

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico - CDTec
Curso de Graduação em Biotecnologia



Trabalho de Conclusão de Curso

**Biotecnologia aplicada a qualidade de grãos em arroz:
genes candidatos e expressão transcricional**

Natã Dienes Machado

Pelotas, 2016

Natã Dienes Machado

**Biotecnologia aplicada a qualidade de grãos em arroz:
genes candidatos e expressão transcricional**

Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador do Estágio: Dr. Railson Schreinert dos Santos
Orientador Acadêmico: Prof. Dr. Antonio Costa de Oliveira

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M149b Machado, Natã Dienes

Biotecnologia aplicada a qualidade de grãos em arroz:
genes candidatos e expressão transcricional / Natã Dienes
Machado ; Antonio Costa de Oliveira, Railson Schreinert
dos Santos, orientadores. — Pelotas, 2016.
57 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em
Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico,
Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Oryza sativa. 2. Qualidade de grãos. 3. Aparência. 4.
Brunimento. I. Oliveira, Antonio Costa de, orient. II. Santos,
Railson Schreinert dos, orient. III. Título.

CDD : 633.18

Banca examinadora

Prof. Dr. Antonio Costa de Oliveira (Orientador) – DF/ UFPEL

Dr. Daniel da Rosa Farias – DF/ UFPEL

Dr. Railson Schreinert dos Santos – DF/ UFPEL

*“Dedico esse trabalho de conclusão de curso à
minha família e aos meus orientadores, sem vocês eu
não teria chegado até aqui.”*

Agradecimentos

Agradeço...

À minha família: Meus avós Nelson e Iná, minha mãe Maria, a todos os meus tios e tias maternos, em especial à minha tia Neucilene por todo incentivo e apoio incondicional.

Ao meu orientador de estágio Railson Schreinert dos Santos pela paciência e apoio, por ser um exemplo de profissionalismo a ser seguido, por ter me guiado e dado suporte durante toda minha jornada neste laboratório, além da amizade em todos esses anos.

Ao meu orientador Prof. Antonio Costa de Oliveira pela orientação, incentivo nos momentos difíceis e oportunidade de aprendizado.

À Vivi, ao Daniel, ao Danielowski, ao professor Luciano Maia, ao Gustavo, à Tati, ao Artur, à Bárbara, ao Carlos, à Vivian e outros tantos amigos feitos no Centro de Genômica e Fitomelhoramento, especialmente à Glacy Jaqueline.

Ao professor Luciano Pinto e a Renata pelo esforço em solucionar os problemas burocráticos, às professoras Ana Chaves, Francieli e Priscila Leon pelas excelentes aulas e conversas motivadoras, e a todos professores do Núcleo de Biotecnologia do CDTec da Universidade Federal de Pelotas pelo conhecimento adquirido.

Aos meus colegas da 5ª e 6ª turma, e a todos meus amigos ou pessoas que me ajudaram chegar até aqui: À Bárbara (Capixa). Ao Rafael, Lutti, Guilherme, Tom, Lenz e aos demais do grupo de estudo alfa-C. Ao Pablo, à Erika, ao Alex, à Poliana, a Priscila, ao Maurício, ao Hugo, à Mariana, à Martina e ao Rodrigo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

Meu muito obrigado.

Resumo

MACHADO, Natã Dienes. **Biotecnologia aplicada a qualidade de grãos em arroz: genes candidatos e expressão transcricional**. 2016. 57f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia). Universidade Federal de Pelotas.

O arroz é um dos alimentos mais consumidos no mundo. Seu grande mercado não demanda só quantidade, mas também uma qualidade que atenda diferentes grupos de consumidores. A qualidade de grão em arroz pode ser dividida em quatro tipos: qualidade em termos de aparência, de brunimento, de palatabilidade e cozimento, além da qualidade em termos nutricionais. Nesse trabalho identificou-se genes ligados à aparência e brunimento, os quais tiveram então sua expressão transcricional analisada em diferentes tecidos. Verificou-se que apesar de muitos genes já terem sido identificados para aparência de grão, genes para brunimento são dificilmente encontrados na literatura. Os genes mais expressos na cariopse foram selecionados e com eles se realizou uma busca em bancos de dados de mutantes para identificação de plantas que possam ser úteis para maiores estudos. Além disso analisou-se também os promotores destes genes, buscando-se sítios de ligação para fatores de transcrição os quais podem ser importantes na coordenação da expressão destes genes. Com este trabalho espera-se identificar alvos com maior potencial de estudo e que possam contribuir para programas de melhoramento visando aumento da qualidade.

Palavras-chave: *Oryza sativa*. qualidade de grãos. aparência. brunimento.

Abstract

MACHADO, Natã Dienes. **Biotechnology applied to grain quality in rice: candidate genes and transcriptional expression.** 2016. 57s. Term paper (Bachelor of Biotechnology). Universidade Federal de Pelotas.

Rice is one of the most consumed foods in the world. Its great market demands not only quantity but also quality which should meet the needs of different consumer groups. The quality of rice grain can be divided into four types: quality in terms of appearance, milling, cooking/palatability and quality in terms of nutrition. In this study we identified genes linked to appearance and milling, these genes also had their expression analyzed in different tissues. It was found that although many genes have already been identified to be linked with grain appearance, genes related to milling are hardly found in literature. The genes that were more expressed in the caryopsis were selected and we conducted a search to find mutant plants for these genes in different databases. Moreover, we also analyzed the promoters of these genes, searching for transcription factors binding sites which may be important in coordinating their expression. This brings new information with potential use for further studies, contributing to a better understanding of these grain features that may help breeding programs aiming at increasing the quality.

Keywords: *Oryza sativa*. grain quality. appearance. milling.

Lista de Figuras

- Figura 1** - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com aparência de grãos em diferentes tecidos. 36
- Figura 2** - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com brunimento em diferentes tecidos. 37
- Figura 3** - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com aparência de grãos na cariopse. Genes selecionados para análises futuras com base em seu maior nível de expressão estão marcados com *. 39
- Figura 4** - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com qualidade de grão em termos de brunimento na cariopse. 40

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Tabela de genes relacionados com qualidade em termos de aparência.....	31
Tabela 2 - Tabela de genes relacionados com qualidade em termos de brunimento.	34
Tabela 3 - Fatores de transcrição possivelmente relacionados com a regulação deste grupo de genes.....	41
Tabela 4 - Sítios de Ligação para Fatores de Transcrição (SLFTs) identificados na análise conjunta destes promotores.....	42
Tabela 5 - Mutantes para estes genes identificados nas bases de dados <i>RTIM TOS 17</i> e <i>RMD T-DNA</i>	43

Lista de Abreviaturas

AACCI	- <i>American Association of Cereal Chemists International</i>
AOAC	- <i>Association of Analytical Communities International</i>
Conab	- Companhia Nacional de Abastecimento
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
FAO	- Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FTs	- Fatores de transcrição
ID	- Identificador
IRGSP	- <i>International Rice Genome Sequencing Project</i>
ISO	- Organização Internacional para Padronização
MSU	- <i>Michigan State University</i>
pH	- Potencial de hidrogênio
QTL	- <i>Quantitative Trait Loci</i>
RAP-DB	- <i>The Rice Annotation Project</i>
RiceGE	- <i>Rice Functional Genomic Express Database</i>
RMD T-DNA	- <i>Rice Mutant Database</i>
RTIM Tos17	- <i>Rice Tos17 Insertion Mutant Database</i>
SBP	- Squamosa-promoter Binding Proteins
SIGnAL	- <i>Salk Institute Genomic Analysis Laboratory</i>
SLFTs	- Sítios de Ligação para Fatores de Transcrição

Sumário

Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstract	vii
Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas.....	x
Sumário.....	xi
1 Introdução	18
2 Objetivos	20
Objetivos Específicos	20
3 Revisão Bibliográfica.....	21
3.1 O Arroz.....	21
3.2 Qualidade em Arroz	22
3.3 Biotecnologia no Melhoramento Vegetal.....	23
4 Material e Métodos.....	25
4.1 Identificação de Genes de Interesse.....	25
4.2 Análise Transcricional em Bancos Públicos.....	25
4.3 Análise de Promotores.....	26
4.4 Identificação de Mutantes Para Estes Genes	26
5 Resultados e Discussão.....	28
5.1 Genes Identificados na Literatura	28
5.1.1 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Aparência ..	28
5.1.2 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Brunimento	33
5.2 Análise Transcricional em Bancos Públicos.....	35
5.2.1 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Aparência ..	35
5.2.2 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Brunimento	37
5.2.3 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Aparência ..	38
5.2.4 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Brunimento	40
5.3 Análise de Promotores.....	40
5.4 Identificação de Mutantes Para Estes Genes	42
6 Conclusões	44
7 Referências Bibliográficas.....	45

1 Introdução

O arroz (*Oryza spp.*) é um é o alimento básico para grande parte da população mundial sendo a a *commodity* agrícola com a terceira maior produção, logo depois da cana de açúcar e do milho (FAO, 2012). O arroz asiático (*Oryza sativa* L.) é ainda uma espécie modelo para estudo da família Poaceae. Sua escolha para tal posição se deve especialmente ao seu genoma relativamente pequeno (~430 megabases), o que fez com que esta fosse a primeira espécie de importância comercial com genoma completamente sequenciado (IRGSP, 2005).

A demanda por qualidade no produto e na produção agrícola vem crescendo gradativamente ao longo do tempo, e para o arroz não é diferente. Entretanto, a qualidade é definida pela *International Standard Organization* (ISO 8402:1986) como sendo a totalidade de recursos e características de um produto ou serviço que define sua capacidade de satisfazer necessidades explícitas ou implícitas, depende muito do tipo de uso que se dará ao produto e do mercado consumidor. No Brasil, a preferência do consumidor está voltada para cultivares do tipo agulhinha, representadas principalmente por genótipos majoritariamente *indica* (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*), com aspecto translúcido, baixo índice de defeitos e de grãos quebrados e comportamento de cocção adequado (CASTRO et al., 1999).

A qualidade é determinada por diversos fatores, como escolha do genótipo (cultivar), condições de cultivo, procedimentos de colheita e pós-colheita (JULIANO, 1990; KIBANDA; LUZI-KIHUPI, 2007; CHEN et al., 2012). A existência de genótipos próprios para obtenção de um produto de alta qualidade depende dos atores envolvidos no melhoramento genético de plantas, setor altamente dependente de

diferentes áreas do conhecimento, entre eles destacamos a fisiologia e genômica funcional (MOOSE; MUMM, 2008; PÉREZ DE CASTRO, et al., 2012).

Diversos *loci* de características quantitativas (QTLs, do inglês *quantitative trait loci*) e genes relacionados com qualidade de grão em seus quatro principais aspectos (brunimento, aparência, cocção, além de também depender de características sensoriais e nutricionais), foram identificados (BAO, 2014), sendo que estudos mais aprofundados destas regiões podem levar ao melhor entendimento de como a qualidade de grão é definida em termos genéticos, conhecimento que constituirá importante ferramenta auxiliar no melhoramento genético de arroz.

Baseado no presente estado da arte este trabalho tem como objetivo identificar e fazer uma caracterização inicial da expressão de genes alvo para estudos relacionados com qualidade de grão.

2 Objetivos

Buscar informações sobre genes relacionados com qualidade de grão em arroz, identificando melhores candidatos para estudos moleculares com vistas a utilização no melhoramento genético vegetal.

Objetivos Específicos

- Identificar, dentro de estudos disponíveis até o momento, genes de importância para aparência e brunimento em arroz;
- Avaliar a expressão transcricional destes em diferentes condições e estádios de desenvolvimento;
- Identificação de mutantes para estes genes no *Salk Institute Genomic Analysis Laboratory (SIGnAL)*.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 O Arroz

O arroz, nome comum dado à diversas gramíneas (família *Poaceae*) pertencentes ao gênero *Oryza*, principalmente a espécie *Oryza sativa*, juntamente com o trigo e o milho uma das culturas mais intensamente utilizadas na alimentação humana. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) prevê a utilização de 502,6 milhões de toneladas de arroz em 2016/17, crescimento de aproximadamente 1,3 milhões de toneladas em relação ao ano anterior. Sendo o uso direto na alimentação humana estimado em 405 milhões de toneladas o maior responsável por esse aumento, com um consumo per capita de 54,6 kg ao ano (FAO, 2016).

Apesar de existirem relatos do consumo de algumas espécies selvagens do gênero *Oryza* por indígenas, segundo Pereira (2002) o arroz comum (*Oryza sativa* L.) foi introduzido no Brasil pela frota de Pedro Álvares Cabral. Relatos de cultivo só ocorrem apenas após 1530, na Capitania de São Vicente, sendo que a primeira lavoura empresarial surgiu em 1904 no município de Pelotas, atual estado do Rio Grande do Sul.

Semelhante à Ásia, onde o arroz constitui a base da alimentação da maioria da população, no Brasil o arroz também é um dos principais alimentos independentemente do grupo social. O arroz com feijão constitui o principal prato consumido no país, sendo muito valorizado devido à suas características nutricionais complementares, especialmente na relação dos aminoácidos

essenciais lisina e metionina. No Mercosul o Brasil é o maior mercado consumidor de arroz com aproximadamente 11,7 milhões de toneladas, sendo o estado do Rio Grande do Sul responsável por 2/3 de toda a produção brasileira (Conab, 2015).

3.2 Qualidade em Arroz

De acordo com BAO (2014), a qualidade de grãos em arroz é definida como sendo a totalidade de recursos e características que atende a demanda do consumidor final.

Devido ao fato do arroz ser consumido principalmente na forma de grãos inteiros, ao contrário de cereais como o trigo e milho que são processados, os aspectos relacionados à qualidade de grãos de uma cultivar são extremamente complexos e determinados pela interação da preferência e necessidade dos vários componentes da cadeia produtiva, tais como o pesquisador, o produtor, o industrial e o consumidor (CASTRO, 1999).

O conceito de qualidade de grãos em arroz abrange muitos recursos, com variações de propriedades físicas e bioquímicas, incluindo eficiência de brunimento, forma e aparência dos grãos, facilidade de cozinhar e características relacionadas à palatabilidade e aspectos nutricionais (BAO, 2014).

Quanto maior a oferta de arroz no mercado, maior é a exigência por arroz de qualidade superior. Apesar da relevância de se estabelecer indicadores de qualidade, esses critérios não se traduzem necessariamente na disposição de consumidores realmente pagarem um determinado valor (JULIANO, 1993).

A variedade do arroz é o principal fator que contribui para a qualidade de grãos, porém diversos fatores alheios à genética também podem exercer influência neste aspecto, tais como o manuseio pós-colheita, o teor de umidade, as condições de cultivo, entre outros (JULIANO, 1993).

Ao definir as características de qualidade avaliadas pelos consumidores, cria-se também uma busca por vantagens econômicas através de pesquisas de melhoramento genético que atendam determinados mercados, pois os indicadores de qualidade mudam conforme o país, uma vez que muitos destes estabelecem seus próprios protocolos para avaliar determinados aspectos de qualidade. Além disso existem ainda diferenças entre as diversas organizações padronizadoras tais como a *International Standard Organization* (ISO), a *Association of Analytical Communities International* (AOAC), ou a *American Association of Cereal Chemists International* (AACCI) (BAO; JULIANO, 1993, 2014).

De maneira geral é possível dividir a qualidade do grão de arroz em quatro tipos: qualidade relacionada à brunimento, qualidade com relação à aparência, qualidade relacionada ao cozimento e qualidade nutricional. Quando falamos em termos de aparência os principais parâmetros de mensuração são forma, tamanho, comprimento, largura, relação comprimento-largura e a presença de gessamento nos grãos. Enquanto isso para a qualidade em termos de brunimento são levados em consideração, por exemplo, fatores relacionados às taxas de recuperação de arroz integral ou polido (branco) após a brunimento (BAO, 2014).

3.3 Biotecnologia no Melhoramento Vegetal

Atualmente as duas principais contribuições da biotecnologia no melhoramento vegetal dizem respeito ao uso de marcadores moleculares para detecção de variação genotípica associada à variação fenotípica e a inserção ou edição de genes através de diferentes técnicas de DNA recombinante.

O entendimento e utilização de técnicas em biologia molecular ajudam a reduzir dificuldades e problemas do melhoramento vegetal, como no caso de alguns caracteres agrônômicos de herança quantitativa que apresentam dificuldades de seleção fenotípica tanto na escolha dos pais como na seleção em populações segregantes (BRAMMER, 2000).

Além disso, após anos de investimento em pesquisas biotecnológicas já é possível se encontrar diversas culturas geneticamente modificadas, as quais, se adequadamente utilizadas, fornecem benefícios tais como redução de uso de pesticidas, aumento de produtividade e até melhorias nutricionais (PAINE, 2005).

Para que entendamos a fisiologia vegetal adequadamente e para que seja possível a obtenção de novos transgênicos eficientes na geração de plantas com fenótipos úteis é necessária a caracterização de diferentes genes tanto quanto a sua função no metabolismo, como também o entendimento da forma de controle da sua expressão. Isso faz da revisão do material disponível até o momento, junto com o estudo da expressão destes genes algo bastante interessante do ponto de vista do melhoramento vegetal e é isto que pretendemos mostrar a partir de agora.

4 Material e Métodos

4.1 Identificação de Genes de Interesse

A identificação de genes de interesse foi feita com base na literatura atual presente no banco de dados do PubMed. Para a busca de genes relacionados com qualidade de grãos em termos de aparência se utilizaram os seguintes parâmetros: ("appearance quality"[All Fields] OR "grain size"[All Fields] OR "grain length"[All Fields] OR "grain width"[All Fields] OR "grain shape"[All Fields] OR "length-to-width"[All Fields] OR "chalkiness"[All Fields] OR "PGWC"[All Fields]) AND ("rice"[All Fields] OR "Oryza"[All Fields]) AND ("gene"[All Fields] OR "genes"[All Fields] OR "QTL"[All Fields] OR "QTLs"[All Fields] OR "locus"[All Fields]).

Já para a busca de genes relacionados com qualidade de grãos em termos de aparência se utilizaram os seguintes parâmetros: ("milling quality"[All Fields] OR "milled rice"[All Fields] OR "head rice"[All Fields] OR "brown rice"[All Fields]) AND ("rice"[All Fields] OR "Oryza"[All Fields]) AND ("gene"[All Fields] OR "genes"[All Fields] OR "QTL"[All Fields] OR "QTLs"[All Fields] OR "locus"[All Fields]).

4.2 Análise Transcricional em Bancos Públicos

Na obtenção de dados de expressão no Genevestigator (HRUZ et al., 2008) foram utilizados, para cada gene encontrado na literatura, os números de identificação da base de dados da *Michigan State University* (MSU). Toda a base de dados disponível no Genevestigator foi selecionada para obtenção dos dados de

expressão nos diferentes órgãos. O potencial de expressão aqui utilizado é definido a partir da média do 1% de valores de sinal mais altos considerando todas as amostras para um determinado conjunto de sondas.

4.3 Análise de Promotores

Para determinar a co-ocorrência de FTs e seus locais de ligação dentro dos promotores dos genes mais expressos relacionados com aparência, bem como para a construção de redes de regulação de FTs, se utilizou o PlantPAN 2.0 (<http://plantpan2.itps.ncku.edu.tw/>). Nesta análise selecionou-se o arroz como espécie a ser analisada na ferramenta *Gene Group Analysis*, sendo que para os demais parâmetros se mantiveram as condições padrão do programa. Logo se introduziram os genes de aparência mais expressos na cariopse (IDs do *The Rice Annotation Project - RAP-DB*): “Os04t0645100-01; Os04t0106300-01; Os08t0520900-00; Os02t0244100-01; Os09t0553200-01; Os07t0616000-01; Os02t0234200-01; Os05t0156900-01; Os05t0405000-01”.

4.4 Identificação de Mutantes Para Estes Genes

Através da ferramenta online *ID Converter* (disponível em <http://rapdb.dna.affrc.go.jp/tools/converter>) os *loci* com IDs (identificadores) do *MSU* previamente selecionados foram convertidos para IDs do *RAP-DB* e foram encontradas as posições destes no genoma. Em seguida, a partir destas posições, realizou-se uma busca de mutantes no *RiceGE (Rice Functional Genomic Express*

Database, disponível em <http://signal.salk.edu/cqi-bin/RiceGE>), selecionando-se apenas os clones dos bancos de dados *RTIM Tos17* e *RMD T-DNA*.

O *RTIM Tos17* (*Rice Tos17 Insertion Mutant Database*) é um banco de dados de plantas de arroz mutantes obtidas pela ativação do retrotransposon *Tos17*. Este funciona como um promotor de mutações o qual apresenta a vantagem de deixar uma marca que possibilita a identificação do local da inserção, a qual pode ocasionalmente interromper um gene o qual pode ter sua função estudada (MIYAO, 2003).

O *RMD T-DNA* (*Rice Mutant Database*) é um banco de dados chinês de arroz mutante que utiliza a estratégia “*enhancer trap*” em conjunto com a técnica de transformação genética de calos mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. O sistema “*enhancer trap*” funciona através da integração aleatória no genoma de um cassete de DNA que contém um gene de fusão promotor-repórter incompleto. Dessa maneira o gene repórter não é expresso por causa desse promotor truncado, mas quando é integrado perto de um potencial gene de interesse ele pode ser expresso devido à sequência reguladora do gene alvo. O “*enhancer trap*” carrega um gene que codifica uma proteína de ativação transcricional GAL4/VP16, que quando ativada ativa a transcrição de qualquer gene adjacente às regiões UAS (sequência alvo específica de DNA, que pode ser reconhecida e ativada pela VP16). Dessa forma esse sistema é útil não somente para identificar novos genes, como também identificar elementos reguladores (WU, 2003).

5 Resultados e Discussão

5.1 Genes Identificados na Literatura

Muitos QTLs foram identificados para as características relacionadas a qualidade de grãos de arroz. Observa-se, no entanto, que a quantidade de genes identificados como tendo relação com alterações de aparência é muito superior ao número de genes associados à qualidade em termos de brunimento, sugerindo que as complexas características quantitativas relacionadas à qualidade de brunimento em grãos de arroz são mais difíceis de serem determinadas.

5.1.1 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Aparência

A partir dos 186 artigos retornados da pesquisa no Pubmed para qualidade em termos de aparência foram encontrados 56 estudos que relatam sequências identificadas como capazes de modificar em intensidade variável a qualidade de grãos. Apesar da redundância pelo fato de alguns genes terem sido estudados por mais de um pesquisador de maneira independente, como pode ser visto na Tabela 1, é possível observar a inclusão de muitos genes além dos oito revisados por BAO (2014, p. 247).

Foram relatados seis genes relacionados com gessamento, sendo que a maioria está, de alguma, relacionada forma com a síntese ou transporte de carboidratos. Além disso observou-se que a temperatura durante o desenvolvimento da semente é um importante fator para ocorrência desta anomalia.

O aumento na expressão de *chalk5*, estudado por LI et al. (2014), teve como consequência um significativo aumento no gessamento do endosperma, e parece ser explicado pelo fato desse gene codificar uma putativa H⁺-Pirofosfatase vacuolar que parece alterar a homeostase em relação ao pH.

Por outro lado, a supressão da isoamilase *ISA1* mediada por RNA de interferência aumentou o gessamento de grãos em até 20% se comparado ao controle (SUN et al., 2015). De acordo com WANG et al. (2015d), outro gene que também teve a redução da expressão associada ao aumento no gessamento de grãos é o *cyPPDK*, demonstrando que esse PIRUVATO ORTOFOSFATO DIQUINASE parece sofrer uma enorme redução da sua atividade em elevadas temperaturas. Além desses, WOO et al. (2008) ao estudar mutantes macho estéreis demonstrou que uma única substituição na sequência da *UDP glucose pirofosforilase 1 (UGPase1)* foi capaz de gerar esterilidade masculina e o desenvolvimento de grãos gessados.

A ativação das α -amilases *Amy1A* e *Amy3E* foram relacionadas à grãos gessados, porém ao contrário do PPDK que apresenta redução de atividade, nesse caso a presença de temperaturas elevadas durante o desenvolvimento dos grãos ativam essas α -amilases, que começam a degradar o amido das sementes e conseqüentemente promovem o gessamento dos grãos.

Para forma, tamanho, comprimento, largura e relação comprimento-largura foram encontrados 50 estudos no Pubmed, porém o número de genes é inferior a esse número uma vez que alguns autores identificam um mesmo gene em estudos independentes como é o caso do *Os03g0407400* sendo relacionado ao comprimento de grão por FAN et al. (2006) e TAKANO-KAI et al. (2009), o

Os03g0646900 sendo relacionado ao comprimento ou à forma de grão por HU et al. (2012), QI et al. (2012) e ZHANG et al. (2012), o *Os02g0701300* sendo relacionado ao tamanho, comprimento, largura e forma de grão por HU et al. (2015), LI et al. (2016b) e SUN et al. (2016), o *Os07g0603300* sendo relacionado à forma, tamanho e comprimento de grão por QIU et al. (2012), WANG et al. (2015b), WANG et al. (2015c) e ZHOU et al. (2015) e o *Os05g0187500* sendo relacionado à largura por WENG et al. (2008) e SHOMURA et al. (2008). Mas ainda assim, como pode ser observado na Tabela 1, muitos genes com efeitos variáveis foram identificados para essas características, principalmente para comprimento de grão. Porém provavelmente muitos genes ainda não foram descobertos, sendo necessário, portanto, mais estudos, seja para identificar novos genes ou mesmo para elucidar a interação dos diversos fatores que em conjunto são capazes de alterar um determinado aspecto de qualidade.

Tabela 1 - Tabela de genes relacionados com qualidade em termos de aparência.

Nome comum	Cr.	GenBank	#MSU	#RAP-DB	Característica	Referência
<i>OsFBK12</i>	3	AC144491	LOC_Os03g07530	Os03g0171600	tamanho de grão	Chen et al. 2013
<i>FUWA</i>	2		LOC_Os02g13950	Os02g0234200	forma de grão	Chen et al. 2015
<i>FRRP1</i>	10		LOC_Os10g41590	Os10g0565600	comprimento de grão	Du et al. 2016
<i>OsMKK4/SMG1</i>	2		LOC_Os02g54600	Os02g0787300	tamanho de grão	Duan et al. 2014
<i>GS3</i>	3	DQ355996	Nenhum	Os03g0407400	comprimento de grão	Fan et al. 2006
<i>TIFY11b</i>	3	AK067971	LOC_Os03g08330	Os03g0181100	tamanho de grão	Hakata et al. 2012
<i>PGL2</i>	2		LOC_Os02g51320	Os02g0747900	comprimento de grão	Heang e Sassa 2012
<i>qGL3-1</i>	3		LOC_Os03g44500	Os03g0646900	forma de grão	Hu et al. 2012
<i>GS2</i>	2		LOC_Os02g47280	Os02g0701300	tamanho de grão	hu et al. 2015
<i>TGW6</i>	6	AB513135	LOC_Os06g41850	Os06g0623700	comprimento de grão	Ishimaru et al. 2013
<i>Rdd1</i>	1	AP001383	LOC_Os01g15900	Os01g0264000	tamanho de grão	Iwamoto et al. 2009
<i>GS5</i>	5	AK106800	LOC_Os05g06660	Os05g0158500	largura de grão	Li et al. 2011
<i>Chalk5</i>	5	KJ363317	LOC_Os05g06480	Os05g0156900	gessamento de grão	Li et al. 2014
<i>OsAGSW1</i>	5		LOC_Os05g25840	Os05g0323800	tamanho de grão	Li et al. 2015
<i>GLW2</i>	2		LOC_Os02g47280	Os02g0701300	comprimento e largura de grão	Li et al. 2016b
<i>Bg1-D</i>	3		LOC_Os03g07920	Os03g0175800	tamanho de grão	Liu et al. 2015b
<i>DSG1/OsMAPK6</i>	6	NP_001056846.1	LOC_Os06g06090	Os06g0154500	tamanho de grão	Liu et al. 2015c
<i>An-1</i>	4		LOC_Os04g28280	Os04g0350700	comprimento de grão	Luo et al. 2013
<i>MHZ7/OsEIN2</i>	7		LOC_Os07g06130	Os07g0155600	comprimento de grão	Ma et al. 2013
<i>OsARG</i>	4		LOC_Os04g01590	Os04g0106300	tamanho de grão	Ma et al. 2013b
<i>GL3.1</i>	3		LOC_Os03g44500	Os03g0646900	comprimento de grão	Qi et al. 2012
<i>DEP3</i>	6		LOC_Os06g46350	Os06g0677000	forma de grão	Qiao et al. 2011
<i>qSS7</i>	7		LOC_Os07g41200	Os07g0603300	forma de grão	Qiu et al. 2012
			ou	ou		
			LOC_Os07g41210	Os07g0603400		
<i>spd6</i>	6		LOC_Os06g04820	Os06g0140100	tamanho de grão	Shan et al. 2009
<i>FLO2</i>	4		LOC_Os04g55230	Os04g0645100	tamanho de grão	She et al. 2010
<i>qSW5</i>	5	AB433345	LOC_Os05g09520	Os05g0187500	largura de grão	Shomura et al. 2008
<i>GLW7/OsSPL13</i>	7	KT899581	LOC_Os07g32170	nenhum	comprimento de grão	Si et al. 2016
<i>GW2</i>	2	EF447275	LOC_Os02g14720	Os02g0244100	largura de grão	Song et al. 2007
<i>GW6/ OsgIHAT1</i>	6		LOC_Os06g44100	Os06g0650300	tamanho de grão	Song et al. 2014
<i>GS6</i>	6		LOC_Os06g03710	Os06g0127800	largura de grão	Sun et al. 2013
<i>ISA1</i>	8		LOC_Os08g40930	Os08g0520900	gessamento de grão	Sun et al. 2015

<i>PT2/OsGRF4</i>	2		LOC_Os02g47280	Os02g0701300	forma de grão	Sun et al. 2016
<i>gw3.1/GS3</i>	3	AB488612	Nenhum	Os03g0407400	comprimento de grão	Takano-Kai et al. 2009
<i>DSS1/CYP96B4</i>	3		LOC_Os03g04680	Os03g0140400	tamanho de grão	Tamiru et al. 2015
				ou		
				Os03g0140300		
<i>BU1</i>	6	NM_001063738	LOC_Os06g12210	Os06g0226500	tamanho de grão	Tanaka et al. 2009
<i>GW8/OsSPL16</i>	8		LOC_Os08g41940	Os08g0531600	largura de grão	Wang et al. 2012
<i>miRNA osa-MIR2923a</i> (putative)					comprimento de grão e relação comprimento- largura.	Wang et al. 2013
<i>GW7</i>	7		LOC_Os07g41200	Os07g0603300	tamanho e forma de grão	Wang et al. 2015b
<i>GL7</i>	7	KP899557	LOC_Os07g41200	Os07g0603300	comprimento de grão	Wang et al. 2015c
<i>cyPPDK</i>	5	D87952	LOC_Os05g33570	Os05g0405000	gessamento de grão	Wang et al. 2015d
<i>GW5</i>	5	DQ991205	LOC_Os05g09520	Os05g0187500	largura de grão	Weng et al. 2008
<i>UGPase1</i>	9		LOC_Os09g38030	Os09g0553200	gessamento de grão	Woo et al. 2008
<i>SGL</i>	5		LOC_Os05g06280	Os05g0154700	comprimento de grão	Wu et al. 2014
<i>OsFWL3</i>	2	AK111738	LOC_Os02g36950	Os02g0580000	comprimento de grão	Xu et al. 2013
<i>CYP78A13/BG2</i>	7		LOC_Os07g41240	Os07g0603700	tamanho de grão	Xu et al. 2015
<i>BSG1</i>	2		LOC_Os02g56610	Os02g0811000	largura de grão	Yan et al. 2013
<i>qGL3/OsPPKL1</i>	3		LOC_Os03g44500	Os03g0646900	comprimento de grão	Zhang et al. 2012
<i>RAV6</i>	2		LOC_Os02g45850	Os02g0683500	tamanho de grão	Zhang et al. 2015b
<i>miRNA OsmiR397</i>		SRP026496			tamanho de grão	Zhang et al. 2013
<i>qPE9-1</i>	9		LOC_Os09g26999	Os09g0441900	comprimento de grão	Zhou et al. 2009
<i>SLG7</i>	7		LOC_Os07g41200	Os07g0603300	forma de grão	Zhou et al. 2015
<i>EP2</i>	7		LOC_Os07g42410	Os07g0616000	tamanho de grão	Zhu et al. 2010
<i>OsCEP6.1</i>	8		LOC_Os08g37070	Os08g0475500	tamanho de grão	Sui et al. 2016
<i>PGL1</i>	3		LOC_Os03g07510	Os03g0171300	comprimento de grão	Heang e Sassa 2012b
<i>α-amylase (Amy1A)</i>	2	AK101744	LOC_Os02g52710	Os02g0765600	gessamento de grão	Hakata et al. 2012
<i>α-amylase (Amy3E)</i>	8	AK064300	LOC_Os08g36900	Os08g0473600	gessamento de grão	Hakata et al. 2012b

5.1.2 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Brunimento

Apesar da existência de inúmeros QTLs descritos na literatura para a qualidade em termos de brunimento, até o momento não existe nenhum gene principal identificado para esta característica em arroz.

Como resultado da busca no banco de artigos Pubmed foi encontrado apenas um trabalho, no qual o autor identifica dois genes candidatos para a qualidade taxa de arroz integral (como pode ser observado na Tabela 2) após um mapeamento fino e delimitação de uma região de 39,5 kb de tamanho no cromossomo 10, oriunda da identificação de um QTL principal para a taxa de arroz integral em uma população de duplo haploides derivada do cruzamento entre a Taichung Native 1, uma variedade indica, e Chunjiang 06, uma variedade japônica (REN et al., 2016).

Indicando, portanto, a dificuldade de se determinar os fatores envolvidos em uma característica quantitativa tão complexas, e ao mesmo tempo salientando a necessidade de mais estudos para essa qualidade.

Tabela 2 - Tabela de genes relacionados com qualidade em termos de brunimento.

Nome Comum	Cr.	GenBank	#MSU	#RAP-DB	Característica	Referência
qBRR-10	10		LOC_Os10g32124 ou LOC_Os10g32190	Os10g0459800	taxa de arroz integral	Ren et al. 2016

5.2 Análise Transcricional em Bancos Públicos

5.2.1 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Aparência

A análise dos genes expressos em diferentes órgãos encontrados na literatura pode ser visualizada através do mapa de calor ilustrado na Figura 1. Este gráfico reúne informações de expressão gênica de cada um dos genes para os tecidos do rizoma, da parte aérea, da inflorescência e da plântula. Além disso nele se encontra também informações sobre expressão *in vitro* de cultura de células e de calos.

No gráfico que ilustra a expressão dos genes para a qualidade de grão em termos de aparência (Figura 1) se observa que alguns genes são altamente expressos *in vitro* se comparado com a expressão em tecidos *in vivo*, como é o caso do *OsARG* e as α -amilases *Amy3E* e *Amy1A* que são altamente expressas em calos, ou os *DSS1/CYP96B4* e *PGL1* em cultura de células.

De maneira geral também é possível observar que a inflorescência é o tecido que apresenta o potencial percentual de expressão mais homogêneo, com a grande maioria dos genes sendo medianamente expressos, enquanto que nos demais tecidos não existe um padrão de expressão bem definido, apresentando um mapa de calor mais irregular.

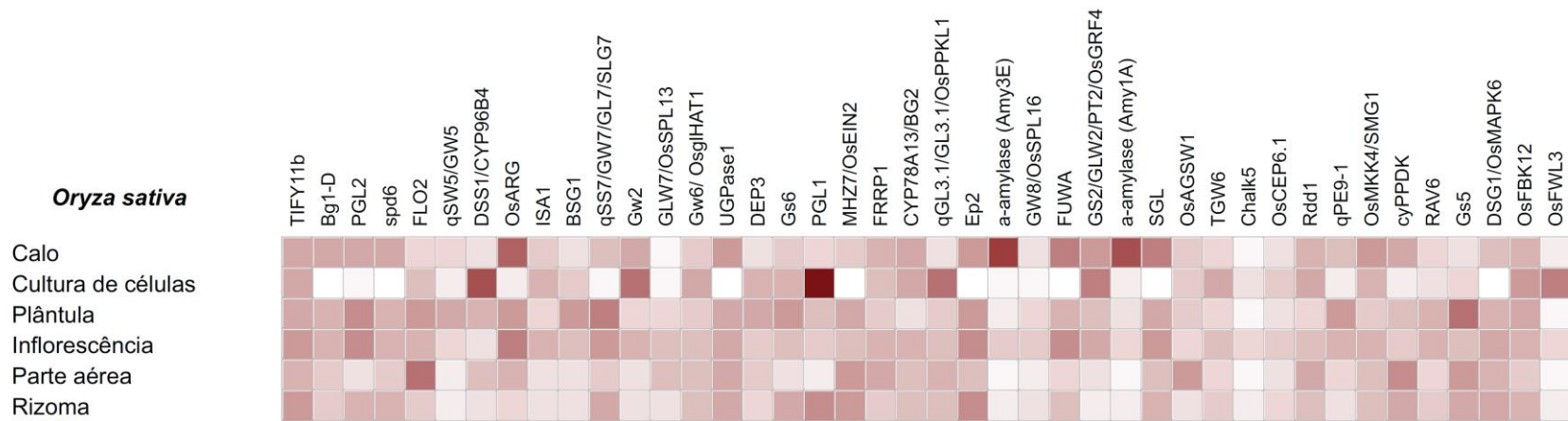
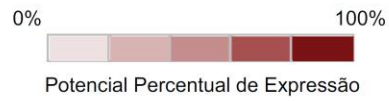


Figura 1 - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com aparência de grãos em diferentes tecidos.

5.2.2 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Brunimento

Nos tecidos *in vivo* observou-se que ambos os candidatos prováveis para o QTL associado à taxa de recuperação de arroz integral manteve-se de maneira homogênea, sendo que o locus *LOC_Os10g32124* foi mais expresso nos tecidos de inflorescência que o *LOC_Os10g32190*, o que indica que este deve ter influência maior sobre a característica em questão.

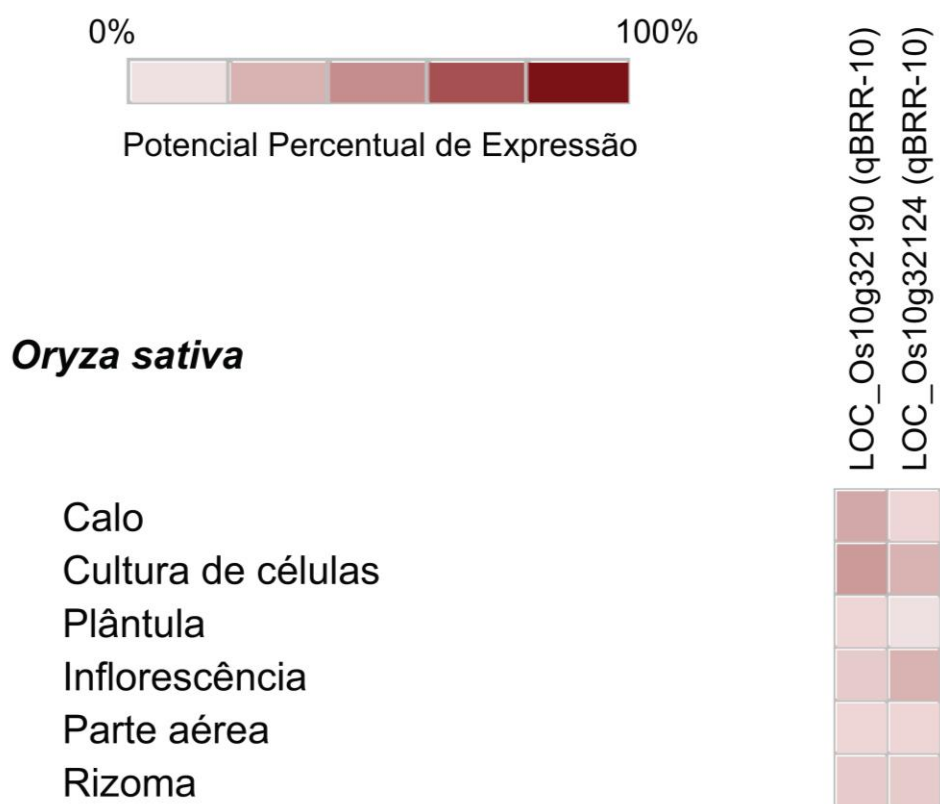


Figura 2 - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com brunimento em diferentes tecidos.

5.2.3 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Aparência

O percentual de expressão potencial dos genes relacionados com aparência na cariopse está ilustrado na Figura 3. Os mais expressos estão destacados, sendo eles: *FLO2* (*LOC_Os04g55230*); *OsARG* (*LOC_Os04g01590*); *ISA1* (*LOC_Os08g40930*); *GW2* (*LOC_Os02g14720*); *UGPase1* (*LOC_Os09g38030*); *EP2* (*LOC_Os07g42410*); *FUWA* (*LOC_Os02g13950*); *Chalk5* (*LOC_Os05g06480*) e o *cyPPDK* (*LOC_Os05g33570*).

Considerando-se que estes genes devem ser foco para estudos futuros foi feita ainda uma análise de mutantes disponíveis em bancos de dados. Tal análise, útil na indicação de plantas para elucidação das alterações ocorridas na ausência de alelos funcionais destes genes, pode ser vista na Tabela 5.

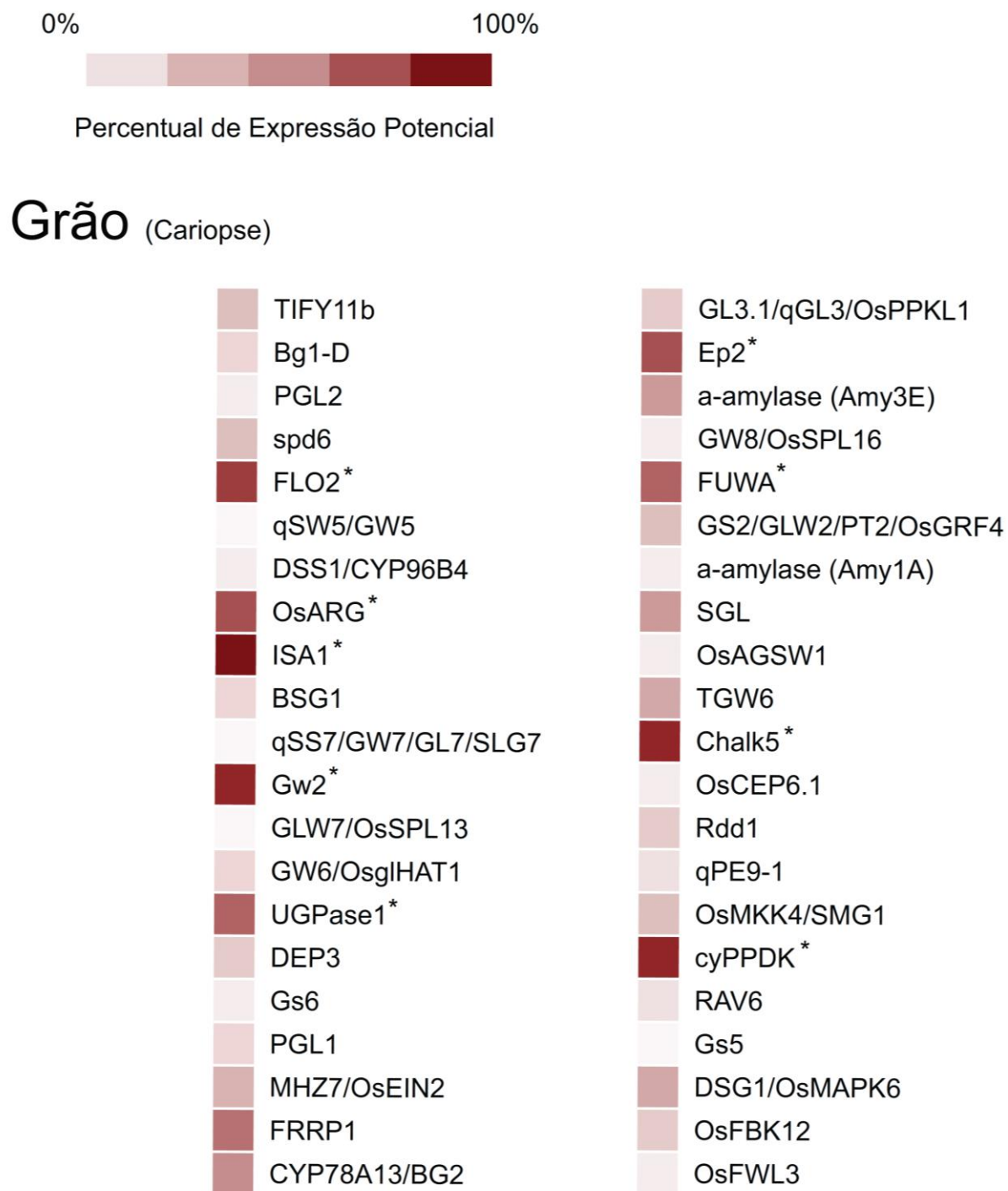


Figura 3 - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com aparência de grãos na cariopse. Genes selecionados para análises futuras com base em seu maior nível de expressão estão marcados com *.

5.2.4 Genes Relacionados com Qualidade em Termos de Brunimento

Nenhum dos genes candidatos para taxa de recuperação de arroz integral demonstrou ser altamente expresso na cariopse, sendo que o *LOC_Os10g32190* se apresentou pouco expresso e o *LOC_Os10g32124* ligeiramente superior ao anterior (medianamente expresso).



Grão (Cariopse)



Figura 4 - Gráfico *heat-map* da expressão transcricional de genes relacionados com qualidade de grão em termos de brunimento na cariopse.

5.3 Análise de Promotores

Os genes relacionados com qualidade em termos de aparência, os quais foram mais expressos no grão, tiveram suas regiões promotoras analisadas demonstrando que a família de fatores de transcrição com sítios de ligação mais comumente encontrados foi a de Squamosa-promoter Binding Proteins (SBP), com 17 membros, seguido pela TCP e AT-Hook, com seis e cinco membros respectivamente. Essas informações podem ser observadas na Tabela 3, enquanto que os Sítios de Ligação para Fatores de Transcrição (SLFTs) identificados na análise conjunta destes promotores pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 3 - Fatores de transcrição possivelmente relacionados com a regulação deste grupo de genes.

Locus	Família	Nome
Os04g0551500	SBP	SPL7
Os08g0513700	SBP	SPL15
Os04g0676600	B3	
Os08g0509600	SBP	SPL14
Os01g0835600	AT-Hook	
Os12g0616400	TCP	PCF8
Os06g0326000	AT-Hook	
Os07g0184800	AT-Hook	
Os08g0512400	AT-Hook	
Os09g0491708	AT-Hook	
Os04g0194600	TCP	PCF1
Os09g0456200	bZIP	
Os02g0725900	NF-YB	NFYB1
Os03g0727000	Homeodomain; TALE	
Os06g0703500	SBP	SPL12
Os06g0663500	SBP	SPL11
Os06g0659100	SBP	SPL10
Os01g0834400	NF-YB	NFYB2
Os05g0408200	SBP	SPL9
Os01g0292900	SBP	SPL1
Os01g0213800	TCP	PCF5
Os01g0922600	SBP	
Os02g0139400	SBP	SPL3
Os02g0174100	SBP	SPL4
Os02g0177300	SBP	SPL5
Os03g0833300	SBP	SPL6
Os05g0463800	NF-YB	NFYB3
Os08g0531600	SBP	SPL16
M24287	α -amilase	
M24286	α -amilase	
Os05g0489700	bZIP	
L345501	(outras)	
Os02g0766700	bZIP	
Os11g0175700	TCP	PCF3
Os03g0785800	TCP	PCF6
Os06g0211200	bZIP	
Os08g0544800	TCP	PCF2
Os08g0101000	B3	IDEF1
Os11g0496600	SBP	SPL19
Os05g0573500	NF-YB	NFYB4
Os09g0507100	SBP	SPL18
Os09g0491532	SBP	

Tabela 4 - Sítios de Ligação para Fatores de Transcrição (SLFTs) identificados na análise conjunta destes promotores.

SLFTs
ANAERO1CONSENSUS
BIHD1OS
AACACOREOSGLUB1
CGACGOSAMY3
E2FCONSENSUS
GARE2OSREP1
GT1CONSENSUS
SITEIOSPCNA
TATABOXOSPAL

5.4 Identificação de Mutantes Para Estes Genes

Os nove genes mais expressos na cariopse para qualidade em termos de aparência foram selecionados e após se realizar uma busca no banco de dados de mutantes *RiceGE*, filtrando apenas os mutantes *RTIM TOS17* e *RMD T-DNA*, foram encontrados mutantes em ambos os bancos apenas para seis destes (Tabela 5), sendo que apenas para o *LOC_Os05g33570* se encontrou mutantes na base *RTIM TOS17*.

Tabela 5 - Mutantes para estes genes identificados nas bases de dados *RTIM TOS 17* e *RMD T-DNA*.

<i>Loci</i>	Posição no genoma	Mutantes	
		<i>RTIM TOS17</i>	<i>RMD T-DNA</i>
LOC_Os04g55230	chr04:32835280..32848285 (+ fita)	NA	RMD_04Z110O78; RMD_TTL- 04Z110O78_NTLB5
LOC_Os04g01590	chr04:396563..400802 (+ fita)	NA	RMD_ATL- 05NPBNS31_LBT2
LOC_Os08g40930	chr08:25893657..25900342 (- fita)	NA	NA
LOC_Os02g14720	chr02:8115223..8121651 (+ fita)	NA	RMD_02Z15AI03; RMD_TTL- 02Z15AI03_NTLB5
LOC_Os09g38030	chr09:21917324..21922399 (+ fita)	NA	NA
LOC_Os07g42410	chr07:25381698..25389532 (+ fita)	NA	RMD_03Z11EN30; RMD_TTL- 03Z11EN30_NTLB5; RMD_TTL- 03Z11EQ74_NTLB5-2; RMD_TTL- 03Z11EQ74_NTLB5-2; RMD_TTL- 03Z11EQ74_NTLB5-1; RMD_TTL- 03Z11EQ74_NTLB5-1; RMD_03Z11EQ74; RMD_03Z11EQ74-2
LOC_Os02g13950	chr02:7594952..7599868 (+ fita)	NA	NA
LOC_Os05g06480	chr05:3335380..3339817 (- fita)	NA	RMD_05NPBLC12; RMD_ATosR- 05NPBLC12_TosRS
LOC_Os05g33570	chr05:19718538..19737605 (- fita)	FL067649; T17457T; T25104T; NE8550_0_703_1A; NE8503_0_701_1A; NE1546_0_702_1A; NE1543_0_703_1A; NE1522_0_702_1A; NE1522_0_505_1A; NE1520_0_502_1A;	RMD_04Z11ED28; RMD_03Z11UI07-3; RMD_03Z11UI07-2; RMD_TTL- 03Z11UL24_NTLB5-2; RMD_TTL- 03Z11UZ06_NTLB5-3; RMD_TTL- 03Z11UZ06_NTLB5-1; RMD_TTL- 03Z11UL24_NTLB5-4; RMD_TTL- 03Z11UL24_NTLB5-3; RMD_03Z11UZ06; RMD_03Z11UZ06-3; RMD_ATosR- 04Z11RQ58_TosRS; RMD_ATosR- 04Z11FV48_TosRS; RMD_04Z11FV48-2;

6 Conclusões

Com base nos resultados obtidos foi possível concluir que os genes de maior potencial para uso no melhoramento genético para qualidade de grão são: *FLO2* (LOC_Os04g55230); *OsARG* (LOC_Os04g01590); *ISA1* (LOC_Os08g40930); *GW2* (LOC_Os02g14720); *UGPase1* (LOC_Os09g38030); *EP2* (LOC_Os07g42410); *FUWA* (LOC_Os02g13950); *Chalk5* (LOC_Os05g06480); *cyPPDK* (LOC_Os05g33570).

Mutantes destes genes foram encontrados para os genes *FLO2*, *OsARG*, *GW2*, *EP2*, *Chalk5*, e *cyPPDK*, sendo estes os principais genes a serem analisados com mais cuidado.

A família de FTs mais comumente encontrada regulando genes de importância na expressão de genes relacionado com qualidade de grão para aparência no grão é a de SBPs.

7 Referências Bibliográficas

BAO, J. Genes and QTLs for rice grain quality improvement. **InTech–Open Science Open Mind**, p. 239-278, 2014.

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.; WITTEWER C.T. The miq guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 611-622, 2009.

CASTRO, E. M.; VIEIRA, N. R. A.; RABELO, R. R.; SILVA, S. A. Qualidade de grãos em arroz. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, **Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica**, 34, 1999.

CHANG, W.C.; LEE, T.Y.; HUANG, H.D.; HUANG, H.Y.; PAN, R.L. PlantPAN: Plant promoter analysis navigator, for identifying combinatorial cis-regulatory elements with distance constraint in plant gene groups. **BMC genomics**, 9, 561, 2008.

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

CHEN, J.; GAO, H.; ZHENG, X.M.; JIN, M.; WENG, J.F.; MA, J.; REN, Y.; ZHOU, K.; WANG, Q.; WANG, J.; WANG, J.L.; ZHANG, X.; CHENG, Z.; WU, C.; WANG, H.; WAN, J.M. An evolutionarily conserved gene, *FUWA*, plays a role in determining panicle architecture, grain shape and grain weight in rice. **Plant Journal**, v. 83, n. 3, p. 427-38, 2015.

CHEN, Y.; XU, Y.; LUO, W.; LI, W.; CHEN, N.; ZHANG, D.; CHONG, K. The F-box protein *OsFBK12* targets *OsSAMS1* for degradation and affects pleiotropic

phenotypes, including leaf senescence, in rice. **Plant Physiology**, v. 163, n. 4, p. 1673-85, 2013.

CHEN, Y.; WANG, M.; OUWERKERK, P.B.F. Molecular and environmental factors determining grain quality in rice. **Food And Energy Security**, v. 1, n. 2, p. 111-132, 2012.

CHOW, C.; ZHENG, H.; WU N.; CHIEN, C.; HUANG H.; LEE, T.; CHIANG-HSIEH, Y.; HOU, P.; YANG, T.; CHANG, W. PlantPAN 2.0: an update of plant promoter analysis navigator for reconstructing transcriptional regulatory networks in plants. **Nucleic Acids Research**, 2015.

DU, Y.; HE, W.; DENG, C.; CHEN, X.; GOU, L.; ZHU, F.; GUO, W.; ZHANG, J.; WANG, T. Flowering-Related RING Protein 1 (FRRP1) Regulates Flowering Time and Yield Potential by Affecting Histone H2B Monoubiquitination in Rice (*Oryza Sativa*). **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0150458, 2016.

DUAN, P.; RAO, Y.; ZENG, D.; YANG, Y.; XU, R.; ZHANG, B.; DONG, G.; QIAN, Q.; LI, Y. *SMALL GRAIN 1*, which encodes a mitogen-activated protein kinase kinase 4, influences grain size in rice. **Plant Journal**, v. 77, n. 4, p. 547-57, 2014.

FAN, C.; XING, Y.; MAO, H.; LU, T.; HAN, B.; XU, C.; LI, X.; ZHANG, Q. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, n. 6, p. 1164-71, 2006.

Final 2012 data and preliminary 2013 data for 5 major commodity aggregates. **FAO**. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>> Acesso em: 16 de setembro de 2015.

HAKATA, M.; KURODA, M.; MIYASHITA, T.; YAMAGUCHI, T.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; MITSUI, T.; YAMAKAWA, H. Suppression of *alpha-amylase* genes improves quality of rice grain ripened under high temperature. **Plant Biotechnology Journal**, v. 10, n. 9, p. 1110-7, 2012.

HAKATA, M.; KURODA, M.; OHSUMI, A.; HIROSE, T.; NAKAMURA, H.; MURAMATSU, M.; ICHIKAWA, H.; YAMAKAWA, H. Overexpression of a rice *TIFY* gene increases grain size through enhanced accumulation of carbohydrates in the stem. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 76, n. 11, p. 2129-34, 2012.

HEANG, D.; SASSA, H. Antagonistic actions of HLH/bHLH proteins are involved in grain length and weight in rice. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31325, 2012a.

HEANG, D.; SASSA, H. An atypical bHLH protein encoded by *POSITIVE REGULATOR OF GRAIN LENGTH 2* is involved in controlling grain length and weight of rice through interaction with a typical bHLH protein APG. **Breeding Science**, v. 62, n. 2, p. 133-41, 2012b.

HRUZ, T.; LAULE, O.; SZABO, G.; WESSENDORP, F.; BLEULER, S.; OERTLE, L.; WIDMAYER, P.; GRUISSEM, W.; P, ZIMMERMANN. GENEVESTIGATOR V3: a reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes. **Advances in bioinformatics**, v. 2008, 2008.

HU, J.; WANG, Y.; FANG, Y.; ZENG, L.; XU, J.; YU, H.; SHI, Z.; PAN, J.; ZHANG, D.; KANG, S.; ZHU, L.; DONG, G.; GUO, L.; ZENG, D.; ZHANG, G.; XIE, L.; XIONG, G.; LI, J.; QIAN, Q. A Rare Allele of *GS2* Enhances Grain Size and Grain Yield in Rice. **Molecular Plant**, v. 8, n. 10, p. 1455-65, 2015.

HU, Z.; HE, H.; ZHANG, S.; SUN, F.; XIN, X.; WANG, W.; QIAN, X.; YANG, J.; LUO, X. A Kelch motif-containing serine/threonine protein phosphatase determines the large grain QTL trait in rice. **Journal Of Integrative Plant Biology**, v. 54, n. 12, p. 979-90, 2012.

ISHIMARU, K.; HIROTSU, N.; MADOKA, Y.; MURAKAMI, N.; HARA, N.; ONODERA, H.; KASHIWAGI, T.; UJIIE, K.; SHIMIZU, B.; ONISHI, A.; MIYAGAWA, H.; KATOH, E. Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield. **Nature Genetics**, v. 45, n. 6, p. 707-11, 2013.

IRGSP. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**, v. 436, n. 7052, p. 793-800, 2005.

IWAMOTO, M.; HIGO, K.; TAKANO, M. Circadian clock- and phytochrome-regulated *Dof-like* gene, *Rdd1*, is associated with grain size in rice. **Plant Cell And Environment**, v. 32, n. 5, p. 592-603, 2009.

JULIANO, B. O. Rice grain quality: problems and challenges. **Cereal Foods World**, v. 35, n. 2, p. 245-253, 1990.

JULIANO, B. O. Rice in human nutrition. Rome. **FAO**, 1993. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/t0567e/T0567E00.htm#Contents>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

KIBANDA, J. N.; LUZI-KIHUPI, A. Influence of genetic and genotype x environment interaction on quality of rice grain. **African Crop Science Journal**, v. 15, n. 4, 2010.

LI, F. P.; YOON, M. Y.; LI, G.; RA, W. H.; PARK, J. W.; KWON, S. J.; AHN, I.; PARK, Y. J. Transcriptome analysis of grain-filling caryopses reveals the potential formation mechanism of the rice sugary mutant. **Gene**, v. 546, n. 2, p. 318-326, 2014.

LI, S.; GAO, F.; XIE, K.; ZENG, X.; CAO, Y.; ZENG, J.; HE, Z.; REN, Y.; LI, W.; DENG, Q.; WANG, S.; ZHENG, A.; ZHU, J.; LIU, H.; WANG, L.; LI, P. The *OsmiR396c-OsGRF4-OsGIF1* regulatory module determines grain size and yield in Rice. **Plant Biotechnology Journal**, 2016.

LI, T.; JIANG, J.; ZHANG, S.; SHU, H.; WANG, Y.; LAI, J.; DU, J.; YANG, C. *OsAGSW1*, an *ABC1-like kinase* gene, is involved in the regulation of grain size and weight in rice. **Journal Of Experimental Botany**, v. 66, n. 19, p. 5691-701, 2015.

LI, Y.; FAN, C.; XING, Y.; JIANG, Y.; LUO, L.; SUN, L.; SHAO, D.; XU, C.; LI, X.; XIAO, J.; HE, Y.; ZHANG, Q. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. **Nature Genetics**, v. 43, n. 12, p. 1266-9, 2011.

LI, Y.; FAN, C.; XING, Y.; YUN, P.; LUO, L.; YAN, B.; PENG, B.; XIE, W.; WANG, G.; LI, X.; XIAO, J.; XU, C.; HE, Y. *Chalk5* encodes a vacuolar H(+)-translocating pyrophosphatase influencing grain chalkiness in rice. **Nature Genetics**, v. 46, n. 4, p. 398-404, 2014.

LITVAK, 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**, v. 25, p. 402-408, 2001.

LIU, L.; TONG, H.; XIAO, Y.; CHE, R.; XU, F.; HU, B.; LIANG, C.; CHU, J.; LI, J.; CHU, C. Activation of *Big Grain1* significantly improves grain size by regulating auxin transport in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 35, p. 11102-7, 2015.

LIU, S.; HUA, L.; DONG, S.; CHEN, H.; ZHU, X.; JIANG, J.; ZHANG, F.; LI, Y.; FANG, X.; CHEN, F. *OsMAPK6*, a mitogen-activated protein kinase, influences rice grain size and biomass production. **Plant Journal**, v. 84, n. 4, p. 672-81, 2015.

LUO, J.; LIU, H.; ZHOU, T.; GU, B.; HUANG, X.; SHANGGUAN, Y.; ZHU, J.; LI, Y.; ZHAO, Y.; WANG, Y.; ZHAO, Q.; WANG, A.; WANG, Z.; SANG, T.; WANG, Z.; HAN, B. *An-1* encodes a basic helix-loop-helix protein that regulates awn development, grain size, and grain number in rice. **Plant Cell**, v. 25, n. 9, p. 3360-76, 2013.

MA, B.; HE, S.J.; DUAN, K.X.; YIN, C.C.; CHEN, H.; YANG, C.; XIONG, Q.; SONG, Q.X.; LU, X.; CHEN, H.W.; ZHANG, W.K.; LU, T.G.; CHEN, S.Y.; ZHANG, J.S. Identification of rice ethylene-response mutants and characterization of *MHZ7/OsEIN2* in distinct ethylene response and yield trait regulation. **Molecular Plant**, v. 6, n. 6, p. 1830-48, 2013.

MA, X.; CHENG, Z.; QIN, R.; QIU, Y.; HENG, Y.; YANG, H.; REN, Y.; WANG, X.; BI, J.; MA, X.; ZHANG, X.; WANG, J.; LEI, C.; GUO, X.; WANG, J.; WU, F.; JIANG, L.; WANG, H.; WAN, J. *OsARG* encodes an arginase that plays critical roles in panicle development and grain production in rice. **Plant Journal**, v. 73, n. 2, p. 190-200, 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa Nº 6, De 16 De Fevereiro De 2009**. Aprova o Regulamento Técnico do Arroz, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p.3, 17 fev 2009.

MOOSE, S. P.; MUMM, R. H. Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. **Plant physiology**, v. 147, n. 3, p. 969-977, 2008.

PAINE, J.A.; SHIPTON, C.A.; CHAGGAR, S.; HOWELLS, R.M.; KENNEDY, M.J.; VERNON, G.; WRIGHT, S.Y.; HINCHLIFFE, E.; ADAMS, J.L.; SILVERSTONE, A.L.;

DRAKE, R. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased provitamin A content. **Nature Biotechnology**, v. 23, n. 4, p. 482-7, 2005.

PEREIRA, J. A. Cultura do arroz no Brasil: subsídios para a sua história. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002.

PÉREZ-DE-CASTRO, A.M.; VILANOVA, S.; CAÑIZARES, J.; PASCUAL, L.; BLANCA, J.M.; DÍEZ, M.J.; PROHENS, J.; PICÓ, B. Application of genomic tools in plant breeding. **Current genomics**, v. 13, n. 3, p. 179, 2012.

QI, P.; LIN, Y.S.; SONG, X.J.; SHEN, J.B.; HUANG, W.; SHAN, J.X.; ZHU, M.Z.; JIANG, L.; GAO, J.P.; LIN, H.X. The novel quantitative trait locus *GL3.1* controls rice grain size and yield by regulating *Cyclin-T1*;3. **Cell Research**, v. 22, n. 12, p. 1666-80, 2012.

QIAO, Y.; PIAO, R.; SHI, J.; LEE, S.I.; JIANG, W.; KIM, B.K.; LEE, J.; HAN, L.; MA, W.; KOH, H.J. Fine mapping and candidate gene analysis of dense and erect panicle 3, *DEP3*, which confers high grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical And Applied Genetics**, v. 122, n. 7, p. 1439-49, 2011.

QIU, X.; GONG, R.; TAN, Y.; YU, S. Mapping and characterization of the major quantitative trait locus *qSS7* associated with increased length and decreased width of rice seeds. **Theoretical And Applied Genetics**, v. 125, n. 8, p. 1717-26, 2012.

SHAN, J.X.; ZHU, M.Z.; SHI, M.; GAO, J.P.; LIN, H.X. Fine mapping and candidate gene analysis of *spd6*, responsible for small panicle and dwarfness in wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). **Theoretical And Applied Genetics**, v. 119, n. 5, p. 827-36, 2009.

SHE, K.C.; KUSANO, H.; KOIZUMI, K.; YAMAKAWA, H.; HAKATA, M.; IMAMURA, T.; FUKUDA, M.; NAITO, N.; TSURUMAKI, Y.; YAESHIMA, M.; TSUGE, T.;

MATSUMOTO, K.; KUDOH, M.; ITOH, E.; KIKUCHI, S.; KISHIMOTO, N.; YAZAKI, J.; ANDO, T.; YANO, M.; AOYAMA, T.; SASAKI, T.; SATOH, H.; SHIMADA, H. A novel factor *FLOURY ENDOSPERM2* is involved in regulation of rice grain size and starch quality. **Plant Cell**, v. 22, n. 10, p. 3280-94, 2010.

SHOMURA, A.; IZAWA, T.; EBANA, K.; EBITANI, T.; KANEGAE, H.; KONISHI, S.; YANO, M. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. **Nature Genetics**, v. 40, n. 8, p. 1023-8, 2008.

SI, L.; CHEN, J.; HUANG, X.; GONG, H.; LUO, J.; HOU, Q.; ZHOU, T.; LU, T.; ZHU, J.; SHANGGUAN, Y.; CHEN, E.; GONG, C.; ZHAO, Q.; JING, Y.; ZHAO, Y.; LI, Y.; CUI, L.; FAN, D.; LU, Y.; WENG, Q.; WANG, Y.; ZHAN, Q.; LIU, K.; WEI, X.; AN, K.; AN, G.; HAN, B. *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice. **Nature Genetics**, v. 48, n. 4, p. 447-56, 2016.

SONG, X.J.; HUANG, W.; SHI, M.; ZHU, M.Z.; LIN, H.X. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown *RING-type E3 ubiquitin ligase*. **Nature Genetics**, v. 39, n. 5, p. 623-30, 2007.

SONG, X.J.; KUROHA, T.; AYANO, M.; FURUTA, T.; NAGAI, K.; KOMEDA, N.; SEGAMI, S.; MIURA, K.; OGAWA, D.; KAMURA, T.; SUZUKI, T.; HIGASHIYAMA, T.; YAMASAKI, M.; MORI, H.; INUKAI, Y.; WU, J.; KITANO, H.; SAKAKIBARA, H.; JACOBSEN, S.E.; ASHIKARI, M. Rare allele of a previously unidentified histone H4 acetyltransferase enhances grain weight, yield, and plant biomass in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 1, p. 76-81, 2015.

SUI, Z.; WANG, T.; LI, H.; ZHANG, M.; LI, Y.; XU, R.; XING, G.; NI, Z.; XIN, M. Overexpression of Peptide-Encoding *OsCEP6.1* Results in Pleiotropic Effects on Growth in Rice (*O. sativa*). **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 228, 2016.

SUN, L.; LI, X.; FU, Y.; ZHU, Z.; TAN, L.; LIU, F.; SUN, X.; SUN, X.; SUN, C. GS6, a member of the GRAS gene family, negatively regulates grain size in rice. **Journal Of Integrative Plant Biology**, v. 55, n. 10, p. 938-49, 2013.

SUN, W.; ZHOU, Q.; YAO, Y.; QIU, X.; XIE, K.; YU, S. Identification of genomic regions and the isoamylase gene for reduced grain chalkiness in rice. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0122013, 2015.

TAKANO-KAI, N.; JIANG, H.; KUBO, T.; SWEENEY, M.; MATSUMOTO, T.; KANAMORI, H.; PADHUKASAHASRAM, B.; BUSTAMANTE, C.; YOSHIMURA, A.; DOI, K.; MCCOUCH, S. Evolutionary history of *GS3*, a gene conferring grain length in rice. **Genetics**, v. 182, n. 4, p. 1323-34, 2009.

TAMIRU, M.; UNLAN, J.R.; TAKAGI, H.; ABE, A.; YOSHIDA, K.; UNLAN, J.Q.; NATSUME, S.; UEMURA, A.; SAITOH, H.; MATSUMURA, H.; URASAKI, N.; YOKOTA, T.; TERAUCHI, R. A *cytochrome P450*, *OsDSS1*, is involved in growth and drought stress responses in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Molecular Biology**, v. 88, n. 1-2, p. 85-99, 2015.

TANAKA, A.; NAKAGAWA, H.; TOMITA, C.; SHIMATANI, Z.; OHTAKE, M.; NOMURA, T.; JIANG, C.J.; DUBOUZET, J.G.; KIKUCHI, S.; SEKIMOTO, H.; YOKOTA, T.; ASAMI, T.; KAMAKURA, T.; MORI, M. BRASSINOSTEROID *UPREGULATED1*, encoding a helix-loop-helix protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 669-80, 2009.

WANG, C.; YE, J.; TANG, W.; LIU, Z.; ZHU, C.; WANG, M.; WAN, J. Loop nucleotide polymorphism in a putative miRNA precursor associated with seed length in rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal Of Biological Sciences**, v. 9, n. 6, p. 578-86, 2013.

WANG, S.; LI, S.; LIU, Q.; WU, K.; ZHANG, J.; WANG, S.; WANG, Y.; CHEN, X.; ZHANG, Y.; GAO, C.; WANG, F.; HUANG, H.; FU, X. The OsSPL16-GW7 regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality. **Nature Genetics**, v. 47, n. 8, p. 949-54, 2015.

WANG, S.; WU, K.; YUAN, Q.; LIU, X.; LIU, Z.; LIN, X.; ZENG, R.; ZHU, H.; DONG, G.; QIAN, Q.; ZHANG, G.; FU, X. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice. **Nature Genetics**, v. 44, n. 8, p. 950-4, 2012.

WANG, X.; GAO, D.; SUN, J.; LIU, M.; LUN, Y.; ZHENG, J.; WANG, S.; CUI, Q.; WANG, X.; HUANG, S. An exon skipping in a *SEPALLATA-Like* gene is associated with perturbed floral and fruits development in cucumber. **Journal Of Integrative Plant Biology**, 3 2016.

WANG, Y.; XIONG, G.; HU, J.; JIANG, L.; YU, H.; XU, J.; FANG, Y.; ZENG, L.; XU, E.; XU, J.; YE, W.; MENG, X.; LIU, R.; CHEN, H.; JING, Y.; WANG, Y.; ZHU, X.; LI, J.; QIAN, Q. Copy number variation at the *GL7* locus contributes to grain size diversity in rice. **Nature Genetics**, v. 47, n. 8, p. 944-8, 2015.

WANG, Z.M.; LI, H.X.; LIU, X.F.; HE, Y.; ZENG, H.L. Reduction of *pyruvate orthophosphate dikinase* activity is associated with high temperature-induced chalkiness in rice grains. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 89, p. 76-84, 2015.

WENG, J.; GU, S.; WAN, X.; GAO, H.; GUO, T.; SU, N.; LEI, C.; ZHANG, X.; CHENG, Z.; GUO, X.; WANG, J.; JIANG, L.; ZHAI, H.; WAN, J. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. **Cell Research**, v. 18, n. 12, p. 1199-209, 2008.

WOO, M.O.; HAM, T.H.; JI, H.S.; CHOI, M.S.; JIANG, W.; CHU, S.H.; PIAO, R.; CHIN, J.H.; KIM, J.A.; PARK, B.S.; SEO, H.S.; JWA, N.S.; MCCOUCH, S.; KOH, H.J. Inactivation of the *UGPase1* gene causes genic male sterility and endosperm chalkiness in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Journal**, v. 54, n. 2, p. 190-204, 2008.

WU, T.; SHEN, Y.; ZHENG, M.; YANG, C.; CHEN, Y.; FENG, Z.; LIU, X.; LIU, S.; CHEN, Z.; LEI, C.; WANG, J.; JIANG, L.; WAN, J. Gene *SGL*, encoding a *kinesin-like* protein with transactivation activity, is involved in grain length and plant height in rice. **Plant Cell Reports**, v. 33, n. 2, p. 235-44, 2014.

XXX Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil / **XXX Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado**, 06 a 08 de agosto de 2014, Bento Gonçalves, RS, Brasil. – Santa Maria: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. Santa Maria, 2014.

XU, F.; FANG, J.; OU, S.; GAO, S.; ZHANG, F.; DU, L.; XIAO, Y.; WANG, H.; SUN, X.; CHU, J.; WANG, G.; CHU, C. Variations in *CYP78A13* coding region influence grain size and yield in rice. **Plant Cell And Environment**, v. 38, n. 4, p. 800-11, 2015.

XU, J.; XIONG, W.; CAO, B.; YAN, T.; LUO, T.; FAN, T.; LUO, M. Molecular characterization and functional analysis of "*fruit-weight 2.2-like*" gene family in rice. **Planta**, v. 238, n. 4, p. 643-55, 2013.

YAN, D.; ZHOU, Y.; YE, S.; ZENG, L.; ZHANG, X.; HE, Z. Beak-shaped grain 1/TRIANGULAR HULL 1, a *DUF640* gene, is associated with grain shape, size and weight in rice. **Science China Life Science**, v. 56, n. 3, p. 275-83, 2013.

ZHANG, X.; SUN, J.; CAO, X.; SONG, X. Epigenetic Mutation of *RAV6* Affects Leaf Angle and Seed Size in Rice. **Plant Physiology**, v. 169, n. 3, p. 2118-28, 2015.

ZHANG, X.; WANG, J.; HUANG, J.; LAN, H.; WANG, C.; YIN, C.; WU, Y.; TANG, H.; QIAN, Q.; LI, J.; ZHANG, H. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 52, p. 21534-9, 2012.

ZHANG, Y.C.; YU, Y.; WANG, C.Y.; LI, Z.Y.; LIU, Q.; XU, J.; LIAO, J.Y.; WANG, X.J.; QU, L.H.; CHEN, F.; XIN, P.; YAN, C.; CHU, J.; LI, H.Q.; CHEN, Y.Q. Overexpression of microRNA OsmiR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching. **Nature Biotechnology**, v. 31, n. 9, p. 848-52, 2013.

ZHOU, Y.; MIAO, J.; GU, H.; PENG, X.; LEBURU, M.; YUAN, F.; GU, H.; GAO, Y.; TAO, Y.; ZHU, J.; GONG, Z.; YI, C.; GU, M.; YANG, Z.; LIANG, G. Natural Variations in *SLG7* Regulate Grain Shape in Rice. **Genetics**, v. 201, n. 4, p. 1591-9, 2015.

ZHOU, Y.; ZHU, J.; LI, Z.; YI, C.; LIU, J.; ZHANG, H.; TANG, S.; GU, M.; LIANG, G. Deletion in a quantitative trait gene *qPE9-1* associated with panicle erectness improves plant architecture during rice domestication. **Genetics**, v. 183, n. 1, p. 315-24, 2009.

ZHU, K.; TANG, D.; YAN, C.; CHI, Z.; YU, H.; CHEN, J.; LIANG, J.; GU, M.; CHENG, Z. *Erect panicle2* encodes a novel protein that regulates panicle erectness in indica rice. **Genetics**, v. 184, n. 2, p. 343-50, 2010.