

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

FILOGENIA DE GENES bZIPs EM *Psidium guajava* L.

Vinicius Sartori Fioresi¹, Gilza Barcelos de Souza¹, Adésio Ferreira¹, Marcia Flores da Silva Ferreira¹

¹Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas, Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil.

Vinicius_fioresi@hotmail.com, gilzab18@gmail.com, adesioferreira@gmail.com, marcia.ferreira@ufes.br.

Resumo

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma cultura de importância comercial em regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo o Brasil é um dos cinco maiores produtores de goiaba, uma fruta fonte de vitamina C. O objetivo desse trabalho foi obter uma filogenia de genes bZIPs em *P. guajava*. Foram identificados 56 genes no genoma de *P. guajava* os quais foram agrupados em 11 grupos (A, B, C, D, E, F, G, H, I, K e S) com base na análise filogenética das sequências de proteínas preditas. As proteínas codificadas pelos genes grupos A (PgbZIP1, PgbZIP4, PgbZIP10, PgbZIP19, PgbZIP25, PgbZIP27, PgbZIP28, PgbZIP30, PgbZIP33, PgbZIP43, PgbZIP48, PgbZIP49 e PgbZIP53) agruparam-se juntamente com as proteínas codificadas pelos genes da família bZIP ABF e AREB, que são caracterizados como responsivos a estresses abióticos em *Arabidopsis thaliana*. Essa proximidade filogenética pode indicar uma conservação funcional entre os genes de *A. thaliana* e *P. guajava*, sendo assim candidatos para estudos durante as respostas a estresses abiótico na espécie.

Palavras-chave: Fatores de Transcrição, Goiabeira e Estresse Abiótico.

Área do Conhecimento: Ciências biológicas/Genética ou Biologia Molecular.

Introdução

A goiabeira (*Psidium guajava* L., família Myrtaceae) é uma fonte rica em vitamina C e elementos funcionais, como antioxidantes, potássio e fibras (JOSEPH; PRIYA, 2011; NASEER et al., 2018). Também é amplamente utilizada para fins medicinais devido às suas propriedades curativas, antialérgicas, anti-diabéticas, anti-diarreicas, anti-neoplásicas, anti-inflamatórias e antimicrobárias (BONTEMPO et al., 2012; CHOI et al., 2012; DUTTA; DAS, 2010; GUPTA; BIRDI, 2015; LINS et al., 2014; MUDLIAR, 2008; TELLA; MASOLA; MUKARATIRWA, 2019). Além de ser uma importante cultura comercial de frutas cultivadas em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Os maiores produtores são Índia, Indonésia, México, China, Paquistão e Brasil, respectivamente (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2021).

Fatores de transcrição como DREB1/CBF, DREB2, AREB/ABF, MYB/MYC, bHLH, ZFPs, WRKY e regulons NAC têm sido descritos como envolvidas na resposta de plantas a estresses abióticos. Estudos recentes relataram o papel importante dos fatores de transcrição contendo um domínio básico de zíper de leucina (bZIP). A família de fatores de transcrição bZIP é uma das mais importantes em plantas. Esses fatores regulam genes em resposta a estresses abióticos, maturação de sementes, floração e desenvolvimento, além de defesa a patógenos (ALVES et al., 2013; DE MELO et al., 2022; DRÖGE-LASER et al., 2018; JAKOBY et al., 2002).

São características das proteínas bZIP possuir um domínio conservado de 40 a 80 aminoácidos (domínio bZIP) que é composto por dois motivos: uma região básica responsável pela ligação específica do TF ao DNA alvo e um zíper de leucina necessário para a dimerização do TF (DRÖGE-LASER et al., 2018; JAKOBY et al., 2002). Diversas análises genéticas, moleculares e bioquímicas revelaram que os bZIPs regulam importantes processos vegetais como diferenciação de órgãos, divisão celular, controle do balanço de bactérias/carbônio, defesa de patógenos, metabolismo energético, resposta à luz, controle osmótico e regulação gênica de proteínas do armazenamento de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

sementes (NIJHAWAN et al., 2008). Diferentes fatores bZIPs foram descritos por possuírem ligação aos elementos responsivos a ácido abscísico – ABA, um dos hormônios relacionados ao estresse em plantas, como os AREB1, AREB2 e AREB3 (GUJJAR; AKHTAR; SINGH, 2014; KANG et al., 2002). Em *A. thaliana* a classificação dos grupos foi atualizada por Droge-laser et al. (2018), que identificou 78 membros bZIPs, adicionando os bZIP76 a bZIP79 aos 75 descritos por Jakoby et al. (2002) e excluindo um pseudogene (bZIP73). Os 78 genes foram subdivididos em 13 grupos, designados de A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, M e S (DRÖGE-LASER et al., 2018).

Alguns grupos de *A. thaliana* têm sido caracterizados e relacionados a funções específicas envolvidas em respostas a estresse abiótico e biótico e no desenvolvimento das plantas (DRÖGE-LASER et al., 2018; JAKOBY et al., 2002). Genes do grupo A de *A. thaliana* já foram descritos por conferir tolerância a estresses a seca, como o AtbZIP35 (ABF1), AtbZIP36 (ABF2|AREB1), AtbZIP38 (ABF4|AREB2) e o AtbZIP37 (ABF3) (DRÖGE-LASER et al., 2018; LIU et al., 2022). Diferentes análises tais como de motivos conservados, comparação com proteínas descritas em plantas modelo e análises filogenéticas, podem auxiliar na obtenção de informações sobre a função de proteínas bZIP não caracterizadas. A presença de domínios conservados entre as subfamílias de bZIP pode sugerir uma função relacionada aos membros de cada subfamília (DRÖGE-LASER et al., 2018; JAKOBY et al., 2002; ZHANG et al., 2018). Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi anotar genes bZIPs em *P. guajava* e realizar análises filogenéticas.

Metodologia

A anotação dos genes bZIPs foi inicialmente realizada por alinhamento de sequências de proteínas bZIPs de *Arabidopsis thaliana* (DRÖGE-LASER et al., 2018) no genoma de referência de *P. guajava*, NCBI - PRJNA631442 (FENG et al., 2020). Em que foram consideradas as proteínas com alinhamentos de *e-value* inferiores a 10^{-30} , foi realizado buscas com base em perfis de modelo de Markov oculto (HMM), utilizando os domínios pertencentes em genes bZIPs, obtidos no banco de dados Pfam.

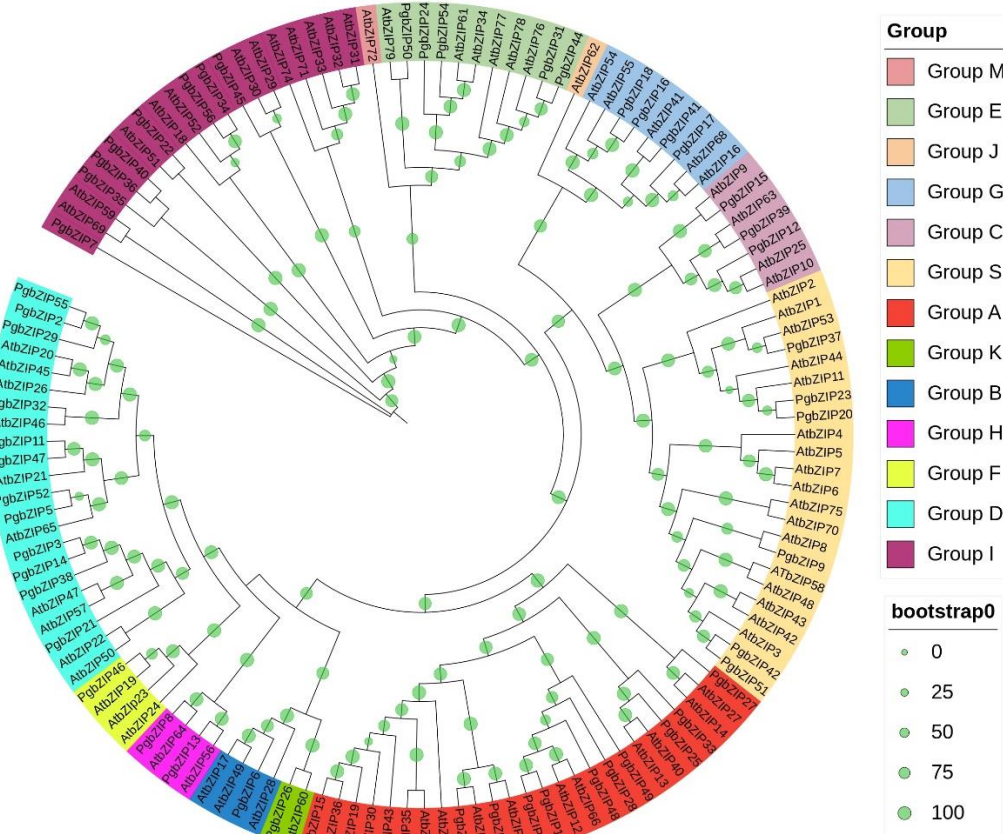
Sequências de proteínas bZIPs foram alinhadas pelo programa MAFFT (KATO et al., 2002), com os parâmetros *blossum* 62 e *thread* 20. Uma árvore filogenética foi obtida a partir da metodologia de máxima verossimilhança (ML) reconstruída no programa IQ-TREE com 1000 bootstrap (NGUYEN et al., 2015) obtida incluindo as sequências de proteínas bZIPs de *P. guajava* e de sequências ortólogas de *A. thaliana*. A edição foi realizada no iTol (LETUNIC; BORK, 2021).

Resultados

Para explorar as relações evolutivas de bZIPs entre *P. guajava* e *A. thaliana*, estabeleceu-se a árvore filogenética de bZIPs dessas espécies usando programa IQ-TREE pelo método de máxima verossimilhança (ML) (Figura 1). Com base no estudo anterior da família AtbZIP, foi possível dividir os 56 membros da família PgbZIP em 11 grupos (A, B, C, D, E, F, G, H, I, K e S) (DRÖGE-LASER et al., 2018), nenhum gene pertencente aos grupos J e M descrito em *A. thaliana* pode ser observado em *P. guajava*. Desta forma a distribuição específica dos genes PgbZIPs nos grupos pode ser visualizada da seguinte forma: grupo A (13), B (1), C (3), D (12), E (5), F (1), G (4), H (2), I (8), K (1), e S (6).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 1- Árvore filogenética da família de genes bZIPs de *P. guajava* e *A. thaliana*



Fonte: Os autores.

Discussão

A distribuição dos genes nos grupos da família bZIP em *P. guajava* não foi homogênea, os grupos A e D são as mais representativas 13 e 12 membros respectivamente, enquanto os grupos B, F e K possuem um membro cada. O número de grupos é variável entre espécies, os 78 bZIP de *A. thaliana*, foram subdivididos em 13 grupos, os mesmos 13 grupos também podem ser vistos em *Punica Granatum* (WANG et al., 2022) em *Chenopodium quinoa* foram descritos 20 grupos (LI et al., 2020) 11 em *Zea mays* (WEI et al., 2012) já em *Triticum aestivum* foram descritos 10 grupos (AGARWAL; BARANWAL; KHURANA, 2019).

Estudos das respostas da expressão de diferentes grupos de genes vem mostrando diferentes mecanismos de adaptação em plantas (DE MELO et al., 2022). Os fatores de transcrição bZIPs tem apresentado respostas importantes no processo de tolerância a estresses abióticos como a seca e a salinidade (AGARWAL; BARANWAL; KHURANA, 2019; BANERJEE; ROYCHOUDHURY, 2017; DE MELO et al., 2022; DRÖGE-LASER et al., 2018).

O Grupo A em *A. thaliana* também é composto por 13 membros, o que representa o segundo maior cluster na espécie o maior em goiabeira. O grupo pode ainda ser classificado em quatro subgrupos distintos (DRÖGE-LASER et al., 2018). Formam um desses subgrupos os genes ABF1 – 4 (AtbZIP35, 36, 37 e 38) que são elementos responsivos ao ácido abscísico (ABA) (BANERJEE; ROYCHOUDHURY, 2017; DRÖGE-LASER et al., 2018). A expressão desses genes é induzida por estresses abióticos que prejudicam a disponibilidade de água, como frio, salinidade e seca e também

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

poder ser ativados por ABA pós-transcricionalmente que auxiliam em respostas adaptativas que visam diminuir o déficit de água em tecidos vegetativos (BANERJEE; ROYCHOUDHURY, 2017).

Os genes DPBF1-4 (AtbZIP39, 67, 66 e 12), também estão relacionados a sinalização por ABA e a fase tardia do desenvolvimento de sementes (KIM et al., 2002), especialmente o DPBF1|ABI5 (AtbZIP39) foi descrito por controlar diretamente os genes envolvidos nas respostas ao estresse abiótico (FINKELSTEIN; LYNCH, 2000), catabolismo da clorofila, desenvolvimento da raiz lateral e senescência foliar induzida pelo escuro (DIS)(DRÖGE-LASER et al., 2018). Tanto o gene ABI5 quanto os genes ABFs parecem cumprir funções redundantes no mecanismo de resposta ao estresse (DRÖGE-LASER et al., 2018).

Conclusão

A família bZIPs em *P. guajava* possui 56 genes subdivididos em 11 grupos. A distribuição dos genes nos grupos da família bZIP em *P. guajava* não é homogênea, ocorrendo grupos (B, F e K) com apenas um membro cada e outras duas como maior número de genes A e D com 13 e 12 genes respectivamente. As proteínas codificadas pelos genes do grupo A são amplamente estudadas por serem responsivas a estresses abióticos como os genes ABFs e DPBFs, genes como encontrados no genoma de *P. guajava* (PgbZIP19, PgbZIP30, PgbZIP43 e PgbZIP4) são extremamente correlatos como os genes ABFs e DPBFs de *A. thaliana* já caracterizados. Essa proximidade filogenética pode indicar uma conservação funcional sendo bons candidatos para estudos da resposta a estresses abióticos na espécie.

Referências

AGARWAL, P.; BARANWAL, V. K.; KHURANA, P. Genome-wide Analysis of bZIP Transcription Factors in wheat and Functional Characterization of a TabZIP under Abiotic Stress. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 4608, 14 mar. 2019.

ALVES, M. S. et al. Plant bZIP transcription factors responsive to pathogens: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 4, p. 7815–7828, 2013.

BANERJEE, A.; ROYCHOUDHURY, A. **Abscisic-acid-dependent basic leucine zipper (bZIP) transcription factors in plant abiotic stress**. **Protoplasma** Springer-Verlag Wien, , 1 jan. 2017.

BONTEMPO, P. et al. Psidium guajava L. anti-neoplastic effects: induction of apoptosis and cell differentiation. **Cell Proliferation**, v. 45, n. 1, p. 22–31, fev. 2012.

CHOI, J. H. et al. Inhibitory effect of Psidium guajava water extract in the development of 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2923–2929, ago. 2012.

DE MELO, B. P. et al. Abiotic Stresses in Plants and Their Markers: A Practice View of Plant Stress Responses and Programmed Cell Death Mechanisms. **Plants**, v. 11, n. 9, 2022.

DRÖGE-LASER, W. et al. **The Arabidopsis bZIP transcription factor family — an update**. **Current Opinion in Plant Biology** Elsevier Ltd, , 1 out. 2018.

DUTTA, S.; DAS, S. A study of the anti-inflammatory effect of the leaves of Psidium guajava Linn. on experimental animal models. **Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 5, p. 313, 2010.

FENG, C. et al. A chromosome-level genome assembly provides insights into ascorbic acid accumulation and fruit softening in guava (Psidium guajava). **Plant Biotechnology Journal**, p. 1–14, 2020.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

FINKELSTEIN, R. R.; LYNCH, T. J. The Arabidopsis Absciscic Acid Response Gene *ABI5* Encodes a Basic Leucine Zipper Transcription Factor. **The Plant Cell**, v. 12, n. 4, p. 599–609, abr. 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Crops and livestock products**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 10 maio. 2023.

GUJJAR, R. S.; AKHTAR, M.; SINGH, M. Transcription factors in abiotic stress tolerance. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 4, p. 306–316, 2014.

GUPTA, P.; BIRDI, T. Psidium guajava leaf extract prevents intestinal colonization of *Citrobacter rodentium* in the mouse model. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 6, n. 1, p. 50, 2015.

JAKOBY, M. et al. bZIP transcription factors in Arabidopsis. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 3, p. 106–111, mar. 2002.

JOSEPH, B.; PRIYA, R. M. Phytochemical and Biopharmaceutical Aspects of *Psidium guajava* (L.) Essential Oil: A Review. **Research Journal of Medicinal Plants**, v. 5, p. 432–442, 2011.

KANG, J. et al. Arabidopsis Basic Leucine Zipper Proteins That Mediate Stress-Responsive Absciscic Acid Signaling. **The Plant Cell**, v. 14, n. 2, p. 343–357, fev. 2002.

KATOH, K. et al. **MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform**. [s.l: s.n.].

KIM, S. Y. et al. Arabidopsis ABI5 Subfamily Members Have Distinct DNA-Binding and Transcriptional Activities. **Plant Physiology**, v. 130, n. 2, p. 688–697, 1 out. 2002.

LETUNIC, I.; BORK, P. Interactive tree of life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W293–W296, 2 jul. 2021.

LI, F. et al. Genome-wide survey, characterization, and expression analysis of bZIP transcription factors in *Chenopodium quinoa*. **BMC Plant Biology**, v. 20, n. 1, p. 405, 1 dez. 2020.

LINS, T. H. et al. Evaluation of antimicrobial activity of *Psidium guajava* species. **BMC Proceedings**, v. 8, n. S4, 2014.

LIU, J. et al. The Arabidopsis IDD14 transcription factor interacts with bZIP-type ABFs/AREBs and cooperatively regulates ABA-mediated drought tolerance. **New Phytologist**, v. 236, n. 3, p. 929–942, 1 nov. 2022.

MUDLIAR, V. S. Influence of the Fruit and Leaf Extract of *Psidium Guajava* Linn. on Wound Healing in Wistar Rats. **Journal of Cell and Tissue Research**, v. 8, n. 1, p. 1313–1316, 2008.

NASEER, S. et al. The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). **Clinical Phytoscience**, v. 4, n. 1, p. 32, dez. 2018.

NGUYEN, L. T. et al. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 268–274, 1 jan. 2015.

NIJHAWAN, A. et al. Genomic Survey and Gene Expression Analysis of the Basic Leucine Zipper Transcription Factor Family in Rice. **Plant Physiology**, v. 146, n. 2, p. 323–324, 4 fev. 2008.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

TELLA, T.; MASOLA, B.; MUKARATIRWA, S. The effect of *Psidium guajava* aqueous leaf extract on liver glycogen enzymes, hormone sensitive lipase and serum lipid profile in diabetic rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 109, n. July 2018, p. 2441–2446, 2019.

WANG, S. et al. Genome-wide identification and characterization of bZIP gene family and cloning of candidate genes for anthocyanin biosynthesis in pomegranate (*Punica granatum*). **BMC Plant Biology**, v. 22, n. 1, p. 170, 4 abr. 2022.

WEI, K. et al. Genome-Wide Analysis of bZIP-Encoding Genes in Maize. **DNA Research**, v. 19, n. 6, p. 463–476, 1 dez. 2012.

ZHANG, M. et al. Evolutionary and expression analyses of soybean basic Leucine zipper transcription factor family. **BMC Genomics**, v. 19, n. 1, 22 fev. 2018.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq, Brasil), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) — código de financiamento 001 e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES, Vitória-ES, Brasil) pelo apoio financeiro a este estudo.