

IDENTIFICAÇÃO E FILOGENIA DA FAMÍLIA WRKY EM *Oryza glumaepatula*

RAILSON SCHREINER DOS SANTOS, VIVIAN EBELING VIANA, DANIEL DA ROSA FARIAS, ARTUR TEIXEIRA DE ARAUJO JUNIOR, ANTONIO COSTA DE OLIVEIRA

RESUMO

O arroz (*Oryza* spp.) é um dos cereais mais cultivados e consumidos no mundo. No Brasil quatro espécies selvagens são encontradas, entre elas o *O. glumaepatula*, uma espécie diploide adaptada às condições edafoclimáticas locais que pode ser utilizada como uma rica fonte de variações genéticas para melhoramento. O presente estudo realiza a identificação de genes WRKY, uma família de fatores de transcrição capaz de frequentemente regular genes de resposta a estresses, no genoma de *O. glumaepatula*. Diversos genes foram identificados estando estes, em algumas ocasiões, em posições diferentes do genoma. Aliado a isto pequenas alterações em alguns destes genes podem ser do interesse do melhoramento vegetal, sendo capazes de conferir alterações no fenótipo das plantas obtidas de cruzamentos entre estas espécies. Este estudo representa o primeiro esforço em relacionar os WRKY entre estas duas espécies, um passo importante para condução de estudos funcionais, facilitando a comparação entre espécies do gênero *Oryza*.

PALAVRAS CHAVE: arroz, estresse, melhoramento genético.

ABSTRACT

Rice (*Oryza* spp.) is one of the cereals grown and consumed in the world. In Brazil four wild species are found, among them *O. glumaepatula* a diploid species adapted to the local conditions which may be used as a rich source of genetic variation for breeding. This study performs the identification of WRKY genes, a family of transcription factors that can often regulate stress response genes, in the genome of *O. glumaepatula*. Several genes were identified and these, in some cases, are in different positions in the genome when compared to *O. sativa*. Allied to this small changes in some of these genes can be interesting from the perspective of plant breeders, since these may be able to confer changes in the phenotype of the plants obtained from crosses between such species. This study represents the first effort to relate the WRKY genes of these two species, constituting an important step for conducting functional studies, and facilitating the comparison of species of the genus *Oryza*.

KEYWORDS: rice, stress, plant breeding.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo do processo evolutivo inúmeras variações de arroz (*Oryza* spp.) geneticamente adaptadas às mais diversas condições edafoclimáticas foram surgindo, fazendo com que este seja um dos cereais mais cultivados e consumidos no mundo.

Pertencente à família Poaceae, o arroz apresenta apenas duas espécies cultivadas e 21 espécies selvagens. No Brasil quatro espécies selvagens são encontradas: o *O. glumaepatula* Steud. (diploide: $2n = 24$); e *O. alta* Swallen, *O. grandiglumis* (Döll) Prod. e *O. latifolia* Desv, que são (tetraploides: $2n = 48$, genoma CCDD) (ANDO, 1998: 22-26). Essas espécies retêm suas características selvagens na floresta tropical Amazônica e áreas alagadas do chamado Pantanal Matogrossense (BUSO et al., 1998: 107-117).

O *O. glumaepatula* pode ser utilizado como um rico reservatório gênico para identificação de novos genes de resistência às doenças e ampliação da base genética. Isso consiste basicamente em um processo de transferência da adaptabilidade das espécies selvagens às variedades cultivadas (RANGEL, 1998: 16-27). Por outro lado, para que se possa melhorar as estratégias de manejo e conservação dessas espécies é necessário que se realizem estudos de comparação entre os genomas e de conservação da função de determinados genes (KARASAWA et al., 2007: 400-410).

Atualmente os genomas de diferentes espécies de arroz foram disponibilizados oferecendo informações que podem ter grande valor para o entendimento da evolução e também ter muita utilidade no melhoramento genético deste importante cereal (STEIN et al., dados não publicados). O estudo de espécies locais de arroz pode oferecer uma possibilidade interessante de obtenção de variações genéticas capazes de incrementar a

capacidade de tolerância a determinadas condições locais desfavoráveis (KARASAWA et al., 2007: 400-410).

Esta adaptação diferenciada que se espera obter de *O. glumaepatula* às condições edafoclimáticas brasileiras se deve ao fato desta já ter desenvolvido estratégias de tolerância ao longo de anos. Tal fenômeno é comum a diferentes organismos vegetais que, devido a sua incapacidade de movimentação, necessitam apresentar outros meios de sobrevivência para tolerar condições diferentes das ideais (SINGH et al., 2002: 430-436; MAHALINGAM et al., 2003: R20; KATAGIRI, 2004: 506-511).

Diferentes famílias de fatores de transcrição importantes para esse processo adaptativo expandiram-se e evoluíram de forma diferenciada em plantas, tornando possível a coordenação da expressão da genética de forma precisa para gerar uma resposta adequada a fatores estressores. A família WRKY de proteínas dedos de zinco, assim como algumas outras famílias de fatores de transcrição, são importantes na regulação da resposta vegetal a estresses (EULGEM et al., 2000: 199-206; ULKER; SOMSSICH, 2004: 491-498).

Os domínios WRKY foram inicialmente definidos como sendo constituídos por aproximadamente 60 aminoácidos possuindo o motivo WRKYGQK característico e bem conservado na sua extremidade N-terminal e contendo ainda um domínio dedo de zinco do tipo CX₄₋₅CX₂₂₋₂₃HXH, sendo que posteriormente outras variantes foram encontradas (RUSHTON et al., 1995: 691-702; EULGEM et al., 2000: 199-206; XIE et al., 2005: 176-189). A identificação e classificação de genes desta família já foi feita em *O. sativa* bem como em outras espécies, entretanto isso necessita ser expandido para os demais representantes do gênero *Oryza* que estão sendo disponibilizados (ROSS et al., 2007: 827-842; LI et al., 2016: 23101).

Pensando nisso buscou-se aqui realizar a identificação e categorização de genes WRKY, os quais codificam fatores de transcrição frequentemente envolvidos na regulação de diversos processos biológicos (CHEN et al., 2012: 120-128).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sequências de DNA e proteínas preditas

As sequências de DNA usadas neste estudo foram obtidas do sequenciamento completo do genoma de *O. sativa* cultivar Nipponbare (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) e *O. glumaepatula* (genótipo: GEN1233; acesso do Gramene: ALNU00000000). Sequenciamento, montagem e anotação destas espécies são parte da iniciativa IOMAP em que se utilizou Sequenciamento de próxima geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*) para a obtenção de sequências genômicas e transcriptômicas.

Identificação de genes WRKY

Foram utilizadas como referência (*query*) as sequências proteicas encontradas no MSU dos genes identificados no estudo de (ROSS et al., 2007: 827-842). Realizou-se um BLASTp (ALTSCHUL et al., 1990: 403-410) contra o genoma de *O. glumaepatula* e com base nos valores de e-value e posição no genoma selecionou-se os genes mais próximos de cada sequência de *O. sativa* em *O. glumaepatula*.

Análise filogenética

As sequências foram alinhadas utilizando o Clustal Omega (SIEVERS et al., 2011: 539) nas condições padrão. A árvore filogenética foi gerada logo após com a utilização das ferramentas disponibilizadas pelo *European Bioinformatics Institute* do *European Molecular Biology Laboratory* (McWILLIAM et al., 2015: W580-584). Esta foi então exportada e editada utilizando o programa *Molecular Evolutionary Genetics Analysis 6 - MEGA 6* (TAMURA et al., 2013: 2725-2729).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

WRKY identificados

A partir do BLAST das sequências já identificadas contra os dados obtidos do genoma de *O. glumaepatula* foi possível encontrar diferentes genes bastante semelhantes e em posições geralmente similares entre os genomas. Estes genes foram relacionados com o homólogo mais próximo no genoma de *O. sativa* e tabelados recendo um nome genérico correspondente e baseado na nomenclatura anterior para facilitar seus estudos. A Tabela 1 possui as informações completas, juntamente com os valores de confiança nos alinhamentos obtidos pela ferramenta BLASTp.

Tabela 1 - Loci correspondentes ao comparar a família WRKY de *Oryza sativa* e *Oryza glumaepatula*.

Nome Genérico (<i>Oryza sativa</i>)	Nome do Locus (<i>Oryza sativa</i>)	Nome Genérico (<i>Oryza glumaepatula</i>)	Nome do Locus (<i>Oryza glumaepatula</i>)	e-value
OsWRKY1	LOC_Os01g14440	OglumWRKY1	Oglum01g10620	0,0
OsWRKY2	LOC_Os10g42850	OglumWRKY2	Oglum10g19850	0,0
OsWRKY3	LOC_Os03g55080	OglumWRKY3	Oglum03g34520	6,84e ⁻¹⁵¹
OsWRKY4	LOC_Os03g55164	OglumWRKY4	Oglum03g34610	0,0
OsWRKY5	LOC_Os05g04640	OglumWRKY5	Oglum05g02570	0,0
OsWRKY6	LOC_Os03g58420	OglumWRKY6	Oglum03g37240	0,0
OsWRKY7	LOC_Os05g46020	Não encontrado (semelhante ao OglumWRKY67)		
OsWRKY8	LOC_Os05g50610	OglumWRKY8	Oglum05g28780	0,0
OsWRKY9	LOC_Os01g18584	OglumWRKY9	Oglum01g13550	0,0
OsWRKY10	LOC_Os01g09100	OglumWRKY10	Oglum01g06090	8,25e ⁻¹⁵⁶
OsWRKY11	LOC_Os01g43650	OglumWRKY11	Oglum01g27180	0,0
OsWRKY12	LOC_Os01g43550	OglumWRKY12	Oglum01g27100	0,0
OsWRKY13	LOC_Os01g54600	OglumWRKY13	Oglum01g35080	0,0
OsWRKY14	LOC_Os01g53040	OglumWRKY14	Oglum01g33860	0,0
OsWRKY15	LOC_Os01g46800	OglumWRKY15	Oglum01g28930	0,0
OsWRKY16	LOC_Os01g47560	OglumWRKY16	Oglum01g29520	0,0
OsWRKY17	LOC_Os01g74140	OglumWRKY17	Oglum01g49890	0,0
OsWRKY18	LOC_Os01g60520	Não encontrado (semelhante ao OglumWRKY20)		
OsWRKY19	LOC_Os05g49620	OglumWRKY19	Oglum05g28080	0,0
OsWRKY20	LOC_Os01g60540	OglumWRKY20	Oglum01g39360	0,0
OsWRKY21	LOC_Os01g60640	OglumWRKY21	Oglum01g39390	0,0
OsWRKY22	LOC_Os01g60490	OglumWRKY22	Oglum01g39350	0,0
OsWRKY23	LOC_Os01g53260	OglumWRKY23	Oglum01g34020	0,0
OsWRKY24	LOC_Os01g61080	OglumWRKY24	Oglum06g10200	0,0
OsWRKY25	LOC_Os08g13840	OglumWRKY25	Oglum08g07550	0,0
OsWRKY26	LOC_Os01g51690	OglumWRKY26	Oglum01g32750	1,17e ⁻¹⁷⁷
OsWRKY27	LOC_Os01g40430	OglumWRKY27	Oglum01g24640	0,0
OsWRKY28	LOC_Os06g44010	OglumWRKY28	Oglum06g24120	0,0
OsWRKY29	LOC_Os07g02060	OglumWRKY29	Oglum07g00780	5,16e ⁻¹⁵⁴
OsWRKY30	LOC_Os08g38990	OglumWRKY30	Oglum08g20430	0,0
OsWRKY31	LOC_Os06g30860	OglumWRKY31	Oglum06g17360	0,0
OsWRKY32	LOC_Os02g53100	OglumWRKY32	Oglum02g35200	0,0
OsWRKY34	LOC_Os02g43560	OglumWRKY34	Oglum02g26640	1,51e ⁻¹²⁸
OsWRKY35	LOC_Os04g39570	OglumWRKY35	Oglum04g15620	0,0
OsWRKY36	LOC_Os04g46060	OglumWRKY36	Oglum04g20470	0,0
OsWRKY37	LOC_Os04g50920	OglumWRKY37	Oglum04g23760	0,0
OsWRKY39	LOC_Os02g16540	OglumWRKY39	Oglum02g11370	0,0

* Linhas sombreadas apresentam genes em cromossomos homólogos diferentes entre as espécies.

Tabela 1 (continuação) - Loci correspondentes ao comparar a família WRKY de *Oryza sativa* e *Oryza glumaepatula*.

Nome Genérico (<i>Oryza sativa</i>)	Nome do Locus (<i>Oryza sativa</i>)	Nome Genérico (<i>Oryza glumaepatula</i>)	Nome do Locus (<i>Oryza glumaepatula</i>)	e-value
OsWRKY40	LOC_Os11g02530	OglumWRKY40	Oglum11g00870	0,0
OsWRKY41	LOC_Os11g45920	Não encontrado (semelhante ao OglumWRKY15)		
OsWRKY42	LOC_Os02g26430	OglumWRKY42	Oglum02g16050	0,0
OsWRKY43	LOC_Os05g49210	OglumWRKY43	Oglum05g27710	0,0
OsWRKY44	LOC_Os03g21710	OglumWRKY44	Oglum03g16780	0,0
OsWRKY45	LOC_Os05g25770	OglumWRKY45	Oglum05g12430	0,0
OsWRKY46a	LOC_Os11g02480	OglumWRKY46a	Oglum12g01270	3,47e⁻¹⁵⁶
OsWRKY46b	LOC_Os12g02420	OglumWRKY46b	Oglum12g01380	1,32e ⁻¹⁰⁵
OsWRKY47	LOC_Os07g48260	OglumWRKY47	Oglum07g26470	0,0
OsWRKY48	LOC_Os05g40060	OglumWRKY48	Oglum05g21420	1,60e ⁻¹⁷⁰
OsWRKY49	LOC_Os05g49100	OglumWRKY49	Oglum05g27580	0,0
OsWRKY50	LOC_Os11g02540	OglumWRKY50	Oglum11g00880	0,0
OsWRKY51	LOC_Os04g21950	Não encontrado (sequência idêntica à do OglumWRKY68)		
OsWRKY52	LOC_Os11g02470	OglumWRKY52a	Oglum12g01250	0,0
OsWRKY52	LOC_Os11g02470	OglumWRKY52b	Oglum12g01320	0,0
OsWRKY54	LOC_Os05g40080	OglumWRKY54	Oglum05g21440	0,0
OsWRKY55	LOC_Os03g20550	OglumWRKY55	Oglum03g15660	6,27e ⁻¹⁵⁹
OsWRKY56	LOC_Os12g02440	OglumWRKY56	Oglum12g01400	1,31e ⁻¹¹⁵
OsWRKY57	LOC_Os12g01180	OglumWRKY57	Oglum12g00050	3,36e ⁻¹²⁷
OsWRKY58	LOC_Os05g45230	OglumWRKY58	Oglum05g24880	1,21e ⁻¹⁰¹
OsWRKY59	LOC_Os11g45750	OglumWRKY59	Oglum11g22220	0,0
OsWRKY60	LOC_Os03g45450	OglumWRKY60	Oglum03g28820	5,48e ⁻¹⁰⁴
OsWRKY61	LOC_Os11g45850	Não encontrado (semelhante ao OglumWRKY15 e OglumWRKY19 e Oglum07g10380)		
OsWRKY62	LOC_Os09g25070	OglumWRKY62	Oglum09G10780	0,0
OsWRKY64	LOC_Os12g02450	OglumWRKY64	Oglum12g01420	0,0
OsWRKY65	LOC_Os12g02470	Não encontrado (sequência idêntica à do OglumWRKY64)		
OsWRKY66	LOC_Os02g47060	OglumWRKY66	Oglum02g29590	0,0
OsWRKY67	LOC_Os05g09020	OglumWRKY67	Oglum05g05440	6,00e ⁻¹¹⁶
OsWRKY68	LOC_Os04g51560	OglumWRKY68	Oglum04g24300	0,0
OsWRKY69	LOC_Os08g29660	Não encontrado (semelhante ao OglumWRKY15)		

* Linhas sombreadas apresentam genes em cromossomos homólogos diferentes entre as espécies.

Tabela 1 (continuação) - Loci correspondentes ao comparar a família WRKY de *Oryza sativa* e *Oryza glumaepatula*.

Nome Genérico (<i>Oryza sativa</i>)	Nome do Locus (<i>Oryza sativa</i>)	Nome Genérico (<i>Oryza glumaepatula</i>)	Nome do Locus (<i>Oryza glumaepatula</i>)	e-value
OsWRKY70	LOC_Os05g39720	OglumWRKY70	Oglum05g21120	0,0
OsWRKY71	LOC_Os02g08440	OglumWRKY71	Oglum02g06150	0,0
OsWRKY72	LOC_Os11g29870	OglumWRKY72	Oglum11g13430	1,84e ⁻¹⁷⁵
OsWRKY73	LOC_Os06g05380	OglumWRKY73	Oglum06g03030	0,0
OsWRKY74	LOC_Os09g16510	OglumWRKY74	Oglum09g06630	0,0
OsWRKY76	LOC_Os09g25060	OglumWRKY76	Oglum09g10770	0,0
OsWRKY77	LOC_Os01g40260	OglumWRKY77	Oglum01g24490	2,34e ⁻¹⁷⁹
OsWRKY78	LOC_Os07g39480	OglumWRKY78	Oglum07g19920	0,0
OsWRKY79	LOC_Os01g08710	OglumWRKY79	Oglum01g05840	2,07e ⁻¹²⁵
OsWRKY80	LOC_Os09g30400	OglumWRKY80	Oglum09g14860	0,0
OsWRKY81	LOC_Os12g02400	OglumWRKY81	Oglum12g01320	0,0
OsWRKY82	LOC_Os08g17400	OglumWRKY82	Oglum08g09260	0,0
OsWRKY83	LOC_Os12g40570	OglumWRKY83	Oglum12g19470	0,0
OsWRKY85	LOC_Os12g32250	OglumWRKY85	Oglum12g14890	0,0
OsWRKY86	LOC_Os01g60600	OglumWRKY86	Oglum01g39380	0,0
OsWRKY87	LOC_Os03g53050	OglumWRKY87	Oglum03g33290	0,0
OsWRKY88	LOC_Os03g63810	OglumWRKY88	Oglum03g41320	0,0
OsWRKY89	LOC_Os05g03900	OglumWRKY89	Oglum05g02170	2,67e ⁻⁸⁴
OsWRKY90	LOC_Os05g14370	OglumWRKY90	Oglum05g08540	0,0
OsWRKY91	LOC_Os05g40070	OglumWRKY91	Oglum05g21430	4,72e ⁻¹⁵³
OsWRKY92	LOC_Os05g50700	OglumWRKY92	Oglum05g28850	0,0
OsWRKY93	LOC_Os06g06360	OglumWRKY93	Oglum06g03950	0,0
OsWRKY94	LOC_Os07g17230	OglumWRKY94	Oglum07g08970	0,0
OsWRKY95	LOC_Os07g27670	OglumWRKY95	Oglum07g12390	2,23e ⁻¹⁰⁶
OsWRKY96	LOC_Os07g40570	OglumWRKY96	Oglum07g20830	0,0
OsWRKY97	LOC_Os01g09080	OglumWRKY97	Oglum01g06080	0,0
OsWRKY98	LOC_Os09g09630	OglumWRKY98	Oglum09g03660	0,0
OsWRKY100	LOC_Os11g02520	OglumWRKY100	Oglum11g00850	0,0

* Linhas sombreadas apresentam genes em cromossomos homólogos diferentes entre as espécies.

As sequências correspondentes aos genes *OsWRKY52* (cr. 11) e *OsWRKY81* (cr. 12) alinharam com perfeição em dois genes no cromossomo 12 de *O. glumaepatula* (*OGLUM12G01250* e *OGLUM12G01320*, respectivamente).

Filogenia

A Figura 1 mostra a formação de nove diferentes grupos quando realizamos a análise evolutiva destas proteínas entre estas duas espécies do gênero *Oryza*. Ross et al divide os WRKY de arroz em quatro grupos baseados na localização do domínio WRKY e dos domínios dedos de zinco Cys(2)His(2) (C₂H₂) ou CysCysHisCys (C₂HC). Destes quatro grupos o grupo I e IV possuem ainda uma subdivisão em “a” e “b”. Trabalhos de classificação dos WRKYs são feitos em diferentes espécies vegetais (LI et al., 2014: 14-23; HE et al., 2016: e0157558; LI et al., 2016: 23101), entretanto muita divergência é encontrada.

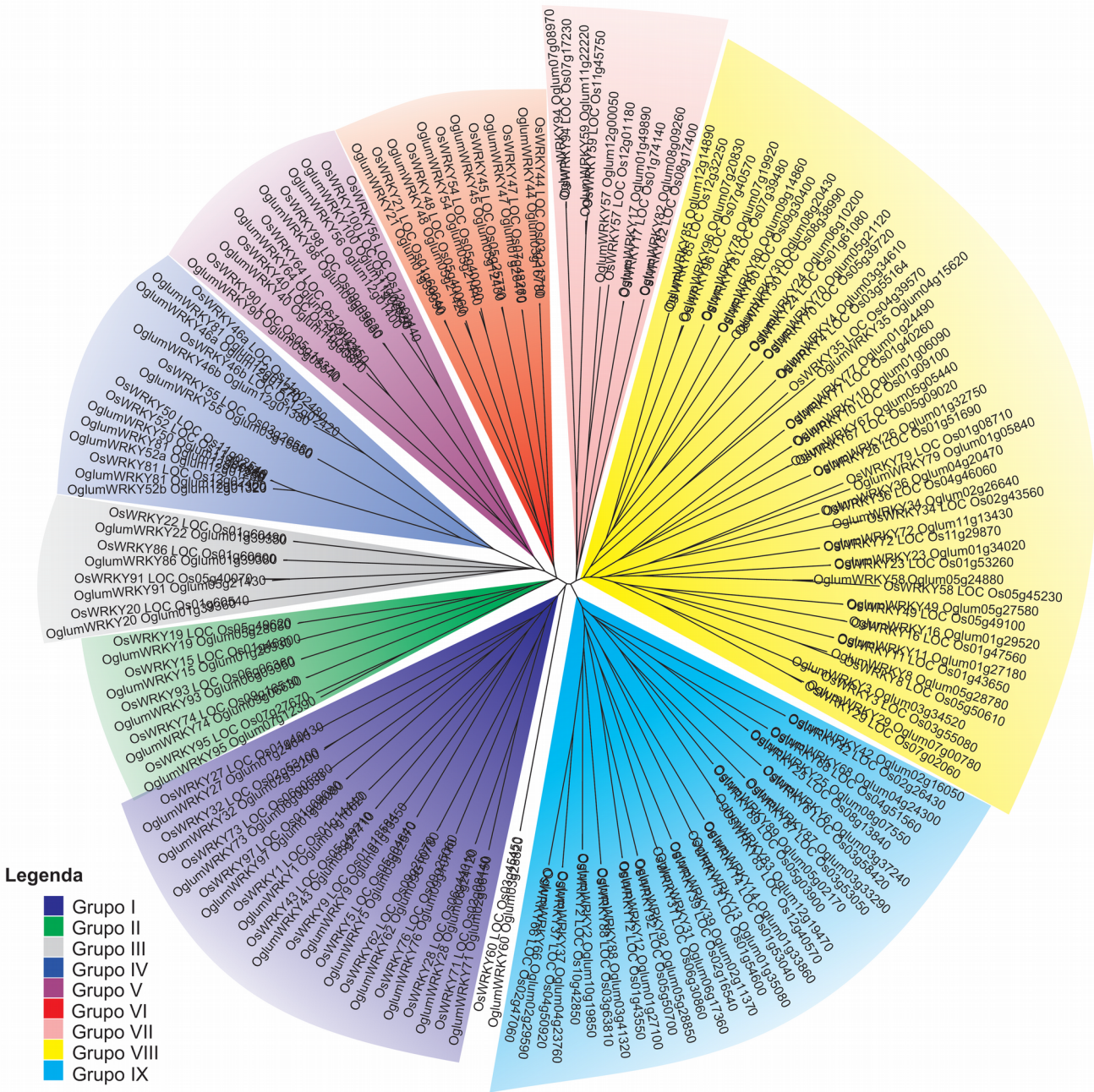


Figura 1 – Filogenia e grupos formados pela comparação das seqüências proteicas dos genes WRKY de *Oryza. sativa* e *Oryza. glumaepatula*.

Análises de identificação e filogenia de fatores de transcrição relacionados com estresse ocorrem repetidas vezes não só para a família WRKYs (NAKANO et al., 2006: 411-432; SHARONI et al., 2011: 344-360; RASHID, et al., 2012: 321-355). Mesmo que a maioria se baseie na identificação de diferentes regiões conservadas nos subgrupos formados, os atuais estudos ainda demonstram que existe uma necessidade de padronização dos métodos de filogenia para diferentes famílias gênicas.

Uma análise para obtenção de regiões conservadas entre estas proteínas ainda deve ser realizada para melhor entender possíveis diferenças que determinem funções distintas desempenhadas nestes grupos de genes. Trabalhos que buscaram identificar e

classificar esta família em arroz já discutiram diferenças interessantes entre genes desta família em genótipos diferentes de *O. sativa* (ROSS et al., 2007: 827–842).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi possível a identificação, em *O. glumaepatula*, dos 88 genes WRKY mais próximos à genes encontrados em *O. sativa*. A classificação feita neste estudo, a partir de dados já disponíveis na literatura, contribui para categorização destes genes e no estudo de suas funções, possibilitando uma comparação eficiente entre as espécies em questão.

Diferenças de posição dos genes WRKY foram percebidas quando comparando os diferentes genomas. Tais diferenças podem ser úteis no melhoramento genético, possibilitando a piramidação de genes úteis para tolerância a estresses.

Estudos para encontrar outros genes WRKY em *O. sativa* ainda podem ajudar na identificação de outros alvos para estudos mais aprofundados. Além disso a obtenção de dados expressão destes genes, tanto de *O. sativa* como de *O. glumaepatula*, também serão de extremo interesse.

No momento outras análises relativas a conservação de regiões entre genes destes diferentes grupos está sendo realizada e deverá trazer informações úteis para previsão de diferenças funcionais entre os grupos. Desta forma o estudo dos genes WRKY está se tornando cada vez mais fácil e dinâmico não só dentro do gênero *Oryza*, mas para as plantas em geral.

5 REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, nº 3, p. 403-410, 1990.
- ANDO, A. Coletas de germoplasma de espécies de espécies selvagens e relativas ao gênero *Oryza* no Brasil, Paraguai e Argentina. In Encontro sobre Temas de Genética e Melhoramento, 15, Anais, ESALQ/USP, Piracicaba, p.22-26, 1998.
- BUSO, G.S.C.; RANGEL, P.H.; FERREIRA, M.E. Analysis of genetic variability of South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 107-117, 1998.
- CHEN, L. SONG, Y. LI, S. ZHANG, L. et al. The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1819, nº 2, p. 120–128, 2012.
- EULGEM, T.; RUSHTON, P.J.; ROBATZEK, S. et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors. **Trends Plant Science**, v. 5, p. 199-206, 2000.

HE, Y.; MAO, S.; GAO, Y. et al. Genome-wide identification and expression analysis of WRKY transcription factors under multiple stresses in *Brassica napus*. **PLoS One**, v. 11, n° 6, p. e0157558, 2016.

KARASAWA, M.M.G.; VENCOVSKY, R.; SILVA, C.M. et al. Genetic structure of Brazilian wild rice (*Oryza glumaepatula* Steud., Poaceae) populations analyzed using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n° 2, 400-410, 2007.

KATAGIRI, F. A global view of defense gene expression regulation: A highly interconnected signaling network. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 506–511, 2004.

LI, H-L.; GUO, D.; YANGA, Z-P. et al. Genome-wide identification and characterization of WRKY gene family in *Hevea brasiliensis*. **Genomics**, v. 104, n° 1, p. 14–23, 2014.

LI, M-Y.; XU, Z-S.; TIAN, C. et al. Genomic identification of WRKY transcription factors in carrot (*Daucus carota*) and analysis of evolution and homologous groups for plants. **Scientific Reports**, v. 6, p. 23101, 2016.

MAHALINGAM, R.; GOMEZ-BUITRAGO, A.; ECKARDT, N. et al. Characterizing the stress/defense transcriptome of Arabidopsis. **Genome Biology**, v. 4, p. R20, 2003.

McWILLIAM, H.; LI, W.; ULUDAG, M. et al. Analysis Tool Web Services from the EMBL-EBI. **Nucleic acids research**, v. 43, n° W1, p. W580-584, 2015.

NAKANO, T.; SUZUKI, K.; FUJIMURA, T. et al. Genome-wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and Rice. **Plant Physiology**, v. 140, n° 2, p. 411-432, 2006.

RANGEL, P.H.N. Origem e evolução do arroz. In I Curso Internacional de Melhoramento Genético de Arroz. Goiânia, p. 16-27, 1998.

RASHID, M.; GUANGYUAN, H.; GUANGXIAO, Y. et al. AP2/ERF Transcription factor in rice: Genome-wide canvas and syntenic relationships between Monocots and Eudicots. **Evolutionary Bioinformatics**, v 8, p. 321-355, 2012.

ROSS, C.A.; LIU, Y. SHEN, Q.J. The WRKY gene family in rice (*Oryza sativa*). **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 49, n° 6, p. 827–842, 2007.

RUSHTON, P.J.; MACDONALD H.; HUTTLY, A.K. et al. Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved cis-element in the promoters of alpha-Amy2 genes. **Plant Molecular Biology**, v. 29, p. 691-702, 1995.

SHARONI, A.M.; NURUZZAMAN, M.; SATOH, K. et al. Gene structures, classification and expression models of the AP2/EREBP transcription factor family in rice. **Plant Cell Physiology**, v 52, n° 2, p. 344-360, 2011.

SIEVERS, F.; WILM, A.; DINEEN, D. et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. **Molecular systems biology**, v. 7, p. 539, 2011.

SINGH, K.; FOLEY, R.C.; ONATE-SANCHEZ, L. Transcription factors in plant defense and stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, p. 430–436, 2002.

STEIN, J.; YU, Y.; COPETTI, D. et al. (sob avaliação, ainda não publicado) Genomes of 11 rice relatives unveil genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. **Nature**.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, nº 12, p. 2725-2729, 2013.

ULKER, B.; SOMSSICH, I.E. WRKY transcription factors: From DNA binding towards biological function. **Current Opinion Plant Biology**, v. 7, p. 491-498, 2004.

XIE, Z.; ZHANG, Z.L.; ZOU, X. et al. Annotations and functional analyses of the rice WRKY gene superfamily reveal positive and negative regulators of abscisic acid signaling in aleurone cells. **Plant Physiology**, v. 137, p. 176-189, 2005.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não possuir nenhum tipo de conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo Ministério da Ciência e Tecnologia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação Estadual de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

R.S.S. e D.R.F. análises de bioinformática; R.S.S., V.E.V. e A.T.Jr. interpretação e escrita do trabalho; A.C.O. concebeu o estudo e supervisionou a pesquisa.