

GENE *SRO* EM FEIJÃO-COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.): CARACTERIZAÇÃO IN SILICO

Luís Gustavo Gomes Lobo¹, Bruno Da Rocha Toroco¹, Diliane Harumi Yaguinuma¹,
Jardel de Oliveira¹ e Tiago Benedito dos Santos¹

¹Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: gustavo2620@outlook.com/dossantos@unoeste.br

PROBLEMÁTICA

SRO (do inglês SIMILAR TO RCD ONE) é uma família de proteínas pequenas específicas de plantas que desempenham um papel importante no crescimento e desenvolvimento, bem como, em respostas a estresses ambientais. Embora sua caracterização tenha sido realizada em algumas espécies de plantas, não se sabe nenhum relato para o feijoeiro. Objetivou-se identificar através das ferramentas de bioinformática o gene *SRO* de *Phaseolus vulgaris* L. (feijão-comum).

CONHECIMENTO PRÉVIO

As SROs (do inglês SIMILAR TO RCD ONE) desempenham um papel importante no crescimento e desenvolvimento das plantas e na resposta aos estresses abióticos (XIAO et al., 2022; JIANG et al., 2024). Estudos mostram, por exemplo, seis genes homólogos de *SRO* foram identificados em *Arabidopsis thaliana*, nomeadamente *AtRCD1*, *AtSRO1-AtSRO5* (LI et al., 2013). Além da planta modelo *A. thaliana*, estudos funcionais dos genes *SROs* também foram conduzidos e relatados em outras espécies de plantas: arroz (*Oryza sativa*) (YOU et al., 2013), maçã (*Malus domestica*) (LI et al., 2017), algodão (*Gossypium hirsutum*) (LYU et al., 2017), banana (*Musa nana*) (ZHANG et al., 2019), e suas funções têm se tornado cada vez mais claras na literatura. Embora pesquisas tenham sido realizadas para genes *SROs* em várias espécies de plantas, nenhuma pesquisa sistemática sobre a família de genes *SRO* em feijão foi relatada. Diante o exposto, o presente estudo trouxe um maior o entendimento sobre os genes *SROs*.

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Buscou-se as sequências codificadora do gene *SRO* utilizando o genoma de *P. vulgaris* L. depositado no banco de dados *Phytozome* (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Pvulgaris_v2_1). As sequências de aminoácidos *AtSROs* relatadas para *A. thaliana* (JASPERS et al., 2010) foram usadas como sequências de consulta para identificar as sequências do feijoeiro. Todas as sequências identificadas no banco de dados (genômicas, aminoácidos e CDS – *Coding DNA Sequence*/sequência codificadora), foram armazenadas em arquivo txt em formato FASTA para posteriores análises *in silico*. A ferramenta *ExPASy* (<https://web.expasy.org>) verificou as características físico-químicas: aminoácidos (aa), ponto isoelétrico (pI), peso molecular (kDa), e índice de propriedade hidrofílica/hidrofóbica (*GRAVY - hydropathy index - Grand average of hydropathy*). A previsão de localização subcelular dos genes *SROs* foi realizada utilizando o programa *Plant-mPLoc* (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>). Para

determinar a posição cromossômica, as posições inicial e final de cada gene identificado foi mapeado nos cromossomos correspondentes usando o *software MapChart*. A estrutura gênica foi elaborada usando a programa *Gene Structure Display Server (GSDS 2.0 - <http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)*. *PlantCARE* foi utilizado para pesquisar os *cis*-elementos regulatórios das regiões promotoras dos genes. Adicionalmente, o padrão de expressão tecido-específico dos genes *SRO* de *P. vulgaris* L. foram determinados empregando perfis transcricionais obtidos pelos valores de *FPKM* (do inglês *Fragments per kilobase of exon per million fragments mapped*) depositados no banco de dados *Phytozome* (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Pvulgaris_v2_1). Em seguida, o perfil transcricional de cada gene alvo e de cada respectiva biblioteca foi expresso e apresentado em figura (*Heatmap*) com o auxílio da ferramenta *CIMMiner* (<http://discover.nci.nih.gov/cimminer>).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, utilizaram-se sequências de aminoácidos de *A. thaliana* (*AtSROs*) visando identificar as possíveis correspondências no genoma do feijão. O feijoeiro continha dois genes *SRO* (Tabela 1). A análise das propriedades físico-químicas das proteínas mostrou que o comprimento dos aminoácidos da família *SRO* variou de 558 (*PvSRO2*) a 575 aa (*PvSRO1*), o peso molecular variou de 63.25 (*PvSRO2*) a 64.60 kDa (*PvSRO1*), o pI variou de 7.03 (*PvSRO1*) a 8.65 (*PvSRO2*), o valor GRAVY variou de -0.403 (*PvSRO1*) a -0.412 (*PvSRO2*) (Tabela 1). O número de gene pode variar entre as espécies. No genoma do trigo (*Triticum aestivum*), por exemplo, foram identificados 30 membros do gene *SRO* (JIANG et al., 2020). Quatro genes *SRO* foram identificados no genoma do gergelim (*Sesamum indicum* L.- LIU et al., 2021). A localização subcelular (Tabela 1) mostrou que a família *SRO* está em regiões do cloroplasto e núcleo do feijoeiro. Análises de previsão de localização subcelular mostraram que em *Brassica napus* L. a maioria dessas proteínas podem estar localizadas no núcleo, enquanto o restante pode estar localizado no citoplasma, cloroplastos ou peroxissomos (JIANG et al., 2024).

Tabela 1. Propriedades físico-química do gene *PvSRO* no feijoeiro.

Gene	Gene ID	Localização cromossômica	Proteína (aa)	pi	kDa	GRAVY	Localização subcelular
<i>PvSRO1</i>	Phvul.002G137500.1	Chr02:28352062..28358786 reverse	575	7.03	64.60	-0.403	Cloroplasto
<i>PvSRO2</i>	Phvul.002G137600.1	Chr02:28361299..28370334 reverse	558	8.65	63.25	-0.412	Cloroplasto/Núcleo

As diferenças estruturais éxon-íntron são fontes importantes de variação da família genética e da biodiversidade vegetal. Diferentes estruturas determinam a função diferencial e a expressão dos genes (XU et al., 2012). No presente estudo, ambos os genes continham a mesma quantidade de éxons (seis - regiões codificadoras do gene) (Figura 1).

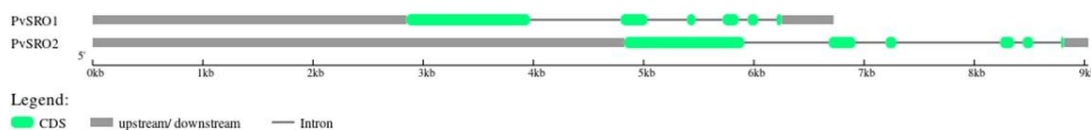


Figura 1. A estrutura dos genes *PvSRO* no feijoeiro. As caixas verdes indicam éxons, as caixas cinzas indicam a região UTR (região não traduzida) e as linhas pretas indicam íntrons.

Também foram mapeados os genes da família *PvSRO* nos cromossomos do feijoeiro de acordo com a anotação. Ambos os genes *PvSROs* foram atribuídos no mesmo cromossomo (Figura 2).

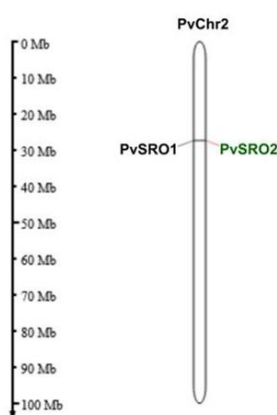


Figura 2. Ilustração do mapeamento cromossômico dos genes *PvSRO* do feijoeiro. O tamanho de cada cromossomo e sua distribuição correspondente foram obtidos no genoma de *P. vulgaris* L.

Os *cis*-elementos controlam a expressão gênica combinando-se com fatores de transcrição específicos, e a distribuição de *cis*-elementos na região promotora está intimamente relacionada à função gênica (BILAS et al., 2016). Previmos os *cis*-elementos na sequência de 1.500 pb (pares de base) a montante de todos os genes *SRO* através do *site online Plantcare* (Figura 3). A região promotora dos genes *SRO* no feijoeiro continha um grande número de elementos de resposta a diferentes estresses (Figura 3). Estes resultados indicaram que os genes *SRO* estavam amplamente envolvidos em diversas atividades vitais da planta. Resultados semelhantes são observados por Jiang et al. (2024).

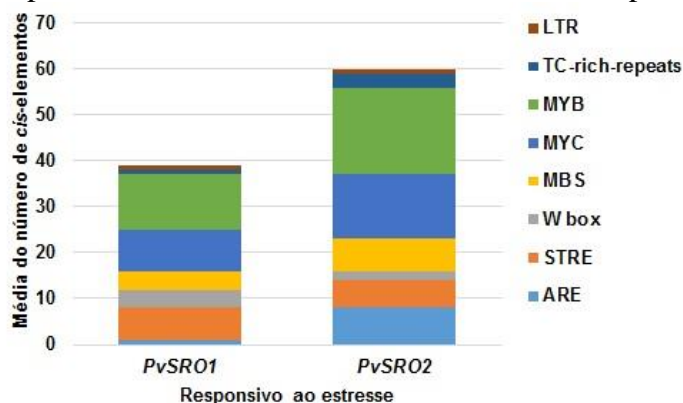


Figura 3. Distribuição de diferentes *cis*-elementos em feijoeiro indicados por diferentes cores, elementos de resposta ao estresse.

Dados de expressão gênica *in silico* do sequenciamento de RNA-seq *FPKM* (do inglês *Fragments per kilobase of exon per million fragments mapped*) de *P. vulgaris* L. indicou que o gene *SRO* pode regular o crescimento e desenvolvimento das plantas, por isso a sua expressão em diferentes partes dos tecidos do feijoeiro (Figura 4). Dados do transcriptoma do gergelim (*S. indicum* L.) revelaram diferentes padrões de expressão dos genes *SiSROs* em vários tecidos (LIU et al., 2021).

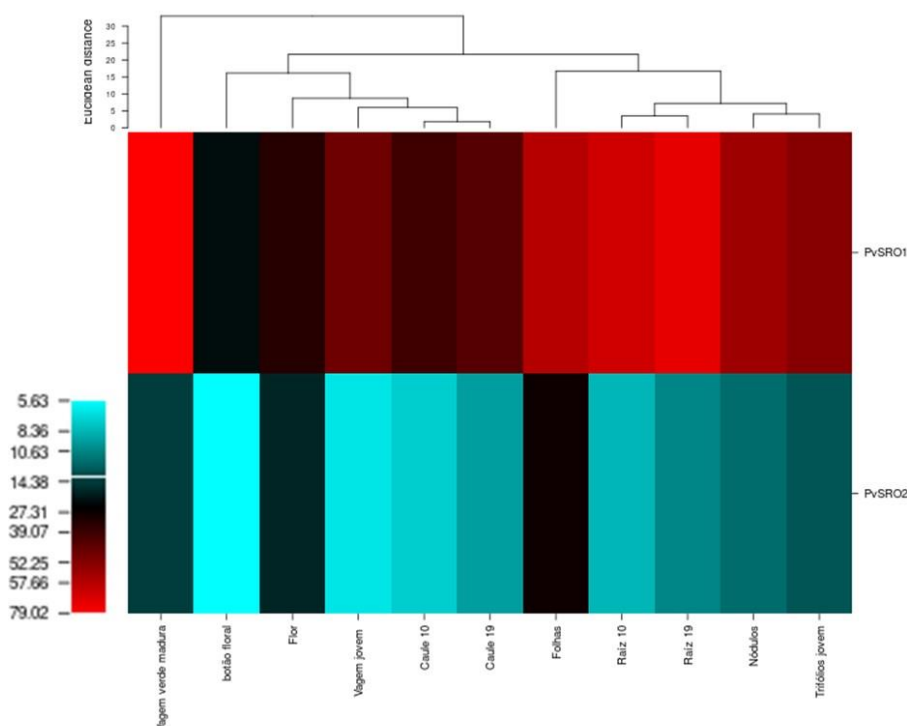


Figura 4. Expressão *in silico* dos genes *PvSRO* em diferentes tecidos do feijoeiro. Os tecidos estudados foram: botão floral, flor, vagem verde madura, folhas, nódulos, raiz 10, raiz 19, caule 10, caule 19, vagem jovem e trifólios jovem.

APLICAÇÃO PRÁTICA

Com a catalogação desse gene e as informações geradas por este estudo podem fornecer base teórica para uma futura investigação mais aprofundada da expressão funcional dos genes *PvSRO* do feijoeiro, além de fornecer potenciais recursos genéticos para o melhoramento do feijão visando uma maior tolerância dessa cultura os estresses ambientais.

AGRADECIMENTOS

Os autores BRT (mestrado), LGGL (mestrado), JO (doutorado) agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de bolsas.

LITERATURA CITADA

BIŁAS, R., SZAFRAN, K., KONKA, K.H., KONONOWICZ, K.A., 2016. Cis-regulatory elements used to control gene expression in plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 127, 269–287.

JASPERS, P., OVERMYER, K., WRZACZEK, M., VAINONEN, J.P., BLOMSTER, T., SALOJÄRVI, J., REDDY, R.A., KANGASJÄRVI, J., 2010. The RST and PARP-like domain containing SRO protein family: Analysis of protein structure, function and conservation in land plants. *BMC Genomics*. 11, 170.

JIANG, H., ZHANG, Y., LI, J., TANG, R., LIANG, F., TANG, R., ZHOU, Y., ZHANG, C., 2024. Genome-wide identification of SIMILAR to RCD ONE (SRO) gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.) reveals their role in drought stress response. *Plant Signaling & Behavior*, v. 19, n. 1, p. 2379128.

JIANG, W., GENG, Y., LIU, Y., CHEN, S., CAO, S., LI, W., CHEN, H., MA, D., YIN, J., 2020. Genome-wide identification and characterization of SRO gene family in wheat: Molecular evolution and expression profiles during different stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 590–611.

LI, B.Z., ZHAO, X., ZHAO, X.L., PENG, L., 2013. Structure and Function Analysis of *Arabidopsis thaliana* SRO Protein Family. *Hereditas (Beijing)* 35, 1189–1197.

LI, H. LI, R., QU, F., YAO, J., WANG, X., YOU, C., 2017. Identification of the SRO Gene Family in Apples (*Malus domestica*) with a Functional Characterization of MdRCD1. *Tree Genet. Genomes*. 13, 94.

LIU, A., WEI, M., ZHOU, Y., LI, D., ZHOU, R., ZHANG, Y., ZHANG, X., WANG, L. YOU, J., 2021. Comprehensive analysis of SRO gene family in *Sesamum indicum* (L.) reveals its association with abiotic stress responses. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 13048.

LYU, Y.J., YANG, W.J., ZHAO, L.J., YAO, J.B., CHEN, W., LI, Y., ZHANG, Y.S., 2017. Genome-wide identification and expression analysis of SRO genes family in *Gossypium hirsutum* L. *Acta Agron. Sin.*, 43(10), pp. 1468–1479.

XU, G., GUO, G., SHAN, H., KONG, H., 2012. Divergence of duplicate genes in exon–intron structure. *Proceedings of the national academy of sciences*, 109(4), 1187–1192.

XIAO, L., ZHOU, Z., ZHU, C., ZHAO, J., HU, Z., LIU, S., ZHOU, Y., 2022. Molecular Cloning, Characterization, and Expression Analysis of SIMILAR TO RCD-ONE (SRO) Family Genes Responding to Abiotic and Biotic Stress in Cucumber. *Horticulturae*, 8(7), 634.

YOU, J., ZONG, W., DU, H., HU, H., XIONG, L., 2014. A Special Member of the rice SRO Family, OsSRO1c, Mediates Responses to Multiple Abiotic Stresses through Interaction with Various Transcription Factors. *Plant Mol. Biol.* 84, 693–705.

ZHANG, L., ZHOU D., HU, H., LI, W., HU, Y., XIE, J., HUANG, S., WANG, W., 2019. Genome-wide Characterization of a SRO Gene Family Involved in Response to Biotic and Abiotic Stresses in Banana (*Musa Spp*). *BMC Plant Biol.* 19, 211.