

XVIII

CIC

XI ENPOS  
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:  
por uma ciência do devir



## HOMOLOGIA DE GENES ENVOLVIDOS NA HOMESTASIA DE FERRO EM ESPÉCIES DE ARROZ DE GENOMA AA

**WOYANN, Leomar<sup>1</sup>; SILVEIRA, Solange Ferreira da Silveira<sup>1</sup>; BERVALD, Clauber Mateus Priebe.<sup>2</sup>; MAIA, Luciano C. da<sup>2</sup>; CRESTANI, Maraisa<sup>2</sup>; CARVALHO, Fernando Irajá Félix<sup>3</sup>; COSTA DE OLIVEIRA Antônio<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Bolsista de Iniciação Científica CGF – FAEM/UFPel; <sup>2</sup>Doutorando CGF – FAEM/UFPel; <sup>3</sup>Professores dept<sup>o</sup>. Fitotecnia – FAEM/UFPel  
solange.agro@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais de maior importância social e econômica para o mundo, ocupando anualmente uma área aproximada de 154 milhões de ha e produção de 618,5 milhões de toneladas (FAO, 2006), e servindo de alimento para dois terços da população mundial. A crescente demanda por este alimento remete ao melhoramento genético para o atendimento de mecanismos genéticos ligados à alta produtividade e qualidade de grãos, sendo imprescindível para isto à presença de variabilidade genética.

Este gênero compreende um extenso grupo formado atualmente por 21 espécies (LONDO *et al.*, 2006), sendo as espécies *Oryza sativa* subsp. *japonica* e *O. sativa* subsp. *indica* as mais cultivadas e estudadas. Vários trabalhos mostram a importância das espécies selvagens do gênero *Oryza*. As espécies são representadas geneticamente por 10 diferentes tipos de genomas, sendo os genomas AA, BB, CC, BBCC, CCDD, EE, FF, GG, JJHH e JJKK. As espécies que possuem o genoma AA são pertencentes ao pool gênico primário, apresentando maior facilidade de hibridações interespecíficas e conseqüente transferência de genes, sem mostrar esterilidade (REN *et al.*, 2003). Além disso, a espécie *O. sativa* spp *japonica* foi completamente seqüenciada e mapeada, e se constitui em um modelo genético para todos os cereais por possuir um genoma comparativamente pequeno (390 Mb) e apresentar elevada sintonia com outros genomas de cereais como aveia, trigo, milho, cevada e sorgo (KURATA *et al.*, 1994; BENNETZEN & FREELING, 1997; GALE & DEVOS, 1998).

O ferro tem como principal função ativar enzimas e transportadores de elétrons (TAIZ, 2004), participando em processos fundamentais como fotossíntese, respiração, fixação de nitrogênio, síntese de DNA e em grande parte das reações bioquímicas, tanto na produção como consumo de oxigênio. Entretanto, as plantas têm que manter a homeostasia de ferro, fornecendo as quantidades necessárias do micronutriente e ao mesmo tempo prevenindo condições de excesso do cátion interno (BRIAT & LOBRÉAUX, 1997, GRUZAK *et al.*, 1999).

Os mecanismos de tolerância a toxicidade de ferro são extremamente complexos e têm sido descritos em diversos estudos. A rede gênica responsável pelas respostas a toxicidade de ferro envolvem várias famílias gênicas, com número variável de membros. As principais famílias gênicas envolvidas na homeostasia de ferro em plantas são *Yellow Stripe Like* (YSL), *Natural Resistance Associated Macrophage Proteins* (NRAMP), *Nicotianamine Sintase* (NAS), *Iron Responsible Transporter* (IRT) e *Ferric Reductase Oxidase* (FRO) (CURIE *et al.*, 2003). O entendimento dos mecanismos de tolerância ao ferro em arroz poderá fornecer novas perspectivas para o problema, auxiliando no desenvolvimento de genótipos tolerantes nos programas de melhoramento de arroz.

As ferramentas de bioinformática e biologia molecular têm auxiliado significativamente na busca de respostas para o entendimento de determinados processos e funções biológicas. O alinhamento de seqüências é uma das ferramentas que pode ser utilizado para medir a distância evolutiva entre duas ou mais espécies, baseado na homologia das seqüências comparadas. A análise das seqüências do gene e o estudo de filogenia são importantes para compreender a história evolutiva de um gene, ajudar no desenvolvimento de primers para futuros estudos do gene e de sintenia entre espécies modelo como o arroz e monocotiledôneas.

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi verificar a existência de homólogos de genes envolvidos na homeostasia de ferro em espécies de arroz de genoma AA.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As seqüências dos genomas de cinco espécies do gênero *Oryza* foram obtidas do *GeneBank* do *National Center for Biotechnology Information* - NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). As frações genômicas das espécies *Oryza* baixadas e seus respectivos tamanhos entre parênteses foram *O. glaberrima* (41 Mbp), *O. nivara* (72 Mbp), *O. rufipogon* (96 Mbp), *O. sativa* spp. *indica* (339 Mbp), *O. sativa* spp. *japonica* (371 Mbp) utilizadas para verificar a existência de seqüências homólogas a genes envolvidos com a homeostasia de ferro em espécies de arroz de genoma AA. Os valores entre parênteses correspondem ao tamanho do banco de dados de cada espécie no momento do *download*.

As seqüências dos genes de ferro da espécie *O. sativa* spp. *japonica* foram utilizadas como base para realizar a busca dos homólogos. A busca foi realizada através do uso do programa Blast (ALTSCHUL *et al.*, 1990), considerando como seqüências homólogas aquelas com *e-value* menor que  $e^{-10}$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os tamanhos dos genomas seqüenciados e estimados (entre parênteses), famílias gênicas com o número de membros, e os resultados das seqüências homólogas encontradas com o número de *e-value* mais significativo, através da busca pelo Blast nas espécies *O. glaberrima*, *O. nivara*, *O. rufipogon*, *O. sativa* subsp. *indica*, *O. sativa* subsp. *japonica*.

Os resultados encontrados evidenciam a presença de seqüências homólogas aos genes envolvidos na homeostasia de ferro em *O. sativa* subsp. *japônica* a todos os membros das famílias gênicas nas demais espécies de arroz. Todas as

seqüências homólogas encontradas apresentaram valores de *e-value* significativos ( $<e^{-10}$ ), mostrando que os alinhamentos não foram aleatórios.

A espécie *O. sativa* subsp. *indica* apresentou a maior similaridade com *O. sativa* subsp. *japonica* entre as espécies estudadas, refletindo a tendência, já que acredita-se que estas duas espécies são as mais próximas evolutivamente por terem divergido de *O. rufipogon*. Os valores de *e-value* encontrados para as seqüências homólogas nas demais espécies foram significativos, comprovando desta forma, a verdadeira existência de homólogos aos genes envolvidos na homeostasia de ferro. Para o gene IRT foi encontrado apenas uma seqüência homóloga nas espécies *O. glaberrima*, *O. nivara*, *O. rufipogon*, fato que pode ser explicado por as mesmas não estarem ainda completamente seqüenciadas.

Estes resultados mostram claramente que estes homólogos são evolutivamente conservados entre as espécies, fato que já era esperado, devido à proximidade das espécies do gênero *Oryza*. Algumas das seqüências homólogas encontradas possivelmente poderão ser utilizadas como marcador e serem testadas nestas espécies. A presença do genoma AA e a maior facilidade de hibridações interespecíficas e conseqüente transferência de genes podem contribuir beneficemente para o melhoramento da espécie no desenvolvimento de genótipos tolerantes de arroz ao ferro. Além disso, a espécie *O. sativa* subsp. *japonica* foi completamente seqüenciada e mapeada, e se constitui em um modelo genético para todos os cereais por possuir um genoma comparativamente pequeno.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados mostraram a existência de homólogos evolutivamente conservados entre estas espécies. Algumas das seqüências homólogas encontradas possivelmente poderão ser utilizadas como marcador e serem testadas nestas espécies, podendo contribuir beneficemente para o melhoramento da espécie no desenvolvimento de genótipos de arroz tolerantes ao ferro.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W. & LIPMAN, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215, 403-410.
- BENNETZEN, J. L.; FREELING, M. The unified grasses genome: synergy and synteny. *Genome Res.*, v. 7, p.301-306, 1997.
- BRIAT, J. et al. Cellular and molecular aspects of iron metabolism in plants. *Biot Cell* 84, 69-81, 1995.
- BRIAT, J.; LOBRÉAUX, S. Iron transport and storage in plants. **Trends in Plant Science Reviews**, Vol.2, N<sup>o</sup>5, 1997.
- CURIE, C.; PANAVIENE, Z.; LOULERGUE, C.; DELLAPORTA, S.L.; BRIAT, J.F., WALKER, E.L. Maize yellow stripe 1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. **Nature**. 409, 46-349. 2003.
- FAO, **Food and Agriculture** Organization. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em agosto. 2006.
- GALE, M.D.; DEVOS, K.M. Plant comparative genetics after 10 years. **Science**, Washington, v.282, n.5389, p.656-659, 1998.
- GRUSAK, M.A., PEARSON, J.N., MARENTES E. The physiology of micronutrient homeostasis in field crops. **Field Crops Research** 60:41-56. 1999.

KURATA, N.; MOORE, G.; NAGAMURA, Y. et al. Conservation of genome structure between rice and wheat. **Biotechnology** v.12, p. 276-278, 1994.

LONDO, JP., CHIANG, Y., HUNG, K., CHIANG, T., SCHAAL, BA. Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA** 103, p. 9578–9583, 2006.

REN, F., LI, S., HUANG, J., ZHU, Y. A comparative study of genetic relationships among the AA-genome *Oryza* species using RAPD and SSR markers. **Theor Appl Genet**, v.108, p.113–120, 2003.

**Tabela 1.** Homólogos de genes envolvidos na homeostasia de ferro em espécies de arroz de genoma AA.

Espécies	MB*	Família gênicas (n° de membros)**				
		<i>OsNramp(8)</i>	<i>OsYsl(18)</i>	<i>Oslrt(2)</i>	<i>OsNas(5)</i>	<i>OSFro (2)</i>
<i>O. sativa</i> subsp. <i>japonica</i>	371	8 (0.0)	18 (0.0)	2 (0.0)	5 (0.0)	2 (0.0)
<i>O. sativa</i> subsp. <i>indica</i>	339	8 (e-100)	18 (0.0)	2 (0.0)	5 (0.0)	2 (0.0)
<i>O. rufipogon</i>	96 (439)	8 (7e-053)	16 (1e-012)	1 (0.0)	4 (4e-039)	2 (2e-045)
<i>O. glaberrima</i>	41 (357)	8 (1e-058)	13 (1e-102)	1 (0.0)	3 (e-153)	2 (2e-015)
<i>O. nivara</i>	72 (448)	8 (2e-038)	16 (3e-014)	1 (e-150)	4 (3e-029)	2 (0.0)

\*Tamanho do genoma seqüenciado e estimado (entre parênteses).

\*\*Famílias gênicas com o seu relativo número de membros de cada família.