, n. 8, p. 1705-1722, 2017.
- VALLEJO, Veronica; KELLY, James D. New insights into the anthracnose resistance of common bean landrace G 2333. **Open Hort J**, v. 2, n. 1, p. 29-33, 2009.
- VANDERPLANK, J. E. Plant diseases: Epidemics and control. New York: Academic Press, 1963. 349 p.

VAZ BISNETA, Mariana; GONÇALVES-VIDIGAL, Maria Celeste. Integration of anthracnose resistance loci and RLK and NBS-LRR-encoding genes in the *Phaseolus vulgaris* L. genome. **Crop Science**, v. 60, n. 6, p. 2901-2918, 2020.

VERICA, Joseph A.; HE, Zheng-Hui. The cell wall-associated kinase (WAK) and WAK-like kinase gene family. **Plant physiology**, v. 129, n. 2, p. 455-459, 2002.

VIDIGAL FILHO, Pedro S. et al. Genome-wide association study of resistance to anthracnose and angular leaf spot in Brazilian Mesoamerican and Andean common bean cultivars. **Crop Science**, v. 60, n. 6, p. 2931-2950, 2020.

VIEIRA, C. de et al. Melhoramento do feijão. **Melhoramento de espécies cultivadas**, v. 2, p. 301-391, 2005.

WANG, Xianwen; WANG, Zhi; XU, Shenmeng. Tracing scientist's research trends realtimely. **Scientometrics**, v. 95, n. 2, p. 717-729, 2013.

WANG, Dongjiao et al. Identification and characterization of WAK gene family in *Saccharum* and the negative roles of ScWAK1 under the pathogen stress. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 224, p. 1-19, 2023.

XIA, Xiaobo et al. Characterization of the WAK gene family reveals genes for FHB resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 13, p. 7157, 2022.

YAN, Wenqing et al. Genome-wide characterization of the wall-associated kinase-like (WAKL) family in sesame (*Sesamum indicum*) identifies a SiWAKL6 gene involved in resistance to *Macrophomina Phaseolina*. **BMC Plant Biology**, v. 23, n. 1, p. 624, 2023.

YOUNG, R. A. et al. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, 'G2333'. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 96, n. 1, p. 87-94, 1998.

YU, Huifang et al. Genome-wide identification and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Biotechnology Reports**, v. 16, n. 3, p. 317-331, 2022.

ZHANG, Shibo et al. Evolutionary expansion, gene structure, and expression of the rice wall-associated kinase gene family. **Plant physiology**, v. 139, n. 3, p. 1107-1124, 2005.

ZHANG, Bin et al. Comprehensive analysis of wall-associated kinase genes and their expression under abiotic and biotic stress in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 1, p. 72-86, 2020.

ZHANG, Ning et al. Tomato wall-associated kinase SIWak1 depends on Fls2/Fls3 to promote apoplastic immune responses to *Pseudomonas syringae*. **Plant physiology**, v. 183, n. 4, p. 1869-1882, 2020.

ZHANG, Zhiqiang et al. Characterization and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) and WAK-like family in cotton. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, p. 867-879, 2021.

ZHONG, Xueting et al. Genome-wide identification and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) and WAK-like kinase gene family in response to tomato yellow leaf curl virus infection in *Nicotiana benthamiana*. **BMC Plant Biology**, v. 23, n. 1, p. 146, 2023.

ZUIDERVEEN, Grady H. et al. Genome-wide association study of anthracnose resistance in Andean beans (*Phaseolus vulgaris*). **PloS one**, v. 11, n. 6, p. e0156391, 2016.

ZUO, Cunwu et al. Genome-wide annotation and expression responses to biotic stresses of the WALL-ASSOCIATED KINASE-RECEPTOR-LIKE KINASE (WAK-RLK) gene family in Apple (*Malus domestica*). **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, n. 3, p. 771-785, 2019.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

Artigo 1 – Redigido conforme a norma NBR 6022	
Título do artigo:	<i>Phaseolus vulgaris</i> e antracnose: uma abordagem cienciométrica
Autores:	Gabriel César Ferreira Elenildo dos Santos Oliveira Yasmin Maciel Meireles Costa Welison Andrade Pereira



***Phaseolus vulgaris* e antracnose: uma abordagem cienciométrica**

***Phaseolus vulgaris* and anthracnose: a scientometric approach**

Resumo

O feijão comum é uma das leguminosas mais consumidas globalmente, sendo fonte de vitaminas, proteínas, minerais e carboidratos. Com alta produtividade e sendo amplamente produzido no Brasil e Índia, esta planta é suscetível a fatores abióticos e bióticos em sua produção. Este estudo utiliza da cienciométrica como estratégia e metodologia para elaboração de uma pesquisa bibliográfica acerca do feijão comum e sua doença, a antracnose, causada pelo agente patogênico *Colletotrichum lindemuthianum*. Utilizando o banco de dados presentes do Web of Science (WoS), foram utilizados 261 artigos publicados entre os anos de 2004 e 2024, utilizando as palavras-chave como critérios de busca: “*Phaseolus vulgaris*”, “*Colletotrichum lindemuthianum*” e “anthracnose”. A análise de dados resultou em autores relevantes, principais países com pesquisas no tema, instituições de ensino, principais palavras-chave e revistas destaque em publicações. O Brasil é um dos países com maior número de pesquisas na área, destacando a autora Maria Celeste Gonçalves-Vidigal com a maior taxa de publicações. Foi perceptível interesse da Índia sobre o assunto após o ano de 2019, período em que a taxa de publicações quase dobrou em cinco anos. Este trabalho visa acompanhar o processo de produção científica sobre o tema, evidenciando principais autores, países, periódicos que publicaram no determinado espaço de tempo definido.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, anthracnose, *Colletotrichum lindemuthianum*, doença de plantas, cienciométrica

Abstract

The common bean is one of the most widely consumed legumes worldwide, serving as a source of vitamins, proteins, minerals, and carbohydrates. With high productivity and being extensively cultivated in Brazil and India, this crop is susceptible to both abiotic and biotic factors that affect its production. This study employs scientometrics as a strategy and methodology to develop a bibliographic analysis of the common bean and its disease, anthracnose, caused by the pathogenic agent *Colletotrichum lindemuthianum*. Using the Web of Science (WoS) database, 261 articles published between 2004 and 2024 were analyzed, applying the keywords “*Phaseolus vulgaris*,” “*Colletotrichum lindemuthianum*,” and “anthracnose” as search criteria. Data analysis identified leading authors, the main countries

conducting research on the topic, academic institutions, prominent keywords, and the most relevant journals in terms of publications. Brazil stands out as one of the countries with the highest number of studies in this field, with Maria Celeste Gonçalves-Vidigal presenting the highest publication rate. An increasing interest from India was observed after 2019, when the publication rate nearly doubled over a five-year period. This study aims to monitor the scientific production process on this topic, highlighting the main authors, countries, and journals that published within the defined time frame.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, anthracnose, *Colletotrichum lindemuthianum*, plant disease, scientometrics

1 Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é uma importante fonte de vitaminas, proteínas, minerais e carboidratos, sendo consumido globalmente e cultivado em aproximadamente 100 países (Nunes, 2021). Possui ampla produção ao longo do ano, com três safras bem definidas, o que torna o feijão comum mais exposto a doenças e estresses abióticos (Silva; Wander, 2013). A antracnose, doença causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma das principais a acometer a leguminosa, podendo ocasionar perdas significativas, inclusive totais, em genótipos suscetíveis e condições propícias ao fungo.

Deformidades morfológicas nas plantas e vagens como lesões foliares na planta hospedeira, escurecimento das folhas, enfraquecimento das estruturas e lesões na vagem, seguidas de anel preto são os principais sintomas identificados (Mohammed, 2013; Vechiato, 2001).

Esforços vêm sendo feitos para controle dessa doença, visto que o fungo apresenta alta variabilidade genética e diferenciação entre isolados. Assim, para mitigar os impactos da antracnose, buscam-se alternativas genéticas e bioquímicas, visando resistência. Com os avanços tecnológicos e do melhoramento genético, busca-se identificar e integrar genes de resistência nas plantas. O que se busca é a resistência duradoura, uma vez que a cultivar apresentará resistência ao longo muitas gerações, desde que o patógeno não suprima essa resistência (Nkalubo et al., 2009).

Por ser um problema econômico e social, considerando o prejuízo que a doença traz durante o plantio, estudos e pesquisa são desenvolvidas acarretando artigos e publicações. Diante de um vasto espectro de produções científicas, por vezes torna-se uma tarefa árdua saber quais são de grande impacto ou mesmo saber escolher os melhores materiais que servirão de base para publicações futuras. Acredita-se que conhecer o perfil dos avanços científicos possa contribuir para o planejamento eficaz de novas pesquisas. Nesse sentido, a cienciometria surge como uma ferramenta potencial (Salinas-Ríos, 2022). Ela é uma análise quantitativa/qualitativa da ciência ou campo científico mais restrito (Hess, 1997). Isso possibilita comparar, objetificar, quantificar e analisar as diversas características do desenvolvimento científico na área (Vanti, 2002) e, com isso, reunir o que há de mais moderno sobre uma determinada área do conhecimento dentro de um lapso temporal definido, contribuindo para identificar tendências e acompanhar a evolução da pesquisa (Spinak, 1998).

Até onde se sabe, não há publicações que, de forma quantitativa e organizada, tenham reunido o conhecimento de ponta sobre o patossistema em foco. Portanto, nosso estudo visa, de forma sistemática e à luz da cienciometria, avaliar o panorama global das pesquisas sobre

resistência do feijoeiro (*P. vulgaris*) ao *C. lindemuthianum* no período de 2004 a 2024. Dentre as principais métricas obtidas, pretende-se: (1) identificar os autores mais relevantes, (2) as principais regiões de pesquisa e (3) os pontos com maior impacto científico sobre o tema.

2 Materiais e métodos

Utilizou-se o modelo estabelecido por Aria e Cuccurullo (2017) de recomendação de fluxo de trabalho para mapeamento científico. Nesta, a metodologia consiste em (1) Delineamento do estudo, (2) Coleta de dados, (3) análise de dados, (4) visualização de dados e (5) interpretação. A coleta de dados é dividida em três sub-etapas: “Recuperação de dados”, “carregamento e conversão” e “limpeza de dados”, consideradas as principais pois serão feitos os ajustes e refinamentos necessários.

2.1 Recuperação de dados

A obtenção dos artigos foi feita através do site Web of Science. Utilizou-se como critério palavras-chave que remetesse ao tópico de estudo, sendo elas: “*phaseolus vulgaris*” [AND] “*colletotrichum lindemuthianum*” [AND] “anthracnose”. A utilização do operador booleano “[AND]” foi uma estratégia para direcionar a busca para artigos que falassem dos três assuntos, logo que a antracnose não acomete apenas a cultura do feijoeiro. A busca foi feita com filtragem para “artigos”, removendo artigos de revisão, cartas, notas, capítulos de livros, dentre outros. Usamos um lapso temporal de 20 anos entre os anos 2004 à 2024.

2.2 Carregamento e conversão de dados

Esta etapa serve para padronizar os dados coletados dos artigos, e desta forma convertê-los para um formato que seja possível a leitura pelas ferramentas de bibliometria. Os artigos foram baixados no formato “plain text” diretamente do WoS, posteriormente submetidos ao software R Studio (R Core Team 2024) no qual realizou-se um tratamento dos dados via script através do pacote Bibliometrix 4.3.3 (Aria e Cuccurullo, 2017), convertendo os arquivos para o formato “.xlsx”. As informações foram agrupadas em colunas de acordo com os temas como autor, palavras-chave etc. Desta forma, o arquivo está adaptado às configurações do Biblioshiny, software online que processará as informações em imagens.

2.3 Limpeza de dados

Para haver uma boa qualidade dos resultados, é necessária uma apuração das informações. É interessante observar as citações e a maneira como estão descritas, citações de

referências podem conter abreviações diferentes do nome do autor, sendo necessário ajuste. Os dados passaram por um pré-processamento para evitar inconsistências, como duplicatas, informações redundantes e mau agrupamento. Para isso utilizamos a planilha do excel no formato “.xlsx”.

Dentro do Biblioshiny é possível acrescentar um bloco de notas com sinônimos e exceções, principalmente para tópicos como palavras-chave, títulos e campos de estudo. Compreender possíveis sinônimos da pesquisa faz-se uma etapa importante para haver um agrupamento concreto destas informações e não ficarem palavras soltas, mas de mesmo significado. Desta forma preposições como “De/Da” e artigos “a/e/o” foram excluídos, já que o biblioshiny considerou-os palavras individuais, afetando o resultado das palavras-chave. Quanto aos sinônimos “*Phaseolus vulgaris*” e “*P. vulgaris*” foram agrupadas como uma palavra só, visto que se referem ao mesmo dado.

Acentuação e espaçamento são outro tópico que pode alterar o agrupamento, sendo necessário a exclusão destes modificadores diretamente no banco de dados a ser informado no software.

3 Resultados

Dentro do limite temporal de 20 anos, as buscas resultaram em 261 artigos de pesquisa relacionados aos temas *P. vulgaris* e antracnose, publicados por 101 periódicos diferentes, com participação total de 805 autores (Fig. 1).

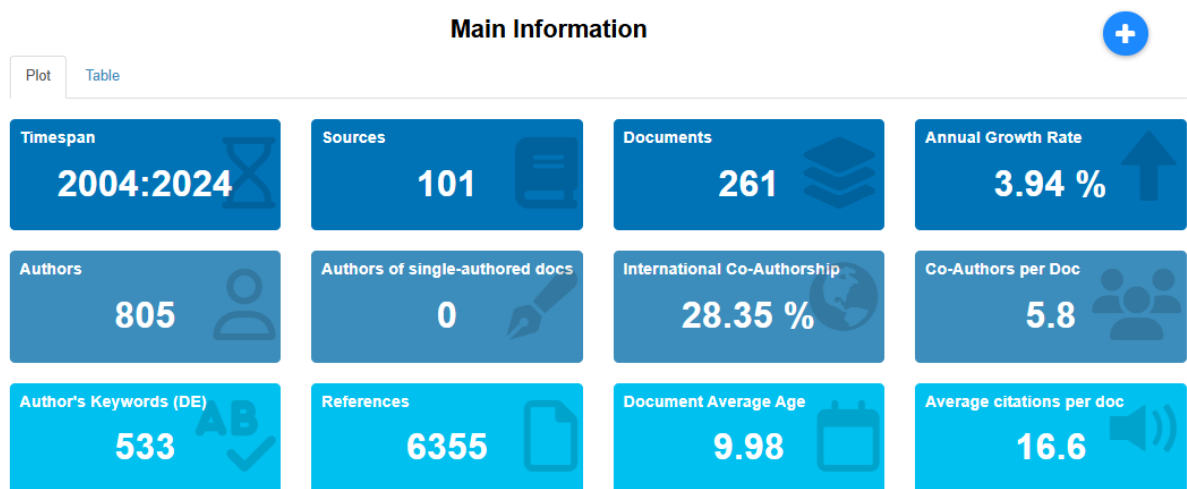


Fig. 1 – Valores totais das principais informações encontradas: intervalo de tempo, periódicos, documentos, proporção de crescimento anual, autores, parceria autoral internacional, coautoria, palavras chaves, referencias, idade média dos documentos e média de citações.

3.1 Autores

Ao total, 805 autores publicaram sobre *Phaseolus vulgaris* AND *Colletotrichum lindemuthianum*. A fim de tornar a apresentação dos resultados mais objetiva e concisa, limitou-se a ilustrar os 10 pesquisadores que mais produziram artigos sobre o objeto de pesquisa (Fig. 2). Entre os 10 que apresentaram os maiores números de artigos publicados, houve uma variação de 11 a 23 trabalhos. Através dos artigos selecionados, foi observado que Maria Celeste Gonçalves-Vidigal (GONCALVES-VIDIGAL, M. CELESTE) liderou com 23 artigos publicados, sendo seguida por Robert Conner (CONNER, ROBERT L.) com 21 artigos e James Kelly (KELLY, JAMES D.) com 18 artigos.

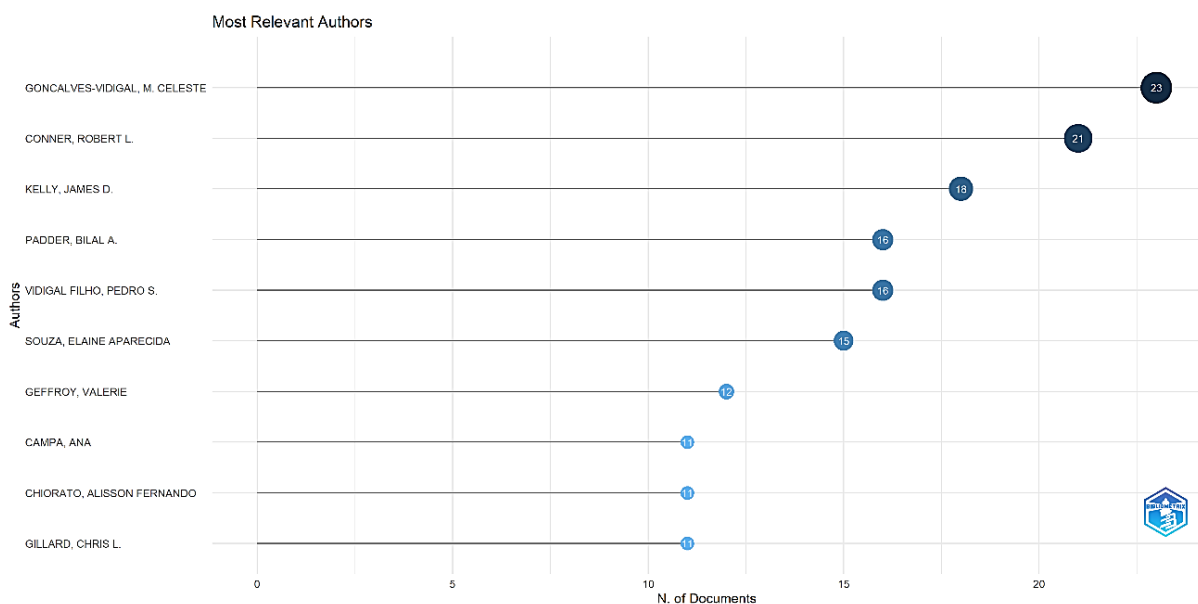


Fig. 2 – Autores mais relevantes e número total de publicações em 20 anos

A figura 3 informa a produtividade dos autores mencionados ao longo dos anos. Em concordância com a figura 2, pode-se perceber a taxa de publicações dos referidos autores. Maria Celeste Gonçalves-Vidigal apresenta constância em suas publicações, possuindo pequenas lacunas entre os anos, sendo o ano de 2020 sua maior taxa de publicação, com 4 artigos, e de citação, visto a opacidade do círculo. Robert Conner segue a lista em segundo lugar, com taxa constante de publicações, mas sem um número relevante de citações, enquanto James Kelly, em terceiro lugar, publica artigos pontuais ao longo dos anos, mas sua taxa de citações é elevada, conforme observado no ano de 2016.

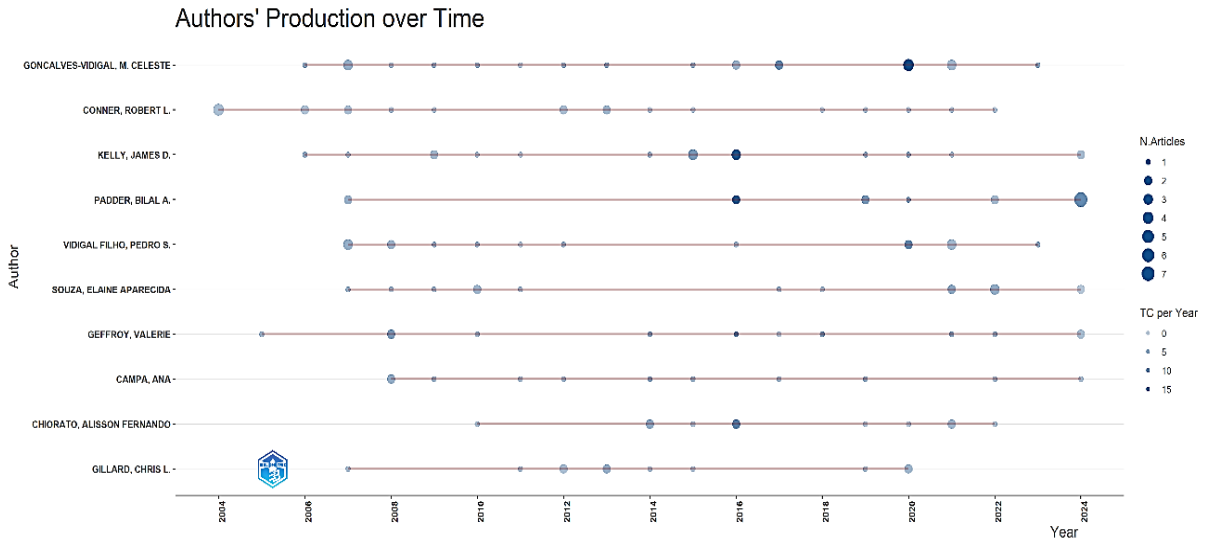


Fig. 3 – Produtividade dos autores ao longo de 20 anos, contendo quantidade de artigos publicados e de citações. Círculos representam o ano dos artigos publicados, tamanho a quantidade destes em uma mesma data e coloração a média de citações, sendo círculos mais claros menos citados, enquanto os mais escuros apresentaram maior taxa de citações.

Na figura 4 é informado os países dos referidos autores, podendo observar se a pesquisa foi realizada com ou sem parceria entre os países. As barras do gráfico são formadas pela união da quantidade dos artigos destes, sendo as barras vermelhas a quantidade de publicações que possuíram autores de diferentes países envolvidos (MCP) e as barras azuis referem-se as pesquisas com autores de um mesmo país (SCP).

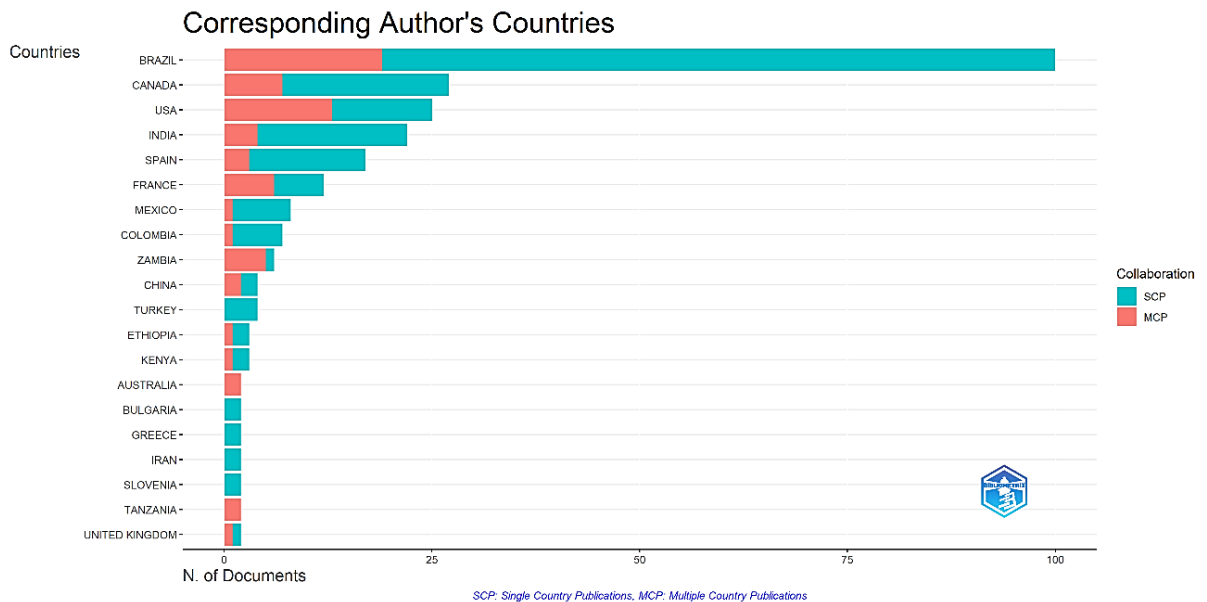


Fig. 4 – Proporção da nacionalidade dos autores e correlação da parceria entre países nas taxas de publicação.

Conforme a figura 5, estabelecemos um mapa de interação entre os autores, podendo inferir algumas questões. É perceptível que os autores que mais possuem artigos publicados

de acordo com a figura 2 interagem entre si, publicando juntos. É observado também que os autores tendem a publicar entre seus grupos, cada cluster é separado por uma cor, e pode-se perceber que as linhas mais grossas (resultante da quantidade de publicações em conjunto) estão presentes em círculos de cores semelhantes, como o caso de Gonçalves-Vidigal e Vidigal Filho, ambos em rosa.

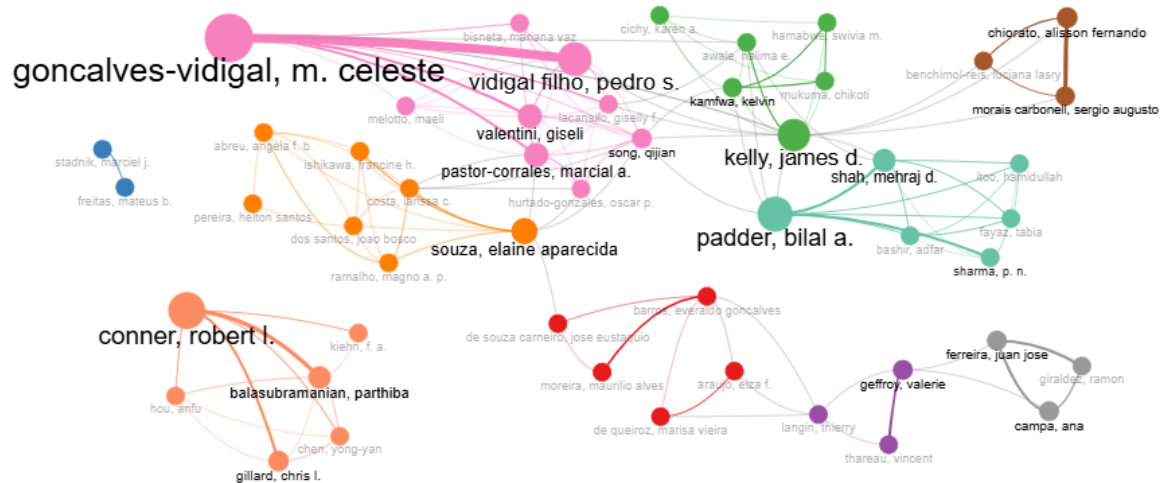


Fig. 5 – Rede de interações entre autores

3.2 Países

Dentre os 261 artigos, é possível definir quais países apresentam maior influência na pesquisa relacionada ao *C. lindemuthianum*/antracnose. Na figura 6 pode-se observar quais países pesquisam sobre o tema, assim como estabelecer um parâmetro de proporção, no qual os países com a coloração azulada mais escura concentram maior quantidade de publicações, enquanto países mais claros contém uma menor quantidade de publicações. É evidente a rede de colaboração entre estes países e como se estabelece a comunicação entre eles.

Country Collaboration Map

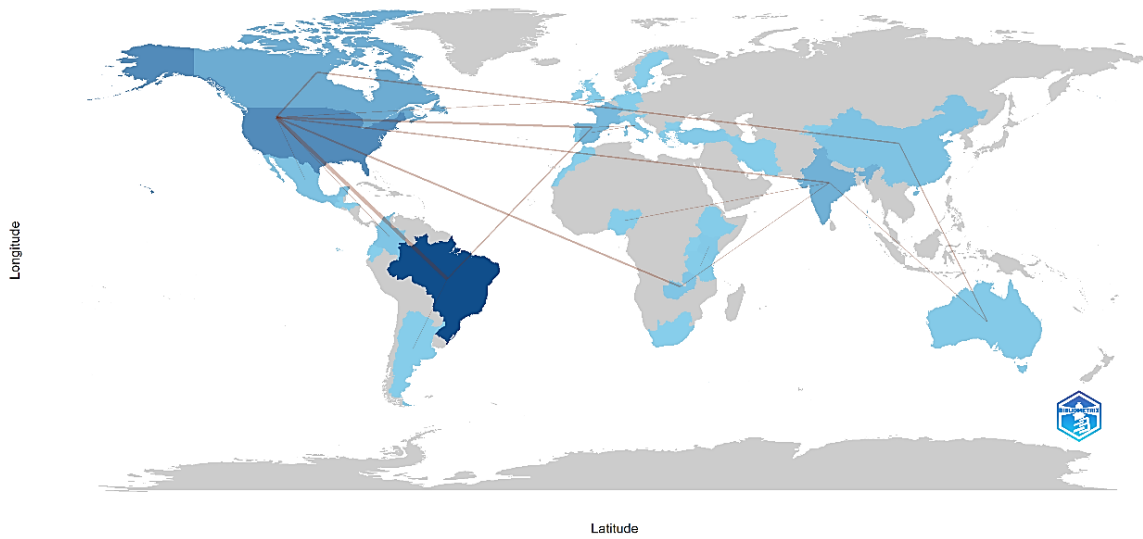


Fig. 6 – Mapa de colaboração entre os países

Na figura 7 é possível identificar as interações em forma de clusters e com maiores detalhes. Países que realizam grandes interações tendem a ficarem próximos e com coloração semelhante. Conforme a imagem anterior, os Estados Unidos (USA) realizam a maior quantidade de interações, enquanto o Brasil apresenta a maior quantidade de publicações, desta forma apresentando círculo maior que dos outros países na figura 7.

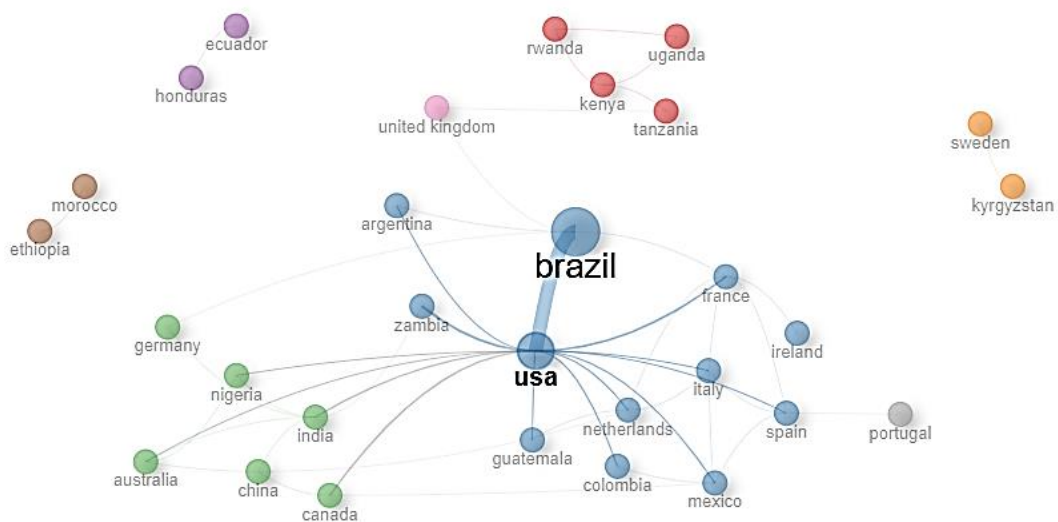


Fig. 7 – Rede de interação entre os países

No gráfico da figura 8, infere-se como desenvolveu a pesquisa no decorrer dos 20 anos. O Brasil encontra-se no topo das publicações, apresentando um crescimento exponencial em relação aos demais países.

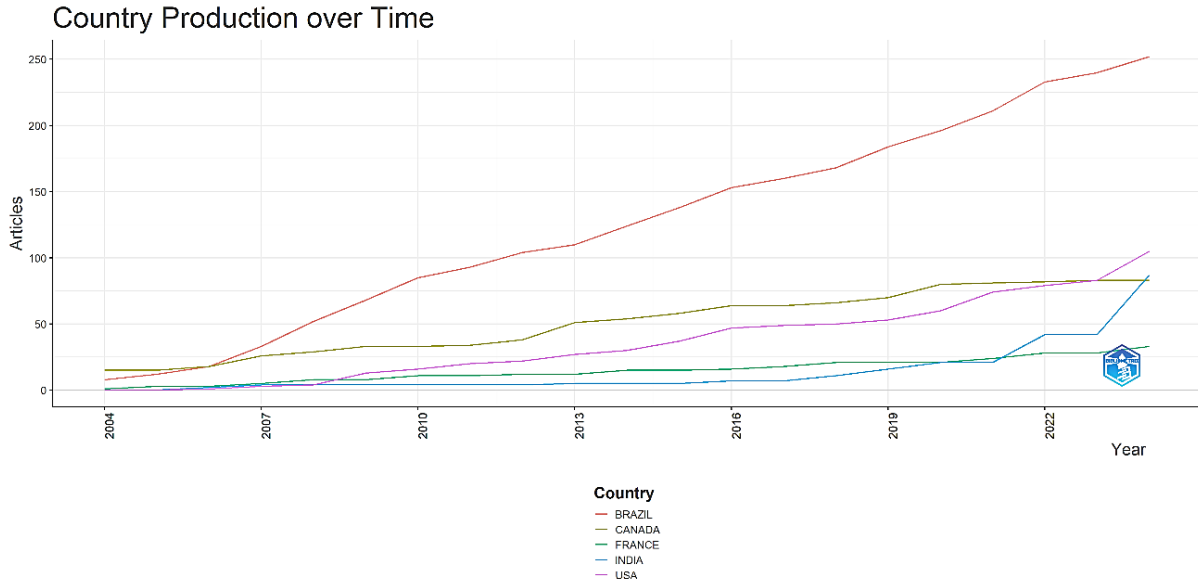


Fig. 8 – Gráfico do crescimento das publicações sobre *P. vulgaris* e antracnose nos países.

3.3 Universidades

As universidades mais influentes e relevantes também podem ser medidas através dos dados. Cada instituição apresentou seus valores absolutos, isso é, assim como os autores realizam parcerias, as universidades também realizam esta comunicação, devido a isso mais de uma instituição pode estar associada com a publicação do artigo. Desta forma, quando somado todos os valores apresentados, é encontrado um número superior a 261 artigos, fato identificado pela interação nas publicações.

Desta forma, conforme a figura 9, a Universidade Federal de Viçosa apresentou a maior taxa de publicações, contendo 52 artigos. Logo é seguida pela Agriculture and Agri-Food Canada, contendo 49 publicações com seu nome e em terceiro lugar ficando com Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology of Kashmir (SKUAST Kashmir), localizada na Índia, com 46 artigos.

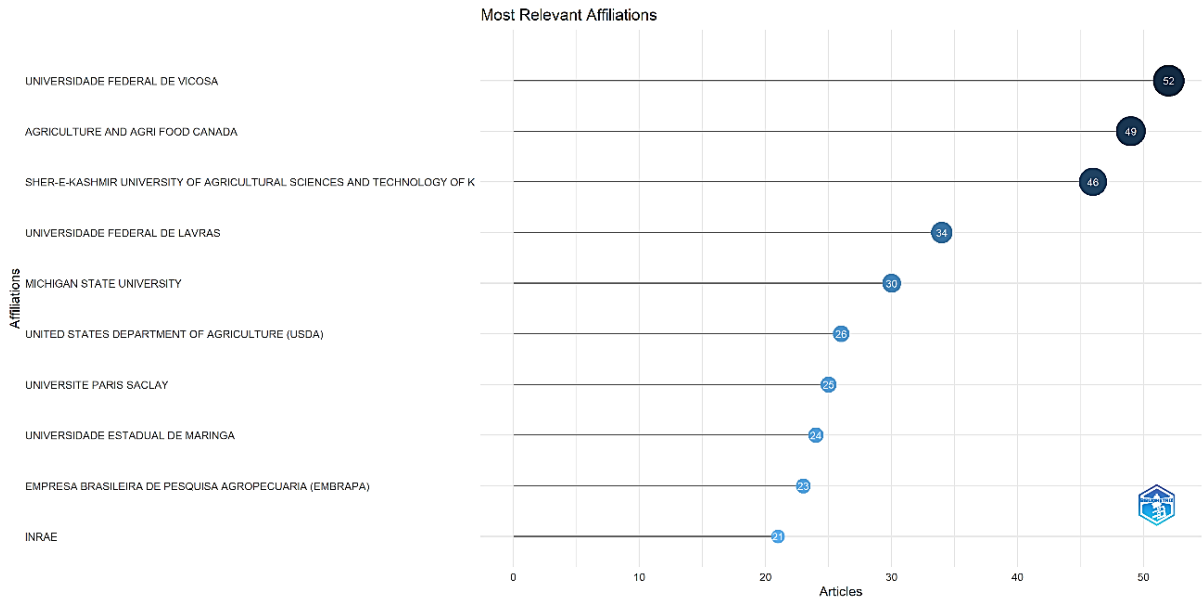


Fig. 9 – Instituições/Universidades que mais publicaram sobre o tema *P. vulgaris* e antracnose

Ao longo dos 20 anos, a Universidade Federal de Viçosa e a Agriculture and Agri-Food Canada alteraram na liderança em pesquisas sobre o tema, conforme observado na figura 10. As duas instituições apresentam crescimento semelhante, com poucos intervalos de não publicação. É importante salientar que no período de 2018, a SKUAST Kashmir demonstrou grande interesse na pesquisa e apresentou crescimento significativo na quantidade de publicações, sendo que em 2023 ela possuía 17 artigos registrados, e no período de um ano, houve publicação de 29 artigos, alcançando, em 2024, 46 artigos totais.

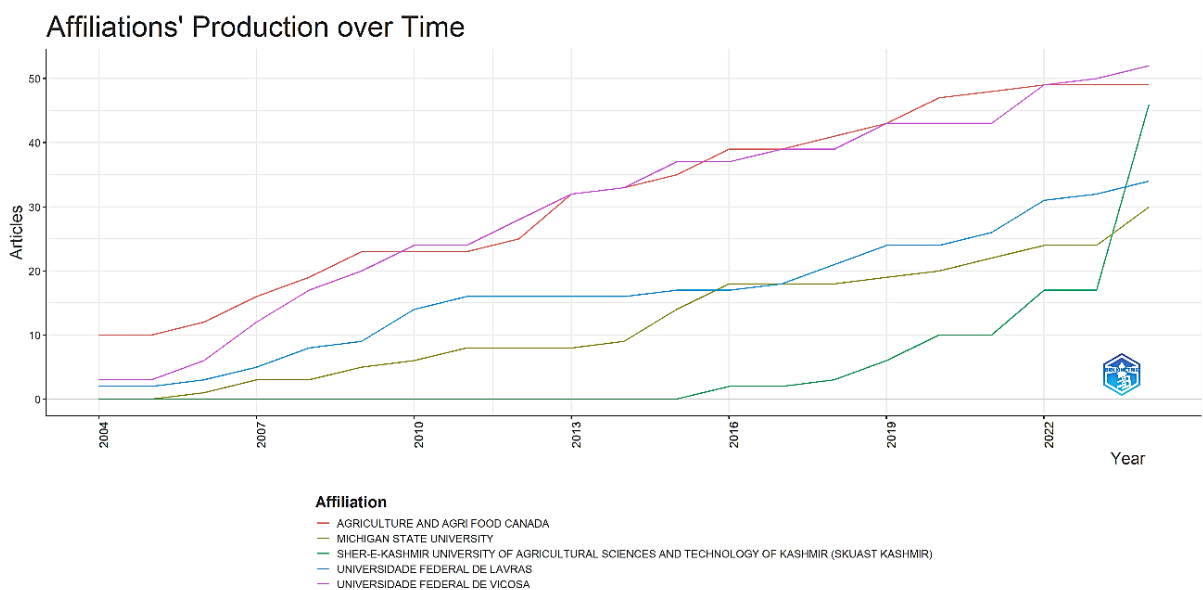


Fig. 10 - Gráfico de crescimento da quantidade de artigos publicados pelas cinco principais universidades.

3.4 Palavras-chave

Na figura 11 encontram-se as principais palavras-chave utilizadas nos artigos. Há duas formas de considerar este tópico, sendo eles: Author Keyword e Keyword Plus. As Author Keywords são as principais palavras utilizadas pelos próprios autores dos artigos, anexadas junto ao resumo. Já as Keyword Plus são palavras-chave definidas pela própria plataforma de busca, neste caso o Web of Science. Nesta o sistema gera algumas palavras baseando-se nos títulos das referências utilizadas pelos autores, e não propriamente do conteúdo do artigo, possuindo uma abrangência maior de assuntos que o autor não controla. Pode-se perceber que as duas principais palavras não diferem entre si (*Phaseolus vulgaris* e *Colletotrichum lindemuthianum*), assumindo a mesma posição entre as duas análises. Porém há uma variação nas terminologias seguintes, com o Keyword Plus agrupando palavras técnicas e mais diretas.

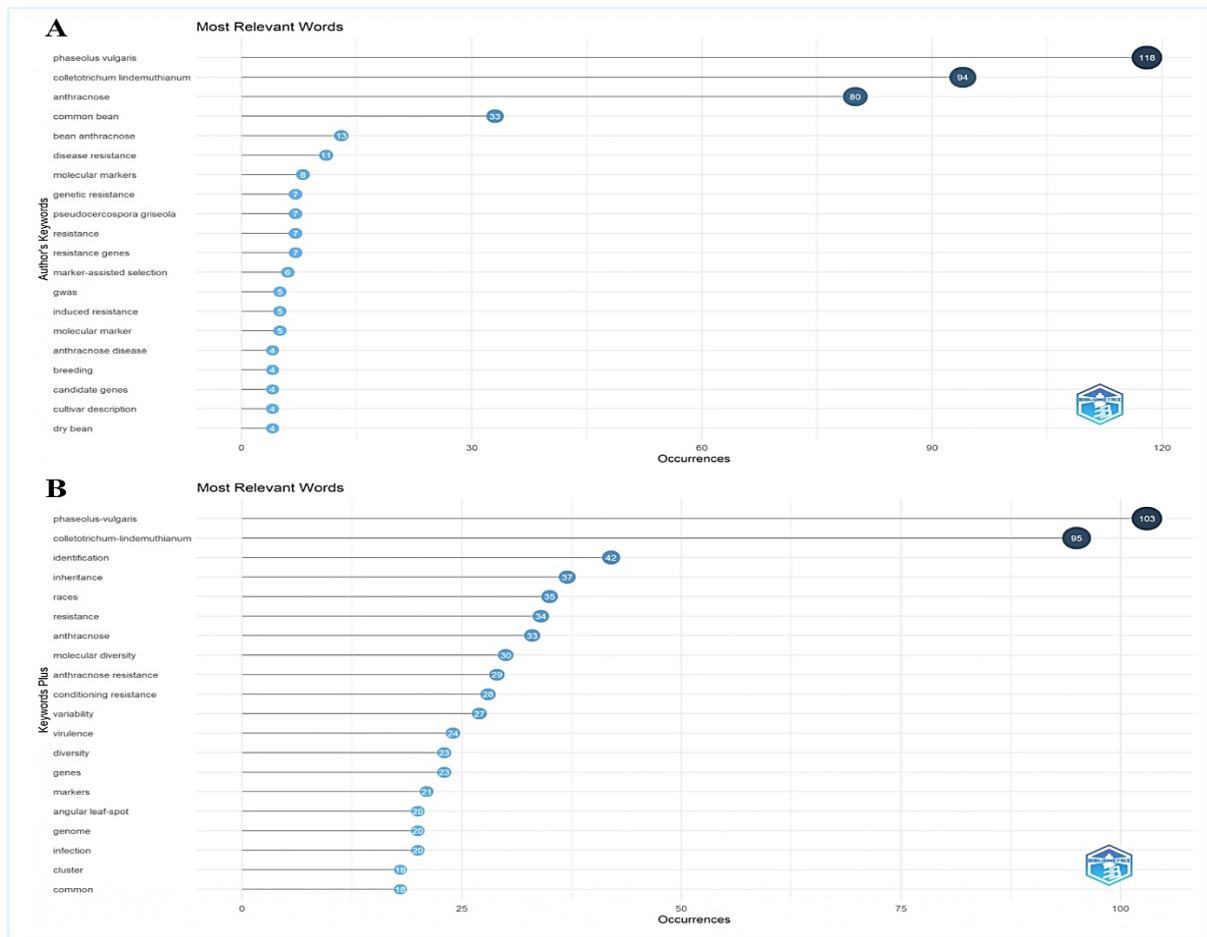


Fig. 11 – (A) Principais palavras-chave dos autores (Author Keywords). (B) Principais palavras-chave do sistema do banco de dados Web of Science.

Outra possibilidade de análise são quais categorias/assuntos apresentam maior frequência. Conforme o artigo é publicado, é associado a ele uma categoria temática, relacionando-o a uma área específica. Esta função é útil para identificar um tema ao qual o

assunto está inserido, possibilitando uma busca ampla e direcionada. Porém ela não apresenta um bom refinamento do assunto, visto que por se tratar de uma categoria, diversos assuntos podem estar inseridos, inclusive aqueles ao qual o pesquisador não tem interesse. Na figura 12 encontram-se como principais categorias Plant Sciences com 136 descrições e Agronomy contendo 108 descrições. Vale ressaltar que um artigo pode possuir mais de uma categorização.

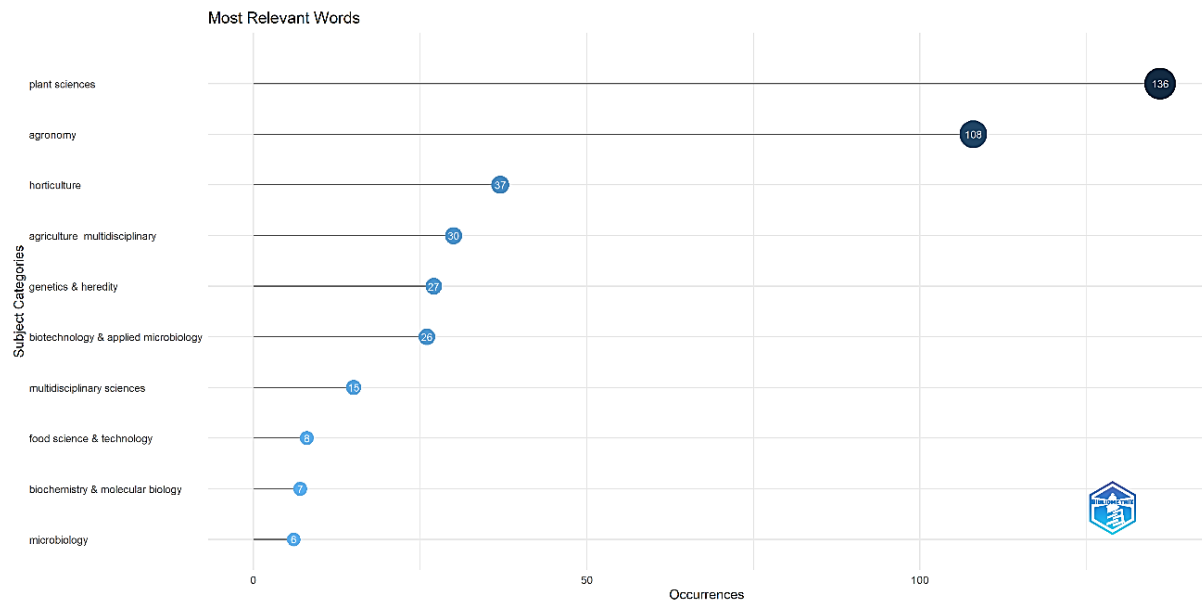


Fig. 12 – Principais categorias e classificações em áreas de concentração dos artigos

3.5 Periódicos

Dentre os principais periódicos que publicam o tema, podemos inferir pela figura 13 qual apresentou maior quantidade de artigos publicados. O Canadian Journal of Plant Science foi o destaque em publicações, estando 14 dos artigos adquiridos presentes na revista. Posteriormente, 4 revistas ocupam a segunda colocação, todas possuindo 13 artigos publicados ao longo dos 20 anos, sendo elas: Crop Science, Euphytica, Plos One e Theoretical and Applied Genetics.

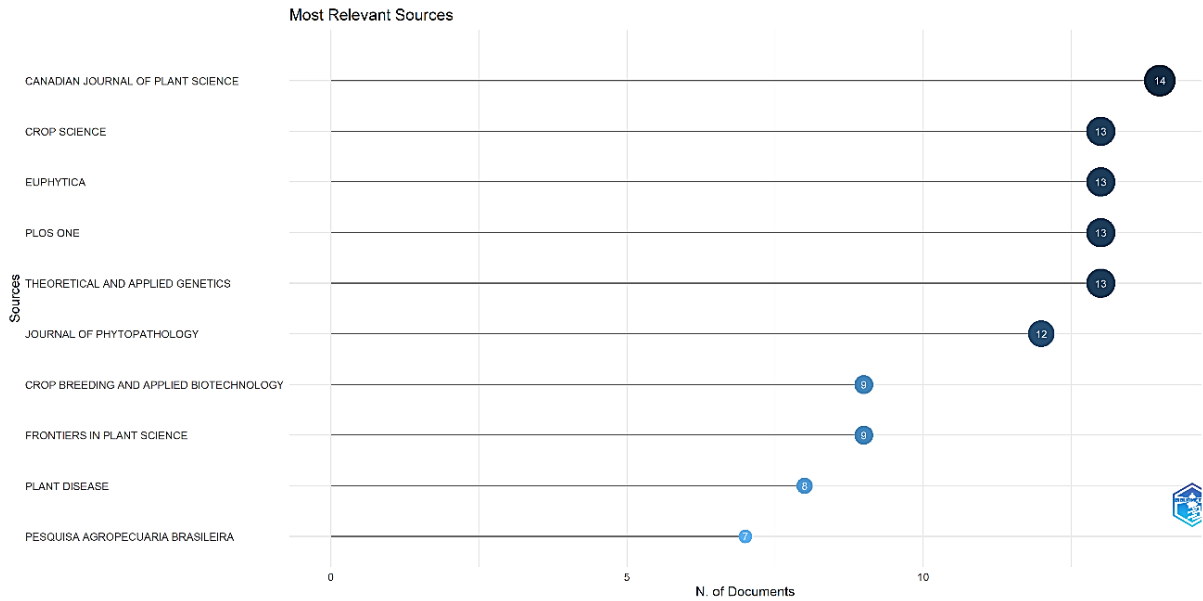


Fig. 13 – Quantidade de publicações por periódicos

Na figura 14 é estabelecida a produção ao longo do tempo. Pode-se perceber que o Canadian Journal of Plant Science competiu com a Euphytica, entre os anos de 2006 até 2013, ambas publicando com relativa constância e alternando a liderança de publicações. Após 2013, o Canadian Journal of Plant Science manteve sua crescente até 2020, ano em que a quantidade de publicações estabilizam, sem novos artigos publicados.

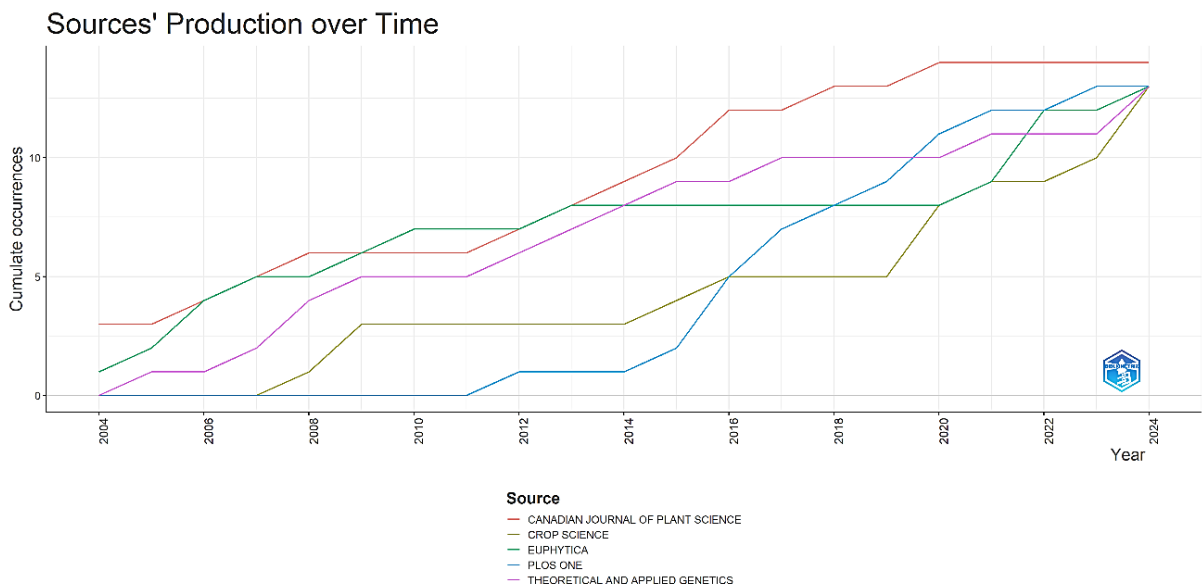


Fig. 14 - Gráfico de crescimento das produções de artigos dos 5 principais periódicos em 20 anos.

Por fim, é possível definir as publicações mais citadas dentro da base de dados escolhida para adquirir os artigos. De acordo com a figura 15A, o artigo “Genome-Wide Association Study of Anthracnose Resistance in Andean Beans (*Phaseolus vulgaris*)” de Zuiderveen et al (2016) foi o mais mencionado, totalizando 110 citações. Vale ressaltar que as

citações contabilizadas não significam o real número de citações que um artigo possui envolvendo todas as bases de dados disponíveis, mas sim um valor agregado ao artigo pela plataforma Web of Science.

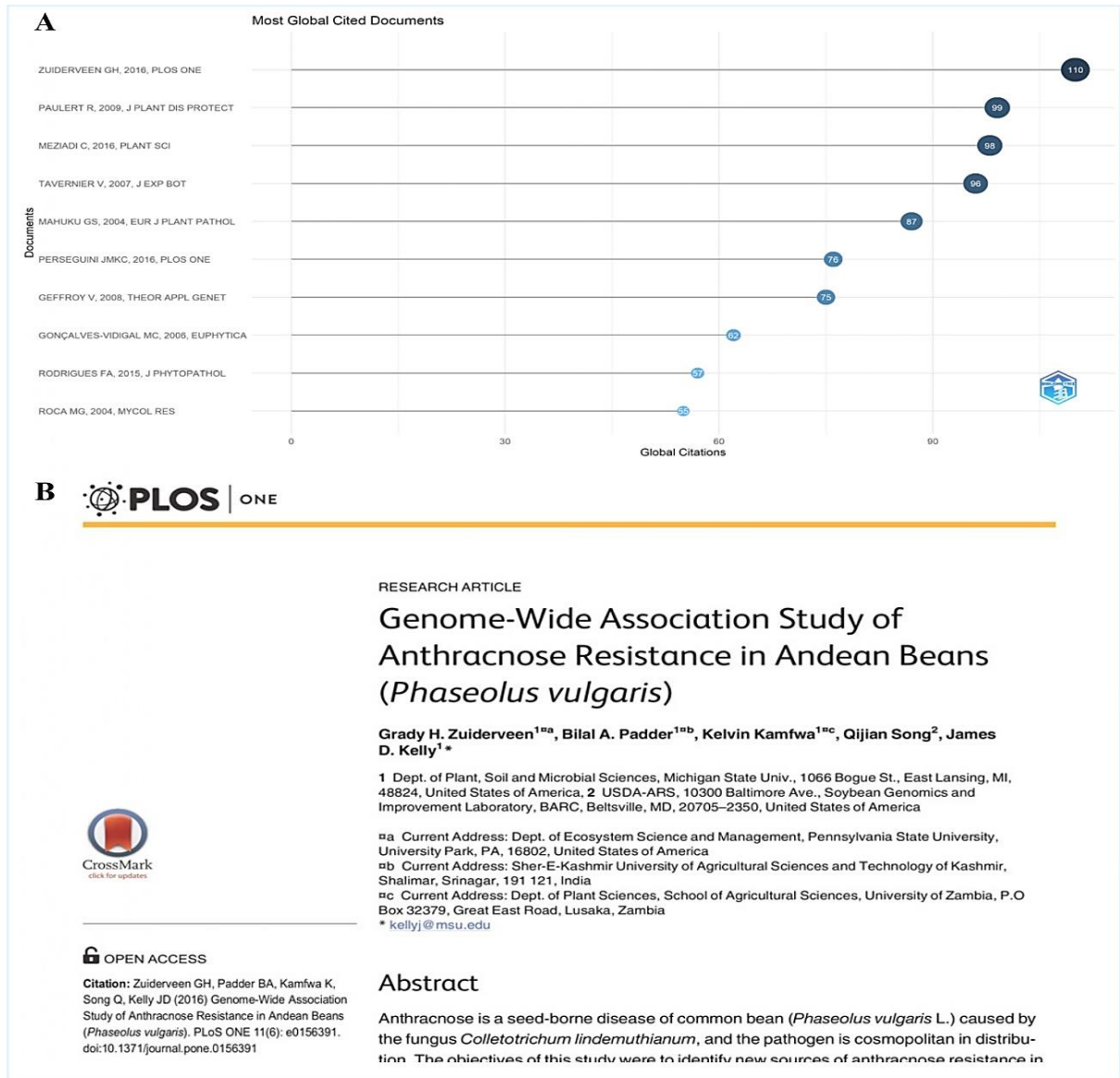


Fig. 15 – (A) Artigos mais citados dentro da base de dados Web of Science. **(B)** Artigo de referência da figura 15A como o mais citado (Zuiderveen et al, 2016).

4 Discussão

Neste trabalho, foi realizada uma análise cienciométrica sobre artigos que tratavam da interação *P. vulgaris* e *C. lindemuthianum*, causador da antracnose no feijoeiro. Ao todo, 261 artigos disponíveis no banco de dados da plataforma Web of Science no período de 20 anos resultaram da busca sistematizada adotada como metodologia deste estudo. Deste conjunto,

foram obtidas análises destinadas à elaboração de um referencial teórico sólido e significativo para o tema desta pesquisa, assim como evidência da evolução da pesquisa científica neste contexto, para auxiliar futuros estudos.

Observou-se que Maria Celeste Gonçalves-Vidigal foi a professora/pesquisadora que mais produziu publicações envolvendo os termos “*P. vulgaris* AND *C. lindemuthianum* AND anthracnose” em um espaço de tempo de 20 anos, configurando-se como uma relevante fonte para aquisição de referencial bibliográfico.

Uma inferência que pode ser feita pela figura 4 é evidenciar quais países tendem a desenvolver nas pesquisas por conta própria ou por parcerias. O Brasil apresenta um alto valor de publicações como país sem parceria (Single Country Publication - SCP), ocorrendo o mesmo com sua barra de publicações com parceria (Multiple Country Publication – MCP) ainda é maior que a dos outros países, enquanto Turquia, Bulgária, Grécia Ira e Eslovênia não realizam nenhuma parceria com outros países. Quando analisada, as figuras 6 e 7 evidenciam uma forte interação entre o Brasil e os Estados Unidos (USA), a qual os autores brasileiros como Gonçalves-Vidigal e sua equipe possuem variadas linhas ligando a James D. Kelly e sua equipe, sendo estes norte-americanos. Podemos observar este fato nas publicações de Gonçalves-Vidigal et al. (2006), Vidigal Filho et al. (2007), Vidigal Filho et al. (2011) e Souza et al. (2015)

Outro detalhe interessante é que Robert L. Conner, segundo autor com maior taxa de publicação realiza poucas interações com outros países, tendo o foco para seu grupo de estudos, conforme podemos observar em CHEN et al. (2007), CONNER et al. (2009), BOERSMA et al. (2013), CHEN et al. (2013), SANDHU et al. (2017), CONNER et al. (2019), CONNER et al. (2019). Outro detalhe a ser observado é que este cluster refere-se ao Canadá, país que apresentou pesquisa constante ao longo do tempo, conforme a figura 8.

Outra questão interessante de ser verificada é o crescimento que a Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology of Kashmir, instituição de ensino da Índia, que iniciou as publicações com esta temática após o ano de 2018. Os resultados gerados nas análises deste artigo informam que a Índia vem apresentando elevado interesse em publicar sobre antracnose. Este fato está associado a alta incidência da doença nas regiões norte e noroeste do Himalaia (Sharma et al., 2019 ;Gupta et al., 2022). Outro detalhe é que desde 2019, foram identificadas raças adicionais do fungo nestas regiões, saindo de 45 raças para 71 (Bashir et al., 2024).

Lacerda et al. (2012) traz em seu trabalho uma alternativa para seleção de artigos relevantes a determinado tema, apresentando uma metodologia de escolha com o intuito de

compor um referencial bibliográfico sobre o assunto. Um conceito trazido neste são as avaliações de desempenho, definida por Ensslin et al. (2010) como uma aquisição de conhecimento sobre um tema específico, baseando-se em atividades de avaliação, organização e mensuração. No trabalho de Lacerda, a definição de palavras-chave é um fator importante, já que serão elas as responsáveis pela filtragem dos artigos de interesse.

Logo, em posse das principais palavras-chave utilizadas pelos próprios autores e as geradas pelo WoS conforme a figura 12, o pesquisador pode estabelecer quais as prováveis palavras mais comuns e pesquisadas, utilizando delas para trazer mais visibilidade a sua pesquisa, além de possibilitar a realização de uma segunda filtragem, refinando ainda mais os dados a serem utilizados como referencial bibliográfico. Outra possibilidade são os métodos de seleção aplicados por Lacerda, que através de filtragens dos artigos em contextos específicos pode-se definir quais os mais importantes afim de economizar tempo. Nas identificações de artigos mais citados ocorre algo semelhante, tópico em que as publicações apresentaram um peso e valor científico baseado na quantidade de citações que possui (Waltman, 2016). Possuir estes 10-20 artigos mais citados possibilita o autor compreender, de maneira ampla, sobre o campo de estudo em que está se inserindo, levando em consideração que estes apresentam um peso maior na comunidade científica.

5 Conclusões finais

Este estudo analisa de forma quantitativa e sistemática o patossistema antracnose-feijoeiro, avaliando publicações na área. Com este trabalho, observamos os principais autores da área, suas instituições, bem como o país de origem. Além disso, ainda identificamos o destino das principais publicações, os impactos de cada pesquisador e suas influências ao redor do mundo. Mostramos o destaque do Brasil no estudo desse tema, bem como de Maria Celeste Gonçalves-Vidigal com grande atuação via pesquisas na área. É possível identificar o crescente interesse da Índia, na última década, pelo tema, concentrando esforços e preocupação com a pesquisa devido ao problema social e de produção enfrentado pelo país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIA, Massimo; CUCCURULLO, Corrado. bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. **Journal of informetrics**, v. 11, n. 4, p. 959-975, 2017.

- BASHIR, Adfar et al. Colletotrichum lindemuthianum race spectrum and resistant sources against most prevalent races in the North-western Himalayas: A three decade meta-analysis. **Indian Phytopathology**, v. 77, n. 1, p. 81-91, 2024.
- BOERSMA, J. G. et al. Marker-assisted dissection of anthracnose resistance in the dry bean cultivar Morden003. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 93, n. 6, p. 1115-1123, 2013.
- CHEN, Yong-Yan et al. A specific and sensitive method for the detection of Colletotrichum lindemuthianum in dry bean tissue. **Plant Disease**, v. 91, n. 10, p. 1271-1276, 2007.
- CHEN, Y. Y. et al. A quantitative real-time PCR assay for detection of C olletotrichum lindemuthianum in navy bean seeds. **Plant pathology**, v. 62, n. 4, p. 900-907, 2013.
- CONNER, R. L. et al. Seedborne infection affects anthracnose development in two dry bean cultivars. **Canadian journal of plant pathology**, v. 31, n. 4, p. 449-455, 2009.
- CONNER, Robert L. et al. Identification of anthracnose races in Manitoba and Ontario from 2005 to 2015 and their reactions on Ontario dry bean cultivars. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 100, n. 1, p. 40-55, 2019.
- CONNER, Robert L. et al. Survival of the bean anthracnose fungus (Colletotrichum lindemuthianum) on crop debris in Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 41, n. 2, p. 209-217, 2019.
- DA SILVA, Osmira Fátima; WANDER, Alcido Elenor. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2013.
- ENSSLIN, Leonardo et al. Avaliação do desempenho de empresas terceirizadas com o uso da metodologia multicritério de apoio à decisão-construtivista. **Pesquisa operacional**, v. 30, p. 125-152, 2010.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M. Celeste; KELLY, James D. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean cultivar Widusa. **Euphytica**, v. 151, n. 3, p. 411-419, 2006.
- GUPTA, Chainika et al. Phylogeny and pathogenicity of Colletotrichum lindemuthianum causing anthracnose of Phaseolus vulgaris cv. Bharderwah-Rajmash from northern Himalayas, India. **3 Biotech**, v. 12, n. 8, p. 169, 2022.
- HESS, David J. **Science studies: An advanced introduction**. NYU press, 1997.
- MOHAMMED, Amin. An overview of distribution, biology and the management of common bean anthracnose. **J Plant Pathol Microbiol**, v. 4, n. 8, p. 1-6, 2013.
- LACERDA, Rogério Tadeu de Oliveira; ENSSLIN, Leonardo; ENSSLIN, Sandra Rolim. Uma análise bibliométrica da literatura sobre estratégia e avaliação de desempenho. **Gestão & Produção**, v. 19, p. 59-78, 2012.
- NKALUBO, Stanley T. et al. Genetic analysis of anthracnose resistance in common bean breeding source germplasm. **Euphytica**, v. 167, n. 3, p. 303-312, 2009.

NUNES, Maria Paula Barion A. et al. Relationship of *Colletotrichum lindemuthianum* races and resistance loci in the *Phaseolus vulgaris* L. genome. **Crop Science**, v. 61, n. 6, p. 3877-3893, 2021.

R Core Team (2024). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

SALINAS-RÍOS, Karla et al. Bibliometrics, a useful tool within the field of research. **Journal of Basic and Applied Psychology Research**, v. 3, n. 6, p. 9-16, 2022.

SANDHU, Kulbir et al. Black dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm accessions with resistance to prevalent races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Canada. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 98, n. 1, p. 17-27, 2017.

SHARMA, Naiya et al. Investigating the virulence and genetic diversity of *Colletotrichum lindemuthianum* populations distributed in the North Western Himalayan hill states. **Journal of Plant Pathology**, v. 101, n. 3, p. 677-688, 2019.

SOUSA, Lorena L. et al. Genetic characterization and mapping of anthracnose resistance of common bean landrace cultivar Corinthiano. **Crop Science**, v. 55, n. 5, p. 1900-1910, 2015.

SPINAK, Ernesto. Indicadores cienciométricos. **Ciência da informação**, v. 27, p. nd-nd, 1998.

VANTI, Nadia Aurora Peres. Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. **Ciência da informação**, v. 31, p. 369-379, 2002.

VECHIATO, M. H. et al. Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre incidência em plantas e infecção de sementes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 1, p. 83-87, 2001.

VIDIGAL FILHO, P. S. et al. Sources of resistance to anthracnose in traditional common bean cultivars from Paraná, Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 155, n. 2, p. 108-113, 2007.

VIDIGAL FILHO, Pedro S. et al. Characterization and content of total soluble protein and amino acids of traditional common bean cultivars collected in Parana state, Brazil. **J Food Agric Environ**, v. 9, p. 143-147, 2011.

WALTMAN, Ludo. A review of the literature on citation impact indicators. **Journal of informetrics**, v. 10, n. 2, p. 365-391, 2016.

ZUIDERVEEN, Grady H. et al. Genome-wide association study of anthracnose resistance in Andean beans (*Phaseolus vulgaris*). **PloS one**, v. 11, n. 6, p. e0156391, 2016.

Artigo 2 – Redigido conforme as normas da revista BMC Genomics - Publicado	
Título do artigo:	The WAK/WAKL gene family in <i>Phaseolus vulgaris</i> : genomic characterization and expression under <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> infection
Autores:	Gabriel César Ferreira Elenildo dos Santos Oliveira Welison Andrade Pereira
Periódico:	BMC Genomics
ISSN:	1471-2164

RESEARCH

Open Access



The WAK/WAKL gene family in *Phaseolus vulgaris*: genomic characterization and expression under *Colletotrichum lindemuthianum* infection

Gabriel César Ferreira¹ , Elenildo dos Santos Oliveira¹ and Welison Andrade Pereira^{1*}

Abstract

Background Wall-associated kinases (WAKs) and WAK-like proteins (WAKLs) are receptor-like kinases implicated in plant perception of extracellular cues and immune signaling. In common bean (*Phaseolus vulgaris*), differential resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* offers an opportunity to link structural variation in these receptors to functional outcomes.

Results Here, we systematically characterize the WAK/WAKL gene family in *P. vulgaris*, integrating domain architecture, gene structure, phylogeny, synteny, and transcriptomic responses in resistant (Ouro Vermelho) versus susceptible (BRS Estilo) cultivars across infection time points. Using conserved domain annotation, PvWAKs and PvWAKLs were classified based on combinations of extracellular domains (EGF and GUB_WAK_bind) while retaining a conserved intracellular kinase core. Twenty-five distinct domains were identified, with specific sets being common or exclusive to each group, suggesting modular diversification of interaction interfaces. Phylogenetic and gene structure analyses revealed evolutionary patterns consistent with both conservation of signaling machinery and divergence in extracellular features. Integration with synteny supported retention of candidate orthologs across related species. RNA-Seq profiling at 0, 48, and 96 h post-inoculation uncovered complex, genotype- and time-dependent expression dynamics: subsets of PvWAK/WAKL genes were differentially expressed uniquely in resistant or susceptible backgrounds, while others displayed opposing temporal patterns, highlighting nuanced regulatory contributions to resistance. Combining structural and expression evidence yielded a prioritized list of PvWAK/WAKL candidates potentially underlying anthracnose resistance.

Conclusions The study delineates how conserved kinase signaling is coupled to extracellular domain variability and dynamic expression to enable functional divergence within the WAK/WAKL family in *P. vulgaris*. The resulting candidate genes provide a focused basis for functional validation and may inform molecular breeding strategies for enhanced disease resistance.

Keywords Genome-wide analysis, PvWAK, PvWAKL, Common bean, RNA-Seq, Transcriptome, Anthracnose

*Correspondence:

Welison Andrade Pereira
welison.pereira@ufla.br

¹Department of Biology, Institute of Natural Sciences, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brazil



© The Author(s) 2026. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Introduction

The cultivation of common bean (*Phaseolus vulgaris*) holds a prominent position in global agriculture [1], especially in countries where this legume serves as one of the main sources of protein and other essential nutrients, such as complex carbohydrates, fiber, and mineral [2, 3]. In addition to its nutritional relevance, common bean plays a significant economic and social role [1, 2]. However, as with other crops, its productivity is limited by several factors, including adverse edaphoclimatic conditions, soil mineral deficiencies, and both biotic and abiotic stresses [2]. Among the various constraints, anthracnose, caused by the hemibiotrophic fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, stands out for its destructive potential, capable of causing total crop loss under favorable conditions for the pathogen, particularly in subtropical and temperate regions [4]. Genetic breeding aimed at improving productivity has shown positive effects on anthracnose resistance [5], supporting the relationship between genetic resistance and agronomic performance.

Research has shown that plants respond to environmental challenges, phytohormones, nutrients, and different types of stress through a complex signaling network [6]. As sessile organisms, plants have developed highly efficient biochemical systems to detect and respond to various extracellular stimuli, with receptor-like protein kinases located in the plasma membrane or associated with the cell wall, playing a central role [7, 8]. The proteomic repertoire involved in these responses is diverse and includes important gene families such as Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Kinases (LRR-RLKs) [9, 10], wall-associated kinases (WAKs), and WAK-like kinases (WAKLs) [11–14]. WAKs/WAKLs are notable not only for their role in responding to environmental signals but also for their involvement in key developmental processes, such as cell elongation and reproduction [15, 16].

Structurally, WAKs typically feature a signal peptide, an extracellular domain (ECD) with epidermal growth factor (EGF)-like repeats, a transmembrane region (TM), and an intracellular kinase domain (PK) [17]. The ECD is responsible for recognizing cell wall ligands such as pectins and oligogalacturonides (OGs), triggering intracellular signaling cascades [18, 19]. The transmembrane region anchors these proteins to the plasma membrane, facilitating communication between the extracellular environment and the cytoplasm [12, 20]. In the cytoplasmic space, the kinase domain catalyzes phosphorylation reactions, regulating the transduction of received signals [11, 21]. The physiological functions attributed to WAKs/WAKLs are diverse, and variations in their extracellular domain composition [17] may contribute to functional specificity. These proteins are involved in processes such as cell elongation [22], vegetative development [7, 15, 16, 23], and responses to stresses including salinity [8], cold

[13], heat [14, 24], and heavy metals [25, 26]. Their role in phytohormone signaling [19, 27, 28] and especially in pathogen infection responses [29–31] is also noteworthy.

Despite the growing body of knowledge about WAKs/WAKLs and their functions in various species [19, 32–34], information regarding the functional potential of these proteins in *Phaseolus vulgaris* remains scarce. Given the strategic importance of common bean for food security and the various challenges faced by this crop [2], it is essential to identify and characterize this gene family in order to explore its biological potential. Therefore, we identified and characterized the WAK/WAKL family in *Phaseolus vulgaris*, evaluating their expression profiles in contrasting cultivars (resistant and susceptible to anthracnose) after inoculation with *Colletotrichum lindemuthianum*. To this end, we analyzed transcriptomes obtained at time points corresponding to the biotrophic and necrotrophic phases of the disease [35]. The results revealed specific candidate genes involved in the immune response of common bean to the pathogen.

Materials and methods

Retrieval and identification of PvWAK/WAKL proteins

To identify members of the WAK/WAKL gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris*), we used the v2.1 genome version available in Phytozome v.13 [36]. The amino acid sequences were analyzed using HMMER v3.2.2 [37], with an E-value threshold < 0.1, based on Hidden Markov Models (HMMs) retrieved from InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>). The following HMM profiles were employed: PF00069 and PF07714 (kinase domains); PF13947, PF14380, and PF08488 (GUB_WAK_bind, WAK_assoc, or WAK domains); and PF07645, PF00008, PF12662, and PF12661 (EGF_CA, EGF, cEGF, or hEGF domains). Domain presence was validated using the CDD-NCBI database [38]. Signal peptides and transmembrane regions were predicted using SignalP 6.0 [39] and TMHMM [40], respectively. Proteins were classified as WAKs when they simultaneously contained a kinase domain, WAK domain, EGF domain, transmembrane region, and signal peptide. Proteins possessing a kinase domain and either a WAK or EGF domain, along with a transmembrane region and signal peptide, were classified as WAKLs [41]. For domain confirmation, only matches covering more than 50% of the HMM profile were retained. In cases of transcript variants, only the longest isoform was kept. Proteins not meeting these criteria were excluded.

Phylogenetic analysis

To investigate the classification and evolutionary relationships of PvWAK/WAKL proteins, three complementary phylogenetic analyses were performed. Multiple sequence alignment was conducted using MAFFT v7.505

[42] with automatic parameter adjustment. All phylogenetic trees were inferred with FastTree v2.1.11 [43] under the JTT + CAT substitution model with 1,000 bootstrap replicates and visualized using the iTOL platform [44].

The first analysis included WAK/WAKL proteins from *Phaseolus vulgaris*, as well as from *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana*, *Solanum lycopersicum* [31], and *Hordeum vulgare* [34]. This analysis provided the inter-specific framework used to assign clades based on previously established classifications for these species [31, 34].

To examine evolutionary relationships within *P. vulgaris*, a second tree was generated using only the 7 PvWAK and 42 PvWAKL proteins. Six HvWAKL proteins from *H. vulgare* (clade V from the first analysis) were retained as external reference sequences to maintain clade structure and facilitate comparative interpretation.

A third phylogenetic analysis integrated the 49 PvWAK/WAKL proteins with a curated set of 58 experimentally characterized WAK/WAKL homologs from 23 plant species, including monocots, dicots, and crops with known WAK/WAKL-mediated phenotypes (e.g., pathogen resistance, abiotic stress responses, development, hormone signaling). This analysis enabled functional contextualization of PvWAK/WAKL proteins relative to well-studied WAK/WAKL members. The resulting tree is presented in Figure S6, and accession numbers and functional annotations are shown in Table S17.

Biochemical properties of PvWAK/WAKL and HvWAKL proteins

Biochemical properties of PvWAK/WAKL and HvWAKL proteins were predicted based on amino acid sequences. Molecular weight (MW), isoelectric point (pI), and grand average of hydropathicity (GRAVY) were calculated using tools available on the SMS2 platform (<https://www.bioinformatics.org/sms2/>) [45]. Signal peptides, transmembrane domains, and topological features were assessed using different bioinformatic tools, including TMHMM [40], CCTOP [46], TOPCONS [47], PROTTER [48], and SignalP 6.0 [39]. The use of multiple tools increased the reliability of signal peptide and transmembrane domain predictions. When two or more tools produced concordant results, the consensus was considered as the final annotation.

Protein domains, conserved motifs, and subcellular localization

The presence and number of domains in the WAK/WAKL proteins of this study were analyzed using the Conserved Domain Database (CDD) [38], with default settings and an E-value threshold of 0.01 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>). Conserved structural motifs were identified using the MEME Suite v5.5.7 [49], configured to search for 20 motifs ranging

from 6 to 50 amino acid residues, with an E-value threshold of 0.01 (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>). Subcellular localization was predicted using CELLO v2.5 [50], ProtComp [51], and WolfPsort [52]. Predictions from all three tools were integrated into a heatmap highlighting the most probable localization sites for each protein.

Gene structure and chromosomal localization

The exon-intron structures of WAK/WAKL genes were analyzed using the corresponding coding sequences (CDS) and transcript data, with detailed visualization performed through the Gene Structure Display Server (GSDS) [53] (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>). Chromosomal localization of PvWAK/WAKL genes was based on their physical positions retrieved from the Phytozome database, and visualized using PhenoGram [54] (<http://visualization.ritchielab.org/phenograms/plot>).

Gene clusters were identified based on the physical proximity of WAK/WAKL genes along each chromosome. In this study, clusters were defined as groups of two or more genes located consecutively on the same chromosome, without intervening unrelated genes, and positioned within a few thousand base pairs of each other, following the criterion proposed by [17].

Cis-regulatory elements

Promoter regions comprising 1,500 nucleotides upstream of the transcription start site of PvWAK/WAKL and HvWAKL genes were retrieved from the database and analyzed to identify cis-regulatory elements (CREs). The sequences were submitted to the PlantCARE database [55] (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>), and the results were thoroughly examined. CREs were classified into eight major categories: Abiotic stress-responsive, Biotic stress-responsive, Core, Development-related, Hormone-responsive, Light-responsive, Unknown, and Unnamed. Classification was primarily based on PlantCARE annotations and complemented with information from the literature. Quantitative analyses were conducted to evaluate the distribution of CREs across genes and clades. Descriptive statistics, including minimum, maximum, and average numbers of CREs per gene and per clade, were calculated. These results provided insights into cis-regulatory patterns, supporting inferences about potential regulatory mechanisms and functional adaptations associated with PvWAK/WAKL and HvWAKL proteins.

Synteny between *Arabidopsis thaliana*, *Phaseolus vulgaris*, and *Glycine max*

To assess genomic region conservation and infer potential functional relationships, synteny analysis was performed between *P. vulgaris* and two reference species: *A.*

thaliana and *G. max*. Although *A. thaliana* is evolutionarily more distant and differs in chromosome number (5 vs. 11), it was included due to its relevance as a model organism in functional genomics. In contrast, *G. max* was selected for its closer evolutionary proximity to *P. vulgaris*.

Chromosomal layouts and gene pair information were generated from genomic and GFF3 files using the “One Step MCScanX” and “Text Merge” functions in TBtools [56]. Syntenic relationships were visualized with the “Multiple Synteny Plot” module, highlighting *P. vulgaris* WAK/WAKL proteins. This analysis was not intended to assess full-genome collinearity, but rather to identify conserved WAK/WAKL protein pairs potentially involved in analogous biological processes across species. Syntenic orthologs in *A. thaliana* and *G. max* were functionally annotated and subjected to GO enrichment analysis using ShinyGO v0.81 [57], enabling their functional classification.

To complement the synteny analysis and provide functional context for selected *PvWAK/WAKL* genes, pairwise BLASTp searches (BLAST + v2.14.1) were performed against a curated set of 58 experimentally characterized WAK/WAKL proteins reported in the literature (Supplementary Table S17). This dataset included representatives from diverse plant species, such as AtWAKL10 and AtWAKL22 (*Arabidopsis thaliana*), BvWAK1 and BvWAK11 (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*), CaWAKL20 (*Capsicum annuum*), JrWAK12 (*Juglans regia*), NbWAK12 and NbWAK14 (*Nicotiana benthamiana*), SIWAKL6 (*Solanum lycopersicum*), TaWAKL4 (*Triticum aestivum*), and ZmWAK52 and ZmWAK-RLK1 (*Zea mays*), among others. Default BLASTp parameters were used, and percent identity, E-values, and query coverage were recorded.

Gene expression analysis (RNA-Seq)

Two contrasting *Phaseolus vulgaris* cultivars, BRS Estilo (susceptible) and Ouro Vermelho (resistant), were selected based on their differential response to *Colletotrichum lindemuthianum* race 65 (isolate Lv134) [4]. Seeds were germinated in trays with Plantmax substrate under controlled greenhouse conditions (24 °C, 95% RH). After the development of primary leaves, plants were inoculated with a 1.2×10^6 conidia/mL suspension prepared from fungal sporulation on bean pods over water agar. Leaves and stems were sprayed and incubated in a moist chamber (100% RH, 25 ± 2 °C) for 48 h [58]. Leaf samples were collected at 0, 48, and 96 h post-inoculation (hpi), and symptoms were assessed nine days later using a 1-to-9 scale. Plants with scores ≤ 3 were considered resistant; those > 3 , susceptible [59].

Total RNA was extracted from 12 samples (2 cultivars \times 3 time points \times 2 replicates) using RNATRIzol®, with

TURBO™ DNase digestion. RNA integrity was evaluated using a TapeStation 4200 (Agilent), and concentration was measured with a Qubit fluorometer. Libraries were prepared with the TruSeq Stranded Total RNA kit (Illumina) after mRNA enrichment by poly(A) selection and sequenced on an Illumina NextSeq 500 platform (2 \times 75 bp, paired-end).

Raw reads were evaluated with FastQC and processed with Trimmomatic to remove adapters and low-quality reads (quality $< Q15$, length < 32 bp) [60, 61]. Filtered reads were aligned to the *P. vulgaris* v2.1 reference genome (Phytozome v13) using STAR with default parameters of paired-end alignment [62, 63]. Gene-level read counts were generated with featureCounts, and normalization and differential expression analyses were performed using DESeq2 (v1.38.0) in R (v4.2). Genes with an adjusted p-value (FDR) < 0.05 and an absolute \log_2 fold change ≥ 1.5 were considered differentially expressed (DEGs). For biological interpretation, DEGs associated with resistance were defined as genes up-regulated in the resistant cultivar (Ouro Vermelho) and/or down-regulated in the susceptible cultivar (BRS Estilo). Conversely, DEGs associated with susceptibility were defined as genes down-regulated in the resistant cultivar and/or up-regulated in the susceptible one. Transcriptome comparisons were performed across six contrasts: OV^{48hpi} \times E^{48hpi}; OV^{48hpi} \times OV^{0hpi}; E^{48hpi} \times E^{0hpi}; OV^{96hpi} \times E^{96hpi}; OV^{96hpi} \times OV^{48hpi}; E^{96hpi} \times E^{48hpi}. Comparisons between 0 and 96 hpi were not included because the contrast merges distinct infection phases (biotrophic vs. necrotrophic), increasing biological dispersion and reducing interpretability in a phase-focused analysis. RNA-Seq data used in this study were previously generated and have been deposited in the NCBI GEO repository under accession PRJNA1219552 ([35]).

Manuscript preparation

Text refinement was assisted by a large language model (ChatGPT). All final decisions regarding content, interpretation, and presentation were made by the authors.

Results

Retrieval and identification of PvWAK/WAKL proteins

To identify WAK/WAKL proteins in *Phaseolus vulgaris*, we screened the proteome using HMMER and Hidden Markov Models (HMMs) targeting characteristic domains (Table Supplementary 1–9). A total of 34 proteins contained EGF domains (PF00008, PF07645, PF12661, PF12662), 105 had WAK domains (PF08488, PF13947, PF14380), and 1,808 contained kinase domains (PF00069, PF07714). Epidermal growth factor-like (EGF) domains are cysteine-rich extracellular modules associated with ligand perception and structural stabilization. Wall-associated kinase (WAK) domains participate in

sensing cell-wall-derived signals, while kinase domains mediate downstream intracellular phosphorylation cascades. When we applied a minimum HMM coverage threshold of 50% and retaining only the longest isoform per gene reduced these numbers to 29 EGF-containing proteins, 88 with WAK domains, and 1,213 with kinase domains. The filtered set was further analyzed for combined presence of EGF, WAK, and kinase domains, as well as transmembrane regions (TM) and signal peptides (SP), using CDD-NCBI, TMHMM, and SignalP 6.0. Based on these criteria, we identified a final set of 7 PvWAKs and 42 PvWAKLs (Table S1-S9). In this study, WAKs are defined as receptor-like kinases containing a signal peptide, GUB_WAK_bind and/or EGF domains, a transmembrane region, and an intracellular serine/threonine kinase domain, whereas WAK-like kinases (WAKL) share the same overall architecture but may lack one or more of the extracellular WAK-associated domains.

To validate our identification approach, we compared the seven PvWAK proteins identified in this study with the six PvWAK1–6 proteins reported by [64]. Five PvWAKs corresponded directly between the two studies, whereas the protein encoded by the WAK1 gene (*Phvul.001G066200.1*) was not retained because it lacked a predicted signal peptide, as confirmed by SignalP 6.0, Protter, CCTOP, and TOPCONS. Two additional gene loci, *Phvul.003G249300.1* and *Phvul.007G138200.1*, were identified as new PvWAK members (PvWAK04 and PvWAK05). These differences likely reflect distinct criteria for signal peptide detection and domain annotation.

To investigate evolutionary relationships, infer potential functional homology [19], and classify the PvWAK/WAKL into five clades previously described in the literature [17], we constructed a first phylogenetic tree (Fig. S1) using 222 WAK/WAKL proteins, including 49 PvWAK/WAKLs identified in this study. For this analysis, we retrieved 26, 29, and 38 sequences from *Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicum*, and *Nicotiana benthamiana*, respectively, as reported by Zhong et al. [31]; and 80 sequences from *Hordeum vulgare* from Tripathi et al. [34]. Before phylogenetic inference, sequences containing undetermined residues ('X') were excluded.

Clade I contained the highest number of proteins in the interspecific dataset (117), whereas Clade III comprised the largest number of PvWAK/WAKLs (28), indicating that this group may be particularly expanded in *P. vulgaris*. No PvWAK/WAKL was found in Clade V, which led to the selection of six *H. vulgare* proteins from that clade as external reference sequences in subsequent analyses, to assist in clade delimitation and support phylogenetic interpretation.

Phylogenetic analysis of *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL proteins

A second phylogenetic tree was reconstructed using 7 PvWAKs and 42 PvWAKLs from *Phaseolus vulgaris*, along with 6 HvWAKLs from *Hordeum vulgare* as external reference sequences (Fig. 1). In total, 55 proteins were analyzed, which grouped into five major clades. Clade I comprised eight proteins (six PvWAKs and two PvWAKLs), while Clade II was further subdivided into three subclades (IIa, IIb, and IIc). Clade III was the largest, containing 28 PvWAKLs and showing signs of subdivision into IIIa and IIIb. Clade IV included six PvWAKLs, and Clade V consisted exclusively of the six HvWAKLs.

These results suggest that proteins with similar structural characteristics tend to cluster within the same clade, indicating potential evolutionary relationships [65], as observed for PvWAKs in Clade I, PvWAKLs in Clade IV, and HvWAKLs in Clade V. High bootstrap support values further reinforce the robustness of these groupings, providing a solid foundation for future investigations into the evolution and functional divergence of WAK/WAKL proteins in *P. vulgaris*.

Biochemical, structural, and subcellular features of WAK/WAKL proteins

Primary structure analysis provided insights into the biochemical and structural diversity of PvWAK/WAKL proteins. The average protein length was 628 amino acids, ranging from 274 to 985 (Fig. 2 A), which corresponded to molecular weights between 29.18 and 109.68 kDa (mean: 70.41 kDa) (Fig. 2B). Proteins from Clade I, mostly PvWAKs, exhibited the highest lengths and molecular weights, consistent with the presence of larger extracellular domains. In contrast, HvWAKLs from Clade V showed the lowest values, which can be explained by the complete lack of the kinase domain, transmembrane region, and signal peptide. These contrasts reflect domain composition differences and likely functional divergence. It is important to note, however, that the HvWAKL proteins included in this analysis were not identified according to the criteria established in this study; they were retained solely for comparative purposes, as external references derived from the global phylogenetic tree that included WAK/WAKL proteins from other species to support the classification of PvWAK and PvWAKL members.

As observed in other species, including *Cannabis sativa*, *Gossypium hirsutum*, *Pisum sativum*, *Solanum lycopersicum*, and *Zea mays* [28, 66–68], isoelectric point (pI) values ranged from 5.00 to 8.68 (mean: 7.11), indicating acidic, neutral, and basic proteins (Fig. 2 C). GRAVY scores varied from -0.319 to 0.136 (mean: -0.091) (Fig. 2D), with only HvWAKL01 showing a positive value. Despite the presence of transmembrane domains, 53 of

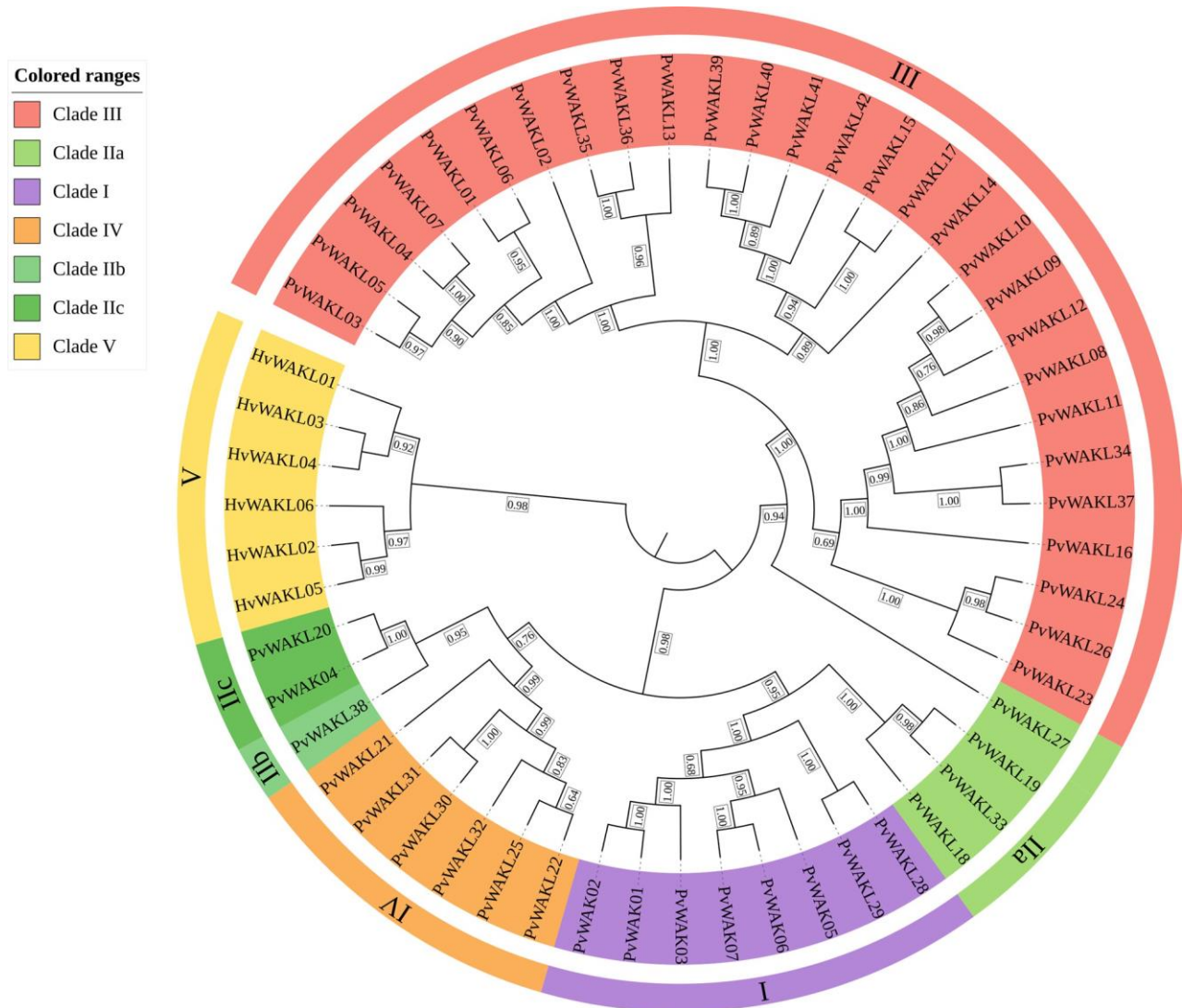


Fig. 1 Phylogeny of HvWAKL and PvWAK/WAKL proteins with clade assignments. Maximum-likelihood phylogenetic tree of *Hordeum vulgare* WAKL (HvWAKL) and *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL (PvWAK/WAKL) proteins. Protein sequences were aligned with MAFFT (initial alignment with --auto followed by refinement using --maxiterate 1000 --globalpair), and the tree was inferred with FastTree using the LG model with gamma-distributed rates. Bootstrap support values (from 1,000 replicates) are shown adjacent to branches as numeric labels. Major clades (I-V) are indicated by colored outer arcs (purple: Clade I; light green: Clade IIa; darker green shades: Clades IIb/IIc; salmon/red: Clade III; orange: Clade IV; yellow: Clade V), with Roman numerals marking the clade designations. HvWAKL sequences appear in Clade V, serving as external reference sequences

the 54 proteins (98.10%) showed negative GRAVY scores, indicating a predominantly hydrophilic character, consistent with extracellular interaction roles. Negative GRAVY values reflect an overall enrichment in hydrophilic amino acids, whereas positive values indicate greater hydrophobicity. Clades I and V displayed notable distinctions in length, molecular weight, and GRAVY profiles, suggesting structural divergence across clades. Nevertheless, conserved features were also evident. Amino acid composition analysis (Fig. 2E) revealed that leucine (L) was the most abundant amino acid in 36 of the 55 proteins (65.45%), whereas serine (S) predominated in 13 proteins (23.64%). Alanine (A) and arginine (R) were the most

abundant residues in two proteins each (3.64%), while isoleucine (I) and glycine (G) predominated in one protein each (1.82%).

Subcellular localization predictions indicated that 27 (55.10%), 42 (85.71%), and 30 (61.22%) of the 49 PvWAK/WAKL proteins were located at the plasma membrane according to ProtComp, CELLO, and WolfPsort, respectively (Fig. 2 F), consistent with their role in transmembrane signaling. In contrast, HvWAKLs from clade V were predicted to be extracellularly localized, which may relate to their high cysteine content, a distinctive feature of this group, and also to the fact that 5 out of 6 proteins lack a transmembrane domain according to TMHMM,

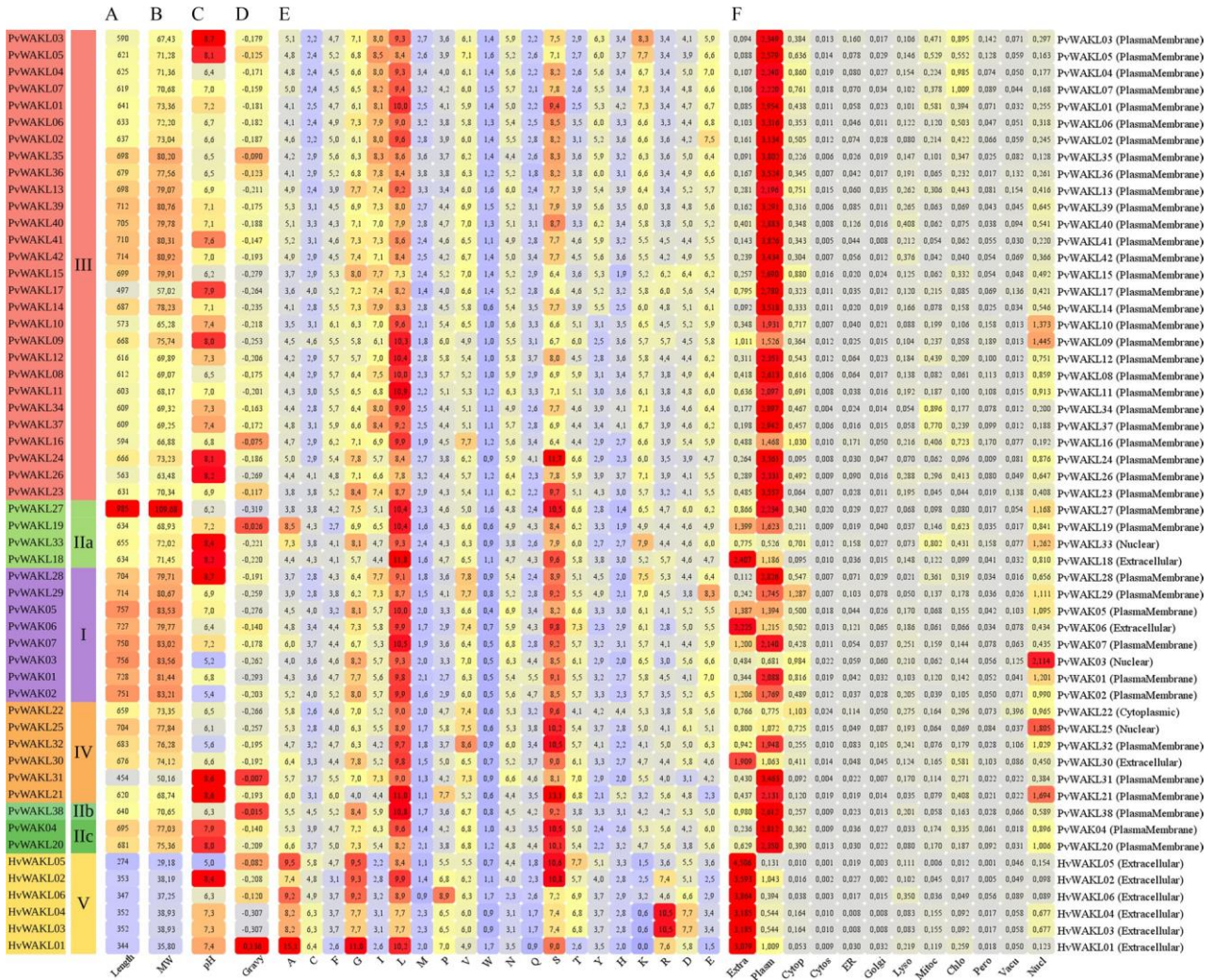


Fig. 2 Biochemical properties and localization predictions of HvWAKL and PvWAK/WAKL proteins. Heatmap summarizing structural and biochemical features and predicted subcellular localization for *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL (PvWAK/WAKL) and *Hordeum vulgare* WAKL (HvWAKL) proteins. Proteins are grouped by clade (I-V), indicated by the colored bar at left; color scheme consistent with Fig. 1). Columns represent: (A) sequence length (amino acids), (B) molecular weight (kDa), (C) isoelectric point (pI), (D) GRAVY, grand average of hydropathy, (E) amino acid composition as percentage, and (F) most likely subcellular localization. Values in A-E are color-coded on a continuous scale (e.g., blue = lower, yellow = intermediate, red = higher)

and 4 out of 6 according to CCTOP and TOPCONS, although all retain a signal peptide. The combination of these characteristics further supports the predicted extracellular localization and suggests potential roles in the apoplasmic environment (Table S10).

Protein domains and conserved structural motifs

To structurally characterize the PvWAK/WAKL proteins, domain prediction was performed using CDD-NCBI (Fig. 3 A). All proteins retained the conserved intracellular kinase region, whereas the extracellular portion showed the expected variation that separates WAKs from WAKLs (Fig. S2). Accordingly, PvWAKs consistently displayed a signal peptide, a transmembrane region, kinase, EGF, and GUB_WAK_bind domains [17], whereas proteins lacking one or both extracellular modules (EGF

or GUB_WAK_bind) but preserving the kinase domain were classified as PvWAKLs [41]. Notably, 48 of the 49 proteins (97.9%) displayed the GUB_WAK_bind domain near the N-terminus, immediately after the signal peptide and within the first third of the sequence, with PvWAKL27 as the only exception. In addition to these core elements, auxiliary domains (e.g., APH, DUF6249, Pkinase_fungal, WAK_assoc) contributed to differences in protein length and molecular weight (Table S11), indicating potential functional diversification within the family.

In total, 25 distinct domains were predicted, revealing patterns of both conservation and group specificity (Fig. S3). In PvWAKs, the domains common to all members were Pkinase, GUB_WAK_bind, PK_Tyr_Ser-Thr, and EGF_3, whereas FXa_inhibition, TraO, EGF_CA,

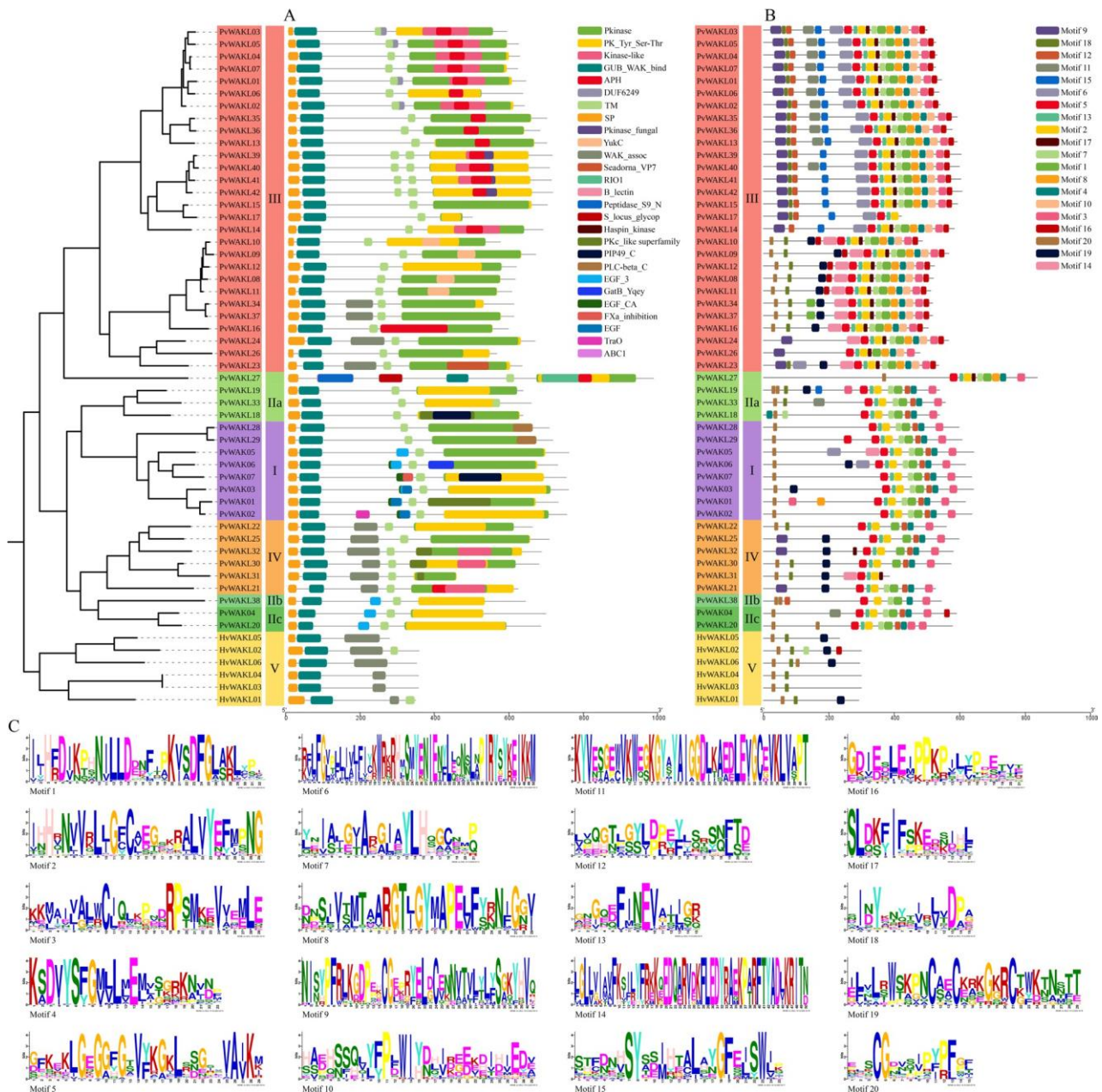


Fig. 3 Conserved domains and structural motifs of HvWAKL and PvWAK/WAKL proteins. **A** Conserved protein domains in *Hordeum vulgare* HvWAKL (HvWAKL) and *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL (PvWAK/WAKL) sequences as identified by CDD-NCBI. Domains are color-coded and aligned to each protein in phylogenetic order (clade designations consistent with Figs. 1 and 2), highlighting shared and group-specific architectural features. **B** Structural motifs discovered with MEME Suite across the same protein set; each colored block represents one of the 20 most significant motifs, positioned according to its location within the protein sequence. **C** Sequence logos for the 20 MEME-derived motifs, summarizing residue conservation and positional information for each motif

EGF, and GatB_Yqey were exclusive to this group. In PvWAKLs, GUB_WAK_bind and PK_Tyr_Ser-Thr were shared across all proteins, while PLC-beta_C, S_locus_glycop, Seadorna_VP7, YukC, Pkinase_fungal, DUF6249, APH, B_lectin, Peptidase_S9_N, ABC1, Kinase-like, and RIO1 were observed only in this group. These patterns reinforce the idea that, although the internal signaling machinery is preserved, diversity in the extracellular

domains may mediate interaction specificity and functional divergence (Table S11).

Structural motifs identified with MEME Suite revealed both conserved and clade-specific patterns (Fig. 3B). Among the 20 predicted motifs, the most frequent were associated with kinase domains (motifs 1 and 5) and GUB_WAK_bind (motif 9). The RDxxxxN pattern, typical of RD-kinases, was found in motif 1, present in all 7

PvWAKs and 11 PvWAKLs (Fig. 3 C), supporting their role in phosphotransfer [7, 30]. WAK/WAKLs contained between 2 and 17 motifs. PvWAKLs from clade III displayed the greatest diversity, while HvWAKLs from clade V exhibited simpler structures, with only five recurrent motifs. Motif 10 was exclusive to clade III, suggesting functional specialization, whereas conserved motifs such as 2, 5, and 13 highlighted residues important across multiple groups (Table S12).

Gene structure and chromosomal distribution

Gene structure analysis revealed that 39 genes in this study harbored two or three introns, consistent with observations in soybean [69]. Four genes (*PvWAKL18*, *PvWAKL21*, *HvWAKL05*, and *HvWAKL06*) lacked

introns entirely, while 11 genes had a single intron, and *PvWAKL27* contained seven (Fig. 4 and Table S13). Although WAK/WAKL genes typically contain 1–3 introns [7, 11, 30, 70, 71], we observed subtle structural diversity across clades. When gene structure was analyzed alongside chromosomal localization (Fig. 5), consistent intron patterns emerged across the chromosomes, potentially reflecting gene family expansion via tandem or segmental duplication, as reported in previous studies [8, 32, 69]. Genes located on chromosomes 3, 4, 6, and 11 tended to have more introns (3), while those on chromosomes 1, 2, and 9 had fewer (2). *HvWAKLs* contained up to two introns; two genes lacked introns, three contained one intron, and one contained two.

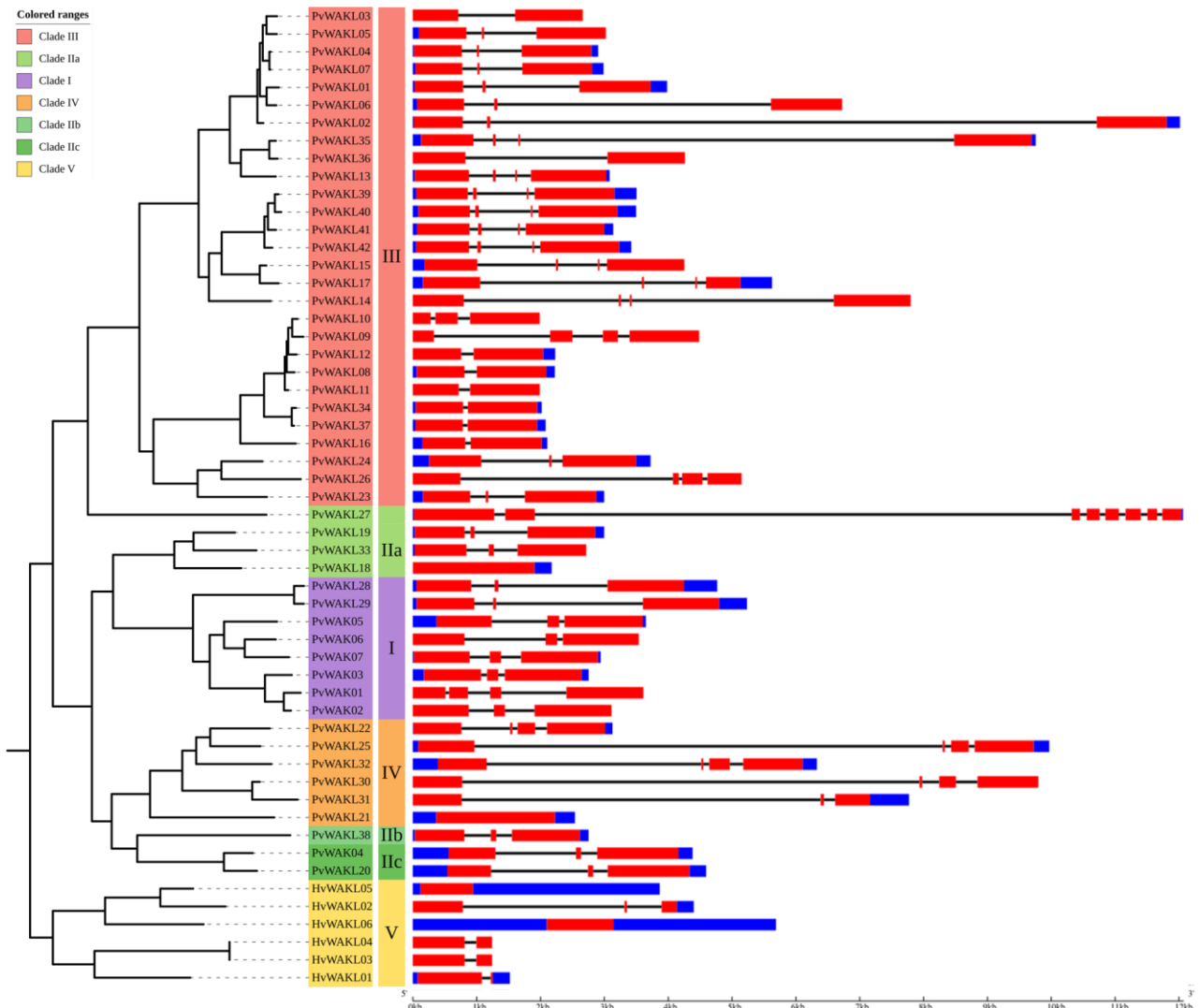


Fig. 4 Phylogeny and gene structures of *HvWAKL* and *PvWAK/WAKL* genes. Maximum-likelihood phylogenetic tree (left) of *Hordeum vulgare* WAKL (*HvWAKL*) and *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL (*PvWAK/WAKL*) proteins (same inference parameters as in Fig. 1) alongside their corresponding gene structures (right). Gene models are shown in genomic scale (kb), with colored boxes representing structural features (e.g., red = coding exons, blue = UTRs) and connecting lines indicating introns

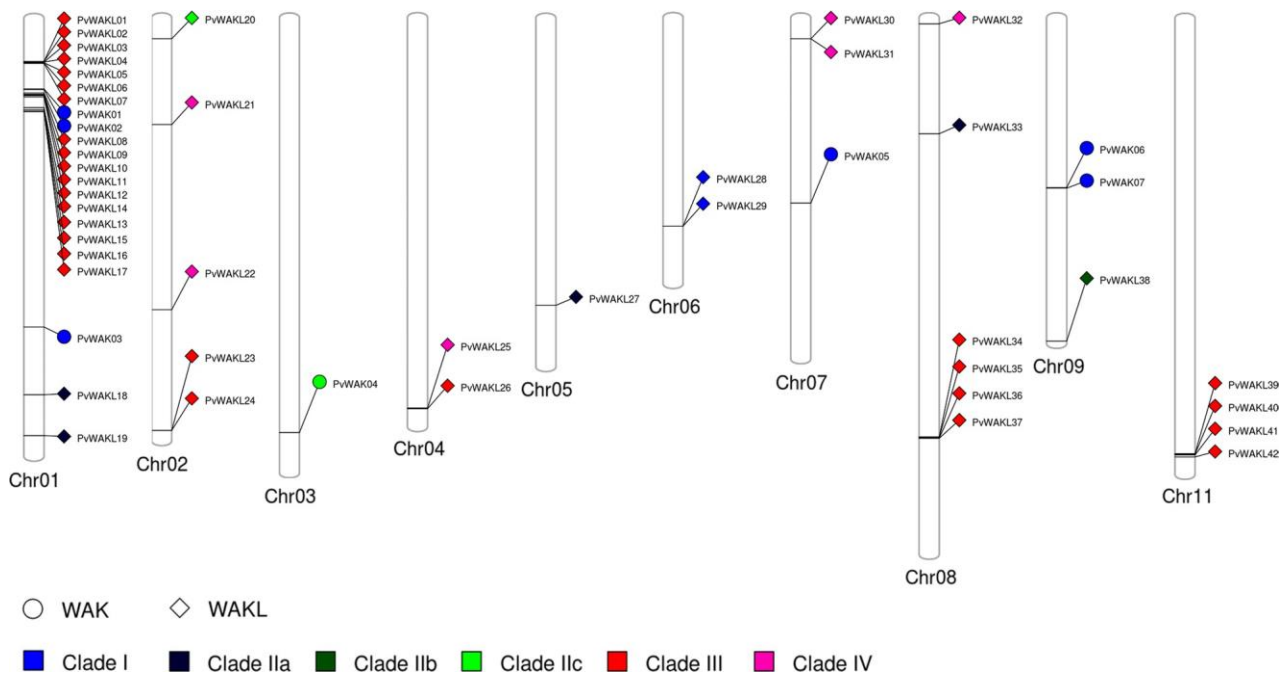


Fig. 5 Chromosomal distribution of *PvWAK* and *PvWAKL* genes in *Phaseolus vulgaris*. Genomic positions of *PvWAK* and *PvWAKL* genes mapped onto *Phaseolus vulgaris* chromosomes. Each gene is represented by a shape indicating type (circle: *PvWAK*; diamond: *PvWAKL*) and colored according to its clade assignment (blue: Clade I; dark blue/navy: Clade IIa; green: Clade IIb; light green: Clade IIc; red: Clade III; magenta: Clade IV). Chromosome identifiers are shown below each vertical bar, and the relative positions reflect physical coordinates (Mb) extracted from the reference genome

PvWAK/WAKL genes were unevenly distributed across 10 of the 11 *P. vulgaris* chromosomes (Fig. 5), a distribution pattern commonly observed in this family across species [67, 69, 72]. The number of genes per chromosome ranged from 1 to 22, with chromosome 1 harboring the largest number. Using our proximity criterion, defined as two or more genes positioned consecutively on the same chromosome and separated by short intergenic distances, we identified nine genomic clusters. The clustered genes were located within 3.1 to 47.7 kb of each other, consistent with the criteria adopted in this study. An additional pair on chromosome 11 (*Phvul.011G198500.1–Phvul.011G200400.1*), although physically close in a broader chromosomal context, was separated by ~ 226 kb and therefore not classified as a true cluster. Although two *PvWAKL* genes on chromosome 6 were initially positioned in close proximity, they were separated by an unrelated gene and, therefore, were not classified as part of the same cluster. This clustered organization aligns with observations in other plant species, suggesting potential phylogenetic relatedness and the contribution of tandem duplication to the expansion of the *WAK/WAKL* family [11, 21, 33]. Similar clustered patterns reported in *Solanum lycopersicum* also exhibit conserved motif architecture, reinforcing the functional relevance of such genomic arrangements [7, 70] (Table S13).

Cis-regulatory elements

A total of 6,370 cis-regulatory elements (CREs), classified into 100 types across six major functional categories, were identified in the promoter regions of *PvWAK/WAKL* genes (Fig. S4). The core promoter elements TATA-box and CAAT-box were the most abundant, occurring 2,092 and 1,439 times, respectively (Fig. S4A). CREs associated with abiotic stress responses (ASR; Fig. S4B) and light responsiveness (LR; Fig. S4G) were also highly represented, with 652 and 548 elements identified, respectively. The number of CRE types varied substantially across categories, ranging from only four in the biotic stress response (BSR) category (Fig. S4C) to 28 in light-responsive (LR) elements, highlighting the need for category-specific interpretation (Table S14).

When analyzing CRE distribution per clade (Fig. 6 A), genes from Clade IIb accounted for 22.2% of all ASR-related CREs, whereas Clade IV genes were prominent in BSR-related elements. Clade IIc showed enrichment in light-responsive (LR) elements, and Clade V exhibited high relative proportions of CREs related to development (DR) and hormone responsiveness (HR).

Comparative analysis across categories within each clade (Fig. 6B) further supported functional divergence. ASR elements were particularly enriched in Clades IIb, IIc, and V. Clade IIc had the highest relative proportion of LR elements, while Clades IV and V showed notable enrichment for BSR and HR elements, respectively. These

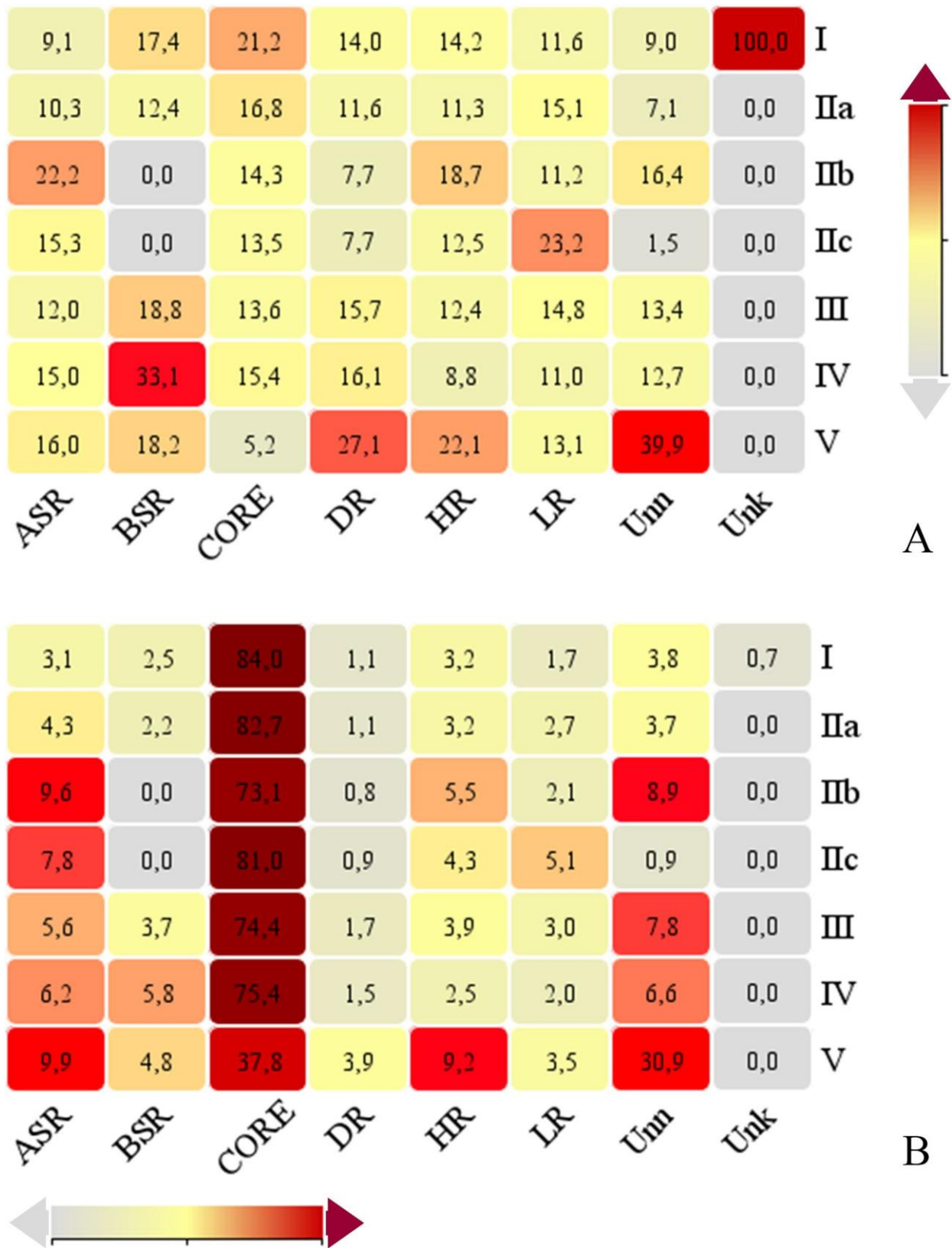


Fig. 6 (See legend on next page.)

(See figure on previous page.)

Fig. 6 Cis-regulatory element enrichment across PvWAK/WAKL clades and categories. Heatmaps summarizing enrichment patterns of cis-regulatory element categories among *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL (PvWAK/WAKL) clades. In panel **A**, each cell shows the relative proportion or enrichment score of a given category within a clade, enabling vertical comparison of clades for each element type. In panel **B**, each clade's profile is compared horizontally across regulatory categories, highlighting within-clade variation. Categories on the x-axis are: ASR (Abiotic Stress Responsive), BSR (Biotic Stress Responsive), CORE, DR (Development-related), HR (Hormone Responsive), LR (Light Responsive), Unn (Unnamed), and Unk (Unknown). Color intensity represents enrichment magnitude (scale bar at right: light = lower enrichment; dark red = higher enrichment), with numeric values overlaid in each cell

patterns suggest potential clade-specific regulatory specializations, which may underlie functional divergence in response to environmental cues and developmental signals.

Synteny among *Arabidopsis thaliana*, *Phaseolus vulgaris*, and *Glycine max*

The comparative synteny analysis revealed conserved genomic relationships between *P. vulgaris* WAK/WAKL genes and their homologs in *G. max* and *A. thaliana* (Fig. 7A). Between the two legumes, 40 conserved collinear relationships were detected, involving 19 PvWAK/WAKL genes and their corresponding GmWAK/WAKL loci. Six PvWAK/WAKLs showed three or more syntenic correspondences - PvWAKL20 (five), and PvWAK06, PvWAKL19, PvWAKL23, PvWAKL27, and PvWAKL33 (three each). Seven genes exhibited two correspondences, while six presented one-to-one relationships (Fig. 7B and Table S15).

Between *P. vulgaris* and *A. thaliana*, 12 syntenic pairs were identified, involving 11 PvWAK/WAKL and 11 AtWAK/WAKL genes. Although fewer in number, consistent with the closer phylogenetic relationship between *P. vulgaris* and *G. max*, these conserved collinearities indicate preservation of core WAK/WAKL modules across angiosperms.

Overall, 20 PvWAK/WAKL genes displayed conserved collinearity with *A. thaliana*, *G. max*, or both. Among them, eight genes were differentially expressed in at least one of the evaluated conditions (48 or 96 hpi) in the resistant (Ouro Vermelho) and susceptible (BRS Estilo) cultivars [4]. PvWAKL32 and PvWAKL33 were particularly notable. PvWAKL32 exhibited four syntenic correspondences (two in *Arabidopsis* and two in soybean), and PvWAKL33 showed five (two in *Arabidopsis* and three in soybean). All corresponding loci encoded WAK/WAKL-type kinases, typically associated with environmental perception and stress signaling.

Interestingly, these genes displayed contrasting transcriptional patterns. PvWAKL32 exhibited a profile consistent with susceptibility at 48 hpi and resistance at 96 hpi, whereas PvWAKL33 showed the opposite trend, being up-regulated in the resistant cultivar at 48 hpi and down-regulated at 96 hpi. Considering their conserved collinearity and opposing regulation patterns across the biotrophic (48 hpi) and necrotrophic (96 hpi) phases of infection [35, 73], PvWAKL32 and PvWAKL33 represent

promising candidates for functional investigation, particularly in the context of WAK/WAKL-mediated signaling, developmental regulation, and environmental responsiveness in *P. vulgaris*.

To further expand the comparative context, BLASTp analyses showed that PvWAK/WAKL proteins share between 40% and 66% identity with experimentally characterized WAK/WAKL proteins from model and cultivated species (Fig. S5), including AtWAKL10 and AtWAKL22 (*A. thaliana*), BvWAK1 and BvWAK11 (*B. vulgaris*), CaWAKL20 (*C. annuum*), JrWAK12 (*J. regia*), NbWAK12 and NbWAK14 (*N. benthamiana*), SlWAKL6 (*S. lycopersicum*), TaWAKL4 (*T. aestivum*), and ZmWAK52 and ZmWAK-RLK1 (*Z. mays*) [7, 31, 32, 41, 65, 68, 74, 75]. These similarity patterns, combined with the phylogenetic relationships inferred from the expanded dataset of 113 WAK/WAKL proteins (Fig. S6), further support conserved structural and functional relationships among these groups.

Expression patterns of PvWAK/WAKL genes

Differential gene expression analysis of the PvWAK/WAKL genes in the anthracnose-resistant (Ouro Vermelho) and susceptible (BRS Estilo) cultivars of *Phaseolus vulgaris* revealed contrasting transcriptional patterns across infection stages following inoculation with *Colletotrichum lindemuthianum* race 65 (isolate Lv134) [35]. The selected time points (0, 48, and 96 hpi) correspond to key infection phases previously characterized for this pathosystem [35, 73]: 0 hpi represents uninoculated control leaves; 48 hpi corresponds to the biotrophic phase involving appressoria, infection vesicles, and primary hyphae; and 96 hpi marks the necrotrophic phase, characterized by secondary hyphae proliferation and visible necrotic lesions in the susceptible cultivar. Six comparisons were evaluated and grouped into two temporal stages: (i) OV^{48hpi} x E^{48hpi}, OV^{48hpi} x OV^{0hpi}, E^{48hpi} x E^{0hpi}, and (ii) OV^{96hpi} x E^{96hpi}, OV^{96hpi} x OV^{48hpi}, E^{96hpi} x E^{48hpi} [35]. Comparisons between 0 and 96 hpi were excluded because they merge distinct infection phases, resulting in elevated biological dispersion and reduced interpretability. Although only two biological replicates were available per condition, PCA and hierarchical clustering analyses [35] confirmed low within-group variation and clear separation among treatments, supporting the robustness of the differential expression results.

At 48 hpi, 29 of the 49 *PvWAK/WAKL* genes were not differentially expressed (DEGs), and three showed shared transcriptional behavior in both genotypes (Fig. 8 A). Among the DEGs potentially associated with resistance, *PvWAKL33* was notably upregulated in the resistant cultivar and downregulated in the susceptible one. Other genes upregulated in Ouro Vermelho included *PvWAKL02*, *PvWAKL22*, *PvWAKL07*, *PvWAKL03*, and *PvWAKL30*, while *PvWAK02* was downregulated in the susceptible cultivar. In contrast, genes such as *PvWAKL32*, *PvWAKL29*, and *PvWAKL26* were upregulated in the susceptible cultivar, whereas *PvWAKL41*, *PvWAKL39*, and *PvWAKL14* were downregulated in the resistant one, suggesting possible contributions to susceptibility.

At 96 hpi, 16 genes remained non-differentially expressed, while 14 were upregulated in both cultivars, indicating a general response unrelated to genotype-specific resistance (Fig. 8B). Among the DEGs with putative roles in resistance, *PvWAKL15*, *PvWAKL26*, *PvWAKL32*, *PvWAKL14*, *PvWAKL25*, and *PvWAK03* were upregulated in the resistant cultivar. Conversely, *PvWAKL41*, *PvWAKL39*, *PvWAKL22*, *PvWAKL33*, and *PvWAK02* were downregulated in Ouro Vermelho, whereas *PvWAKL19*, *PvWAKL24*, *PvWAKL12*, and *PvWAKL10* were upregulated in BRS Estilo, consistent with susceptibility-associated expression patterns (Table S16).

Together, these transcriptional profiles highlight the divergent roles of *PvWAK/WAKL* genes under compatible and incompatible interactions with *C. lindemuthianum*. Integrated with the structural, phylogenetic, and syntenic analyses presented in this study, these findings identify promising candidate genes, particularly *PvWAKL32* and *PvWAKL33*, for future functional studies aimed at elucidating the molecular mechanisms underlying anthracnose resistance and susceptibility in common bean.

Discussion

Receptor-like kinases (RLKs) play a pivotal role in plant evolution, enabling the perception and transduction of a wide array of environmental cues [70, 76, 77]. Among them, wall-associated kinases and kinase-like proteins (WAK/WAKLs) stand out for their multifaceted roles in key biological processes, including cell elongation and expansion [78], vegetative development [7, 15, 16, 23], and hormone signaling [19, 27, 28]. These proteins are also responsive to abiotic challenges, such as heavy metal toxicity [25, 26], salinity [8], cold [13], and heat stress [14, 24]. In addition, WAK/WAKLs contribute significantly to plant immunity by mediating responses to pathogens including viruses, bacteria, nematodes, and fungi [29, 31, 64, 79–81].

Despite their biological and agronomic relevance, a comprehensive genome-wide characterization of the WAK/WAKL gene family in *Phaseolus vulgaris*, a species of paramount importance for global food security, had not yet been conducted. This study addresses this gap by providing the first in-depth structural, evolutionary, and transcriptional analysis of *PvWAK/WAKL* genes, with important implications for understanding their functional diversification and potential roles in anthracnose resistance.

In this study, we identified 49 WAK/WAKL genes in *Phaseolus vulgaris*, comprising 7 *PvWAKs* and 42 *PvWAKLs*. This number is comparable to that reported for *Cannabis sativa*, *Gossypium arboreum*, *Medicago truncatula*, and *Zea mays* [66, 68, 71]. In contrast, lower or higher counts have been observed in species such as *Juglans mandshurica* (14), *Solanum tuberosum* (29), *Hordeum vulgare* (91), *Glycine max* (94), and *Brassica rapa* (96) [33, 34, 65, 70]. These differences likely reflect species-specific gene expansion events during evolution [8]. It is important to note, however, that such comparisons must be interpreted with caution, as variations in genome quality, annotation pipelines, and domain search criteria can significantly influence gene family estimates [17].

Based on the phylogenetic classification proposed for *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana*, *Solanum lycopersicum*, and *Hordeum vulgare* [31, 34], the *PvWAK/WAKL* genes were assigned to five major clades. The majority of *PvWAKLs* were grouped within clade III, consistent with findings in *Glycine max* [69], suggesting possible lineage-specific expansions or neofunctionalization events in closely related species. No *PvWAK/WAKL* gene was classified into clade V, which may reflect the inclusion criteria adopted in this study - namely, the presence of signal peptide (SP), GUB_WAK_bind (GWB), EGF_CA, transmembrane (TM), and serine/threonine kinase (STK) domains for *PvWAKs*; and SP, EGF_CA and/or GWB, TM, and STK domains for *PvWAKLs* [17, 41]. In this context, the conservation of the intracellular kinase domain across clades supports its established role in downstream signal transduction via phosphorylation [71, 82], whereas the extracellular GUB_WAK_bind and EGF domains, whose presence varies among clades, are primarily responsible for the perception of external stimuli [21, 71, 83]. This domain organization aligns with the phylogenetic structuring observed in our results, suggesting that variation in extracellular regions may have driven clade-specific diversification and functional differentiation within the *PvWAK/WAKL* family.

All *PvWAK/WAKLs* displayed predicted transmembrane domains. Experimental evidence from the literature supports plasma membrane localization of WAK proteins, such as MtWAK24 [30], and NtWAK11, NtWAK32, and NtWAK41, which also exhibit confirmed

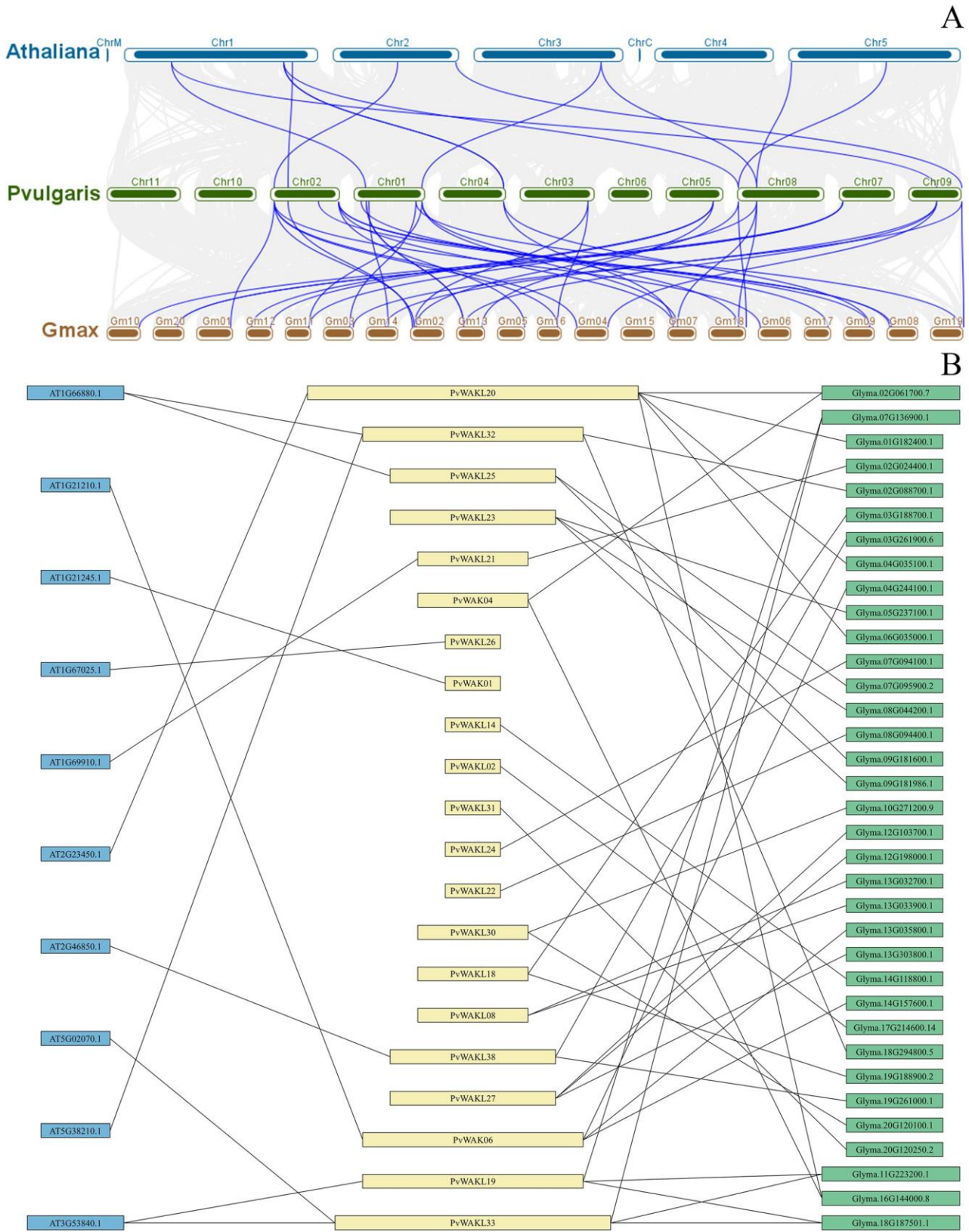


Fig. 7 (See legend on next page.)

(See figure on previous page.)

Fig. 7 Synteny relationships of WAK/WAKL genes among *Arabidopsis thaliana*, *Phaseolus vulgaris*, and *Glycine max*. **A** Genome-wide synteny map illustrating conserved chromosomal regions among *Arabidopsis thaliana* (top, blue), *Phaseolus vulgaris* (middle, green), and *Glycine max* (bottom, brown). Colored lines represent syntenic connections linking genomic segments that harbor WAK/WAKL genes across the three species. **B** Gene-level synteny network depicting homologous relationships among WAK/WAKL genes: *A. thaliana* genes (left, blue), *P. vulgaris* WAK/WAKL (*PvWAK/WAKL*) genes (center, yellow), and *G. max* homologs (right, green). Edges connect genes sharing inferred orthologous or syntenic relationships, highlighting conserved evolutionary links within the WAK/WAKL family

kinase activity [84]. These findings strengthen the hypothesis that *PvWAK/WAKL* proteins may function analogously, acting as cell surface receptors involved in signaling processes.

To better characterize the *PvWAK/WAKL* proteins, several biochemical and structural properties were analyzed. Variations in protein length and molecular weight reflect differences in domain composition across this gene family, particularly in the extracellular region, where EGF and/or GUB_WAK_bind domains are found. The predominance of hydrophilic profiles [68], along with the frequent occurrence of leucine and serine residues, supports the dual role of *PvWAK/WAKL* proteins as extracellular sensors and as mediators of intracellular signal transduction via phosphorylation. Their structural diversity suggests that *PvWAKLs*, in particular, may exhibit greater flexibility in recognizing and transducing environmental cues across the plasma membrane.

To provide comparative functional context, *PvWAK/WAKL* proteins exhibited sequence similarity around 40–66% to well-characterized WAK/WAKL members from other species, such as *AtWAKL10* and *AtWAKL22* (*Arabidopsis thaliana*), *CaWAKL20* (*Capsicum annuum*), *SIWAKL6* (*Solanum lycopersicum*), and *TaWAKL4* (*Triticum aestivum*) (Figure S5). These proteins have been implicated in responses to leaf senescence, heat stress, mechanical wounding, and infections by *Fusarium oxysporum* and *Zymoseptoria tritici* [7, 16, 24, 41, 75]. The observed sequence similarity suggests that *PvWAK/WAKLs* may perform analogous regulatory or stress-responsive functions in *P. vulgaris*, although experimental validation and further functional analyses will be required to confirm these roles.

Although purifying selection has been reported as the predominant evolutionary force acting on this gene family in several species [17, 84], signals of positive selection have also been detected in specific regions, notably within GUB_WAK_bind domains [72], indicating potential functional adaptation. Together, these findings illustrate an evolutionary pattern characterized by cytoplasmic domain conservation alongside diversification and specialization of extracellular regions.

The gene architecture of *PvWAK/WAKL* revealed a predominance of structures with 2–3 introns, consistent with previous studies and potentially associated with faster transcriptional activation [30, 41, 66, 85, 86]. The structural conservation observed among genes within

the same clade, frequently associated with gene duplication events, further supports this hypothesis [8, 17, 71, 87]. Additionally, the uneven chromosomal distribution of these genes suggests that evolutionary diversification processes, such as exon gain or loss, may have shaped the *PvWAK/WAKL* family over time [33].

To explore preliminary associations between *PvWAK/WAKL* genes and specific environmental responses, we analyzed cis-regulatory elements (CREs) within their promoter regions. In addition to core transcriptional elements (TATA-box and CAAT-box), clade-specific enrichments of regulatory categories were detected. For instance, ASR-related CREs were particularly abundant in clade IIb, BSR elements in clades III, IV, and V, LR elements in clade IIc, and DR and HR elements in clade V, highlighting possible regulatory specialization among clades. Broadly represented CREs such as MYB, MYC, ARE, W-box, WUN-motif, AAGAA-motif, as-1, ERE, ABRE, and G-box underscore the complexity of the transcriptional regulation of these genes [7, 66, 87]. Previous studies have also emphasized the role of hormone-responsive CREs in the regulation of WAK/WAKL genes [19].

Notably, *PvWAKL33* is positioned within a conserved syntenic block containing WAK/WAKL homologs with known stress-related functions in other plant species. Its *Arabidopsis* counterparts, *AT5G02070* and *AT3G53840*, are responsive to hormonal and environmental cues. *AT5G02070* is negatively regulated by ABA and JA and has been implicated in disease resistance in wheat through its correspondence with the candidate gene underlying the QTL QKb.cim-5BS1 for Karnal bunt resistance [88, 89]. Homologs of *AT5G02070* in *Brassica napus* are upregulated in resistant lines during *Sclerotinia sclerotiorum* infection and display opposite transcriptional responses between shoots and roots under multiple nutrient-deficiency stresses [90, 91], suggesting a context-dependent regulatory role. The second *Arabidopsis* homolog, *AT3G53840*, is transcriptionally responsive to gravitropic stimulation [88], consistent with the frequent involvement of WAKL-type RLKs in cell-wall-associated environmental perception.

In soybean, the syntenic genes *GmWAK23* (*Glyma.07G136900*) and *GmWAK38* (*Glyma.11G223200*) form a segmentally duplicated pair, and *GmWAK38* is strongly expressed in roots and rapidly modulated under multiple abiotic stresses (cold, heat,

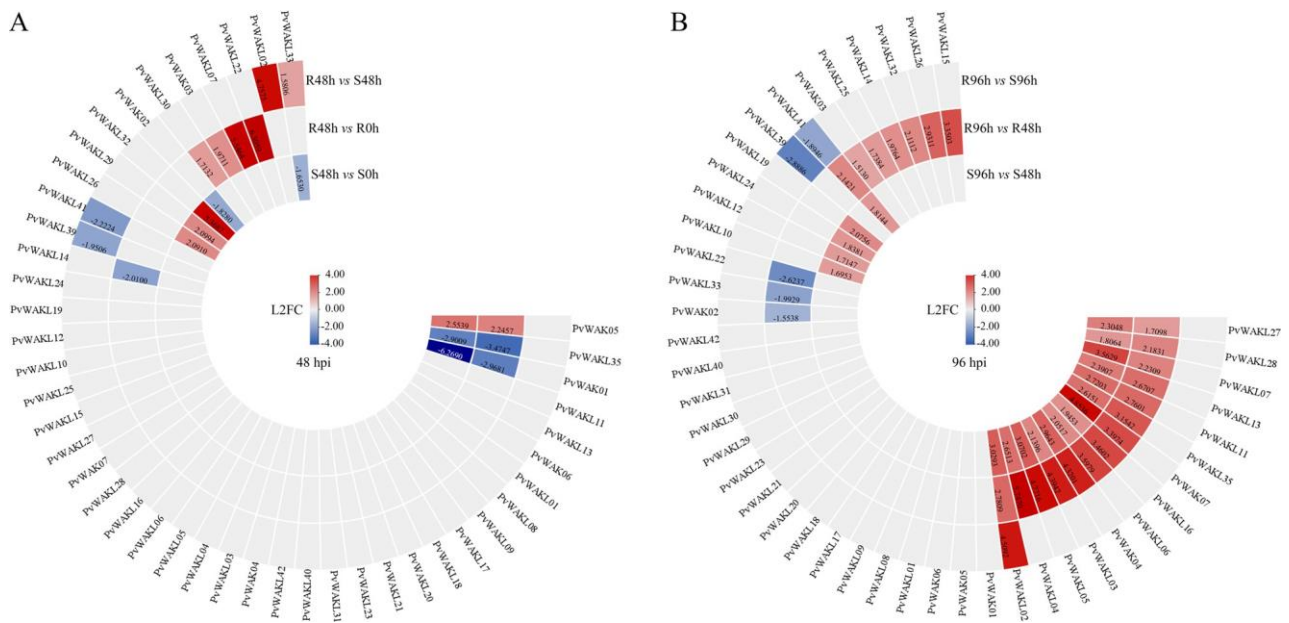


Fig. 8 Differential expression of *PvWAK/WAKL* genes at 48 and 96 hours post-inoculation. Circular heatmaps showing \log_2 fold change (L2FC) values for differentially expressed *Phaseolus vulgaris* WAK/WAKL (*PvWAK/WAKL*) genes in the resistant cultivar Ouro vermelho and the susceptible cultivar BRS Estilo at two post-inoculation time points. Panel **A** shows expression changes at 48 hours post-inoculation (48 hpi) and panel **B** at 96 hpi. Tiles are colored by L2FC (red = upregulated; blue = downregulated), with color intensity proportional to the magnitude of fold change. Grey cells with no numeric values correspond to genes that were not differentially expressed (Non-DEGs) under the respective condition

drought, salinity, aluminum, cadmium), indicating a central role in stress adaptation [69]. Together, these functional features across different lineages emphasize the biological relevance of the conserved genomic context surrounding *PvWAKL33* and support its putative role in early defense responses, consistent with its induction in the resistant cultivar and repression in the susceptible one at 48 hpi.

Transcriptomic analysis revealed contrasting expression patterns among the 49 *PvWAK/WAKL* genes in *Phaseolus vulgaris* cultivars with differing resistance to anthracnose, highlighting the regulatory complexity underlying plant-pathogen interactions. In total, 16 genes were differentially expressed at 48 hpi and 29 at 96 hpi; however, such analyses, when based solely on a single cultivar can lead to misleading interpretations. For instance, a gene upregulated in the resistant cultivar following inoculation may be mistakenly considered resistance-related if it is also induced in the susceptible genotype, without playing a direct role in immunity. Accurate interpretation therefore requires comparative contrasts between genotypes, time points, and treatment conditions. It is important to note that the transcriptomic dataset used in this study was generated with two biological replicates per condition. Although this may reduce statistical power in leaf samples collected from soil-grown plants, previous quality assessments, including PCA and hierarchical clustering, showed clear

separation among genotypes and infection stages, supporting the robustness of the DEG analysis [35].

Applying this rationale to the 49 genes analyzed, a wide range of expression profiles was observed, including non-responsive genes (33 at 48 hpi and 20 at 96 hpi), responsive but not resistance- or susceptibility-associated genes (3 at 48 hpi and 14 at 96 hpi), and genes differentially expressed in a genotype- and time-specific manner. This functional diversity, even within a relatively small gene family, reflects the intricate signaling network mediated by *PvWAK/WAKL*.

PvWAK02, *PvWAKL22*, and *PvWAKL33* were associated with resistance at 48 h post-inoculation and with susceptibility at 96 h, whereas *PvWAKL14*, *PvWAKL26*, and *PvWAKL32* showed the opposite pattern. *PvWAK03* and *PvWAKL02* were consistently linked to resistance at both time points, while *PvWAKL39* and *PvWAKL41* were consistently associated with susceptibility. As previously noted, syntenic WAK/WAKL homologs in other species, including *Arabidopsis*, *Brassica napus*, wheat and soybean, are known to be responsive to hormone signaling, pathogen infection, nutrient-deficiency stress and a range of abiotic stresses [69, 88–91]. These findings lend additional support to the functional relevance of the *PvWAK/WAKL* responsiveness detected here.

Phylogenetic context further supports the functional relevance of these proteins (Fig. S6). *PvWAK02* and *PvWAK03*, both containing the W-box (a WRKY transcription factor binding site), group phylogenetically with

BvWAK1 and BvWAK11 (Table S17), which have been implicated in nematode resistance in sugar beet [32]. PvWAKL22, showing WUN and WRE3, is positioned within the clade that includes NbWAK12 and NbWAK14 (whose silencing in *Nicotiana benthamiana* significantly increased Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) genomic DNA accumulation) [31], JrWAK12 (involved in female flower development) [65], and ZmWAK52 (highly expressed in maize grains, positively regulated by gibberellin, localized to the plasma membrane and cell wall, and linked to grain size and yield) [68]. PvWAKL26 is positioned in the same clade as TaWAKL4 and ZmWAK-RLK1. TaWAKL4 corresponds to the *Stb6* gene, which confers resistance to *Septoria tritici* blotch (STB) caused by *Zymoseptoria tritici* [75] while ZmWAK-RLK1 has been associated with quantitative resistance to Northern corn leaf blight (NCLB) [74].

Previous studies have demonstrated that proteins within the same phylogenetic clade often share gene structures, functional domain composition, structural motifs, and subcellular localization [7, 33, 68, 70], features also observed here. Taken together, these results suggest that the differentially expressed genes identified in this study may play key roles in common bean resistance to anthracnose. This hypothesis warrants detailed functional validation in future investigations.

Conclusions

This study provides the first genome-wide characterization of the PvWAK/WAKL gene family in *Phaseolus vulgaris*, integrating structural annotation, phylogenetic relationships, cis-regulatory architecture, chromosomal organization, and expression profiles during the interaction with *Colletotrichum lindemuthianum*. The conserved intracellular kinase domains, the clade-specific diversification of extracellular modules, and the predominance of compact gene structures reflect a balance between evolutionary conservation and specialization within this receptor family.

Comparative genomics further revealed conserved syntenic blocks connecting *P. vulgaris* genes to WAK/WAKL homologs in *Arabidopsis thaliana* and *Glycine max*, many of which have experimentally established roles in pathogen perception, abiotic stress signaling, and developmental regulation. The observed 40–66% sequence identity to functionally characterized WAK/WAKLs from several species reinforces the likelihood of conserved molecular functions among PvWAK/WAKL members. Although functional assays are still required, the integration of structural, syntenic, and expression evidence highlights a small subset of genes that warrant deeper investigation. While PvWAKL02 and PvWAKL22 were among the genes upregulated at 48 hpi, PvWAKL15 and PvWAKL26 stood out at 96 hpi, particularly due to

their higher expression levels relative to other highlighted genes. Additionally, PvWAKL32 and PvWAKL33 showed contrasting transcriptional trajectories across infection phases and were located within conserved syntenic regions, reinforcing their potential involvement in early signal perception or regulatory modulation during the anthracnose pathosystem.

Altogether, this work establishes a foundational resource for understanding WAK/WAKL-mediated signaling in common bean and provides a focused set of candidates for future functional and breeding-oriented studies.

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s12864-026-12531-2>.

- Supplementary Material 1.
- Supplementary Material 2.
- Supplementary Material 3.
- Supplementary Material 4.
- Supplementary Material 5.
- Supplementary Material 6.
- Supplementary Material 7.

Acknowledgements

We thank the Laboratory of Disease Resistance of the Department of Biology (Federal University of Lavras) for providing the experimental infrastructure and for supplying the biological materials used in this study, including the common bean cultivars Ouro Vermelho and BRS Estilo, as well as the *Colletotrichum lindemuthianum* race 65 isolate (LV134).

Authors' contributions

W.A.P. conceived and supervised the study; W.A.P. and G.C.F. performed sequence retrieval, domain annotation, and phylogenetic analyses; W.A.P. and E.S.O. processed the RNA-Seq data and conducted differential expression analyses; W.A.P. and G.C.F. integrated structural and expression data and drafted the manuscript; all authors contributed to data interpretation, critically revised the manuscript for important intellectual content, and approved the final version.

Funding

G.C.F. received a master's fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; grant number 131715/2023-2); E.S.O. received a doctoral fellowship from CAPES (88887.666332/2022-00); and W.A.P. received institutional support from FAPEMIG through the Universal Demand program (APQ-00511-23).

Data availability

The RNA-Seq datasets analyzed in this study are publicly available in the NCBI Sequence Read Archive under the BioProject accession number [PRJNA1219552] (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA1219552>). Processed expression data (log₂ fold changes) are provided in Supplementary Table S16. Phylogenetic trees, domain annotation tables, and analysis scripts are provided as supplementary material. All other supporting data are included in this published article and its supplementary information files.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Received: 2 August 2025 / Accepted: 6 January 2026

Published online: 24 January 2026

References

1. Uebersax MA, Cichy KA, Gomez FE, Porch TG, Heitholt J, Osorno JM, et al. Dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as a vital component of sustainable agriculture and food security—A review. *Legume Sci.* 2023;5. <https://doi.org/10.1002/leg.3.155>
2. Assefa T, Assibi Mahama A, Brown AV, Cannon EKS, Rubyogo JC, Rao IM, et al. A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Mol Breed.* 2019;39:20. <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0920-0>.
3. Didinger C, Foster MT, Bunning M, Thompson HJ. Nutrition and Human Health Benefits of Dry Beans and Other Pulses. In: *Dry Beans and Pulses*. Wiley; 2022. p. 481–504. <https://doi.org/10.1002/9781119776802.ch19>.
4. Costa LC, Nalin RS, Dias MA, Ferreira ME, Song Q, Pastor-Corrales MA, et al. Different loci control resistance to different isolates of the same race of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. *Theor Appl Genet.* 2021;134:543–56. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03713-x>.
5. Barcelos Q, de Ishikawa L, Costa FH, Pádua LC, de Abreu PF, de Ramalho Á. Investigating the resistance of common bean germplasm to *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for breeding. *Crop Breed Appl Biotechnol.* 2024;24. <https://doi.org/10.1590/1984-70332024v24n4a4x>
6. Habibi S, Aryan S, Seerat AY, Saighani K, Haidari MD. Maximizing common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) productivity through application of organic and inorganic fertilizers in alkaline soil. *Appl Biosci.* 2025;4:22. <https://doi.org/10.3390/applbiosci4020022>.
7. Sun Z, Song Y, Chen D, Zang Y, Zhang Q, Yi Y, et al. Genome-wide identification, classification, characterization, and expression analysis of the wall-associated kinase family during fruit development and under wound stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Genes.* 2020;11:1186. <https://doi.org/10.3390/genes11101186>.
8. Zhang Z, Ma W, Wang H, Ren Z, Liu Y, He K, et al. Characterization of the wall-associated kinase (WAK) gene family in *Gossypium barbadense* reveals the positive role of GbWAK5 in salt tolerance. *Plant Cell Rep.* 2025. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03407-4>.
9. Vaz Bisneta M, Gonçalves-Vidigal MC. Integration of anthracnose resistance loci and RLK and NBS-LRR-encoding genes in the *Phaseolus vulgaris* L. genome. *Crop Sci.* 2020;60:2901–18. <https://doi.org/10.1002/csc2.20288>.
10. da Silva Dambroz CM, Aono AH, de Andra Silva EM, Pereira WA. Genome-wide analysis and characterization of the LRR-RLK gene family provides insights into anthracnose resistance in common bean. *Sci Rep.* 2023;13:13455. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40054-3>.
11. Kanneganti V, Gupta AK. Wall associated kinases from plants – an overview. *Physiol Mol Biol Plants.* 2008;14:109–18. <https://doi.org/10.1007/s12298-008-0010-6>.
12. Zhang Z, Huo W, Wang X, Ren Z, Zhao J, Liu Y, et al. Origin, evolution, and diversification of the wall-associated kinase gene family in plants. *Plant Cell Rep.* 2023;42:1891–906. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03068-9>.
13. Wu Q, Jiao X, Liu D, Sun M, Tong W, Ruan X, et al. CsWAK12, a novel cell wall-associated receptor kinase gene from *Camellia sinensis*, promotes growth but reduces cold tolerance in Arabidopsis. *Front Plant Sci.* 2024. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1420431>.
14. Whyte TD, Sipahi H. Bioinformatic and expression analyses of the wall-associated kinase genes under high-temperature stress in Sorghum. *Physiol Plant.* 2024. <https://doi.org/10.1111/pp1.14125>.
15. Kaur R, Singh K, Singh J. A root-specific wall-associated kinase gene, HvWAK1, regulates root growth and is highly divergent in barley and other cereals. *Funct Integr Genomics.* 2013;13:167–77. <https://doi.org/10.1007/s10142-013-0310-y>.
16. Li L, Li K, Ali A, Guo Y. Atwkl10, a cell wall associated receptor-like kinase, negatively regulates leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Mol Sci.* 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22094885>.
17. Harvey A, van den Berg N, Swart V. Describing and characterizing the WAK/WAKL gene family across plant species: a systematic review. *Front Plant Sci.* 2024. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1467148>.
18. Chen P, Giarola V, Bartels D. The *Craterostigma plantagineum* protein kinase CpWAK1 interacts with pectin and integrates different environmental signals in the cell wall. *Planta.* 2021. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03609-0>.
19. Xu C, He Z, Kang X, Zhao Y, Peng Q, Wen M, et al. Characterization and expression of the wall-associated kinase/wall-associated kinase-like (WAK/WAKL) family in response to *Botrytis cinerea* infection in strawberry (*Fragaria x ananassa*). *BMC Plant Biol.* 2025. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06405-0>.
20. Kohorn BD, Kobayashi M, Johansen S, Friedman HP, Fischer A, Byers N. Wall-associated kinase 1 (WAK1) is crosslinked in endomembranes, and transport to the cell surface requires correct cell-wall synthesis. *J Cell Sci.* 2006;119:2282–90. <https://doi.org/10.1242/jcs.02968>.
21. Tocquard K, Lafon-Placette C, Auguin D, Muries B, Bronner G, Lopez D, et al. In silico study of wall-associated kinase family reveals large-scale genomic expansion potentially connected with functional diversification in Populus. *Tree Genet Genomes.* 2014;10:1135–47. <https://doi.org/10.1007/s11295-014-0748-7>.
22. Wagner TA, Kohorn BD. Wall-associated kinases are expressed throughout plant development and are required for cell expansion. *Plant Cell.* 2001;13:303–18. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.2.303>.
23. Ma Y, Wang Z, Humphries J, Ratcliffe J, Bacic A, Johnson KL, et al. Wall-associated kinase like 14 regulates vascular tissue development in Arabidopsis and tomato. *Plant Sci.* 2024. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112013>.
24. Wang H, Niu H, Liang M, Zhai Y, Huang W, Ding Q, et al. A wall-associated kinase gene Cawak120 from pepper negatively modulates plant thermotolerance by reducing the expression of ABA-responsive genes. *Front Plant Sci.* 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00591>.
25. Hou X, Tong H, Selby J, DeWitt J, Peng X, He Z-H. Involvement of a cell wall-associated kinase, WAKL4, in Arabidopsis mineral responses. *Plant Physiol.* 2005;139:1704–16. <https://doi.org/10.1104/pp.105.066910>.
26. Xia Y, Yin S, Zhang K, Shi X, Lian C, Zhang H, et al. OsWAK11, a rice wall-associated kinase, regulates Cu detoxification by alteration the immobilization of Cu in cell walls. *Environ Exp Bot.* 2018;150:99–105. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.005>.
27. Häffner E, Karlovsky P, Splivallo R, Traczewska A, Diederichsen E. ERECTA, salicylic acid, abscisic acid, and jasmonic acid modulate quantitative disease resistance of *Arabidopsis thaliana* to *Verticillium longisporum*. *BMC Plant Biol.* 2014. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-85>.
28. Dou L, Li Z, Shen Q, Shi H, Li H, Wang W, et al. Genome-wide characterization of the WAK gene family and expression analysis under plant hormone treatment in cotton. *BMC Genomics.* 2021. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07378-8>.
29. Zhao M, Li N, Chen S, Wu J, He S, Zhao Y, et al. GmWAK1, novel wall-associated protein kinase, positively regulates response of soybean to *Phytophthora sojae* infection. *Int J Mol Sci.* 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24010798>.
30. Kong W, Shi J, Yang B, Yu S, Zhao P, Guo Z, et al. Genome-wide analysis of the wall-associated kinase (WAK) genes in *Medicago truncatula* and functional characterization of MtWAK24 in response to pathogen infection. *Plants.* 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12091849>.
31. Zhong X, Li J, Yang L, Wu X, Xu H, Hu T, et al. Genome-wide identification and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) and WAK-like kinase gene family in response to tomato yellow leaf curl virus infection in *Nicotiana benthamiana*. *BMC Plant Biol.* 2023. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04112-2>.
32. Hamdi J, Kmeli N, Bettaieb I, Bouktila D. Wall-associated kinase (WAK) and WAK-like kinase gene family in sugar beet: genome-wide characterization and in silico expression analysis in response to beet cyst nematode (*Heterodera schachtii* Schmidt) infection. *J Plant Growth Regul.* 2025;44:1713–27. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11387-8>.
33. Yu H, Zhang W, Kang Y, Fan Y, Yang X, Shi M, et al. Genome-wide identification and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Biotechnol Rep.* 2022;16:317–31. <https://doi.org/10.1007/s11816-021-00739-5>.
34. Tripathi RK, Aguirre JA, Singh J. Genome-wide analysis of wall associated kinase (WAK) gene family in barley. *Genomics.* 2021;113:523–30. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.09.045>.
35. da Silva Dambroz CM, Aono AH, Costa LC, Novaes E, Pereira WA. Comparative transcriptome analysis provides new insights into the response of common

- bean to infection by race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*. PLoS One. 2025;20:e0314188. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0314188>.
36. Goodstein DM, Shu S, Howson R, Neupane R, Hayes RD, Fazo J, et al. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. Nucleic Acids Res. 2012. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>.
 37. Finn RD, Clements J, Eddy SR. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. Nucleic Acids Res. 2011. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr367>.
 38. Marchler-Bauer A, Derbyshire MK, Gonzales NR, Lu S, Chitsaz F, Geer LY, et al. CDD: ncbi's conserved domain database. Nucleic Acids Res. 2015;43:D222-6. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1221>.
 39. Nielsen H, Teufel F, Brunak S, von Heijne G, SignalP. The Evolution of a Web Server. 2024. pp. 331-67. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4007-4_17
 40. Hallgren J, Tsigiros KD, Pedersen MD, Almagro Armenteros JJ, Marcattili P, Nielsen H et al. DeepTMMH predicts alpha and beta transmembrane proteins using deep neural networks. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.04.08.487609>
 41. Liu X, Wang Z, Tian Y, Zhang S, Li D, Dong W, et al. Characterization of wall-associated kinase/wall-associated kinase-like (WAK/WAKL) family in rose (*Rosa chinensis*) reveals the role of RcWAK4 in *Botrytis* resistance. BMC Plant Biol. 2021. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03307-9>.
 42. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Mol Biol Evol. 2013;30:772-80. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.
 43. Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2 - approximately maximum-likelihood trees for large alignments. PLoS One. 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>.
 44. Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. Nucleic Acids Res. 2024;52:W78-82. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae268>.
 45. Stothard P. The sequence manipulation suite: javascript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. Biotechniques. 2000. <https://doi.org/10.2144/00286ir01>.
 46. Dobson L, Reményi I, Tusnády GE. CCTOP: a consensus constrained topology prediction web server. Nucleic Acids Res. 2015;43:W408-12. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv451>.
 47. Tsigiros KD, Peters C, Shu N, Käll L, Elofsson A. The TOPCONS web server for consensus prediction of membrane protein topology and signal peptides. Nucleic Acids Res. 2015;43:W401-7. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv485>.
 48. Omasits U, Ahrens CH, Müller S, Wollscheid B, Protter: interactive protein feature visualization and integration with experimental proteomic data. Bioinformatics. 2014;30:884-6. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt607>.
 49. Bailey TL, Johnson J, Grant CE, Noble WS. The MEME Suite. Nucleic Acids Res. 2015;43:W39-49. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv416>.
 50. Yu C-S, Chen Y-C, Lu C-H, Hwang J-K. Prediction of protein subcellular localization. Proteins Struct Funct Bioinform. 2006;64:643-51. <https://doi.org/10.1002/prot.21018>.
 51. Cheng W, Wang Z, Xu F, Ahmad W, Lu G, Su Y, et al. Genome-wide identification of lrr-rlk family in saccharum and expression analysis in response to biotic and abiotic stress. Curr Issues Mol Biol. 2021;43:1632-51. <https://doi.org/10.3390/cimb43030116>.
 52. Horton P, Park KJ, Obayashi T, Fujita N, Harada H, Adams-Collier CJ, et al. WoLF PSORT: protein localization predictor. Nucleic Acids Res. 2007. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm259>.
 53. Hu B, Jin J, Guo AY, Zhang H, Luo J, Gao G. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. Bioinformatics. 2015;31:1296-7. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu817>.
 54. Wolfe D, Dudek S, Ritchie MD, Pendergrass SA. Visualizing genomic information across chromosomes with PhenoGram. BioData Min. 2013. <https://doi.org/10.1186/1756-0381-6-18>.
 55. Lescot M, Déhais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Van De Peer Y et al. Plant-CARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in Silico analysis of promoter sequences. 2002.
 56. Chen C, Chen H, Zhang Y, Thomas HR, Frank MH, He Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. Mol Plant. 2020;13:1194-202. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>.
 57. Ge SX, Jung D, Yao R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. Bioinformatics. 2020;36:2628-9. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz931>.
 58. Davide LMC, Souza EA. Pathogenic variability within race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* and its implications for common bean breeding. Cropp Breed Appl Biotechnol. 2009;9:23-30. <https://doi.org/10.12702/1984-7033.v09n01a04>.
 59. Van Schoonhoven A. Standard system for the evaluation of bean germplasm. CIAT; 1987.
 60. Andrews SF. A quality control tool for high throughput sequence data. Augen, J.(2004). Bioinformatics in the post-genomic era: Genome, transcriptome, proteome, and information-based medicine. 2010.
 61. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics. 2014;30:2114-20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
 62. Schmutz J, McClean PE, Mamidi S, Wu GA, Cannon SB, Grimwood J, et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. Nat Genet. 2014;46:707-13. <https://doi.org/10.1038/ng.3008>.
 63. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. Bioinformatics. 2013;29:15-21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>.
 64. la De Rubia AG, Centeno ML, Moreno-González V, De Castro M, García-Angulo P. Perception and first defense responses against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in *Phaseolus vulgaris*: identification of wall-associated kinase receptors. Phytopathology. 2021;111:2332-42. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-20-0449-R>.
 65. Li M, Ma J, Liu H, Ou M, Ye H, Zhao P. Identification and characterization of wall-associated kinase (WAK) and WAK-like (WAKL) gene family in *Juglans regia* and its wild related species *Juglans mandshurica*. Genes. 2022. <https://doi.org/10.3390/genes13010134>.
 66. Sipahi H, Whyte TD, Ma G, Berkowitz G. Genome-wide identification and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) gene family in *Cannabis sativa* L. Plants. 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11202703>.
 67. Yan W, Hu P, Ni Y, Zhao H, Liu X, Cao H, et al. Genome-wide characterization of the wall-associated kinase-like (WAKL) family in sesame (*Sesamum indicum*) identifies a SiWAKL6 gene involved in resistance to *Macrophomina phaseolina*. BMC Plant Biol. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04658-1>.
 68. Hu K, Dai Q, Ajayo BS, Wang H, Hu Y, Li Y, et al. Insights into ZmWAKL in maize kernel development: genome-wide investigation and GA-mediated transcription. BMC Genomics. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09849-6>.
 69. Li X, Qi S, Meng L, Su P, Sun Y, Li N, et al. Genome-wide identification of the wall-associated kinase gene family and their expression patterns under various abiotic stresses in soybean (*Glycine max* (L.) Merr). Front Plant Sci. 2025. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1511681>.
 70. Zhang B, Li P, Su T, Li P, Xin X, Wang W, et al. Comprehensive analysis of wall-associated kinase genes and their expression under abiotic and biotic stress in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). J Plant Growth Regul. 2020;39:72-86. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09964-3>.
 71. Zhang Z, Ma W, Ren Z, Wang X, Zhao J, Pei X, et al. Characterization and expression analysis of wall-associated kinase (WAK) and WAK-like family in cotton. Int J Biol Macromol. 2021;187:867-79. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.163>.
 72. Wang Z, Ma Y, Chen M, Da L, Su Z, Zhang Z, et al. Comparative genomics analysis of WAK/WAKL family in Rosaceae identify candidate WAKs involved in the resistance to *Botrytis cinerea*. BMC Genomics. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09371-9>.
 73. Mahiya-Farooq, Padder BA, Bhat NN, Shah MD, Shikari AB, Awale HE, et al. Temporal expression of candidate genes at the Co-1 locus and their interaction with other defense related genes in common bean. Physiol Mol Plant Pathol. 2019;108:101424. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2019.101424>.
 74. Yang P, Praz C, Li B, Singla J, Robert CAM, Kessel B, et al. Fungal resistance mediated by maize wall-associated kinase ZmWAK-RLK1 correlates with reduced benzoxazinoid content. New Phytol. 2019;221:976-87. <https://doi.org/10.1111/nph.15419>.
 75. Sainenac C, Lee W-S, Cambon F, Rudd JJ, King RC, Marande W, et al. Wheat receptor-kinase-like protein Stb6 controls gene-for-gene resistance to fungal pathogen *Zymoseptoria tritici*. Nat Genet. 2018;50:368-74. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0051-x>.
 76. Liu J, Li W, Wu G, Ali K. An update on evolutionary, structural, and functional studies of receptor-like kinases in plants. Front Plant Sci. 2024. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1305599>.
 77. de Oliveira LfV, Christoff AP, de Lima JC, de Ross BCF, Sachetto-Martins G, Margis-Pinheiro M, et al. The wall-associated kinase gene family in rice genomes. Plant Sci. 2014;229:181-92. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.09.007>.

78. Kohorn BD, Kobayashi M, Johansen S, Riese J, Huang LF, Koch K, et al. An Arabidopsis cell wall-associated kinase required for invertase activity and cell growth. *Plant J.* 2006;46:307-16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02695.x>.
79. Zhang N, Pombo MA, Rosli HG, Martin GB. Tomato wall-associated kinase SlWak1 depends on Fls2/Fls3 to promote apoplastic immune responses to *Pseudomonas syringae*. *Plant Physiol.* 2020;183:1869-82. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00144>.
80. Chen S, Cui L, Wang X. A plant cell wall-associated kinase encoding gene is dramatically downregulated during nematode infection of potato. *Plant Signal Behav.* 2022. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.2004026>.
81. Feng H, Li C, Zhou J, Yuan Y, Feng Z, Shi Y, et al. A cotton WAKL protein interacted with a DnaJ protein and was involved in defense against *Verticillium dahliae*. *Int J Biol Macromol.* 2021;167:633-43. <https://doi.org/10.1016/j.ijbio mac.2020.11.191>.
82. Aono AH, Pimenta RJG, Dambroz CM, da Costa S, Kuroshu FCL, de Souza RM. Genome-wide characterization of the common bean kinome: catalog and insights into expression patterns and genetic organization. *Gene.* 2023;855:147127. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.147127>.
83. Tang Y, Chen H, Deng T, Chang Y, Sun K, Ditta A, et al. Genome-wide identification and analysis of the GUB_WAK_bind gene family in *Gossypium hirsutum*. *Mol Biol Rep.* 2022;49:6405-13. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07449-3>.
84. Li L, Cao L, Li J, Zhang Z, Liu J, Ren Z, et al. Identification and functional analysis of wall-associated kinase genes in *Nicotiana tabacum*. *Front Plant Sci.* 2025. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1543437>.
85. Kalsotra A, Cooper TA. Functional consequences of developmentally regulated alternative splicing. *Nat Rev Genet.* 2011;12:715-29. <https://doi.org/10.1038/nrg3052>.
86. Jeffares DC, Penkett CJ, Bähler J. Rapidly regulated genes are intron poor. *Trends Genet.* 2008;24:375-8. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.05.006>.
87. Xu Z, Duan Y, Liu H, Xu M, Zhang Z, Xu L. Analysis of WAK genes in nine cruciferous species with a focus on *Brassica napus* L. *Int J Mol Sci.* 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms241713601>.
88. Chae L, Sudat S, Dudoit S, Zhu T, Luan S. Diverse transcriptional programs associated with environmental stress and hormones in the Arabidopsis receptor-like kinase gene family. *Mol Plant.* 2009;2:84-107. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn083>.
89. Brar GS, Fuentes-Dávila G, He X, Sansaloni CP, Singh RP, Singh PK. Genetic mapping of resistance in hexaploid wheat for a quarantine disease: karnal bunt. *Front Plant Sci.* 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01497>.
90. Wu J, Zhao Q, Yang Q, Liu H, Li Q, Yi X, et al. Comparative transcriptomic analysis uncovers the complex genetic network for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in *Brassica napus*. *Sci Rep.* 2016;6:19007. <https://doi.org/10.1038/srep19007>.
91. Grubb LE, Scandola S, Mehta D, Khodabocus I, Uhrig RG. Quantitative proteomic analysis of *Brassica Napus* reveals intersections between nutrient deficiency responses. *Plant Cell Environ.* 2025;48:1409-28. <https://doi.org/10.1111/pce.15216>.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations

TERCEIRA PARTE

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho visou realizar estudos da interação planta x patógeno entre “*Phaseolus vulgaris* e *Colletotrichum lindemuthianum*”, fungo causador da antracnose no feijoeiro. Sendo dividido em duas partes, o trabalho buscou desenvolver um referencial bibliográfico utilizando de artigos já descritos na literatura e caracterizar a família genica WAK/WAKLike de *P. vulgaris*.

A primeira parte utilizou a cienciometria como metodologia, visto sua eficiência já descrita na literatura para quantificar e agregar valor à pesquisa científica sobre um determinado assunto. Desta forma, foram analisados 261 artigos relacionados ao tema anteriormente mencionado, identificando os autores que mais publicaram, os artigos com maiores números de citações, países e instituições que focam seus estudos na área e elucidar a evolução da pesquisa científica ao longo de 20 anos. Com estes resultados, o autor alcança conhecimento na área, mesmo que ainda não o possuía, possibilitando inserir-se na pesquisa científica sobre o tema, interação e comunicação com os autores mais produtivos, conhecer novas referências e citações.

A segunda parte do trabalho visou a caracterização sistemática dos possíveis genes da família gênica WAK/WAKLike de *P. vulgaris* (feijão comum), até então não descritos na literatura. Domínios arquitetônicos, estrutura de gene, filogenia, sintenia e respostas transcriptômicas entre cultivares resistente (Ouro Vermelho) e suscetível (BRS Estilo) foram desenvolvidas a fim de evidenciar domínios conservados, estruturas gênicas que comprovassem padrões evolutivos conservados ou variação entre estruturas extracelulares, candidatos ortólogos entre espécies relatadas através das análises de sintenia e identificação de possíveis genes PvWAK/PvWAKL associados a resistência, utilizando resultados de RNA-seq feitos sobre condição de 3 tempos de coleta pós-inoculação (0hpi, 48hpi e 96hpi), analisando respostas diferenciais de expressão up e down reguladas entre as duas cultivares.

Desta forma espera-se que as metodologias utilizadas possam ser replicadas e os resultados auxiliem novos autores na confecção de publicações e futuras pesquisas, contribuindo com o melhoramento genético de plantas.