



OCORRÊNCIA DE MICROSSATÉLITES NO GENOMA DO ARROZ

**SILVA, Juliana Padilha da¹; SILVEIRA, Solange Ferreira da Silveira.¹;
TESSMANN, Elisane Weber¹; MEZZALIRA, Itamara¹; MAIA, Luciano Carlos da²;
CARVALHO Fernando Irajá Felix³; COSTA DE OLIVEIRA, Antônio³**

¹ Estagiária do CGF-FAEM/UFPEL; ² Aluno de doutorado CGF-FAEM/UFPEL; ³ Professor do Deptº. de Fitotecnia FAEM/UFPEL - juju_padilha@terra.com.br

1. INTRODUÇÃO

O arroz é um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico. É um dos cereais mais consumidos do mundo e base da alimentação para quase metade da população mundial, sendo que as perspectivas são de que a demanda por arroz, em 2030, seja 38% maior que o volume produzido entre os anos de 1997 a 1999 (FAO, 2004).

A caracterização do genoma do arroz por marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e SSR (*Single Sequence Repeats*) vem contribuindo decisivamente para a determinação da diversidade genética e o conhecimento da variabilidade dos genótipos de arroz do banco de germoplasma. Entre os diferentes marcadores moleculares conhecidos os microssatélites ou SSRs são uma classe bastante promissora. Esta classe de marcadores é poderosa em variadas aplicações na genética e melhoramento de plantas, devido a sua reprodutibilidade, natureza multi-alélica, característica co-dominante e abundância em diferentes genomas (TEMNYKH et al., 2001; VARSHNEY et al. 2005). Regiões de DNA repetitivo estão mais propensas a ocorrência de estruturas conhecidas como grampos (*hairpins*), pois nestes trechos, a DNA *Polimerase* sofre um “escorregão” (*slippage*) provocando inserção ou deleção de nucleotídeos, promovendo dessa forma o aumento ou a redução no tamanho da seqüência de repetição (WELLS et al. 1998; IYER et al., 2000).

Este trabalho teve por objetivo descrever a ocorrência de microssatélites no genoma do arroz e prever o número total de possíveis marcadores moleculares a serem disponibilizados para esta espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A partir do banco de dados contendo a versão final do genoma do arroz, seqüenciado pelo consórcio IRGSP (*International Rice Genome Sequence Project*) (IRGSP, 2005), encontrado no NCBI (*The National Center for Biotechnology Information*), foram obtidos arquivos no padrão *fasta* contendo as seqüências de DNA das 12 pseudomoléculas, com o total de nucleotídeos conforme mostrado na Tabela 1, totalizando 371 Mpb. Para detecção dos microssatélites foi utilizado o

programa de bioinformática SSRLocator (MAIA et al. 2008). O programa foi configurado para localizar microssatélites monômeros (x20), dímeros (x10), trímeros (x7), tetrâmeros (x5), pentâmeros (x4) e hexâmeros, heptâmeros, octâmeros, nonâmeros e decâmeros (x3).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado geral mostrou a ocorrência total de: 3.122, 2.634, 2.665, 1.994, 2.097, 2.148, 1.929, 1.973, 1.604, 1.480, 1.878 e 1.887 microssatélites nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 respectivamente.

Como é indicado na Tabela 2, a maior ocorrência das repetições foi encontrada no cromossomo 1, com 3.122 microssatélites, o que corresponde a 12,3% do total encontrado em todo o genoma, seguido pelo cromossomo 2 com 10,4% e o cromossomo 3 com 10,5%. Os dados mostram também que os microssatélites dímeros e trímeros apresentam 43,83% e 20,22% das ocorrências, respectivamente, totalizando 64,05% do total encontrado (Tabela 2).

4. CONCLUSÃO

A análise da seqüência completa do genoma do arroz mostrou que, os microssatélites possibilitam o posicionamento de em média 68 marcadores por Mb (68 microssatélites a cada 1.000.000 de nucleotídeos). Quando analisados somente os tipos dímeros e trímeros, que foram os mais freqüentes, é possível posicionar em média 43,9 microssatélites por Mb. De forma geral os dados mostram que a utilização destes marcadores resulta numa excelente cobertura genômica, possibilitando saturar regiões do genoma que contém genes de importância agrônômica para a seleção assistida por marcadores moleculares.

Tabela 1. Total de nucleotídeos (Mpb) para os 12 cromossomos no genoma do arroz (*Oryza sativa* subsp. *japonica* cultivar Nipponbare), IRGSP-2005. CGF/FAEM, Pelotas, 2009.

Cromossomo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tamanho Mpb	43	36	36	35	30	31	30	28	23	23	28	28

Tabela 2. Ocorrência total de microssatélites, distribuídos por tipos e cromossomos no genoma do arroz. CGF/FAEM, Pelotas, 2009.

Cr.	Mono-	Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-	Hepta-	Oct-a	Nona-	Deca-	Total	%
1	138	1.335	643	302	358	160	121	49	5	11	3.122	12,3
2	101	1.085	571	277	303	141	109	34	7	6	2.634	10,4
3	94	1.172	618	241	275	138	90	21	9	7	2.665	10,5
4	69	863	410	177	250	120	68	22	7	8	1.994	7,8
5	68	880	429	210	271	124	70	27	8	10	2.097	8,3
6	59	929	431	206	263	122	74	42	9	13	2.148	8,5
7	64	826	389	195	244	106	78	20	4	3	1.929	7,6
8	63	860	413	191	209	128	81	15	10	3	1.973	7,8
9	63	738	278	186	167	82	45	26	12	7	1.604	6,3
10	39	664	301	130	168	88	66	14	3	7	1.480	5,8

11	43	898	320	236	215	73	67	11	8	7	1.878	7,4
12	42	887	336	205	212	95	57	35	9	9	1.887	7,4
Total	843	11.137	5.139	2.556	2.935	1.377	926	316	91	91	25.411	-
%	3,32	43,83	20,22	10,06	11,55	5,42	3,64	1,24	0,36	0,36	-	-

Cr.: cromossomo

Tabela 3. Frequência de ocorrência de microssatélites em milhões de pares de base (Mpb) classificados por motivos. CGF/FAEM, Pelotas, 2009

Cr.	Mono-	Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-	Hepta-	Octa-	Nona-	Deca-	Total
Total	843	11	5	3	3	1	926	316	91	91	25
Freq.	2,3	30,0	13,9	6,9	7,9	3,7	2,5	0,9	0,2	0,2	68,5

Cr. : cromossomo; Freq: frequência

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

FAO – **FAO Statistics Division**. Disponível: <<http://faostat.fao.org/>> Acessado em 16 de agosto de 2008.

IRGSP. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**. 11;436(7052):793-800, 2005.

IYER RR, PLUCIENNIK A, ROSCHE WA, SINDER RR, WELLS RD DNA polymerase III proofreading mutants enhance the expansion and deletion of triplet repeat sequence in *Escherichia coli*. **Journal of Biological Chemistry**, v.275, n.3, p.2174-2184, 2000.

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. **Int J Plant Genomics**. 412696, 2008.

TEMNYKH S, DECLERCK G, LUKASHOVA A, LIPOVICH L, CARTINHO S, MCCOUCH S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. **Genome Res**, 11(8): 1441-52, 2001.

VARSHNEY RK, GRANER A, SORRELLS ME. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends Biotechnol**, 23(1): 48-55, 2005.

WELLS, R.D.; PARNIEWSKI, P.; PLUCIENNIK, A.; BACOLLA, A.; GELLIBOLIAN, R.; JAWORSKI, A. Small slipped register genetic instabilities in *Escherichia coli* in triplet repeat sequence associated with hereditary neurological diseases. **J Biol Chem**. v.273, n.31, p.19532-19541, 1998.