UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VALIDAÇÃO DE GENES CANDIDATOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS (*Oryza Sativa L.)* PARA TOLERÂNCIA À SECA

FABIANNA FERREIRA DOS SANTOS

GOIÂNIA-GO

2017

sibi
sistema de bibliotecas ufg

PRPG
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

UFG

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **[x] Dissertação** **[ ] Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Fabianna Ferreira dos Santos

Título do trabalho: Validação de genes candidatos de arroz de terras altas (*Oryza sativa L.)* para tolerância à seca

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento [x] SIM [ ] NÃO[1]

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Fabianna F. dos Santos
Assinatura do(a) autor(a)[2]

Ciente e de acordo:
Quanello
Assinatura do(a) orientador(a)[2]

Data: 20 / 11 / 17

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

[2] A assinatura deve ser escaneada.

Versão atualizada em setembro de 2017.

FABIANNA FERREIRA DOS SANTOS

VALIDAÇÃO DE GENES CANDIDATOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS (*Oryza Sativa L.)* PARA TOLERÂNCIA À SECA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Bioquímica e Genética

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Pereira Vianello

GOIÂNIA-GO

2017

SANTOS, FABIANNA FERREIRA DOS
VALIDAÇÃO DE GENES CANDIDATOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS (Oryza Sativa L.) PARA TOLERÂNCIA À SECA [manuscrito] / FABIANNA FERREIRA DOS SANTOS. - 2017.
xiv, 54 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. ROSANA PEREIRA VIANELLO.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Biologia, Goiânia, 2017.
Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. expressão gênica. 2. produtividade de grãos. 3. resistência à seca. 4. estresse biótico. I. VIANELLO, ROSANA PEREIRA, orient. II. Título.

CDU 57

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Nº 467

Aos trinta e um dias do mês de outubro do ano de dois mil e dezessete, às catorze horas, na Embrapa escola da Embrapa Arroz e Feijão, reuniram-se os componentes da banca examinadora: Profa. Dra. Rosana Pereira Vianello, Profa. Dra. Anna Cristina Lanna e Prof. Dr. Claudio Brondani para, em sessão pública presidida pela primeira examinadora citada, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada "Validação de genes candidatos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* L.) para tolerância à seca", em nível de mestrado, área de concentração em Bioquímica e Genética, de autoria de **Fabianna Ferreira dos Santos**, discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela presidente, que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra, a seguir, foi concedida à autora da dissertação que em cerca de 40 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu a examinada, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da dissertação. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº1491 de 2017 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, a dissertação foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega da versão definitiva da dissertação na Secretaria do programa, com as devidas correções sugeridas pela banca examinadora, no prazo de trinta dias a contar da data da defesa. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16:30 horas e _____ minutos, encerrou-se a sessão de defesa de dissertação e, para

constar, eu, Renato César Rodrigues, Assistente em Administração da Secretaria de Pós-graduação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, lavrei a presente ata que, após lida e aprovada, será assinada pelos membros da banca examinadora em três vias de igual teor.

Profa. Dra. Rosana Pereira Vianello
Presidente da Banca
Embrapa Arroz e Feijão

Prof. Dra. Anna Cristina Lanna
Embrapa Arroz e Feijão

Prof. Dr. Claudio Brondani
Embrapa Arroz e Feijão

FABIANNA FERREIRA DOS SANTOS

VALIDAÇÃO DE GENES CANDIDATOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS (*Oryza Sativa L.)* PARA TOLERÂNCIA À SECA

BANCA EXAMINADORA

_____

Profa. Dra. Rosana Pereira Vianello
Universidade Federal de Goiás

_____

Prof. Dr. Claudio Brondani
Universidade Federal de Goiás

_____

Profa. Dra. Anna Cristina Lanna
Embrapa Arroz e Feijão

Aprovada em: ____/____/_____

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu pai (*in memoriam*), pelos ensinamentos, incentivo, dedicação e exemplo de vida. À minha mãe pela dedicação, apoio e por compreender a minha ausência. À minha irmã Ana Maria por acreditar e incentivar. Ao meu esposo pela paciência. E à todos que se alegram com essa vitória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela oportunidade de melhorar meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço à minha família pela base, incentivo, apoio, exemplo.

Agradeço à minha orientadora Dra. Rosana Pereira Vianello, pela oportunidade, confiança, disponibilidade, pelo conhecimento transmitido e pelos conselhos.

Agradeço aos pesquisadores, Dr. Claudio Brondani e Dra. Anna Cristina Lanna, pela prestatividade e contribuições de grande valor.

Agradeço ao Odilon Peixoto de Morais Júnior pela prestatividade e direção nas análises estatísticas.

Agradeço ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e Melhoramento de Plantas pelo conhecimento transmitido.

Agradeço à Embrapa Arroz e feijão por possibilitar meios para a realização da pesquisa.

Agradeço ao Laboratório Nacional Agropecuário de Goiás (MAPA) pela disponibilidade de realização da pesquisa no Laboratório de Diagnóstico e Biotecnologia.

Ao CNPQ agradeço a concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram para a realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....VIII
LISTA DE FIGURAS.....IX
LISTA DE TABELAS.....X
RESUMO.....XI
ABSTRACT.....XIII
1 INTRODUÇÃO.....15
2 MATERIAL E MÉTODOS 21
2.1 MATERIAL VEGETAL 21
2.2 LOCAL E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....21
2.3 PREPARO DO SOLO PARA O EXPERIMENTO DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA....21
2.4 CONDIÇÕES DO ESTRESSE HÍDRICO.....22
2.5 ANÁLISE DE PRODUTIVIDADE.....23
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS FENOTÍPICOS.....24
2.7 ANÁLISES MOLECULARES.....24
2.7.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL 24
2.7.2 EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL E SÍNTESE DE cDNA.....25
2.7.3 SELEÇÃO DOS GENES PARA ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA.....25
2.7.4 PCR QUANTITATIVA EM TEMPO REAL 26
2.7.5 QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA.....27
3 RESULTADOS.....28
3.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS DA SITIS 28
3.2 ANÁLISE FENOTÍPICA.....28
3.3 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA.....31
3.4 SELEÇÃO DOS GENES PARA ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA.....33
3.5 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA NA PLATAFORMA BIOMARK.....34
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EXPRESSÃO GÊNICA.....34
3.7 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE MnSOD (LOC_Os05g25850.1).....35
3.8 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE GLICOSILTRANSFERASE (LOC_Os01g45140.1) 36
4 DISCUSSÃO.....38
4.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS DO EXPERIMENTO.....38

4.2 PRODUTIVIDADE.....39
4.3 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA NA PLATAFORMA BIOMARK.....40
4.4 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE MnSOD (LOC_Os05g25850.1).....41
4.5 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE GLICOSILTRANSFERASE (LOC_Os01g45140.1).....44
5 CONCLUSÕES.....47
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 48
ANEXOS.....56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
ONU	Organização das Nações Unidas
CNAE	Coleção Nuclear de Arroz da Embrapa
NGS	*Next Generation Sequencing*
ABA	Ácido abscísico
SOD	Superóxido dismutase
qPCR	PCR quantitativo em tempo real
SITIS	Sistema Integrado para Tratamento Induzido à Seca
IFC	*Integrated fluidic circuit*
eEF-1α	*Eukaryotic elongation factor-1 alpha*
C_T	*Cycle threshold*
DAE	Dias após emergência
DAT	Dias após transplantio
CC	Capacidade de campo
RIN	*RNA Integrity Number*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema dos períodos de coletas do material vegetal para as análises de expressão gênica.....24

Figura 2 - Médias diárias de temperatura (ºC) e umidade relativa do ar (%), máximas e mínimas, durante a condução do experimento e ciclo da cultura de arroz de terras altas na plataforma SITIS, coletados a partir de *Datalogger* 170NSET (HOBO® U12-012). As setas indicam o período de início (51° DAT) e fim (85° DAT) da restrição hídrica.....28

Figura 3 - Gráfico de dispersão mostrando a produtividade das plantas de arroz de terras altas irrigadas e sob deficiência hídrica em casa de vegetação SITIS. Os genótipos em destaque vermelho, representativos dos quatro quadrantes, foram selecionados para a avaliação da expressão gênica.....30

Figura 4 - Gel desnaturante de agarose 1%. As bandas correspondem às subunidades 28S rRNA, banda superior, e 18S rRNA, banda inferior, de RNA extraído de plantas de arroz submetidas ao tratamento de seca. À esquerda, *Ladder* 100 pares de base (pb).....32

Figura 5 - Gel de agarose 1%. As bandas entre 100pb e 1000pb correspondem à amplificação de *eEF-1α* em cDNA das amostras utilizadas para avaliação de expressão gênica. À esquerda *Ladder* 100 pares de base (pb), 2º e 3º poços amplificação de *eEF-1α* em amostra de DNA. A verificação de apenas uma banda nas amostras de cDNA indica amplificação específica de cDNA.....33

Figura 6. Programa RiceNet mostrando a interação de 14 genes conectados, a seta indica o gene Glicosiltransferase conectado com mais sete genes.....34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características do solo utilizado nas colunas na plataforma SITIS da Embrapa Arroz e Feijão.....22

Tabela 2 - Agrupamento dos genótipos com base em seu respectivo início de estádio reprodutivo.....22

Tabela 3 - Resumo da Análise de variância para produtividade (P, gramas de grãos coluna^{-1}) e componentes de produção: grãos cheios (GC, média de 6 panículas coluna^{-1}), grãos vazios (GV, média de 6 panículas coluna^{-1}) e massa de 100 grãos (M100, g).....29

Tabela 4 - Médias de produtividade (P, g coluna^{-1}) e dos componentes de produção: número de grãos cheios (GC, média de seis panículas coluna^{-1}), número de grãos vazios (GV, média de seis panículas coluna^{-1}) e massa de 100 grãos (M100, g) nas plantas irrigadas e com deficiência hídrica.....31

Tabela 5- Resumo da análise de variância para os genes *MnSO*D e glicosiltransferase.....35

RESUMO

O arroz de terras altas é cultivado sem irrigação e a disponibilidade de água é totalmente dependente da ocorrência de chuva. O objetivo desse estudo foi avaliar em genótipos de arroz de terras altas cultivados em condições controladas de irrigação e restrição hídrica a expressão diferencial de genes previamente identificados como responsivos em condições de seca. Foram aplicados dois tratamentos hídricos, o irrigado durante todo experimento e o de restrição hídrica, onde a irrigação foi suspensa por cinco dias a partir do início do estádio reprodutivo (R2/R3), com subsequente reposição de 50 % da água evapotranspirada pelas plantas irrigadas na base da coluna por 10 dias, seguido por irrigação adequada até o final do ciclo da planta. Ao término do ciclo da cultura foram realizadas as avaliações dos componentes de produção (número de grãos cheios, número de grãos vazios e massa de 100 grãos) e da produtividade. As estimativas de produtividade dos 24 genótipos variaram de 44 a 170 g coluna^{-1} no tratamento irrigado e de 4 a 86 g coluna^{-1} na condição de deficiência hídrica. Os genótipos Três Meses Branco, BRS Esmeralda, BRSGO Serra Dourada, Casca Branca, BRSMG Curinga, Bico Ganga e Rabo de Burro figuraram dentre os mais produtivos tanto em condição irrigada quanto em condição de deficiência hídrica. Dos 24 genótipos utilizados no experimento descrito acima, 12 contrastantes quanto à produtividade nos tratamentos hídricos foram caracterizados quanto à expressão diferencial para dois genes-alvo. Um gene integra o sistema de defesa antioxidativo (Superóxido dismutase cofator Manganês – MnSOD) e o outro é uma glicosiltransferase que promove a glicosilação de uma molécula de antocianina (*anthocyanidin 3-O-beta-D-glucosyltransferase)*. A ANOVA realizada a partir dos dados de expressão gênica revelou efeito dos genótipos, tratamentos hídricos e época de coleta na expressão gênica ($p \leq 0.05$). O gene MnSOD apresentou o maior nível de expressão em todos os genótipos na condição de maior restrição hídrica (cinco dias sem irrigação), com maiores níveis de expressão nos genótipos menos produtivos em condição de estresse. Já o gene glicosiltransferase apresentou uma expressão consideravelmente reduzida na condição mais crítica do estresse, sem indicativo claro de diferenciação entre os genótipos mais produtivos durante o estresse. Os dois genes avaliados foram claramente responsivos ($p \leq 0.05$) ao estresse hídrico mais severo, porém não explicaram as diferenças entre os genótipos agrupados quanto às estimativas de produtividade com e sem estresse de

seca. Diante disso, é possível concluir que diante da complexidade nos processos adaptativos à seca, cada genótipo utiliza diferentes mecanismos de respostas moleculares, não sendo possível diferencia-los somente através dos genes avaliados nesse estudo.

Palavras-Chave: *Oryza sativa L.;* expressão gênica; produtividade de grãos; resistência à seca; estresse biótico.

ABSTRACT

Upland rice is grown without irrigation and the availability of water is totally dependent on the occurrence of rainfall. The objective of this study was to evaluate the differential expression of genes previously identified as responsive in drought conditions in upland rice genotypes grown under controlled irrigation and water restriction conditions. Two water treatments were applied, irrigation during the whole experiment and the water restriction, where irrigation was suspended for five days from the beginning of the reproductive stage (R2 / R3), with subsequent replacement of 50% of evapotranspirated water by irrigated plants at the base of the column for 10 days, followed by adequate irrigation until the end of the plant cycle. At the end of the crop cycle, evaluations of the production components (number of full grains, number of empty grains and mass of 100 grains) and yield were performed. Productivity estimates of 24 genotypes ranged from 44 to 170 g column^{-1} in the irrigated treatment and from 4 to 86 g column^{-1} in the water deficiency condition. The genotypes Três Meses Branco, BRS Esmeralda, BRSGO Serra Dourada, Casca Branca, BRSMG Curinga, Bico Ganga and Rabo de Burro were among the most productive genotypes both in irrigated condition and in water deficiency condition. Of the 24 genotypes used in the experiment described above, 12 contrasting yields in water treatments were characterized for differential expression for two target genes. One gene integrates the antioxidative defense system (Superoxide dismutase cofactor Manganese - MnSOD) and the other is a glycosyltransferase that promotes the glycosylation of an anthocyanin molecule (anthocyanidin 3-O-beta-D-glucosyltransferase). ANOVA based on the gene expression data revealed genotypes, water treatments and collection time in the gene expression ($p \leq 0.05$). The MnSOD gene presented the highest level of expression in all genotypes in the condition of greatest water restriction (five days without irrigation), with higher levels of expression in the less productive genotypes under stress conditions. On the other hand, the glycosyltransferase gene presented a considerably reduced expression in the most critical condition of the stress, without clear indicative of differentiation among the most productive genotypes during stress. The two genes evaluated were clearly responsive ($p \leq 0.05$) to the most severe water stress, but did not explain the differences between the genotypes grouped in the productivity estimates with and without dry stress. Therefore, it is possible to conclude

that, due to the complexity in the processes adaptive to drought, each genotype uses different mechanisms of molecular responses, and it is not possible to differentiate them only through the genes evaluated in this study.

Key words: *Oryza sativa* L..; gene expression; grain yield; resistance to drought; biotic stress.

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o terceiro alimento mais produzido no mundo e representa a principal fonte de energia para cerca de dois terços da população mundial devido ao alto teor de amido, além de conter proteínas, vitaminas e minerais (Walter et al., 2008; FAO, 2014). Apesar do arroz ser cultivado em mais de 100 países, somente 15 concentram 90% da produção mundial, dos quais China e Índia respondem por 50% desse montante (Muthayya et al., 2014). Os maiores produtores fora do continente Asiático incluem o Brasil, Estados Unidos e o Egito (Muthayya et al., 2014). Segundo dados da FAOSTAT (2017) o consumo mundial de arroz deverá aumentar 1,4% em 2016/17, chegando em 503 milhões de toneladas, dos quais 405 milhões (80,5%) de toneladas são para o consumo alimentar. Considerando um cenário de longo prazo, no qual as projeções mundiais apontam para um crescimento populacional da ordem de 13% até 2030 (ONU, 2015), a produção de arroz deverá aumentar 40% até 2030 (Khush, 2005). Atualmente, o consumo *per capita* mundial está estabilizado e estimado em 54,6 kg por ano, no qual a China ocupa a liderança, seguido por Índia, Indonésia e o Brasil ocupando a décima posição. O uso do arroz em grão, extra consumo humano, inclui alimentação animal, produção de sementes, perdas pós-colheita e produtos industrializados (FAOSTAT, 2017).

O arroz é cultivado em três ecossistemas: 1) irrigado, em que normalmente se cultiva o arroz com irrigação por inundação controlada, 2) várzeas, no qual as águas da chuva inundam o plantio em terrenos ligeiramente inclinados com profundidade e duração variáveis, e 3) terras altas (sequeiro), que considera o cultivo em sequeiro, em que o arroz fica dependente de precipitações pluviais ou podendo haver irrigação suplementar por aspersão (Wade et al., 1999). Esses ecossistemas correspondem, respectivamente, a 75%, 19% e 4% da produção global de arroz (IRRI, 2013). A maioria das variedades de terras altas é considerada como sendo da subespécie *japonica*, já as variedades de irrigado e várzeas, da subespécie *indica* (Khush, 1997). No Brasil, o arroz é um alimento presente na dieta de mais de 95% da população (CONAB, 2015), sendo cultivado em uma área estimada em 2 milhões de hectares, produzindo 12 milhões de toneladas e com rendimento estimado em 5.700 kg ha^{-1} (IBGE, 2015). A maior parcela dessa

produção de arroz é proveniente dos ecossistemas irrigado e de várzeas, e é responsável por 67% da produção nacional, em quanto que o cultivo de terras altas por 32% (IBGE, 2015). As diferenças entre ambientes destes ecossistemas têm determinado variações nas características da planta de arroz, conferindo adaptação diferencial aos genótipos (Santos et al., 2006). O arroz de terras altas caracteriza-se pela condição aeróbica de desenvolvimento radicular da planta, diferente da condição anaeróbica do arroz irrigado, o que implica uma série de transformações que influenciam, não só o desenvolvimento da planta de arroz, como também a absorção de nutrientes e o manejo do solo (Santos et al., 2006).

No Brasil, o início do desenvolvimento da orizicultura de terras altas, pouco exigente em insumos agrícolas e tolerante a solos ácidos, foi associado à abertura de áreas para a agricultura na região central do país, iniciado na década de 60 (Ferreira, 2014). Segundo Nunes (2016) a cultura de arroz chegou a ocupar uma área superior a 4,5 milhões de hectares entre os anos de 1975-1985. Porém, devido à frequente ocorrência de veranicos, ocasionando baixa produtividade média (~1.000 kg ha^{-1}) o seu cultivo foi sendo considerado de alto risco e gradativamente reduzido. As cultivares modernas, surgidas a partir de 1995, mais tolerantes às doenças, mais responsivas à adubação e com algum grau de tolerância à deficiência hídrica, puderam ser utilizadas na rotação de culturas com outros grãos ou na recuperação de pastagens de baixa produtividade, mas sem alta degradação do solo (Ferreira, 2014). Em 2015, a participação do arroz de terra altas na produção brasileira foi de apenas 13,36%, sendo que nos últimos 20 anos houve uma redução da ordem de 75% da área plantada, ocasionando uma redução de produção de 66% (IBGE, 2015). De maneira oposta, o rendimento apresentou um aumento de 1.479 kg ha^{-1} para 2.080 kg ha^{-1}, representando um incremento de produtividade da ordem de 29% (IBGE, 2015). Atualmente, a área plantada com arroz de terras altas concentra-se nas regiões Centro-Oeste (43%), Nordeste (26%) e Norte (28%), com reduzida participação das regiões Sudeste (1%) e Sul (0.96%) (IBGE, 2015). O cultivo desse cereal representa uma importante fonte de renda para os pequenos agricultores do Cerrado brasileiro, desempenhando, desta forma, um importante papel social e econômico na região Centro-Oeste (Kumar et al., 2014; Heinemann et al., 2015).

O arroz de terras altas, cultivado sem irrigação, é totalmente dependente da ocorrência de chuva e, diante disso, fica altamente vulnerável a períodos de estiagem, denominados veranicos (que duram de três a cinco semanas). Durante esses períodos, ocorre uma elevada demanda evapotranspirativa no ambiente que pode causar a perda total da lavoura, principalmente se ocorrerem durante o florescimento (Stone & Pereira, 1994; Crusciol et al., 2003; Pessoa Filho et al., 2010). Nesse cenário global de tendência crescente de escassez de água, o cultivo do arroz no ecossistema de terras altas se torna ainda mais preocupante por representar um fator limitante na produção agrícola, provocando impactos negativos na segurança alimentar da população (Zhou et al., 2016). A busca por cultivares de arroz melhor adaptadas à condição de cultivo com restrição hídrica, através do melhoramento de plantas para tolerância à seca, é reconhecida como estratégia promissora para minimizar o impacto causado pela escassez de água (Huang et al., 2007) sendo, também, uma alternativa real de produção mais sustentável (Lanna et al., 2012).

A tolerância à deficiência hídrica é definida como a adaptação da planta à condição menos favorável de disponibilidade hídrica. Apesar de não existir tolerância absoluta à deficiência hídrica, é notório que a planta possui diferentes mecanismos que minimizam o efeito desse estresse sobre a sua produtividade (Lanna et al., 2012). A baixa representatividade na produção nacional do arroz de terras altas é devida, principalmente, à baixa produtividade de grãos que pode ser explicada por vários fatores, como a irregularidade na distribuição de chuvas e ocorrência de temperaturas extremas em grande parte do país durante o ciclo da cultura, além das práticas inadequadas de cultivo, resultando em diversos problemas metabólicos e fisiológicos que reduzem a produção (Santos et al., 2006; Guimarães et al., 2007). Diversos mecanismos fisiológicos estão envolvidos na resposta da planta quando exposta ao estresse, por exemplo, o aumento da resistência difusiva ao vapor de água mediante o fechamento dos estômatos, o que reduz a transpiração e o suprimento de CO_2 (Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki, 2007). No que tange os aspectos fisiológicos e produtivos, observa-se na presença da restrição hídrica uma redução na altura da planta, decréscimo do número de perfilhos (Terra et al., 2013), redução no número de panículas (Stone et al., 1984; Terra et al., 2013), redução no acúmulo de biomassa e na produção dos grãos

(Stone et al., 1984), atraso no florescimento, esterilidade das espiguetas (Terra et al., 2013), diminuição da área foliar e na taxa fotossintética (Tezara & Lawlor, 1999).

O estresse por seca pode ocorrer em qualquer momento durante o desenvolvimento da cultura, pode variar em intensidade e, frequentemente, ocorre associado a outros estresses ambientais, como calor e salinidade (Shaar-Moshe et al., 2017). Paralelamente, as plantas desenvolveram mecanismos distintos de tolerância à seca que são caracterizados pelo escape, prevenção e tolerância. No escape, as plantas apresentam um rápido desenvolvimento fenológico, reduzindo o ciclo através da antecipação da floração e sendo capazes de evitar a deficiência hídrica severa a ponto de provocar danos morfológicos e fisiológicos. A prevenção caracteriza-se pela manutenção do potencial de água elevado nos tecidos, diminuindo a transpiração através de diversos mecanismos como, por exemplo, o fechamento estomático, redução área foliar e mantendo a absorção de água através de um sistema radicular eficiente. Já a tolerância se refere a um conjunto de características que permite a planta manter o metabolismo mesmo com redução de potencial hídrico nos tecidos, podendo estar associados ao acúmulo de solutos, proteínas osmorreguladoras e à capacidade antioxidante (Verslues et al., 2006). Os processos da resposta da planta ao estresse da seca são complexos e interligados, compreendendo a percepção do sinal de estresse, transdução/amplificação do sinal, seguido por respostas adaptativas em níveis morfológicos, fisiológicos e moleculares (Hu & Xiong, 2014). Grandes esforços de pesquisa têm sido dedicados à compreensão dos mecanismos de resposta de plantas de arroz ao estresse de seca a fim de desenvolver novas cultivares mais tolerantes e com potencial para serem utilizadas pelos programas de melhoramento genético (Baldoni et al., 2016).

Com os avanços na área de genômica funcional, como o sequenciamento de nova geração (NGS - *Next Generation Sequencing*) e o desenvolvimento de ferramentas de bioinformática cada vez mais robustas e acessíveis, observa-se um crescimento exponencial de estudos com ênfase no transcritoma de *Oryza sativa* em condições de seca (Kawahara et al., 2013; Zhou et al., 2017). As informações geradas têm possibilitado identificar e explorar novos genes, bem como ampliam as possibilidades de detalhar informações sobre aqueles previamente descritos e que possam ser alvo de análise mais específicas sobre suas funções e contribuição na maior tolerância da planta ao estresse de seca. Considerável parte desses

estudos está focada na identificação de genes induzidos durante a seca, comparando o perfil de expressão gênica de cultivares tolerantes e sensíveis em condições normais de irrigação *vs*. déficit hídrico (Zheng et al., 2004; Wang D et al., 2011, Siqueira et al., 2015). Embora centenas de genes envolvidos na resposta ao estresse de seca estejam sendo identificados em arroz, dos quais muitos têm sua função bem caracterizada (Ito et al., 2006; Xiao et al., 2007), vários ainda permanecem com a função desconhecida (Wang et al., 2011) e outros ainda estão por ser identificados.

O déficit hídrico induz a expressão de uma grande variedade de genes desencadeando uma complexa rede de respostas que se estende desde a percepção e reconhecimento do sinal de estresse (p. ex. proteínas kinases), passando pela ativação de genes de resposta adaptativa (p. ex. fatores de transcrição induzidos em estômatos), até os genes envolvidos na resposta final (p. ex. chaperonas e enzimas do sistema antioxidativo) (Lee et al., 2009; You et al., 2013; Singh et al., 2015; Basu et al., 2016). Os produtos desses genes induzidos pelo estresse de seca atuam em diferentes mecanismos de resposta celular, sendo que alguns têm se destacado por desempenhar papéis importantes na proteção de plantas por meio da percepção do estresse, transdução de sinal, redes reguladoras da transcrição em respostas celulares, ajustamento osmótico, eliminação de espécies reativas de oxigênio, proteção das proteínas contribuindo assim para a homeostase celular, dentre outros (Umezawa et al., 2006; Guo et al., 2009). Mais recentemente, com o intuito de avançar no conhecimento dos mecanismos genéticos envolvidos na tolerância à seca para variedades de arroz de terras altas o transcritoma de duas variedades da subespécie *japonica*, contrastantes quanto à tolerância e sensibilidade ao déficit hídrico, foi analisado via RNA-seq, dos quais foram identificados centenas de genes envolvidos em rotas metabólicas associadas à produção de metabólitos secundários, genes relacionados à sinalização celular, fatores de transcrição, proteínas protetoras funcionais da célula e enzimas de detoxificação celular (Silveira et al., 2015).

Diante do grande volume de informação de transcritos, surge a necessidade de avaliar o perfil de expressão de genes de interesse utilizando métodos analíticos com maior sensibilidade e especificidade. A técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) se destaca dentre os métodos atualmente

disponíveis, por ser acessível, aplicável ao estudo de diversas espécies e ser adequada tanto para validar experimentos de microarranjo e RNASeq, quanto para fins de mensurar a expressão de genes de interesse (Heid et al., 1996; Valdisser et al., submitted). Sua simplicidade conceitual e facilidade de execução, aliadas com a velocidade, sensibilidade e especificidade a transformaram no padrão ouro para a quantificação de ácidos nucleicos (Bustin et al., 2009). Estudos de avaliação da expressão gênica via qPCR vêm sendo conduzido com sucesso em humanos (Fromer et al., 2016), animais (Nishi et al., 2009) e plantas (Exner, 2010).

No presente estudo a técnica de qPCR foi utilizada para validar genes candidatos de arroz de terras altas previamente identificados em condições de deficiência hídrica provenientes de estudos realizados na Embrapa Arroz e Feijão. Foram avaliados 22 genes candidatos e 2 genes de referência para análise de expressão gênica diferencial em 12 genótipos de arroz de terras altas contrastantes quanto as respostas de tolerância e sensibilidade a esse estresse. Os genes candidatos foram identificados a partir de estudos diversos compreendendo a análise de transcritoma de arroz de terras altas cultivado sob condição de seca (Silveira, 2014), a análise de expressão de genes ortólogos relacionados à seca em arroz (Abreu, 2014), a análise da atividade enzimática e expressão gênica da enzima superóxido dismutase em arroz de terras altas sob deficiência hídrica (de Deus et al., 2015) e a análise de genes de arroz homólogos a genes de Arabidopsis relacionados à produtividade de grão em arroz (Oliveira, 2015).

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAL VEGETAL

Foram utilizados 25 genótipos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* L.) previamente caracterizados como contrastantes para tolerância à deficiência hídrica através de experimentos conduzidos em condição de campo na Estação Experimental Seagro/Emater de Porangatu – Goiás (Bueno et al., 2012). Todos os genótipos integram a Coleção Nuclear de Arroz da Embrapa (CNAE) e estão representados por variedades tradicionais, material cultivado brasileiro e introduzido (Anexo A).

2.2 LOCAL E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento de tolerância à deficiência hídrica foi conduzido entre os meses de fevereiro a junho de 2015, em condições controladas de casa de vegetação na plataforma de fenotipagem SITIS (Sistema Integrado para Tratamento Induzido à Seca), localizada na Embrapa Arroz e Feijão (GO). A temperatura (ºC) e umidade relativa do ar (%) foram registrados diariamente ao longo do experimento no aparelho Datalogger 170NSET (HOBO® U12-012).

Para a instalação do experimento as sementes foram semeadas em potes plásticos, seguido pelo transplante de três plantas por coluna entre o 6º e 11º dias após a emergência (DAE). As colunas com altura de 100 cm, 25 cm de diâmetro e capacidade de 0,2 m^3 foram individualmente apoiadas em uma balança eletrônica KNWaagen (KN100/10). O delineamento experimental foi o de látice 5x5 com doze repetições por genótipo, sendo seis colunas destinadas ao tratamento controle e seis ao tratamento com deficiência hídrica. As colunas referentes aos tratamentos controles e estressados foram distribuídas alternadas de forma que a incidência solar não atingisse apenas um grupo de plantas (ou de forma que a heterogeneidade do ambiente fosse minimizada).

2.3 PREPARO DO SOLO PARA O EXPERIMENTO DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA

O preparo do solo para o preenchimento das colunas consistiu de peneiramento (malha de 125 mm) e de adubação mineral que constou da aplicação

do formulado 5-30-15 (1,125 g kg^{-1}) no plantio e, subsequentemente, 250 mg de sulfato de amônia ($(NH_4)_2SO_4$) kg^{-1} de solo após germinação, 350 mg de ureia (CH_4N_2O) kg^{-1} de solo no início do perfilhamento (estádio vegetativo V4-V5) e 150 mg de CH_4N_2O kg^{-1} de solo na diferenciação da panícula (estádio reprodutivo R1), três a quatro dias antes do início do período de deficiência hídrica (Counce et al., 2000; Freitas et al., 2006). O solo utilizado para o experimento foi do tipo Latossolo vermelho com textura argilosa (Tabela 1).

Tabela 1- Características do solo utilizado nas colunas na plataforma SITIS da Embrapa Arroz e Feijão.

CC	pH	Ca^{+2}	Mg^{+2}	Al^{+3}	P^{+}	K^{+}	Cu	Zn	Fe	Mn
g kg^{-1}	H_2O	$mmol_c$ dm^{-3}					mg g^{-1}			
154,5	5,6	10,5	5,9	0,5	2,5	163,5	2,7	3,1	28,5	28,2

CC – capacidade de campo

2.4 CONDIÇÕES DO ESTRESSE HÍDRICO

Para a imposição do estresse hídrico os 25 genótipos foram divididos em grupos de acordo com a fenologia (número de dias até os estádios reprodutivos R2/R3 - formação do colar na folha bandeira / exserção da panícula) (Counce et al., 2000) (Tabela 2).

Tabela 2 - Agrupamento dos genótipos com base no seu respectivo início de estádio reprodutivo.

Grupos	DAT	Genótipos
1	51	Arroz Carolino, Três Meses Branco, BRS Soberana, Aimoré, Cirad 392, Branquinho 90 Dias e Tangará.
2	53	Casca Branca, IRAT 112, Rio Doce, Guarani, Carajás, Arroz 4 Meses.
3	58	Bico Ganga, BRSGO Serra Dourada, Amarelão, BRS Primavera.
4	65	Agulhão, BRS Esmeralda, BRSMG Curinga
5	85	Rabo de Burro, Moroberekan, Douradão e Saia Velha.

DAT: Dias após transplantio.

A reposição total ou parcial de água no solo foi realizada manualmente. Para estabelecer a quantidade de água no vaso para cada nível hídrico, foi

determinada a capacidade de campo (CC) do solo, definida como o máximo conteúdo de água retido pelo solo após o excesso ter sido drenado. A massa de água na CC equivaleu à diferença entre a massa final das colunas hidratadas e a massa do solo seco (solo seco em estufa a 105-110ºC por 24 horas). A massa de referência (massa inicial da coluna) para o cálculo da irrigação foi estimada pela soma da massa do solo seca e a massa da coluna com 80% de saturação. A cada 24 horas a massa de cada coluna era tomada para obtenção da taxa evapotranspiratória diária (massa inicial da coluna – massa atual da coluna). Após o cálculo, foi realizada a reposição da água evapotranspirada através da irrigação manual, de forma a atingir novamente a massa inicial. O cálculo da quantidade de água no tratamento com deficiência hídrica foi realizado com base na água necessária para manter o solo a 80% da CC (tratamento controle) (Mello et al., 2002).

Foram estabelecidos dois tratamentos, o controle com irrigação mantendo a umidade do solo a 80% da CC durante todo ciclo da cultura, e o estressado com imposição de restrição hídrica. Na condição de estresse manteve-se a irrigação adequada até a planta atingir o estádio reprodutivo R2/R3, quando ocorreu o corte da irrigação por 5 dias. Após o aparecimento dos primeiros sintomas de deficiência hídrica (enrolamento das folhas e acamamento), apenas 50% da água evapotranspirada no ambiente foi reposta no prato situado na base da coluna das plantas sob deficiência hídrica, durante dez dias, até o estádio reprodutivo R7/R8 (maturidade de um grão da panícula/maturidade completa da panícula). Após esse período, a irrigação foi retomada até o final do ciclo das plantas.

2.5 ANÁLISE DE PRODUTIVIDADE

Os parâmetros fenotípicos avaliados ao término do ciclo da cultura foram produtividade e componentes de produção. A produtividade foi estimada pela pesagem dos grãos colhidos por coluna (g coluna^{-1}), compreendendo as três plantas por coluna. Os componentes de produção foram estimados através das variáveis: 1) o número de grãos cheios, determinado pela contagem do número de grãos cheios, média de seis panículas coluna^{-1}, 2) o número de grãos vazios, determinado pela contagem do número de grãos vazios, média de seis panículas

coluna^{-1} e 3) a massa de 100 grãos obtida através da pesagem de cem grãos (g) e determinada em balança de precisão (Shimadzu, modelo BL 3200H). A produtividade foi utilizada como caráter aferidor da tolerância à deficiência hídrica (Campos et al., 2004).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS FENOTÍPICOS

Os dados de produtividade e dos componentes de produção foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando as variações observadas para o mesmo genótipo submetido aos dois tratamentos (irrigado e deficiência hídrica); e variações observadas entre os genótipos submetidos a mesma condição hídrica, utilizando o *software Sisvar* 5.1 (Ferreira, 2011). O teste de significância das médias fenotípicas utilizado foi de *Scott-Knott*, adotando-se o nível de 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$).

2.7 ANÁLISES MOLECULARES

2.7.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Para as análises moleculares foram realizadas coletas do material vegetal, em duplicata biológica em quatro épocas distintas do cultivo. A primeira coleta foi realizada 24 horas após o corte de irrigação (estádios reprodutivos R2/R3); a segunda coleta foi realizada após cinco dias sem irrigação; a terceira coleta foi realizada após dez dias com reposição de 50% da água evapotranspirada nas plantas controle (R7/R8); e a quarta coleta foi realizada 48 horas após o restabelecimento da irrigação nas colunas com plantas sob estresse (Figura 1).

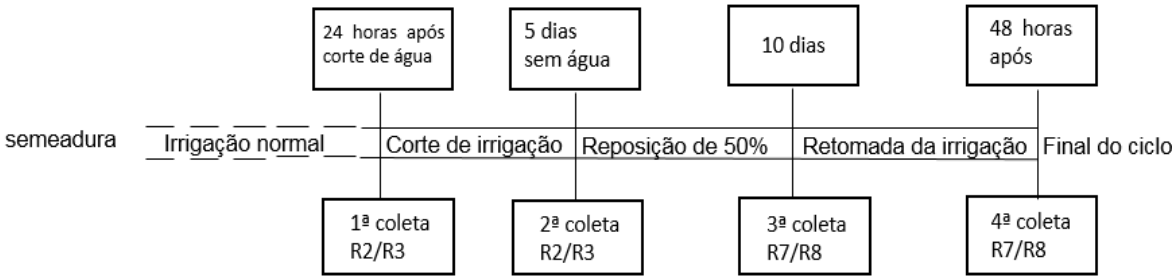


Figura 1. Esquema dos períodos de coletas do material vegetal para as análises de expressão gênica.

2.7.2 EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL E SÍNTESE DE cDNA

A extração do RNA total foi realizada utilizando o produto comercial *Plant RNA Purification* (Invitrogen), seguindo as orientações do fabricante. Ao final da extração, foi realizado tratamento com a enzima *Deoxyribonuclease* I (Invitrogen) para remoção do DNA genômico. O grau de pureza do RNA foi determinado utilizando o equipamento espectrofotômetro NanoVue Plus™ (GE Healthcare) através das razões das absorbâncias de ácidos nucléicos (A260nm), proteínas (A280nm) e a razão da absorbância A260/230, que indica a contaminação por polissacarídeos ou polifenóis. A integridade do RNA (*RNA Integrity Number* - RIN) foi verificada em equipamento BioAnalyzer®2100 (Agilent) utilizando uma escala de notas variando de 1 a 10.

A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada a partir de 1,0 µg de RNA total utilizando o reagente *High Capacity* cDNA *Reverse Transcription* (Applied Biosystems), conforme instruções do fabricante. Posteriormente, o cDNA foi quantificado em fluorômetro *Qubit*® 2.0 utilizando o reagente ssDNA *Assay* kit (Life Technologies). Uma verificação da eficiência dos procedimentos de remoção de DNA e síntese de cDNA foi feita através de PCR utilizando o gene de referência *eEF-1α* (*eukaryotic elongation factor-1 alpha*) que gera amplicons com diferentes comprimentos (pb) para cDNA e DNA.

2.7.3 SELEÇÃO DOS GENES PARA ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA

A seleção dos genes para a análise de expressão gênica foi realizada com base em estudos anteriores, como o padrão de expressão diferencial previamente identificado em estudo de transcritoma de arroz de terras altas cultivado sob condição de seca (Silveira, 2014), expressão de genes ortólogos relacionados à seca em arroz (Abreu, 2014), em estudo de atividade enzimática e expressão gênica em arroz de terras altas sob deficiência hídrica (de Deus et al., 2015), e expressão gênica de arroz (Oliveira, 2015) (Anexo B). O conjunto de genes selecionados foi avaliado utilizando o programa RiceNet (http://www.functionalnet.org/ricenet/) que estima a probabilidade de interação

entre os genes através de um *score log-likelihood* (LLS) possibilitando identificar os genes que são conectados e envolvidos em uma rede de resposta celular.

2.7.4 PCR QUANTITATIVA EM TEMPO REAL

A PCR quantitativa em tempo real (qPCR) foi realizada baseada em sistema de micro fluidos utilizando a plataforma BioMark™ HD (Fluidigm Corporation, EUA). As etapas envolvidas no preparo das amostras para a análise de expressão foram realizadas de acordo com o protocolo da Fluidigm® Fast Gene Expression Analysis using EvaGreen with 48.48 Dynamic Array™ IFC. Para a pré-amplificação, amostras de cDNA, primers *forward* e *reverse* específicos para a amplificação dos genes-alvos e o reagente PreAmp Master mix foram utilizados seguindo recomendações do fabricante. O programa térmico de ciclagem consistiu de 2 minutos a 95°C seguido por 15 ciclos de 95°C por 15 segundos e 4 minutos a 60°C. Por fim as reações foram tratadas com enzima Exonuclease diluída 1:10 e estocadas a −20°C para uso posterior. O produto derivado da pré – amplificação de cDNA foi misturada ao *Syber green* qPCR reagent® e ao 20x DNA Binding Dye Sample Loading Reagent, e em paralelo, foi preparada uma mistura dos primers *forward* e *reverse* a 2X Assay Loading reagent. Realizada a pipetagem das amostras e primers no chip (placa) e, posteriormente inserido no Controlador IFC para carregar por 60 minutos. A PCR foi realizada usando o BioMark™ Real-Time PCR System (*software* Biomark HD *Data collection* v. 4.1.2). O programa térmico consistiu de 60 segundos a 95 ºC por 30 ciclos de 96 ºC por 5 segundos; 60 ºC por 20 segundos e Curva de *melting* 60 ºC por 3 segundos, com rampa de 60 ºC - 95 ºC a 1ºC/3 s. Os CTs corrigidos foram extraídos pelo *software* Fluidigm® Real-Time PCR Analysis v. 4.1.3 (Fluidigm Corporation) utilizado para as análises de expressão gênica. O limiar de qualidade foi ajustado na configuração padrão de 0,65% (Korenková et al., 2015). Os pares de oligonucleotídeos que não atingiram os valores mínimos de qualidade ou que geraram mais de um produto de amplificação (amplicon) na curva de dissociação (curva de *melting*) foram descartados das análises. Um dos parâmetros de qualidade avaliados são os valores de *cycle threshold* (Ct). As estimativas de Ct adequadas variam de 6 a 25 no qual Ct <6 indica um excesso de produto amplificado, ou seja, uma elevada

concentração de amostra ou gene resultando na saturação do sistema e valor de Ct impreciso, enquanto Ct> 25 indica pouco produto gênico amplificado e, consequentemente, pouca confiabilidade no valor de Ct gerado (Korenková et al., 2015).

2.7.5 QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

Para análise de expressão gênica foi utilizado o método comparativo (ΔΔCT), que determina a quantificação relativa (RQ). O valor de ΔCt da amostra foi obtido subtraindo os valores de Cts do gene de referência pelos Cts dos genes de interesse. Em seguida foi determinada uma amostra - referência (genótipo BRSMG Curinga) cultivado na 1ª coleta com 100% de irrigação. O cálculo de ΔΔCt foi determinado pela seguinte fórmula: [ΔCt (amostra) – ΔCt (amostra - referência)]. Depois de obtido o valor de ΔΔCt, aplicou-se a fórmula ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$) (Livak & Schmittgen, 2001), resultando no valor de expressão relativa do gene em estudo. O gene de referência utilizado foi *Actin* (*ACT*) (Wang et al., 2009; Campos et al., 2014). Dessa forma, os valores de *fold change* $2^{-\Delta\Delta Ct}$ foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste *Tukey* ($p \leq 0,05$) utilizando o s*oftware* R (R Core Team, 2017). A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar: 1) comparação entre os genótipos, em cada tratamento hídrico por coleta; 2) comparação entre tratamentos hídricos por coleta para cada genótipo; e 3) comparação entre o mesmo tratamento hídrico nas diferentes coletas para cada genótipo. O teste de *Tuke*y foi empregado para testar as significâncias das variações nas condições 1, 2 e 3 ao nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS DA SITIS

Durante a condução do experimento em casa de vegetação SITIS as médias diárias de temperatura mínima e máxima variaram de 21,5°C a 37,5°C e umidade relativa do ar de 40,9% a 81,3%, respectivamente. O período de imposição da restrição hídrica (fase reprodutiva), que ocorreu entre o 51° e 85° DAT (dias após transplantio), foi caracterizado por temperaturas variando de 22,4ºC a 38,0ºC e umidade variando de 44,6% a 84,3% (Figura 2).

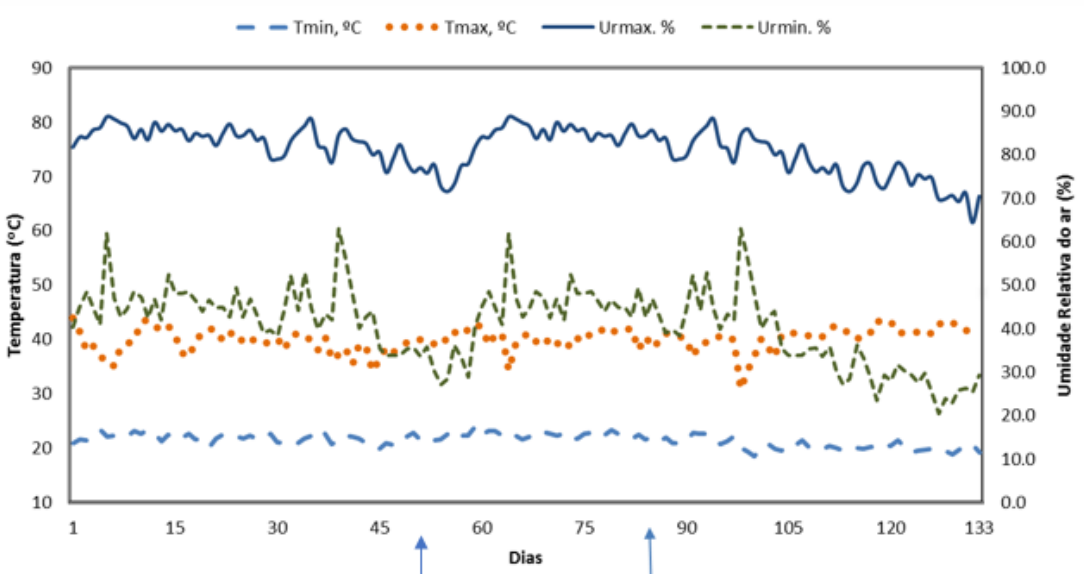


Figura 2 - Médias diárias de temperatura (ºC) e umidade relativa do ar (%), máximas e mínimas, durante a condução do experimento e ciclo da cultura do arroz de terras altas na plataforma SITIS, coletados a partir de *Datalogger* 170NSET (HOBO® U12-012). As setas indicam o período de início (51° DAT) e fim (85° DAT) da restrição hídrica.

3.2 ANÁLISE FENOTÍPICA

Dos 25 genótipos avaliados, o genótipo denominado “Comum” não produziu grãos e foi eliminado das análises, totalizando 24 genótipos. De acordo com a análise estatística utilizada foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para todas as variáveis (produtividade, número de grãos cheios, número de

grãos vazios e massa de 100 grãos) em relação às fontes de variação genótipo, nível hídrico e a interação genótipo x nível hídrico, com exceção do caráter massa de 100 grãos para a interação entre genótipo e nível hídrico (Tabela 3).

Tabela 3 - Resumo da Análise de variância para produtividade (P, gramas de grãos coluna^{-1}) e componentes de produção: grãos cheios (GC, média de 6 panículas coluna^{-1}), grãos vazios (GV, média de 6 panículas coluna^{-1}) e massa de 100 grãos (M100, g).

		Quadrado Médio			
FV	GL	P	GC	GV	M100
Genótipo	23	2213,44*	6312,69*	914,03*	1,02*
NH	1	83966,16*	47275,08*	8906,79*	5,59*
Genótipo*NH	23	1433,81*	1813,23*	947,83*	0,15 NS
Erro	96	331,61	807,88	264,08	0,14
Média		82,10	122,28	42,67	2,82
CV (%)		22,18	23,24	38,08	13,43

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; NH: Nível hídrico; CV (%): coeficiente de variação; *Significativo ($p \leq 0,05$), NS: Não significativo ($p > 0,05$).

Os valores médios de produtividade no tratamento irrigado variaram de 44 a 170 g coluna^{-1} (média=106,48) e no tratamento com estresse entre 4 e 86 g coluna^{-1} (média=57,68) (Figura 3 e tabela 4). Os genótipos Três Meses Branco, BRS Esmeralda, BRSGO Serra Dourada, Casca Branca, BRSMG Curinga, Bico Ganga e Rabo de Burro figuraram dentre os mais produtivos tanto em condição irrigada quanto em condição de deficiência hídrica, dessa maneira ficaram dispostos no quadrante superior direito (Figura 3). No quadrante inferior direito estão os genótipos Guarani, Rio Doce, BRS Primavera, Branquinho 90 Dias, IRAT 112, Arroz 4 Meses e Tangará pois apresentaram baixa performance agronômica em condições de adequada disponibilidade hídrica, porém mantiveram suas produtividades em condições de deficiência hídrica. Saia Velha, Agulhão, Amarelão e Douradão apresentaram alta produtividade em condições irrigadas, porém reduziram em mais de 50% suas produtividades em condições de deficiência hídrica, estão dispostos no quadrante superior esquerdo. Por fim, Arroz Carolino, Carajás, CIRAD 392, Aimoré, BRS Soberana e Moroberekan apresentaram baixa produtividade tanto quando cultivados em condição irrigada quanto em condição de deficiência hídrica, dispostos no quadrante inferior esquerdo (Figura 3).

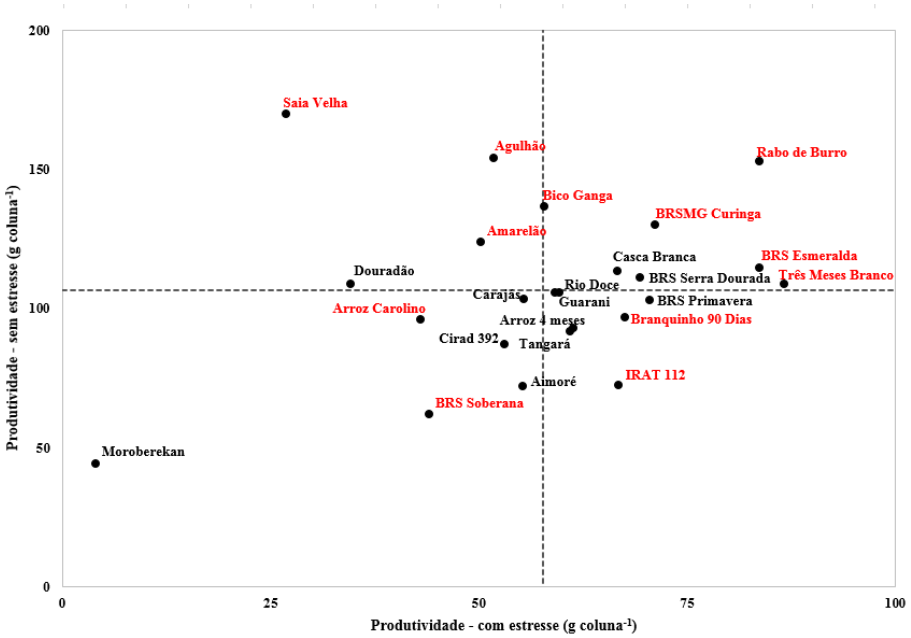


Figura 3- Gráfico de dispersão mostrando a produtividade das plantas de arroz de terras altas irrigadas e sob deficiência hídrica em casa de vegetação SITIS. Os genótipos em destaque vermelho, representativos dos quatro quadrantes, foram selecionados para a avaliação da expressão gênica.

Quanto aos componentes de produção, o valor médio para o número de grãos cheios, número de grãos vazios e massa de 100 grãos, para as plantas irrigadas, foi de 141, 47 e 3,03 g, respectivamente. Para as plantas estressadas foi de 103, 38 e 2,62 g, respectivamente. Em condição de adequada disponibilidade de água no solo, a maior porcentagem de número de grãos vazios foi apresentada pelos genótipos BRS Primavera e BRS Soberana (67 e 61, respectivamente). E, em condições de deficiência hídrica, a maior porcentagem de número grãos vazios foi apresentada pelos genótipos Saia Velha e Moroberekan (92 e 117, respectivamente). Em condição adequada de disponibilidade de água no solo, a maior porcentagem de número de grãos cheios foi apresentada pelos genótipos Serra Dourada (228), BRS Primavera e BRS Esmeralda (ambos, 177). E em condições de deficiência hídrica, a maior porcentagem de número grãos cheios foi apresentada pelos genótipos BRS Primavera e BRS Serra Dourada (176 e 174, respectivamente). Em ambas as condições hídricas no solo, o genótipo que

apresentou a menor massa de 100 g foi BRSGO Serra Dourada (2,17 e 2,03, respectivamente) e a maior foi IRAT 112 (3,80 e 3,37, respectivamente) (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias de produtividade (P, g coluna^{-1}) e dos componentes de produção: número de grãos cheios (GC, média de seis panículas coluna^{-1}), número de grãos vazios (GV, média de seis panículas coluna^{-1}) e massa de 100 grãos (M100, g) nas plantas irrigadas e com deficiência hídrica.

GENÓTIPOS	PRODUTIVIDADE (g coluna^{-1})		Nº GRÃOS CHEIOS		Nº GRÃOS VAZIOS		MASSA 100 GRÃOS (g)	
	I	E	I	E	I	E	I	E
Três Meses Branco	108,79 Ca	86,67 Aa	145 Ba	144 Aa	40 Aa	32 Ba	3,48 Aa	3,03 Aa
Branquinho 90 Dias	96,81 Ca	67,57 Aa	124 Ba	112 Ba	49 Aa	24 Ba	3,52 Aa	2,69 Ab
IRAT 112	72,37 Da	66,80 Aa	91 Ba	82 Ca	56 Aa	35 Ba	3,80 Aa	3,37 Aa
Aimoré	72,01 Da	55,27 Aa	133 Ba	123 Ba	38 Ba	32 Ba	3,14 Aa	2,91 Aa
BRS Soberana	61,81 Da	44,13 Ba	118 Ba	118 Ba	61 Aa	43 Ba	2,46 Ba	2,39 Ba
Casca Branca	113,45 Ca	66,65 Ab	157 Aa	135 Ba	51 Aa	42 Ba	3,52 Aa	2,96 Aa
BRSG Serra Dourada	110,98 Ca	69,44 Ab	228 Aa	174 Ab	31 Ba	62 Bb	2,17 Ba	2,03 Ba
Douradão	108,77 Ca	34,68 Bb	120 Ba	50 Cb	46 Ba	15 Bb	2,76 Ba	2,07 Bb
Rio Doce	105,75 Ca	59,25 Ab	139 Ba	125 Ba	49 Aa	46 Ba	3,33 Aa	2,61 Ab
Guarani	105,75 Ca	59,65 Ab	109 Ba	81 Ca	43 Ba	18 Ba	3,74 Aa	3,23 Aa
Carajás	103,16 Ca	55,43 Ab	165 Aa	93 Cb	48 Ba	22 Ba	3,19 Aa	2,79 Aa
BRS Primavera	103,04 Ca	70,60 Ab	177 Aa	176 Aa	67 Aa	58 Ba	2,28 Ba	2,21 Ba
Arroz Carolino	96,11 Ca	43,10 Bb	138 Ba	108 Ba	47 Aa	44 Ba	3,13 Aa	2,69 Aa
Arroz 4 Meses	92,77 Ca	61,44 Ab	166 Aa	115 Bb	46 Aa	42 Ba	2,89 Ba	2,72 Aa
Tangará	91,70 Ca	60,96 Ab	123 Ba	104 Ba	33 Ba	30 Ba	3,77 Aa	2,73 Ab
Cirad 392	87,02 Ca	53,07 Ab	124 Ba	106 Ba	46 Ba	17 Bb	2,87 Ba	2,83 Aa
Moroberekan	44,18 Da	4,08 Cb	111 Ba	7 Db	47 Aa	117 Ab	2,89 Ba	2,14 Bb
BRS Esmeralda	114,47 Ca	83,71 Ab	177 Aa	156 Aa	55 Aa	43 Ba	2,40 Ba	2,33 Ba
Amarelão	123,70 Ba	50,31 Ab	128 Ba	78 Cb	49 Ba	25 Ba	3,19 Aa	3,00 Aa
BRSMG Curinga	129,98 Bb	71,17 Ab	145 Ba	120 Ba	47 Ba	14 Bb	2,61 Aa	2,15 Ba
Bico Ganga	136,46 Ba	57,93 Ab	125 Ba	89 Ca	38 Ba	21 Ba	2,91 Ba	2,04 Bb
Rabo de Burro	152,69 Aa	83,79 Ab	173 Aa	104 Bb	58 Ba	16 Bb	3,21 Aa	2,86 Aa
Agulhão	153,92 Aa	51,88 Ab	158 Aa	60 Cb	63 Ba	25 Bb	3,20 Aa	2,85 Aa
Saia Velha	170,02 Aa	26,93 Bb	119 Ba	19 Db	26 Ba	92 Ab	2,35 Ba	2,34 Ba

Letras maiúsculas comparam genótipos em cada regime hídrico e letras minúsculas comparam os regimes hídricos por genótipo. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$); I: Irrigado, E: Estressado.

3.3 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA

Dos 24 genótipos avaliados, 12 foram selecionados para a análise de

expressão gênica com base na produtividade, e pela representatividade dos genótipos nos quatro quadrantes apresentados no diagrama de dispersão. Os genótipos Bico Ganga, BRSMG Curinga, Rabo de Burro, BRS Esmeralda, Três Meses Branco (situados no quadrante superior direito), Branquinho 90 Dias e IRAT 112 (situados no quadrante inferior direito), Saia Velha, Agulhão e Amarelão (situados no quadrante superior esquerdo), Arroz Carolino e BRS Soberana (situados no quadrante inferior esquerdo) foram selecionados para análise do nível de expressão gênica (Figura 3).

Foram realizadas 192 extrações de RNA considerando por amostra os dois tratamentos hídricos, as duplicatas biológicas e as quatro épocas de coletas avaliadas. As amostras revelaram valores adequados em relação à pureza e a concentração do RNA obtido da 1ª a 4ª coleta para os tratamentos irrigado e estressado (Anexos C, D, E e F, Figura 4).

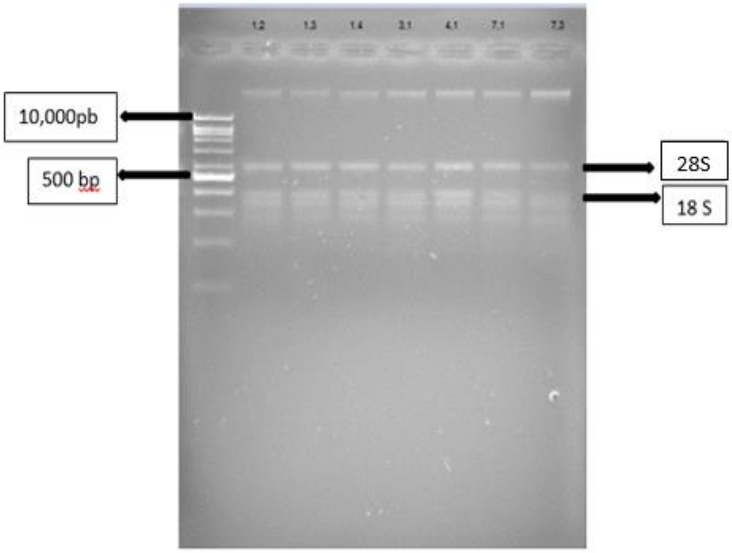


Figura 4 - Gel desnaturante de agarose 1%. As bandas correspondem às subunidades 28S rRNA, banda superior, e 18S rRNA, banda inferior, de RNA extraído de plantas de arroz submetidas ao tratamento de seca. À esquerda, *Ladder* 100 pares de base (pb).

As amostras também revelaram eficiência nos procedimentos de remoção de DNA e síntese de cDNA (Figura 5). Para a continuidade do trabalho foram aceitas apenas amostras com valores de RIN ≥ 6.0. As estimativas de RIN variaram de 6,00 a 7,40 para o tratamento controle e de 6,00 a 7,20 para o tratamento com deficiência hídrica (Anexo G).

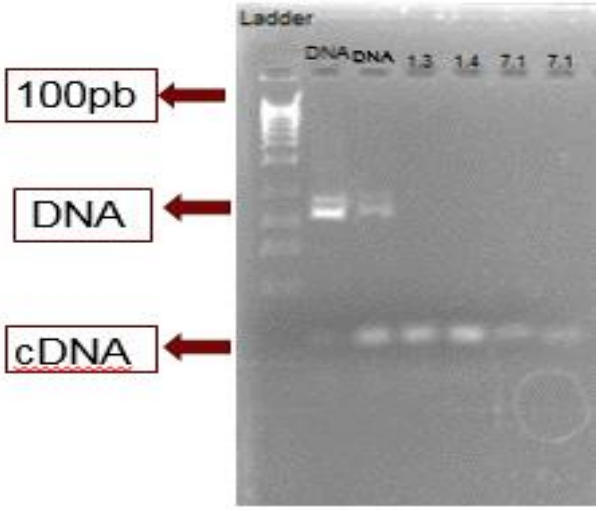


Figura 5 - Gel de agarose 1%. As bandas entre 100pb e 1000pb correspondem à amplificação de *eEF-1α* em cDNA das amostras 1.3 e 1.4 IRAT 112 e 7.1 Bico Ganga, para avaliação de expressão gênica. À esquerda *Ladder* 100 pares de base (pb), 2º e 3º poços amplificação de *eEF-1α* em amostra de DNA. A verificação de apenas uma banda nas amostras de cDNA indica amplificação específica de cDNA.

3.4 SELEÇÃO DOS GENES PARA ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA

Para a pesquisa de interação no programa RiceNet dos 25 genes avaliados, observaram -se 14 genes conectados (Figura 6). Foram selecionados mais oito genes otimizados em estudos anteriores de arroz de terras altas na Embrapa Arroz e Feijão totalizando 22 genes alvos para as análises de expressão gênica na plataforma Fluidigm™.

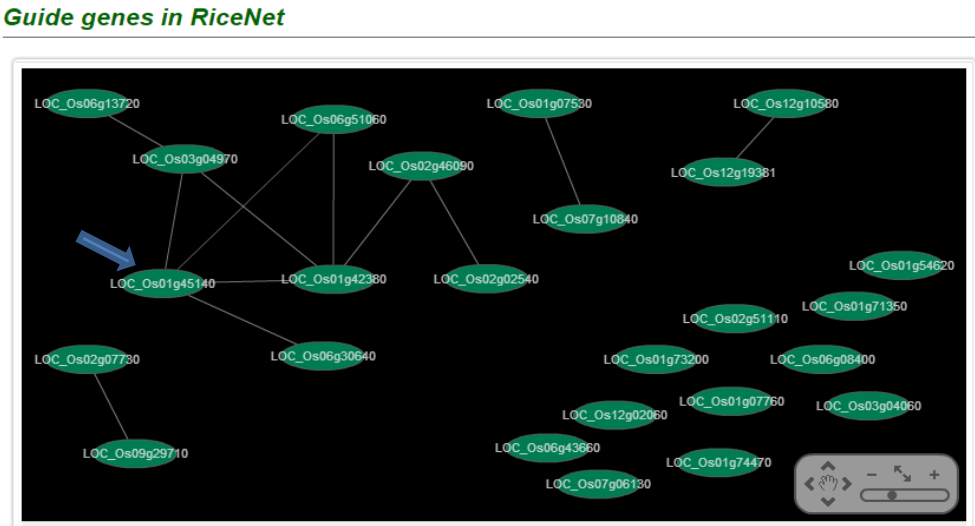


Figura 6. Programa RiceNet mostrando a interação de 14 genes conectados, a seta indica o gene Glicosiltransferase conectado com mais sete genes.

3.5 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA NA PLATAFORMA BIOMARK

A análise de expressão foi realizada através de primers gene-específicos e visualização via SYBR® utilizando a plataforma Fluidigm™ com circuito integrado de fluidos (IFCs). Foi possível analisar 12 amostras em duplicata técnica e 24 genes em duplicata técnica em uma única corrida, resultando em 2.304 reações. Cada coleta foi avaliada individualmente em uma placa.

Após as análises foram aplicados filtros quanto a qualidade das amostras, e dessa forma dos 22 genes avaliados na plataforma Fluidigm™, foram selecionados dois genes alvos, superóxido dismutase (*MnSOD)* e Glicosiltransferase, e um gene de referência o Actina para as análises estatísticas para o presente estudo.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EXPRESSÃO GÊNICA

A análise de variância (ANOVA) revelou diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para os genes *MnSOD* e glicosiltransferase na interação tripla genótipo x tratamento hídrico x época de coleta. Os dados foram apresentados pela média ± erro padrão da média ($p \leq 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância para os genes *MnSO*D e glicosiltransferase.

Fonte de variação	Quadrado Médio		
	GL	*MnSOD*	glicosiltransferase
Coleta (C)	3	1220,76*	7,7609*
Repetição	2	13,37*	1,8510 *
Bloco/Repetição	8	4,23*	1,9035*
Genótipo (G)	11	90,76*	29,9830*
Tratamento hídrico (T)	1	542,09*	2,1649*
G x C	33	112,25*	11,7670*
T x C	3	615,48*	2,7739*
G x T	11	39,91*	1,6354*
G x C x T	33	64,71*	2,3750*

GL:grau de liberdade; CV (%): coeficiente de variação; *Significativo (p≤0,05)

3.7 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE *MnSOD* (LOC_Os05g25850.1)

Considerando os níveis de expressão do gene *MnSOD* entre os genótipos avaliados em cada tratamento hídrico, por coleta, observou-se considerável variação na expressão em todas as condições avaliadas (Anexo H). Em relação à planta - referência BRSMG Curinga (100% irrigada), na segunda coleta, tanto no tratamento irrigado quanto no estressado, foram observados maiores níveis de expressão do gene para todos os genótipos. De modo interessante, a média dos valores de expressão foi menor para o grupo de genótipos mais produtivos, tanto na condição irrigada, quanto na de estresse. Níveis de expressão consideravelmente aumentados foram observados para os genótipos sensíveis Saia Velha (43,78x), Amarelão (12,65x) e Agulhão (17,91x) sob deficiência hídrica na segunda coleta. Já na terceira coleta, os níveis de expressão foram próximos para todos os genótipos do tratamento estressado, a exceção dos BRS Esmeralda (4,37x) e IRAT 112 (4,21x) que revelaram expressão aumentada na condição de deficiência hídrica. Já na quarta coleta, observou-se uma tendência à redução dos níveis de expressão, a exceção do genótipo Amarelão (aumento de 2,06x) no tratamento estressado. No geral, maiores níveis de expressão foram observados

na segunda coleta, tanto no tratamento controle quanto sob deficiência hídrica (Anexo H).

Considerando o efeito do tratamento hídrico por genótipo em cada coleta, maiores variações nos níveis de expressão foram observadas na segunda (10 genótipos) e terceira coletas (7 genótipos), seguido pela quarta coleta (3 genótipos) (Anexo I). Na segunda coleta, aumentos expressivos nos níveis de expressão, quando comparado ao irrigado, foram observados para os genótipos Três Meses Branco (31,82x), BRS Soberana (28,03x), Saia Velha (43,78x) e Agulhão (17,91x). Na terceira coleta os genótipos que permaneceram com níveis aumentados de expressão em relação ao irrigado foram os genótipos Três Meses Branco, Bico Ganga, BRS Esmeralda, Branquinho 90 Dias, IRAT 112 e BRS Soberana. Na quarta coleta houve variação nos níveis de expressão apenas para os genótipos Rabo de Burro, BRSMG Curinga e Saia Velha que apresentaram maiores níveis de expressão na condição irrigada. O destaque foi para a segunda coleta na qual a maioria dos genótipos apresentaram os maiores níveis de expressão tanto na condição irrigada quanto sob deficiência hídrica (Anexo I).

A análise considerando o mesmo tratamento hídrico e genótipo, entre coletas, revelou níveis de expressão aumentados na segunda coleta para todos os genótipos na condição irrigada e, ainda maiores, na condição de deficiência hídrica, comparados a primeira coleta. A expressão do gene foi aumentada na terceira coleta, quando comparados à primeira, no tratamento estressado a exceção de 2 genótipos e no tratamento irrigado a exceção de 4 genótipos, que apresentaram redução do nível de expressão. Já na quarta coleta, menores valores de expressão foram observados, quando comparados à primeira, para os dois tratamentos avaliados (Anexo I).

3.8 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE GLICOSILTRANSFERASE (LOC_Os01g45140.1)

Considerando os níveis de expressão do gene glicosiltransferase entre os genótipos avaliados, em cada tratamento hídrico, por coleta, observou-se variações significativas (Anexo J). Em relação à planta – referência BRSMG Curinga 100% irrigada, na primeira coleta o genótipo Agulhão apresentou o maior nível de

expressão (8,92x) o único que diferiu entre todos os demais genótipos, enquanto nas demais coletas houve considerável variação nos níveis de expressão entre os genótipos. Maiores níveis de expressão foram observados nos tratamentos irrigados quando comparado com o estressado da 2ª coleta e 3ª coletas, já na 4ª coleta os maiores níveis de expressão foram observados no tratamento estressado em relação ao irrigado (Anexo J).

Considerando o efeito do tratamento hídrico no genótipo para cada coleta observou-se variação nos níveis de expressão nos genótipos avaliados, à exceção do Amarelão que não foi observada variação nas coletas e tratamentos ($p>0,05$) (Anexo K). Na segunda coleta, somente os genótipos Rabo de Burro e Saia Velha apresentaram níveis de expressão aumentados (1,59x e 7,12x, respectivamente) quando expostos à deficiência hídrica. Os demais genótipos apresentaram redução de expressão do gene. Na terceira coleta, somente o genótipo Três Meses Branco teve expressão aumentada na condição de estresse (1,56x), sendo que os genótipos Rabo de Burro, IRAT 112, Arroz Carolino e Agulhão apresentaram diferença significativa, porém com maiores níveis de expressão no nível irrigado. Na quarta coleta, dos cinco genótipos caracterizados como mais produtivos na presença e ausência de estresse, somente o Três Meses Branco permaneceu com níveis aumentados na condição de estresse (0,37x), enquanto os genótipos com boa produtividade no tratamento irrigado Branquinho 90 Dias e IRAT 112, também mantiveram níveis aumentados (0,43x e 0,36X, respectivamente) (Anexo K).

Considerando o mesmo tratamento hídrico por genótipo nas diferentes coletas foi nítida a redução de expressão do gene para ambos os tratamentos da primeira para a segunda coleta, sendo mais acentuada para os tratamentos de estresse, ocorrendo redução também para maioria dos genótipos para as demais coletas nos dois tratamentos (Anexo K).

4 DISCUSSÃO

4.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS DO EXPERIMENTO

A média de temperatura máxima de 37,5°C e umidade relativa do ar mínima de 40,9% ao longo do experimento sugerem uma alta demanda evapotranspiratória na qual o fornecimento de água se torna indispensável para o desenvolvimento da cultura do arroz. Segundo Stone et al. (2003) grande parte das lavouras de arroz de terras altas está localizada na região do bioma Cerrado, caracterizada pela distribuição irregular das chuvas, sendo comum a ocorrência de estiagens de duas a três semanas, denominadas regionalmente de "veranicos". A baixa capacidade de retenção de água dos solos, aliada à alta demanda evapotranspirativa da atmosfera durante esses períodos, faz com que os veranicos reduzam a produtividade do arroz principalmente se ocorrerem no estágio reprodutivo.

Dentre os fatores que afetam o desenvolvimento da planta e a produtividade de grãos, a temperatura do ar é um dos elementos climáticos de maior importância para o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade da cultura do arroz. A temperatura ótima para o desenvolvimento do arroz situa-se entre 20°C e 35°C, sendo que cada fase fenológica tem a sua temperatura crítica bem estabelecida (Yoshida, 1981). As faixas de temperatura ótimas variam de 20°C a 35°C para germinação, de 30°C a 33°C para a floração e de 20°C a 25°C para a maturação, sendo que a cultura não tolera temperaturas excessivamente baixas, nem excessivamente altas (Da Silva et al., 2012). As fases mais sensíveis do arroz de terras altas a temperaturas elevadas são a pré-floração, cerca de nove dias antes da emissão das panículas, e a floração (Da Silva et al., 2012; Lanna et al., 2013). Segundo Yoshida (1981) a temperatura ideal durante a emissão da panícula é entre 25ºC e 28ºC; e a iniciação do primórdio floral (florescimento) é entre 25ºC e 30ºC. Nesse estudo, durante o período de imposição da restrição hídrica (fase reprodutiva), as temperaturas variaram entre 22,4ºC e 38,0ºC e a umidade do ar de 44,6% a 84,3%. A produtividade reduz com o aumento da temperatura máxima (temperaturas superiores a 35°C), causando maior esterilidade de espiguetas no arroz e com o aumento da temperatura mínima, ocorre o aumento da taxa de respiração noturna e consequentemente consumo de biomassa (Walter, 2010). Certamente as altas temperaturas ocorridas no decorrer do experimento

comprometeram o desempenho produtivo dos genótipos de arroz de terras altas em ambos os tratamentos hídricos.

4.2 PRODUTIVIDADE

A análise estatística dos dados de produtividade e componentes de produção revelou a presença de interação significativa entre os 24 genótipos avaliados e tratamento hídrico para a produtividade e os componentes número de grãos cheios e número de grãos vazios ($p \leq 0,05$), e ausência de interação entre genótipo e tratamento para o caráter massa de 100 grãos. Nesse cenário, os dados demonstram que para a maioria das características fenotípicas avaliadas os genótipos apresentaram resposta diferenciada em função do tratamento hídrico aplicado. Isso retrata especificidades adaptativas diferenciadas dos genótipos às condições de deficiência hídrica. Conforme também reportado por Terra et al. (2013), o peso de grãos foi uma característica que também não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os genótipos, para ambos os tratamentos hídricos. Entretanto, existe uma redução no peso dos grãos ($p > 0,05$), quando submetidos à deficiência hídrica, com valores médios de 3,03 g na presença de irrigação e 2,62 g sob deficiência. Trata-se de uma característica dependente das translocações de carboidratos, sendo que a planta em condição de deficiência hídrica produz menos fotoassimilados resultando em uma menor exportação desses para o enchimento dos grãos (Crusciol et al., 2001). Na presença da deficiência hídrica, os parâmetros produtividade, grãos cheios e grãos vazios também apresentaram redução, conforme descrito em vários estudos com arroz de terras altas (Guimarães et al., 2013; Matsumoto et al., 2014).

Em relação à produtividade, os genótipos Três Meses Branco, BRSMG Curinga, BRS Esmeralda, BRSGO Serra Dourada, Rabo de Burro, Casca Branca e Bico Ganga apresentaram maiores estimativas de produtividade tanto em condição irrigada, quanto sob deficiência hídrica. Essas estimativas resultaram em redução da produtividade variando da ordem de 20,3% a 57,5% quando da presença do estresse hídrico. Dentre esses, os genótipos Três Meses Branco e BRS Esmeralda apresentaram menores estimativas de redução de produtividade (20,3% e 26,9%, respectivamente), ou seja, maior estabilidade de produção. Nesse cenário, seria

possível indicar esses dois genótipos como os mais tolerantes à seca na condição de experimento controlado conduzido em casa de vegetação e recomendar o uso dos mesmos para validação em condição de cultivo de campo sob outras variáveis ambientais, sendo o primeiro indicado a cultivar BRS Esmeralda porque já é melhorada geneticamente. Dentre as características desejáveis de uma variedade de arroz, destacam-se elevada produtividade e estabilidade de produção em ambientes diversos. Uma das formas de introduzir essa estabilidade nas variedades de arroz é selecionar genótipos que tenham características agronômicas especiais, como a tolerância à seca, permitindo a planta tolerar o estresse abiótico comprometendo menos a produção. As adoções de novas técnicas de biotecnologia e engenharia genética junto aos programas de melhoramento genético são tidas como importantes aliadas na introdução de novas características no processo de seleção de genótipos superiores. Nesse estudo, dos sete genótipos mais produtivos e com destacada estabilidade de produção, quatro (Três Meses Branco, BRSMG Curinga, BRS Esmeralda e Bico Ganga) foram empregados na análise de expressão gênica. Também integraram as análises moleculares os genótipos Agulhão, Amarelão e Saia Velha, que foram produtivos somente em condição de irrigação adequada; Branquinho 90 Dias e IRAT 112, mais produtivos somente em condição de deficiência hídrica; e Arroz Carolino e BRS Soberana, com produtividade reduzida na presença e ausência de irrigação (categorizados como os mais sensíveis no experimento). Dessa forma, foram representados na análise molecular genótipos de arroz com adaptabilidades distintas em condições de cultivo controlado favoráveis e desfavoráveis.

4.3 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA NA PLATAFORMA BIOMARK

A plataforma Biomark^{TM} System (Fluidigm), baseada na tecnologia de microfluidos, vem sendo utilizada para avaliar perfis de expressão de múltiplos genes e amostras, simultaneamente (Jang et al., 2011; Cassan – Wang et al., 2012; Dufour et al., 2016). No presente estudo, em uma única reação foram avaliados 24 genes (duplicata técnica) e 12 amostras (duplicata técnica) em um ensaio combinatório totalizando 2,304 reações de expressão gênica. A utilização desse sistema de análise resultou na redução do número de passos de manipulação das

amostras e reagentes e, consequentemente, a redução de tempo e demanda de mão de obra para a condução de um experimento envolvendo um número considerável de genes e amostras (Melin & Quake, 2007; Brod et al., 2014). Adicionalmente, destaca-se ainda a redução do viés inter-experimental relativo as variações nos valores de eficiência de amplificação derivados de múltiplas reações de PCR. Entretanto, comparado ao qPCR conduzido em plataforma de tempo real, algumas desvantagens foram observadas, como o elevado custo por *data point,* resultante do valor dos reagentes para a realização das análises, representando um acréscimo da ordem de 11% (R$ ~62.00 por amostra fluidigm), a elevada sensibilidade do sistema a pequenas variações nas concentrações de reagentes e amostras levando à perda do dado, o excesso de passos de pré-amplificação e etapas de ajustes do protocolo (definir diluição da reação, número de ciclos de termociclagem) que, naturalmente, não foram os mesmos para o conjunto de 24 genes avaliados, ocasionando a perda de resultados para alguns genes. A presença de produtos inespecíficos derivado desse sistema de análise também tem sido relatado por outros autores (Dahl et al., 2007; Fredriksson et al., 2007).

4.4 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE *MnSOD* (LOC_Os05g25850.1)

Nesse estudo, a condição de restrição hídrica no qual o arroz de terras altas foi submetido em ambiente de casa de vegetação, no estádio reprodutivo, induziu o estresse de seca nas plantas, conforme demonstrado a partir dos dados de redução de produtividade. Adicionalmente, as cultivares BRSGO Serra Dourada (Melo et al., 2009) e BRS Esmeralda (Castro et al., 2014), que se destacaram como as mais produtivas em condição irrigada e de deficiência hídrica no presente estudo, foram previamente descritas como tolerantes em ensaios de campo conduzidos pelo programa de melhoramento de arroz (Melo et al., 2009; Castro et al., 2014). Já a BRSMG Curinga, reportada nesse estudo como tolerante, apresentou acentuada redução de produtividade em cultivo de seca em condição de campo, conforme reportado por Terra et al (2015). Diversos autores têm relatado que plantas de arroz sofrem estresse hídrico acentuado quando a umidade do solo diminui, devido ao sistema radicular relativamente pequeno, rápido fechamento estomático durante esse estresse, provocando uma redução acentuada na taxa

fotossintética (Hirasawa, 1999; Ji et al., 2012). A avaliação da expressão gênica da enzima SOD, uma metaloproteína cujo cofator é o manganês, na presença e ausência de estresse hídrico, possibilitou avaliar e avançar no conhecimento de um importante mecanismo de defesa antioxidativo das plantas de arroz de terras altas.

Os componentes do sistema de defesa antioxidativo trabalham de forma bem coordenada e ativa em resposta às situações de estresse que podem intensificar a produção de espécies reativas de oxigênio causando danos ao organismo (Mittler, 2002; Foyer & Noctor, 2005). A enzima SOD representa um dos componentes enzimáticos do sistema de defesa antioxidativo, que catalisa a conversão de $O_2^{\bullet-}$, radical livre gerado pela redução univalente do O_2 molecular a H_2O_2, em diferentes compartimentos celulares (Salvador & Henriques, 2004). Enquanto as espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são consideradas importantes moléculas de transdução de sinal (Baxter et al., 2014; Mittler, 2017), eles também são tóxicos, causando danos celulares extensivos e inibição da fotossíntese (Choudhury et al., 2017). Os estresses abióticos que limitam a disponibilidade de CO_2, devido ao fechamento estomático, aumentam a produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio que promovem a oxidação de componentes celulares, dificultando atividades metabólicas e afetando a integridade das organelas (Suzuki et al., 2012). Vários estudos, em nível de expressão gênica, têm sido conduzidos para elucidar o modo de ação da enzima SOD na presença de estresses abióticos, tais como o estresse à seca, salinidade, frio, temperaturas elevadas, toxicidade ao alumínio (Bowler et al., 1989; Srivalli et al., 2003; Wang et al., 2016; Ara et al., 2013; Thounaojam et al., 2012; Aydin et al., 2013).

Nesse estudo, aumentos significativos ($p \leq 0.05$) nos níveis de expressão de SOD foram observados na segunda coleta em condição de deficiência hídrica para 11 dos 12 genótipos avaliados. Esses resultados evidenciam a ativação desse mecanismo de defesa antioxidativo na presença da deficiência hídrica, através da maior produção da enzima a nível molecular, que corroboram com o importante papel da SOD no mecanismo de proteção celular (Caverzan et al., 2016, Dehury et al., 2012; Al Hassan et al., 2017). Entretanto, de modo interessante, os maiores níveis de expressão de SOD nesse estudo foram observados durante a segunda coleta nos genótipos que demonstraram maior sensibilidade ao estresse de seca,

ou seja, com menor produtividade sob deficiência hídrica (Saia Velha, Agulhão, Amarelão, BRS Soberana). Resultados similares avaliando o perfil de expressão da SOD foram relatados em cevada (Harb et al., 2015), onde o genótipo sensível apresentou expressão aumentada da SOD no estágio inicial da aplicação do estresse de seca (com dois dias de restrição hídrica mantendo 25% capacidade do solo), enquanto no genótipo tolerante somente foi observado expressão do gene no tratamento intermediário de seca (nove dias de estresse), sem diferenciação de resposta entre tratamentos (irrigado e seca) (Harb et al., 2015). No que tange a análise do perfil enzimático da enzima SOD (produto traduzido), diversos estudos têm relatado uma tendência similar na redução, ou estabilização, na atividade da enzima SOD em condição de estresse com seca em trigo, ervilha e arroz (Alexieva et al., 2001; Basu et al., 2010; Devi et al., 2011). No estudo conduzido por Basu et al (2010) utilizando arroz da variedade *Indica* induzidos à seca por polietileno glicol (PEG) foi demonstrado um aumento na atividade de SOD induzido por seca, porém, sem diferenciação entre os genótipos tolerantes e sensíveis. Segundo esses autores, provavelmente nos genótipos caracterizados como tolerantes, outros mecanismos da planta atuaram minimizando o efeito da seca na produção de espécies reativas de oxigênio, tais como modificações celulares, especialmente rearranjo na composição da membrana lipídica, modificação no aparato fotossintético, maior indução de antioxidantes não enzimáticos, dentre outros, reduzindo o impacto da seca na produtividade. Em um estudo mais recente, utilizando duas variedades de arroz contrastantes quanto à tolerância à seca e submetidas ao estresse de seca em condições controladas, apesar de terem sido reportados níveis aumentados de expressão de SOD no genótipo tolerante, esse padrão não foi correlacionado com níveis de atividades aumentados da enzima SOD (de Deus et al., 2015). O mesmo foi observado por Xu et al. (2011) em um estudo com a gramínea *Poa pratensis*, no qual durante o estresse de seca foi observado um padrão aumentado da expressão gênica da SOD, enquanto a atividade enzimática foi reduzida. Essas discrepâncias são sugestivas de uma regulação pós-transcricional, tais como a inativação ou degradação da enzima SOD decorrente de processos induzidos pela seca. Em um estudo com cevada (Harb et al., 2015), onde várias enzimas do sistema antioxidativo foram avaliadas (incluindo a SOD) tanto a nível de expressão gênica, quanto de atividade enzimática, não foi

possível estabelecer um padrão de ativação ou inibição dessas enzimas característico da tolerância ou sensibilidade. Nesse cenário, os autores concluíram que cada genótipo utiliza diferentes mecanismos de respostas molecular e bioquímica quando submetidos a uma mesma condição de seca. Adicionalmente, adaptações morfofisiológicas da planta sob estresse hídrico, em paralelo aos mecanismos de proteção das espécies reativas de oxigênio, integram as respostas da planta tanto para evitar os efeitos da seca, quanto para tolerar os efeitos adversos do estresse (Çelik et al., 2017). Dentre esses, destacam-se modificações relacionadas na arquitetura das plantas e diminuição do número de folhas, diminuição da expansão foliar, aumento do tecido vascular, e espessura da parede celular e desenvolvimento radicular (Revisado por Basu et al., 2016). Como exemplo, Souza et al. (2016) em um estudo com milho sob deficiência hídrica mostraram que os genótipos mais produtivos possuem um sistema radicular melhor desenvolvido. Essas alterações nos processos adaptativos são todas controladas por complexas interações moleculares e bioquímicas que ainda carecem de muitos esclarecimentos (Osakabe et al., 2014).

4.5 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE GLICOSILTRANSFERASE (LOC_Os01g45140.1)

Em plantas as glicosiltransferases, denominadas como UDP-glicosiltransferases (UGTs), consiste de uma superfamília contendo 56 famílias, preferencialmente localizada no citosol e está envolvida na síntese de produtos como flavonóides, fenilpropanóides, terpenóides, esteroides, além de atuarem na regulação hormonal da planta (revisado por Liu et al., 2015). As glicosiltransferases catalisam a transferência de grupos glicosil de uma molécula doadora para uma molécula aceptora específica (Pflugmacher & Sandermann, 1998). Uma grande variedade de agliconas, como a antocianidina, pode ser glicosilada por estas UGTs. Nas plantas, as agliconas incluem hormônios vegetais, metabólitos secundários envolvidos no estresse, respostas de defesa e xenobióticos como herbicidas. A glicosilação é conhecida por regular muitas propriedades das agliconas, tais como a sua bioatividade, a sua solubilidade e as suas propriedades de transporte dentro da célula e em toda a planta (Li et al., 2001). No presente estudo, o gene

glicosiltransferase avaliada (*anthocyanin 3-O-beta-glucosyltransferase)* é também nomeada de 3'GT, UDP-glucose:anthocyanin 3'-O-beta-D-glucosyltransferase, UDP-glucose:anthocyanin 3'-O-glucosyltransferase, segundo informação obtida no sítio Gramene (www.gramene.org).

Em uma análise de tBLASTn no banco de dados de Arabidopsis (compara nucleotídeos traduzidos contra banco de dados de proteínas) utilizando a sequência de aminoácidos do transcrito LOC_Os01g45140 referente ao gene avaliado nesse estudo (*anthocyanin 3-O-beta-glucosyltransferase*) foram encontradas similaridades com dezenas de transcritos. As maiores estimativas de similaridades (e-values ≤ 10^{-100}) foram reportadas com o transcrito UDP-Glycosyltransferase, UGT 73B4 (loco AT2G15490) e UDP-Glucosyltransferase, UGT 73B5 (loco AT2G15480). Em uma análise filogenética das dezenas de UGTs descritas para Arabdopsis foi revelado que as mesmas se organizam em 12 classes, sendo que as UGTs envolvidas na glicosilação da antocianidinas estão no grupo D (Li et al., 2001). Com base no termo do Gene Ontology (GO), processos biológicos, esses transcritos atuam em processos metabólicos, resposta a outros organismos (resposta a um estímulo de organismo vivo), resposta a estímulo de substâncias tóxicas e detoxificação. Adicionalmente, em Arabidopsis, essas UGTs (73B4 e 73B5) foram determinadas como expressas em estômatos, raízes, hipocótilo, meristema de inflorescência, pólen, célula de tubo de pólen, estame, caule e feixe vascular em folha.

A reação bioquímica na qual a enzima *anthocyanin 3-O-beta-glucosyltransferase* atua na transferência do resíduo de glicose da molécula Uridina Difosfato-glicose (UDP-glicose) para uma molécula de antocianidina, liberando a UDP e uma molécula de antocianidina glicosilada, denominada de antocianina (anthocyanidina 3-O-beta-D-glicosideo: KEGG – (http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?reaction+R03797+R06534+R06535+R06536). As antocianinas, pertencentes ao grupo dos flavonóides, constituem o maior e mais importante grupo de pigmentos naturais hidrossolúveis, compreendendo mais de 635 antocianinas identificadas na natureza (He & Giusti, 2010). As antocianinas desempenham um importante papel no sistema de defesa antioxidativo, pois integram o mecanismo de proteção não-enzimática em respostas ao estresse oxidativo, ao contrário da enzima SOD, que integra o mecanismo de proteção enzimático. A função das

glicosiltransferases no sistema antioxidativo está relacionada à capacidade de neutralização e eliminação de radicais livres, impedindo assim que esses provoquem danos às biomoléculas (Hernández et al., 2009) e, também, atuando indiretamente como antioxidante (Gould et al., 2008).

No presente estudo, observou-se uma redução nos níveis de expressão gênica do gene glicosiltransferase na segunda coleta para todos os genótipos avaliados, nas duas condições de irrigação, sendo mais acentuada em condição de seca ($p \leq 0,05$). Nesse cenário, o entendimento foi que durante o estresse hídrico mais intenso (cinco dias sem receber água) menos antocianidina foi glicosilada. Segundo Hernández et al. (2009) os flavonóides são sintetizados principalmente no citosol e podem ser transportados para diferentes compartimentos celulares, sendo que uma das funções da glicosilação é o endereçamento para compartimentos celulares específicos. Ainda segundo esses autores, a antocianidina presente no citosol seria mais ativa no processo de eliminação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Baseado nessas premissas, seria possível deduzir que menos antocianina (antocianidina glicosilada) significaria, teoricamente, mais molécula de antocianidina disponível no citosol para realizar a detoxificação. Entretanto, como grande parte do H_2O_2 é produzido em organelas, como o cloroplasto e a mitocôndria, o mesmo teria que ser transportado para o citosol com a finalidade de ser eliminado. A real função da glicosilação na molécula de antocianidina ainda carece de muitos esclarecimentos.

Existem vários estudos que reportam o efeito da glicosilação na atividade da molécula aceptora e, consequentemente, o seu efeito na homeostase celular (revisado por Lim & Bowles, 2004). A glicosilação de moléculas de hormônio prejudica o reconhecimento dos hormônios por sítios aceptores, estando relacionada com a perda de função dessas moléculas. Em um estudo recente conduzido com Arabidopsis (Liu et al., 2015) foi demonstrado a ação de uma UGT (UGT 71C5) na glicosilação do ácido abscísico (ABA), convertendo-o em ABA- GE (glucose-ester), uma forma inativa de ABA. Nesse estudo, uma regulação negativa do gene UGT (*down-regulation*) resultou em plantas mais tolerantes à seca. Em síntese, a glicosilação parece representar um importante mecanismo regulatório que altera os níveis de metabólitos em uma célula através do controle da

ativação/desativação de moléculas, bem como na translocação e estabilidade dessas moleculas no ambiente celular.

5 CONCLUSÕES

- Os genótipos responderam de modo diferenciado ao estresse de deficiência hídrica, com variação nas estimativas de produtividade e componentes de produção;
- Três Meses Branco e BRS Esmeralda podem ser recomendados para validação em condição de cultivo de campo sob outras variáveis ambientais, por apresentarem elevada produtividade e estabilidade de produção;
- Os genes *MnSOD e* glicosiltransferase foram diferencialmente expressas entre todos os genótipos, sob todas as condições de tratamento impostas;
- O gene *MnSOD* apresentou maior nível de expressão quando os genótipos foram expostos a cinco dias sem irrigação, sugerindo uma maior condição de estresse oxidativo celular e uma ativação do sistema de defesa antioxidativo no sentido de manter uma homeostase celular mais adequada;
- Não foi observado maior expressão do gene *MnSOD* nos genótipos tolerantes sob condição crítica de estresse, e sim nos sensíveis, sugerindo que nos genótipos tolerantes outros mecanismos de defesa podem ter sido ativados minimizando a formação de espécies reativas de oxigênio;
- A avaliação da expressão gênica da *MnSOD e* glicosiltransferase na presença e ausência do estresse hídrico possibilitou avaliar e avançar no conhecimento do mecanismo de proteção enzimático (defesa antioxidativo) e em mecanismo não – enzimático em respostas ao estresse oxidativo das plantas de arroz de terras altas;
- Na condição de deficiência hídrica o gene glicosiltransferase apresentou seu nível de expressão diminuído, sugerindo que menos antocianina glicosilada é formada no ambiente celular;
- Os dois genes avaliados nesse estudo não explicam as diferenças entre a tolerância e os diferentes graus de sensibilidade estabelecidos nesse estudo para os genótipos avaliados na presença e ausência da deficiência hídrica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F. R. M. Expressão de genes ortólogos relacionados à tolerância à seca em arroz [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 2014.

ARA, N.; NAKKANONG, K.; LV W, YANG J, HU Z, ZHANG M. Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in the stems and roots of two cucurbit species ("Cucurbita maxima" and "Cucurbitamoschata") and their interspecific inbred line "maxchata". **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 12, Dez. 2013.

AYDIN, S. S.; BÜYÜK, I.; ARAS, S. Relationships among lipid peroxidation, SOD enzyme activity, and SOD gene expression profile in Lycopersicum esculentum L. exposed to cold stress. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 3220-3229, Ago. 2013.

BALDONI, E.; BAGNARESI, P.; LOCATELLI.; MATTANA, M.; GENGA, A. Comparative Leaf and Root Transcriptomic Analysis of two Rice Japonica Cultivars Reveals Major Differences in the Root Early Response to Osmotic Stress. **Rice**, Italy, v. 9, n. 25, 2016.

BASU, S.; RAMEGOWDA, V.; KUMAR, A.; PEREIRA, A. Plant adaptation to drought stress. **F1000Research**. v. 5, Jun. 2016.

BUENO, L. G.; VIANELLO, R. P.; RANGEL, P. H. N.; UTUMI, M. M.; CORDEIRO, A. C. C.; PEREIRA, J. A.; FRANCO, D. F.; MOURA NETO, F.; MENDONÇA, J. A.; COELHO, A. S. G.; OLIVEIRA, J. P.; BRONDANI, C. Adaptabilidade e estabilidade de acessos de uma coleção nuclear de arroz. Pesquisa Agropecuária Brasileira (1977. Impressa), v. 47, n. 2, p. 216-226, Fev. 2012.

BUSTIN, S. A.; BENES, V.; GARSON, J.A., HELLEMANS, J., HUGGETT, J., KUBISTA, M., MUELLER, R., NOLAN, T., PFAFFL, M.W., SHIPLEY, G.L., VANDESOMPELE, J. AND WITTWER, C.T.The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, p. 611-622, 2009.

CAMPOS, H.; COOPER, M.; HABBEN, J. E.; EDMEADES, G. O.; SCHUSSLER, J. R. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. **Field Crops Research**, Philadelphia, v. 90, n. 1, p. 19-34, Nov. 2004.

CAMPOS, N.; TORNÉH, J.M.; BLEDAB, M.J.; MANICHC, A.; URRETAE, I.; MONTALBÁNF, I.A.; CASTA˜NÓND, S.; MONCALEANG, P.; SANTOSI, M. Proteomic and transcriptomic analysis of rice tranglutaminase and chloroplast-related proteins. **Plant Science**, v. 229. p. 142–153, Set. 2014.

CASTRO, A. P. de; MORAIS, O. P. de; BRESEGHELLO, F.; LOBO, V. L. da S.; GUIMARÃES, C. M.; BASSINELLO, P. Z.; COLOMBARI FILHO, J. M.; SANTIAGO, C. M.; FURTINI, I. V.; TORGA, P. P.; UTUMI, M. M.; PEREIRA, J. A.; CORDEIRO,

A. C. C.; AZEVEDO, R. de; SOUSA, N. R. G.; SOARES, A. A.; RADMANN, V.; PETERS, V. J. BRS Esmeralda: Cultivar de Arroz de Terras Altas com Elevada Produtividade e Maior Tolerância à Seca. Comunicado Técnico 215, ISSN 1678-961X, Jan. 2014.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira. Safra 2015/2016. Primeiro levantamento – Intenção de plantio. Brasília, v. 3, n.1, out. 2015.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, Mar./Apr. 2000.

CRUSCIOL C. A. C.; ARF, O.; SORATTO, R. P.; ANDREOTTI, M. Produtividade do arroz de terras altas sob condições de sequeiro e irrigado por aspersão em função do espaçamento entre fileiras. **Agronomia**, v. 37, n.1, p.10 - 15, 2003.

CRUSCIOL C. A. C.; ARF, O.; ZUCARELI, C.; SÁ, M.E.; NAKAGAWA, J. Produção e qualidade fisiológica de sementes de arroz de terras altas em função da disponibilidade hídrica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n 2, p.287-293, Dez. 2001.

DA SILVA, S. C.; STEINMETZ, S.; HEINEMANN, A. B. AGEITEC, Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Arroz, 2012. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fe75winu02wx5eo07qw4xe1eq4gwu.html>

DAHL, M. et al. C-reactive Protein as a Predictor of Prognosis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 175, p. 250-255, 2007.

EXNER, V. Quantitative real time PCR in plant developmental biology. **Methods Mol Biol**. v. 655, p. 275-91, Jun. 2010.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4294e.pdf>. Rice Market Monitor. v.15, n.4, Dez. 2014.

FAOSTAT (2017) Food and Agriculture Organization of the United Nations – Statistical Database. Disponível em <http :/ /faostat3.fao.org/ faostat-gateway/go/to/download/Q /QC /E> Acesso em 30 set. 2017.

FERREIRA, C.M. Rede Brasil Arroz: transferência de tecnologia valorizando o protagonismo e atribuições de parceiros na cadeia produtiva. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Embrapa Arroz e Feijão. Santo Antônio de Goiás. 172p. Dez 2014. (Documentos 304). ISSN 1678-9644.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n. 6, p.1039-1042, Nov./Dez. 2011.

FLUIDIGM CORPORATION. **Real-Time PCR Analysis**. Appendix B: Fast Gene Expression Analysis Using EvaGreen on the BioMark of BioMark HD System. 209p. (PN 68000088 J1). (https://www.fluidigm.com/documents).

FREDRIKSSON,S.; BANÉR, J.; DAHL, F.; CHU, A.; JI, H.; WELCH, K.; DAVIS, R. W . Multiplex amplification of all coding sequences within 10 cancer genes by Gene-Collector. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 7, Abr. 2007.

FREITAS, T. F. S.; SILVA, P. R. F; STRIEDER, M. L.; SILVA, A. A. Validação de escala de desenvolvimento para cultivares brasileiras de arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 404-410, Mar./Abr. 2006.

FROMER, M. et al. Gene expression elucidates functional impact of polygenic risk for schizophrenia. **Nature Neurscience**, v. 19, n. 11, p.1442- 1453, Nov. 2016.

GOULD, K.; DAVIES, K.; WINEFIELD, C. Anthocyanins: Biosynthesis, Functions and Applications. **Springer,** 2008.

GRAMENE Search: Disponível em <http://archive.gramene.org/db/ontology/search?query=+%09GO%3A0033837+&vocabulary=ontology.plant_ontology&search_box_name=query&search_box_id=ontology_search_for&x=5&y=2&ontology_type> Acesso em 06 set. 2017.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; MORAIS, O. P. Resposta de Cultivares e Linhagens Elites de Arroz de Terras Altas ao Défice Hídrico. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, Comunicado Técnico 151, 2007.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; SILVA, A. C. DE L. Tolerance of upland rice genotypes to water deficit. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. Campina Grande, PB, UAEA/UFCG, v.17, n.8, p.805–810, 2013.

GUO, P.; BAUM, M.; GRANDO, S. et al. Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n.12, p. 3531-3544, 2009.

HARB, A.; AWAD, D.; SAMARAH, N. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in barley (Hordeum vulgare L.) under controlled severe drought. **Journal of Plant Interactions**, v. 10, n. 1, p. 109-116, Mar. 2015.

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 163–187, 2010.

HEID, C. A.; STEVENS, J.; LIVAK, K.; WILLIAMS, P. M. Real time quantitative PCR. **Genome Methods**, v. 6, p. 986-994, Out. 1996.

HEINEMANN, A. B.; BARRIOS-PEREZ, C.; RAMIREZ-VILLEGAS, J.; ARANGO-LONDOÑO, D.; BONILLA-FINDJI, MEDEIROS, J. C.; JARVIS, A. Variation and

impact of drought-stress patterns across upland rice target population of environments in Brazil. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 12, p. 3625–3638, Abr. 2015.

HERNÁNDEZ, I.; ALEGRE, L.; BREUSEGEM, F. V.; MUNNÉ -BOSCH, S. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? **Trends Plant Sci**, n. 14, v. 3, p. 125 – 132, Mar. 2009.

HU, HONGHONG; XIONG, LIZHONG. Genetic Engineering and Breeding of Drought-Resistant Crops. **Annu. Rev. Plant Biol**., v. 65, p.715–41, 2014.

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

IBGE, 2015. Disponível em <https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm> Acesso em: 27 Jan. 2017.

IRRI. International Rice Research Institute. Disponível em: <http://irri.org/resources/publications/annual-reports/annual-report-2013>

ITO Y, KATSURA K, MARUYAMA K, TAJI T, KOBAYASHI M, SEKI M, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice. **Plant Cell Physiol**, v. 47, n. 1, p. 141–153, 2006.

KAWAHARA Y, DE LA BASTIDE M, HAMILTON JP, KANAMORI H, MCCOMBIE WR, OUYANG S, et al. Improvement of the Oryza sativa Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. **Rice**, v. 6, n. 4, Dez. 2013.

KHUSH, G. S. What it will take to Feed 5.0 Billion Rice consumers in 2030. **Plant Molecular Biology**, Philippines, v. 59, p. 1-6, Fev. 2005.

KORENKOVÁ, V.; SCOTT, J.; NOVOSADOVÁ, V.; JINDŘICHOVÁ, M.; LANGEROVÁ, L.; ŠVEC, D.; ŠÍDOVÁ, M.; SJÖBACK, R. Pre-amplification in the context of high-throughput qPCR gene expression experiment. **BMC Molecular Biology**, v. 16, n. 5, Mar. 2005.

KUMAR, S.; DWIVEDI, S. K.; SINGH, S. S.; BHATT, B. P.; MEHTA, P.; ELANCHEZHIAN, R.; SINGH, V. P.; SINGH, O. N. Morpho-physiological traits associated with reproductive stage drought tolerance of rice (Oryza sativa L.) genotypes under rain-fed condition of eastern Indo-Gangetic Plain. **Indian Society for Plant Physiology,** v. 19, n. 2, p. 87–93, Jun. 2014.

LANNA, A. C.; CARVALHO, M. A. F.; HEINEMANN, A.B.; STEIN, V.C. **Panorama Ambiental e Fisio-Molecular do Arroz de Terras Altas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2012. 32 p. (Documentos 274). ISSN 1678-9644.

LEE, S. C., LAN, W., BUCHANAN, B. B., LUAN, S. A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. **Proc. Natl. Acad. Sci**. U.S.A. v. 15, n. 106, p. 50, Dez. 2009.

LI, Y.; BALDAUF, S.; LIM, E-K.; BOWLES, D. J. Phylogenetic Analysis of the UDP-glycosyltransferase Multigene Family of Arabidopsis thaliana. **The Journal of Biological Chemitry**, v. 276, n. 6, p. 4338 –4343, Fev. 2001.

LIU, Z et al. UDP-Glucosyltransferase71C5, a Major Glucosyltransferase, Mediates Abscisic Acid Homeostasis in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 167, p. 1659–1670, Abr. 2015.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods** San Diego Calif. v. 25, n. 4, p. 402–8, Dez. 2001.

MATSUMOTO, S.; TSUBOI, T.; ASEA, G.; MARUYAMA, A.; KIKUCHI, M.; TAKAGAKI, M. Water Response of Upland Rice Varieties Adopted in Sub-Saharan Africa: A Water Application Experiment. **Rice Research**, v. 2, n. 1, Fev. 2014.

MELLO, C. R. DE; OLIVEIRA, G. C. DE; RESCK, D. V. S.; LIMA, J. M. DE; DIAS JÚNIOR, M. DE S. Estimativa da capacidade de campo baseada no ponto de inflexão da curva característica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 836-841, Jul./Ago. 2002.

MELO, P. G. S.; MORAIS, O. P. de; DINIZ, J. de A.; LOBO, V. L. da S.; BRESEGHELLO, F.; FONSECA, J. R.; CASTRO, A. P. de; BASSINELLO, P. Z.; CASTRO, E. da M. de. BRSGO Serra Dourada: cultivar de arroz para a agricultura familiar de Goiás. Comunicado Técnico 177, ISSN 1678-961X, Santo Antônio de Goiás, Dez. 2009.

MUTHAYYA, SUMITHRA; SUGIMOTO, JONATHAN D; MONTGOMERY, SCOTT; MABERLY, GLEN F. **An overview of global rice production, supply, trade, and Consumption.** Annals of the New York Academy of Sciences. v. 1324 p.7–14, Set. 2014.

NISHI, S. M.; VIERO; L. M.; SOARES, R.M.; MAIORKA, P.C.; GENNARI, S.M. Emprego da RT-PCR em tempo real para a quantificação da expressão de genes associados à resposta imune em bezerros bovinos experimentalmente infectados por Neospora caninum. **Rev. Bras. Parasitol. Vet**., Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 8-14, Jan.-Mar. 2009.

NUNES, JOSÉ LUIS DA SILVA. Arroz: Importância Econômica. 2016, Agrolink - Admin. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/informacoes/importancia_361560.html >. Acesso em: 17 set. 2017.

OLIVEIRA, JOÃO AUGUSTO VIEIRA DE. Expressão de genes de arroz homólogos a genes de Arabidopsis relacionados à produtividade de grão [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, 2015.

ONU, ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Disponível em: < http://www.un.org/apps/news/story.asp?NewsID=51526#.Vbp7rvNVj-U> Acesso em: 12 set. 2017.

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S. Response of plants to water stress. **Front Plant Sci**., v. 5, n. 86, Mar. 2014.

PESSOA-FILHO, M.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. Extracting samples of high diversity from thematic collections of large gene banks using a genetic-distance based approach. **BMC Plant Biology**, v. 10, n. 127, Jun. 2010.

PFLUGMACHER, S.; SANDERMANN, H. Taxonomic distribution of plant glucosyltransferases acting on xenobiotics. **Phytochemistry**, v. 49, p. 507–511, 1998.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria, 2017.

SANTOS, A.B. dos.; STONE, L. F.; VIEIRA, N.R. de A. A cultura do arroz no Brasil. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 1000p. 2006.

SHAAR-MOSHE, LIDOR; BLUMWALD, EDUARDO; PELEG, ZVI. Unique Physiological and Transcriptional Shifts under Combinations of Salinity, Drought and Heat. **American Society of Plant Biologists**. Mar. 2017.

SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**. v. 58, n. 2, p. 221–227, 2007.

SILVEIRA, R. D.; ABREU, F. R.; MAMIDI, S.; MCCLEAN, P. E.; VIANELLO, R. P.; LANNA, A. C.; CARNEIRO, N. P.; BRONDANI, C. Expression of drought tolerance genes in tropical upland rice cultivars (*Oryza sativa*). **Genet Mol Res**. v. 14, n.3, p. 8181-200, Jul. 2015.

SINGH, D.; LAXMI, A. Transcriptional regulation of drought response: a tortuous network of transcriptional factors. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, n. 695, Out. 2015.

SOUZA, T. C. DE.; MAGALHÃES, P.C.; DE CASTRO, E. M.; DUARTE, V. P.; LAVINSKY, A. O. Corn root morphoanatomy at different development stages and yield under water stress. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.51, n.4, p.330-339, Abr. 2016.

SRIVALLI, B.; SHARMA, G.; KHANNA-CHOPRA, R. Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. **Physiologia Plantarum**, v. 119, p. 503-512, Jan. 2003.

STONE, L. F.; SILVEIRA, P. M, DA.; MOREIRA, J. A. A. **Cultivo do Arroz de Terras Altas.** Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de Produção, n. 1, Jul. 2003.

STONE, L.F., LIBARDI, P.L.; REICHARDT, K. Produtividade do arroz e absorção de nitrogênio afetadas pelo veranico e pela adição de vermiculita ao solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.1, p.117-125, Fev. 1986.

STONE, L.F.; LIBARDI, P.L.; REICHARDT, K. Deficiência hídrica, vermiculite e cultivares. Efeito na produtividade de arroz. **Pesq. Agropec. Bras**., Brasília, v. 19, n. 6, p. 695- 707, jun. 1984.

STONE, L.F.; PEREIRA, A.L. Sucessão Arroz – Feijão irrigados por aspersão: efeitos de espaçamento entre linhas, adubação e cultivar na produtividade e nutrição do arroz. **Pesq. Agropec. Bras**., Brasília, v. 29, n. 11, p. 1701- 1713, Nov. 1994.

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. **Pesq. Agropec. Trop**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 201-208, Abr./jun. 2013.

TERRA, T. G. R.; LEAL, T. C. A. DE B.; RANGEL, P. H. N.; OLIVEIRA, A. B. DE. Características de tolerância à seca em genótipos de uma coleção nuclear de arroz de terras altas. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.50, n.9, p.788-796, Set. 2015.

TEZARA, W.; LAWLOR, D.W. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. **Nature.** v. 401. p. 914-917. Out. 1999.

THOUNAOJAM, T. C.; PANDA, P.; MAZUMDAR, P.; KUMAR, D.; SHARMA, G. D.; SAHOO, L.; PANDA, S. K. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 53, p. 33-9, Abr. 2012.

UMEZAWA, T.; FUJITA, M.; FUJITA Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K SHINOZAKI K. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. **Curr Opin Biotechnol**. v. 17, n. 2, p.113-22, Abr. 2006.

VERSLUES, P.E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J.K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought,salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v. 45, n. 4, p. 523–539, Fev. 2006.

WADE, L.J.; FUKAI, S.; SAMSON, B.K.; ALI, A.; MAZID, M.A. Rainfed lowland rice: physical environment and cultivar requirements. **Field Crops Research,** v. 64, p. 3-12, Nov. 1999.

WALTER. M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p.1184-1192, Jul. 2008.

WANG D, PAN Y, ZHAO X, ZHU L, FU B, LI Z. Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice. **Genomics**, v. 16, n. 12, p.149, Mar. 2011.

WANG, L.; XIE, W.; CHEN, Y.; TANG, W.; YANG, J.; YE, R.; LIU, L.; LIN, Y.; XU, C.; XIAO, J.; ZHANG, Q. A dynamic gene expression atlas covering the entire life cycle of Rice. **The Plant Journal**, Weinheim, v. 61, n. 5, p. 752–766, Dez. 2009.

XIAO B, HUANG Y, TANG N, XIONG L. Over-expression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field conditions. **Theor Appl Genet**, v. 115, n.1, p.35–46, Jun. 2007.

XU, L.; HAN, L.; HUANG, B. Antioxidant Enzyme Activities and Gene Expression Patterns in Leaves of Kentucky Bluegrass in Response to Drought and Post-drought Recovery. **J. Amer. Soc. Hort. SCI**. v, 136, n. 4, p. 247- 255, 2011.

YOU, J.; ZONG, W.; LI, X. et al. The SNAC1-targeted gene OsSRO1c modulates stomatal closure and oxidative stress tolerance by regulating hydrogen peroxide in rice. **Journal of Experimental Botany**. v. 64, n. 2, p.569-583, Jan. 2013.

ZHENG J, ZHAO J, TAO Y, WANG J, LIU Y, FU J, et al. Isolation and analysis of water stress induced genes in maize seedlings by subtractive PCR and cDNA macroarray. **Plant Mol Biol**, v. 55, n. 6, p.807-823, Ago. 2004.

ZHOU X, BAI X, XING Y. A rice genetic improvement boom by next generation sequencing. **Curr Issues Mol Biol**. v. 8, n. 27, p. 109-126, Set. 2017.

ZHOU, L.; LIU, Z.; LIU, Y.; KONG, D.; LI, T.; YU, S.; MEI, H.; XU, X.; LIU, H.; CHEN, L.; & LUO, L. A novel gene *OsAHL1* improves both drought avoidance and drought tolerance in rice. **Scientific Reports**, v. 6, 30264, Jul. 2016.

ANEXOS

Anexo A – Genótipos contrastantes para tolerância à deficiência hídrica, selecionados para o experimento de seca conduzido em casa de vegetação SITIS. Os genótipos foram divididos em grupos em função da fenologia.

Genótipos	Código	Sub espécie	Tipo de germoplasma
GRUPO I			
Arroz Carolino	BGA 013061	Japonica tropical	Variedade tradicional
Três Meses Branco	BGA011901	Japonica tropical	Variedade tradicional
BRS Soberana*	BGA008711	Japonica tropical	cultivar
Aimoré	BGA007119	Japonica tropical	Variedade tradicional
CIRAD 392	IRGC 121727	Japonica tropical	cultivar
Branquinho 90 Dias	BGA011897	Japonica tropical	Variedade tradicional
Tangará	BGA005180	Japonica tropical	Variedade tradicional
GRUPO II			
IRAT 112	BGA006574	Japonica tropical	cultivar
Comum	BGA011951	Japonica tropical	Variedade tradicional
Arroz 4 Meses	BGA013769	Japonica tropical	Variedade tradicional
Casca Branca	BGA013771	Japonica tropical	Variedade tradicional
Rio Doce	BGA004168	Japonica tropical	Variedade tradicional
Guarani	BGA004121	Japonica tropical	Variedade tradicional
Carajás	BGA006701	Japonica tropical	Variedade tradicional
GRUPO III			
BRS Primavera*	BGA008070	Japonica tropical	cultivar
BRSGO Serra Dourada	BGA014150	Japonica tropical	cultivar
Amarelão	BGA011242	Japonica tropical	Variedade tradicional
Bico Ganga*	BGA013753	Japonica tropical	Variedade tradicional
GRUPO IV			
BRSMG Curinga*	BGA008812	Japonica tropical	cultivar
Agulhão	BGA013020	Japonica tropical	Variedade tradicional
BRS Esmeralda	BGA015465	Japonica tropical	cultivar
GRUPO V			
Douradão	BGA012711	Japonica tropical	cultivar
Saia Velha	BGA012954	Japonica tropical	Variedade tradicional
Rabo de Burro	BGA012426	Japonica tropical	Variedade tradicional
Moroberekan	BGA002524	Japonica tropical	Cultivar

Anexo B - Sequências dos *primers* (*Forward* e *Reverse*) para determinação do nível de expressão gênica por meio da técnica de qPCR.

RGAP	Descrição	Sequências Forward (5' → 3')	Sequência Reverse (5' → 3')
LOC_Os06g43660.1	*Arabidopsis vacuolar pyrophosphatase (AVP1)*	GGAAGGGTTTCGCCATTG	GGTGTCAGAACATCGACAGTG
LOC_Os12g10580.1	*ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (RUBISCO- large)*	GGGGATTCACCGCAAATACT	CCCAGTCCATGATTTTTCTG
LOC_Os01g71350.1	*glycosyl hydrolases family 17 (GH17)*	GCAGCGGTTCAGTCCATT	GAGTCGATCCCCTTGGACTT
LOC_Os01g07530.1	*glycosyltransferase (GT)*	GTCGACGTCATCCATCTGC	CAGCATGAAGTCGTTGCAGT
LOC_Os01g42380.1	*pleiotropic drug resistance protein (PDR)*	CCGCAGGATGACTCTGCT	GTGCCCGTTGTAGGTCACTT
LOC_Os03g04970.1	*heat shock protein (HSP)*	TCGTCAGATTGGGAGTAGGC	CTCAACACCCCTCAACATCA
LOC_Os06g13720.1	*dehydrogenase E1*	AAAAGCCCCGCATACTACAA	CCATTTTCAAGAGCATGTTGC
LOC_Os06g51060.1	*chitinase family (CHIT8)*	AACGTTGGGTCCGACTACTG	CGGGCCGTAGTTGTAGTTGT
LOC_Os12g02060.1	*peroxidase precursor*	CGAATAGCCGGTTGTGATG	CATCAAATCCACGCAGAGAG
LOC_Os12g19381.1	*ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (RUBISCO- small)*	CACAGGTCTCCCGGGTACTA	ATATGCCTTCTTGGCCTCCT
LOC_Os01g45140.1	*anthocyanin 3-O-beta-glucosyltransferase*	CCGTTGCACATCCTCTTCTT	GGGTGGTGAGGATGGTACAC
LOC_Os07g10840.1	*Glycosyltransferase (GT)*	CTTCGACACGATCACCCAAG	CGAACCAATCCAAGAAGGAC
LOC_Os09g29710.1	*beta – expansin*	GTAGCGCTTGCAATGGTGT	CTGGTCCTCGAACCCGTAG
LOC_Os06g30640.1	*cytochrome P450*	GATCGAGTCCATAGCCAAGC	TGTCGTCCAGGACCTTGTAG
LOC_Os02g07730.1	*haloacid dehalogenase- like hydrolase (HAD)*	CCTACCTGCACTTGGTCTCA	CGCCTCGTACATCCTCCT
LOC_Os01g07760.2	*phospholipase D (PLDα1)*	CACCAAAATGATGATAGTTGACG	CATGGCGATCTCAGAGTCC
LOC_Os01g54620.1	*cellulose synthase (CESA4)*	TTGCACGATATGGAGATGGA	GACAGAACAGTATTCGCAGTGA
LOC_Os02g02540.1	*glutamate receptor (GluR)*	CGAGTTTGACGCAGCAATAG	GCCAAGATAACCAAGCCAGA
LOC_Os02g51110.1	*aquaporin - Low silicon rice 1 (LSi1)*	ATGCCTACCATGTACTACG	CGACACGACCTTCTTGAG
LOC_Os07g06130.2	*ethylene insensitive2 (EIN2)*	CGATGATTTTTGGGATAGCA	TGGTAGCAGATTAGGAACAACG
LOC_Os02g46090.1	*calmodulin depedent protein kinases (CPK)*	TGTTCTTCAAGCCTGGTCAA	GAATCACACCAGCTGTCCAA
LOC_Os05g25850.1	*superoxide dismutase (SOD)*	ACGTCGCCAACTACAACAAG	GTTGAACTTGATGGCGCTCT
*	*Glyceraldeide-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)*	GGGCTGCTAGCTTCAACATC	TTGATTGCAGCCTTGATCTG
*	*Actin (ACT)*	TGCGATAATGGAACTGGTATGG	ACAGCCCTGGGCGCAT

RGAP: *Rice Genome Annotation Project* (http://rice.plantbiology.msu.edu/).

Anexo C - Concentração e pureza de amostras de RNA de tecido vegetal da 1ª coleta (24 horas após o corte de irrigação).

Amostras	Genótipos	Tratamento	Parcela	A260/280	A260/230	ng/µL
1.1	IRAT 112	Irrigado	306	2,017	2,112	377,6
1.2	IRAT 112	Irrigado	706	2,074	2,070	438,8
1.3	IRAT 112	Estressado	406	1,973	1,848	526,4
1.4	IRAT 112	Estressado	806	2,091	1,897	586,4
2.1	Amarelão	Irrigado	315	2,009	2,312	361,6
2,2	Amarelão	Irrigado	720	2,060	1,749	356,0
2.3	Amarelão	Estressado	415	1,932	2,159	478,4
2.4	Amarelão	Estressado	820	2,056	2,106	206,4
3.1	Branquinho 90 Dias	Irrigado	308	2,073	2,012	411,2
3.2	Branquinho 90 Dias	Irrigado	923	2,077	1,969	410,4
3.3	Branquinho 90 Dias	Estressado	408	2,075	2,265	396,8
3.4	Branquinho 90 Dias	Estressado	803	2,075	1,848	264,4
4.1	Três Meses Branco	Irrigado	312	2,088	1,922	528,8
4.2	Três Meses Branco	Irrigado	722	2,083	1,963	423,8
4.3	Três Meses Branco	Estressado	412	2,042	1,409	504,0
4.4	Três Meses Branco	Estressado	822	2,078	1,295	276,0
5.1	Agulhão	Irrigado	314	2,016	1,212	155,6
5.2	Agulhão	Irrigado	704	2,066	1,434	125,6
5.3	Agulhão	Estressado	414	2,037	1,914	88,8
5.4	Agulhão	Estressado	804	2,011	2,296	214,0
6.1	Saia Velha	Irrigado	310	2,073	2,160	205,6
6.2	Saia Velha	Irrigado	715	2,070	2,219	296,4
6.3	Saia Velha	Estressado	410	2,079	2,023	242,0
6.4	Saia Velha	Estressado	815	2,018	2,054	183,2
7.1	Bico Ganga	Irrigado	323	2,063	1,964	605,6
7.2	Bico Ganga	Irrigado	713	2,049	1,876	284,4
7.3	Bico Ganga	Estressado	423	2,046	2,208	478,8
7.4	Bico Ganga	Estressado	813	2,077	2,067	347,2
8.1	BRS Soberana	Irrigado	307	2,082	1,227	497,6
8.2	BRS Soberana	Irrigado	717	2,070	1,205	682,2
8.3	BRS Soberana	Estressado	407	2,150	1,083	315,2
8.4	BRS Soberana	Estressado	817	2,049	1,522	846,0
9.1	Rabo de Burro	Irrigado	316	2,009	1,783	560,6
9.2	Rabo de Burro	Irrigado	721	2,018	1,635	321,2
9.3	Rabo de Burro	Estressado	416	1,878	1,690	584,0
9.4	Rabo de Burro	Estressado	821	2,027	2,251	456,8
10.1	Arroz Carolino	Irrigado	304	2,120	0,994	767,7
10.2	Arroz Carolino	Irrigado	719	2,005	1,050	411,4
10.3	Arroz Carolino	Estressado	1009	1,990	1,381	800,0
10.4	Arroz Carolino	Estressado	819	1,947	1,487	612,8
11.1	BRS Esmeralda	Irrigado	322	2,195	0,911	211,6
11.2	BRS Esmeralda	Irrigado	702	1,916	1,388	718,6
11.3	BRS Esmeralda	Estressado	422	2,016	1,505	659,6
11.4	BRS Esmeralda	Estressado	802	2,071	1,713	372,0
12.1	BRSMG Curinga	Irrigado	317	2,070	1,985	271,6
12.2	BRSMG Curinga	Irrigado	707	2,159	1,306	396,4
12.3	BRSMG Curinga	Estressado	417	2,116	1,277	259,0
12.4	BRSMG Curinga	Estressado	807	2,114	1,320	191,6

A quantificação e a qualidade foram avaliadas em espectrofotômetro Nanovue Plus™ (GE Healthcare), a pureza de cada amostra foi verificada por meio da relação entre as absorbâncias (ABS) de ácidos nucleicos, A260nm, e proteínas, A280nm.

Anexo D - Concentração e pureza de amostras de RNA de tecido vegetal da 2ª coleta (após cinco dias sob deficiência hídrica).

Amostra	Genótipos	Tratamento	Parcela	A260/280	A260/230	ng/µL
1.1	IRAT 112	Irrigado	306	2,128	1,067	195,4
1.2	IRAT 112	Irrigado	706	2,136	1,214	350,4
1.3	IRAT 112	Estressado	406	2,139	1,340	401,8
1.4	IRAT 112	Estressado	806	1,986	1,339	566,0
2.1	Amarelão	Irrigado	315	1,926	1,374	500,6
2.2	Amarelão	Irrigado	720	2,040	1,365	356,8
2.3	Amarelão	Estressado	415	2,040	1,452	433,0
2.4	Amarelão	Estressado	820	2,109	1,473	270,8
3.1	Branquinho 90 Dias	Irrigado	308	1,944	1,494	561,0
3.2	Branquinho 90 Dias	Irrigado	923	2,001	1,734	657,0
3.3	Branquinho 90 Dias	Estressado	408	1,987	1,531	395,2
3.4	Branquinho 90 Dias	Estressado	803	2,042	1,942	689,0
4.1	Três Meses Branco	Irrigado	312	2,101	1,338	435,0
4.2	Três Meses Branco	Irrigado	722	2,155	1012	272,0
4.3	Três Meses Branco	Estressado	412	2,130	1,223	344,6
4.4	Três Meses Branco	Estressado	822	2,067	1,570	423,0
5.1	Agulhão	Irrigado	314	2,057	1,156	323,2
5.2	Agulhão	Irrigado	704	1,941	2,097	174,6
5.3	Agulhão	Estressado	414	1,982	1,565	563,8
5.4	Agulhão	Estressado	804	2,098	0,956	401,0
6.1	Saia Velha	Irrigado	310	2,057	1,411	177,8
6.2	Saia Velha	Irrigado	715	2,101	1,150	178,6
6.3	Saia Velha	Estressado	410	2,095	1,132	162,6
6.4	Saia Velha	Estressado	815	1,941	1,749	207,8
7.1	Bico Ganga	Irrigado	323	2,063	1,831	273,2
7.2	Bico Ganga	Irrigado	713	2,146	1,187	398,4
7.3	Bico Ganga	Estressado	423	1,985	1,614	435,2
7.4	Bico Ganga	Estressado	813	2,119	1,354	372,6
8.1	BRS Soberana	Irrigado	307	2,107	1,094	452,8
8.2	BRS Soberana	Irrigado	717	2,018	1,343	838,6
8.3	BRS Soberana	Estressado	407	2,125	0,991	613,4
8.4	BRS Soberana	Estressado	817	2,072	1,571	473,0
9.1	Rabo de Burro	Irrigado	316	2,085	1,455	303
9.2	Rabo de Burro	Irrigado	721	2,071	1,263	193,8
9.3	Rabo de Burro	Estressado	416	2,245	0,749	165,4
9.4	Rabo de Burro	Estressado	821	2,026	1,512	337,0
10.1	Arroz Carolino	Irrigado	304	2,050	1,410	649,8
10.2	Arroz Carolino	Irrigado	719	2,070	1,440	708,4
10.3	Arroz Carolino	Estressado	1009	1,972	1,427	732,8
10.4	Arroz Carolino	Estressado	819	2,096	1,319	507,8
11.1	BRS Esmeralda	Irrigado	322	1,971	1,517	880,1
11.2	BRS Esmeralda	Irrigado	702	2,067	1,096	648,0
11.3	BRS Esmeralda	Estressado	422	2,022	1,334	509,4
11.4	BRS Esmeralda	Estressado	802	1,986	1,094	578,6
12.1	BRSMG Curinga	Irrigado	317	2,046	0,948	368,6
12.2	BRSMG Curinga	Irrigado	707	2,079	1,391	267,4
12.3	BRSMG Curinga	Estressado	417	2,129	0,926	330,2
12.4	BRSMG Curinga	Estressado	807	2,084	1,379	796,6

A quantificação e a qualidade foram avaliadas em espectrofotômetro Nanovue Plus™ (GE Healthcare), a pureza de cada amostra foi verificada por meio da relação entre as absorbâncias (ABS) de ácidos nucleicos, A260nm, e proteínas, A280nm.

Anexo E - Concentração e pureza de amostras de RNA de tecido vegetal da 3ª coleta (10 dias sob deficiência hídrica).

Amostras	Genótipos	Tratamento	Parcela	A260/280	A260/230	ng/µL
1.1	IRAT 112	Irrigado	306	1,986	1,803	787,6
1.2	IRAT 112	Irrigado	706	1,969	1,446	427,2
1.3	IRAT 112	Estressado	406	2,082	1,545	578,0
1.4	IRAT 112	Estressado	806	2,073	1,341	232,2
2.1	Amarelão	Irrigado	315	1,845	1,161	328,0
2.2	Amarelão	Irrigado	720	2,043	0,643	481,0
2.3	Amarelão	Estressado	415	1,941	1,264	359,0
2.4	Amarelão	Estressado	820	1,929	1,163	418,2
3.1	Branquinho 90 Dias	Irrigado	308	2,113	0,990	296,2
3.2	Branquinho 90 Dias	Irrigado	923	2,095	1,255	298,8
3.3	Branquinho 90 Dias	Estressado	408	1,899	1,490	422,8
3.4	Branquinho 90 Dias	Estressado	803	2,141	1,251	274,0
4.1	Três Meses Branco	Irrigado	312	2,141	1,874	389,2
4.2	Três Meses Branco	Irrigado	722	2,009	1,742	512,1
4.3	Três Meses Branco	Estressado	412	1,979	1,148	300,4
4.4	Três Meses Branco	Estressado	822	2,154	0,945	331,4
5.1	Agulhão	Irrigado	314	2,122	0,912	169,4
5.2	Agulhão	Irrigado	704	1,797	1,566	297,6
5.3	Agulhão	Estressado	414	2,106	1,141	311,8
5.4	Agulhão	Estressado	804	2,104	1,333	371,2
6.1	Saia Velha	Irrigado	310	2,028	1,378	185,4
6.2	Saia Velha	Irrigado	715	1,988	1,036	275,4
6.3	Saia Velha	Estressado	410	2,003	1,286	379,8
6.4	Saia Velha	Estressado	815	2,229	0,641	268,0
7.1	Bico Ganga	Irrigado	323	1,990	1,210	321,6
7.2	Bico Ganga	Irrigado	713	1,162	1,334	193,4
7.3	Bico Ganga	Estressado	423	2,038	1,303	409,4
7.4	Bico Ganga	Estressado	813	2,000	1,455	505,6
8.1	BRS Soberana	Irrigado	307	2,052	1,698	741,4
8.2	BRS Soberana	Irrigado	717	1,992	1,590	853,8
8.3	BRS Soberana	Estressado	407	1,975	1,543	682,6
8.4	BRS Soberana	Estressado	817	2,069	1,279	423,8
9.1	Rabo de Burro	Irrigado	316	1,882	0,920	433,4
9.2	Rabo de Burro	Irrigado	721	1,953	1,249	591,6
9.3	Rabo de Burro	Estressado	416	1,860	1,132	320,8
9.4	Rabo de Burro	Estressado	821	2,019	1,163	333,4
10.1	Arroz Carolino	Irrigado	304	2,179	0,839	294,8
10.2	Arroz Carolino	Irrigado	719	2,164	0,719	294,8
10.3	Arroz Carolino	Estressado	1009	2,159	1,010	554,4
10.4	Arroz Carolino	Estressado	819	2,031	1,025	555,4
11.1	BRS Esmeralda	Irrigado	322	2,010	1,091	461,8
11.2	BRS Esmeralda	Irrigado	702	1,737	1,207	658,0
11.3	BRS Esmeralda	Estressado	422	1,813	1,228	268,2
11.4	BRS Esmeralda	Estressado	802	1,906	1,694	533,2
12.1	BRSMG Curinga	Irrigado	317	1,903	1,482	619,8
12.2	BRSMG Curinga	Irrigado	707	1,929	o,899	251,0
12.3	BRSMG Curinga	Estressado	417	2,038	1,638	690,2
12.4	BRSMG Curinga	Estressado	807	2,118	0,761	400,4

A quantificação e a qualidade foram avaliadas em espectrofotômetro Nanovue Plus™ (GE Healthcare), a pureza de cada amostra foi verificada por meio da relação entre as absorbâncias (ABS) de ácidos nucleicos, A260nm, e proteínas, A280nm.

Anexo F - Concentração e pureza de amostras de RNA de tecido vegetal da 4ª coleta (48 horas após o restabelecimento da irrigação).

Amostras	Genotipos	Tratamento	Parcela	A260/280	A260/230	ng/µL
1.1	IRAT 112	Irrigado	306	2,045	1,563	373,8
1.2	IRAT 112	Irrigado	706	1,919	1,611	808,0
1.3	IRAT 112	Estressado	406	2,044	1,716	382,8
1.4	IRAT 112	Estressado	806	2,047	1,393	480,4
2.1	Amarelão	Irrigado	315	1,990	1,831	579,0
2.2	Amarelão	Irrigado	720	2,054	1,125	311,4
2.3	Amarelão	Estressado	415	2,022	1,636	520,6
2.4	Amarelão	Estressado	820	1,990	1,496	411,0
3.1	Branquinho 90 Dias	Irrigado	308	2,010	1,564	650,4
3.2	Branquinho 90 Dias	Irrigado	923	2,013	1,647	594,0
3.3	Branquinho 90 Dias	Estressado	408	2,074	1,200	400,4
3.4	Branquinho 90 Dias	Estressado	803	2,017	1,942	397,8
4.1	Três Meses Branco	Irrigado	312	2,297	0,641	338,6
4.2	Três Meses Branco	Irrigado	722	2,039	1,118	512,4
4.3	Três Meses Branco	Estressado	412	2,015	1,306	665,8
4.4	Três Meses Branco	Estressado	822	1,882	1,418	405,6
5.1	Agulhão	Irrigado	314	2,110	0,484	246,2
5.2	Agulhão	Irrigado	704	2,128	0,615	254,8
5.3	Agulhão	Estressado	414	1,991	0,574	347,0
5.4	Agulhão	Estressado	804	1,941	1,159	359,6
6.1	Saia Velha	Irrigado	310	2,133	0,537	261,2
6.2	Saia Velha	Irrigado	715	2,094	0,866	187,6
6.3	Saia Velha	Estressado	410	2,159	0,585	449,4
6.4	Saia Velha	Estressado	815	1,877	1,340	344,2
7.1	Bico Ganga	Irrigado	323	2,103	0,811	163,6
7.2	Bico Ganga	Irrigado	713	1,914	1,420	459,8
7.3	Bico Ganga	Estressado	423	2,134	0,908	307,4
7.4	Bico Ganga	Estressado	813	2,000	1,294	449,6
8.1	BRS Soberana	Irrigado	307	1,966	0,986	399,8
8.2	BRS Soberana	Irrigado	717	2,060	1,483	635,2
8.3	BRS Soberana	Estressado	407	2,078	1,607	748,8
8.4	BRS Soberana	Estressado	817	1,931	1,075	372,8
9.1	Rabo de Burro	Irrigado	316	1,786	1,435	276,2
9.2	Rabo de Burro	Irrigado	721	2,033	1,271	230,6
9.3	Rabo de Burro	Estressado	416	1,989	1,231	379,4
9.4	Rabo de Burro	Estressado	821	1,886	1,182	401,8
10.1	Arroz Carolino	Irrigado	315	2,064	1,471	477,8
10.2	Arroz Carolino	Irrigado	720	2,038	1,329	494,0
10.3	Arroz Carolino	Estressado	415	2,100	1,378	581,4
10.4	Arroz Carolino	Estressado	820	2,148	1,039	560,2
11.1	BRS Esmeralda	Irrigado	322	2,085	1,018	475,2
11.2	BRS Esmeralda	Irrigado	702	2,033	0,920	332,8
11.3	BRS Esmeralda	Estressado	422	1,972	1,368	526,2
11.4	BRS Esmeralda	Estressado	802	1,943	1,386	436,2
12.1	BRSMG Curinga	Irrigado	317	2,026	1,232	445,8
12.2	BRSMG Curinga	Irrigado	707	1,968	0,835	410,4
12.3	BRSMG Curinga	Estressado	417	2,033	1,385	569,4
12.4	BRSMG Curinga	Estressado	807	1,920	1,657	378,6

A quantificação e a qualidade foram avaliadas em espectrofotômetro Nanovue Plus™ (GE Healthcare), a pureza de cada amostra foi verificada por meio da relação entre as absorbâncias (ABS) de ácidos nucleicos, A260nm, e proteínas, A280nm.

Anexo G - Integridade das amostras de RNA (RIN) para as quatro épocas de coleta (1ª a 4ª coletas).

Amostras	Genótipos	Tratamento	RIN
	1ª coleta		
12.3	BRSMG Curinga	Estressado	6,70
5.1	Agulhão	Irrigado	6,50
7.1	Bico Ganga	Irrigado	6,40
1.1	IRAT 112	Irrigado	6,60
2.1	Amarelão	Irrigado	7,00
2.2	Amarelão	Irrigado	6,60
3.1	Branquinho 90 Dias	Irrigado	6,00
3.2	Branquinho 90 Dias	Irrigado	6,50
4.3	Três Meses Branco	Estressado	6,60
5.3	Agulhão	Estressado	6,00
6.3	Saia Velha	Estressado	6,70
12.2	BRSMG Curinga	Irrigado	6,50
	2ª coleta		
1.1	IRAT 112	Irrigado	7,10
1.3	IRAT 112	Estressado	7,20
3.3	Branquinho 90 Dias	Estressado	7,10
4.2	Três Meses Branco	Irrigado	6,70
4.3	Três Meses Branco	Estressado	6,80
9.2	Rabo de Burro	Irrigado	6,70
9.4	Rabo de Burro	Estressado	6,70
6.1	Saia Velha	Irrigado	7,20
6.4	Saia Velha	Estressado	6,90
	3ª coleta		
1.1	IRAT 112	Irrigado	6,70
1.4	IRAT 112	Estressado	6,90
2.2	Amarelão	Irrigado	6,10
3.2	Branquinho 90 Dias	Irrigado	6,40
3.4	Branquinho 90 Dias	Estressado	6,70
4.4	Três Meses Branco	Estressado	7,00
5.2	Agulhão	Irrigado	7,40
5.4	Agulhão	Estressado	6,80
11.1	BRS Esmeralda	Irrigado	6,90
11.3	BRS Esmeralda	Estressado	7,00
	4ª coleta		
1.1	IRAT 112	Irrigado	7,10
1.3	IRAT 112	Estressado	6,60
2.2	Amarelão	Irrigado	6,60
2.3	Amarelão	Estressado	7,30
3.1	Branquinho 90 Dias	Irrigado	6,90
3.4	Branquinho 90 Dias	Estressado	7,00
4.2	Três Meses Branco	Irrigado	7,00
4.3	Três Meses Branco	Estressado	7,00
5.1	Agulhão	Irrigado	6,90
5.4	Agulhão	Estressado	6,90
6.1	Saia Velha	Irrigado	7,30

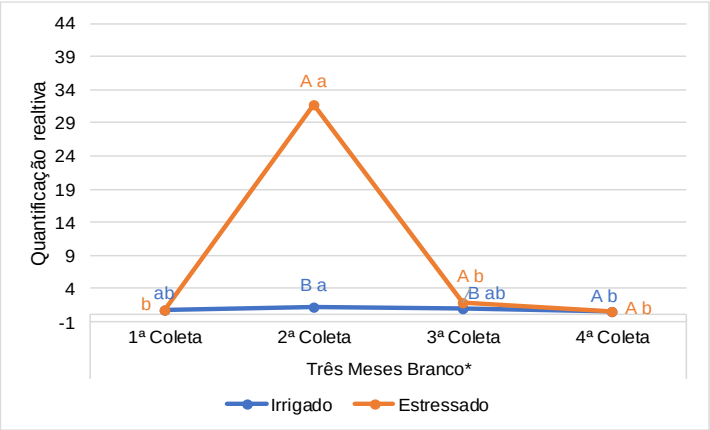
Análise avaliada pelo aparelho Bioanalyzer 2100 (Agilent).

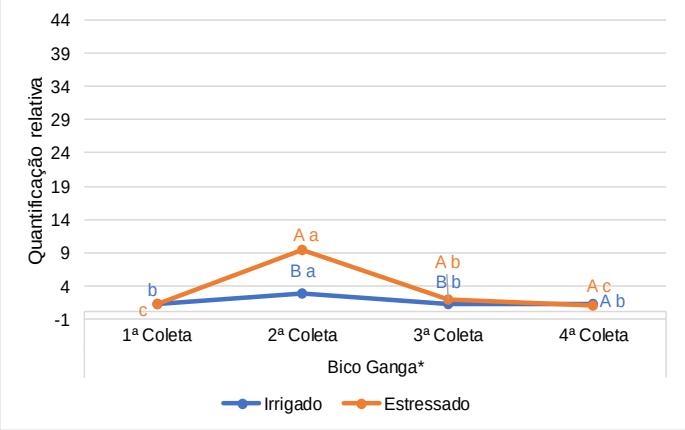
Anexo H- Valores de Quantificação Relativa (RQ) em relação à planta- referência BRSMG Curinga 100% irrigado e significância estatística para o gene *MnSOD* em amostras de tecido foliar de genótipos de arroz de terras altas submetidas à restrição hídrica.

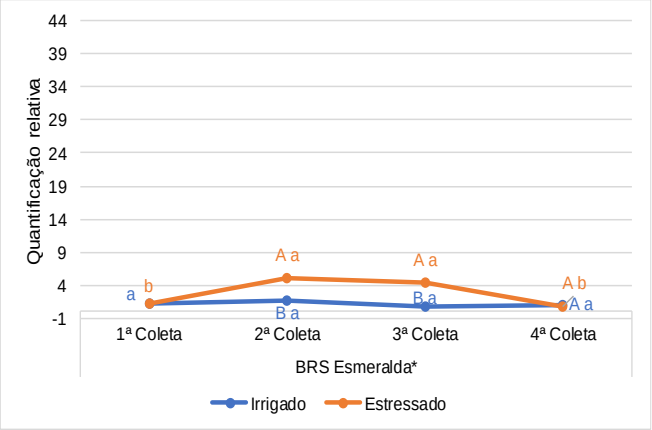
	1ª COLETA		2ª COLETA				3ª COLETA				4ª COLETA			
Genótipos	I		I		E		I		E		I		E	
Três Meses Branco*	0,66	C	1,10	D	31,82	AB	0,99	C	1,97	B	0,47	E	0,64	BCD
Bico Ganga*	1,14	BC	2,73	BCD	9,33	D	1,13	BC	1,99	B	1,16	BCD	1,04	B
BRS Esmeralda*	1,25	BC	1,74	CD	5,01	D	0,77	C	4,37	A	0,95	CDE	0,79	BCD
Rabo de Burro*	1,57	B	1,93	CD	1,29	D	1,34	BC	1,45	B	0,93	CDE	0,34	D
BRSMG Curinga*	1,00	BC	1,40	D	1,65	D	1,19	BC	0,91	B	0,79	DE	0,42	CD
Branquinho 90 Dias*	0,63	C	3,26	BC	7,39	D	0,67	C	1,45	B	0,43	E	0,85	BCD
IRAT 112*	1,00	BC	4,93	B	7,38	D	1,94	BC	4,21	A	0,61	DE	0,55	BCD
Saia Velha	1,67	B	8,45	A	43,78	A	2,39	B	2,47	AB	1,41	ABC	0,54	BCD
Agulhão	2,46	A	3,30	BC	17,91	BCD	5,02	A	2,14	B	1,62	AB	1,22	B
Amarelão	1,52	B	8,10	A	12,65	CD	1,45	BC	1,71	B	1,75	A	2,06	A
BRS Soberana	0,97	BC	3,37	BC	28,03	BC	1,21	BC	2,14	B	0,39	E	0,52	CD
Arroz Carolino	0,77	C	1,94	CD	10,12	D	1,91	BC	2,53	AB	0,51	E	0,62	BCD

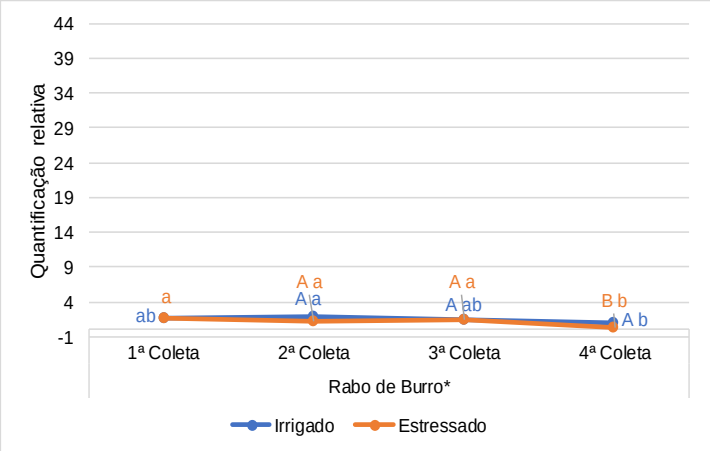
Letras maiúsculas comparam genótipos em cada tratamento hídrico e em cada coleta. Resultados seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), I: Irrigado, E: Estressado, *Genótipos com alta produtividade na condição de estresse. A primeira coleta foi realizada 24 horas após o corte de irrigação, ou seja, as plantas estavam na mesma condição hídrica (irrigada), explica – se apenas uma coluna.

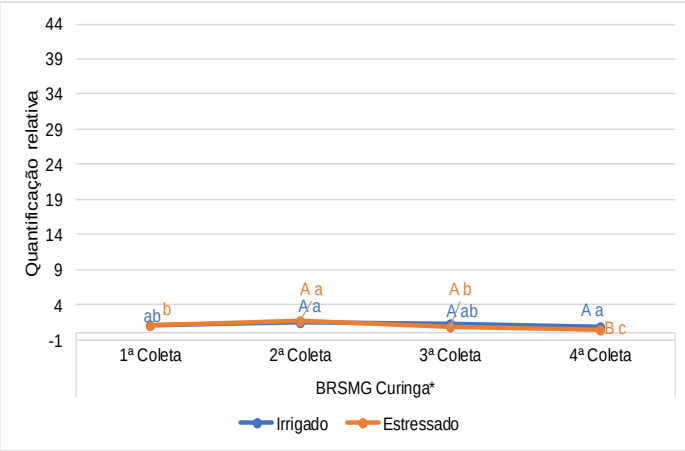
Anexo I- Quantificação relativa (RQ) da expressão diferencial do gene *MnSOD* avaliada em 12 genótipos de arroz de terras altas, em 4 coletas distintas ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas. O gene *Actin* foi utilizado como normalizador e a planta BRSMG Curinga 100% irrigada como referência para estabelecimento do valor de RQ. Letras maiúsculas comparam tratamentos hídricos por genótipo e por coleta. Letras minúsculas comparam tratamento hídrico nas diferentes coletas para cada genótipo. Resultados seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). *Genótipos com alta produtividade na condição de estresse (continua).

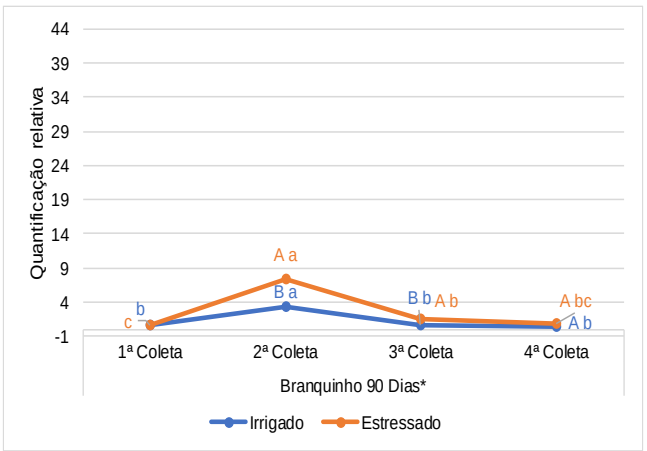




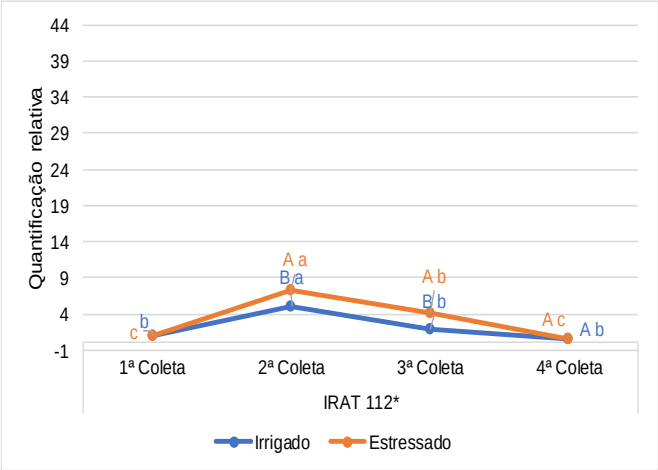


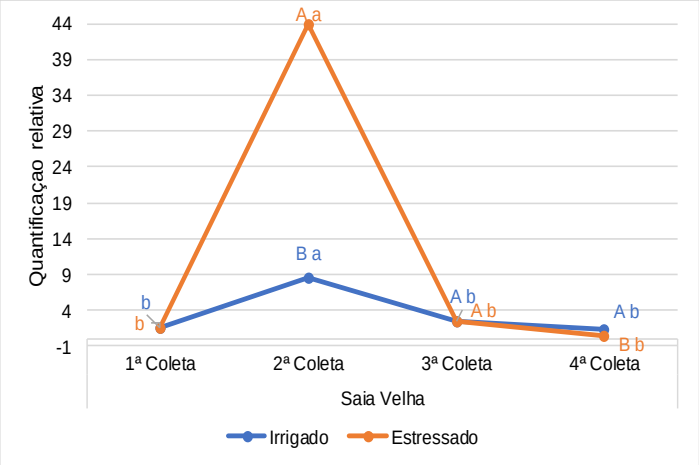


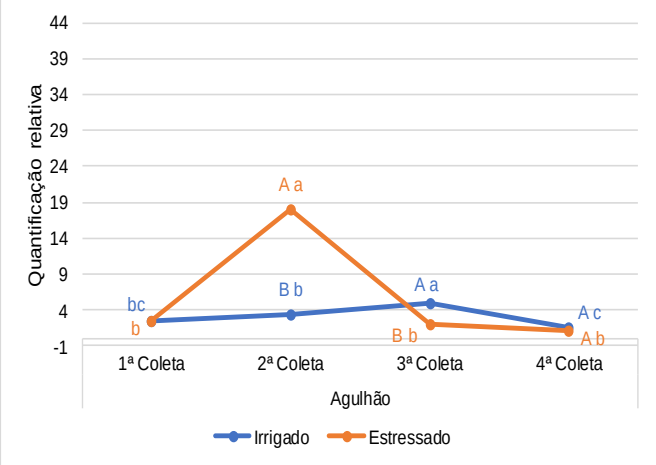


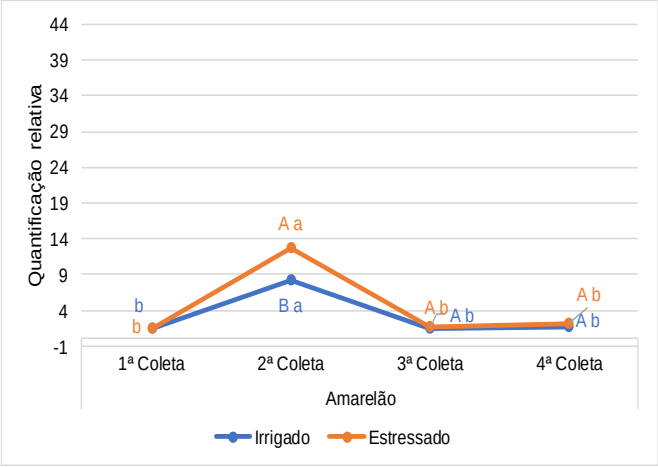


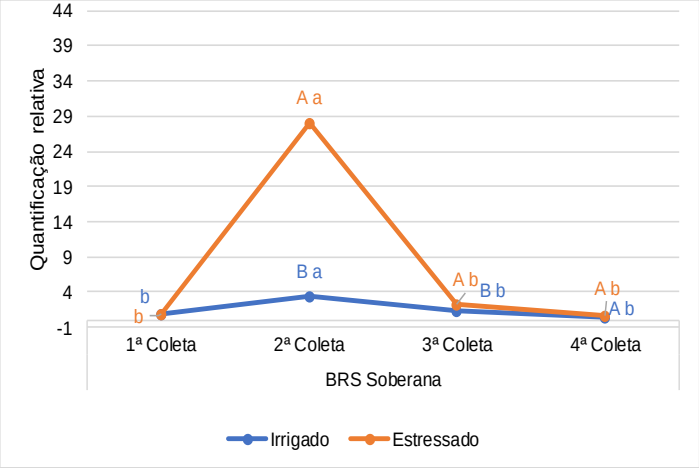
Anexo I- Quantificação relativa (RQ) da expressão diferencial do gene *MnSOD* avaliada em 12 genótipos de arroz de terras altas, em 4 coletas distintas ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas. O gene *Actin* foi utilizado como normalizador e a planta BRSMG Curinga 100% irrigada como referência para estabelecimento do valor de RQ. Letras maiúsculas comparam tratamentos hídricos por genótipo e por coleta. Letras minúsculas comparam tratamento hídrico nas diferentes coletas para cada genótipo. Resultados seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). *Genótipos com alta produtividade na condição de estresse (continuação).

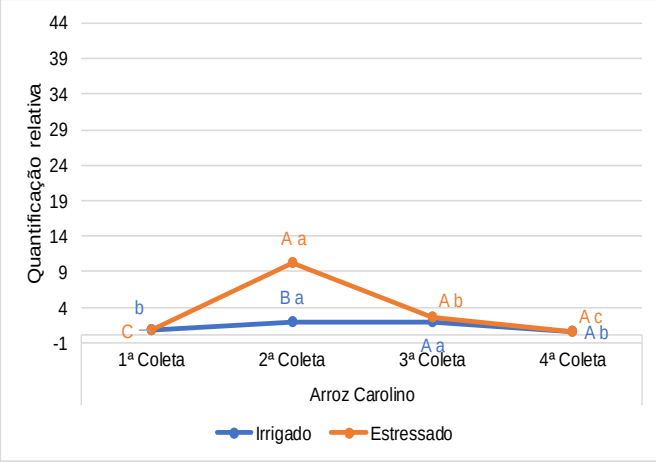










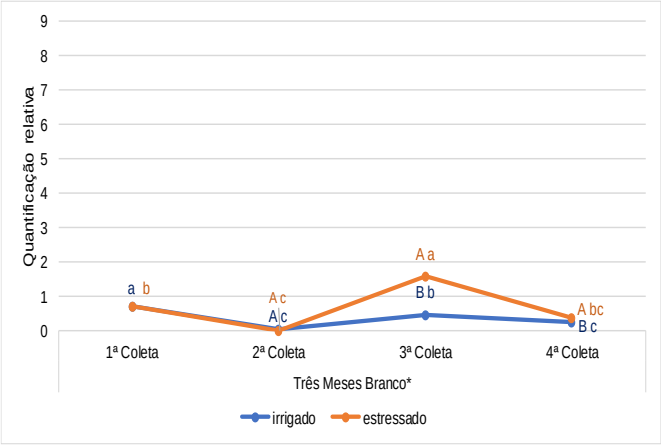


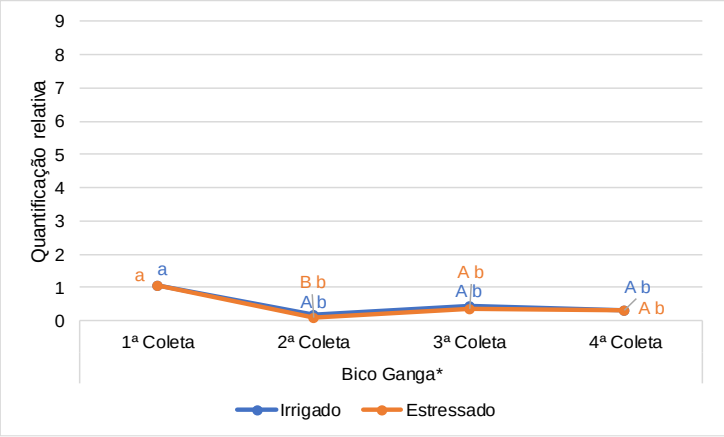
Anexo J- Valores de Quantificação Relativa (RQ) em relação à planta- referência BRSMG Curinga 100% irrigada e significância estatística para o gene glicosiltransferase em amostras de tecido foliar de genótipos de arroz de terras altas submetidas à restrição hídrica.

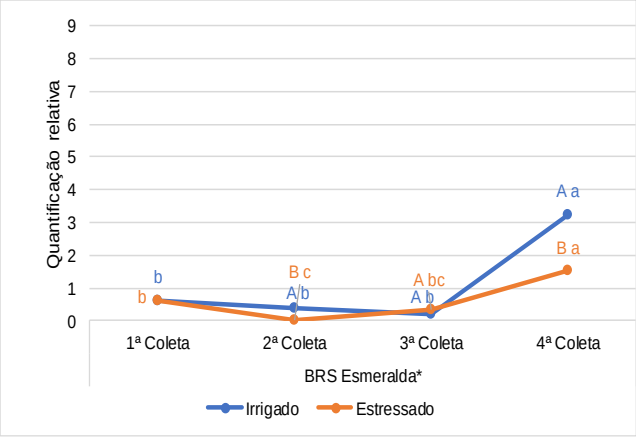
	1ª COLETA	2ª COLETA		3ª COLETA		4ª COLETA	
Genótipos	I	I	E	I	E	I	E
Três Meses Branco*	0,69 B	0,05 E	0,00 E	0,46 CDE	1,56 A	0,24 E	0,37 D
Bico Ganga*	1,05 B	0,18 DE	0,07 CDE	0,44 CDE	0,35 B	0,32 DE	0,30 D
BRS Esmeralda*	0,63 B	0,38 D	0,04 E	0,19 E	0,35 B	3,23 B	1,52 C
Rabo de Burro*	0,80 B	1,19 B	1,59 B	2,22 B	0,56 B	2,10 C	0,72 CD
BRSMG Curinga*	1,00 B	0,40 D	0,16 CDE	0,69 CDE	0,68 B	1,02 D	0,51 D
Branquinho*	0,53 B	2,33 A	0,63 CD	0,25 DE	0,33 B	0,16 E	0,43 D
IRAT 112*	0,97 B	0,19 DE	0,05 DE	1,29 BCDE	0,61 B	0,21 E	0,36 D
Saia Velha	0,78 B	0,22 DE	7,12 A	0,58 CDE	0,81 AB	2,29 C	2,94 B
Agulhão	8,92 A	0,91 C	0,70 C	1,51 BC	0,56 B	4,03 A	4,39 A
Amarelão	0,64 B	0,10 E	0,02 E	1,92 B	0,53 B	0,39 DE	0,56 D
BRS Soberana	1,27 B	0,02 E	0,01 E	1,30 BCD	1,41 A	0,24 E	0,42 D
Arroz Carolino	1,50 B	0,79 C	0,17 CDE	5,12 A	0,97 AB 0,26	E 1,01	CD

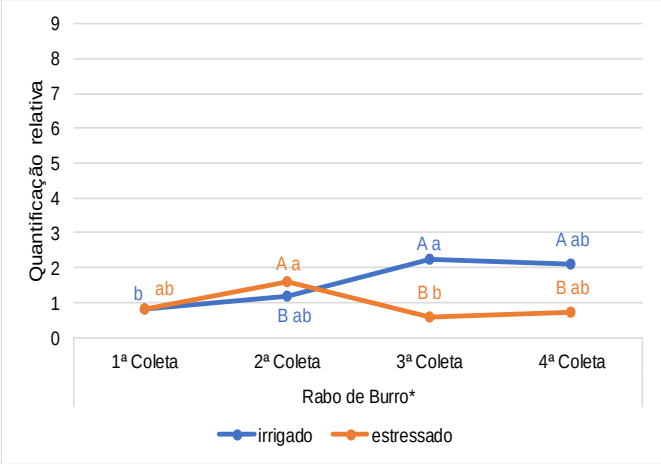
Letras maiúsculas comparam genótipos em cada tratamento hídrico e em cada coleta. Resultados seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), I: Irrigado, E: Estressado, *Genótipos com alta produtividade na condição de estresse. A primeira coleta foi realizada 24 horas após o corte de irrigação, ou seja, as plantas estavam na mesma condição hídrica (irrigada), explica – se apenas uma coluna.

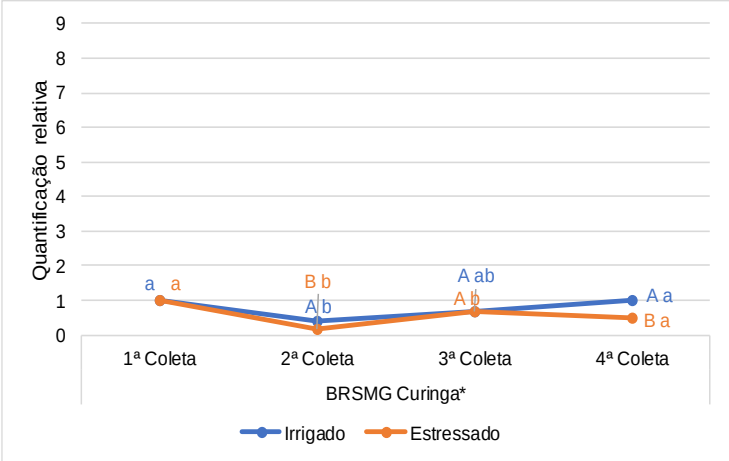
Anexo K- Quantificação relativa (RQ) da expressão diferencial do gene *Glicosiltransferase* avaliada em 12 genótipos de arroz de terras altas, em 4 coletas distintas ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas. O gene *Actin* foi utilizado como normalizador e a planta BRSMG Curinga 100% irrigada como referência para estabelecimento do valor de RQ. Letras maiúsculas comparam tratamentos hídricos por genótipo e por coleta. Letras minúsculas comparam tratamento hídrico nas diferentes coletas para cada genótipo. Resultados seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). *Genótipos com alta produtividade na condição de estresse (continua).

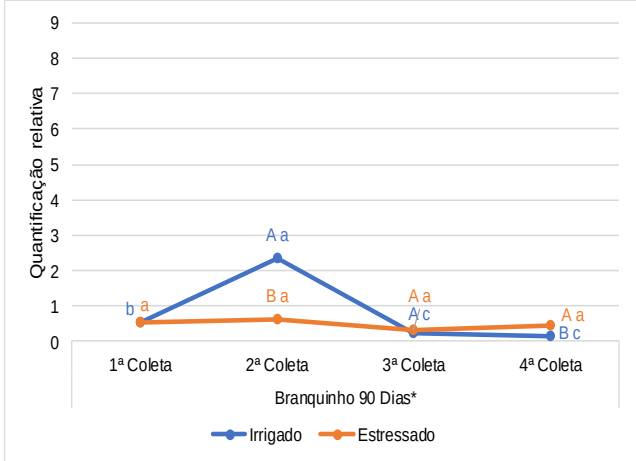
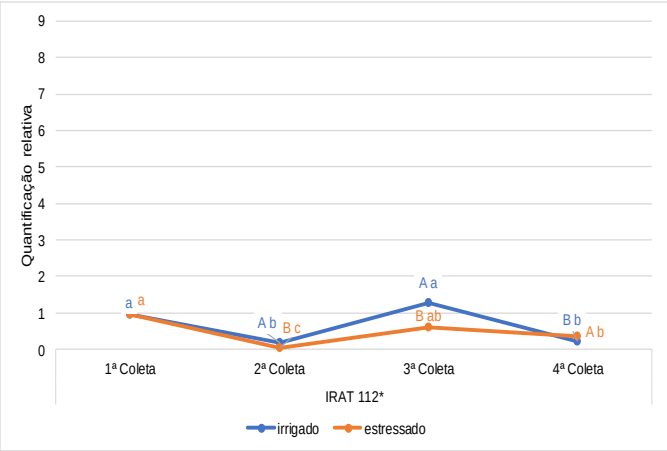
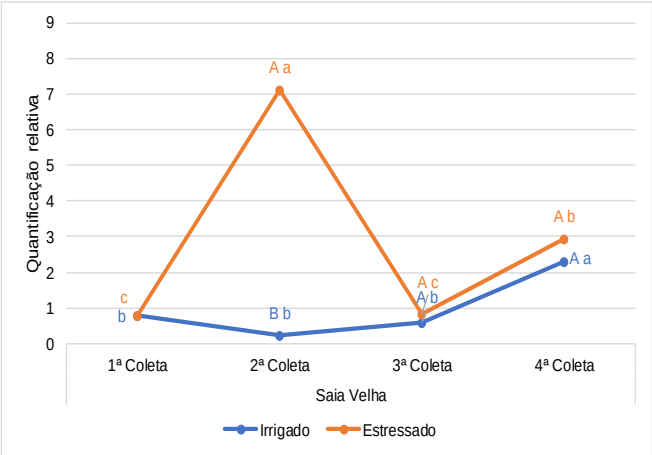
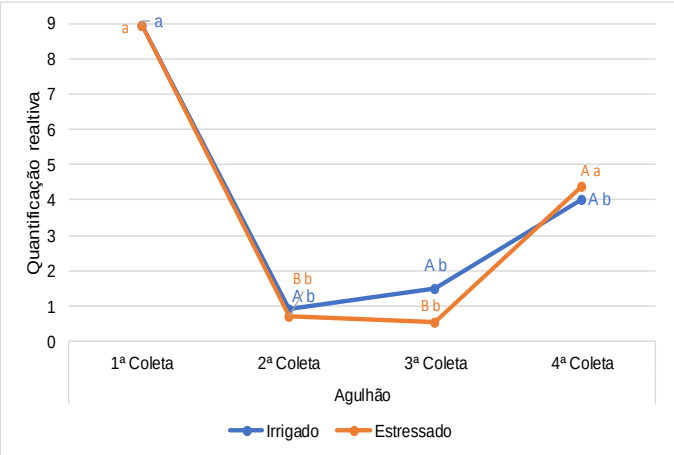
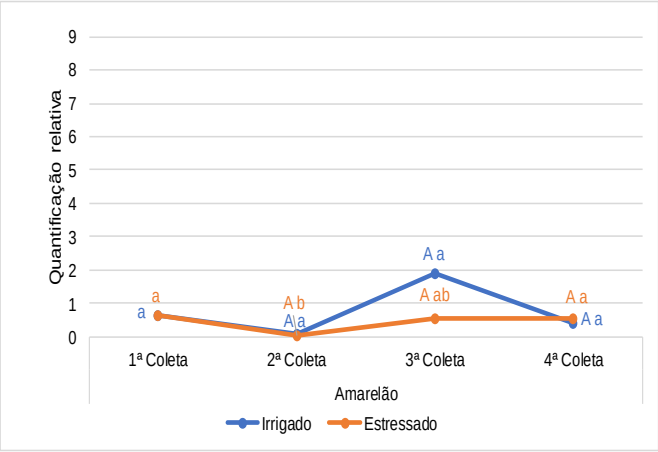
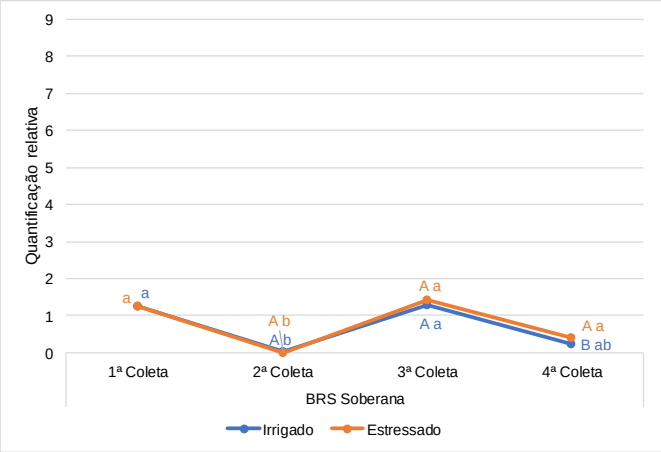
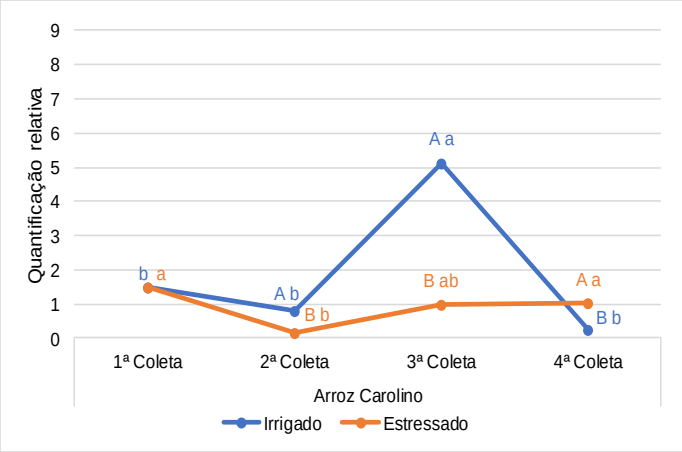












Anexo K- Quantificação relativa (RQ) da expressão diferencial do gene *Glicosiltransferase* avaliada em 12 genótipos de arroz de terras altas, em 4 coletas distintas ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas. O gene *Actin* foi utilizado como normalizador e a planta BRSMG Curinga 100% irrigada como referência para estabelecimento do valor de RQ. Letras maiúsculas comparam tratamentos hídricos por genótipo e por coleta. Letras minúsculas comparam tratamento hídrico nas diferentes coletas para cada genótipo. Resultados seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). *Genótipos com alta produtividade na condição de estresse (continuação).