

MAPEAMENTO ASSOCIATIVO PARA ACÚMULO DE FERRO EM ARROZ POLIDO

LUCIANA DALLEGRAVE SCHROEDER¹; ALICE PEREIRA DE JESUS²; CÁSSIA FERNANDA STAFEN³; BRUNO LEMOS BATISTA⁴; EDUARDO VENSKE⁵; CAMILA PEGORARO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – dallegrave.lu@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – alice.pereira@hotmail.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – cassia.stafen@outlook.com

⁴Universidade Federal do ABC – bruno.lemos@ufabc.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – eduardo.venske@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – pegorarocamilanp@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A deficiência de ferro (Fe) afeta um terço da população mundial e representa uma grande ameaça à saúde pública. A principal causa da deficiência do elemento é o consumo diário de alimentos pobres em minerais, muitos dos quais ricos em amido, como o arroz branco, farinha de trigo, farinha de milho, mandioca e batata. Cereais integrais apresentam maiores teores de Fe, porém esse mineral se localiza majoritariamente no aleurona e no embrião, e esses tecidos são removidos durante a moagem das farinhas brancas e o polimento do arroz (CONNORTON; BALK, 2019).

Existem três maneiras de suprir a deficiência de Fe, a suplementação com minerais, a fortificação de alimentos e biofortificação de culturas (MASUDA et al., 2013). A biofortificação é o processo de aumentar o conteúdo de minerais (ex. Fe) e vitaminas e a sua biodisponibilidade em culturas básicas através do melhoramento genético ou práticas agronômicas. Assim, caracteriza-se como uma estratégia sustentável, com aplicação potencial em países com recursos limitados (FINKELSTEIN et al., 2017). Como o arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento básico para grande parte da população mundial e em alguns países se constitui praticamente na única fonte de alimentação, é uma cultura alvo para biofortificação.

Estratégias como melhoramento clássico e transgenia têm sido utilizadas para o desenvolvimento de genótipos de arroz com maior acúmulo de Fe no grão. Na maioria dos estudos, se obteve maior concentração do mineral, porém com o beneficiamento esse elemento é perdido, já que ainda não foi possível sua internalização no grão. Assim, estudos buscando delinear a base genética que controla o acúmulo e internalização de Fe em grãos de arroz podem auxiliar os programas de melhoramento. Dessa forma, este estudo teve por objetivo o mapeamento associativo para acúmulo de Fe em arroz branco.

2. METODOLOGIA

Neste estudo foi utilizado um grupo de 91 genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.). O experimento foi conduzido na Embrapa Clima Temperado/Capão do Leão, na safra 2016/2017. Cada genótipo foi semeado em uma linha de 1,0m, espaçadas 0,2m, com três repetições biológicas, arranjadas em blocos inteiramente casualizados. O manejo foi conduzido conforme estabelecido para a cultura (SOSBAI, 2018). Após a colheita, em estádio R8 (COUNCE et al., 2000), os grãos foram secos, descascados, polidos e moídos. A digestão das farinhas foi feita na Universidade Federal de Pelotas (UFPel), e posteriormente as amostras

foram enviadas para a Universidade Federal do ABC, para análise em espectrômetro de massa acoplado indutivamente (ICP-MS Agilent 7900, Hachioji, Japan). A digestão das amostras e a quantificação de Fe foram conduzidas conforme descrito por PANIZ et al. (2018).

Para genotipagem, folhas jovens de todos os genótipos foram submetidas à extração de DNA (DOYLE; DOYLE, 1990). As amostras de DNA foram analisadas quanto à quantidade, qualidade e integridade, liofilizadas e enviadas ao Laboratório de Serviços de Genotipagem do Instituto Internacional de Investigação do Arroz, nas Filipinas. Para genotipagem utilizou-se a plataforma *7K Infinium SNP* com 7098 marcadores SNPs. Após uma etapa de filtragem, permaneceram para análise de mapeamento 4973 SNPs.

Realizou-se a análise de mapeamento através do software Tassel V.5.2.44, através de modelo linear misto. Utilizou-se na equação: dados fenotípicos de teor de ferro nos genótipos avaliados, a genotipagem e matrizes de estrutura da população e outra de parentesco, tendo estas últimas a função de diminuir falsos-positivos na análise. Os resultados são apresentados na forma de Manhattan plot.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A detecção de QTNs (nucleotídeos de caracteres quantitativos) associados ao acúmulo de Fe internalizado em grãos de arroz foi feita considerando a presença de picos de SNPs. Assim, com base no Manhattan plot é possível detectar um QTN possivelmente associado ao acúmulo de Fe em grãos de arroz (Figura 1). Este QTN está localizado no cromossomo 3, indicando que esta região genômica pode estar envolvida com o acúmulo de Fe. Assim, a região será dissecada, de modo a encontrar genes candidatos associados com a concentração de Fe no grão.

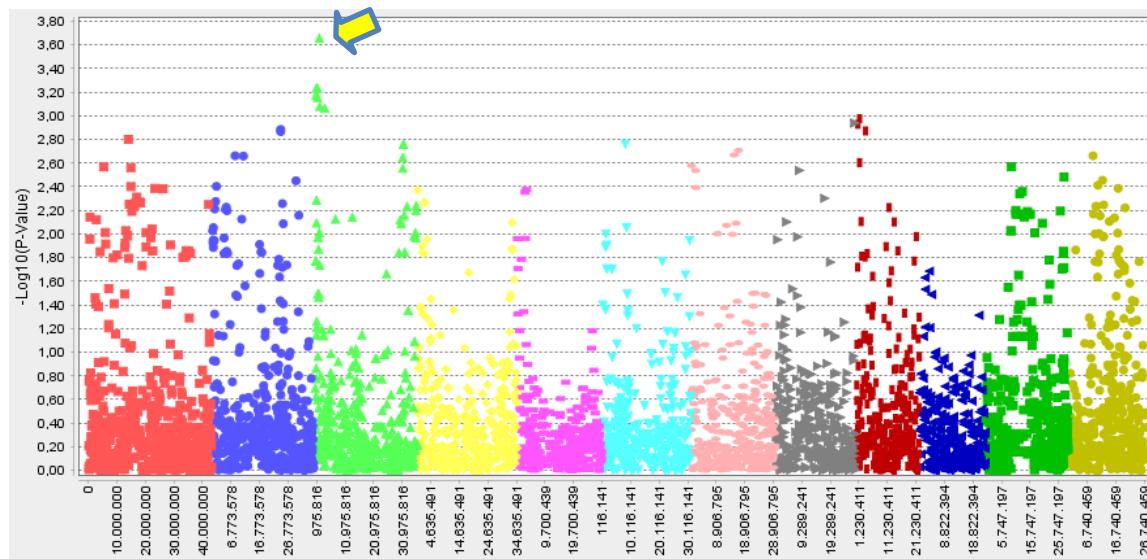


Figura 1. Mapeamento associativo para conteúdo de ferro em grãos brancos de arroz. Cada cor representa um cromossomo. Picos representam marcadores estatisticamente mais fortemente associados ao caráter, dos quais a seta amarela indica o loco mais significativo.

Uma vez que a quantificação de Fe foi feita em grãos polidos, que apresentam reduzido acúmulo deste elemento devido ao beneficiamento, o QTN encontrado sinaliza uma região associada com a internalização do Fe no grão.

A ocorrência de QTLs no cromossomo 3 já foi identificada em um estudo desenvolvido por KUMAR et al., (2014), o que suporta o resultado obtido neste estudo. Além disso, vários QTLs associados ao alto teor de Fe, localizados em diferentes cromossomos, também foram mapeados em arroz (DIXIT et al., 2019). O mapeamento utilizando diferentes *backgrounds* (origem genética), como os genótipos utilizados no Sul do Brasil, pode fornecer uma melhor compreensão da base genética e possibilitar a identificação de QTLs de efeito principal. As regiões genômicas identificadas utilizando essa abordagem poderão ser utilizadas diretamente no melhoramento para biofortificação de Fe em arroz, através de transgenia, ou por meio da seleção assistida por marcadores.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo sugerem a ocorrência de uma região genômica no cromossomo 3 responsável pelo acúmulo de Fe na parte interna do grão de arroz. Uma nova análise será feita buscando identificar os genes localizados nessa região visando a sua aplicação no desenvolvimento de genótipos de arroz com maior acúmulo de Fe em grãos de arroz polidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONNORTON, J.M.; BALK, J. Iron Biofortification of Staple Crops: Lessons and Challenges in Plant Genetics. **Plant and Cell Physiology**, v.60, n.7, p.1447-1456, 2019.

COUCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v.40, p.436-443, 2000.

DIXIT, S.; SINGH, U.M.; ABBAI, R.; RAM, T.; SINGH, V.K.; PAUL, A.; VIRK, P.S.; KUMAR, A. Identification of genomic region(s) responsible for high iron and zinc content in rice. **Scientific Reports**, v.9, n.8136, 2019.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.

FINKELSTEIN, J.L.; HAAS, J.D.; MEHTA, S. Iron-biofortified staple food crops for improving iron status: a review of the current evidence. **Current Opinion in Biotechnology**, v.44, p.138-145, 2017.

KUMAR, J.; JAIN, S.; JAIN, R.K. Linkage Mapping for Grain Iron and Zinc Content in F_2 Population Derived from the Cross between PAU201 and Palman 579 in Rice (*Oryza sativa* L.). **Cereal Research Communications**, v.42, n.3, p.389-400, 2014.

MASUDA, H.; KOBAYASHI, T.; ISHIMARU, Y.; TAKAHASHI, M.; AUNG, S.M.; NAKANISHI H.; MORI S.; NISHIZAWA, N. Iron-biofortification in rice by the introduction of three barley genes participated in mugineic acid biosynthesis with soybean *ferritin* gene. **Frontiers in Plant Science**, v.4, 2013.

PANIZ, F.P.; PEDRON, T.; FREIRE, B.M.; TORRES, D.P.; SILVA, F.F.; BATISTA, B.L. Effective procedures for the determination of As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb, Se, Th, Zn, U and rare earth elements in plants and foodstuffs. **Analytical Methods**, v.10, p.4094-4103, 2018.

SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Cachoeirinha: SOSBAI, 2018. 205p.