

IDENTIFICAÇÃO E FILOGENIA DE PUTATIVOS HOMÓLOGOS DE WRKY1 EM AVEIA E OUTRAS GRAMÍNEAS

NATÃ DIENES MACHADO¹, RAILSON SCHREINERT DOS SANTOS², HELAINE CLAIRE FERREIRA ALMEIDA³, DAIANA DÖRING WOLTER⁴, LUCIANO CARLOS DA MAIA⁵, ANTONIO COSTA DE OLIVEIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas _ natamachado@live.com

²Universidade Federal de Pelotas _ rschsan@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas _ helaine.nane@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas _ daianawolter@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas _ lucianoc.maia@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas _ acostol@cgfufpel.org

1. INTRODUÇÃO

Os genes WRKY são uma família de reguladores transcricionais identificados primeiramente em plantas (ISHIGURO e NAKAMURA, 1994; RUSHTON, et al., 1995). O nome da família deriva da presença de um domínio (WRKY) de cerca de 60 aminoácidos.

Os genes WRKY parecem estar envolvidos em diversos programas fisiológicos em plantas, incluindo respostas a estresses bióticos e abióticos, bem como os processos de desenvolvimento (DONG et al., 2003). Estudos indicam que os genes WRKY desempenham papel importante na cascata de sinalização da chamada “imunidade inata” em *Arabidopsis*, bem como em outras espécies de plantas (LI et al., 2004). O genoma de *Arabidopsis* apresenta mais de 70 membros desta família, os quais podem ser divididos em três grupos (EULGEM et al., 2000).

Maiores análises filogenéticas dos genes WRKY podem servir como um guia útil para estudar as suas funções nas plantas (WEN et al., 2014) e por este motivo buscou-se aqui identificar o gene mais similar a WRKY1 de *arabidopsis* em aveia. Este gene de aveia, chamado genericamente de *As_WRKY1* foi usado para busca de outros WRKY1 genéricos em outros genomas da família *poaceae* para análise filogenética. Esta abordagem é utilizada aqui como uma forma para tentar entender sua evolução e de que forma estas variações poderiam contribuir para a continuidade dos estudos desta família e esclarecimento do seu papel na regulação fisiológica da aveia e das demais espécies em estudo.

2. METODOLOGIA

Identificação de putativos homólogos: Utilizou-se o gene genericamente chamado de *As_WRKY1* de aveia (AAD32677.1) para identificação do domínio WRKY pelo Pfam. Realizou-se então BLASTp (ALTSCHUL et al., 1990) utilizando o domínio do *As_WRKY1* para identificação de putativos homólogos nos genomas de arroz, milho, trigo, e *Physcomitrella patens*. Foram selecionados os *hits* de menor *e-value*, os quais estão disponíveis na tabela 1 e foram utilizados na análise

Alinhamento: O alinhamento das sequências foi feito através da utilização do ClustalW2 (LARKIN et al., 2007), utilizando-se a matriz PAM.

Construção da árvore filogenética: Os resultados dos alinhamentos foram inseridos no programa MEGA 5.2 (TAMURA et al., 2011) para filogenia pelo método *Neighbor-Joining* (NJ). O WRKY1 de *Physcomitrella patens*, uma briófito

comumente utilizada em estudos de evolução molecular, serviu como raiz da árvore para fins de direcionamento do processo evolutivo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da identificação dos mais prováveis homólogos está apresentado na tabela 1. O alinhamento global das sequências obtidas nestes diferentes genomas é apresentado na figura 1, onde é possível se visualizar uma grande diferença de tamanho entre as proteínas analisadas, sendo que a conservação se resume ao local de alinhamento dos domínios, onde a existência de *gaps* é menor e as substituições de aminoácidos conservam suas propriedades químicas. As duas regiões de maior conservação dentro das proteínas estão destacadas por quadros vermelhos.

A árvore filogenética obtida a partir da comparação das proteínas completas é exibida na figura 2, onde se pode ver um agrupamento mais próximo entre as proteínas de trigo e milho enquanto as o WRKY1 de aveia se agrupa com o de arroz.

4. CONCLUSÕES¹

Existe grande divergência entre os putativos homólogos de WRKY1 nos diferentes genomas analisados, uma evidência de que estas sequências devem estar em processo de neofuncionalização.

Maiores estudos envolvendo transformação genética de espécies modelo como *Arabidopsis* e arroz com a sequência de WRKY1 de aveia podem contribuir para o entendimento da sua função.

Análises filogenéticas utilizando também outras dicotiledôneas podem colaborar no entendimento da ação evolutiva que ocorre nestes genes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTSCHUL, SF et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v.215, p.403-410, 1990.

DONG, J. et al. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response, **Plant Molecular Biology**, v.51, p.21–37, 2003.

EULGEM, T. et al., The WRKY superfamily of plant transcription factors, **Trends Plant Science**, v.5, p.199–206, 2000.

ISHIGURO, S.; NAKAMURA, K. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and β -amylase from sweet potato, **Molecular Genetics and Genomics**, v.244, p.563–571, 1994.

LARKIN, M.A., et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v.23, n.21, p.2947-2948, 2007.

Li, J. et al. 2004, The WRKY70 transcription factor: A node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense, **Plant Cell**, v.16, p.319–331.

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

¹ **Agradecimentos:** À Capes, CNPq e Fapergs pelo suporte financeiro na realização do trabalho.

TAMURA, K, et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, v.28, p.2731-2739, 2011.

WEN F. et al. Genome-Wide Evolutionary Characterization and Expression Analyses of WRKY Family Genes in *Brachypodium distachyon*. **DNA Research**, p.1-13, 2014.

Tabela 1. Genes similares a WRKY1 de aveia identificados em diferentes espécies.

Espécie	Acesso	Nome Genérico
<i>Avena sativa</i>	AAD32677.1	As_WRKY1
<i>Physcomitrella patens</i>	XP_001759057.1	Pp_WRKY1
<i>Oryza sativa</i>	EEE64074.1	Os_WRKY1
<i>Zea mays</i>	NP_001147820.1	Zm_WRKY1
<i>Triticum aestivum</i>	ACD80363.1	Ta_WRKY1



Figura 1. Alinhamento dos fatores de transcrição similares a WRKY1 identificados em arroz, trigo, milho e *Physcomitrella patens*.

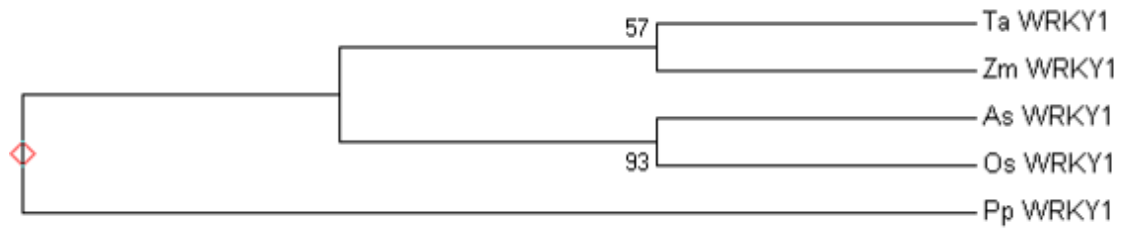


Figura 2. Árvore filogenética dos fatores de transcrição similares a WRKY1 identificados em arroz, trigo, milho e *Physcomitrella patens*. Números exibidos nos nós são valores de *bootstrap*.