

AÇÃO DO METIL JASMONATO NA EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO EM *Alternanthera sessilis*

CRISTINI MILECH¹; JAQUELINE DA SILVA DOS SANTOS²; MARCELO NOGUEIRA DO AMARAL³; VALMOR JOÃO BIANCHI⁴; LUCIANO CARLOS DA MAIA⁵; EUGENIA JACIRA BOLACEL BRAGA⁶

¹Doutoranda PPG em Fisiologia Vegetal, bolsista CAPES – crismilech.cm@gmail.com

²Graduanda de Agronomia- Bolsista PIBIP-AF/UFPEL

³Pós doutorando – PNPD - do PPG em Fisiologia Vegetal

⁴Professor Associado III do Dep^{to} de Botânica/IB- UFPEL

⁵Professor Adjunto do Dep^{to} de Fitomelhoramento/Agronomia- UFPEL

⁶Professor Associado IV do Dep^{to} de Botânica/IB- UFPEL – jacirabraga@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios vegetais desempenham papéis importantes no estabelecimento de redes de sinalização nas plantas. Dentre estes hormônios temos os jasmonatos, derivados de ácidos graxos, que além de atuarem no crescimento e desenvolvimento das plantas também são responsáveis por agir na defesa frente a estresses tanto de origem biótica quanto abiótica (RUAN et al., 2019).

O metil jasmonato (MeJa), composto volátil derivado do ácido jasmônico, é bastante conhecido pela sua função como atrativo para polinizadores, porém quando aplicado exogenamente nas plantas é capaz de atuar na reprogramação metabólica, principalmente por sua capacidade de agir sobre os fatores de transcrição. Fatores de transcrição (FTs) são proteínas que regulam a transcrição gênica, podendo levar a expressão diferencial de alguns genes e com isso causar alterações metabólicas como na biossíntese de compostos secundários e também alterações fenotípicas (WASTERNAK; HAUSE, 2013).

Dentre os metabólitos secundários produzidos pelas plantas, regulados por fatores de transcrição, temos as betalaínas, corantes naturais com alto poder antioxidante. Por ser produzido exclusivamente pela ordem Caryophyllales, sua oferta para comercialização se torna mais restrita dentro do reino vegetal e, como estratégia para incremento deste composto nas plantas, é comum o uso de elicitores como o metil jasmonato (DEGEYTER et al., 2012).

Uma espécie pertence esta ordem e que possui alto potencial para produção destes corantes é a *Alternanthera sessilis*, popularmente conhecida como violácea, devido sua intensa coloração roxa, é uma planta medicinal muito utilizada para uma ampla variedade de desordens fisiológicas (KOTA et al., 2017).

Com o objetivo de avaliar os efeitos da ação exógena do MeJa na expressão diferencial de fatores de transcrição, principalmente os relacionados à biossíntese de betalaínas, na espécie *A. sessilis*, plantas que foram submetidas a elicitação por 48 horas, tiveram seu transcriptoma sequenciado e os genes diferencialmente expressos foram avaliados contra o banco de dados de fatores de transcrição de plantas conhecidas (PInTFDB).

2. METODOLOGIA

Plantas de *A. sessilis* oriundas do cultivo in vitro foram aclimatizadas e após aproximadamente 30 dias foram transferidas para um sistema hidropônico de

fluxo contínuo com raízes flutuantes em solução nutritiva de Hoagland meia força (HOAGLAND; ARNON, 1938), onde permaneceram por dois dias para aclimação das raízes ao sistema. Na sequência essa solução nutritiva foi trocada e iniciou-se a aplicação dos tratamentos. Como controle utilizou-se a solução de Hoagland meia força (ASC) e para o tratamento com elicitor a mesma solução acrescida de 100 μ M de MeJa (ASMJ). Cada tratamento foi composto por quatro repetições, representadas cada uma por um vaso contendo quatro plantas. Ao final de 48 horas o material foi coletado e armazenado em ultrafreezer a - 80 °C, até a extração do RNA e síntese de cDNA. As amostras de cDNA foram sequenciadas utilizando a plataforma HiSeq 2500® (Illumina™), após a montagem “de novo” foi feita a identificação dos genes diferencialmente expressos (DEGs) utilizando o pacote DESeq (ANDERS; HUBER, 2010).

Os DEGs foram alinhados contra banco de dados de fatores de transcrição de plantas conhecidas (PlnTFDB) usando como parâmetro para corte o e-value de 1e-10. O PlnTFDB é uma biblioteca que oferece uma lista de FTs de genomas sequenciados. As sequências disponíveis online foram baixadas através do site <http://plntfdb.bio.uni-potsdam.de/v3.0/> e estas foram alinhadas contra os genes diferencialmente expressos usando o BLASTN local.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 1.088 genes que foram diferencialmente expressos após a elicitação do metil jasmonato por 48 horas e que foram blastados contra o banco de dados de fatores de transcrição (PlnTFDB), foram encontrados alinhamento para apenas 24 sequências, ou seja 2,20% dos DEGs eram fatores de transcrição (Tabela 1).

Dentro destes 24 fatores de transcrição foram identificadas 12 famílias distintas. Entre os fatores de transcrição que tiveram sua expressão aumentada destacaram-se as famílias MYB e AUX/AIA, ambos fatores de transcrição regulam diversos processos de defesa e sinalização nas plantas (LI et al., 2015). Já os que tiveram sua expressão reprimida destacaram-se os MYB *related* e NAC, estes segundo Kim et al. (2016), são mais associados ao controle de processos de senescência como degradação de clorofilas e morte celular programada.

O aumento da expressão de fatores de transcrição da família MYC pela ação do MeJa também foi observado em *Polygonum minus* (RAHNAMAIE-TAJADOD et al., 2017) e em *Taxus* sp. e que resultaram no incremento de compostos bioativos de interesse (YANFANG et al., 2018).

Em relação à biossíntese das betalainas, mais especificamente na regulação da expressão da enzima DODA, atuam os fatores de transcrição da família MYB (LLYOD et al. 2017), enquanto que na regulação das citocromos P450 o grupo I de WRKY (CHENG et al., 2017). No presente estudo, ambos os fatores tiveram sua expressão aumentada em resposta à elicitação com MeJa, sugerindo uma possível ação deste elicitor na produção dos pigmentos betalâmicos. Este aumento de expressão de FTs das famílias MYB e WRKY utilizando MeJa na espécie *Lycoris aurea* também foi observado por Wang et al. (2017).

Tabela 1. Fatores de transcrição (FTs) diferencialmente expressos após o tratamento com Metil Jasmonato, por 48 horas, em *Alternanthera sessilis*

Contig	TF	E-value	Spp	log2FC
Upregulated				
TRINITY_DN25566_c0_g2_i1	AUX/IAA	9,00E-65	<i>Populus_trichocarpa</i>	1,326
TRINITY_DN25566_c0_g2_i2	AUX/IAA	9,00E-65	<i>Populus_trichocarpa</i>	1,193
TRINITY_DN20121_c1_g3_i1	MYB	4,00E-73	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	1,168
TRINITY_DN22215_c0_g1_i2	MYB	1,00E-29	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	1,721
Contig6346	HB	7,00E-13	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	1,146
Contig3533	MYB	9,00E-70	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	1,107
TRINITY_DN20974_c0_g1_i1	bZIP	2,00E-41	<i>Populus_trichocarpa</i>	1,383
TRINITY_DN24079_c0_g2_i1	Orphans	2,00E-67	<i>Carica_papaya</i>	1,142
Contig6378	MYB	2,00E-21	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	2,126
TRINITY_DN26527_c1_g2_i1 6	Jumonji	8,00E-64	<i>Vitis_vinifera</i>	1,010
TRINITY_DN22098_c0_g1_i3	WRKY	1,00E-10	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	1,182
downregulated				
TRINITY_DN26297_c2_g6_i3	MYB-related	5,00E-90	<i>Vitis_vinifera</i>	-1,392
Contig15123	NAC	6,00E-25	<i>Populus_trichocarpa</i>	-2,466
TRINITY_DN26297_c2_g6_i4	MYB-related	5,00E-90	<i>Vitis_vinifera</i>	-1,120
TRINITY_DN26297_c2_g6_i2	MYB-related	5,00E-90	<i>Vitis_vinifera</i>	-1,074
TRINITY_DN26297_c2_g6_i5	MYB-related	5,00E-90	<i>Vitis_vinifera</i>	-1,050
TRINITY_DN26297_c2_g6_i1	MYB-related	3,00E-52	<i>Vitis_vinifera</i>	-1,032
TRINITY_DN26124_c2_g6_i1	bHLH	1,00E-37	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	-1,288
Contig5408	MYB-related	9,00E-16	<i>Zea_mays</i>	-1,032
Contig5407	MYB-related	1,00E-29	<i>Zea_mays</i>	-1,047
TRINITY_DN24520_c0_g3_i3	AP2-EREBP	3,00E-29	<i>Sorghum_bicolor</i>	-1,714
Contig10066	WRKY	4,00E-43	<i>Arabidopsis_thaliana</i>	-1,044
Contig14616	C2C2-CO- like	1,00E-23	<i>Populus_trichocarpa</i>	-1,018
TRINITY_DN12599_c0_g2_i1	NAC	7,00E-56	<i>Vitis_vinifera</i>	-1,009

Fatores de transcrição MYB representam uma das maiores famílias de FTs de plantas que têm várias funções fisiológicas importantes, incluindo a regulação da biossíntese de vários compostos fenólicos, como as antocianinas, outra classe importante de pigmentos vegetais (DE GEYTER; GOORMACHTIG, 2012).

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a elicitação com metil jasmonato pelo período de 48 horas pode estar atuando na regulação de fatores de transcrição responsáveis pela expressão de genes da rota de biossíntese das betalaínas em *A. sessilis*.

Para confirmar se esta indução de expressão se reflete no incremento do metabólito de interesse se faz necessário a continuação das pesquisas com a quantificação das diferentes betalaínas no período de 48 horas e em períodos subsequentes para avaliar o quanto de produto foi formado e o tempo de ação que essa elicitação se prolonga na produção destes compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERS, S.; HUBER, W. Differential expression analysis for sequence count data. **Genome Biology**, v. 11, n. 10, p.1-12, 2010.

CHENG, M.; HUANG, Z.; HUA, Q.; SHAN, W.; KUANG, J.; LU, W.; YONG-HUA, Q. C. J. The WRKY transcription factor HpWRKY44 regulates CytP450-like1

expression in red pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **Horticulture Research**, v. 4, p.17039, 2017.

DEGEYTER, N.; GHOLAMI, A.; GOORMACHTIG, S.; GOOSSENS, A. Transcriptional machineries in jasmonate elicited plant secondary metabolism. **Trends in plant science**, v. 17, p. 349–359, 2012.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricult. Experiment**, v.347, 1938.

KIM, H. J.; NAM, H. G.; LIM, P. O. Regulatory network of NAC transcription factors in leaf senescence. **Current Opinion in Plant Biology**, v.33, p. 48–56, 2016.

KOTA, S.; GOVADA, V. R.; ANANTHA, R. K.; VERMA, M. K. An Investigation into phytochemical constituents, antioxidant, antibacterial and anti-cataract activity of *Alternanthera sessilis*, a predominant wild leafy vegetable of South India. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v.10, p. 197-203, 2017.

LLOYD, A.; BROCKMAN, A.; AGUIRRE, L.; CAMPBELL, A.; BEAN, A.; CANTERO, A.; GONZALEZ, A. Advances in the MYB–bHLH–WD repeat (MBW) pigment regulatory model: addition of a WRKY factor and co-option of an anthocyanin MYB for betalain regulation. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 9, p.1431–1441, 2017.

Li, C.; Ng, C. K.-Y.; Fan, L. M. MYB transcription factors, active players in abiotic stress signaling. **Environmental and Experimental Botany**, v.114, p. 80–91, 2015.

RAHNAMAIE-TAJADOD, R.; LOKE, K.-K.; GOH, H.-H.; NOOR, N. M. Differential gene expression analysis in *Polygonum minus* leaf upon 24 h for methyl Jasmonate elicitation. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 109, 2017.

RUAN, J.; ZHOU, Y.; ZHOU, M.; YAN, J.; KHURSHID, M.; WENG, W.; ... ZHANG, K. Jasmonic acid signaling pathway in plants. **International Journal of Molecular Science**, v. 20, n.10, p. 2479, 2019.

WANG, R.; XU, S.; WANG, N.; XIA, B.; JIANG, Y.; WANG, R. Transcriptome analysis of secondary metabolism pathway, transcription factors, and transportes in response to Methyl Jasmonate in *Lycoris aurea*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1971, 2017.

WASTERNAK, C.; STRNAD, M. Jasmonates: News on occurrence, biosynthesis, metabolism and action of an ancient group of signaling compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v.19, n. 9, p. 2539, 2013.

YANFANG, Y.; KAIKAI, Z.; LIYING, Y.; XING, L.; YING, W.; HONGWEI, L.; DEYOU Q. Identification and characterization of MYC transcription factors in *Taxus* sp. **Gene**, v. 675, p. 1–8, 2018.