

## de la familia génica de glutamina sintetasa en plantas

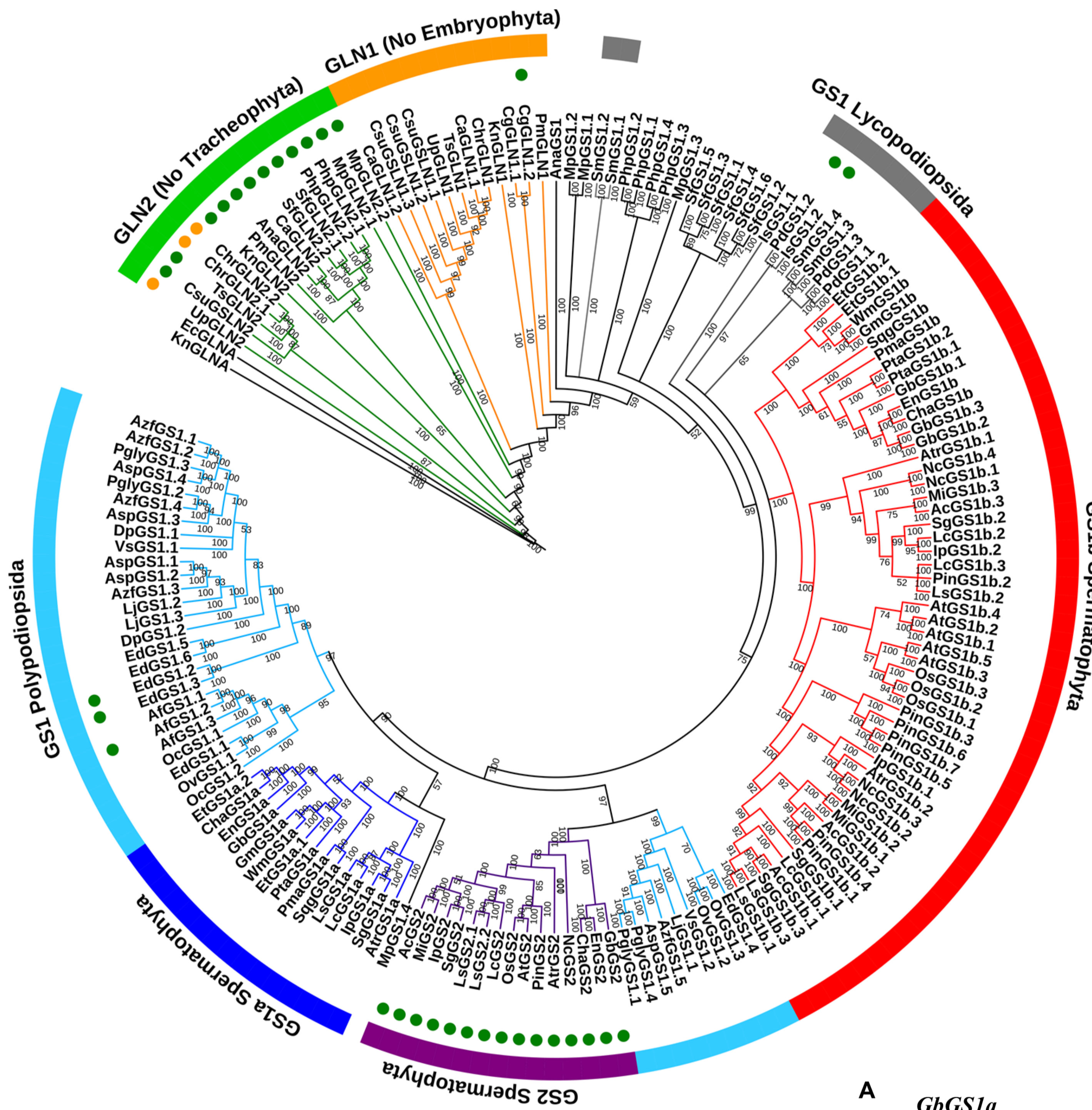
José Miguel Valderrama-Martín<sup>1,3</sup>, Francisco Ortigosa<sup>1</sup>, Concepción Ávila<sup>1</sup>, Francisco M. Cánovas<sup>1</sup>, Bertrand Hirel<sup>2</sup>,  
 Francisco R. Cantón<sup>3</sup>, Rafael A. Cañas<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Biología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga, Campus Universitario de Teatinos, 29071-Málaga, Spain.

<sup>2</sup> Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE), Centre de Versailles-Grignon, RD 10, 78026 Versailles cedex, France.

<sup>3</sup> Integrative Molecular Biology Lab, Universidad de Málaga, Campus Universitario de Teatinos, 29071-Málaga, Spain.

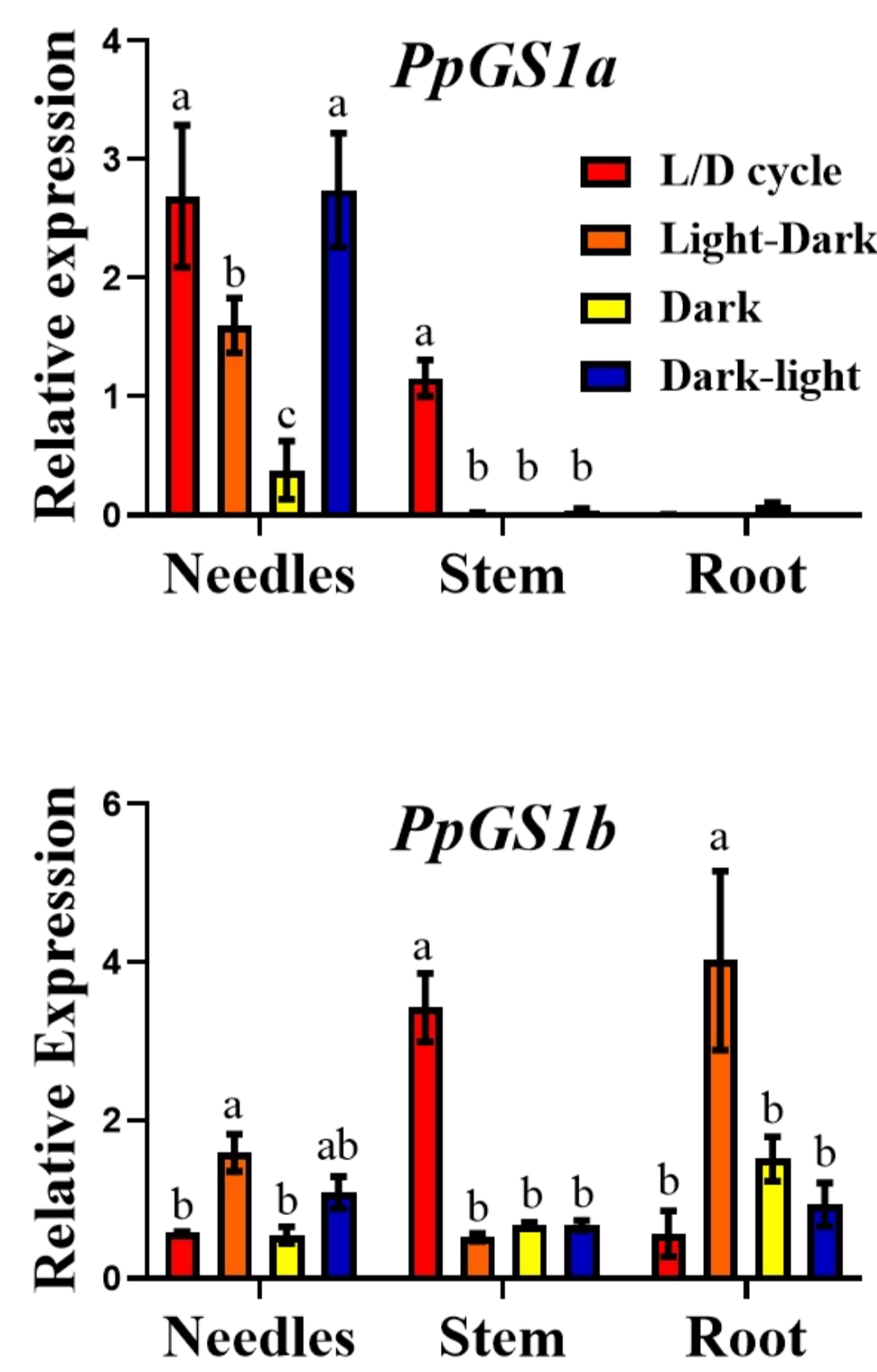
La enzima glutamina sintetasa (GS) cataliza la incorporación dependiente de ATP de amonio en el aminoácido glutamato para producir glutamina. Por lo tanto, constituye la principal, si no la única, vía para la incorporación del nitrógeno inorgánico en moléculas orgánicas. En plantas, se distinguen dos grupos; GLN1/GS, de origen eucariota, y GLN2, de origen eubacteriano adquirida por transferencia horizontal [1]. En angiospermas, se distinguen a su vez dos grupos de genes nucleares que codifican enzimas del grupo GLN1/GS: GS1 de localización citosólica y codificada por una pequeña familia génica y GS2 de localización plastídica y codificada, generalmente, por un único gen. Las isoformas citosólicas y plastídica desempeñan distintas funciones metabólicas y fisiológicas [2]. Las isoformas de GS1 están principalmente implicadas en la asimilación primaria de nitrógeno en raíces, así como en la movilización y translocación de nitrógeno en distintos órganos. Mientras que la GS2 plastídica está presente, principalmente, en tejidos fotosintéticos y está implicada en asimilar el amonio generado por la reducción del nitrato o liberado en la vía fotorrespiratoria. Por el contrario, las coníferas carecen de GS2 y las funciones desempeñadas por ella en angiospermas las realiza una isoforma citosólica (GS1a) [3]. Esta forma particular de GS citosólica solo ha sido identificada y caracterizada previamente en coníferas. El objetivo específico de este trabajo es posicionar filogenéticamente la presencia de genes que codifican GS1a y GS2 en las plantas terrestres. Este estudio se enmarca en una línea de investigación iniciada en el grupo de investigación Integrative Molecular Biology Lab para estudiar el papel de las isoformas GS1a y GS2 en la evolución y adaptación de las plantas al medio terrestre.



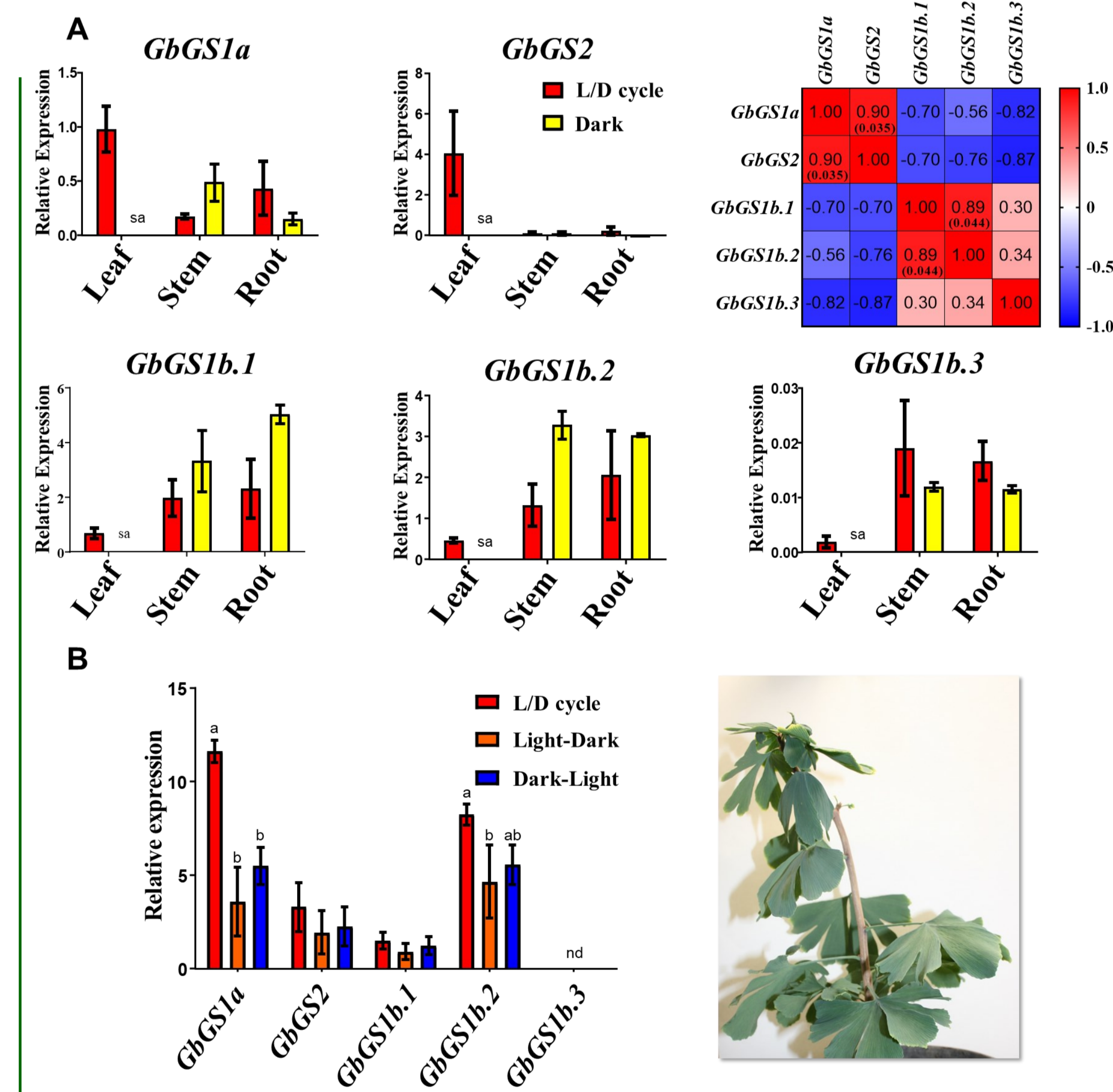
**Figura 1.** Árbol bayesiano (consenso) de las relaciones filogenéticas entre las secuencias ortólogas de las regiones codificantes de los genes de glutamina sintetasa de plantas. Valores de consistencia de los nodos expresados como porcentajes. Círculos Verdes: secuencias con localización plastídica predicha. Círculos Naranjas: secuencias con localización mitocondrial predicha.

### Resultados y conclusiones:

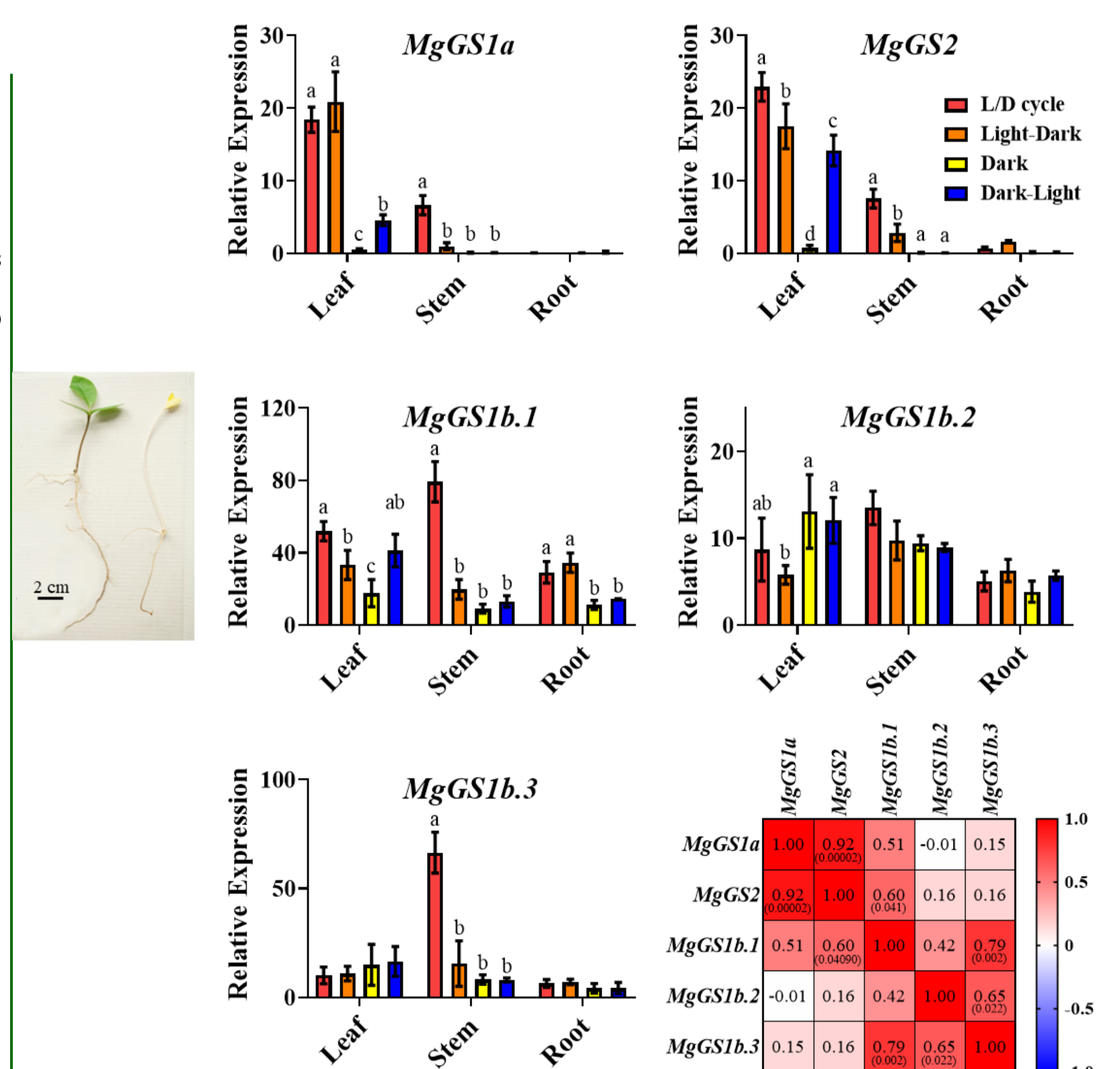
1. Sugerimos una reclasificación de las GS de plantas con semillas en tres grupos funcionales: GS1a, GS1b (citosólicas) y GS2 (plastídica).
2. En gimnospermas, además de en Ginkgo la presencia de la GS2 se expande al grupo Cycadopsida. Puesto que Cycadopsida y Ginkgoopsida forman un grupo monofilético [4,5], la situación más parsimoniosa es que el gen de GS2 surgió en un ancestro común de Cycadopsida/Ginkgoopsida y angiospermas, quedando Coniferosida y Gnetopsida sin GS2.
3. El gen de la GS1a está presente no solo en todos los grupos de gimnospermas, sino también en angiospermas basales y algunas especies de Magnoliidae.
4. Los resultados sugieren que el origen de la GS2 pudo ser el resultado de la duplicación y posterior evolución de un gen de GS1a ancestral.



*Pinus pinaster*



*Ginkgo biloba*



*Magnolia grandiflora*

**Figura 2.** Efecto de la luz sobre la expresión de los genes (RT-qPCR) de GS en los distintos órganos de plántulas de tres especies que incluyen un gen de GS1a en su genoma. L/D cycle: germinación y desarrollo bajo fotoperiodo de día largo (16 horas de luz y 8 de oscuridad); Light-Dark: germinación y desarrollado bajo fotoperiodo de día largo y transferencia a oscuridad durante 24 horas; Dark: germinación y desarrollo bajo oscuridad continua; Dark-light: germinación y desarrollado bajo oscuridad continua y transferencia a fotoperiodo de día largo durante 24 horas. Las diferencias se analizaron mediante un ANOVA de dos factores para cada tratamiento en el mismo órgano. Las letras sobre las columnas indican diferencias significativas (Tukey's post-hoc,  $p < 0.05$ ). nd= no detectado; sa= sin muestra. Los tableros con gradientes de color azul y rojo muestran los resultados de un análisis de correlación de Pearson. Para *Ginkgo biloba*: A, se utilizaron plántulas de un mes tras la germinación. B, se utilizaron plántulas de 1 año tras la germinación.

### Resultados y conclusiones:

5. Los niveles de transcritos de los genes que codifican GS1a y GS2 en ginkgo y magnolia apoyan que ambas isoformas desempeñan funciones redundantes en tejidos fotosintéticos, conforme a la función previamente sugerida para GS1a en coníferas [3].

6. La redundancia funcional de las isoformas GS1a y GS2 podría explicar la ausencia de genes que codifiquen GS1a en las angiospermas más recientes (monocotiledóneas y eudicotiledóneas).

7. Dado que los genes que codifican GS1a y GS2 solo están presentes en plantas con semillas, podrían haber jugado un papel importante en la adaptación final de las plantas al medio terrestre.

### Referencias.

- [1] Ghoshroy et al. (2010) BMC Evol. Biol.10:198.
- [2] Hirel and and Krapp (2021) Encyclopedia of Biological Chemistry III (Third Edition). Editor: Joseph Jez, 1: 127–140. Elsevier.
- [3] Cánovas et al. (2007) J. Exp. Bot. 58:2307-2318.
- [4] Wu et al. (2013) Genome Biol. Evol. 5:243-254.
- [5] Li et al. (2017) Genome Biol. Evol. 9:1130-1147.



Para más información consultar: Valderrama-Martín et al (2021) bioRxiv doi: 10.1101/2021.11.08.467771