

**INSTITUTO FEDERAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS
MORRINHOS
GRADUAÇÃO EM BACHAREL EM AGRONOMIA**

BRENDA KAROLINE SILVA OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DO MARCADOR SNP 7 PARA USO NA SELEÇÃO ASSISTIDA
DE GENÓTIPO DE ARROZ TOLERANTES À SECA**

**Morrinhos-Goiás
2023**

**INSTITUTO FEDERAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS
MORRINHOS
GRADUAÇÃO EM BACHAREL EM AGRONOMIA**

BRENDA KAROLINE SILVA OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DO MARCADOR SNP 7 PARA USO NA SELEÇÃO ASSISTIDA
DE GENÓTIPO DE ARROZ TOLERANTES À SECA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, orientado pelo Prof^o. Dr. Emerson Trogello, como parte dos requisitos do Curso Bacharelado em Agronomia para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

**Morrinhos- Goiás
2023**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

OB837v Oliviera, Brenda Karoline Silva
Validação do marcador SNP7 para uso na seleção
assistida de genótipos de arroz tolerantes à seca /
Brenda Karoline Silva Oliviera; orientador Emerson
Trogiello; co-orientador Claudio Brondani. --
Morrinhos, 2023.
34 p.

TCC (Graduação em Bacharelado em Agronomia) --
Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos, 2023.

1. Oryza sativa. 2. melhoramento genético. 3.
produção de grão. I. Trogiello, Emerson , orient. II.
Brondani, Claudio , co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- Tese (doutorado) Artigo científico
 Dissertação (mestrado) Capítulo de livro
 Monografia (especialização) Livro
 TCC (graduação) Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo: _____

Nome completo do autor:

Brenda Karoline Silva Oliveira

Matrícula:

2017104220210044

Título do trabalho:

Validação do marcador SNP7 para uso na seleção assistida de genótipos de arroz tolerantes à seca

RESTRICÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 17 04 2023

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Morrinhos

Local

13 04 2023

Data

Brenda Karoline Silva Oliveira

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:



Documento assinado digitalmente

EMERSON TROGELLO

Data: 14/04/2023 07:55:54-0300

Verifique em <https://validar.ifi.gov.br>

() O(a) estudante não compareceu à defesa do TC.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 23/2023 - CCEG-MO/CEG-MO/DE-MO/CMPMHOS/IFGOIANO


ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos dez dias do mês de abril de 2023, às 14 horas, reuniu-se a banca examinadora composta por: Emerson Trogello (orientador), Claudio Brondani (membro) e Paula Arielle Valdisser (membro), para examinar o Trabalho de Curso intitulado "VALIDAÇÃO DO MARCADOR SNP 7 PARA USO NA SELEÇÃO ASSISTIDA DE GENÓTIPO DE ARROZ TOLERANTES À SECA" da discente BRENDA KAROLINE SILVA OLIVEIRA, Matrícula nº 2017104220210044 do Curso de Bacharelado em Agronomia do IF Goiano - Campus Morrinhos. A palavra foi concedida à estudante para a apresentação oral do TC. Em seguida houve arguição do discente pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela **APROVAÇÃO** do(a) estudante com **NOTA 10,0**. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora.


(Assinado Eletronicamente)

Emerson Trogello
Orientador(a)

(Assinado Eletronicamente)

Claudio Brondani 
Membro

(Assinado Eletronicamente)

Paula Arielle Valdisser 
Membro

Observação:

() O(a) estudante não compareceu à defesa do TC.

Documento assinado eletronicamente por:

- Emerson Trogello, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 10/04/2023 15:18:28.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 10/04/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 484978

Código de Autenticação: c1eb8aec04



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Morrinhos
Rodovia BR-153, Km 633, Zona Rural, None, None, MORRINHOS / GO, CEP 75650-000
(64) 3413-7900

DEDICATÓRIA

Primeiramente dedico a Deus e a Nossa Senhora, a minha mãe Glenda de Fátima da Silva Oliveira, ao meu pai Maximino Benício de Oliveira, a minha tia Nilva Maria de Oliveira, a Minha avó Claudovina Francisca de Oliveira, e a toda minha família e amigos que me apoiaram durante toda esta caminhada.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora que foram meus refúgios em todos os momentos.

Á toda minha família, meus pais, minha avó e minha tia que não mediram esforços para me ajudar ao longo do curso, dedico a todos este trabalho que é um dos momentos mais importantes da minha vida.

Aos meus amigos, em especial ao Rodolfo Rodrigues de Godoi que me auxiliou e me deu forças para concluir essa etapa.

Á equipe do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão, que foram incríveis sempre me dando apoio e ensinamento. Em especial a analista Paula Arielle Valdisser que foi um anjo me ensinando e ajudando com muita paciência nos procedimentos do laboratório.

Ao meu orientador Claudio Brondani por ter me concedido a oportunidade de realizar esse trabalho, pela confiança, paciência e pelos ensinamentos concedidos.

Ao meu professor e orientador Emerson Trogello pela paciência e pela oportunidade.

Á Embrapa Arroz e Feijão por me conceder essa grande oportunidade de aprimorar meus conhecimentos profissionais e pela realização deste trabalho.

Ao Instituto Federal Goiano pela oportunidade de enriquecer minha carreira profissional ao longo dos anos de curso.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 OBJETIVO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Importância econômica do arroz	12
2.2 Influência do déficit hídrico na produção de arroz de terras altas.....	13
2.3 Marcadores moleculares	15
2.4 <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP)	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Procedimento de extração de DNA e Genotipagem.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5 CONCLUSÕES	29
6 REFERÊNCIAS	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAG – Banco Ativo de Germoplasma

CTAB – Detergente Brometo de Cetil-Trimetil-Amônio

DAE – Dias após emergência

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EST – Esterilidade de espiguetas

PCG – Peso de Cem Grãos

SNP - *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)

TBEX – Tris/Borato/EDTA

TE – Tris-HCl/EDTA

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** – Ranking com os dados dos principais países importadores do arroz brasileiro na safra 2022/2023.....13
- TABELA 2** - Dados fenotípicos (Produtividade de grãos, Esterilidade de espiguetas e Peso de 100 grãos) dos 72 acessos da Coleção Temática de Tolerância a Seca de Arroz (CTTS) da Embrapa Arroz e Feijão (Terra et al., 2015).....18
- TABELA 3** - Resultado da genotipagem com os seguintes alelos (A/G) para os genótipos da Coleção Temática de Tolerância a Seca de Arroz (CTTS).....25
- TABELA 4** - Teste t aplicado aos três caracteres avaliados nos genótipos G/G e A/A nos tratamentos de déficit hídrico (seca) e irrigado ($p < 0,05$).....27

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Imagem ilustrativa do cultivo de arroz de terras altas.....	15
FIGURA 2: Inflorescência da planta de arroz.....	15
FIGURA 3: Ilustração da substituição de um único nucleotídeo (SNP) na sequência de DNA.....	17
FIGURA 4: Materiais semeados em copos descartáveis acondicionados em bandejas na casa de vegetação.....	21
FIGURA 5: Coleta das amostras de tecido vegetal para extração de DNA.....	21
FIGURA 6: Aparelho Mini Beadbeater utilizado para maceração de amostras de tecido vegetal.....	22
FIGURA 7: Formação do pellet (DNA) no fundo do microtubo.....	23
FIGURA 8: Aparelho de PCR em tempo real QuantStudio, utilizado para a realizar a genotipagem.....	24
FIGURA 9: Resultado da genotipagem pelo Software Thermo Fisher Cloud.....	25
FIGURA 10: Representação da repetição tetra-trico-peptídica.....	29

RESUMO

OLIVEIRA, Brenda Karoline Silva. **VALIDAÇÃO DO MARCADOR SNP7 PARA USO NA SELEÇÃO ASSISTIDA DE GENÓTIPOS DE ARROZ TOLERANTES À SECA.** ORIENTADOR: Dr. EMERSON TROGELLO.

A produção de arroz é fundamental para a segurança alimentar no mundo. Ocorrências de seca são imprevisíveis, e quando ocorrem no estágio reprodutivo, podem resultar na perda total da produção. Existe variabilidade genética para a tolerância à seca em arroz, porém a condução de experimentos é difícil e onerosa. Esse trabalho objetivou validar o marcador SNP7 (A/G), desenvolvido na Embrapa Arroz e Feijão, para uso na seleção assistida para a tolerância à seca em uma coleção de germoplasma distinta da usada na identificação desse marcador. Foram estudados 72 acessos da Coleção Temática de Tolerância à Seca em um experimento no delineamento em blocos ao acaso, com 3 repetições e dois sistemas de irrigação - déficit hídrico e irrigado. As parcelas foram de quatro linhas de 3,0 m, espaçadas de 0,35 m, e a densidade de semeadura utilizada foi de 80 sementes por metro. O tratamento de seca iniciou aos 35 dias após o plantio, mantendo a tensão de água no solo de até 25 kPa até a maturação fisiológica. Os acessos foram avaliados quanto à produção, peso de 100 grãos (PCG) e esterilidade. A genotipagem do SNP7 foi realizada por meio de ensaio TaqMan via PCR quantitativo. Considerando o tratamento de déficit hídrico, os 25 acessos com o genótipo G/G para o SNP 7 foram significativamente mais produtivos ($p < 0,001$), com maior PCG ($p < 0,05$) e menor esterilidade ($p < 0,05$) em relação aos 47 acessos A/A. O SNP7 representa um grande avanço para o desenvolvimento de cultivares de arroz tolerantes à seca, através da seleção de genitores e progênies que possuam o genótipo G/G.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, melhoramento genético, produção de grão.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Brenda Karoline Silva. **VALIDATION OF THE SNP7 MARKER FOR USE IN THE ASSISTED SELECTION OF DROUGHT TOLERANT RICE GENOTYPES.** ADVISOR: Dsc. EMERSON TROGELLO.

Rice production is critical to food security in the world. Drought occurrences are unpredictable, and when they occur in the reproductive stage, they can result in the total loss of production. There is genetic variability for drought tolerance in rice, but conducting experiments is difficult and costly. This work aimed to validate the SNP7 (A/G) marker, developed at Embrapa Rice and Beans, for use in assisted selection for drought tolerance in a germplasm collection different from that used in the identification of this marker. Seventy-two accessions from the Drought Tolerance Thematic Collection were studied in an experiment in a randomized block design, with 3 replications and two irrigation systems - water deficit and irrigated. The plots consisted of four rows of 3.0 m, spaced 0.35 m apart, and the sowing density used was 80 seeds per meter. The drought treatment started 35 days after planting, maintaining the water tension in the soil of up to 25 kPa until physiological maturation. Accessions were evaluated for yield, 100-grain weight (PCG) and sterility. SNP7 genotyping was performed using the TaqMan assay via quantitative PCR. Considering the water deficit treatment, the 25 accessions with the G/G genotype for SNP 7 were significantly more productive ($p < 0.001$), with higher PCG ($p < 0.05$) and lower sterility ($p < 0.05$) in relation to the 47 accesses A/A. SNP7 represents a major breakthrough for the development of drought-tolerant rice cultivars, through the selection of parents and progenies that have the G/G genotype.

Keywords: *Oryza sativa*, genetic breeding, grain production.

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos alimentos mais consumidos no mundo, sendo o terceiro cereal mais produzido mundialmente e ficando atrás apenas do milho e do trigo (DJM ARROZ, 2021). Cultivado em todos os continentes, o asiático se destaca em primeiro lugar com cerca de 90% da produção mundial, onde estão presentes os oito maiores produtores mundiais deste grão: China, Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietnã, Tailândia, Myanmar e Filipinas. O Brasil é o único país fora do continente asiático que mais produz o grão, ocupando o nono lugar no ranking mundial de produção (Embrapa, 2021).

Segundo a CONAB (2022) na safra 2021/22 o país produziu cerca de 10,803 milhões de toneladas do grão, em uma área de 1,619 milhão de hectares. Deste total produzido, cerca de 90% é destinado ao consumo interno e o restante são exportados para todo o mundo. A maior parte do arroz produzido no Brasil é cultivado em sistema irrigado também chamado de terras baixas (*Oryza sativa* spp. *Indica*), que corresponde a mais de 90% de todo o arroz produzido no país. Os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina são os responsáveis por garantir o total dessa produção (BASF, 2022).

Outro sistema de cultivo empregado no Brasil é o arroz de sequeiro ou terras altas (*Oryza sativa* spp. *Japônica*), que corresponde ao restante produzido no país, com cerca de 800 mil toneladas pelos estados de Maranhão, Mato Grosso, Tocantins e Goiás. Atualmente os produtores de arroz de terras altas estão utilizando a cultura para a recuperação da fertilidade de solos de pastagens degradadas, e em rotação com a cultura da soja (Embrapa, 2022).

No Brasil, a produtividade do arroz de terras altas ainda é considerada baixa devido a deficiência hídrica, fazendo com que a utilização de cultivares mais tolerantes ao déficit hídrico seja uma possível estratégia para minimizar esse problema. É na região dos cerrados que está localizada a maior parte das lavouras de arroz de sequeiro, onde é comum a ocorrência de veranicos durante o período das chuvas, e que se tal fato ocorrer durante o florescimento, pode reduzir drasticamente a produtividade. A tolerância ao déficit hídrico é um importante fator de seleção de plantas, pois está relacionado a diferentes características de interesse que refletem a produtividade da cultura do arroz (Vieira, 2019).

Análises das sequências genômicas do arroz facilitam a obtenção de marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), que se referem a variações de uma única base. Os SNPs estão distribuídos no genoma do arroz com uma frequência de 1 a cada 170 pb, encontrando-se, aproximadamente 2,4 milhões de polimorfismos de uma única base em todo o genoma (Hayashi et al., 2004). O uso de marcadores moleculares contribui para acelerar o processo de melhoramento de cultivares resistentes ao déficit hídrico (Disconzi, 2002). Marcadores moleculares podem ser definidos como características de DNA que são herdadas geneticamente e que são utilizadas para diferenciar indivíduos (Edwards et. al, 2007).

1.1 OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi validar o marcador SNP7 (A/G), identificado na Embrapa Arroz e Feijão, para uso na seleção assistida para a tolerância à seca em uma coleção de germoplasma distinta da usada na identificação desse marcador.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância econômica do arroz

Pertencente à família Poaceae, a espécie *Oryza sativa* é uma monocotiledônea hidrófila que, durante seu processo evolutivo, adaptou-se aos mais diversos ambientes, com diferentes condições edafoclimáticas, além de ser uma das culturas mais cultivadas e consumidas no mundo (Embrapa, 2021; TERRA et al. 2013). Produzido em todo o mundo, com cerca de 90% no continente asiático, o Brasil responde por 65 a 70% de todas as áreas de cultivo de arroz na América do Sul (FAO, 2019). O país produz 52% de todo arroz irrigado, 38% de todo arroz de sequeiro e 92% de todo arroz de terras altas da região. As principais áreas produtoras de arroz estão nas regiões Sul, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil (Mordor Intelligence, 2023).

O Brasil é o maior exportador e importador de arroz da América do Sul, e segundo a Associação Brasileira da Indústria do arroz (Abiarroz), em 2022, as exportações de arroz com casca no Brasil foram de 2,11 milhões de toneladas e 588,2 mil de arroz beneficiado. Já as importações de arroz em casca totalizaram 44,12 mil toneladas no acumulado da

safr a 2022/2023 (março de 2022 a janeiro de 2023), e de arroz beneficiado foram importadas 764,86 mil toneladas.

Devido a frustração na safra dos Estados Unidos e em função dos altos preços, o México adquiriu 491 mil toneladas de arroz em casca entre janeiro e novembro, representando 25,6% do total embarcado pelo Brasil em 2022. Em seguida os países que mais importaram o cereal foram Senegal (291,34 mil t ou 15,2% do total), Venezuela (219 mil t ou 11,4%), Cuba (133,57 mil t ou 7%), Costa Rica (102,95 mil t ou 5,4%) e Peru (92,83 mil t ou 4,8% do volume total) (Tabela 1) (Cepea, 2023).

Maiores clientes do Brasil em 2022*		
País	Volume (t.)	%
México	491 mil t	25,6
Senegal	291,34 mil t	15,2
Venezuela	219 mil t	11,4
Cuba	133,57 mil t	7,0
Costa Rica	102,95 mil t	5,4
Peru	92,83 mil t	4,8
Outros 97	579,31	30,5
Total 103	1,91	100
Fonte: Secex		Elaboração: Cepea

Tabela 1: Ranking com os dados dos principais países importadores do arroz brasileiro na safra 2022/2023.

Além do papel econômico, o arroz também é um dos grãos mais importantes em termos sociais. Segundo a Conab (2015), o arroz é constituído principalmente por carboidratos, além de possuir proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, e é considerado alimento básico para mais da metade da população mundial. É um dos alimentos com bom equilíbrio nutricional, fornecendo 20% da energia e 15% da proteína per capita necessária ao homem, e é um alimento com grande potencial para o combate à fome no mundo (Embrapa, 2021).

2.2 Influência do déficit hídrico na produção de arroz de terras altas

O arroz de terras altas contribui com 10% da produção nacional ocupando 23% da área total cultivada pela cultura no país. Por consequência do déficit hídrico causado

pela irregularidade pluvial na época de cultivo, sua produtividade é baixa com cerca de 1,5 mil a 2 mil kg ha⁻¹ (IRGA, 2020).

A temperatura e a ocorrência de secas são um dos elementos climáticos de maior importância para o crescimento, desenvolvimento e produtividade na cultura do arroz (SOUZA, 2020; VENDRUSCOLO et al, 2019). O estágio mais sensível a estes fatores é o reprodutivo. Quando ocorre a elevação da temperatura (>35°C) na fase da antese, que é um período extremamente sensível, estas podem acarretar em esterilidade das espiguetas e em consequência disso a diminuição da produtividade de grãos (SOUZA, 2020). O aumento da média da temperatura na cultura do arroz pode reduzir a produção de grãos até 30% em média, dependendo do genótipo utilizado (SREENIVASULU et al., 2015).

Em sistemas que dependem da disponibilidade de água das chuvas, a ocorrência de secas prolongadas, principalmente durante a floração e o enchimento de grãos, pode ocasionar em perdas na produção de grãos em diversas regiões do país (OLIVEIRA NETO 2015). Exemplo disso ocorre nas lavouras de arroz de terras altas que estão localizadas nas regiões do cerrado, onde o cultivo ocorre no período de verão, quando o fornecimento hídrico necessário para o desenvolvimento da planta provém das chuvas (RODRIGUES et al., 2004). Portanto é comum a ocorrência de períodos de estiagem dentro da estação chuvosa, conhecidos como veranicos (CRUSCIOL et al., 2003).

A deficiência hídrica pode provocar diversas alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas nas plantas, tais como redução na abertura de estômatos, diminuição na absorção de CO₂, redução na taxa fotossintética, reflexos negativos sobre o vigor e altura da planta, diminuição na fertilidade do grão de pólen e redução na produtividade (BOTA et al. 2004). Existem alguns mecanismos morfofisiológicos que podem estar relacionados com a tolerância ao estresse hídrico, como o uso moderado de água pela planta, habilidade de as raízes explorarem camadas mais profundas do solo, maior relação entre raiz e parte aérea, diminuição no volume das células, aumento na concentração do protoplasto, diminuição no tamanho das folhas, maior espessura e cerosidade da cutícula foliar, ângulo de inclinação da folha, acúmulo de metabólitos e resistência à desidratação das células (NGUYEN et al. 1997). No entanto o arroz não é uma espécie muito eficiente para evitar a perda de água, pois possui pouca cera cuticular (FUKAI & COOPER 1995).

A procura por materiais que sejam mais tolerantes à condição do déficit hídrico por meio do melhoramento genético é a estratégia mais eficiente para aliviar a insegurança alimentar causada pela escassez de água (HUANG et al. 2007). Entretanto,

a escolha de genótipos superiores de arroz de terras altas mais tolerantes pode ser dificultada pela falta de informações sobre genótipos nesta condição. Alguns caracteres associados com a tolerância à seca possuem herança quantitativa, sendo fortemente influenciados pelo ambiente de cultivo (SHINOZAKI & YAMAGUCHI-SHINOZAKI 2007).

O Índice de Susceptibilidade à Seca (ISS) pode ser eficiente na seleção de indivíduos superiores em condição de déficit hídrico, assegurando que os genótipos selecionados possam conter genes para este fator (FISCHER & MAURER 1987, PANTUWAN et al. 2002, OUK et al. 2006). A seleção de genótipos pelo uso do ISS pode assegurar certa estabilidade na produção, pois os valores utilizados levam em consideração as produtividades em ambas as condições de cultivo (com e sem deficiência hídrica).



Figura 1: Imagem ilustrativa do cultivo de arroz de terras altas.

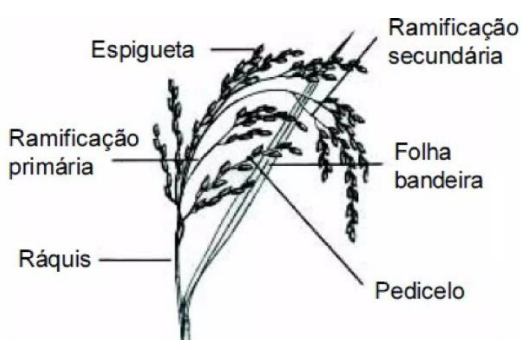


Figura 2: Inflorescência da planta de arroz.

2.3 Marcadores moleculares

Os marcadores moleculares são segmentos de DNA que estão ligados a locos que determinam características de interesse e podem ser revelados pela técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Pereira, 2017). Existem diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis que variam conforme a técnica utilizada para revelar a variação em nível de DNA, habilidade para detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e repetibilidade (Oliveira et al., 2007).

Embora haja uma grande disponibilidade de diferentes marcadores, a maior parte da informação obtida é oriunda de polimorfismos em regiões do genoma detectadas por

marcadores aleatórios. Com o frequente uso das técnicas de sequenciamento foi possível o desenvolvimento de marcadores funcionais e a análise de polimorfismos de sequências. Esses marcadores, baseados em genes candidatos, aumentam a probabilidade de designar convergências entre fenótipo e genótipo, pois a variabilidade observada reflete diferenças fenotípicas (Kwok e Gu, 1999).

Programas de melhoramento genético de plantas realizam a seleção dos genótipos que apresentam características agronômicas desejáveis através das informações fenotípicas dos indivíduos. Este método muitas vezes é bastante trabalhoso, principalmente para caracteres de baixa herdabilidade, tendo em vista que a maioria dos caracteres de importância agronômica são quantitativos, ou seja, são controlados por vários genes, que são influenciados pelas interações do ambiente na expressão do fenótipo (TOPPA, 2013).

O surgimento das técnicas de marcadores de DNA trouxe novos avanços para o melhoramento genético de plantas, sendo bastante utilizado em diversas culturas. A principal contribuição que essas técnicas trouxeram foi a capacidade de analisar o genótipo de um indivíduo, sem a ocorrência da expressão fenotípica, excluindo a influência do ambiente sobre este. Dentre as diversas utilizações dos marcadores de DNA estão os estudos de divergência genética em populações, a construção de mapas genéticos de ligação (PEREIRA & LEE, 1995; FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1988) e o mapeamento de QTL's (locos de características quantitativas) (LEE, 1995; PEREIRA & LEE, 1995), além de ser uma ferramenta importante em trabalhos de seleção assistida por marcadores.

Dados acumulados passaram a mostrar variações entre sequências de indivíduos de uma mesma espécie devido a convergências entre sequenciamento de DNA e marcadores moleculares. Logo percebeu-se que *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) eram os marcadores mais abundantes nos genomas (Kwok & Gu, 1999; Galal et al., 2009). Esses marcadores podem ser utilizados como uma nova estratégia de identificação de polimorfismo em programas de melhoramento de plantas (Nepomuceno et al., 2001).

2.4 *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

Single Nucleotide Polymorphism ou polimorfismo de base única (SNP) é a abreviatura utilizada para definir a variação que ocorre em uma posição individual da sequência de DNA. O SNP ocorre quando um único nucleotídeo – A, T, C, ou G – no

genoma difere entre membros de uma espécie com frequência de pelo menos 1%. Como por exemplo, duas sequências de um fragmento de DNA de diferentes indivíduos contém uma diferença em um único nucleotídeo, ATGAGG(C)CA e ATGAGG(T)CA (Figura 3). Os SNPs podem ser classificados de acordo com a substituição dos nucleotídeos, como os de transição (C/T ou G/A) ou transversão (C/G, A/T, C/A ou T/G).

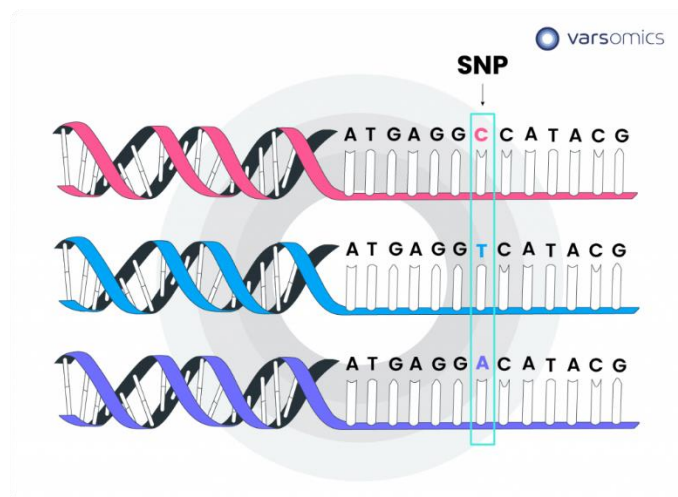


Figura 3: Ilustração da substituição de um único nucleotídeo (SNP) na sequência de DNA.

Presentes ao longo do genoma, os SNPs são uma importante fonte de variabilidade entre indivíduos, cultivares ou espécies. Sua identificação possui uma grande aplicação em melhoramento de plantas, pois os mesmos podem ser utilizados como marcadores moleculares para genotipagem. Avanços recentes nas tecnologias de sequenciamento de DNA e mRNA (chamado de RNA-seq), têm revolucionado a área de melhoramento permitindo a identificação de SNPs em larga escala e com baixo custo de obtenção. Essa técnica é aplicada principalmente para plantas que possuem o seu genoma de referência sequenciado, como é o caso da arroz, que foi a primeira planta de importância agrônômica a possuir seu genoma sequenciado (Sasaki, 2005), o que permite a identificação de SNPs em regiões codantes e intergênicas. As informações relativas a anotação de genoma do arroz são publicamente disponíveis, e pode ser encontrada, por exemplo, na plataforma RiceNetDB (<https://bis.zju.edu.cn/ricenetdb/>).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado a partir de outras duas pesquisas, que tiveram início com Terra et al. (2015), que conduziu um experimento de fenotipagem em Gurupi – TO no período de junho a novembro de 2007, na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, no Campus Universitário de Gurupi. Nesse estudo foram avaliados 72 acessos da coleção nuclear temática de arroz para tolerância a seca da Embrapa Arroz e Feijão. O experimento foi realizado em blocos ao acaso com três repetições, com e sem déficit hídrico. As parcelas foram formadas por quatro linhas de 3,0 m de comprimento, espaçadas em 0,35 m e densidade de semeadura de 80 sementes por metro. A área experimental foi irrigada até os 35 DAE e logo após foi iniciado o tratamento de seca, em que foram irrigados com metade da lâmina de água até o final do ciclo das plantas. Já para a condição sem estresse foi considerado uma tensão de água no solo de até 25 kPa, monitorada por tensiômetros. A coleta dos dados para avaliação foi iniciada aos 25 dias após o início do estresse.

Os dados fenotípicos mensurados foram produtividade, peso de 100 grãos (PCG) e esterilidade das espiguetas (Tabela 2). Adicionalmente, os genótipos foram geneticamente caracterizados pelo marcador SNP 7.

Tabela 2: Dados fenotípicos (Produtividade de grãos, Esterilidade de espiguetas e Peso de 100 grãos) dos 72 acessos da Coleção Temática de Tolerância a Seca de Arroz (CTTS) da Embrapa Arroz e Feijão (Terra et al. 2015).

NOME COMUM	Produtividade de grãos (kh/1,4 m ²)		Esterilidade de espiguetas (%)		Peso de 100 grãos (g)	
	S.E.	C.E.	S.E.	C.E.	S.E..	C.E..
Maruim	342,66	54,00	33,74	57,36	2,17	2,06
Enche Tulha	456,00	130,66	37,65	55,92	2,98	2,63
Formosa	480,66	58,00	7,79	53,51	2,29	2,02
Arroz Maranhão	334,66	83,33	24,95	55,47	2,88	2,21
Paulista Dourado	307,33	71,33	33,22	55,39	3,87	3,00
Maranhão (Verdadeiro)	408,00	178,66	19,10	46,97	2,61	2,38
Amarelão Ligeiro	356,66	53,33	27,89	63,40	3,69	2,93
Puteca	448,66	104,00	23,95	61,39	3,51	2,53
Comum Creolo	358,66	43,00	23,19	72,53	3,48	3,02

Pratão Goiano	430,00	102,66	22,39	69,28	3,79	3,01
Prata Branco	484,00	164,66	20,53	39,04	2,79	2,31
Palha Murcha	476,66	226,00	15,47	40,98	3,54	3,17
Cano Roxo	458,66	122,00	14,61	40,07	2,78	2,53
Chatão Vermelho	412,66	115,33	19,28	39,00	3,65	2,73
Ligeiro	135,33	119,00	44,39	39,54	3,46	3,10
Santo Américo	472,66	132,00	21,05	52,18	3,45	3,21
Vermelho	323,33	113,33	26,82	49,38	3,02	2,65
Cacho Duplo	380,66	66,00	38,44	73,72	3,07	2,73
Nenen	350,66	117,33	17,73	38,41	2,63	2,46
Amarelão/Douradão	389,33	213,33	14,82	38,54	2,86	2,44
Brejeiro/Nenezinho	329,33	158,00	43,59	75,75	2,39	2,58
Brejeiro	367,33	131,33	37,48	71,12	2,44	2,58
Bico de Rola	528,66	208,66	18,62	53,42	2,99	2,60
Muruim Branco	252,00	131,33	27,9	49,20	2,51	1,93
Douradão/Amarelão	320,66	118,66	44,12	67,14	2,31	2,21
Iguapé Sem Arista	426,00	89,33	34,16	65,99	2,92	2,54
Vermelhão	436,66	71,33	17,80	62,48	3,53	2,60
Samambaia Amarelo	488,00	194,00	16,53	38,03	2,84	2,53
Samambaia	336,00	183,33	11,10	31,32	3,02	2,62
Paulista	570,66	121,00	15,83	38,43	3,52	2,68
Arroz Catetão	454,00	182,66	13,21	37,88	3,70	3,06
Gergelim	372,00	154,00	22,88	51,85	2,07	1,93
Arroz Branco Bico Preto	388,66	225,33	25,96	40,23	3,21	2,87
Branco 4 Meses	554,00	101,33	19,23	51,09	3,28	2,68
Carioca/Rabo de Carneiro	319,33	83,33	26,41	78,52	3,06	2,07
Fundo Roxo	378,66	44,66	30,07	84,84	2,83	1,94
Meses Branco/3 Meses Amarelo	453,33	87,33	25,61	67,57	3,82	2,88
Branquinho	424,66	84,00	17,14	61,48	3,72	2,91
Carolina	276,00	151,33	33,01	60,32	2,20	2,12
Arroz do Maranhão	510,66	306,66	21,57	45,17	3,15	2,83
Arroz Roxo ou Caqui	390,66	125,00	17,18	63,84	3,19	2,31
Legítimo	426,66	120,00	23,43	52,82	3,30	2,81
Bico Ganga Cana Roxa	470,00	260,66	23,92	40,96	2,89	2,74
Arroz Ligeiro	326,00	97,66	37,78	54,84	3,31	2,65
Arroz Piriquito	404,00	251,33	14,59	37,80	2,84	2,65
Arroz Santa Inês	226,66	103,33	32,27	58,98	3,44	2,58
Arroz Canela de Ferro	139,33	105,33	34,70	55,64	2,93	2,16
Agulha Esav	270,00	107,33	33,23	72,18	2,65	2,34
Catalão	468,66	108,00	20,12	67,18	2,65	2,21
Carreon	394,66	207,33	20,97	53,82	2,48	2,21
Makouta	430,66	232,66	16,57	33,34	2,97	2,54
Beira Campo Dourado	474,66	69,33	32,38	73,16	3,95	2,88
Pico Negro	463,33	58,66	30,53	63,34	3,08	2,38
Paná	351,33	75,00	36,65	93,44	2,37	2,04

Agulhinha Tardio	235,33	2,67	43,39	82,01	1,74	1,43
Muruim Branco	349,33	178,00	30,62	43,55	2,22	2,23
Toró Vermelho	307,33	88,00	42,15	90,75	1,98	1,84
Douradão	369,33	196,66	15,30	39,76	3,00	2,77
Arroz Agulhinha	199,33	4,00	50,76	88,95	2,06	1,89
Japonês	482,66	55,33	15,95	56,23	2,23	1,75
Agulhinha Vermelho	339,33	121,33	28,44	50,83	3,36	2,84
Arroz Toro Graudo	437,33	131,33	22,09	42,08	2,61	2,33
Arroz Agulha	104,00	37,00	45,82	88,99	1,30	1,69
64 Dias	447,33	73,33	28,95	65,93	3,52	2,94
Lambari	201,33	53,00	55,51	91,73	1,68	1,60
Zenith	504,00	17,00	24,05	80,03	2,28	1,70
Piedad	346,66	73,33	38,86	89,14	2,29	1,87
Agulhinha Ipameri	214,66	44,00	49,95	71,27	2,02	2,01
Jatobá	514,00	318,00	23,02	31,61	3,39	3,10
Araçatuba	187,33	7,33	57,61	93,66	1,73	1,54
Buriti Vermelho	420,66	130,00	25,74	58,18	2,84	2,71
Tapuripa	62,00	7,33	88,96	89,25	2,23	1,65

A partir do estudo feito por Pantalião et al. (2016), que realizou uma análise GWAS (Estudo de Associação Genômica Ampla) a partir da caracterização fenotípica de 175 acessos de arroz, e genotipados por 150.325 SNPs. A análise GWAS identificou oito SNPs associados à tolerância à seca, os quais foram convertidos em ensaios TaqMan, e somente o SNP7 foi significativamente associado à tolerância ao estresse.

Para validar a capacidade do marcador SNP7 em identificar genótipos de arroz tolerantes à seca, os 72 acessos de arroz da Coleção Temática de Tolerância à Seca (CTTS) foram genotipados. Primeiramente cada acesso foi semeado em copos descartáveis preenchidos com substrato e mantidos em casa de vegetação, sob irrigação por aspersão, para obtenção das mudas (Figura 4). Após a terceira semana do plantio foi realizada a coleta do material vegetal para posterior extração do DNA.



Figura 4: Materiais semeados em copos descartáveis acondicionados em bandejas na casa de vegetação.

3.1 Procedimento de extração de DNA e Genotipagem

A coleta das amostras de tecido vegetal foi realizada após a terceira semana de desenvolvimento das plantas, e as folhas foram cortadas utilizando uma tesoura que era esterilizada com álcool 70% a cada mudança de material coletado (Figura 5). Após a coleta das amostras, as mesmas foram envolvidas em papel alumínio, devidamente identificadas, mantidas no gelo, e posteriormente armazenadas em freezer -20°C .



Figura 5: Coleta das amostras de tecido vegetal para extração de DNA.

O DNA foi extraído seguindo o procedimento técnico de extração de DNA de folhas utilizando tampão CTAB 2% utilizado rotineiramente no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão. Inicialmente as folhas foram retiradas do freezer -20°C , cortadas com cerca de 3 cm de tecido foliar e colocadas em microtubos de 2,0 ml. Vale ressaltar que a cada amostra de tecido vegetal a tesoura deve ser esterilizada com etanol 70% para evitar contaminação. Em seguida as beads (esferas de cerâmica utilizadas para macerar o tecido vegetal no equipamento Mini Beadbeater) foram inseridas nos microtubos, e adicionados $400\mu\text{L}$ de CTAB 2%. As amostras foram maceradas no equipamento Mini Beadbeater por aproximadamente 20 segundos na rotação (speed) 4 (Figura 6). Posteriormente foi adicionado aos microtubos $300\mu\text{L}$ de CTAB 2% contendo 0,2% de β -mercaptoetanol e levados para banho-maria a 65°C por 60 minutos, homogeneizando a cada 15 minutos, por inversão dos microtubos.



Figura 6: Aparelho Mini Beadbeater utilizado para maceração de amostras de tecido vegetal.

Após retirar do banho-maria a solução foi transferida para um novo microtubo de 1,5 mL já identificado, usando a pipeta de $1000\mu\text{L}$, e em seguida adicionado $600\mu\text{L}$ de Clorofórmio-Álcool Isoamílico (24:1), os tubos devem ser agitados lentamente por inversão e levados à centrífuga por 15 minutos em velocidade máxima (em torno de 13.000 rpm). Formado o sobrenadante, o mesmo foi transferido para outro microtubo de

1,5mL já identificado e adicionado 800 μ L de etanol absoluto gelado, misturado levemente por inversão dos microtubos e deixados no freezer -20°C por no mínimo 2 horas, podendo deixar em overnight (de um dia para o outro) se necessário. Logo após retirar do freezer -20°C as amostras foram centrifugadas em velocidade em torno de 13.000 rpm por aproximadamente 15 minutos.

Depois que as amostras foram retiradas da centrífuga observou-se a formação de um pellet no fundo do microtubo (Figura 7). Em seguida o sobrenadante foi descartado, com cuidado para evitar a perda do pellet, e adicionado 1mL de etanol 70% ao microtubo. Em seguida foi realizada a centrifugação a 13.000 rpm por 5 minutos. Após essa etapa o sobrenadante foi descartado com cuidado, e adicionado 1mL de etanol absoluto, realizando nova centrifugação a 13.000 rpm. O sobrenadante foi novamente descartado, e o pellet foi deixado secar (deixar o microtubo aberto) à temperatura ambiente por aproximadamente 15 minutos. Em seguida foram adicionados 50 μ L de tampão TE contendo RNase, e os microtubos foram levados à estufa a 65°C por aproximadamente 1 hora. Quando retiradas da estufa as amostras foram armazenadas no freezer a -20°C, até o momento de serem utilizadas.



Figura 7: Formação do pellet (DNA) no fundo do microtubo.

As amostras foram quantificadas por eletroforese em gel de agarose 1% (0,5 g de agarose para 50 ml do tampão TBE) através de comparação com concentrações

conhecidas do DNA do fago lambda (λ) nas concentrações de 50, 100 e 200 ng/ μ L. Nesse caso foi utilizada a cuba grande de 96 poços.

As amostras de DNA foram diluídas em 20 μ L de água ultrapura autoclavada (H₂O Milli-Q) no freezer -20°C até o momento de uso. A genotipagem foi realizada em uma reação de 5 μ l contendo 2,5 μ l do Master Mix GTXpress™, 0,125 μ l do ensaio Taqman® 40X, 1,375 μ l de água ultrapura autoclavada e 1 μ l de DNA. A placa de PCR foi selada com filme adesivo e colocada no aparelho QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR System (figura 8), utilizando a seguinte programação: 60°C por 30 segundos, 95°C por 20 segundos, 50 ciclos de 95°C por três segundos e 60°C por 30 segundos, com uma extensão final de 60°C por 30 segundos. A análise do produto de PCR foi realizada no Software Thermo Fisher Cloud (Figura 9) e a anotação gênica foi realizada através do programa RiceNetDB.



Figura 8: Aparelho de PCR em tempo real QuantStudio, utilizado para a realizar a genotipagem.

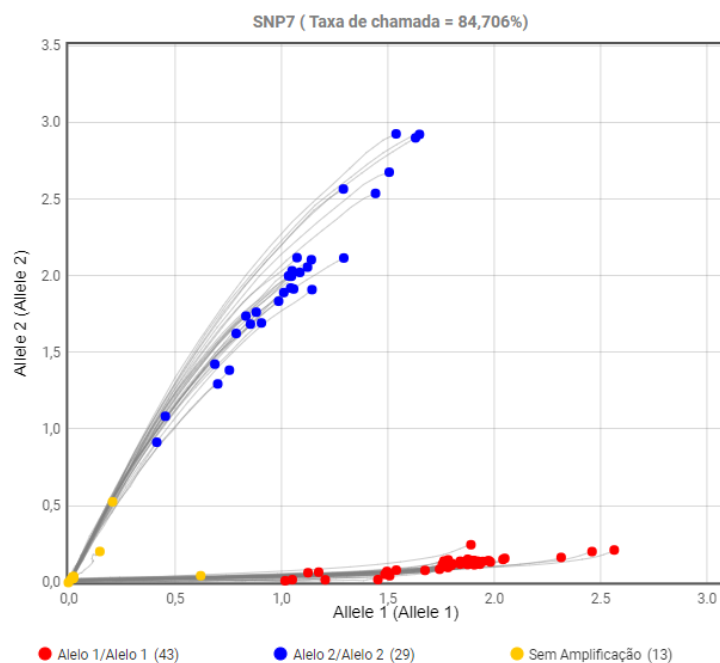


Figura 9: Resultado da genotipagem pelo Software Thermo Fisher Cloud.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da genotipagem mostram alelos homocigotos A/A e G/G para os genótipos avaliados, e sem a presença de heterocigotos A/G (Tabela 3).

Tabela 3: Resultado da genotipagem com os seguintes alelos (A/G) para os genótipos da Coleção Temática de Tolerância a Seca de Arroz (CTTS).

Nome Comum	Alelos
Maruim	A/A
Enche Tulha	G/G
Formosa	A/A
Arroz Maranhão	A/A
Paulista Dourado	A/A
Maranhão (Verdadeiro)	A/A
Amarelão Ligeiro	G/G
Puteca	G/G
Comum Creolo	A/A
Pratão Goiano	A/A
Prata Branco	A/A
Palha Murcha	G/G
Cano Roxo	A/A
Chatão Vermelho	A/A

Ligeiro	A/A
Santo Américo	A/A
Vermelho	A/A
Cacho Duplo	A/A
Nenen	A/A
Amarelão/Douradão	G/G
Brejeiro/Nenezinho	A/A
Brejeiro	A/A
Bico de Rola	A/A
Muruim Branco	A/A
Douradão/Amarelão	A/A
Iguapé Sem Arista	G/G
Vermelhão	A/A
Samambaia Amarelo	G/G
Samambaia	G/G
Paulista	G/G
Arroz Catetão	G/G
Gergelim	A/A
Arroz Branco Bico Preto	A/A
Branco 4 Meses	A/A
Carioca/Rabo de Carneiro	A/A
Fundo Roxo	A/A
Meses Branco/3 Meses Amarelo	G/G
Branquinho	A/A
Carolina	G/G
Arroz do Maranhão	A/A
Arroz Roxo ou Caqui	A/A
Legítimo	A/A
Bico Ganga Cana Roxa	G/G
Arroz Ligeiro	A/A
Arroz Piriquito	G/G
Arroz Santa Inês	G/G
Arroz Canela de Ferro	A/A
Agulha Esav	A/A
Catalão	A/A
Carreon	G/G
Makouta	A/A
Beira Campo Dourado	G/G
Pico Negro	G/G
Paná	G/G
Agulhinha Tardio	A/A
Muruim Branco	A/A
Toró Vermelho	A/A
Douradão	G/G
Arroz Agulhinha	A/A
Japonês	A/A
Agulhinha Vermelho	A/A
Arroz Toro Graudo	A/A

Arroz Agulha	A/A
64 Dias	G/G
Lambari	A/A
Zenith	G/G
Piedad	A/A
Agulhinha Ipameri	G/G
Jatobá	G/G
Araçatuba	A/A
Buriti Vermelho	A/A
Tapuripa	G/G

De acordo com o teste t, houve diferença significativa entre acessos ($p < 0,001$) para os caracteres produtividade, peso de 100 grãos e esterilidade das espiguetas. Considerando o tratamento com déficit hídrico, os 25 acessos com o genótipo G/G foram significativamente mais produtivos pelo teste t ($p < 0,001$), com maior PCG ($p < 0,05$) e menor EST ($p < 0,05$) em relação aos 47 acessos A/A. No tratamento irrigado, genótipos G/G foram significativamente mais produtivos ($p < 0,01$) e com maior PCG ($p < 0,05$), não sendo diferente estatisticamente dos genótipos A/A quanto à esterilidade (Tabela 4).

Tabela 4. Teste t aplicado aos três caracteres avaliados nos genótipos G/G e A/A nos tratamentos de déficit hídrico (seca) e irrigado ($p < 0,05$).

Caráter	Seca	Irrigado
Produção (g/parcela)	***	**
Média G/G	142,28	404,58
Média A/A	109,29	360,11
Esterilidade Espiguetas (%)	*	ns
Média G/G	55,16	27,16
Média A/A	60,64	28,94
Peso de 100 grãos (g)	*	*
Média G/G	2,54	3,01
Média A/A	2,38	2,78

Identificado no cromossomo 6 (S6_25023555), o SNP7 está localizado a 1071 pares de base do gene LOC_Os06g41750 (ID do banco de dados RGAP – *Rice Genome Annotation Project*), e possui efeito modificador nesse gene, de acordo com a análise

obtida no programa RiceVarMap (http://ricevarmap.ncpgr.cn/vars_in_region). O produto desse gene é uma proteína contendo um domínio de repetição tetra-trico-peptídica (TPR), que consiste em uma repetição em tandem degenerada de 34 aminoácidos (Figura 9) identificada em uma ampla variedade de proteínas, e tem como função mediar interações proteína-proteína e montagem de complexos multi-protéicos (Zeytuni & Zarivach, 2012). Esse gene é responsável pela regulação de 59 genes *downstream*, e esses, conjuntamente, regulam outros 2.539 genes, que por sua vez, irão regular outro grande número de genes.

O SNP7 está próximo do promotor (TATA box) do gene *TPR* (LOC_Os06g41750), e isso indica que o SNP7 está em uma região de acoplamento de fator de transcrição, um dos componentes do complexo proteico responsável pela expressão do gene *TPR*. De acordo com Cano-Gamez & Trynka (2020), muitos SNPs significativos pela metodologia GWAS foram identificados em regiões não codificantes e foram atribuídos como variantes regulatórias de genes adjacentes. Adicionalmente, *enhancers*, promotores e RNAs não-codificantes longos são os principais elementos do genoma fortemente influenciados por SNPs, indicando que os SNPs associados a fenótipos localizados em regiões não codificantes do genoma e são os mais prováveis de regular a expressão gênica de QTLs (locos de caracteres quantitativos) (Suzuki et al. 2021). A troca do nucleotídeo A ou G pode interferir no acoplamento de um fator de transcrição que atua na sequência promotora do gene LOC_Os06g41750, impedindo sua expressão, e conseqüentemente, afetando a expressão dos 59 genes regulados por esse gene.

O SNP7, agora validado por esse estudo, já está disponível para uso na rotina de seleção assistida de genótipos de arroz no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão. Estudos adicionais poderiam ser realizados para ampliar o conhecimento sobre o controle genético da tolerância à seca como resultado da expressão do gene LOC_Os06g41750.



Figura 10: Representação da repetição tetra-trico-peptídica.

5 CONCLUSÕES

- 1) O SNP 7 é uma ferramenta útil para auxiliar na escolha de genótipos de arroz tolerantes à seca.
- 2) O uso do SNP 7 na rotina de um programa de melhoramento poderá resultar no desenvolvimento de cultivares de arroz superiores quanto à tolerância à seca, a um custo ínfimo quando comparado à avaliação desse estresse em experimentos de campo

6 REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO ARROZ – ABIARROZ. **Estatísticas de produção**. Disponível em: <https://abiarroz.com.br/estatisticas> Acesso em: 20 de mar. 2023.

BARBOSA NETO, JF Seleção assistida por marcadores moleculares. In: MILACH, SCK, ed. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p.75-80.

BOTA, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. **Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress?** *New Phytologist*, Nancy, v. 162, n. 3, p. 671-681, 2004.

CANO-GAMEZ, E.; TRYNKA, G. **From GWAS to Function: Using Functional Genomics to Identify the Mechanisms Underlying Complex Diseases**. *Frontiers in Genetics*. v.11. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00424>

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA
DEPARTAMENTO DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA –
CEPEA. **Arroz/Cepea: Demandas interna e externa**. 2023. Disponível em:
<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/diarias-de-mercado/arroz-cepea-demandas-interna-e-externa-firmes-mantem-precos-em-alta.aspx> Acesso em: 30 mar. 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **A cultura do arroz**.
Organizador Aroldo Antônio de Oliveira Neto – Brasília: p15. Conab, 2015.

CRUSCIOL, C.A.C.; ARF, O.; SORATTO, R.P.; ANDREOTTI, M.; RODRIGUES,
R.A.F. **Produtividade e qualidade industrial de grãos de arroz de terras altas em
função e lâminas de água no sistema irrigado por aspersão**. *Acta Scientiarum.
Agronomy*, v.25, n.1, p.125-130, 2003.

DISCONZI, M. S. **Identificação de genes de resistência a brusone (*Magnaportha
grisea*) em cultivares de arroz (*Oryza sativa*) utilizando marcadores moleculares**.
Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de agronomia, Universidade Federal
do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (RS), p. 12. 2002.

DJM ARROZ (2021). **O arroz é o segundo alimento mais consumido no mundo**.
Disponível em: https://www.djmarroz.com.br/noticia/o-arroz-e-o-segundo-alimento-mais-consumido-no-mundo_11 Acesso em: 14 dez. 2022.

EDWARDS, D., FORSTER, JW, CHAGNÉ, D., BATLEY, J. (2007). O que são
SNPs?. Em: Oraguzie, NC, Rikkerink, EHA, Gardiner, SE, De Silva, HN (eds)
Association Mapping in Plants. Springer, Nova York, NY.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Cultivo
do Arroz. Características da planta**. 2021. Disponível em:

<https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/arroz/pre-producao/caracteristicas/caracteristicas-da-planta>. Acesso em: 20 jan. 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Arroz de terras altas. Viabilizar a inserção do arroz de terras altas em sistemas agrícolas.** 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/arroz-e-feijao/inovacao-tecnologica/arroz-de-terras-altas#:~:text=A%20contribui%C3%A7%C3%A3o%20do%20arroz%20de,de%20Mato%20Grosso%20e%20Maranh%C3%A3o>. Acesso em: 30 mar. 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA (2021). **Arroz: Importância econômica e social.** 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/arroz/pre-producao/socioeconomia/importancia-economica-e-social#:~:text=A1%C3%A9m%20do%20papel%20econ%C3%B4mico%2C%20o,ter%C3%A7os%20da%20popula%C3%A7%C3%A3o%20subnutrida%20mundial>. Acesso em: 30 mar. 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA (2022). **Arroz de terras altas é usado para diversificar a produção de grãos no Cerrado.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/69010963/arroz-de-terras-altas-e-usado-para-diversificar-producao-de-graos-no-cerrado> Acesso em: 14 dez. 2022.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introduction to the use of molecular markers in genetic analysis** 2 ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.

FISHER, R. A.; MAURER, R. Drought resistance in spring wheat cultivars: I. Grain yield responses. **Australian Journal of Agricultural Research, Collingwood**, v. 29, n. 5, p. 897-912, 1978.

FUKAI S.; COOPER, M. Development of droughtresistant cultivars using physiological traits in rice. **Field Crops Research**, New York, v. 40, n. 1, p. 6786, 1995

GANAL, MW, ALTMANN, T, RODER, MS, SNP identification in crop plants. **Plant Biol.** 12(2):211-7. 2009.

HAYASHI, K.; HASHIMOTO, N.; DAIGEN, M.; ASHIKAWA, I. Development of PCRbased SNP markers for rice blast resistance genes at the Piz locus. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, n. 7, p. 1212–1220, 2004.

HUANG, Y.; XIAO, B.; XIONG, L. **Characterization of a stress responsive proteinase inhibitor gene with positive effect in improving drought resistance in rice.** *Planta*, Berkeley, v. 226, n. 1, p. 73-85, 2007.

INSTITUTO RIO GRANDENSE DE ARROZ – IRGA. **Mapeamento de ANA e Conab identifica 1,3 milhão de hectares de arroz irrigado no Brasil.** 2020. Disponível em: <https://irga.rs.gov.br/mapeamento-de-ana-e-conab-identifica-1-3-milhao-de-hectares-de-arroz-irrigado-no-brasil#:~:text=O%20arroz%20irrigado%20concentra%2077,%C3%A1rea%20e%2010%25%20da%20produ%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 04 de abr. 2023.

KWOK, PY, GU, Z, Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them? **Molecular Medicine Today**, v.5(12), p. 538-543, 1999.

MORDOR INTELLIGENCE. Mercado de arroz no Brasil – Crescimento, tendências, impacto do covid-19 e previsões (2023-2028). Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/brazil-rice-market> Acesso em: 10 mar. 2023.

NEPOMUCENO, AL, NEUMAIER, N, FARIAS, JRB, OYA, T, **Drought tolerance in plants** Embrapa-Londrina. 10p. 2001.

NGUYEN, H. T.; BABU, R. C.; BLUM, A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 5, p. 1426-1437, 1997.

OLIVEIRA NETO AA. 2015. A cultura do arroz. Brasília: Conab. 179p.

OLIVEIRA, ACB, CAIXETA, ET, ZAMBOLIM, EM, ZAMBOLIM, L, SAKIYAMA, NS, **Technical application of molecular markers in plant breedin**. Campinas: Instituto Agronômico, 17p. (Documentos IAC, 81, ISSN: 1809 – 7693), 2007.

OUK, M. et al. Use of drought response index for identification of drought tolerant genotypes in rainfed lowland rice. **Field Crops Research**, New York, v. 99, n. 1, p. 48-58, 2006.

PANTALIÃO, G.F.; NARCISO, M.; GUIMARÃES, C.; CASTRO, A.; COLOMBARI, J.M.; BRESEGHELLO, F.; RODRIGUES, L.; VIANELLO, R.P.; BORBA, T.O.; BRONDANI, C. **Genome wide association study (GWAS) for grain yield in rice cultivated under water deficit**. **Genetica**, v.144, p.651-664, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10709-016-9932-z>.

PANTUWAN, G. et al. Yield response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to drought under rainfed lowlands: Part 1. Grain yield and yield components. **Field Crops Research**, New York, v. 73, n. 1, p. 153-168, 2002

PEREIRA, M.G.; LEE, M. Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v.90, p.380-388, 1995.

PEREIRA, V. A. **Caracterização comportamental, morfológica e genética do sexo em pepino do mar *Holothuria grisea* (Selenka, 1987) no nordeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza-CE, p.17. 2017.

RODRIGUES, R.A.F.; SORATTO, R.P.; ARF, O. **Manejo de água em arroz de terras altas no sistema de plantio direto, usando o tanque classe A**. **Engenharia Agrícola**, v.24, n.3, p.546-556, 2004.

SASAKI, T. **The map-based sequence of the rice genome**. **Nature** 436, 793–800 (2005). <https://doi.org/10.1038/nature03895>.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 58, n. 1, p. 221-227, 2007.

SOUZA, N.M. **Estresse por altas temperaturas na antese em genótipos de arroz irrigado**. 2020. 118f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). CAV, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2020.

SUZUKI, A.; GUERRINI, M.M.; YAMAMOTO, K. 2021. **Functional genomics of autoimmune diseases**. *Ann. Rheum. Dis.* 80:689–697. doi:10.1136/annrheumdis-2019-216794.

SREENIVASULU, N. et al. Designing climate-resilient rice with ideal grain quality suited for high-temperature stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 7, p. 1737-1748, 2015.

TERRA, T. G. R.; LEAL, T. C. A de B.; RANGEL, R. H. N.; BORÉM, A. O. Características de tolerância à seca em genótipos de uma coleção nuclear de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 9, p. 788-796, 2015.

TERRA, T. G. R.; LEAL, T. C. A de B.; BORÉM, A.; RANGEL, P. H. N. Tolerância de linhagens de arroz de terras altas à seca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 201-208, abr./jun. 2013.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O uso de marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p.1-5, 2013.

VENDRUSCOLO, E. P.; RODRIGUES, A. H. A.; OLIVEIRA, P. R.; LEITÃO, R. A.; CAMPOS, L. F. C.; SELEGUINI, A.; DE LIMA, S. F. Aplicação exógena de tiamina em arroz de terras altas submetido ao déficit hídrico. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 19, n. 1, p. 48-53, 2020. DOI: 10.5965/223811711912020048. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/14751>. Acesso em: 30 mar. 2023.

VIEIRA, A. F. **Identification of SNPs associated with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.)** Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO. p. 15. 2019.

ZEYTUNI, N.; ZARIVACH, R. 2012. **Structural and functional discussion of the tetra-trico-peptide repeat, a protein interaction module.** Structure 20:397-405.