

**Benedito Rodrigues da Silva Neto**  
**(Organizador)**



**Conceitos  
Básicos da  
Genética**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

**Benedito Rodrigues da Silva Neto**

(Organizador)

# Conceitos Básicos da Genética

Atena Editora

2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Geraldo Alves  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

#### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>
<p>C744 Conceitos básicos da genética [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.</p> <p>Formato: PDF Requisitos do sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de Acesso: World Wide Web Inclui bibliografia. ISBN 978-85-7247-421-4 DOI 10.22533/at.ed.214192106</p> <p>1. Genética – Estudo e ensino. 2. Genética e melhoramento. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.</p> <p style="text-align: right;">CDD 576</p>
<p style="text-align: center;"><b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior   CRB6/2422</b></p>

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Há exatos dezanove anos, mais precisamente na data de 21 de junho de 2000, um dos anúncios mais esperados nos últimos tempos pela comunidade científica era feito: simultaneamente nos Estados Unidos e em Londres o presidente Bill Clinton e o primeiro ministro Tony Blair divulgaram, o que segundo eles seria uma nova era para a humanidade, o sequenciamento do genoma humano. O “rascunho da vida” como denominaram traria novas expectativas quanto à doenças incuráveis, desafios éticos, novas propostas tecnológicas para a pesquisa, mas principalmente uma acessibilidade muito maior ao conceito de genética para a população.

Desde então uma revolução molecular pôde ser observada, novos conceitos adentraram às salas de aula, novos equipamentos evoluíram os laboratórios de pesquisa, novos e milhares de artigos passaram a publicar quase que “em tempo real” as descobertas no campo ambiental, microbiológico, industrial e da saúde. Podemos dizer também que a genética chegou como nunca às mesas das famílias, deixando de ser um assunto apenas dos cientistas.

Portanto a literatura aqui apresentada e intitulada “Conceitos básicos da genética” torna-se relevante não apenas por abordar assuntos relativos à comunidade acadêmica, mas principalmente por demonstrar a diversidade de áreas que hoje utilizam das ferramentas genéticas e moleculares em seus estudos que estão diretamente relacionados ao dia-a-dia da população.

Cada vez mais, o acelerado mundo das descobertas científicas caminha a passos largos e rápidos no sentido de transformar a pesquisa básica em aplicada, portanto é relevante destacar que investimentos e esforços nessa área contribuem grandemente com o desenvolvimento de uma nação. A genética como sabemos possui um campo vasto de aplicabilidades que podem colaborar e cooperar grandemente com os avanços científicos e tecnológicos.

Esperamos que seja apenas o primeiro de muitos outros livros na área, já que a cada dia novas tecnologias genéticas tornam-se acessíveis e novas descobertas são possíveis. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que as novas gerações se interessem cada vez mais pelo ensino e pesquisa em genética.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
FERRAMENTAS GENÔMICAS E GEOGRÁFICAS PARA AVALIAR A DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES SUÍNAS	
<i>Elizabete Cristina da Silva</i>	
<i>Samuel Rezende Paiva</i>	
<i>Concepta Margaret McManus Pimentel</i>	
<i>Victor Hugó de Vasconcelos Calado</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2141921061</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
A ABORDAGEM DE GENÉTICA SOB O OLHAR DOS DISCENTES DE ENFERMAGEM DE UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO SEMIPRESENCIAL NO MUNICÍPIO DE ANANINDEUA, ESTADO DO PARÁ	
<i>Letícia Gomes de Oliveira</i>	
<i>Maria Josilene Castro de Freitas</i>	
<i>Brena Yasmim Barata Nascimento</i>	
<i>Shirlene de Nazaré Costa da Silva</i>	
<i>Leandro Neves da Silva Costa</i>	
<i>Dolanno Ferreira Alves</i>	
<i>Adan Rodrigues de Oliveira</i>	
<i>Joycianne Rodrigues Parente</i>	
<i>Karina Guedes Lima</i>	
<i>Abigail das Mercês do Vale Batista</i>	
<i>Dayara de Nazaré Rosa de Carvalho</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2141921062</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>17</b>
A GENÉTICA TOXICOLÓGICA E O BIOENSAIO <i>Allium cepa</i>	
<i>Schirley Costalonga</i>	
<i>Maria do Carmo Pimentel Batitucci</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2141921063</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>25</b>
ANÁLISES GENÉTICAS NÃO INVASIVAS E SUA CONTRIBUIÇÃO PARA A GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO DE FELINOS BRASILEIROS	
<i>Andiara Silos Moraes de Castro Souza</i>	
<i>Bruno Henrique Saranholi</i>	
<i>Pedro Manoel Galetti Jr</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2141921064</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>40</b>
AVALIAÇÃO DA DISCIPLINA DE GENÉTICA HUMANA FRENTE ÀS DIRETRIZES CURRICULARES NACIONAIS PARA O CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA	
<i>Sulyanne Saraiva de Almeida</i>	
<i>Alcivan Batista de Moraes Filho</i>	
<i>João Paulo da Silva Liberalino</i>	
<i>Sandy Albuquerque Silveira</i>	
<i>Bruna Prado de Oliveira</i>	
<i>Thales Allyrio Araújo de Medeiros Fernandes</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2141921065</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 54**

CITOGENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE DO SULFATO DE COBRE EM DIFERENTES VARIEDADES DE *allium cepa* LINN

*Júlio Brando Messias*  
*Rosanne Lopes de Brito*  
*Gerusa Tomaz de Aquino Beltrão*  
*Inalda Maria de Oliveira Messias*  
*Mônica Simões Florêncio*  
*Betty Rose de Araújo Luz*  
*Sura Wanessa Nogueira Santos Rocha*  
*Mércia Cristina de Magalhães Caraciolo*  
*João Ferreira da Silva Filho*

**DOI 10.22533/at.ed.2141921066**

**CAPÍTULO 7 ..... 65**

COMO SURGEM NOVAS ENZIMAS? EVOLUÇÃO MOLECULAR DE NOVAS CÓPIAS GÊNICAS NA SUPERFAMÍLIA DAS RODANASES EM DIPTERA

*Luana Sousa Soares*  
*Iderval da Silva Júnior Sobrinho*

**DOI 10.22533/at.ed.2141921067**

**CAPÍTULO 8 ..... 83**

DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794) REVELA DIFERENTES LINHAGENS EM BACIAS MARANHENSES

*Walna Micaelle de Moraes Pires*  
*Maria Claudene Barros*  
*Elmary da Costa Fraga*

**DOI 10.22533/at.ed.2141921068**

**CAPÍTULO 9 ..... 98**

DNA BARCODING CONFIRMA A OCORRÊNCIA DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS NA ICTIOFAUNA DO RIO TURIAÇU, MARANHÃO/BRASIL

*Bruno Rafael da Silva Teixeira*  
*Maria Claudene Barros*  
*Elmary da Costa Fraga*

**DOI 10.22533/at.ed.2141921069**

**CAPÍTULO 10 ..... 111**

EVALUATION OF HETEROLOGOUS PROTEIN EXPRESSION AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF MGSO<sub>4</sub> AND IPTG IN ESCHERICHIA COLI W110

*Yago Queiroz dos Santos*  
*Gabriella Silva Campos Carelli*  
*Bruno Oliveira de Veras*  
*Joelton Igor Oliveira da Cruz*  
*Geovanna Maria Medeiros Moura*  
*Antônio Moreira Marques Neto*  
*Anderson Felipe Jácome de França*

**DOI 10.22533/at.ed.21419210610**

**CAPÍTULO 11 ..... 119**

ANÁLISE DA IMPORTANCIA DE ESTUDOS DO GENE MDR1 E SEU PAPEL NO DESENVOLVIMENTO DE MULTIRESTENCIA A FÁRMACOS PARA TRATAMENTO DE CANDIDÍASE

*Lucas Lopes Lima*

*Benedito R. Da Silva Neto*

**DOI 10.22533/at.ed.21419210611**

**CAPÍTULO 12 ..... 128**

EVALUATION OF PLASMA MIRNAS FOR EARLY DIAGNOSIS OF BREAST CANCER

*Alexis Germán Murillo Carrasco*

*Stefano Giannoni Luza*

*Oscar Acosta Conchucos*

*José Manuel Cotrina Concha*

*Alfredo Aguilar Cartagena*

*Lia Pamela Rebaza Vásquez*

*Ricardo Miguel Fujita Alarcón*

*José Luis Buleje Sono*

**DOI 10.22533/at.ed.21419210612**

**CAPÍTULO 13 ..... 139**

POLIMORFISMO DO GENE GOLA-DRB.2 EM REBANHOS CAPRINOS LEITEIROS

*Luciana Florêncio Vilaça Lopes*

*Elizabete Cristina da Silva*

*Elizabete Rodrigues da Silva*

*Severino Benone Paes Barbosa*

*Ângela Maria Vieira Batista*

*Kleber Régis Santoro*

**DOI 10.22533/at.ed.21419210613**

**CAPÍTULO 14 ..... 151**

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PEIXES DA APA DO INHAMUM, LESTE MARANHENSE, BRASIL

*Renato Corrêa Lima;*

*Marcelo Silva de Almeida;*

*Maria Claudene Barros;*

*Elmary da Costa Fraga;*

**DOI 10.22533/at.ed.21419210614**

**CAPÍTULO 15 ..... 169**

MIRNAS: UMA CLASSE DE PEQUENOS RNAs REGULATÓRIOS

*Juliana Santana de Curcio*

*Kleber Santiago Freitas e Silva*

*Lívia do Carmo Silva*

*Amanda Alves de Oliveira*

*Thaynara Gonzaga Santos*

*Lucas Weba Soares*

**DOI 10.22533/at.ed.21419210615**



<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>179</b>
O CICLO CELULAR E SEUS MECANISMOS DE CONTROLE: UMA REVISÃO	
<i>Schirley Costalonga</i>	
<i>Maria do Carmo Pimentel Batitucci</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.21419210616</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>191</b>
OSTEOSSARCOMA PEDIÁTRICO	
<i>Natália Paiva do Nascimento</i>	
<i>Thauanna Alves Meira</i>	
<i>Mariana Camargo Maschietto</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.21419210617</b>	
<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>202</b>
PHYLOGENETIC ANALYSIS AND IDENTIFICATION OF A CELLULASE PRODUCING BACILLUS SP. STRAIN BY 16S RRNA SEQUENCING	
<i>Yago Queiroz dos Santos</i>	
<i>Anderson Felipe Jácome de França</i>	
<i>Bruno Oliveira de Veras</i>	
<i>Gabriella Silva Campos Carelli</i>	
<i>Geovanna Maria Medeiros Moura</i>	
<i>Joelton Igor Oliveira da Cruz</i>	
<i>Fernanda Granja da Silva Oliveira</i>	
<i>João Ricardhis Saturnino de Oliveira</i>	
<i>Luciclaudio Cassimiro de Amorim</i>	
<i>Elizeu Antunes dos Santos</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.21419210618</b>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>210</b>
POLIMORFISMOS GENÉTICOS E DOENÇAS HUMANAS NA ERA DA BIOINFORMÁTICA	
<i>Kleber Santiago Freitas e Silva</i>	
<i>Juliana Santana de Curcio</i>	
<i>Lucas Weba Soares</i>	
<i>Lívia do Carmo Silva</i>	
<i>Amanda Alves de Oliveira</i>	
<i>Thaynara Gonzaga Santos</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.21419210619</b>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>226</b>
QUIMIOPROTEÔMICA: DESCOBRINDO MOLÉCULAS BIOATIVAS E SEUS ALVOS	
<i>Lívia do Carmo Silva</i>	
<i>Kleber Santiago Freitas e Silva</i>	
<i>Juliana Santana De Curcio</i>	
<i>Lucas Weba Soares</i>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.21419210620</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>240</b>

## COMO SURGEM NOVAS ENZIMAS? EVOLUÇÃO MOLECULAR DE NOVAS CÓPIAS GÊNICAS NA SUPERFAMÍLIA DAS RODANASES EM DIPTERA

**Luana Sousa Soares**

Universidade Federal de Jataí, Unidade Acadêmica Especial de Ciências Biológicas  
Jataí - Goiás

**Iderval da Silva Júnior Sobrinho**

Universidade Federal de Jataí, Unidade Acadêmica Especial de Ciências Biológicas  
Jataí - Goiás

**RESUMO:** A superfamília Rodanase contém proteínas com diferentes funções, o que a torna interessante para estudar a evolução de neofuncionalizações após duplicações gênicas. Apesar dos estudos sobre a organização estrutural e funções dos membros da superfamília Rodanase, os processos evolutivos que levaram à neofuncionalização não foram totalmente compreendidos. Assim, estudamos a evolução molecular da adenililtransferase e sulfurtransferase MOCS3 e da tiosulfato sulfuriltransferase (TST) de precursores com função de *heat shock*, focando nos padrões de restrição seletiva e divergência funcional promovida pela seleção natural. Obtivemos sequências Diptera bem caracterizadas das bases de dados Pfam-Embl e Genbank. Alinhamos as sequências e estimamos as relações filogenéticas por máxima verossimilhança. Testamos a presença de sinais de seleção positiva usando a estratégia

do *branch-site* teste, realizando o teste em duas condições: (a) no ramo onde a nova função do MOCS3 evoluiu pela aquisição de novo domínio; e (b) no ramo onde a função TST evoluiu de proteínas *heat shock*, sem aquisição de novos domínios. Apesar da expectativa de encontrar seleção positiva atuando no ramo com ganho de um novo domínio, a diversificação por seleção positiva foi detectada apenas no ramo em que a neofuncionalização ocorreu sem sua aquisição. Neste evento de neofuncionalização, o teste Bayes Empirical Bayes detectou doze sítios que evoluíram sob seleção positiva, um deles dentro do domínio catalítico. Considerando que as proteínas semelhantes a Rodanase com função de TST representam duplas cópias de genes parálogos, a seleção natural deveria ter sido relaxada nessas cópias, permitindo mudanças mesmo no domínio catalítico conservado.

**PALAVRAS-CHAVE:** seleção natural, duplicação gênica, superfamília gênica, adenililtransferase e sulfurtransferase MOCS3, tiosulfato sulfotransferase.

**ABSTRACT:** Rhodanese superfamily contains proteins with different functions, which turns it an interesting group to study the evolution of neofunctionalization after gene duplications. Despite of studies on the structural organization and functions of members from Rhodanese superfamily, the evolutionary processes

that led to the neofunctionalization was not fully understood. Therefore, we studied the molecular evolution of adenylyltransferase and sulfurtransferase MOCS3 and thiosulfate sulfurtransferase (TS) from precursors with heat shock function, focusing on patterns of selective constraints and functional divergence promoted by natural selection. We obtained well characterized Diptera sequences from Pfam-Esembl and Genbank databases. We aligned the sequences and estimated the phylogenetic relationships among sequences by maximum likelihood. We tested for the presence of positive selection signals using the branch-site-test strategy, performing the test in two conditions: (a) in the branch where new function of MOCS3 evolved by the acquisition of new domain; and (b) in the branch where TS function evolved from heat shock proteins without the acquisition of any new characterized domain. Despite the expectation of finding positive selection acting on the branch with gain of a new domain, diversification by positive selection was only detected in the branch where the neofunctionalization occurred without its acquisition. In this neofunctionalization event Bayes Empirical Bayes test detected twelve sites that evolved under positive selection, three of them within the catalytic domain. Considering that Rhodanese-like proteins with TS function represent duplicated paralogous gene copies, natural selection should have been relaxed in these copies, allowing changes even in the conserved catalytic domain.

**KEYWORDS:** natural selection, gene duplication, gene superfamily, adenylyltransferase and sulfurtransferase MOCS3, thiosulfate sulfurtransferase.

## INTRODUÇÃO

A herbivoria é uma interação biótica específica do tipo predador-presa comumente observada entre diversos grupos de animais e plantas, especialmente entre os insetos. A herbivoria teve um efeito marcante na diversidade dos insetos, tornando os insetos herbívoros um dos grupos animais mais diversos por possibilitar explorar diferentes recursos, como alimento e proteção, ou mesmo para completar seu ciclo de vida (FUNK; FILCHAK; FEDER, 2002; GULLAN; CRANSTON, 2017 ; WARD; HACKSHAW; CLARCKE, 2003)

As plantas desenvolveram formas de defesa contra esses herbívoros, ativando um conjunto de respostas altamente reguladas, resumidas em duas principais: (1) as defesas diretas, envolvidas com a produção de aleloquímicos, e (2) as defesas indiretas envolvidas na produção de metabólitos que atraem inimigos naturais dos fitófagos, frequentemente parasitóides e predadores (DESPRÉS; DAVID; GALLET, 2007; MITHOFER; BOLAND, 2012;.

Uma defesa direta comumente usada pelas plantas é o uso de glicosídeos cianogênicos, presente em mais de 2500 plantas. Normalmente, os glicosídeos cianogênicos são armazenados nos vacúolos, quando o tecido da planta é destruído por ataque de herbívoros mastigadores, eles entram em contato com enzimas que os hidrolisam em cianeto de hidrogênio (HCN) (ZAGROBELNY et al., 2004). Esta é uma

das substâncias mais tóxicas conhecidas e tem afinidade pela oxidase terminal na cadeia transportadora da mitocôndria, podendo ser letal a vários insetos (BRATTSTEN et al., 1983).

Os insetos, por sua vez, desenvolveram diversas estratégias para evitar os mecanismos de defesas das plantas, algumas simples, outras mais complexas e específicas, entrando em uma corrida armamentista com as plantas. Eles podem evitar a fitotoxina ou mesmo escolher locais da planta nos quais há menor concentração do composto (DAOUST et al., 2010; NEALIS; NAULT, 2005). O inseto pode até mesmo manipular o mecanismo de defesa da planta (BEDE et al., 2006; NYMAN; JULKNEN-TIITTO, 2000; MUSSER et al., 2002). Quando não há possibilidade de evitar a ingestão das fitotoxinas se faz necessária a desintoxicação metabólica (DESPRÉS; DAVID; GALLET, 2007; NISHIDA 2002).

As enzimas que normalmente estão envolvidas na desintoxicação metabólica são pertencentes a três famílias gênicas, sendo as carboxilesterases (COEs), as glutathione S-transferases (GSTs) e as citocromo monooxigenases P450 (P450, CYPs para os genes). Porém há outras duas que podem estar envolvidas diretamente com a desintoxicação de glicosídeos cianogênicos, são elas a  $\beta$ -cianoalanina sintase e principalmente algumas enzimas da superfamília rodanase, as tiosulfato:cianeto sulfotransferase (TST) também chamadas de rodanase (BEESLEY; COMPTON; JONES, 1985; DESPRÉS; DAVID; GALLET, 2007; ZAGROBELNY et al. 2004; ZHANG; MA; FENG, 2012).

## SUPERFAMÍLIA RODANASE

A rodanase está distribuída na natureza, sendo encontrada nos três principais filos evolutivos. A enzima mais bem caracterizada é a rodanase bovina (PLOEGMAN et al., 1978, 1979). Rodanase, também chamada de tiosulfato:cianeto sulfotransferase (TST, EC 2.8.1.1) é uma enzima que catalisa a transferência de um átomo de enxofre a um aceptor, do tiosulfato para o cianeto (PLOEGMAN et al., 1979). O termo rodanase vem do alemão para tiocinato com 'ase' indicando que esse composto foi formado a partir de uma reação enzimática (CIPOLLONE; ASCENZI; VISCA, 2007).

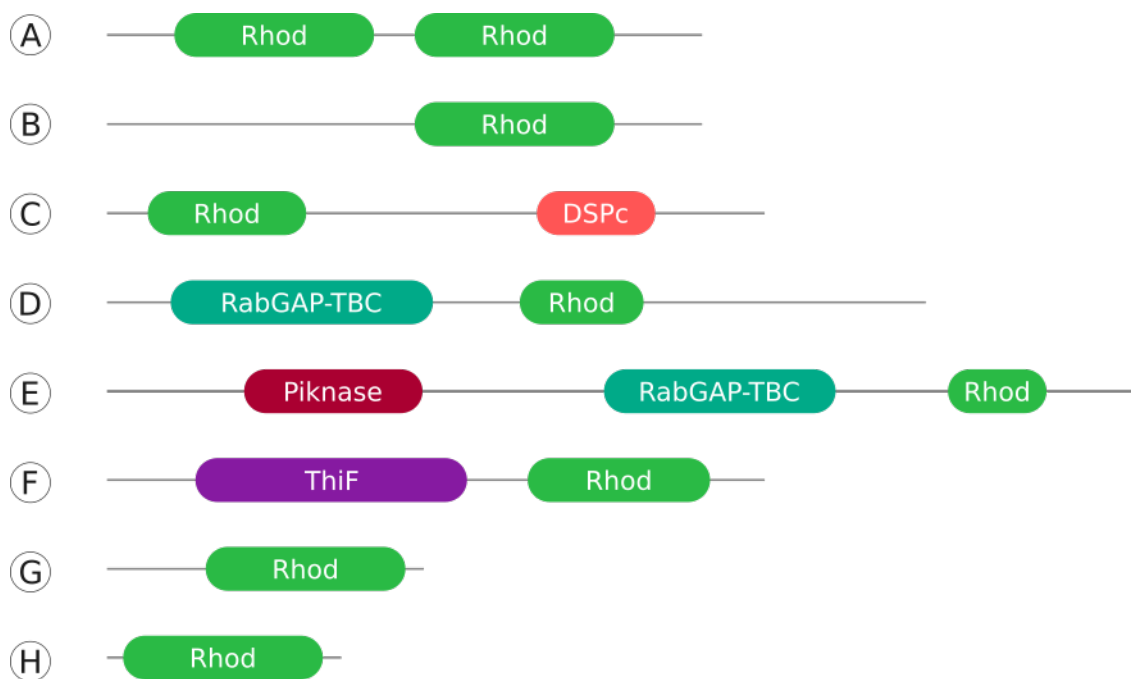


A rodanase faz parte da superfamília Rodanase que abriga todas as proteínas tipo rodanase, que compartilham o mesmo domínio Rhod (Figura 1). Apesar de apresentarem um mesmo domínio em comum, são proteínas altamente heterogêneas estruturalmente e funcionalmente (BORDO, 2002). Frequentemente o domínio Rhod está combinado com outros domínios característicos (Figura 1) (CIPOLLONE; ASCENZI; VISCA, 2007).

Estruturalmente as proteínas do tipo rodanase são compostas por um ou dois domínios rodanase. Normalmente quando há a presença de dois domínios, apenas um é

funcional. O domínio catalítico apresenta um resíduo de cisteína catalítica, o qual é o primeiro resíduo dos seis aminoácidos da alça do sítio ativo (BORDO, 2002).

As proteínas integrantes dessa superfamília podem ser divididas em quatro grupos estruturais: (1) proteínas com apenas um domínio rodanase, entre elas as proteínas heat shock (PHS), e a própria TST (Figura 1-G e H); (2) proteínas com domínios em tandem, como as 3-mercaptopiruvato:cianideo sulfotransferases (Figura 1- A); (3) proteínas com multidomínios, além do domínio rodanase com suas propriedades funcionais, a presença de outros domínios como o ThiF, DSP e UBP, entre outros (Figura 1 – C, D, E e F); e (4) proteínas com alça do sítio ativo alongadas, como as fosfatases cdc25 (Figura 1 – B) (BORDO, 2002; CIPOLLONE; ASCENZI; VISCA, 2007). Apesar do grande conhecimento estrutural das rodanases, há poucos estudos que envolvem suas relações filogenéticas e quais foram os mecanismos evolutivos da diferenciação das funções da proteína.



- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Ⓐ 3-mercaptopiruvato:cianideo sulfotransferases</li> <li>Ⓑ Fosfatase tirosina</li> <li>Ⓒ Fosfatase de dupla especificidade</li> <li>Ⓓ Ativadora de GTPase</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Ⓔ Ligação de ATP</li> <li>Ⓕ Adeniltransferase e sulfurtransferase MOCS3</li> <li>Ⓖ <i>Heat shock</i></li> <li>Ⓗ Tiosulfato sulfurtransferase</li> </ul> |
|---|--|

Figura 1. Organização de domínios dos grupos de proteínas da Superfamília Rodanase.

## EVOLUÇÃO DE FAMÍLIAS GÊNICAS

Famílias gênicas são grupos de genes descendentes de um ancestral comum que retêm sequências similares e/ou frequentemente funções similares, tanto para genes dentro de um genoma (cópia paráloga) e para genes relacionados entre genomas

(ortólogos e parálogos)(DAYHOFF et al., 1975; DEMUTH; HAHN et al., 2009):

As famílias geralmente surgem a partir de genes órfãos (AMIRI, 2003) e podem surgir de três maneiras diferentes: (I) cópias duplicadas que se tornam suficientemente divergentes e não são reconhecidas como membros da mesma família (SCHMID; AQUADRO, 2001); (II) genes transferidos horizontalmente (i.e transferência de material genético para outra célula que não é sua descendente) (HALL; BRACHAT; DIETRICH, 2005) e (III) novos genes a partir de sequências não-codificantes (BEGUN et al., 2007; DEMUTH; HAHN et al., 2009). A duplicação gênica é o principal mecanismo na conseguinte evolução de uma família gênica (DAYHOFF et al., 1975; MAGADUM et al., 2013). Depois da duplicação, as cópias podem ter diversos destinos diferentes. Os principais destinos são a pseudogenização (i.e. perda de função a partir de mutações deletérias) (Figura 2-A), a conservação da função (Figura 2-C), a subfuncionalização (Figura 2-D) e a neofuncionalização (Figura 2-B) (INNAN; KONDRASHOV, 2010; MAGADUM et al., 2013).

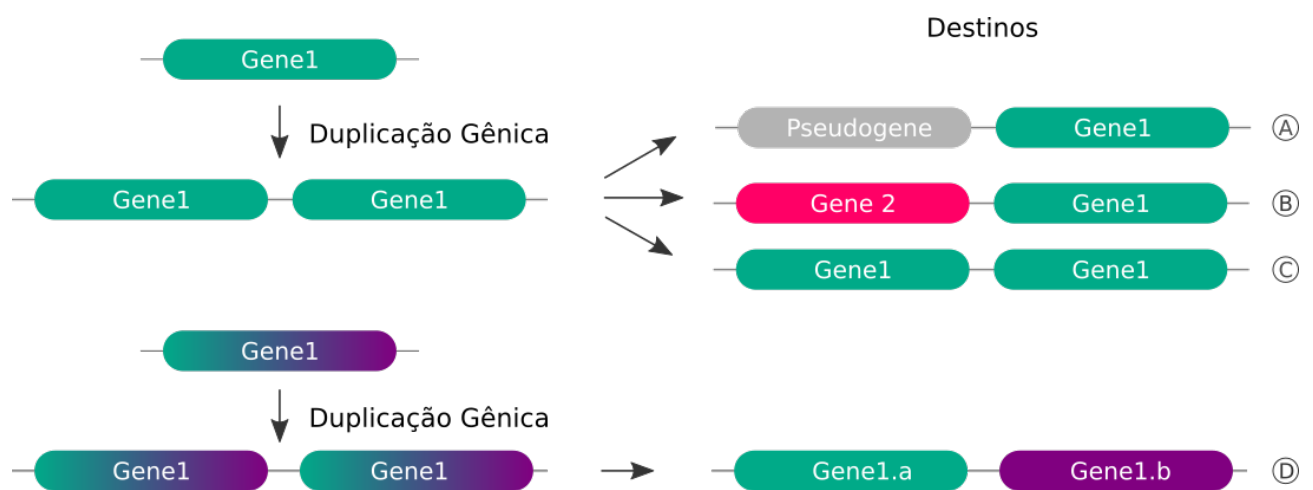


Figura 2. Principais destinos de genes duplicados. A – pseudogenização, B- neofuncionalização, C- conservação gênica, D- subfuncionalização.

Há vários modelos evolutivos capazes de explicar esses destinos, que podem ser classificados em principalmente três categorias (INNAN; KONDRASHOV, 2010). A primeira categoria contém os modelos que assumem as duplicações que não causam efeitos no valor adaptativo, deixando a fixação da cópia duplicada como um processo neutro. A principal característica dos modelos dessa categoria é que após a duplicação, há uma redundância entre as cópias, assim a seleção natural se afrouxa, permitindo que modificações ocorram, sendo a maior parte neutra. Dessa forma, pode-se levar facilmente à pseudogenização de pelo menos uma das cópias. Quando isso não ocorre, é possível os outros destinos (FORCE et al., 1999; OHNO et al., 1970; HUGHES 1994).

Nos modelos da segunda categoria, a duplicação por si só é vantajosa. São possíveis três razões para esse tipo de adaptação: benefício no aumento da dosagem do produto gênico, mascaramento de mutações deletérias e oportunidade

de surgimento imediato de uma nova função, normalmente sendo todas mediadas, predominantemente, por seleção positiva. Por último, a categoria que abriga os modelos na qual a duplicação ocorre em um gene polimórfico, e o aumento de variabilidade na população é vantajosa, promovendo rapidamente a fixação da cópia (INNAN; KONDRASHOV, 2010).

Apesar dos estudos comparando as funções, sequências e estruturas tridimensionais das proteínas do tipo rodanase, ainda há poucos trabalhos elucidando os mecanismos evolutivos que levaram a Superfamília Rodanase ao seu grande número de proteínas com funções tão diversificadas e presentes em quase todos os organismos.

## **OBJETIVOS**

Tivemos como objetivo analisar o padrão de evolução molecular de adenilitransferase e sulfotransferase (MOCS3) e tiosulfato sulfotransferase (TST) pertencentes a superfamília Rodanase, utilizando o grupo dos Diptera como modelo evolutivo.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

– Testar a expectativa de que o sinal de seleção positiva pode ser detectado em ramos que representem o surgimento de novas funções nas proteínas da família gênica das rodanases, sendo um ramo em que evoluiu a neofuncionalização sem surgimento de novo domínio (TST) e no ramo no qual evoluiu a neofuncionalização pela aquisição de novo domínio (MOCS3).

– Testar como TST e MOCS3 se comportam após a duplicação e a neofuncionalização.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção das sequências**

Utilizamos os dados de sequências de proteínas da superfamília Rodanase depositadas no Pfam sob o código PF00581. Focamos nos dados de Diptera, por ser um dos grupos mais bem estudados quanto à organização genômica dos genes da superfamília Rodanase.

A partir dos números de acessos das proteínas, fornecidos pelo Pfam, obtivemos as respectivas sequências codificantes completas de aminoácidos e de DNA a partir do Uniprot, Genbank (NCBI) e Embl. A partir do alinhamento de aminoácidos, realizado pelo PRANK v. 140603 <sup>36</sup>(LÖYTYNOJA; GOLDMAN, 2010), geramos uma árvore filogenética pelo método da Máxima Verossimilhança, utilizando o software MEGA 7 (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016) (Figura 3).

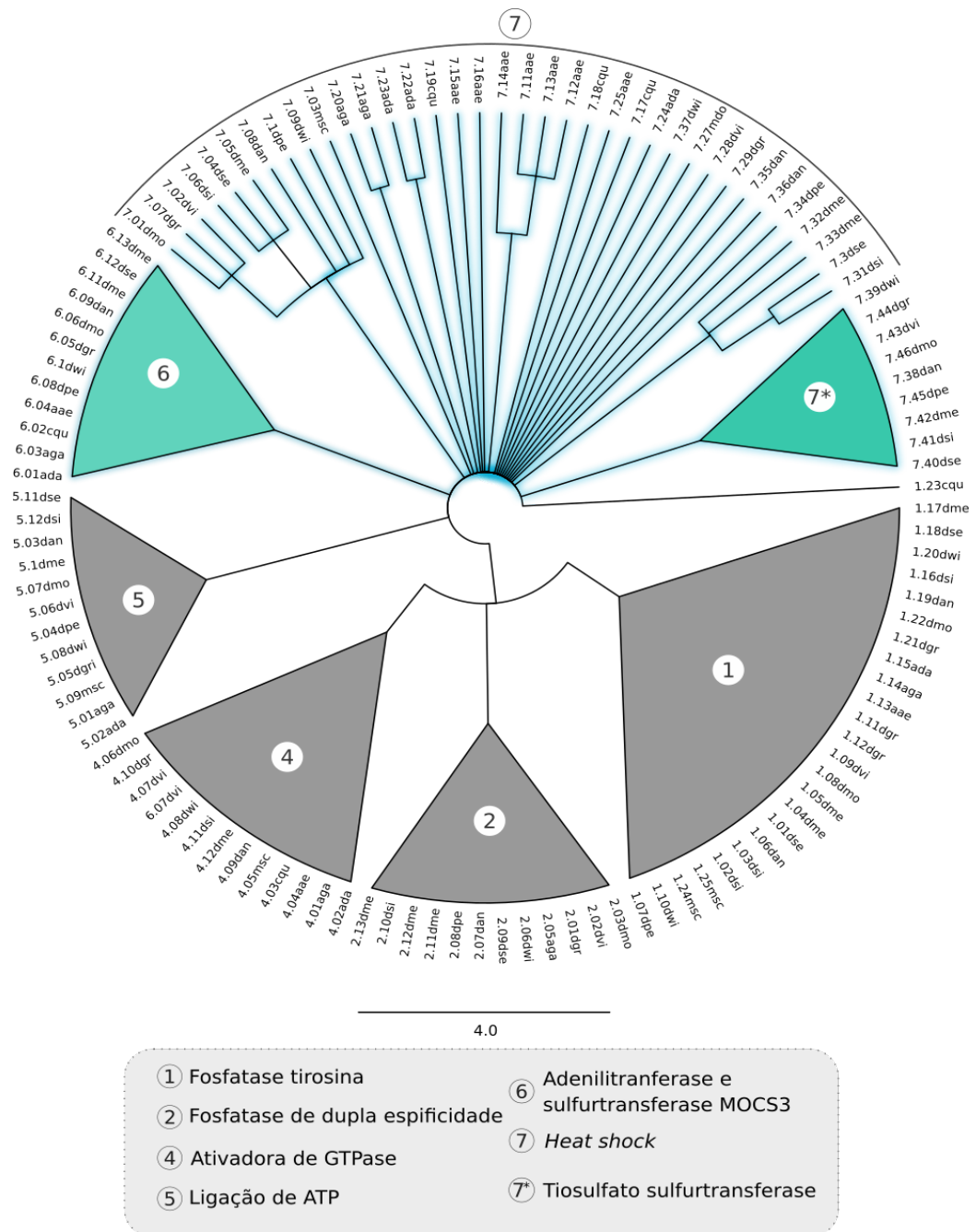


Figura 3. Árvore filogenética gerada a partir de alinhamento de aminoácidos dos genes com o domínio Rodanase em Diptera. Os ramos marcados em azul foram utilizados nas análises. Os números indicam as funções de cada proteína da superfamília da Rodanase.

A partir dessa primeira estimativa da relação filogenética entre as sequências das linhagens de Diptera, escolhemos as linhagens marcadas em azul na Figura 3. Nestas linhagens estão representadas proteínas da superfamília Rodanase que possuíam o domínio da rodanase, mas que evoluíram para três funções diferentes. Para as análises subsequentes utilizamos apenas as sequências de DNA (58 sequências de 14 organismos). Esquema da obtenção das sequências pode ser observado na Figura 4.

Alinhamos estas sequências de DNA por análise códon a códon pelo software PRANK v. 140603 (LÖYTYNOJA; GOLDMAN, 2010). O alinhamento de sequências de



DNA torna-se problemático quando se lida com sequências muito divergentes, como aquelas encontradas na superfamília Rodanase. Dessa forma, adotamos a estratégia de alinhamento em blocos, criada em nosso laboratório. Nesta estratégia separamos regiões de maior similaridade em grupos isolados, sendo cada grupo de similaridade alinhado separadamente para ser posteriormente reagrupado, de forma a restaurar a sequência completa do gene.

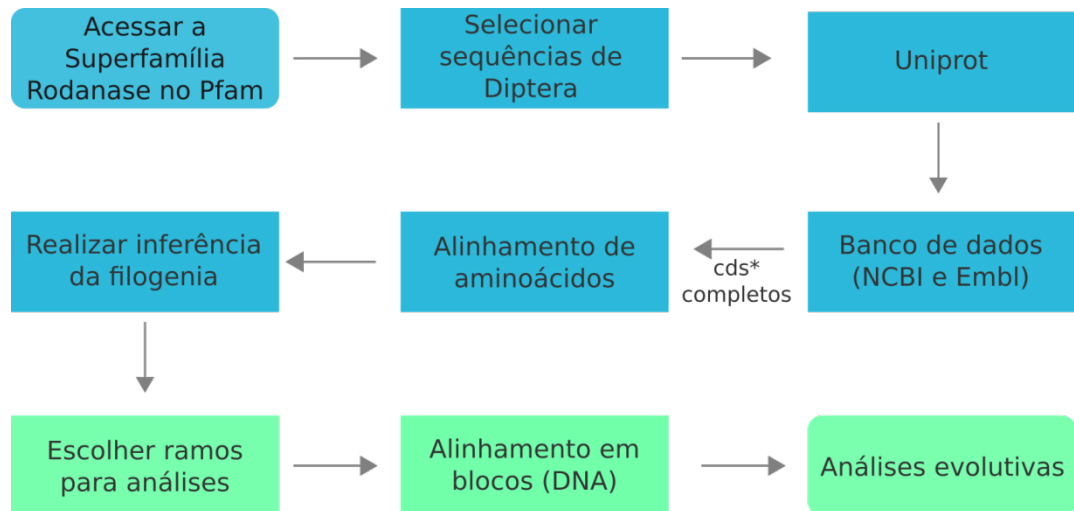


Figura 4. Esquema de obtenção das sequências. \*Sequências codificantes

Inferimos a filogenia por máxima verossimilhança, utilizando o modelo evolutivo GTR+G+I (General Time Reversible, com distribuição gama e com sítios invariáveis). A estimativa do modelo evolutivo e a inferência da filogenia por foi realizada no software MEGA7.0.26 (KUMAR; STECHER; TAMURA et al., 2016).

## ANÁLISE DO PADRÃO DE EVOLUÇÃO MOLECULAR

Em famílias gênicas com várias cópias parálogas, espera-se um relaxamento da restrição seletiva sobre as cópias gênicas após um evento de duplicação, facilitando a diversificação de uma delas por seleção natural. Portanto, a expectativa seria a de que o sinal de seleção positiva pudesse ser detectado em ramos que representassem o surgimento de novas funções nas proteínas dessa família gênica. Em nosso estudo, o teste de seleção positiva (*branch-site test*), foi aplicado em dois ramos distintos da filogenia estimada anteriormente, cada qual representando uma forma distinta de neofuncionalização da cópia paróloga: (1) no ramo no qual evoluiu a neofuncionalização sem surgimento de novo domínio (tiosulfato sulfurtransferase) (*foreground 1*) e (2) no ramo no qual evoluiu a neofuncionalização pela aquisição de novo domínio (domínio ThiF em adenililtransferase e sulfurtransferase MOCS3) (*foreground 2*). Em cada perfil de análise os demais ramos excluídos dos *foregrounds* foram denominados *backgrounds*, sendo usados para as comparações dos testes.

O *branch-site test* baseia-se na comparação entre o número de substituições sinônimas por sítio sinônimo (dS) e o número de substituições não-sinônimas por sítio

não-sinônimo (dN). Substituições sinônimas são substituições de sítios fixadas em uma linhagem evolutiva, na qual não ocorreu alterações na sequência do aminoácido. Por outro lado, nas substituições não-sinônimas o aminoácido é modificado. Em um modelo no qual a seleção natural não está atuando, a razão esperada entre as taxas de substituições sinônimas e não sinônimas é de 1 ( $dN/dS = 1$ ), pois a taxa de fixação é praticamente igual entre os dois tipos de substituição. Se a sequência estiver sob seleção purificadora, a taxa de substituições sinônimas será maior que a taxa de substituições não-sinônimas ( $dN/dS < 1$ ), indicando que o códon ou a região gênica está sob uma restrição seletiva. Por outro lado, se a taxa de substituições não-sinônimas for maior que a taxa de substituições sinônimas, a sequência está sendo selecionada positivamente ( $dN/dS > 1$ ), indicando que a seleção natural está favorecendo a divergência adaptativa de uma determinada região gênica.

Assim, no *branch-site test* verificamos a razão dN/dS nos dois ramos especificados tendo como hipótese nula de que a diferenciação observada entre as cópias parálogas deveu-se apenas pela ação da deriva genética, caracterizando uma evolução neutra. Essa hipótese foi tratada em um modelo nulo, chamado de M1a, no qual os códons podem apenas evoluir por seleção purificadora ( $dN/dS < 1$ ) ou neutramente ( $dN/dS = 1$ ). A hipótese alternativa considera que a diferenciação observada entre os parálogos ocorreu pela ação da seleção natural, promovendo a neofuncionalização de um dos parálogos. Esta hipótese foi tratada em um modelo, chamado de MA, que permite a evolução dos códons também por seleção positiva ( $dN/dS > 1$ ). O *branch-site test* foi realizado no software CODEML implementado no pacote PAML 1.40603 (YANG, 2007; ZHANG; WONG; NIELSEN, 2005). Os testes foram contrastados através de um teste de razão de verossimilhanças (LRT – *likelihood ratio test*), utilizando o valor de  $\ln L$  (log do *likelihood*) de cada modelo.

Para os dois ramos foram estimadas a presença de seleção positiva em códons individuais, utilizando o teste *Bayes Empirical Bayes* (BEB) acoplado ao *branch-site test* (YANG; WONG; NIELSEN, 2005). Também realizamos o *site-test* separadamente em cada ramo, utilizando o software Selecton (STERN et al., 2007).

## RESULTADOS

### Evolução molecular pós duplicação gênica

A duplicação gênica é um dos principais mecanismos da evolução de famílias gênicas. Um dos possíveis destinos das cópias é a evolução de novas funções a partir de substituições na sequência de DNA, com ou sem o ganho de novos domínios funcionais. Dessa forma, testamos a expectativa de que o sinal de seleção positiva pudesse ser detectado em ramos que representassem o surgimento de novas funções nas proteínas da família gênica das rodanases.

As duas linhagens evidenciadas na Figura 5 foram usadas como os *foregrounds* utilizados no *branch-site* teste. Foram utilizados os modelos nulos M1a e MA restrito e

modelo alternativo MA usados para contraste em cada *foreground*. Há três proporções para cada modelo. Sendo eles,  $p^1$  são proporções de códons em seleção purificadora,  $p^2$  evolução neutra e  $p^{3+4}$  seleção positiva. Normalmente espera-se que a maior proporção de códons seja de códons em seleção purificadora, porém, no *foreground* 2, há uma maior proporção de códons em seleção positiva.

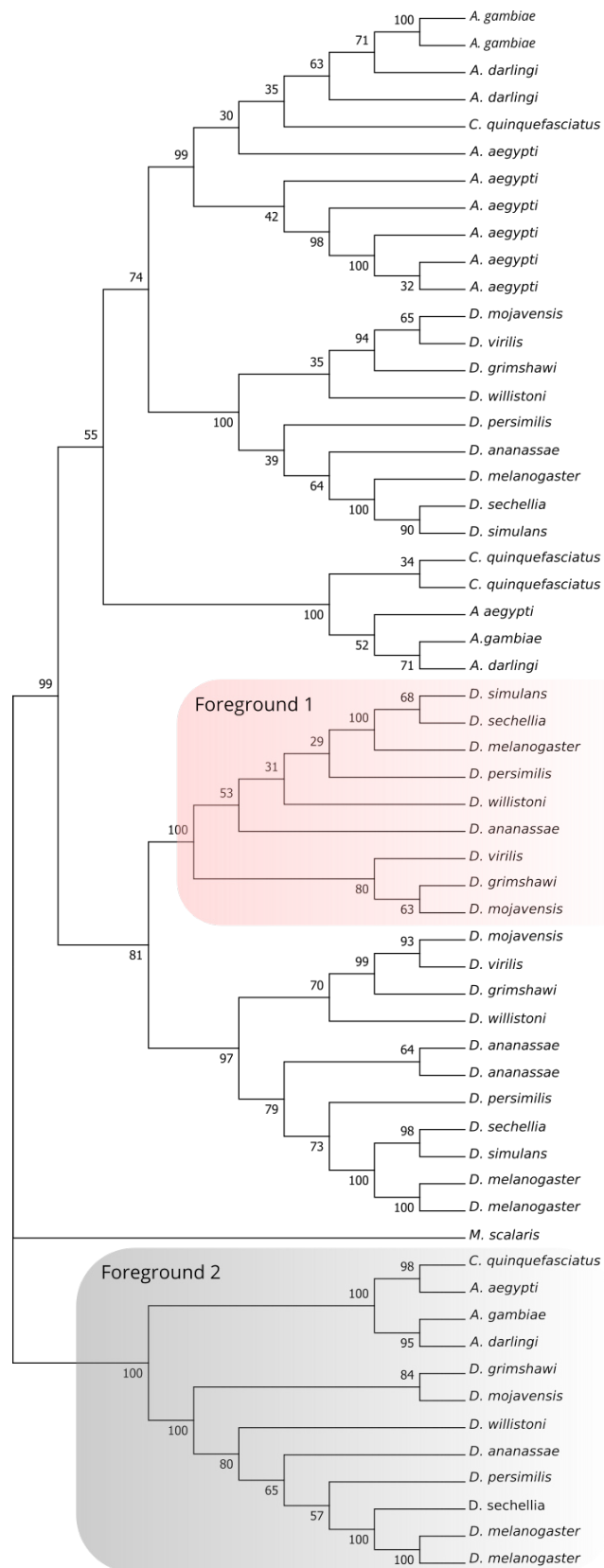


Figura 5. Árvore filogenética estimada a partir do método de Máxima Verosimilhança para a análise de seleção positiva. A área evidenciada em vermelho indica o ramo foreground no qual as proteínas evoluíram para novas funções sem ganho de domínio aparente e a área

evidenciada em cinza indica, o ramo foreground em que as proteínas ganharam um domínio.

Os modelos nulo (ausência de seleção positiva) e alternativo (presença de seleção positiva) foram contrastados utilizando o valor de LNL pelo teste de LRT (Tabela 1). No *foreground 1*, o modelo MA foi significativo no contraste entre o M1a e MA null ( $p = 0.003$  e  $p = 0.00004$  respectivamente), evidenciando evolução por seleção positiva nessa linhagem. Entre os contrastes com o *foreground 2*, não houve diferença significativa (Tabela 1).

A análise do *Bayes Empirical Bayes*, utilizando o *foreground 1*, mostrou que doze códons estavam sendo selecionados positivamente ( $P > 95\%$ ), sendo quatro com mais de 99% de probabilidade (Tabela 1). Na Figura 6 podemos observar o alinhamento dessa linhagem com os respectivos códons em seleção. Curiosamente, um desses códons está no sítio catalítico da enzima, região essa que normalmente é a mais conservada da proteína.

<i>Foreground</i>	Contraste	GI	LRT	Códons selecionados positivamente (BEB)
2	M1a x MA	2	4.438	
	MA null x MA	1	0.319	
1	M1a x MA	2	20.135*	<b>964, 969, 970, 978,</b> 1024, 1030, 1038,
	MA null x MA	1	8.676**	<b>1041, 1042, 1063,</b> <b>1070, 1081.</b>

Tabela 1. Contraste dos modelos M1a, MA restrito e MA por LRT

\* $p < 0.003$  \*\* $p < 0.00004$ . Códons marcados em negrito com  $p > 99\%$

A partir desses resultados deduzimos que a evolução da nova função de TST das proteínas do tipo rodanase, foi predominantemente por seleção positiva, porém para a função de MOCS3 não há sinal significativo de seleção positiva promovendo sua mudança.

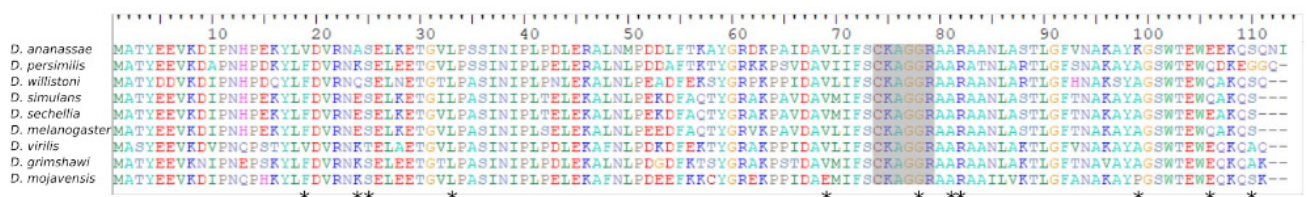


Figura 7. Alinhamento do ramo foreground 1, linhagem TST. \* - Sítios selecionados positivamente. Evidenciado em está o sítio catalítico



Figura 8. Análise de padrão de seleção por códon (site-test) em MOCS3 (1) e TST (2). Evidenciado em rosa estão os domínios Thif e Rhod, em cinza (A) e (B), domínios conservados similares nas duas linhagens.

## EVOLUÇÃO MOLECULAR PÓS NEOFUNCIONALIZAÇÃO

Após a duplicação em famílias gênicas é comum encontrar um padrão em que as cópias parálogas evoluem por uma seleção purificadora mais relaxada e se diversificam posteriormente por seleção positiva (KAESSMANN et al., 2010). Depois da neofuncionalização, espera-se que a seleção natural por trás desse evento, torne-se purificadora, mantendo a nova função adquirida (INNAN, KONDRASHOV, 2010). Para testar como TST e MOCS3 se comportaram após a duplicação e a neofuncionalização, realizamos o *site test* dentro de cada grupo. O resultado deste teste não mostrou qualquer códon sendo selecionado positivamente, indicando uma predominância de códons sob seleção purificadora (Figura 7). Na Figura 7 ainda é possível observar duas regiões (A e B) mais conservadas no domínio Rhod, sendo uma delas o domínio catalítico (A). Apesar da predominância da restrição seletiva, a seleção purificadora ocorreu de forma mais relaxada em alguns segmentos das MOCS3 e TSTs.

## DISCUSSÃO

### Padrão de seleção nas linhagens MOCS3 e TST.

Após eventos de duplicações dentro de famílias gênicas, o novo gene pode sofrer uma neofuncionalização com ou sem ganho de domínio (MAGADUM et al., 2013). Apesar da expectativa de encontrar seleção positiva nas duas formas de mudança de função, não encontramos sinal de seleção positiva na linhagem MOCS3, na qual

houve ganho de domínio em sua neofuncionalização. É possível que a diferenciação de função tenha ocorrido sob influência da seleção positiva em MOCS3, mas o teste *branch-site* poderia não ter o poder estatístico necessário para a detecção desse tipo de seleção dada a elevada divergência entre as sequências de MOCS3. Quando há grande divergência entre as sequências estudadas, o *branch-site* teste perde poder estatístico e não detecta sinais de seleção (YANG; REIS, 2011).

Por outro lado, detectamos sinal de seleção positiva para a linhagem de TST. Curiosamente alguns sítios sob seleção positiva foram identificados no sítio catalítico da enzima ou próximo a ele. Normalmente nessas regiões encontra-se apenas a seleção purificadora, impedindo que alterações se fixem, visto que pequenas mudanças podem ser capazes de alterar a estrutura da proteína ou afinidade com o substrato, ou seja, comprometendo a funcionalidade da proteína (CARLSON et al., 1994; HANKS; QUINN; HUNTER, 1988; HANKS; HUNTER, 1995). Apesar de ser um padrão inesperado, a diversificação por seleção positiva em domínios conservados foi também observada em proteínas como DOUBLESEX (SOBRINHO; BRITO, 2012). Isso pode ser entendido a partir do processo do surgimento das novas cópias dentro da família gênica. Assim sendo, quando há duplicação gênica, a pressão seletiva se afrouxa, inclusive no sítio catalítico, pois possíveis mutações que alterariam o funcionamento da proteína, podem ser mantidas, visto que, há uma redundância das cópias. Esta redundância permite que uma das cópias desenvolva novas propriedades funcionais, enquanto a outra cópia é preservada em sua função ancestral (INNAN; KONDRASHOV, 2010; KAESSMANN, 2010; OHNO, 1970).

### Origem das TST

Observando a filogenia (Figura 4) é possível verificar que as TST formam um grupo monofilético. Esse grupo surge a partir de proteínas mais diversas que também possuem o domínio Rhod, sendo algumas identificadas como proteínas *heat-shock* (PHS). Hipotetizamos então, que possivelmente as TST tenham se originado a partir das PHS, uma vez que estas últimas são proteínas mais inespecíficas (FEDER; HOFMANN, 1999), e não possuem grande especificidade a um único substrato (SUN; MACRAE, 2005). Essa inespecificidade pode ter sido um fator que tenha facilitado a evolução das TST como um grupo de proteínas mais especializado na transferência do sulfato, por não exigir mudanças radicais no momento da troca para afinidade por um substrato específico.

Esse tipo de evolução pode ser evidenciado pelo trabalho de Bordo (2002), no qual o autor verificou que a mudança mais expressiva entre as TST e fosfatases *cdc25*, da mesma família gênica das rodanases, era o ganho de um aminoácido no sítio catalítico das *cdc25*. Esse único aumento resultou em um sítio catalítico mais amplo, que foi capaz de acomodar um átomo de fósforo, quimicamente maior que um átomo de enxofre, possibilitando a reação de fosfatase em vez de sulfurtransferase.

O presente trabalho indica mudanças maiores, como evidenciado pelos 11 sítios sob seleção positiva, incluindo um dentro do sítio catalítico.

Apesar de o ramo monofilético indicar a evolução das TST a partir das proteínas menos especializadas, esta hipótese deve ser corroborada por uma análise mais ampla de toda a família gênica das rodanases, pois esta divergência pode ter sido mais antiga que a presente no ramo dos Diptera analisado aqui.

## EVOLUÇÃO APÓS NEOFUNCIONALIZAÇÃO

Após eventos de duplicações e neofuncionalizações, um dos modelos esperados é o de que seleção purificadora mantenha as novas funções dos novos genes (FORCE et al., 1999; INNAN; KONDRASHOV, 2010). TST e MOCS3 mostram esse comportamento, evidenciado pelo padrão de seleção purificadora mostrado pelo *site-test* (não verificando seleção positiva). Este mesmo padrão é também evidenciado no contraste entre genes Acp (Proteínas da Glândula Acessória) e não-Acp de *Drosophila*, que mostra uma maior força da seleção purificadora após a duplicação gênica e uma possível neofuncionalização (ALMEIDA; DESALLE, 2008). Da mesma forma, no genoma do milho, foram encontrados genes regulatórios neofuncionalizados que experimentaram seleção purificadora (HUGHES; LANGDALE; KELLY, 2014).

Outros modelos sugerem que a seleção purificadora atua normalmente apenas na cópia ancestral, com a seleção positiva atuando na cópia neofuncionalizada. Este não parece ser o padrão de evolução das TST e MOCS3 do presente estudo, mas foi encontrado na evolução dos genes *Caf1-55* e *Caf1-55dup* de *Drosophila*. Neste caso, a seleção purificadora atuou fortemente na manutenção da função da cópia ancestral (*Caf1-55*), ao passo que a seleção positiva atuou após a neofuncionalização da nova cópia (*Caf1-55dup*) (CALVO-MARTÍN; PAPACEIT; SEGARRA, 2017).

## CONCLUSÃO

Não encontramos sinal de seleção positiva na linhagem MOCS3, na qual houve ganho de domínio em sua neofuncionalização. É possível que a diferenciação de função tenha ocorrido sob influência da seleção positiva em MOCS3, entretanto é necessário a utilização de testes menos sensíveis a sequências divergentes.

Por outro lado, no ramo das TST foi possível detectar sinal de seleção positiva, além de alguns códons sendo selecionados positivamente, indicando que a diferenciação da função de TST foi determinada por seleção positiva.

Após os eventos de duplicação que culminaram nas novas funções de MOCS3 e TST, observamos que a seleção purificadora manteve as funções de ambas as proteínas.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Profa. Dra. Elaine Christina Castelhana e à MS. Olivia Basso Rocha pelas valiosas sugestões e pela revisão crítica do manuscrito.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. C.; DESALLE, R. Orthology, Function and Evolution of Accessory Gland Proteins in the *Drosophila* repleta Group. *Genetics*, v. 181, n. 1, p. 235–245, 17 nov.2008.
- AMIRI, H. Birth and Death of Orphan Genes in *Rickettsia*. **Molecular Biology and Evolution**, v. 20, n. 10, p. 1575–1587, 27 jun. 2003.
- BEDE, J. C. et al. Caterpillar Herbivory and Salivary Enzymes Decrease Transcript Levels of *Medicago truncatula* genes Encoding Early Enzymes in Terpenoid Biosynthesis. **Plant Molecular Biology**, v. 60, n. 4, p. 519–531, mar. 2006.
- BEESELEY, S. G.; COMPTON, S. G.; JONES, D. A. Rhodanese in insects. **Journal of Chemical Ecology**, v. 11, n. 1, p. 45–50, 1985.
- BEGUN, D. J. et al. Evidence for de novo evolution of testis-expressed genes in the *Drosophila yakuba/Drosophila erecta* clade. **Genetics**, v. 176, n. 2, p. 1131–7, jun. 2007.
- BORDO, D. The rhodanese/Cdc25 phosphatase superfamily: Sequence-structure-function relations. **EMBO Reports**, v. 3, n. 8, p. 741–746, 15 ago. 2002.
- BRATTSTEN, L. B. et al. Cyanide as a feeding stimulant for the southern armyworm, *Spodoptera eridania*. **Ecological Entomology**, v. 8, p. 125–135, 1983.
- CALVO-MARTÍN, J. M.; PAPACEIT, M.; SEGARRA, C. Evidence of neofunctionalization after the duplication of the highly conserved Polycomb group gene Caf1-55 in the obscura group of *Drosophila*. **Scientific Reports**, v. 7, p. 40536, 17 jan. 2017.
- CARLSON, K. M. et al. Single missense mutation in the tyrosine kinase catalytic domain of the RET protooncogene is associated with multiple endocrine neoplasia type 2B. **Medical Sciences**, v. 91, p. 1579–1583, 1994.
- CIPOLLONE, R.; ASCENZI, P.; VISCA, P. Common themes and variations in the rhodanese superfamily. **IUBMB Life**, v. 59, n. 2, p. 51–59, 2007.
- DAOUST, S. P. et al. Influence of epicuticular-wax composition on the feeding pattern of a phytophagous insect: implications for host resistance. **The Canadian Entomologist**, v. 142, n. 03, p. 261–270, 2 jun. 2010.
- DAYHOFF, M. O. et al. Evolution of sequences within protein superfamilies. **Die Naturwissenschaften**, v. 62, n. 4, p. 154–161, abr. 1975.
- DEMUTH, J. P.; HAHN, M. W. The life and death of gene families. **BioEssays**, v. 31, n. 1, p. 29–39, jan. 2009.
- DESPRÉS, L.; DAVID, J.-P.; GALLET, C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 22, n. 6, p. 298–307, jun. 2007.
- FEDER, M. E.; HOFMANN, G. E. HEAT-SHOCK PROTEINS, MOLECULAR CHAPERONES, AND THE STRESS RESPONSE: Evolutionary and Ecological Physiology. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 61, p.



243–282, 1999.

FORCE, A. et al. Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. **Genetics**, v. 151, n. 4, p. 1531–45, abr. 1999.

FOX, C. W. et al. Genetic architecture of population differences in oviposition behaviour of the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 17, n. 5, p. 1141–1151, 8 abr. 2004.

FUNK, D. J.; FILCHAK, K. E.; FEDER, J. L. Herbivorous insects: model systems for the comparative study of speciation ecology. **Genetica**, v. 116, n. 2/3, p. 251–267, 2002.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. Insetos e plantas. In: **Insetos - Fundamentos da Entomologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. p. 215–238.

HALL, C.; BRACHAT, S.; DIETRICH, F. S. Contribution of Horizontal Gene Transfer to the Evolution of *Saccharomyces cerevisiae*. **Eukaryotic Cell**, v. 4, n. 6, p. 1102–1115, 1 jun. 2005.

HANKS, S. K.; HUNTER, T. Protein kinases 6. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification. **The FASEB Journal**, v. 9, n. 8, p. 576–596, maio 1995.  
HANKS, S. K.; QUINN, A. M.; HUNTER, T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. **Science (New York, N.Y.)**, v. 241, n. 4861, p. 42–52, 1 jul. 1988.

HUGHES, A. L. The Evolution of Functionally Novel Proteins after Gene Duplication. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 256, n. 1346, p. 119–124, 23 maio 1994.

HUGHES, T. E.; LANGDALE, J. A.; KELLY, S. The impact of widespread regulatory neofunctionalization on homeolog gene evolution following whole-genome duplication in maize. **Genome Research**, v. 24, n. 8, p. 1348–1355, ago. 2014.

INNAN, H.; KONDRASHOV, F. The evolution of gene duplications: classifying and distinguishing between models. **Nature Reviews Genetics**, v. 11, n. 2, p. 97–108, 6 fev. 2010.

KAESSMANN, H. Origins, evolution, and phenotypic impact of new genes. **Genome Research**, v. 20, n. 10, p. 1313–1326, 1 out. 2010.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870–1874, jul. 2016.

LOYTYNOJA, A.; GOLDMAN, N. webPRANK: a phylogeny-aware multiple sequence aligner with interactive alignment browser. **BMC Bioinformatics**, v. 11, n. 1, p. 579, 2010.

MAGADUM, S. et al. Gene duplication as a major force in evolution. **Journal of Genetics**, v. 92, n. 1, p. 155–161, 2013.

MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 431–450, 2 jun. 2012.

MUELLER, J. L. Cross-Species Comparison of *Drosophila* Male Accessory Gland Protein Genes. **Genetics**, v. 171, n. 1, p. 131–143, 18 jun. 2005.

MUSSER, R. O. et al. Caterpillar saliva beats plant defences. **Nature**, v. 416, p. 599–600, 2002.

NEALIS, V. G.; NAULT, J. R. Seasonal Changes in Foliar Terpenes Indicate Suitability Of Douglas-fir Buds for Western Spruce Budworm. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 4, p. 683–696, 25 abr. 2005.

- NISHIDA, R. Sequestration of defensive substances from plants by lepidoptera. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 47, p. 57–92, 2002.
- NYMAN, T.; JULKNEN-TIITTO, R. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies. **PNAS**, v. 97, n. 24, p. 13184–13187, 2000.
- OHNO, S. **Evolution by Gene Duplication**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1970.
- PLOEGMAN, J. H. et al. Structure of Bovine Liver Rhodanese I. Structure Determination at 2.5 Å Resolution and a Comparison of the Conformation and Sequence of its Two Domains. **J. Mol. Biol.**, v. 128, p. 557–594, 1978.
- PLOEGMAN, J. H. et al. The Structure of Bovine Liver Rhodanese II. The Active Site in the Sulfur-substituted and the Sulfur-free Enzyme. **J. Mol. Biol.**, v. 127, p. 149–162, 1979.
- SCHMID, K. J.; AQUADRO, C. F. The evolutionary analysis of “orphans” from the *Drosophila* genome identifies rapidly diverging and incorrectly annotated genes. **Genetics**, v. 159, n. 2, p. 589–98, out. 2001.
- SOBRINHO, I. S.; DE BRITO, R. A. Positive and purifying selection influence the evolution of doublesex in the *Anastrepha fraterculus* species group. **PloS one**, v. 7, n. 3, p. e33446, 2012.
- STERN, A. et al. Selecton 2007: advanced models for detecting positive and purifying selection using a Bayesian inference approach. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. Web Server, p. W506–W511, 8 maio 2007.
- SUN, Y.; MACRAE, T. H. Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, n. 21, p. 2460–2476, 7 nov. 2005.
- WARD, L. K.; HACKSHAW, A.; CLARCKE, R. T. Do food-plant preferences of modern families of phytophagous insects and mites reflect past evolution with plants? **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 78, p. 51–83, 2003.
- YANG, Z. PAML 4: Phylogenetic Analysis by Maximum Likelihood. **Molecular biology and evolution**, v. 24, p. 1586–1591, 2007.
- YANG, Z.; DOS REIS, M. Statistical Properties of the Branch-Site Test of Positive Selection. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 3, p. 1217–1228, 1 mar. 2011.
- YANG, Z.; WONG, W. S. W.; NIELSEN, R. Bayes empirical bayes inference of amino acid sites under positive selection. **Molecular biology and evolution**, v. 22, n. 4, p. 1107–18, abr. 2005.
- ZAGROBELNY, M. et al. Cyanogenic glucosides and plant–insect interactions. **Phytochemistry**, v. 65, n. 3, p. 293–306, fev. 2004.
- ZHANG, J.; NIELSEN, R.; YANG, Z. Evaluation of an improved branch-site likelihood method for detecting positive selection at the molecular level. **Molecular biology and evolution**, v. 22, n. 12, p. 2472–2479, dez. 2005.



## **SOBRE O ORGANIZADOR**

**Benedito Rodrigues da Silva Neto** - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. arroz, milho, sorgo, plantas de cobertura e integração lavoura pecuária. E-mail para contato: alan\_zuffo@hotmail.com

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-421-4

