

# EFICIÊNCIA DO MARCADOR RAPD OPK17 PARA SELEÇÃO DO GENE *PI-AR* DE RESISTÊNCIA À BRUSONE EM ARROZ

Leila Garcês de Araújo<sup>1</sup> e Anne Sitarama Prabhu<sup>2</sup>

## Resumo

O gene *Pi-ar* confere resistência à brusone no somaclone derivado de panículas imaturas da cultivar de arroz de terras altas “Araguaia” e o marcador RAPD OPK17<sub>680</sub> mostra-se ligado ao gene *Pi-ar*. O objetivo desse trabalho foi verificar a eficiência do marcador OPK17 para a seleção do gene *Pi-ar* em uma população F<sub>1</sub>RC<sub>3</sub> obtida de cruzamento entre a cultivar suscetível de arroz de terras altas “IAC 201” e o somaclone resistente SC09. As plantas dessa população foram inicialmente avaliadas para a raça IB-9 de *Pyricularia grisea* em casa de vegetação e, posteriormente, o DNA dessas plantas foi amplificado com o marcador. A eficiência obtida pela seleção assistida de plantas resistentes e suscetíveis pelo marcador OPK17 foi de 62,3%.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa*, *Pyricularia grisea*, *Magnaporthe grisea*, marcador molecular, seleção assistida.

## EFICIENCY OF THE RAPD OPK17 MARKER FOR SELECTING *PI-AR* GENE OF RESISTENCE TO BLAST DISEASE IN RICE

### Abstract

The gene *Pi-ar* confers resistance to rice blast in a somaclone derived from immature panicles of the upland rice cultivar “Araguaia” and the RAPD OPK17<sub>680</sub> marker has been shown to be linked to this gene. The objective of the present investigation was to determine the efficiency of the marker OPK17 for the selection of the gene *Pi-ar* in a back cross population. The backcross population F<sub>1</sub>BC<sub>3</sub> was obtained from a cross between a susceptible upland rice cultivar “IAC 201” and the resistant somaclone SC09. The plant population was initially screened for blast resistance against the race IB-9 of *Pyricularia grisea* in the greenhouse and later the DNA of these plants was amplified with the marker OPK17. The efficiency of marker assisted selection in resistant and susceptible plants with marker OPK17 was 62.3%.

**Key-words:** *Oryza sativa* *Pyricularia grisea* *Magnaporthe grisea* molecular marker marker assisted selection

---

<sup>1</sup>Professora Uni-ANHANGÜERA - leila@anhanguera.edu.br

<sup>2</sup> Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO

## Introdução

Resistência específica ou vertical à brusone *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. [*Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr] foi amplamente explorada nos programas de melhoramento em vários países, incluindo o Brasil. O desenvolvimento de cultivares resistentes foi a maior contribuição dos melhoristas e fitopatologistas na redução dos danos causados pela brusone, principal enfermidade do arroz de terras altas. A cultivar melhorada de arroz “Araguaia” apresentava alto grau de resistência à brusone quando foi lançada em 1986. Entretanto, a resistência desta cultivar foi quebrada em razão da alta variabilidade patogênica de *P. grisea*.

A variação somaclonal é uma ferramenta para recuperação de novas variantes de grande importância, como resistência às doenças, além de conservar todas as características desejáveis da cultivar que lhe deu origem. Utilizando este método, novas linhagens de arroz com resistência à brusone e características agrônômicas desejáveis foram desenvolvidas em um curto espaço de tempo a partir de cultivares suscetíveis (ARAÚJO et al., 2000). Neste trabalho foram obtidos somaclones altamente resistentes à brusone, a partir da cultivar suscetível “Araguaia”. A herança da resistência desses somaclones foi monogênica e dominante, e o gene foi denominado de *Pi-ar* (ARAÚJO et al., 1999).

A incorporação da resistência por intermédio de métodos convencionais é difícil por causa da presença de caracteres indesejáveis que não são eliminados durante as várias gerações de retrocruzamento. O interesse pela técnica do RAPD cresceu em razão do seu potencial de aplicação no mapeamento genético e no melhoramento de plantas. Os marcadores RAPD são vantajosos em razão da alta frequência de polimorfismo, rapidez, simplicidade, requerimento de pouca quantidade de DNA, e não necessitam do conhecimento da sequência de DNA, além da facilidade de automatização (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Por isso, a técnica do RAPD foi utilizada como alternativa para identificação

de marcadores ligados a genes de resistência em vários patossistemas, como brusone em arroz (NAQVI et al., 1995; ZHENG et al., 2000).

O primeiro passo para a seleção assistida por marcador (SAM) é a identificação de marcadores moleculares ligados a genes de interesse. A análise de misturas segregantes em populações  $F_2$  foi usada para detectar marcadores RAPDs ligados a genes de resistência à brusone em arroz (NAQVI et al., 1995; ZHENG et al., 2000; ARAÚJO et al., 2002; ARAÚJO et al., 2004). Entretanto, marcadores com distâncias de ligação superiores a 10 cM não são geralmente usados no melhoramento de plantas (KELLY, 1995). Em arroz, as distâncias dos marcadores RAPDs aos genes de resistência à brusone variaram de 2,1 a 7,5 cM (NAQVI et al., 1995; ZHENG et al., 2000). O marcador RAPD OPK17 tem se mostrado ligado ao gene de resistência à brusone, *Pi-ar* à distância de 5,3 cM, utilizando uma população  $F_2$  (ARAÚJO et al., 2004).

Vários programas de melhoramento têm utilizado o retrocruzamento com seleção assistida por marcadores (SAM), incluindo RAPD, para aumentar a eficiência de seleção do gene incorporado e para recuperar de forma mais rápida o genótipo do genitor recorrente (CHEN et al., 2000). A SAM também possibilitou a piramidação de genes de resistência à brusone (HITTALMANI et al., 2000).

A eficiência de marcadores RAPDs na seleção assistida para o gene *Pi-ar* de resistência à brusone é desconhecida. O objetivo deste trabalho consistiu na seleção assistida pelo marcador RAPD OPK17 para o gene *Pi-ar*, de resistência à brusone, em uma população de retrocruzamento de arroz.

## Material e Métodos

Sessenta e seis plantas  $F_1RC_3$  de uma população de plantas de arroz oriundas do cruzamento entre a cultivar “IAC 201” (suscetível à brusone utilizado como genitor recorrente) e o somaclone SC09 resistente, foram utilizadas na seleção assistida pelo marcador RAPD OPK17. Somente as plantas que apresentaram reação de resistência à brusone foram utilizadas para retrocruzamento com o genitor recorrente. O plantio das 66 plantas  $F_1RC_3$  foi realizado em uma bandeja

plástica medindo 30x15x10cm, contendo 3 kg de solo. As sementes foram semeadas em oito sulcos de 10 cm de comprimento na bandeja com o solo previamente adubado com 5 g de NPK (5-30-15), 1 g de sulfato de zinco e 3 g de sulfato de amônio. Foi realizada a adubação de cobertura com 2 g de sulfato de amônio 20 dias após a semeadura. Os dois genitores e as oito diferenciadoras internacionais (Dular, Kanto 51, NP125, Raminad Str 3, Usen, Zenith, Caloro and Sha-tiao-tsau) foram semeados em outra bandeja plástica para confirmação da raça de *P. grisea*.

A inoculação foi realizada aos 21 dias após o plantio com uma suspensão conidial ( $3 \times 10^5$  esporos/ml) do isolado monospórico (raça IB-9) de *P. grisea* (ARAÚJO et al., 2000), pois tem sido demonstrada ser a raça mais predominante em arroz de terras altas no Brasil (PRABHU et al., 2002). Nove dias após a inoculação, a reação das plantas à brusone foi avaliada nas folhas, utilizando uma escala visual de notas de 0 a 9, baseando-se no tipo de reação. Os tipos de reações variando de 0 a 3 foram considerados como resistentes ou incompatíveis e de 4 a 9 como suscetíveis ou compatíveis (INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 1988). Esta escala foi utilizada para determinar os diferentes graus de suscetibilidade na população  $F_1$  RC<sub>3</sub>.

Para extração de DNA, foram coletadas no estádio de quarta folha, aos 40 dias de idade, as folhas de 61 plantas  $F_1$  RC<sub>3</sub> e dos genitores “IAC 201” e SC09 (DOYLE e DOYLE, 1987).

Foi utilizado o marcador RAPD, OPK17<sub>680</sub> ligado em acoplamento, a 5,3 cM do gene *Pi-ar* de resistência à brusone para amplificação do DNA  $F_2$  (ARAÚJO et al., 2004).

As reações de RAPD foram realizadas de acordo com Williams et al. (1990). O programa utilizado para amplificação foi de 40 ciclos de 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 36°C e 1 minuto a 72°C. Depois de 40 ciclos foi efetuada uma etapa de extensão a 72°C por 7 minutos. Cada 25 ml de reação continha 25 ng de DNA; 2,5 ml de tampão de reação (200 mM Tris - HCl, pH 8.4 e 500 mM de KCl); 0,75 ml de 50 mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,5 ml de d’NTP (100 mM de cada dATP, dGTP, dCTP e dTTP); 1,0 ml de *primer* OPK17<sub>680</sub> [Operon Technologies, Boulevard, CA, USA (0,2 mM)]; uma unidade de *Taq* polimerase e 50 ml de

óleo mineral. Os produtos amplificados foram separados em géis de agarose a 1,4% em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM e EDTA 2 mM). Em 100 ml de agarose foi adicionado 5 ml de uma solução de brometo de etídio a 1 %. Em seguida, as bandas de DNA foram visualizadas sob luz ultravioleta e as imagens captadas pelo sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Stratagene).

## Resultados e Discussão

A cultivar “IAC 201” foi suscetível (nota 7) à raça IB-9 de *P. grisea* e o somaclone SC09 foi resistente (nota 1). Das 66 plantas da população  $F_1 RC_3$ , 27 plantas apresentaram reações resistentes (nota 1) e 39 suscetíveis (notas 4 a 7). Nas 27 plantas  $F_1 RC_3$  resistentes, o fragmento de 680 pares de bases produzido pelo marcador OPK17 estava presente em 25 plantas além do somaclone SC09, e ausente na cultivar “IAC 201”. Das 39 plantas suscetíveis, 34 foram avaliadas para o marcador OPK17 incluindo 27 plantas com notas 5 e 7, e sete plantas com nota 4. Entretanto, 14 plantas suscetíveis (notas 5 e 7) apresentaram o mesmo fragmento, bem como as sete plantas com reação tipo 4 (Tabela 1). As outras cinco plantas, de um total de 39, apresentaram somente uma lesão e não podem ser classificadas na categoria de reação tipo 4.

Tabela 1. Eficiência de seleção dos marcadores RAPDs OPK17<sub>680</sub> e OPS16<sub>2072</sub> para o gene *Pi-ar* do somaclone SC09 na população de  $F_1 RC_3$  do cruzamento entre genótipos de arroz de IAC201/SC09.

Plantas $F_1 RC_3$	Avaliação das plantas $F_1 RC_3$	Presença (+)/Ausência (-) do marcador OPK17	Classificação final das plantas $F_1 RC_3$
1	1	+	Resistente
2	1	-	Resistente
3	1	+	Resistente
4	1	+	Resistente
5	1	+	Resistente
6	1	+	Resistente
7	1	+	Resistente
8	1	+	Resistente
9	1	+	Resistente
10	1	+	Resistente
11	1	+	Resistente

Tabela1. Continuação

12	1	+	Resistente
13	1	-	Resistente
14	1	+	Resistente
15	1	+	Resistente
16	1	+	Resistente
17	1	+	Resistente
18	1	+	Resistente
19	1	+	Resistente
20	1	+	Resistente
21	1	+	Resistente
22	1	+	Resistente
23	1	+	Resistente
24	1	+	Resistente
25	1	+	Resistente
26	1	+	Resistente
27	1	+	Resistente
28	4	+	Suscetível
29	4	+	Suscetível
30	5	+	Suscetível
31	5	+	Suscetível
32	7	+	Suscetível
33	5	+	Suscetível
34	5	-	Suscetível
35	7	-	Suscetível
36	5	+	Suscetível
37	7	+	Suscetível
38	7	+	Suscetível
39	5	+	Suscetível
40	5	+	Suscetível
41	5	-	Suscetível
42	5	-	Suscetível
43	5	-	Suscetível
44	5	-	Suscetível
45	7	-	Suscetível
46	5	+	Suscetível
47	5	+	Suscetível
48	5	+	Suscetível
49	5	+	Suscetível
50	5	+	Suscetível
51	5	-	Suscetível
52	7	-	Suscetível
53	5	-	Suscetível
54	7	-	Suscetível
55	5	-	Suscetível
56	7	-	Suscetível
57	4	+	Suscetível
58	4	+	Suscetível
59	4	+	Suscetível
60	4	+	Suscetível
61	4	+	Suscetível
IAC201 <sup>1</sup>	7	-	Suscetível
SC09 <sup>2</sup>	1	+	Resistente

<sup>1</sup> Genitor suscetível à brusone; <sup>2</sup> Genitor resistente.

Das 27 plantas resistentes apenas duas plantas não apresentaram o marcador OPK17 (7,4%, Figuras 1 e 2). Considerando as 34 plantas suscetíveis avaliadas

com o marcador, 21 mostraram presença da banda. De um total de 61 plantas a eficiência da seleção assistida de plantas resistentes e suscetíveis pelo marcador OPK17 foi de 62,3%. Por outro lado, a eficiência da seleção assistida pelo marcador OPK17 de plantas resistentes e suscetíveis foi de 70,3%, se não tivesse sido levado em consideração a reação tipo 4 (Figuras 1 e 2).

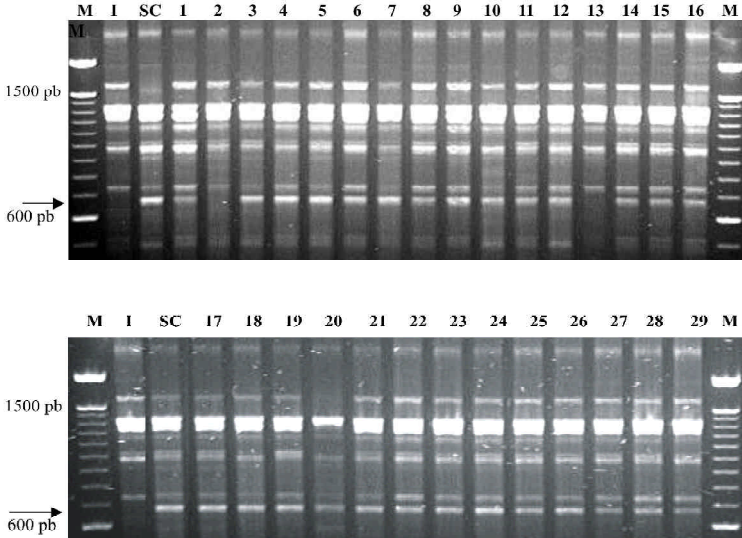
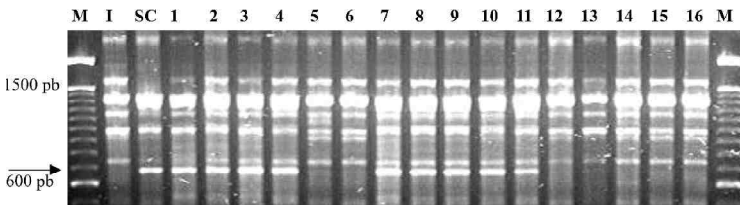


Figura 1 - Análise eletroforética dos produtos de amplificação de DNA com o *primer* OPK17<sub>680</sub> de 27 (1 a 27) plantas de arroz F<sub>1</sub> RC<sub>3</sub> resistentes e duas com reação tipo 4 (28 e 29). A seta indica o marcador ligado em acoplamento ao gene *Pi-ar* de resistência do somaclone SC09 da cultivar “Araguaia” à raça IB-9 de *P. grisea*. M = Lambda 100 pb, Gibco BRL; I = “IAC 201”; SC = Somaclone SC09 da cultivar “Araguaia”.



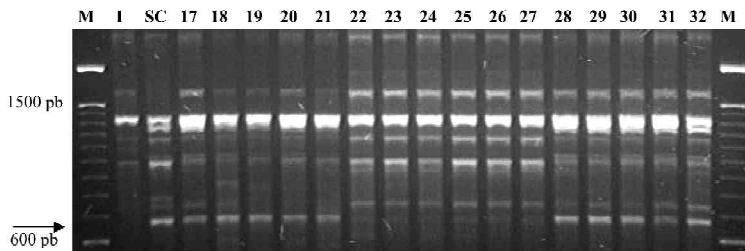


Figura 2. Análise eletroforética dos produtos de amplificação de DNA com o *primer* OPK17<sub>680</sub> de 32 plantas de arroz F<sub>1</sub> RC<sub>3</sub> suscetíveis, incluindo cinco plantas de arroz com reação tipo 4 (28 a 32). M = Lambda 100 pb, Gibco BRL; I = “IAC 201”; SC = Somaclone SC09 da cultivar “Araguaia”.

Na leitura de reação à brusone nas folhas, os tipos de reações 3 e 4 são muito parecidos e às vezes podem levar a dúvidas na avaliação fenotípica. Estas reações representam o limite entre resistência e suscetibilidade, e são grandemente influenciadas pelas condições ambientais em inoculações (MACKILL e BONMAN, 1992). Sem prova genética utilizando marcador molecular, a variabilidade na reação fenotípica observada pode ser atribuída a diversos fatores como escapes (YU et al., 1987). Os resultados do presente trabalho comprovam a eficiência do uso de marcador ligado a gene de interesse, na confirmação das plantas que realmente são resistentes. Além disso, a ausência do marcador em plantas consideradas resistentes pode indicar escapes nas inoculações artificiais de *P. grisea*. O marcador OPK17 pode ser utilizado para detectar a presença do gene *Pi-ar* nas plantas resistentes selecionadas após inoculação das populações segregantes com isolado IB-9, para evitar os problemas de escapes fornecendo maior segurança quanto a presença do gene nas plantas. A análise com OPK17 complementa a análise fenotípica e vice-versa.

Os marcadores RAPD ligados a vários genes de resistência às doenças estão sendo transformados em SCARs (Região amplificada caracterizada e sequenciada) para aumentar a sua eficiência de seleção e reproducibilidade (NAQVI e CHATTOO, 1996; SANDHU et al., 2003).



Embora, o melhoramento de características de herança simples não necessite de marcadores para seleção, o uso de marcadores moleculares ligados a genes de resistência a doenças facilitará a seleção de genótipos resistentes diminuindo o efeito do ambiente (FERREIRA e GRATTAPAGLIA 1998), além de possibilitar a transferência de genes de interesse nas cultivares comerciais com eficiência e rapidez (HITTALMANI et al., 2000). A piramidação de genes é uma das estratégias conhecidas para reduzir a vulnerabilidade das culturas em razão das mudanças na virulência do patógeno (HITTALMANI et al., 2000). A seleção assistida por marcador também está sendo utilizada em programas de retrocruzamento para monitorar o gene de interesse e para recuperar o pai recorrente (CHEN et al., 2000). O uso de métodos convencionais para piramidação requer raças diferenciais dos genes de resistência e inoculações artificiais em um grande número de progênies o que é muito laborioso e consome tempo. Os marcadores moleculares facilitarão a implementação da estratégia da piramidação de genes. Marcadores RFLPs foram usados para piramidação de vários genes de resistência à brusone presentes nas linhas isogênicas de CO39 e a durabilidade das linhas piramidadas foi sempre maior (HITTALMANI et al., 2000). O marcador OPK17 identificado no presente trabalho pode ser usado para a piramidação do gene *Pi-ar*, juntamente com outros marcadores ligados a genes de resistência à brusone.

## **Conclusão**

O marcador OPK17 juntamente com outros marcadores poderão ser usados no programa de incorporação do gene de resistência *Pi-ar* à brusone em cultivares de arroz de terras altas que sejam bem adaptadas às condições locais.

## Referências Bibliográficas

ARAÚJO, L.G.; PRABHU, A.S.; FILLIPI, M.C. Inheritance of resistance to leaf blast in somaclones of rice cultivar Araguaia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p.182-184, 1999.

ARAÚJO, L.G.; PRABHU, A.S.; FREIRE, A.B. Development of blast resistant somaclones of the upland rice cultivar Araguaia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, p.357-367, 2000.

ARAÚJO, L.G.; PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. Identification of RAPD marker linked to blast resistance gene in a somaclone of rice cultivar Araguaia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.181-185, 2002.

ARAÚJO, L.G.; PRABHU, A.S.; PEREIRA, P.A.A. RAPD marker linked to a gene conferring resistance to race IB-9 of *Pyricularia grisea* in a somaclone of the rice cultivar Araguaia. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v.78, p. 151-158, 2004.

CHEN, S.; LIN, X.H.; XU, C.G.; ZHANG, Q. Improvement of bacterial blight resistance of 'Minghui 63', an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. **Crop Science**, Madison, v.40, p.239-244, 2000.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Gaithersburg, v.12, p.13-15, 1987.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA –CENARGEN. 1998.

HITTALMANI, S.; PARCO, A.; MEW, T.V.; ZEIGLER, R.S.; HUANG, N. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.100, p.1121-1128, 2000.

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Standard evaluation system for rice**. 3.ed. Los Baños: IRRI. 1988.

KELLY, J.D. Use of Random Amplified Polymorphic DNA markers in breeding for major gene resistance to plant pathogens. **HortScience**, Alexandria, v.30, p.461-465, 1995.

MACKILL, D.J.; BONMAN, J.M. Inheritance of blast resistance in near isogenic lines of rice. **Phytopathology**, St. Paul, v.82, p.746-749, 1992.

NAQVI, N.I.; BONMAN, M.; MACKILL, D.J.; NELSON, R.J.; CHATTOO, B.B. Identification of RAPD markers linked to a major blast resistance gene in rice. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v.1, n.3, p.341-348, 1995.

NAQVI, N.I.; CHATTOO, B.B. Development of a sequence characterized amplified region (SCAR) based indirect selection method for a dominant blast-resistance gene in rice. **Genome**, Ottawa, v.39, n.1, p.26-30, 1996.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; ARAÚJO, L.G. Pathotype diversity of *Pyricularia grisea* from improved upland rice cultivars in experimental plots. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 468-473, 2002.

SANDHU, S.S.; COLOMBO, C.B.; CÂNDIDO R.; SIQUEIRA, W.J. DNA tagging of blast resistant gene(s) in three Brazilian rice cultivars. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo v.26, n.4, 2003.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, London, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

YU, H.Z.; MACKILL, D.J.; BONMAN, J.M. Inheritance of resistance to blast in some traditional and improved rice cultivars. **Phytopathology**, St. Paul, v.77, n.2, p.323-326, 1987.

ZHENG, K.L.; CHAI, R.Y.; JIN, M.Z.; WU, J.L.; FAN, Y.Y.; LEUNG, H.; ZHUANG, J.Y. Mapping of leaf and neck blast resistance genes with RFLP, RAPD and resistance gene analogs in rice. LEBRUM, M.H.; TALBOT, N.J.; NOTTEGHEM, J.L. (Ed.). **Advances in rice blast research**. Dordrecht: Kluwer. 2000. p. 28-33.

# REVISTA ANHANGÜERA

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

### INTRODUÇÃO

Os trabalhos técnico-científicos para publicação no periódico **Revista Anhangüera**, editada pela Uni-ANHANGÜERA - Centro Universitário de Goiás poderão ser apresentados em português, inglês ou espanhol. Deverão ser inéditos e sua publicação não deve estar pendente em outro periódico. Uma vez publicados na Revista Anhangüera, também poderão sê-lo em outros veículos desde que citada a publicação original. A Revista Anhangüera é apresentada em seções: Fórum (artigo de revisão texto para debate) -Artigo científicos - Notas científicas – Resenha de livros.

### ESTRUTURA DO ARTIGO

1. Os trabalhos deverão ser enviados em arquivos gravados em disquetes, acompanhados de 3 (três) cópias impressas. Recomenda-se a utilização do processador de texto Microsoft Word 97 ou versão posterior, digitação em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, cor preta em todo o texto, numa só face de papel A4, margens superior e esquerda de 3,0 cm e inferior e direita de 2,0 cm.

2. Os trabalhos deverão ter no máximo 20 páginas numeradas seqüencialmente; sempre que possível, deverão ser organizados na seguinte ordem: Título, Autores, Resumo, Palavras-chaves Abstract, Key words, Introdução, Desenvolvimento (Material e Métodos, Resultados e Discussão, quando couber), Conclusão, Agradecimentos e Referências Bibliográficas.

• Os títulos em português, inglês e espanhol devem ser grafados em letras maiúsculas, com no máximo, 20 palavras. Devem ser claros e concisos e expressar o conteúdo do trabalho.

- Os nomes dos autores devem ser grafados por extenso, com letras iniciais maiúsculas.

- Tanto o resumo como o abstract não deve ultrapassar 200 palavras. Devem conter uma síntese dos objetivos, desenvolvimento e principal conclusão do trabalho, escrito em parágrafo único.

- As palavras-chave e as key-words são grafadas com letras iniciais maiúsculas, seguidas de dois pontos. Devem ter indicação de no mínimo três e no máximo seis palavras, separadas por vírgulas, iniciadas com letras minúsculas, não devendo conter palavras que já apareçam no título. Deverão situar claramente os eixos temáticos do trabalho, partindo-se do mais amplo para o mais específico.

- No rodapé da primeira página, deverão constar: a qualificação profissional principal e o endereço eletrônico do autor.

- A palavra introdução deve ser grafada com letras maiúsculas e colocada à esquerda da página. Deve apresentar o objetivo do trabalho, importância e contextualização, o alcance e eventuais limitações do estudo.

- O desenvolvimento constitui o núcleo do trabalho, em que se encontram os procedimentos metodológicos, os resultados da pesquisa e a sua discussão crítica. Mas, a palavra desenvolvimento jamais servirá de título para esse núcleo, ficando a critério do autor enpregar os títulos que mais se apropriem à natureza do seu trabalho. O autor não é obrigado a usar os termos tradicionalmente empregados nos artigos de periódicos das áreas exatas e biológicas, tais como: material e métodos, resultados e discussão. Sejam quais forem as opções de títulos, esses devem ser posicionados à esquerda da folha, grafados com letras maiúsculas.

- A palavra conclusões, ou expressão equivalente deve ser grafada com letras maiúsculas e colocada à esquerda da página. São elaboradas com base no objetivo e nos resultados do trabalho.

- A palavra agradecimentos deve ser grafada com letras maiúsculas e colocada à esquerda da página. Devem ser breves e diretos, iniciando com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).

- As referências bibliográficas devem ser organizadas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor. Devem ser elaboradas de acordo com a

.....

NBR 6023/agosto de 2002 (Norma Brasileira da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT).

- As citações no texto do trabalho deverão seguir as seguintes instruções.

a) Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguida do ano de publicação entre parênteses. Exemplo: Segundo Borges (2002), o desenvolvimento tecnológico... ou O desenvolvimento tecnológico ... (BORGES, 2002).

b) Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo “e” seguidos do ano de publicação, entre parênteses. Exemplo: Borges e Almeida (1997).

c) Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, seguido do ano de publicação, entre parênteses. Exemplos: 1) Gomes et al. (2004) comentam a importância do programa de economia solidária do Ministério do Trabalho.; ou 2) A importância do programa de economia solidária foi enaltecida na última reunião do Ministério do Trabalho (GOMES et al., 2004).

d) Citações de mais de uma obra de um mesmo autor, publicadas num mesmo ano, são distinguidas pelo acréscimo de letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem espaçamento. Exemplo: Oliveira (1999a) ou (OLIVEIRA, 1999a).

e) Citações de diversos documentos da mesma autoria, publicados em diferentes anos e mencionados simultaneamente têm as suas datas separadas por vírgula: Exemplo: Cruz; Corrêa; Costa, 1998, 1999, 2000 ou (CRUZ; CORRÊA; COSTA, 1998, 1999, 2000).

f) Citações de diversos documentos de autores diferentes, mencionados simultaneamente, devem ser separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética. Exemplo: Fonseca, 1997; Paiva, 1997; Silva, 1997 ou (FONSECA, 1997; PAIVA, 1997; SILVA, 1997)

g) Citação de citação: sobrenome do autor do documento original, seguido da expressão “apud” e da citação da obra consultada. Exemplo: segundo Silva (1983 apud ABREU, 1999)....

h) Citações literais, que contenham três linhas ou menos, devem aparecer entre aspas, integrando o parágrafo normal, seguidas pelo sobrenome do autor,

ano da publicação e páginas do texto citado, tudo entre parênteses e separado por vírgula. Exemplos: 1) Santos e Pereira (1997, p. 141) dizem que “a força de trabalho de uma comunidade deve ser aproveitada de forma solidária.” 2) “Não se mova, faz de conta que está morta.” (CLARAC e BONNIN, 1985, p.72).

i) Citações literais longas (quatro ou mais linhas), devem ser destacadas no texto em parágrafo especial e “indentadas” (quatro espaços à direita da margem esquerda) em espaço simples, fonte tamanho 10).

3. Os trabalhos deverão ser precedidos por uma folha onde se fará constar o título do trabalho, o nome do autor que receberá as correspondências do editor, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico.

4. As figuras não devem conter informações apresentadas em tabelas constantes no artigo. Devem ser citadas no texto em ordem seqüencial numérica, escritas com a letra inicial maiúscula, seguidas do número correspondente. Devem ser apresentadas no texto em local próximo ao de sua citação. O título da tabela deve ser escrito sem negrito e posicionado acima da mesma. O título da figura deve também ser escrito sem negrito, mas posicionado abaixo da mesma. As figuras devem ser fornecidos em arquivos originais, além de serem elaborados de forma a apresentar qualidade necessária à reprodução gráfica (escaneamento com no mínimo 300dpi).

5. Todo destaque que se queira dar ao texto impresso deve ser feito com o uso de itálico.

## **PROCEDIMENTOS EDITORIAIS**

1. Após a triagem, o editor submete os trabalhos encaminhados à apreciação crítica de três consultores científicos da revista que elaboram pareceres:

- a) favorável para publicação;
- b) favorável desde que atendidas as reformulações indicadas; ou
- c) desfavorável.

Os critérios adotados são os seguintes:

- Adequação à linha editorial da revista
- Originalidade

- Adequação da metodologia, da análise e da interpretação de informações conceituais e de resultados.

- Argumentação lógica

- Relevância e pertinência das referências bibliográficas

2. Os trabalhos que não se ativerem a estas normas serão devolvidos a seus autores que poderão reenviá-los ao editor, no prazo de 30 (trinta) dias, desde que efetuadas as modificações aconselhadas ou necessárias.

3. São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, o editor, com a assistência da assessoria científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis nos artigos.

4. Não serão divididos direitos autorais ou concedida qualquer remuneração pela publicação dos trabalhos na revista, em qualquer tipo de mídia (papel, eletrônica, etc).

5. A seqüência de publicação dos trabalhos é dada pela conclusão de sua preparação e remessa para impressão. Será enviada aos autores a prova final dos originais para ciência e autorização para publicação. Daí em diante não serão permitidas modificações no texto.

6. Na avaliação dos textos encaminhados ao conselho editorial adota-se o sistema de omissão do nome do autor para fins de avaliação do texto.

7. A seleção dos trabalhos para publicações é de competência do Conselho Editorial da revista. Os trabalhos recebidos e não publicados serão devolvidos.



**MAX**  
Gráfica &  
Editora Ltda.

Rua Apinagés nº 74 - Setor Santa Geneveva  
CEP: 74672-430 - Goiânia - Goiás - Brasil  
Fone: (62) 3207-1184 - Fax: (62) 3207-4406  
e-mail: maxgrafica@yahoo.com.br

