

PROSPECÇÃO DE LOCOS MICROSSATÉLITES EM GENES DA VIA METABÓLICA DO AMIDO E SACAROSE EM ARROZ (*Oryza sativa* L.)

BARETTA, Diego¹; FINATTO, Taciane¹; SILVEIRA, Solange Silveira da¹; MAIA, Luciano Carlos da¹; COSTA DE OLIVEIRA, Antonio¹.

¹Centro de Genômica e Fitomelhoramento, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Campus Universitário s/n, Pelotas-RS, CEP 96001-970. barettadiego@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) está presente na dieta de mais de dois terços da população mundial sendo responsável por cerca de 11% da área total cultivada. Na América Latina, o arroz é a fonte básica de calorias da dieta (FERREIRA & VILLAR, 2004). O sucesso de comercialização de uma variedade de arroz é dependente da qualidade dos seus grãos, dentre os parâmetros mais importantes para essa característica, destacam-se, o rendimento de grãos após o polimento, características nutricionais e qualidade culinária. O rendimento e o valor nutricional dos grãos são influenciados pela síntese e estocagem de carboidratos, proteínas e minerais, durante o enchimento dos grãos de arroz. Já a qualidade culinária é afetada pela interação de várias enzimas durante o desenvolvimento dos grãos, que são responsáveis pela estrutura final do amido no endosperma. A manipulação dessas vias metabólicas pode resultar em melhorias significativas no valor nutricional do grão (MAZUR et al., 1999). A utilização de marcadores microssatélites localizados em genes associados à via metabólica da rota do amido pode fornecer avanços para a seleção de constituições genéticas de arroz com maior qualidade de grãos. Microssatélites ou SSRs (*simple sequence repeat*) são seqüências de DNA formadas pela disposição em série de nucleotídeos repetidos em arranjos formados entre dois e seis pares de bases (MORGANTE & OLIVIERI, 1993) e devido suas características como marcadores moleculares, se tornaram uma importante ferramenta para ligar variações gênicas a variações do fenótipo. Os SSRs são marcadores moleculares altamente polimórficos, de herança codominante, são multialélicos e ocorrem abundantemente em genomas eucariotos, são baseados em PCR, reproduzíveis e de custo reduzido (SALLES & BUSO, 2003). O objetivo deste trabalho foi localizar *in silico*, locos microssatélites presentes em genes de enzimas da rota metabólica do amido e sacarose em arroz.

2. METODOLOGIA

Inicialmente foi realizada a busca dos genes de enzimas da via metabólica do amido e sacarose em arroz (*Oryza sativa* L.) com base no banco de dados do KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*), as seqüências de nucleotídeos dos genes foram obtidas e posteriormente foi realizada a busca por locos de microssatélites nestas sequencias, utilizando o programa computacional SSRLocator (MAIA, et al., 2008). Foi realizada a busca por motivos dímeros, trímeros, tetrâmeros e hexâmeros com repetições em série formando fragmentos maiores que 12 pares de bases. Este procedimento realiza a busca de microssatélites tanto de classe I onde as regiões repetidas em série formam fragmentos acima de 20 pares de bases, quanto os microssatélites de classe II que são aqueles com regiões repetidas em

série constituindo fragmentos variando de 12 a 20 pares de bases. Foram considerados como parâmetros de busca o intervalo de 100 pares de bases entre os locos microssatélites e até cinco pares de bases entre regiões imperfeitas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram encontrados 81 genes relacionados à via metabólica do amido e sacarose em arroz. Foram encontrados Um total de 62 locos microssatélites foram identificados, sendo a maioria do tipo trímero (Tabela 1). Estes 62 microssatélites encontrados estão presentes em 81 genes que codificam para 20 enzimas diferentes, sendo estas: *glucose-6-phosphate-isomerase*, *hexokinase*, *phosphoglucomutase*, *alpha-amylase*, *4-alpha-glucanotransferase*, *alpha-glucosidase*, *endoglucanase*, *beta-glucosidase*, *fructokinase*, *hexokinase*, *glucose-1-phosphate adenyltransferase*, *starch synthase*, *glucan 1,3-beta-glucosidase*, *beta-fructofuranosidase*, *sucrose synthase*, *alpha*, *alpha-trehalose-phosphate synthase (UDP-forming)*, *UDPglucose 6-dehydrogenase*, *UDP-glucuronate 4-epimerase*, *alpha-1,4-galacturonosyltransferase*, *pectinesterase*. A maior presença de locos microssatélites foi observado para as enzimas: *endoglucanase*, *glucose-1-phosphate adenyltransferase*, *UDP-glucuronate 4 - epimerase*, *alpha-1,4-galacturonosyltransferase* e *beta-glucosidase*. A *endoglucanase* hidrolisa aleatoriamente as regiões amorfas da cadeia polissacarídica da celulose, gerando novos oligossacarídeos de tamanhos variados. A *glucose-1-phosphate adenyltransferase* tem como substratos ATP e alfa-D-glicose 1-fosfato, enquanto seus dois produtos são difosfato e ADP-glicose, esta enzima pertence à família das transferases, especificamente de transferência de fósforo contendo grupos de nucleotídeos. A *UDP-glucuronate 4-epimerase* pertence à família de isomerases, especificamente racemases e epimerases agindo em carboidratos e derivados. A *beta-glucosidase* catalisa a hidrólise de resíduos terminais não reduzidos de beta-D-glicosídeos resultando na liberação de glicose. A *alpha-1,4-galacturonosyltransferase* é uma enzima necessária para a biossíntese de polissacarídeos pécticos homogalaturonano da parede celular vegetal.

4. CONCLUSÕES

Foram encontrados 62 locos microssatélites para a via metabólica do amido e sacarose em arroz. Estes locos estão localizados em sequências gênicas que codificam 20 diferentes enzimas e podem ser utilizados para a construção de iniciadores para estudos da variabilidade genética e seleção de genótipos com elevada qualidade de grãos.

5. REFERÊNCIAS

FERREIRA, C. M.; VILLAR, P. M.; 2004. Aspectos da produção e do mercado de arroz. *Informe Agropecuário*, **39**, 22, 11-18.

SALLES, G.; BUSO, C. **Protocolo para desenvolvimento de marcadores microssatélites**. Comunicado Técnico. Emprapa, 2003.

MAIA L.C.; PALMIERI, D.A.; DE SOUZA, V.Q.; KOPP, M.M.; DE CARVALHO, F.I.; COSTA DE OLIVEIRA, A. *SSR Locator*: Tool for Simple Sequence Repeat Discovery Integrated with Primer Design and PCR Simulation. **International Journal of Plant Genomics**, 9 pages, 2008.

MAZUR, B.; KREBBERS, E. & TINGEY. S. **Gene discovery and product development for grain quality traits**. Science. v.285, n.5426 p.372-375, 1999.

MORGANTE, M.; OLIVIERI, A.M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**. v.3, n.1, p.175-182, 1993.

Tabela 1. Enzimas, genes e motivos microssatélites envolvidos na via metabólica do amido e sacarose em arroz (*Oryza sativa* L.).

Enzima	Genes	Locos SSR
<i>glucose-6-phosphate-isomerase</i>	<i>Os08g0478800</i>	(GCG)5
	<i>Os01g0742500</i>	(GGA)4
<i>Hexokinase</i>	<i>Os07g0197100</i>	(CCG)4
	<i>Os07g0446800</i>	(GGC)4
<i>phosphoglucomutase</i>	<i>Os10g0189100</i>	(CCG)4
		(GGCGC)3
<i>beta-amylase</i>	<i>Os10g0565200</i>	(GGC)5
		(GCC)5
<i>alpha-amylase</i>	<i>Os06g0713800</i>	(TCC)5
		(CGC)7
<i>4-alpha-glucanotransferase</i>	<i>Os07g0627000</i>	(GCG)4
		(CGG)5
<i>alpha-glucosidase</i>	<i>Os06g0675700</i>	(CGG)7
		(GCG)4
		(GGC)4
		(CGG)5
		(GCC)5
<i>endoglucanase</i>	<i>Os02g0778600</i>	(GCC)5
	<i>Os03g0736300</i>	(AAG)5
	<i>Os04g0443300</i>	(TCA)4-(CGC)5
	<i>Os09g0530200</i>	(CGC)4-(CGG)7
<i>beta-glucosidase</i>	<i>Os03g0212800</i>	(CGC)4
	<i>Os05g0366600</i>	(CTC)5-(GGC)6 (ATGAAC)3
<i>Fructokinase</i>	<i>Os06g0232200</i>	(CGC)6
	<i>Os08g0113100</i>	(GCG)7
<i>glucose-1-phosphate adenyltransferase</i>	<i>Os03g0735000</i>	(GGA)8-(GCC)5

	Os07a0243200	(CGG)4-(CCCG)3- (CCG)4-(GCG)6
<i>Starch synthase</i>	Os06g0229800	(GAG)4 (GCGCCG)3
	Os10g0437600	(GGC)4
<i>glucan 1,3-beta-glucosidase</i>	Os05g0244500	(CCT)4-(CGC)5
<i>beta-fructofuranosidase</i>	Os01g0966700	(CGG)4
	Os02g0106100	(CGA)4
	Os02g0534400	(GCT)4
	Os03g0735800	(CGG)5 (GGC)4
	Os04g0664800	(CTC)4
<i>Sucrose synthase</i>	Os04g0309600	(TCG)4 (AAAG)3
<i>alpha, alpha-trehalose-phosphate synthase_(UDP-forming)</i>	Os09g0397300	(GCG)6
<i>trehalose-phosphatase</i>	Os01g0730300	(GGC)4
<i>UDPglucose 6-dehydrogenase</i>	Os03g0604200	(GGT)4
<i>UDP-glucuronate 4-epimerase</i>	Os02g0791500	(CCT)4 (TGC)4
	Os09g0504000	(CCGGCG)3- (CCGGCG)3- CGTCGG)3
		(CGT)4
		(AAG)5
		(GGC)5
<i>alpha-1,4-galacturonosyltransferase</i>	Os02g0498700	(GCGTCC)3
	Os07g0681700	(GCC)6 (TCTT)3
	Os08g0327100	(GGC)4
	Os09g0531900	(CGG)4-(GGA)5
	Os12g0578500	(GGC)5
<i>pectinesterase</i>	Os08g0450100	(CGT)4 (AAG)4
	Os12g0563700	(GGC)6