



RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DE GENES DE AQUAPORINAS PRESENTES NO GENOMA DE ARROZ, MILHO E *ARABIDOPSIS*

DIAS, Letícia Winke¹; SILVEIRA, Carla Ferreira^{1,2}; VICTORIA, Filipe Carvalho^{1,2}; MAIA, Luciano Carlos da¹; CHAVES, Ana Lúcia Soares^{1,3}; OLIVEIRA, Antonio Costa de^{1,2}.

¹Centro de Genômica e Fitomelhoramento – FAEM/UFPel Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. leticiawinke@yahoo.com.br. ²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - UFPel. ³Departamento de Bioquímica – IQG/UFPel.

1. INTRODUÇÃO

A duplicação de genes em genomas de eucariotos leva a formação de famílias gênicas, com número e tamanho variáveis de membros que podem adquirir funções no espaço (diferentes tecidos, células ou organelas) e no tempo (diferentes estádios de desenvolvimento da planta). A homologia destas sequências permanece maior ou menor de acordo com a taxa de mutação e “erros” de *crossing-over* (Wagner, 2002).

As aquaporinas fazem parte de uma superfamília de proteínas integrais de membrana, chamada MIP (*major intrinsic proteins*), que está subdividida em quatro subfamílias: TIPs (*tonoplast intrinsic proteins*), abundantes na membrana vacuolar; PIPs (*plasma membrane intrinsic proteins*), abundantes em membranas plasmáticas; NIPs (*nodulin-26-like intrinsic proteins*), presentes em membranas de nódulos de fixação simbiótica de nitrogênio e SIPs (*small basic intrinsic proteins*), presentes na membrana do retículo endoplasmático (Luu & Maurel, 2005; Kaldenhoff & Fisher, 2006). Sua principal função é facilitar o transporte de água, atuando como reguladoras de estresses abióticos em plantas. Além disso, esses canais também podem ser utilizados para o transporte de glicerol, gás carbônico e uréia (Kaldenhoff & Fisher, 2006). A regulação das aquaporinas pode ocorrer em nível transcricional, por hormônios e estresses abióticos (frio, seca, salinidade e luz) ou pós-traducional, por fosforilação, glicosilação e proteólise (Johansson *et al.*, 2000).

O ramo principal da família *Poaceae* divergiu de um ancestral comum há cerca de 60 milhões de anos (Wilson, 1999), caracterizando estas famílias como uma das mais recentes entre as monocotiledôneas. Estudos de genômica comparativa demonstram que a sintonia e colinearidade encontrada entre os cereais é bem conservada assim espécies com importância regional e com baixo investimento em pesquisa podem ser beneficiadas através da estratégia de transferência de conhecimento (Bennetzen & Freeling, 1997; Varshney *et al.*, 2005). Com base nisso,

o objetivo deste trabalho foi verificar as relações filogenéticas entre genes pertencentes à superfamília de proteínas integrais de membranas envolvidas no transporte de água, em três espécies, baseado na homologia destas sequências.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Centro de Genômica e Fitomelhoramento – FAEM/UFPel, em julho de 2009. Os genes de aquaporinas de arroz (*Oryza sativa*), milho (*Zea mays*) e *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) foram obtidos do GenBank® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), sendo 33 de arroz (Sakurai *et al.*, 2005), 31 de milho (Chaumont, 2001) e 38 de *Arabidopsis* (Quigley *et al.*, 2001), utilizando-se somente as regiões codificantes (CDS) para o alinhamento e análises filogenéticas.

Inicialmente foi realizada a tradução das sequências de todas as subfamílias de aquaporinas e os aminoácidos resultantes foram alinhados a fim de verificar a similaridade das subfamílias entre as três espécies estudadas (Figura 1). Posteriormente foram realizados alinhamentos para cada uma das subfamílias separadamente, neste último utilizando a sequência de nucleotídeos, pois estas são consideradas mais informativas para estudos evolutivos. Os alinhamentos foram realizados com o auxílio do programa Clustal-X (MacOSX) e para a inferência de informação filogenética utilizou-se o programa MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007). Foi utilizado *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei, 1987) como método de agrupamento, com *Bootstrap* de 1000 repetições para a construção dos cladogramas (Felsenstein, 1985).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação aos alinhamentos de todas as subfamílias de aquaporinas em arroz, milho e *Arabidopsis*, foi observado um padrão de agrupamento das subfamílias gênicas entre as espécies (Figura 1). Este dado indica uma relação entre a estrutura e a região funcional desses genes, sugerindo que ocorra uma relação funcional entre sequências ortólogas (divergência devido à especiação) nas espécies avaliadas.

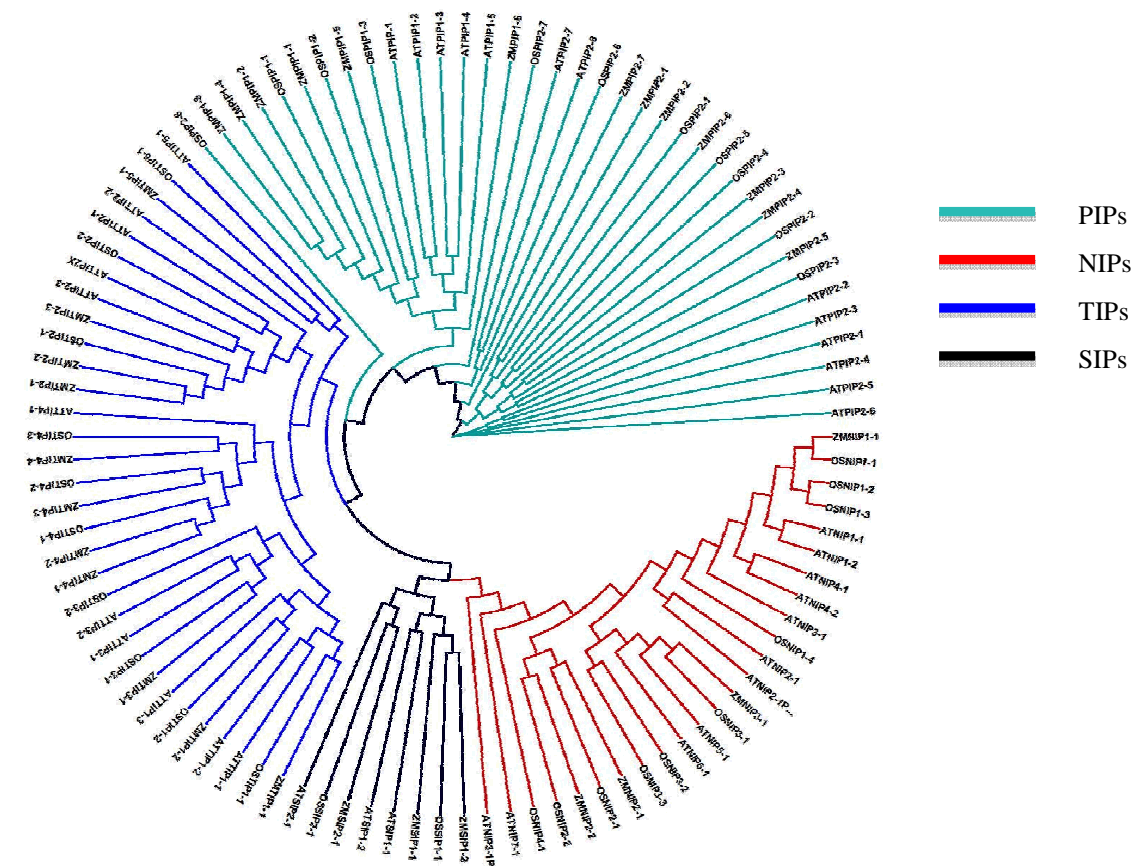


Figura 1. Cladograma da relação entre os genes da família de Aquaporinas de *Oryza sativa*, *Arabidopsis thaliana* e *Zea mays*.

Pode-se observar nos cladogramas que as subfamílias NIP e PIP formaram agrupamentos distintos para monocotiledôneas e dicotiledôneas (Figura 2), comprovando a existência de sinal filogenético entre esses genes, sugerindo que ambas as subfamílias derivam de um mesmo ancestral. Já para as subfamílias TIP e SIP o mesmo não foi evidenciado, pois alguns genes de *Arabidopsis* formaram ramos em conjunto com os homólogos de gramíneas. Isso poderia ser explicado pela ocorrência de duplicações recentes, porém dados de outras espécies relacionadas a estas estudadas teriam que ser incluídos nesta análise para a confirmação desta hipótese.

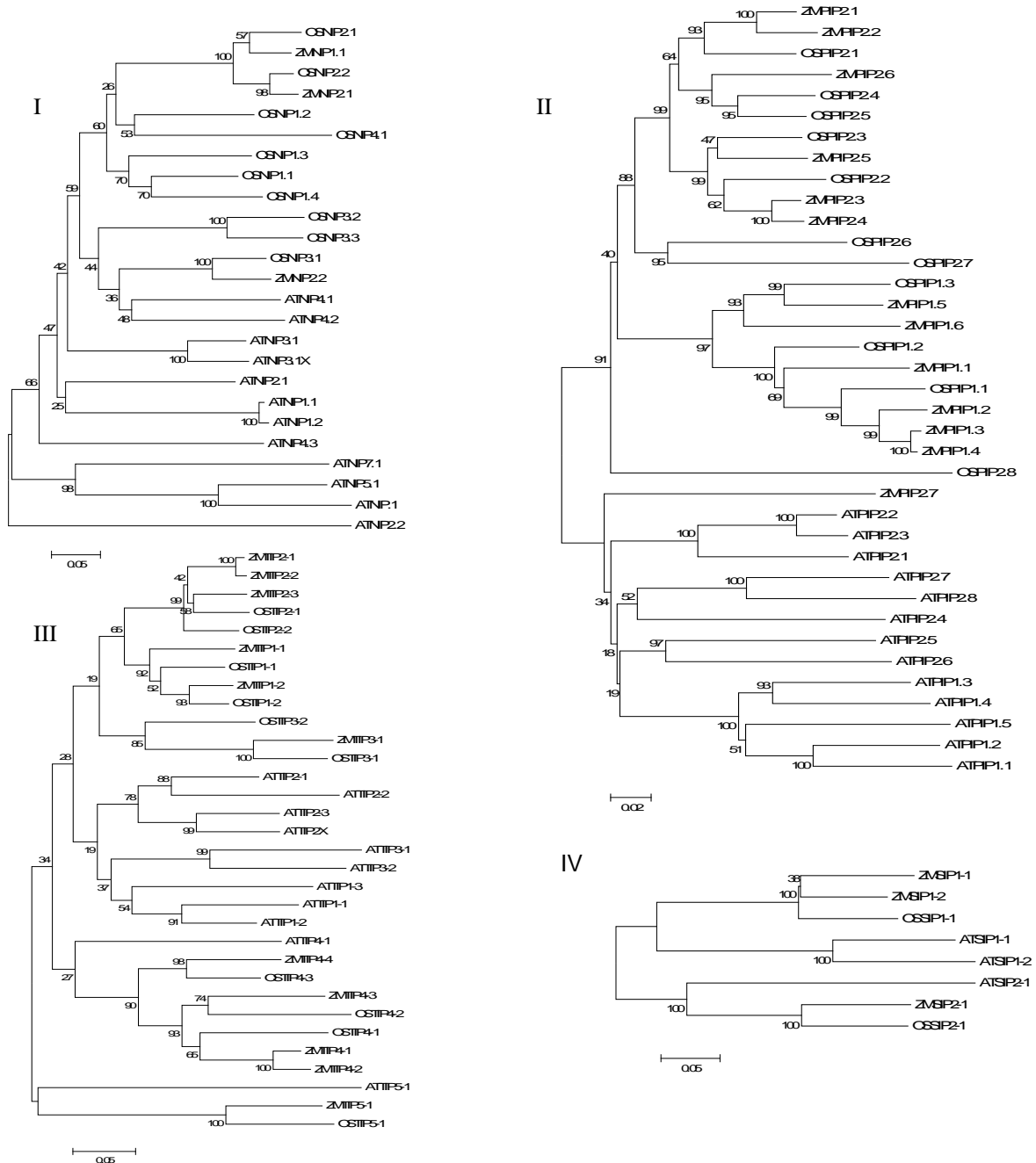


Figura 2. Relações evolutivas entre as subfamílias gênicas de Aquaporinas em *Oryza sativa* (OS), *Arabidopsis thaliana* (AT) *Zea mays* (ZM). I. Subfamília NIP. II. Subfamília PIP. III. Subfamília TIP. IV. Subfamília SIP.

4. CONCLUSÕES

As análises das subfamílias gênicas de aquaporinas possibilitaram inferir acerca das relações de parentesco destes genes em *Arabidopsis*, *Oryza sativa* e *Zea mays*. Foi constatada a monofilia das subfamílias NIP e PIP em gramíneas, indicando estes genes como candidatos à transferência de informação para espécies órfãs, como trigo e aveia. Para as subfamílias TIP e SIP são necessários acréscimos de dados moleculares, principalmente a inclusão de sequências de espécies próximas a estes táxons para elucidar as relações evolutivas entre estes genes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENNETZEN, L. J.; FREELING, M. The Unified Grass Genome: Synergy in Synteny. **Genome Research**, 1997, v.7, p.301-306.
- CHAUMONT, F.; BARRIEU, F.; WOJCIK, E.; CHRISPEELS, M. J.; JUNG, R. Aquaporins Constitute a Large and Highly Divergent Protein Family in Maize. **Plant Physiology**, 2001, v. 125, p. 1206–1215.
- FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, 1985, v. 39, p. 783-791.
- JOHANSSON, I.; KARLSSON, M.; JOHANSON, U.; LARSSON, C.; KJELLBOM, P. The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. **Biochim Biophys Acta**, 2000, v.1465, p.324-342.
- KALDENHOFF, R.; FISCHER, M. Aquaporins in plants. **Acta Physiologica**, 2006, v. 187, p. 169-176.
- LUU, D. T.; MAUREL, C. Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. **Plant, Cell & Environment**, 2005, v. 28, p. 85-96.
- QUIGLEY, F.; ROSENBERG, J. M.; SHACHAR-HILL, Y.; BOHNERT, H. J. From genome to function: the *Arabidopsis* aquaporins. **Genome Biology**, 2001, v. 3, n 1, p. 1-17.
- SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, 1987, v. 4, p. 406-425.
- SAKURAI, J.; FUMIYOSHI, I.; TOMOYA, Y.; MATSUO, U.; MASAYOSHI, M. Identification of 33 Rice Aquaporin Genes and Analysis of Their Expression and Function. **Plant Cell Physiology**, 2005, v. 46, p. 1568-1577.
- TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, 2007, v. 24, p. 1596-1599.
- VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genomics-assisted breeding for crop improvement. **Trends in Plant Science**, v.10, p. 621-630, 2005.
- WAGNER, A. Selection and gene duplication: a view from the genome. **Genome Biology**, 2002, v. 3, p. 1012.1-1012.3.

WILSON, A. W.; HARRINGTON, S. H.; WOODMAN, W. L.; LEE, M.; SORRELLS, M. E.; MCCOUCH, S. R. Inferences on the Genome Structure of Progenitor Maize Through Comparative Analysis of Rice, Maize and the Domesticated Panicoids. **Genetics**, 1999, v. 153, p. 453–473.