

REGULAÇÃO TRANSCRICIONAL DE GENES ERFs EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO DO ARROZ

Railson Schreinert dos Santos¹; Frederico Pedro Madabula²; Mariana Madruga Kruger³; Taiane Peres Viana⁴; Glacy Jaqueline da Silva⁵; Antonio Costa de Oliveira⁶

Palavras-chave: microarranjo, *Oryza sativa*, *Ethylene Response Factors*.

INTRODUÇÃO

Os fatores de resposta ao etileno (*Ethylene Response Factors* - ERFs) pertencem à superfamília AP2/EREBP e funcionam como fatores de atuação trans (*trans-acting factors*), na última etapa da transdução de sinal. Estes fatores de transcrição contêm um domínio de ligação altamente conservado, que age somente no DNA alvo (ALLEN et al., 1998). Muitos ERFs têm mostrado se ligar especificamente às GCC box, que possuem um domínio GCCGCC muito conservado, para modular a transcrição de uma larga variedade de outros fatores responsivos ao etileno, indicando que uma cascata transcricional está envolvida na sinalização de etileno (SOLANO et al., 1998; GU et al., 2002).

Foram preditos 122 e 139 genes ERFs em *Arabidopsis* e arroz respectivamente (NAKANO et al., 2006), e embora exista uma ampla conservação desta família entre as plantas, poucos genes foram caracterizados (SAKUMA et al., 2002).

Diferentes estudos com a finalidade de aumentar a tolerância, seja em espécies modelo ou em grandes culturas, utilizaram a expressão heteróloga de ERF, porém essa tolerância geralmente foi acompanhada por anormalidades no desenvolvimento (KARABA et al., 2007; QUAN et al., 2010; ZHANG et al., 2010).

Trabalhos relacionados à quantificação da expressão transcricional de ERFs e a possibilidade de modificações epigenéticas influenciar a expressão transcricional (SANTOS et al., 2013), vem sendo desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa, entretanto, carecem de estudos associados a função específica de cada um deste genes.

Genes candidatos a maiores estudos funcionais, podem ser eleitos através de análises de sua expressão transcricional em diferentes estádios de desenvolvimento e órgãos da planta.

Analisando os genes estudados por Santos et al. (2013) em diferentes condições de estresse e considerando o exposto, o objetivo deste trabalho foi localizar genes que se mostrem diferencialmente expressos em algum dos estádios de desenvolvimento do arroz, ou em um determinado órgão.

MATERIAL E MÉTODOS

Os sete ERFs estudados por Santos et al. (2013) em deficiência de oxigênio são mostrados na tabela 1. Estes genes foram buscados no banco de dados do *Genevestigator* (ZIMMERMANN et al., 2008), para a análise do perfil de expressão em diferentes estádios de desenvolvimento e órgãos.

Tabela 1 Genes ERF já analisados por Santos et al. (2013).

TIGR	RAP DB	FL-cDNA	Location	Generic name
------	--------	---------	----------	--------------

¹ M. Sc. Engenheiro Agrônomo, Doutorando na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) - Campus Universitário CEP:96001-970 Cx. Postal 354, E-mail:rschsan@hotmail.com;

² M. Sc. Engenheiro Agrônomo, Instituto de Investigação Agrária de Moçambique;

³ M. Sc. Bióloga, Doutoranda na UFPEL – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM);

⁴ Eng. Agrônomo, Mestranda na UFPEL – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM);

⁵ M. Sc. Bióloga, Doutoranda na UFPEL – CDTEC;

⁶ Dr. Engenheiro Agrônomo, Professor na UFPEL – FAEM;

LOC_Os08g36920	Os08t0474000	AK062882	chr08:23441862..23442942	OsERF#104#
LOC_Os03g08490	Os03t0183200	AK106987	chr03:4366271..4367451	OsERF#069
LOC_Os09g28440	Os09t0457900	AK067195	chr09:18012099..18013198	OsERF#102
LOC_Os09g13940	Os09t0309700	AK100575	chr09:8818014..8821350	OsERF#109
LOC_Os03g22170	Os03t0341000	AK111414	chr03:12761327..12762581	OsERF#066
LOC_Os09g11480	Os09t0287000	AK106057	chr09:7022482..7024039	OsERF#063
LOC_Os04g46400	Os04t0549700	AK107119	chr04:28016357..28017492	OsERF#033

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise pelo *Genevestigator* (Figura 1) demonstra carência de dados de expressão para estes genes nas diferentes fases de desenvolvimento da planta. De qualquer modo é possível se perceber que há um aumento de expressão do LOC_Os09g13940 (AK100575) no período que antecede a floração.

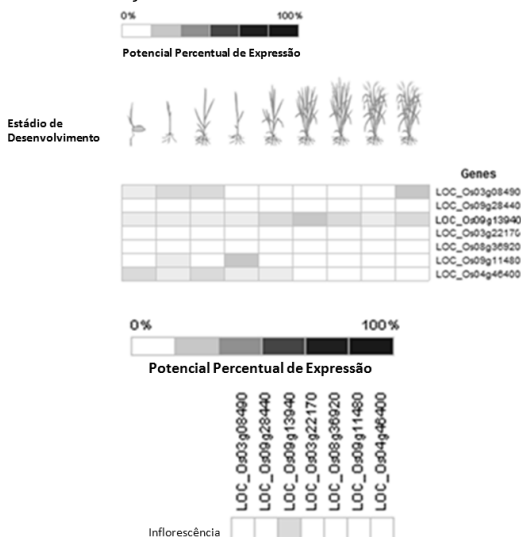


Figura 1 Expressão dos genes ERF em diferentes estádios de desenvolvimento e, especificamente na inflorescência.

O fato deste gene ser expresso próximo a floração levou à análise da expressão destes genes na inflorescência (Figura 1). Considerando que este gene também é expresso na inflorescência é possível que este tenha papel na formação das estruturas florais e, consequentemente, seja importante para o desenvolvimento do vegetal.

Sabe-se que o etileno tem um importante papel na regulação da abertura e senescência floral de um grande número de espécies. Achard et al. (2007) demonstraram que o etileno controla a transição floral via regulação de genes de identidade do meristema floral de forma DELLA-dependente. É conhecido que as proteínas DELLAs atrasam o florescimento quando as plantas estão sob fotoperíodo de dia curto, impedindo a indução dos genes LEAFY (LFY) e SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1) (CHENG et al., 2004; ACHARD et al., 2004). Subsequentemente as DELLA regulam o desenvolvimento das

próprias flores via repressão transcricional de genes homeóticos florais como APETALA3, PISTILLATA, e AGAMOUS (YU et al., 2004). Evidências indicam que tanto o etileno como a auxina podem influenciar o crescimento vegetativo pela modulação dos níveis e DELLA (VRIEZEN et al., 2004).

Além das formas de regulação já descritas, outros genes relacionados com o etileno, como os ERFs, também têm importância na regulação do florescimento. Em arábido, o ATERF14 além de aumentar a resistência à *Fusarium oxysporum* também afeta a floração e desenvolvimento da semente (ONATE SÁNCHEZ et al., 2007).

Análises demonstram uma relação entre ERFs e modificações na indução floral em condições de estresse. Arabidopsis expressando constitutivamente o gene Sub1A demonstrou ocorrência de inibição da floração como mecanismo de tolerância à submergência (PEÑA-CASTRO et al., 2011), assim como ocorre para o arroz (FUKAO; BAILEY, 2008). Análises por qPCR mostraram que a redução da quantidade de mRNAs de genes responsáveis pela indução floral (HEADING DATE1 e HEADING DATE3a em arroz e CONSTANTS e FLOWERING LOCUS T em arábido) é o provável motivo para o atraso no florescimento em arroz e arábido superexpressando o gene Sub1A (PEÑA-CASTRO et al., 2011).

Sabe-se que a função de muitos ERFs ainda está por ser determinada (NAKANO et al., 2006). Dentre as técnicas utilizadas para identificação de funções gênicas, destaca-se a transgenia, a qual possibilita o silenciamento (CIGAN et al., 2005) e a superexpressão (LLOYD, 2003) de genes. Atualmente trabalhamos em modificações genéticas que possam elucidar o papel deste gene no desenvolvimento vegetal bem como causar respostas diferenciadas das plantas de arroz à estresse

CONCLUSÃO

O gene LOC_Os09g13940 (AK100575) é um bom candidato para maiores estudos funcionais. A possibilidade de que este promova uma resposta entre estresse e floração ainda precisa de maiores estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à CAPES, ao CNPq e à FAPERGS pela concessão das bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARD, P. et al. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA. **Development**, v. 131, p. 3357-65, 2004.

ACHARD, P. et al. The plant stress hormone ethylene controls floral transition via DELLA-dependent regulation of floral meristem-identity genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, p. 6484-6489, 2007.

ALLEN, M.D. et al. A novel mode of DNA recognition by a beta-sheet revealed by the solution structure of the GCC-box binding domain in complex with DNA. **European Molecular Biology Organization Journal**, v. 17, p. 5485-5496, 1998.

FUKAO, T.; BAILEY-SERRES, J. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin responses in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 16814-16819, 2008.

GU, Y.Q. et al. Tomato transcription factors Pti4, Pti5, and Pti6 activate defense responses when expressed in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 14, p. 817-831, 2002.

CHENG, H. et al. Gibberellin regulates Arabidopsis floral development via suppression of DELLA protein function. **Development**. v. 131, p. 1055-64, 2004.

- CIGAN, A.M. et al. Transcriptional gene silencing as a tool for uncovering gene function in maize. **The Plant Journal**, v. 43, p. 929–940, 2005.
- KARABA, A. et al. Improvement of water use efficiency in rice by expression of HARDY, na Arabidopsis drought and salt tolerance gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, p. 15270–15275, 2007.
- LLOYD, A. Vector construction for gene overexpression as a tool to elucidate gene function. **Methods in Molecular Biology**, v. 236, p. 329-344, 2003.
- MIZOI, J. et al. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1819, p. 86-96, 2012.
- NAKANO, T. et al. Genome wide analysis of the ERF gene family in arabidopsis and rice. **Plant Physiology**, v. 140, p. 411–432, 2006.
- OÑATE-SÁNCHEZ, L. et al. AtERF14, a member of the ERF family of transcription factors, plays a nonredundant role in plant defense. **Plant Physiology**, v. 143, p. 400–409, 2007.
- PEÑA-CASTRO, J.M. et al. Expression of rice SUB1A and SUB1C transcription factors in Arabidopsis uncovers flowering inhibition as a submergence tolerance mechanism. **The Plant Journal**, v. 67, p. 434–446, 2011.
- QUAN, R. et al. Overexpression of an ERF transcription factor TSRF1 improves rice drought tolerance. **Plant Biotechnology Journal**, v. 8, p. 476–488, 2010.
- SAKUMA, Y. et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 290, p. 998–1000, 2002.
- SANTOS R.S. dos; et al. Transcriptional Regulation of Seven ERFs in Rice Under Oxygen Depletion and Iron Overload Stress **Tropical Plant Biology**, v. 6, p. 16–25, 2013.
- SOLANO, R. et al. Nuclear events in ethylene signalling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE RESPONSE FACTOR1. **Genes and Development**, v. 12, p. 3703–3714, 1998.
- VOGEL, M.O. et al. Combinatorial Signal Integration by APETALA2/EthyleneResponse Factor (ERF)-Transcription Factors and theInvolvement of AP2-2 in Starvation Response. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 5933-5951, 2012.
- VRIEZEN, W.H. et al. Ethylene mediated enhancement of apical hook formation in etiolated *Arabidopsis thaliana* seedlings is gibberellin dependent. **Plant Journal**, v. 37, p. 505–516, 2004.
- YU, H. et al. Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, p. 7827-7832, 2004.
- ZHANG, W. et al. LeERF-1, a novel AP2/ERF family gene within the B3 subcluster, is down-regulated by light signals in *Lithospermum erythrorhizon*. **Plant Biology**, v. 13, p. 343–348, 2010.
- ZIMMERMANN P. et al. Genevestigator Transcriptome Meta-Analysis and Biomarker Search Using Rice and Barley Gene Expression Databases. **Molecular Plant**, v. 5, p. 851-857, 2008. Acessado em março de 2012 (Banco de Dados).