

IMPORTÂNCIA DA BIOINFORMÁTICA: IDENTIFICAÇÃO DA FAMÍLIA DE GENES DA GLUTATIONA PEROXIDASE EM PHASEOLUS VULGARIS L.

Wuesly de Melo Rufino da Silva¹, Luís Gustavo Gomes Lobo², Jardel de Oliveira² e Tiago Benedito dos Santos²

¹Graduação em Agronomia, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: wuesleyrufino18@gmail.com/dossantos@unoeste.br

PROBLEMÁTICA

As plantas estão sujeitas a uma variedade de estresses abióticos, tais como, estresse hídrico, salinidade, temperaturas extremas e radiação ultravioleta, que podem afetar negativamente seu crescimento, desenvolvimento e produtividade. Para sobreviver a essas condições adversas, as plantas têm desenvolvido mecanismos de defesa e resposta complexos. A família de genes da glutaciona peroxidase desempenha um papel crítico na proteção das células vegetais contra danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs). Essas enzimas do sistema antioxidantes estão envolvidas na redução de peróxidos, como o peróxido de hidrogênio, utilizando a glutaciona como cofator. Além disso, as glutaciona peroxidases estão envolvidas na regulação do estresse oxidativo e desempenham um papel fundamental na resposta adaptativa das plantas a diferentes estresses bióticos e abióticos. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi caracterizar *in silico* os genes *GPXs* no genoma de *Phaseolus vulgaris* L. utilizando abordagens que envolve a bioinformática.

CONHECIMENTO PRÉVIO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à família das leguminosas (Fabaceae). Essa família é uma das maiores e mais importantes do reino vegetal, abrangendo uma ampla variedade de espécies vegetais com características semelhantes (SÁNCHEZ-MONGE *et al.*, 2019). As glutacionas peroxidases vegetais (GPX; EC 1.11.1.9) são as principais enzimas do sistema de defesa antioxidante que sustentam a homeostase do H₂O₂ e normalizam a reação das plantas às condições de estresse abiótico. Essas enzimas são amplamente distribuídas em organismos vivos, incluindo plantas, animais e microrganismos, e estão envolvidas na neutralização de peróxidos orgânicos e outras EROs, contribuindo para a manutenção do equilíbrio redox celular (PASSAIA *et al.*, 2019). As GPXs das plantas contêm cisteína (Cys) em seus locais de funcionamento, enquanto geralmente as GPXs dos mamíferos contêm resíduos de selenocisteína (SeCys) como substitutos da Cys (BELA *et al.*, 2015; ISLAM *et al.*, 2015). No passado recente, várias investigações mostraram que o aumento/regulação da atividade/expressão da enzima GPX e dos genes *GPX* ajudam as plantas a lidar com vários estresses ambientais. Por exemplo, o aumento da atividade GPX ajuda diferentes plantas a melhorar a tolerância ao estresse oxidativo em mudas de pepino (*Cucumis sativus* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.) (NARESHKUMAR *et al.*, 2020); estresse hídrico em trigo (*Triticum aestivum* L.) (POUR-ABOUGHADAREH *et al.*, 2020); estresse de salinidade induzido por ácido salicílico em tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (SREELAKSHMY *et al.*, 2021). Até onde sabemos, a família de genes *GPX* não foi

documentada no feijoeiro. Portanto, pela primeira vez, no presente estudo executamos uma análise de todo o genoma para documentar os genes *GPX* de *Phaseolus vulgaris* L.

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Com base em buscas feitas na ferramenta *BlastP* contra o genoma do feijoeiro (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Pvulgaris_v2_1) empregando as oito proteínas *Arabidopsis thaliana* (*AtGPXs*) como busca, obtivemos um total de sete genes *GPX* e presumidos foram reconhecidos no genoma completo de *P. vulgaris* L. (Tabela 1). Doravante, esses genes foram denominados “*PvGPX1-PvGPX7*” (Tabela 1). A figura 1 mostra resumidamente todos os *sites* utilizados no presente estudo.



Figura 1. Softwares utilizados para obtenção de resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comprimento dos genes variou de 504 pb (*PvGPX2*) a 786 pb (*PvGPX1*) com 6 éxons em as sequências (Figura 1). O comprimento do CDS variou de 789 pb (*PvGPX1*) a 693 pb (*PvGPX4*), enquanto o comprimento da proteína variou de 168 (*PvGPX2*) a 262 (*PvGPX1*) aminoácidos (aa)^a (Tabela 1). Os pesos moleculares (kDa)^b previstos dos 7 genes *PvGPX* variaram de 18.83 kDa (*PvGPX2*) a 29.73 kDa (*PvGPX1*) e os pontos isoelétricos (pI)^c variaram de 4.97 (*PvGPX3*) a 9.68 (*PvGPX1*) (Tabela 1). Os resultados da localização subcelular anteciparam que 5 proteínas *PvGPX* estão localizadas no cloroplasto, 6 proteínas estão localizadas na mitocôndria e 1 proteína está localizada no núcleo (Tabela 1). Os índices *GRAVY*^d negativos de todas as proteínas testadas demonstraram sua baixa afinidade com a água.

Tabela 1. Informações dos sete genes *PvGPX* descobertos no genoma de *P. vulgaris* L.

Gene	Sequência ID	Localização cromossômica	(aa) ^a	kDa ^b	pI ^c	GRAVY ^d	Localização subcelular ^e	Homólogo - <i>A. thaliana</i> ^f
<i>PvGPX1</i>	Phvul.001G041100.1	Chr01:4301661..4307479	262	29.73	9.68	-0.340	Cloroplasto/Mitocôndria	AT2G25080.1
<i>PvGPX2</i>	Phvul.001G149000.1	Chr01:39601912..39604892	168	18.83	9.31	-0.440	Cloroplasto/Mitocôndria	AT2G48150.1
<i>PvGPX3</i>	Phvul.002G157200.1	Chr02:31176242..31182277	170	19.09	4.97	-0.315	Cloroplasto/Mitocôndria	AT1G63460.1
<i>PvGPX4</i>	Phvul.002G288700.1	Chr02:45758208..45760420	230	25.61	8.76	-0.256	Mitocôndria	AT4G11600.1
<i>PvGPX5</i>	Phvul.002G288800.1	Chr02:45763463..45765453	170	19.35	5.90	-0.399	Cloroplasto/Mitocôndria	AT1G63460.1
<i>PvGPX6</i>	Phvul.002G322400.1	Chr02:48735635..48738584	198	22.54	5.94	-0.169	Cloroplasto/Mitocôndria	AT2G43350.2
<i>PvGPX7</i>	Phvul.007G169601.1	Chr07:28622157..28625199	170	19.12	9.28	-0.456	Núcleo	AT2G48150.1

Ao investigar as estruturas éxon/intron dos genes *PvGPXs* no feijoeiro, é possível compreender a organização desses genes em termos das sequências codificantes e não codificantes (Figura 2). Isso fornece informações valiosas sobre a estrutura genômica do feijoeiro e a expressão desses genes, contribuindo para a compreensão de sua função e regulação no contexto da resposta antioxidante e de estresse oxidativo no feijoeiro.

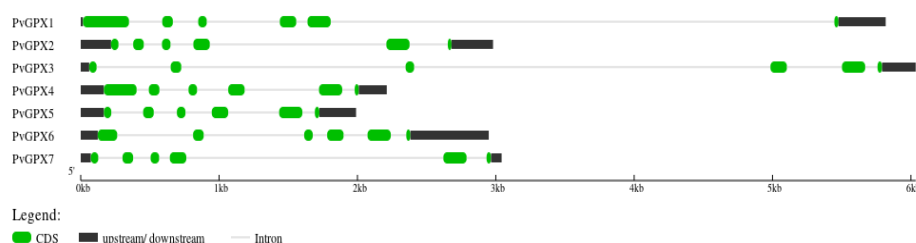


Figura 2. Estrutura gênica dos genes *PvGPX* do feijoeiro. As barras verdes representam a sequência de codificação (CDS), as linhas representam o íntron e as barras pretas representam a região não traduzida (UTR).

A presença de um homólogo de cada proteína *PvGPX* em *A. thaliana* sugere uma possível conservação evolutiva desses genes entre as duas espécies. A similaridade entre os genes *GPX* do feijão e de *A. thaliana*, por exemplo, pode indicar funções semelhantes dessas proteínas na resposta antioxidante e proteção celular contra danos oxidativos (Figura 3).

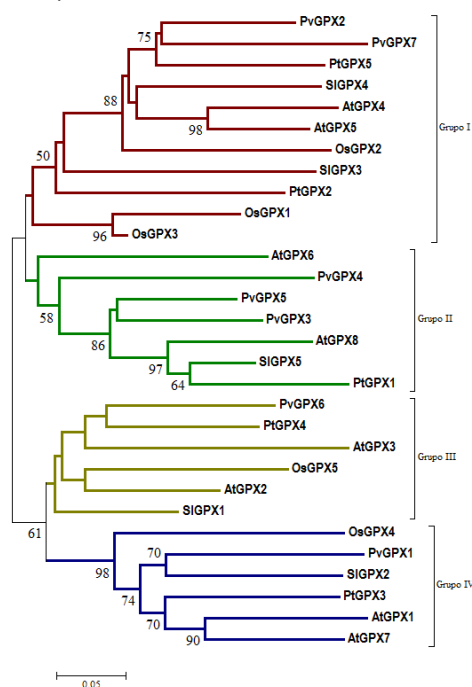


Figura 3. Análise filogenética das proteínas *PvGPX* do feijoeiro e demais organismos vegetais: *A. thaliana* (At) *Solanum lycopersicon* (Sl), *Populus trichocarpa* (Pt) e *Oriza sativa* (Os). As sequências foram alinhadas usando a função ClustalW de MEGA7.0, e a árvore filogenética foi construída usando o método *Neighbor-Joining* (NJ) com análise *bootstrap* (1000 réplicas).

Na figura 4, podemos observar o mapeamento cromossômico dos genes *PvGPXs*, ou seja, refere-se à localização dos genes dessa família específica no genoma do feijão nos diferentes cromossomos.

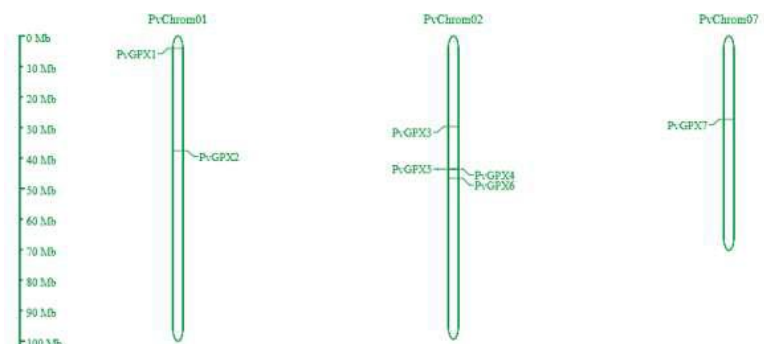


Figura 4. Distribuição cromossômica dos genes *PvGPX* do feijoeiro.

Como resultados, as proteínas *PvGPX* foram identificados a presença de três motivos altamente conservados. Os genes *PvGPXs* mostraram expressão diferencial *in silico* em diversos tecidos e órgãos (vagem jovem, caule 10, caule 19, botão floral, flor, raiz 10, nódulos, raiz 19, vagem verde madura, folha e trifólio jovem), a partir dos dados de RNAseq, indicando que esses genes desempenham papéis específicos durante o desenvolvimento do feijoeiro (Figura 5).

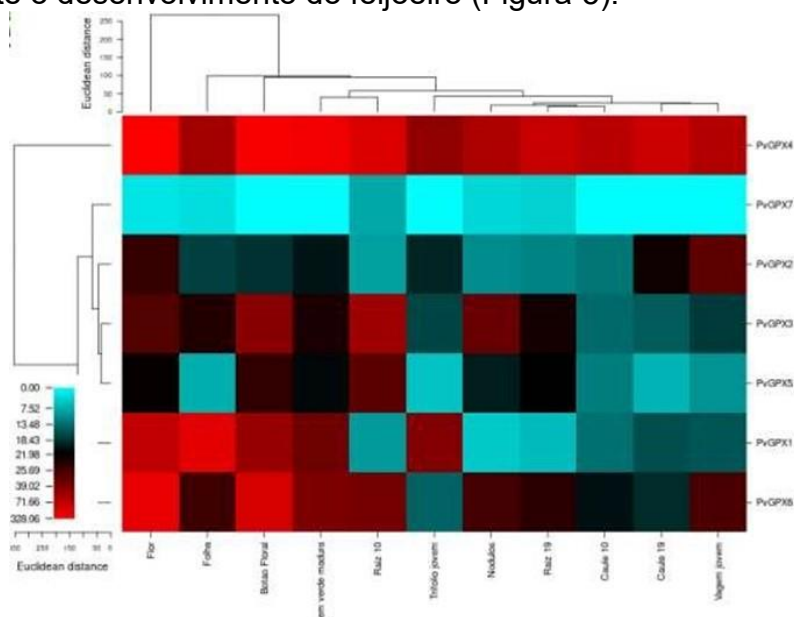


Figura 5. Perfis de expressão dos genes *PvGPX* em vários tecidos em diferentes estágios de crescimento do feijoeiro.

APLICAÇÃO PRÁTICA

Este estudo identificou pela primeira vez sete genes *PvGPX* de feijão-comum, distribuídos em três cromossomos e contendo o domínio específico da *GPX*. A análise da árvore filogenética mostrou que os sete genes *PvGPX* estavam intimamente relacionados à família de proteínas *AtGPX* de *A. thaliana* (planta modelo). Essas

descobertas abrem caminho para pesquisas futuras sobre os genes *PvGPXs* no feijoeiro. Estudos funcionais adicionais podem ser realizados para investigar as funções específicas desses genes e como eles contribuem para a resposta do feijoeiro a estresses bióticos e abióticos.

AGRADECIMENTOS

Em especial a Unoeste (Universidade do Oeste Paulista-Unoeste), que propicia e enfatiza a busca pela pesquisa e extensão, visando garantir a sustentabilidade da sociedade.

LITERATURA CITADA

ALTSCHUL, S. F. *et al.* (1997). Gapped BLASTb and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, 25: 3389–3402.

BELA, K. *et al.* (2015). Plant glutathione peroxidases: Emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. *J. Plant Physiol.* 176, 192–201.

ISLAM, T. *et al.* (2015). Glutathione peroxidase of *Pennisetum glaucum* (*PgGPx*) is a functional Cd²⁺ dependent peroxiredoxin that enhances tolerance against salinity and drought stress. **PLoS ONE**. 10, e0143344.

MITTLER, R. *et al.* (2017). ROS are good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 2, p. 11-19.

MOREIRA, A.L.N. *et al.* (2018). Anatomia do lenho e características fisiológicas de progênies de meios-irmãos de feijoeiro. **Coffe Science**, v. 13, n. 2, p. 168-180.

NARESHKUMAR, A. *et al.* (2020). Enzymatic and non-enzymatic detoxification of reactive carbonyl compounds improves the oxidative stress tolerance in cucumber, tobacco and rice seedlings. *J. Plant Growth Regul.* 39, 1359–1372.

OLIVEIRA, G.H. *et al.* (2019). Differential expression. Of glutathione peroxidase genes in maize (*Zea mays* L.) under paraquat-induced oxidative stress. **Genetics and Molecular Biology**, v. 42, n. 3, p. 678-684.

PASSAIA, G. *et al.* (2019). Glutathione peroxidases as redox sensor proteins in plant cells. **Plant Science**, v. 283, p. 449-445.

POUR-ABOUGHADAREH, *et al.* (2020). Wild relatives of wheat respond well to water deficit stress: A comparative study of antioxidant enzyme activities and their encoding gene expression. **Agriculture**. 10, 415.

SREELAKSHMY, V *et al.* (2021). Salicylic acid pre-treatment induced physiological and biochemical changes in *Solanum lycopersicum* L. under salinity stress. **Not. Sci. Biol.** 13, 10917.