



Artigo original

Desenvolvimento de marcadores estádios-específicos para efeitos morfogenéticos *in vitro* por genes candidatos *in silico* em espécies frutíferas do cerrado

Development of stages-specific markers for in vitro morphogenetic effects by genes in silico candidates on fruit species of the cerrado

Luana Cristina Diniz Santos¹ , Victor Soares Rodrigues¹ , Márcio Antônio Pimenta¹ ,
Sônia Ribeiro Arrudas¹  e Guilherme Araújo Lacerda¹ 

¹Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Montes Claros-MG, Brasil.

Resumo

Objetivo: analisar os candidatos *in silico* aos genes de interesse *SERK*, *BBM* e *psbA* e sua possível ocorrência em espécies do cerrado. **Materiais e Métodos:** foram testados três diferentes genes como forma de expansão dos estudos e para que fosse possível enquadrar qual gene continha mais sequências relacionadas às frutíferas do cerrado. **Resultados:** as sequências de interesse das frutíferas do cerrado encontradas e analisadas foram: Barbatimão (*Stryphnodendron* Mart.), Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), Cagaita (*Eugenia dysenterica* [Mart.] DC.), Cajuzinho (*Brysonima intermedia* A. Juss.), Guaçatonga (*Casearia systris* Sw.), Jenipapo (*Genipa americana* L.), Joá-bravo (*Solanum viarum* Dunal), Pau-terra (*Qualea grandiflora* Mart.), Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.), todas identificadas com seus respectivos descritores botânicos. **Conclusão:** tal análise possibilitou a discussão e enfoque desta pesquisa subsidiando o desenvolvimento futuro de marcadores fisiológicos, histo-anatômicos e moleculares estádios-específicos, como estratégia para o estudo dos processos da embriogênese zigótica e somática, assim como organogênicos para espécies agrônômicas e nativas.

Palavras-chave: Somatic embryogenesis-related kinase. Babyboom. Photosystem II protein D1.

Abstract

Objective: to analyze the silicon candidates for the genes of interest *SERK*, *BBM* and *psbA* and their possible occurrence in cerrado species. **Materials and Methods:** three different genes were tested as a way of expanding the studies and so that it was possible to frame which gene contains more sequences related to cerrado fruits. **Results:** the sequences of interest of the fruits of the cerrado Barbatimão (*Stryphnodendron* Mart.), Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), Cagaita (*Eugenia dysenterica* (Mart.) DC.), Cajuzinho (*Brysonima intermedia* A.Juss.), Guaçatonga (*Casearia systris* Sw.), Jenipapo (*Genipa americana* L.), Joá-bravo (*Solanum viarum* Dunal), Pau-terra (*Qualea grandiflora* Mart.), Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.), all identified with their respective botanical descriptors. **Conclusion:** enables discussion and research focus supporting the development of this analytical analysis of such analysis: histo-analysts of processes and molecular-specific processes of embryogenesis, as a strategy for the study of zygotic and somatic, as well as organogenic for agronomic and native species.

Key words: Somatic embryogenesis-related kinase. Babyboom. Photosystem II protein D1.

Autor correspondente: Guilherme Araújo Lacerda | guilherme.lacerda@unimontes.br

Recebido em: 29/09/2022. **Aprovado em:** 09/02/2023.

Como citar este artigo: Santos LCD, Rodrigues VS, Pimenta MA, Arrudas SR, Lacerda GA. Desenvolvimento de marcadores estádios-específicos para efeitos morfogenéticos *in vitro* por genes candidatos *in silico* em espécies frutíferas do cerrado. Revista Bionorte. 2023 jan-jun;12(1):333-45. <https://doi.org/10.47822/bn.v12i1.502>



Introdução

O bioma do Cerrado é considerado o mais rico em Biodiversidade do mundo, mas é ameaçado constantemente por atividades humanas¹. Nele, aproximadamente, 44% da flora é endêmica, fazendo com que tal bioma seja considerado a mais diversificada savana do planeta^{2,3}. O segundo maior Bioma da América do Sul pertence ao Cerrado Brasileiro, com uma extensão de 2 milhões de km², sendo cerca de 23% do território nacional, considerado um dos *hotspots* de Biodiversidade mundial⁴. As plantas do Cerrado passam por diversas mudanças no uso da terra, o que ocasiona na perda de habitat, e de grande parte de sua cobertura vegetal, acabam se transformando em pastos para a agricultura⁵. Sistemas de cultivo *in vitro* de tecidos de plantas estão sendo cada vez mais utilizados, devido aos desafios industriais, medicinais e agrícolas. O aumento de genótipos de plantas de interesse com características agronômicas adaptadas é uma forma muito utilizada para a rápida propagação de clones valiosos, através da embriogênese somática⁶. Devido à constante degradação ambiental, abordagens *ex situ* e *in situ*, se tornam cada vez mais eficientes, para conter a perda da diversidade genética em diversas áreas e habitats. As mudanças ambientais determinam qual estratégia se torna mais bem empregada⁷.

Processos de embriogênese somática e regeneração de plantas fazem parte das alterações na expressão gênica e estão sendo relacionados às alterações na metilação do DNA⁶. O gene SERK (*Somatic Embryogenesis Receptor Kinase*) é constituído de genes receptores de membrana plasmática que têm sido estudados em diversas espécies e, contudo, sendo associados a algumas características, como reprodução ou desenvolvimento vegetal. São um pequeno grupo de proteínas transmembranares de espécies de plantas pertencentes ao subgrupo II das quinases⁸. O primeiro gene SERK descoberto foi através de biblioteca de cDNA de uma cultura de células embriogênicas de espécie de cenoura (*Daucus carota*)⁹. Os genes SERKs controlam diversos aspectos do desenvolvimento da planta, como o crescimento dependente de brassinosteróides e fitossulfokina, embriogênese somática, esporogênese masculina e padronização estomática. Os SERKs formam parte integrante do sistema imunitário da planta e regulam a morte celular¹⁰.

O gene Baby Boom (BBM) foi descoberto através de marcadores celulares embriogênicos de cultura de tecidos em uma espécie de Canola (*Brassica napus*), quando demonstrou induzir embriões somáticos. O gene BBM é capaz de induzir a embriogênese em células diferenciadas sob condições de cultura e também é um possível regulador do desenvolvimento embrionário¹¹. O gene BBM pode aumentar a capacidade de regeneração na cultura de tecidos e está envolvido na conversão do estado vegetativo para embriogênico¹². Este gene potencialmente ativa as vias de transdução de sinal que

conduz à indução do desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas diferenciadas¹³. O gene BBM é um dos reguladores centrais do desenvolvimento de células vegetais e exerce funções no desenvolvimento embrionário¹⁴. O gene *psbA* (*Photosystem II protein D1 (psbA)*) codifica o polipeptídeo D1 do gene fotossistema 2 da fotossíntese em plantas, sendo, assim, um gene que pode ajudar através das proteínas codificadoras¹⁵. Maiores informações desse gene e sua associação com as plantas nativas do cerrado poderiam contribuir para pesquisas na área de bioinformática.

A seleção das cultivares melhoradas, a prospecção de extratos das espécies frutíferas para controle de pragas e doenças das culturas de importância econômica, ornamentação e novos produtos alimentícios agregam valor aos produtos vegetais. Sabe-se que, geralmente, as espécies frutíferas nativas não têm estudos aprofundados como acontece, por exemplo, com as frutas comerciais, como uva ou maçã. As frutíferas do cerrado não apresentam uniformidade do fruto entre as plantas, dessa forma os usos inovadores das espécies frutíferas do cerrado se fundamentam em outras maneiras de aproveitamento que não o extrativismo.

Objetivou-se, através do presente trabalho, analisar os candidatos *in silico* aos genes de interesse SERK, BBM e *psbA* e sua possível ocorrência em espécies vegetais nativas do cerrado.

Materiais e Métodos

Seleção das sequências avaliadas

As sequências identificadas como SERK e *psbA* foram obtidas, entre 2017 e 2018, a partir do banco de dados de nucleotídeos do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), maior base de dados biológicos do mundo, que funciona como uma coleção de várias fontes. Após terem sido salvas em formato FASTA, elas foram sujeitadas ao processo de clusterização, processo computacional que separa os dados em grupos similares e, posteriormente, submetidas à anotação manual.

Após essa etapa, todas as sequências biológicas identificadas como SERK e *psbA* foram utilizadas para uma nova busca, a fim de se obter uma otimização da saturação do banco de dados, utilizando-se a ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Por estatística, essa ferramenta encontra regiões de similaridade entre as sequências biológicas, a fim de se encontrar novas para os genes de interesse, bem como corrigir clusters incompletos.

Esse processo, conhecido por saturação, foi repetido até que não se encontrou mais nenhuma nova sequência significativa. Foram utilizados dois softwares diferentes, que resultaram em dois resultados diversificados.

Tradução das sequências e análise filogenética

Após as sequências terem sido traduzidas pela ferramenta EMBOSS transeq, construíram-se as árvores filogenéticas a partir do Mega 11 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*), software que faz análise genética, evolutiva e molecular^{16,17}. O software Mega possui diversas versões, em que todas têm funções parecidas de criação e edição, em dendrogramas, de árvores filogenéticas, a partir de sequências nucleotídicas ou polipeptídicas. A partir das sequências fornecidas por bancos de dados, o software Mega faz uma análise comparativa de dados de sequências moleculares o que ajuda a reconstruir histórias evolutivas e a entender qual a evolução dos genes e espécies de interesse¹⁸. O alinhamento das sequências polipeptídicas para os genes SERK e psbA foi executado pelo programa *ClustalW* com os parâmetros padrões (*default*)¹⁹. Os critérios usados foram o modelo de comparação *Neighbor-joining*, método de *p-distance* e supressão *pair-wise*²⁰. A validade da árvore quanto à distância filogenética dos *clusters* foi aferida pelo teste probabilístico de *bootstrap*²¹.

A história evolutiva foi inferida, usando-se o método *Neighbor-Joining* e a árvore ideal contém a porcentagem de replicadas nas quais os táxons associados agrupados no teste de bootstrap (500 replicatas) são mostrados acima dos ramos^{20,22}. A árvore é desenhada em escala, com comprimentos de galhos nas mesmas unidades das distâncias evolutivas usadas para inferir a árvore filogenética. As distâncias evolutivas foram calculadas, usando-se o método *p-distance* e estão nas unidades do número de diferenças de aminoácidos por sítio.

Identificação de motivos comuns de agrupamento

Para descobrir motivos de agrupamento entre as sequências para SERK e psbA, utilizou-se o programa MEME (*Multiple Expectation Minimization for Motif Elicitation*, versão 5.4.1, empregando-se os critérios: zero ou uma ocorrência por sequência, máximo de cinco motivos, e tamanho para cada um deles entre 6 e 200 aminoácidos²⁴.

Resultados

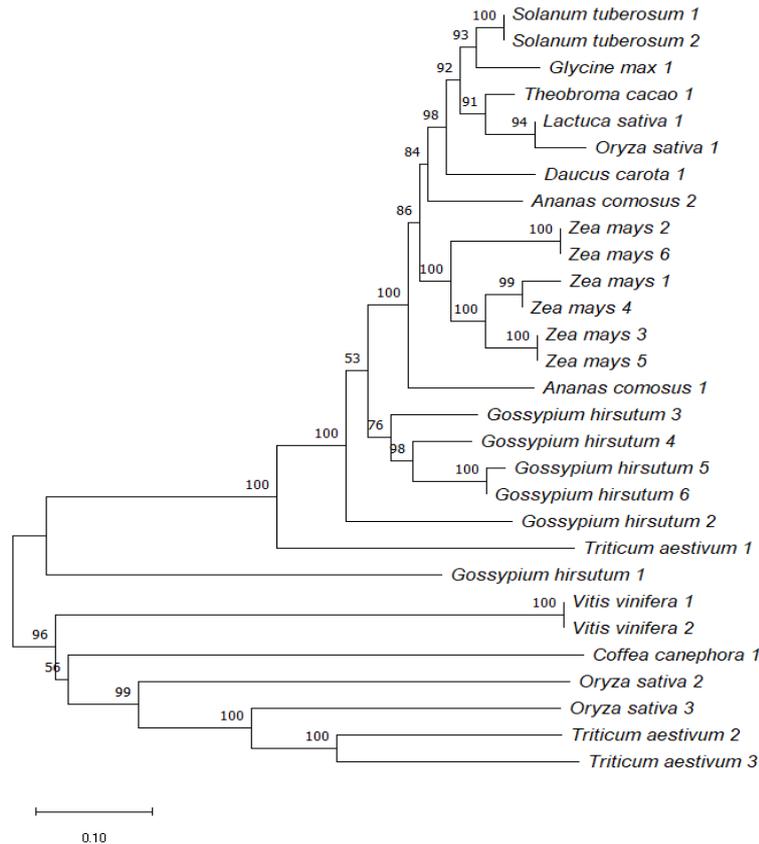
As análises evolutivas foram realizadas no MEGA11¹⁷ (Figura 1) cuja análise envolveu 29 sequências de aminoácidos²³. Todas as posições ambíguas foram removidas para cada par de sequências (opção de deleção em pares). Havia um total de 731 posições no conjunto de dados final.

Nenhuma espécie frutífera do cerrado foi encontrada no banco de dados para correlacionar ao gene SERK. Porém, ao final do proceso, obtiveram-se 29 sequências biológicas de interesse agroeconômico, tais como algodão (*Gossypium hirsutum*), videira (*Vitis vinifera*), abacaxi (*Ananas*

Santos LCD, Rodrigues VS, Pimenta MA, Arrudas SR, Lacerda GA.

comosus), arroz (*Oryza sativa*), cafeeiro (*Coffea canephora*), alface (*Lactuca sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), milho (*Zea mays*), soja (*Glycine max*), cacau (*Theobroma cacao*), cenoura (*Daucus carota*) e batata-inglesa (*Solanum tuberosum*).

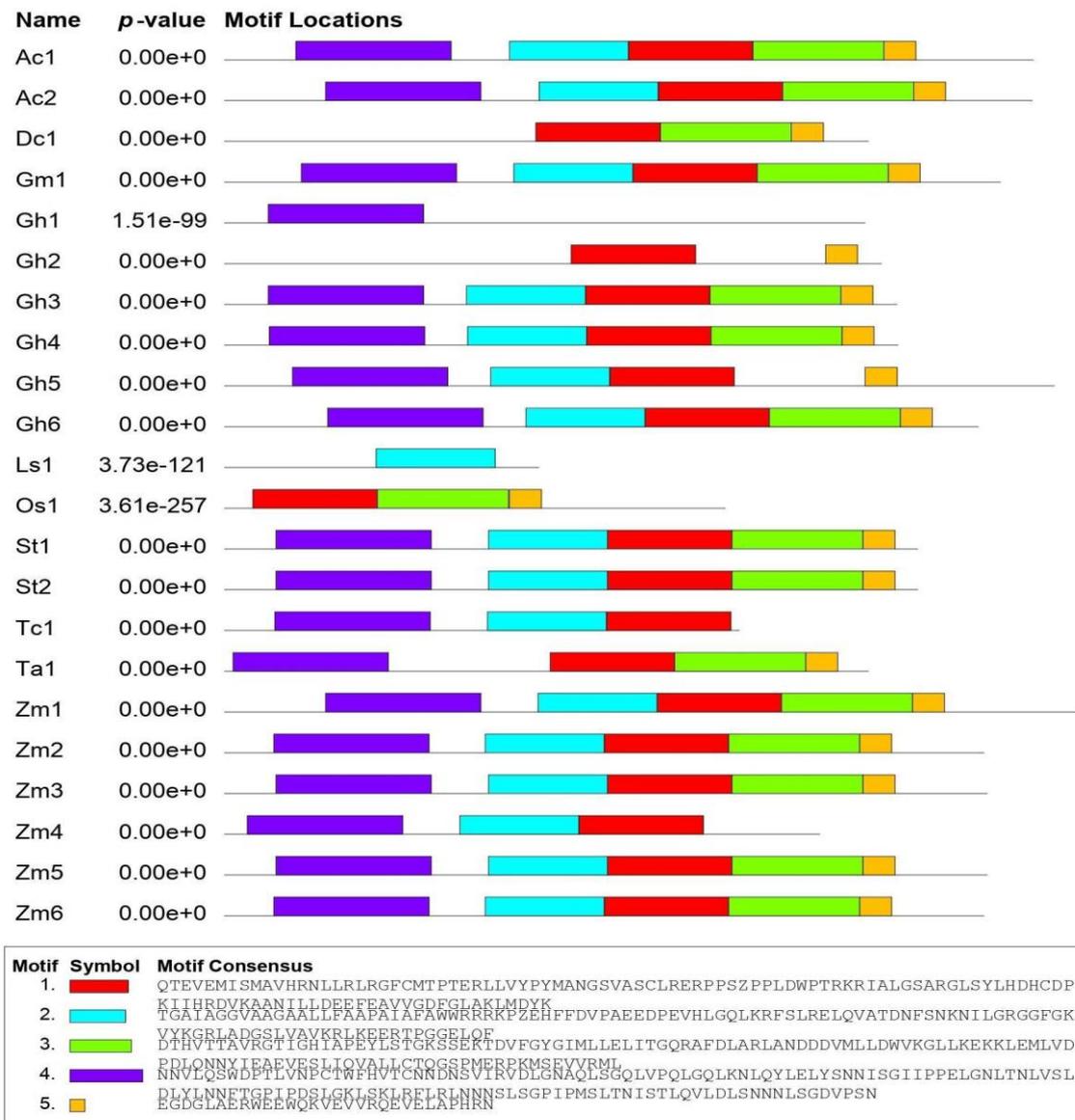
Figura 1. Árvore gerada na análise de *bootstrap*, método de agrupamento de vizinhos (NJ) demonstrando relações filogenéticas, para sequências candidatas ao gene SERK, entre diversas espécies agronômicas: algodão (*Gossypium hirsutum*), videira (*Vitis vinifera*), abacaxi (*Ananas comosus*), arroz (*Oryza sativa*), cafeeiro (*Coffea canephora*), alface (*Lactuca sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), milho (*Zea mays*), soja (*Glycine max*), cacau (*Theobroma cacao*), cenoura (*Daucus carota*) e batata-inglesa (*Solanum tuberosum*).



O MEME para prováveis sequências para SERK (Figura 2) foi bem caracterizado para as espécies agronômicas: abacaxi (Ac - *Ananas comosus*), cenoura (Dc - *Daucus carota*), soja (Gm - *Glycine max*), algodão (Gh - *Gossypium hirsutum*), batata-inglesa (St - *Solanum tuberosum*), cacau (Tc - *Theobroma cacao*), milho (Zm - *Zea mays*), trigo (Ta - *Triticum aestivum*), arroz (Os - *Oryza sativa*), alface (Ls - *Lactuca sativa*).

Santos LCD, Rodrigues VS, Pimenta MA, Arrudas SR, Lacerda GA.

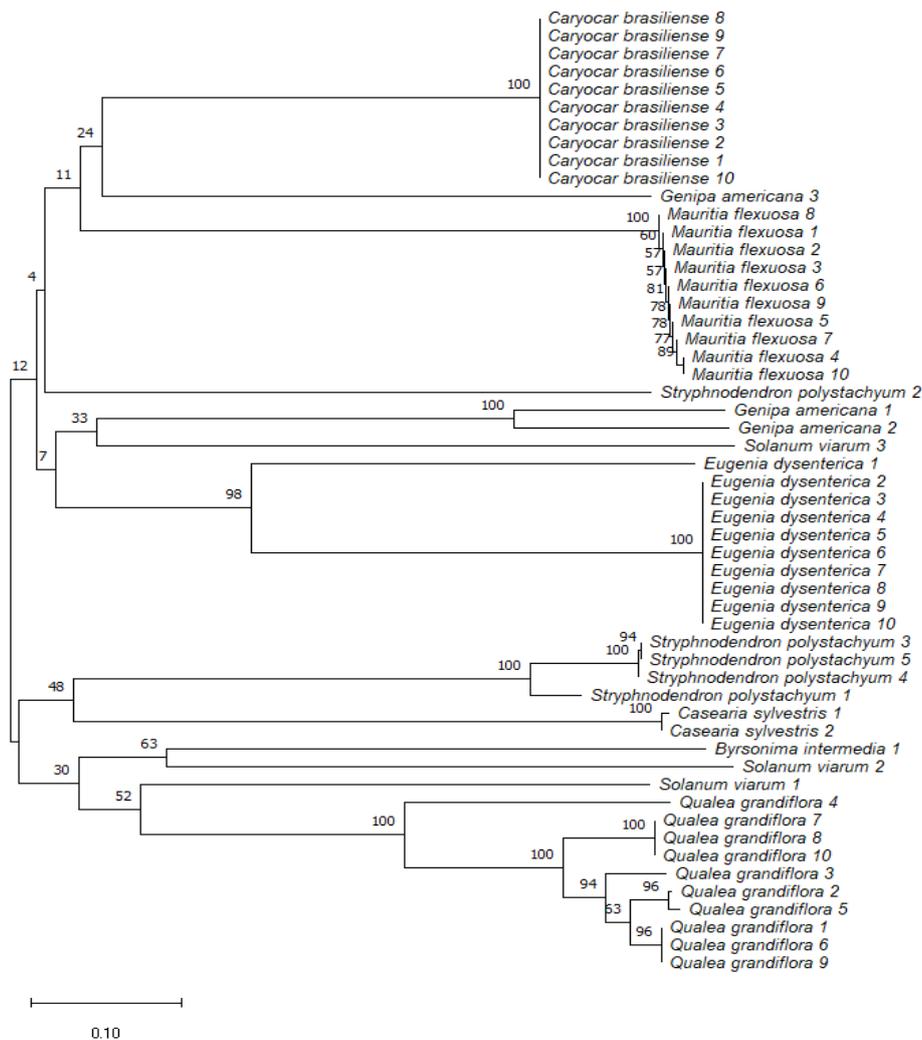
Figura 2. MEME (*Multiple Expectation Minimization for Motif Elicitation*) (<http://meme-suite.org/tools/meme>) para prováveis sequeências para SERK em espécies agrônômicas: abacaxi (Ac - *Ananas comosus*), cenoura (Dc - *Daucus carota*), soja (Gm - *Glycine max*), algodão (Gh - *Gossypium hirsutum*), batata-inglesa (St - *Solanum tuberosum*), cacau (Tc - *Theobroma cacao*), milho (Zm - *Zea mays*), trigo (Ta - *Triticum aestivum*), arroz (Os - *Oryza sativa*), alface (Ls - *Lactuca sativa*), cafeeiro (Cc - *Coffea canephora*). Os parâmetros utilizados foram: número de repetições qualquer, máximo número de motivos 20 e amplitude ótima entre 6 e 200.



A partir dos parâmetros empregados, observa-se que as sequências polipeptídicas da proteína SERK (Figura 2) realmente se distinguem das demais, já que não apresentam motivos em comum, validando o grupo externo da árvore filogenética (Figura 1). Para o gene *psbA*, a análise envolveu 54 sequências de aminoácidos. Todas as posições ambíguas foram removidas para cada par de sequências (opção de deleção em pares). Havia um total de 132 posições no conjunto de dados final. Ao final da análise, o gene *psbA* demonstrou-se o melhor candidato, uma vez que se apresenta grande

diversidade de espécies frutíferas do cerrados, como Barbatimão (*Stryphnodendron* Mart.), Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), Cagaita (*Eugenia dysenterica* (Mart.) DC.), Murici-anão (*Byrsonima intermedia* A.Juss.), Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.), Jenipapo (*Genipa americana* L.), Joá-bravo (*Solanum viarum* Dunal), Pau-terra (*Qualea grandiflora* Mart.), e Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.). Apenas uma espécie cultivada, Tamarindo (*Tamarindus indica* L.), foi obtida no período pesquisado (Figura 3). As sequências para essa espécie, no entanto, não foram empregadas na construção da filogenia, uma vez que apresentam uma divergência tão extensa que restringiria a análise dos dados.

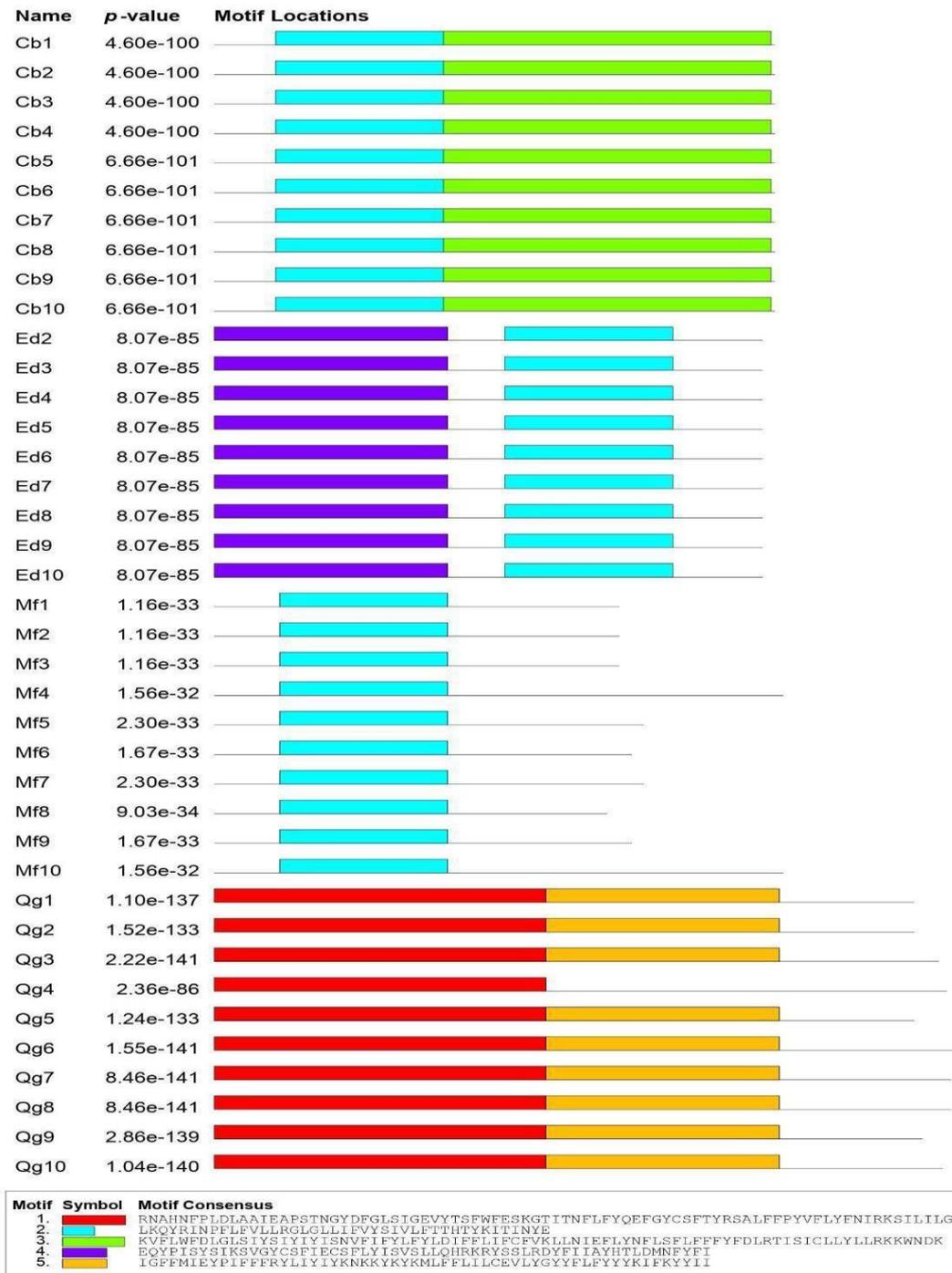
Figura 3. Árvore consenso gerada na análise *bootstrap*, método de Agrupamento de Vizinhos (NJ) demonstrando relações filogenéticas para sequências de psbA entre as espécies frutíferas do cerrado: Barbatimão (*Stryphnodendron* Mart.), Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), Cagaita (*Eugenia dysenterica* (Mart.) DC.), Murici-anão (*Byrsonima intermedia* A.Juss.), Guaçatonga (*Casearia Sylvestris* Sw.), Jenipapo (*Genipa Americana* L.), Joá-bravo (*Solanum viarum* Dunal), Pau-terra (*Qualea grandiflora* Mart.), Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.).



O MEME para prováveis sequências para psbA (Figura 4) foi bem caracterizado para as espécies nativas do cerrado, como Pequi, Cagaita, Buriti e Pau-terra. E, embora o Pau-terra tenha sido

caracterizado neste processo, diferentemente do observado, ele não compartilha nenhum mesmo motivo estrutural com as demais espécies, o que justifica sua posição como pertencente ao grupo externo (Figura 3).

Figura 4. MEME (*Multiple Expectation Minimization for Motif Elicitation* (<http://meme-suite.org/tools/meme>) para prováveis sequências para psbA entre as espécies frutíferas do cerrado: Barbatimão (*Stryphnodendron* Mart.), Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), Cagaita (*Eugenia dysenterica* (Mart.) DC.), Murici-anão (*Brysonima intermedia* A.Juss.), Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.), Jenipapo (*Genipa Americana* L.), Joá-bravo (*Solanum viarum* Dunal), Pau terra (*Qualea grandiflora* Mart.), Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.).



Discussão

No presente trabalho, as sequências de SERK foram para além das espécies agronômicas mais descritas na literatura, como: cenoura, soja, algodão, batata-inglesa, cacau, milho, trigo e alface. SERK faz parte das *Leurich repeat, receptor-like kinases* (LRR-RLKs), subgrupo de proteínas quinase, cuja característica é um domínio extracelular com, ao menos, cinco repetições ricas em leucina, um transmembrana e outro de quinase intracelular²⁵.

Ele apresenta potencial de marcador de competência celular para formar embriões somáticos cultivados *in vitro*, uma vez que são capazes de estimular a embriogênese somática, como estudado em abacaxi²⁵, cafeeiro²⁶ e colza²⁷.

Para além, SERK não está envolvido exclusivamente na sinalização da planta, mas em outras funções, como resposta ao estresse biótico e abiótico²⁸. SERK é capaz de inibir a abscisão de órgãos e restringir o tamanho das zonas de abscisão floral, modulando a localização ou a atividade de componentes de sinalização responsáveis por este processo²⁹.

Em estudos com *Oryza sativa*³⁰, perceberam que a superexpressão desse gene foi capaz de aumentar a resistência dos cultivares à brusone, sugerindo que ele pode, parcialmente, mediar a transdução do sinal de defesa.

Os genes desse grupo mostram um padrão de expressão complexa ao longo do desenvolvimento vegetal. Ambos são expressos no tapete da antera e são mediados por precursores. Mutantes *knockout*³¹ únicos de SERK não mostram fenótipos óbvios, porém mutantes duplos dão origem a machos estéreis devido a uma falha na especificação do tapete. A fertilidade pode ser restaurada por uma única cópia de qualquer um desses genes. Além disso, eles podem formar homodímeros ou heterodímeros *in vivo*, sugerindo que são intercambiáveis no complexo de sinalização SERK1/SERK2.

Os cloroplastos de plantas superiores e algas verdes contêm um único gene *psbA* que é responsável por um conjunto de transcrições³². Em resposta à ação da luz, esse gene codifica o polipeptídeo D1 do fotossistema II (PSII) das plantas³³.

Tal proteína está sujeita a fotodanos e seu reparo requer a degradação da D1 danificada e sua substituição por D1 nascente. Os mecanismos que acoplam a síntese de D1 com a montagem e reparo de PSII, pouco compreendidos, requerem assistência por uma infinidade de proteínas codificadas pelo núcleo e sua expressão parece ser fortemente regulada pelo controle da tradução³². Para o *psbA*, não se esperava tamanha correlação com os resultados obtidos, denotando a importância de maiores enfoques desse gene.

Este estudo apresentou como fator limitante o acesso a sequências relacionadas aos genes em bancos de dados públicos, uma vez que estudos de bioinformática com plantas nativas do cerrado ainda são incipientes.

Conclusão

O gene psbA demonstrou-se o melhor candidato, uma vez que se apresenta grande diversidade de espécies nativas do cerrados, como Barbatimão, Buriti, Cagaita, Murici-anão, Guaçatonga, Jenipapo, Joá-bravo, Pau-terra e Pequi. Tal análise possibilitou a discussão e enfoque desta pesquisa, subsidiando o desenvolvimento futuro de marcadores fisiológicos, histoanatômicos e moleculares estádios-específicos como estratégia para o estudo dos processos da embriogênese zigótica e somática, assim como organogênicos para espécies agrônomicas e nativas.

Contribuição dos autores

Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito e se declararam responsáveis por todos os aspectos do trabalho, inclusive garantindo sua exatidão e integridade.

Conflitode interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Pfeilsticker, TR, Buzatti, RSO, Muniz, AC, Bueno, ML, Lemos-Filho, JP, Lovato, MB. Genetic and functional leaf trait diversity throughout the distribution of two Cerrado tree species: Testing the centre-periphery hypothesis. *J Biogeogr.* 2021;48:2258-74. Available from: <https://doi.org/10.1111/jbi.14148>
2. Ratter, JA, Bridgewater, S, Ribeiro, JF. Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation iii: comparison of the woody vegetation of 376 areas. *Edinburgh Journal of Botany.* 2003;60:57-109. Available from: <https://doi.org/10.1017/S0960428603000064>
3. Klink, CA, Machado, RB. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade.* 2005;1:1-9. Available from: https://www.researchgate.net/publication/228342037_A_conservacao_do_Cerrado_brasileiro
4. Zimbres B, Rodríguez-Veiga P, Shimbo JZ, Bispo PC, Balzter H, Bustamente M, *et al.* Mapping the stock and spatial distribution of aboveground woody biomass in the native vegetation of the Brazilian Cerrado biome. *Forest Ecology and Management.* 2021;499:1-15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119615>

5. Ballesteros-Mejia, L, Lima, JS, Collevatti, RG. Spatially-explicit analyses reveal the distribution of genetic diversity and plant conservation status in Cerrado biome. *Biodiversity and Conservation* 2018;29(5):1537-54. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1588-9>
6. Karim, R, Tan, YS, Singh, P, Khalid, N, Harikrishna, JA. Expression and DNA methylation of SERK, BBM, LEC2 and WUS genes in in vitro cultures of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2018;24(5):741-51. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0566-8>
7. Diniz-Filho JAF, Barbosa ACOF, Chaves LJ, Souza KS, Dobrovolski R, Rattis L, *et al.* Overcoming the worst of both worlds: integrating climate change and habitat loss into spatial conservation planning of genetic diversity in the Brazilian Cerrado. *Biodiversity and Conservation*. 2018;29(5):1555-70. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1667-y>
8. Koehler AD, Irsigler AST, Carneiro VTC, Cabral GB, Rodrigues JCM, Gomes ACMM, *et al.* SERK genes identification and expression analysis during somatic embryogenesis and sporogenesis of sexual and apomictic *Brachiaria brizantha* (Syn. *Urochloa brizantha*). *Planta*. 2020;252(3):1-15. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03443-w>
9. Toonen MAJ, Schmidt EDL, Kammen AV, Vries SC. Promotive and inhibitory effects of diverse arabinogalactan proteins on *Daucus carota* L. somatic embryogenesis. *Planta*. 1997;203:188-95. Available from: <https://doi.org/10.1007/s004250050181>
10. Brandt, B, Hothorn, M. SERK co-receptor kinases. *Current Biology*. 2016;26(6):225-6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.014>
11. Jha P, Kumar V. BABY BOOM (BBM): a candidate transcription factor gene in plant biotechnology. *Biotechnol Lett*. 2018;40(11-12):1467-75. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2613-5>
12. Yang HF, Kou YP, Gao B, Soliman TMA, Xu KD, Ma N, *et al.* Identification and functional analysis of BABY BOOM genes from *Rosa canina*. *Biol Plant*. 2014;58:427–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10535-014-0420-y>
13. Boutilier K, Offringa R, Sharma VK, Kieft H, Ouellet T, Zhang L, *et al.* Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryonic growth. *Plant Cell*. 2002 aug;14(8):1737-49. Available from: <https://doi.org/10.1105/tpc.001941>
14. Ranade SS, Egertsdotter U. In silico characterization of putative gene homologues involved in somatic embryogenesis suggests that some conifer species may lack LEC2, one of the key regulators of initiation of the process. *BMC Genomics*. 2021;22:392. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07718-8>
15. Metz J, Nixon P, Diner B. Nucleotide sequence of the psbA3 gene from the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Nucleic Acids Res*. 1990;18(22):6715. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6715>

16. Stecher G, Tamura K, Kumar S. Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution* 2020;37(4):1237-9. Available from: <https://doi.org/10.1093/molbev/msz312>
17. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol.* 2021;38(7):3022-7. Available from: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
18. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 2011;28(10):2731-9. Available from: <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
19. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994;22(22):4673-80. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
20. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 1987;4(4):406-25. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
21. Sitnikova T, Rzhetsky A, Nei M. Interior-branch and bootstrap tests of phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 1995;12(2):319-33. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040205>
22. Felsenstein J. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution.* 1985;39(4):783-91. Available from: <https://doi.org/10.2307/2408678> .
23. Nei M, Kumar S. *Molecular Evolution and Phylogenetics.* 2000. Oxford University Press, New York.
24. Bailey TL, Elkan C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. *Proc Int Conf Intell Syst Mol Biol.* 1994;2:28-36.
25. Ma J, He Y, Wu C, Liu H, Hu Z, Sun G. Cloning and Molecular Characterization of a SERK Gene Transcriptionally Induced During Somatic Embryogenesis in *Ananas comosus* cv. Shenwan. *Plant Mol Biol Rep.* 2012;30:195-203. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11105-011-0330-5>
26. Lacerda GA. Obtenção e caracterização de calos e plântulas a partir de embriões zigóticos imaturos de *Coffea arabica* L. e análise in silico do gene SERK. Orientador: Luciano Vilela Paiva. 2008. 150 p. Tese (Doutor em Fisiologia Vegetal) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008. Available from: http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/6643/Tese_Guilherme%20Araujo%20Lacerda.pdf?sequence=1&isAllowed=y
27. Ahmadi B, Masoomi-Aladizgeh F, Shariatpanahi ME, Azadi P, Keshavarz-Alizadeh M. Molecular characterization and expression analysis of SERK1 and SERK2 in *Brassica napus* L.:

- implication for microspore embryogenesis and plant regeneration. *Plant Cell Rep.* 2016;35(1):185-93. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1878-6>
28. Santos MO, Araújo FJ. Role of SERK genes in plant environmental response. *Plant Signal Behav.* 2009;4(12):1111-3. Available from: <https://doi.org/10.4161/psb.4.12.9900>
29. Lewis MW, Leslie ME, Fulcher EH, Darnielle L, Healy PN, Youn JY, et al. The SERK1 receptor-like kinase regulates organ separation in *Arabidopsis* flowers. *Plant J.* 2010;62(5):817-28. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04194.x>
30. Hu H, Xiong L, Yang Y. Rice SERK1 gene positively regulates somatic embryogenesis of cultured cell and host defense response against fungal infection. *Planta.* 2005;222(1):107-17. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00425-005-1534-4>
31. Albrecht C, Russinova E, Hecht V, Baaijens E, de Vries S. The *Arabidopsis thaliana* SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASES1 and 2 Control Male Sporogenesis. *The Plant Cell.* 2005;17(12):3337-49. Available from: <https://doi.org/10.1105/tpc.105.036814>
32. Mulo P, Sakurai I, Aro EM. Strategies for psbA gene expression in cyanobacteria, green algae and higher plants: from transcription to PSII repair. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1817(1):247-57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.011>
33. Rögner M, Nixon PJ, Diner BA. Purification and characterization of photosystem I and photosystem II core complexes from wild-type and phycocyanin-deficient strains of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Journal of Biological Chemistry.* 1990;265(11):6189-96. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)39309-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)39309-3)