

ALMT1, GENE DE TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM TRIGO: ESTUDO *IN SILICO* DEMONSTRANDO A EXISTÊNCIA DE UM POSSÍVEL HOMÓLOGO NO GENOMA DO ARROZ

Luciano Carlos da Maia⁽¹⁾, Denise Colares⁽¹⁾, Maurício Marini Kopp⁽¹⁾, Juliana Severo Castelo Branco⁽¹⁾, Renata Juliana Ahlert⁽¹⁾, Emília Malone⁽¹⁾, Irineu Hartwig⁽¹⁾, Livia Scheunemann dos Santos⁽¹⁾, Fernando Irajá Félix de Carvalho⁽¹⁾, Antônio Costa de Oliveira⁽¹⁾. ¹Centro de Genômica e Fitomelhoramento – FAEM/UFPel, Campus Universitário, s/nº · Caixa Postal 354, 96010-900, Pelotas, RS - lmaia.faem@ufpel.edu.br

A acidez do solo é um fator limitante para a produção agrícola em regiões do Brasil e do mundo. O alumínio tóxico (Al^{3+}) solubilizado, inibe o crescimento das raízes e nessa condição, conseqüentemente, limita a captação de água e nutrientes. Com a expansão do cultivo de arroz de sequeiro em regiões de Cerrado, onde geralmente o Al^{3+} está presente, torna-se necessário para o melhoramento genético, a identificação e a caracterização de genótipos em portadores de genes. Recentemente, SASAKI et al. (2004) estudando duas linhas isogênicas de trigo (uma tolerante e outra sensível ao Al^{3+}), a partir da hibridação subtrativa de mRNA de raiz, verificaram que um fragmento mRNA foi super-expresso nas plantas tolerantes, tendo descrito o gene correspondente como *ALMT1* (*Aluminum activated Malate Transporter*). Posteriormente, YAMAGUCHI et al. (2005) evidenciou que este gene codifica para uma proteína de membrana associada a maiores níveis de exudação de malato nas raízes, resultando na maior tolerância dessas plantas ao Al^{3+} . Ainda, KOPP et al. (2006) descreveram sucintamente a ocorrência de uma região homóloga aquela encontrada em trigo no cromossomo 4 do genoma do arroz (*Oryza sativa* ssp *japonica* vc *NiponBare*), descrita naquele momento como possível gene (*putative gene*), segundo a anotação do Consórcio Genoma do Arroz (IRGSP, 2005), porém, com função desconhecida.

O presente trabalho teve como objetivo analisar a estrutura da região homóloga ao *ALMT1* em arroz, revisar os dados da anotação gênica para esse loco e descrever a possibilidade do uso deste como marcador molecular para estudos de tolerância ao alumínio na espécie. A busca por homologias no genoma do arroz foi realizada a partir da seqüência do mRNA de *ALMT1* isolado de trigo (NCBI, ID: gjl42415258). Para encontrar o alinhamento da seqüência deste mRNA contra o genoma do arroz, foi utilizado o programa *BLASTN* (ALTSCHEL et al., 1990). Posteriormente, o trecho do genoma do arroz contendo as regiões similares, foram analisadas utilizando os programas *ClustalW* (THOMPSON et al., 1994) para alinhamento global das seqüências e *VectorNTI* para apresentação gráfica dos resultados.

O resultado do programa *BLASTN*, a partir do mRNA-*ALMT1*, contendo 1.380 pb, evidenciou a ocorrência de homologias em posições dos cromossomos 2, 4 e 6, entretanto, as homologias encontradas para os cromossomos 2 e 6 não foram significativas, pois, abrangeram pequenos blocos formados por 46 e 41 nucleotídeos, respectivamente, conforme mostrado na Tabela 1. Para o cromossomo 4, os níveis de homologia foram significativos, sendo que, o alinhamento do mRNA-*ALMT1* foi dividido em sete sub-blocos (Figura 1) de homologias significativas conforme os índices *E-value* mostrados na Tabela 1. A soma dos nucleotídeos contidos nos sub-blocos homólogos, totalizaram 839 pb, o que representa 60,7% do tamanho do fragmento do mRNA-*ALMT1*. O trecho do DNA contendo os seis primeiros sub-blocos foram alinhados na região descrita por KOPP et al., (2006), como gene *Os04g0417000*, similar ao domínio IPR006214 (*Aluminum-activated malate transporter*), entretanto, com função ainda não comprovada de forma experimental. O sétimo sub-bloco alinhou numa distância de 7mb (*downstream*) num *exon* pertencente ao gene *Os04g0567200* (domínio UPF0005, *Uncharacterised protein family*) (Figura 1). Na Figura 2, é confirmada a homologia entre a seqüência completa contendo 3.964 pb do gene *ALMT1* de trigo sobre o trecho do cromossomo 4 contendo o gene *Os04g0417000*. A

disposição dos seis sub-blocos do mRNA-*ALMT1* alinhados sobre o gene Os04g0417000, é mostrada na Figura 3. Para verificar a consistência entre os transcritos de arroz identificados para o gene e os *hits* homólogos (oriundos do mRNA-*ALMT1*), foi procedido o alinhamento da seqüência contendo o gene Os04g0417000 (arroz), seus transcritos e os trechos do mRNA-*ALMT1* de trigo, conforme elucidado na Figura 4. O resultado desse procedimento mostrou que uma inversão no sentido de transcrição do quinto transcrito (TC5) do gene do arroz é homólogo ao sétimo *hit*, sub-bloco oriundo do RNA de trigo, conforme Figura 4.

O resultado do estudo *in silico* indica que, se for expresso, o gene Os04g0417000 resulte num RNA com aproximadamente 60% de homologia ao RNA de trigo, que codifica para a proteína de membrana envolvida na tolerância ao alumínio naquela espécie. Entretanto, experimentos de expressão gênica serão necessários para verificar se no arroz o produto deste gene mantém funções relacionadas à tolerância ao Al³⁺.

Tabela 1. Resultado do alinhamento local (BLASTN) entre o mRNA-*ALMT1* de trigo contra o banco de dados do genoma do arroz. CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

Seqüência	Cromossomo	E-value	Fragmento	Identidade
Ref NC_008395.1 <i>Oryza sativa</i>	2	2e ⁰⁵	46	88
Ref NC_008399.1 <i>Oryza sativa</i>	6	8e ⁰⁸	41	93
Ref NC_008397.1 <i>Oryza sativa</i>	4	1e ⁻¹⁹	140	84
		3e ⁻¹⁰	52	92
		3e ⁻⁷⁵	257	89
		1e ⁻¹²	80	87
		3e ⁻⁴¹	180	87
		5e ⁻⁰⁶	57	87
		1e ⁻⁰⁶	130	80



Figura 1. Resultado gráfico do alinhamento local (BLASTN) entre o mRNA-*ALMT1* de trigo contra o banco de dados do genoma do arroz. **Fonte:** CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

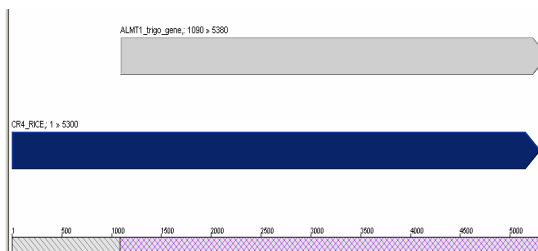


Figura 2. Resultado gráfico do alinhamento global (VectorNTI) entre a seqüência do gene *ALMT1* de trigo contra o trecho homólogo aos seis fragmentos. **Fonte:** CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

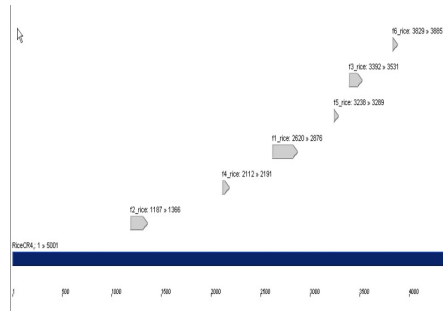


Figura 3. Resultado gráfico do alinhamento local (VectorNTI) entre os seis fragmentos do mRNA-*ALMT1* de trigo contra o trecho homólogo contendo o gene Os04g0417000 no cromossomo 4 do arroz. CGF/FAEM/UFPeI, Pelotas, 2007.

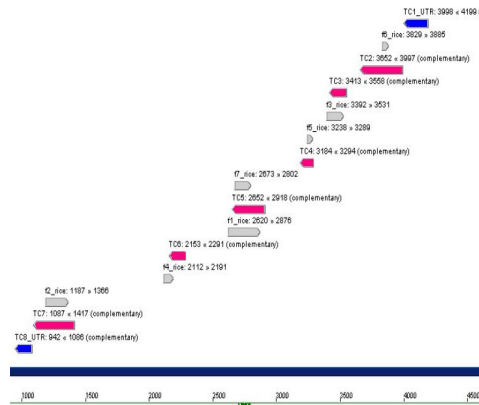


Figura 4. Resultado gráfico do alinhamento local (VectorNTI) entre o gene Os04g0417000 no cromossomo 4 do arroz, transcritos de RNA do gene (setas em azul e vermelho) e os sete fragmentos homólogos oriundos do mRNA-*ALMT1* do trigo. **Fonte:** CGF/FAEM/UFPeI, Pelotas, 2007.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALTSCHUL; S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. *Basic local alignment search tool*. **JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY**, v.5, n.215, p.403-10. 1990.

INTERNATIONAL RICE GENOME SEQUENCING PROJECT. *The map-based sequence of the rice genome*. **NATURE**, n.436, p.793-800, 2005.

KOPP, M. M. ; MAIA, L.C. DA ; CARVALHO, F.I.F. DE ; COSTA DE OLIVEIRA, A. DE. *Rice has an ALMT1 homologue*. In: **PLANT & ANIMAL GENOME XIV**, 2006, San Diego. Final Abstracts Guide, 2006. p. 170-170.

SASAKI, T.; YAMAMOTO, Y.; EZAKI, B. et al. *A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter* **PLANT JOURNAL** n.5, v.37, p.645-653, 2004.