

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Dissertação

**ANÁLISE DE ELEMENTOS *CIS-ACTING* EM REGIÕES PROMOTORAS DE
GENES RELACIONADOS COM DESENVOLVIMENTO RADICULAR EM
ARROZ (*Oryza sativa* L.)**

Daniel da Rosa Farias

Pelotas, 2010

Daniel da Rosa Farias

**ANÁLISE DE ELEMENTOS *CIS-ACTING* EM REGIÕES PROMOTORAS DE
GENES RELACIONADOS COM DESENVOLVIMENTO RADICULAR EM
ARROZ (*Oryza sativa* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Agronomia).

Orientador: Antônio Costa de Oliveira, PhD. – FAEM/UFPeI

Co-orientador: Fernando Irajá Félix de Carvalho, PhD. – FAEM/UFPeI

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

F224a Farias, Daniel da Rosa

Análise de elementos cis-acting em regiões promotoras de genes relacionados com desenvolvimento radicular em arroz (*Oryza sativa* L.) / Daniel da Rosa Farias ; orientador Antônio Costa de oliveira; co-orientador Fernando Irajá Félix de Carvalho - Pelotas,2010.-65f. ; il..- Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1.Arroz 2.Bioinformática 3.Raiz 4.Elementos cis-acting I I. Oliveira, Antônio Costa de(orientador) II .Título.

CDD 633.18

Banca examinadora:

Prof^o. PhD. Antonio Costa de Oliveira

FAEM/UFPeL

Prof^a. Dra. Denise dos Santos Colares de Oliveira

IQG/UFPeL

Pesquisador Dr. Enrique Moliterno

CCGL TEC/Fundacep

Aos meus pais, Arita e João.
Pela educação e amor.
À minha esposa Ettiene.

Dedico.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente uma das pessoas mais importantes da minha vida, minha mãe, Arita da Rosa Farias, por seu amor e doação e ensinamentos de vida me passados. Ao meu pai, João de Deus da Silva Farias, que apesar da distância, nunca se mostrou ausente na minha vida, me ensinando os seus conhecimentos e me auxiliando nas minhas escolhas. A minha esposa, que é minha melhor amiga e companheira. Aos meus avós, especialmente a minha avó materna, Maria Iracema Ulguim da Rosa que com sua experiência, amor e dedicação sempre me ajudou em tudo que precisei.

Ao Professor Antônio, por não ter medido esforços para melhorar minha formação profissional e pessoal, pela oportunidade de dividir seus conhecimentos e vitórias da sua brilhante carreira como pesquisador e educador. Ao Professor Fernando Carvalho, o qual também sempre me ajudou e me auxiliou, passando seus conhecimentos de vida e profissional. Ao professor Luciano, que sempre esteve presente e me auxilia nos trabalhos do CGF.

Aos colegas do CGF, Naciele, Renata, Taciane, Adriana e todos os alunos de graduação e pós-graduação, pela amizade e ajuda nas constantes discussões e tarefas do laboratório.

A todos os professores que participaram da minha formação da nossa grande Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – FAEM.

A todos os colegas e amigos, que nunca esqueço e que comigo compartilharam os momentos de alegrias e tristezas nesta jornada.

RESUMO

ANÁLISE DE ELEMENTOS *CIS-ACTING* EM REGIÕES PROMOTORAS DE GENES RELACIONADOS COM DESENVOLVIMENTO RADICULAR EM ARROZ (*Oryza sativa* L.)

As raízes possuem uma grande variedade de funções nas plantas, incluindo absorção de água, nutrientes e suporte estrutural. A combinação de métodos clássicos de genética e melhoramento com tecnologias moleculares de análise genômica abre uma nova perspectiva para a ampliação do conhecimento das bases genéticas e aceleração de programas de melhoramento. A maioria dos conhecimentos sobre as redes gênicas envolvidas no desenvolvimento radicular vem sendo acumuladas na espécie *Arabidopsis thaliana*, modelo de planta dicotiledônea. O entendimento dos mecanismos envolvidos na regulação da expressão dos genes é essencial para compreender a forma e a função dos sistemas. Os elementos *cis-acting* são regiões do DNA que atuam como interruptores moleculares envolvidos na regulação da transcrição de uma rede gênica dinâmica. Embora frequentemente tenham somente cinco a 20 pb de tamanho, os elementos *cis-acting* são críticos para o entendimento da regulação gênica. O conhecimento destes elementos presentes na região promotora de famílias gênicas, poderá contribuir para a compreensão dos sistemas reguladores da expressão da rede gênica envolvida na formação do sistema radicular. O objetivo desse trabalho é identificar os elementos *cis-acting* presentes na região promotora de genes de arroz (*Oryza sativa* subsp *japonica* cv. Nipponbare) similares aos genes das famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* de *Arabidopsis thaliana*. A região promotora dos genes destas famílias no arroz foi investigada quanto à abundância destes elementos. As seqüências foram analisadas utilizando o programa “*Signal Scan Search*” do portal “*Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements*” (PLACE) para a identificação dos diferentes elementos *cis-acting*. Foram detectados 96 diferentes elementos, sendo cinco destes (GAREAT (TAACAAR), TGACGTVMAMY (TGACGT), CCAATBOX1 (CCAAT), LECPLEACS2 (TAAAATAT) e SV40COREENHAN (GTGGWWHG), comuns as famílias gênicas *Argonauta*, *Cullin* e *Ara*.

Palavras-chave: Bioinformática, raiz, elementos *cis-acting*, arroz.

ABSTRACT

ANALYSIS OF *CIS*-ACTING ELEMENTS IN THE REGIONS OF PROMOTING GENES RELATED TO ROOT DEVELOPMENT

The roots have a large range of functions in plants, including acquisition of water and nutrients, as well as structural support. The combination of classical methods of genetics and breeding with molecular technologies for genomic analysis opens a new perspective to expand the knowledge of the genetic basis and to accelerate breeding programs. The most advanced knowledge regarding gene networks involved in root development has been obtained in the model dicotyledon plant species *Arabidopsis thaliana*. Understanding the mechanisms involved in regulation of gene expression is essential to predict the form and function of systems. *Cis-acting* elements are DNA regions that act as molecular switches involved in the regulation of transcription of dynamic gene network. Although often having only five to 20 bp in size, *cis-acting* elements are critical to the understanding of gene regulation. Knowledge of the *cis-acting* elements present in the promoter region of gene families, can contribute to the understanding of the expression regulatory systems of these genes and others, involved with the root system. The objective of this study is to identify the *cis-acting* elements present in the upstream region of rice (*Oryza sativa* subsp *japonica* cv. Nipponbare) genes, similar to gene families *Argonauta*, *Cullin* and *Ara* in *Arabidopsis thaliana*. The promoter region of these rice gene families were investigated for the abundance of *cis-acting* elements. The sequences were analyzed using the software "Signal Scan Search" of the website "Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements" (PLACE) to the identification of different *cis-acting* elements. It were detected 96 different *cis-acting* elements, and five of these, (GAREAT (TAACAAR), TGACGTVMAMY (TGACGT), CCAATBOX1 (CCAAT), LECPLEACS2 (TAAAATAT) e SV40COREENHAN (GTGGWWHG) were common to the gene families *Argonauta*, *Cullin* and *Ara*.

Key words: Bioinformatic, root, *cis-acting* element, rice

Lista de Figuras

- Figura 1 Representação de elementos *cis-acting* proximais ao gene. Fonte: MASTON et al., 2006. 21
- Figura 2 Elementos *cis-acting* distais. (a,b) *Enhancers* e silenciadores ativam e reprimem a transcrição, respectivamente. (c) Isoladores bloqueiam genes que são afetados pela transcrição de genes vizinhos. (d) Regiões de controle de locus compostos por vários elementos regulatórios que atuam em conjunto, afetando a expressão de um gene específico ou um grupo gênico. Fonte: MASTON et al., 2006. 23
- Figura 3 Diagrama em círculo, mostrando o alinhamento entre regiões conservadas em diferentes cromossomos nas diferentes gramíneas 27
- Figura 4 Taxa de expressão dos genes *Argonauta* em diferentes tecidos de arroz. Vermelho = *ago1*, azul = *ago2*, verde = *ago4*, laranja = *ago5*, roxo = *ago6* e amarelo = *ago7* 35
- Figura 5 Taxa de expressão dos genes *Cullin* em diferentes tecidos de arroz. Vermelho = *cullin1*, azul = *cullin2*, verde = *cullin3*..... 35
- Figura 6 Taxa de expressão dos genes *Ara* em diferentes tecidos de arroz. Vermelho = *ara1*, azul = *ara2*, verde = *ara3*, laranja = *ara4*, roxo = *ara5* e amarelo = *ara6*..... 35
- Figura 7 Ocorrência de elementos *cis-acting* nas famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* em *Oryza sativa* subsp. *japonica*..... 36
- Figura 8 Classificação funcional dos genes com o elemento *cis-acting* GAREAT presente nas regiões promotoras 43

Figura 9	Classificação funcional dos genes com o elemento <i>cis-acting</i> TGACGTVMAMY presente nas regiões promotoras.....	44
Figura 10	Classificação funcional dos genes com o elemento <i>cis-acting</i> CCAATBOX1 presente nas regiões promotoras	44
Figura 11	Classificação funcional dos genes com o elemento <i>cis-acting</i> LECPLEACS2 presente nas regiões promotoras.....	44
Figura 12	Classificação funcional dos genes com o elemento <i>cis-acting</i> SV40COREENHAN presente nas regiões promotoras	45

Lista de Tabelas

- Tabela 1 Distribuição, tamanho e número de exons de genes de *Oryza sativa* subsp. *japonica* similares aos de *Arabidopsis thaliana* 34
- Tabela 2 Genes das três famílias gênicas estudadas (*Argonauta*, *Cullin* e *Ara*) do genoma de *Oryza sativa* subsp *japonica* cv. Nipponbare, com os respectivos cromossomos, quantidade de elementos, número de diferentes elementos por loco, número médio de cada elemento, elementos mais comuns, respectivo número de ocorrências por loco. 38
- Tabela 3 Relação dos elementos *cis-acting* comuns encontrados na região promotora dos genes das famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* em *Oryza sativa* subsp *japonica* cv. Nipponbare..... 41
- Tabela 4 Número de genes que apresentaram os elementos *cis-acting* comuns as famílias gênicas *Argonauta*, *Cullin* e *Ara*. 42

Sumário

Resumo.....	05
Abstract.....	06
Lista de Figuras.....	07
Lista de Tabelas.....	09
1. Revisão de Literatura.....	11
1.1. Melhoramento Genético.....	11
1.2. Arroz.....	13
1.3. Biotecnologia.....	15
1.4. Bioinformática.....	19
1.5. Elementos <i>cis-acting</i>	20
1.6. Genômica Comparativa.....	24
1.7. Sistema Radicular.....	28
2. Material e Métodos.....	31
3. Resultados e Discussão.....	33
4. Conclusões.....	47
5. Referências Bibliográficas.....	48

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. MELHORAMENTO GENÉTICO

O homem é dependente das plantas para a sua alimentação. Tudo aquilo de que nos alimentamos é quase que, sem exceção, constituído de plantas ou derivado, mais ou menos diretamente das plantas. Frente a essa importância, é natural que o homem tenha, desde longa data, se preocupado em desenvolver tipos mais adaptados às suas necessidades. Entretanto, mais recentemente, e em grande parte com os avanços da genética, essas tentativas têm sido sistematizadas a tal ponto, que a habilidade do homem bem como o estudo de técnicas para o ajuste das constituições genéticas das plantas às suas necessidades, seja considerada uma ciência, a ciência denominada melhoramento de plantas. Através do melhoramento genético de plantas houve um aumento acentuado na produtividade agrícola. Isto é consequência da grande necessidade de uma fonte adequada de alimentação para satisfazer o constante crescimento populacional e com área de cultivo cada vez mais limitada (ALLARD, 1971).

Contudo, antes das pesquisas de Mendel e Fisher, entre outras, o melhoramento foi realizado exclusivamente como arte, por meio da habilidade visual dos nossos ancestrais em escolher as plantas para os próximos plantios. Mendel ficou na história por ter sido o primeiro a fornecer as bases do controle genético dos caracteres. A publicação do seu trabalho ocorreu em 1865 e ficou praticamente no anonimato até 1900, quando três cientistas, Correns, De Vries e Tschermak, independentemente, mostraram que a teoria de Mendel era correta. Portanto, 1900 é considerado o ano do nascimento da Genética. Como Mendel trabalhou com caracteres qualitativos (aqueles que se expressam em classes distintas), no início do século passado se imaginou que a teoria não podia ser extrapolada para os caracteres quantitativos. Essa idéia errônea foi gradativamente eliminada a partir de alguns trabalhos como o de Yule, Nilsson-Ehle e East, dentre outros. Já em 1903, um pesquisador dinamarquês, Wilhelm Johanssen, mostrou que o fenótipo de um caráter quantitativo era devido à ação conjunta do genótipo mais o efeito do ambiente. Foi esse pesquisador que atribuiu o termo gene aos fatores Mendelianos. Também no início do século XX,

começaram os trabalhos que mudariam a história da pesquisa agrícola, sendo Ronald Fisher o principal responsável. As pessoas que o conheceram afirmam que ele era um excelente matemático, com profundo senso prático. Fisher começou seus trabalhos na Estação Experimental de Rothamsted, na Inglaterra, dando origem à Estatística Experimental. Ele conciliou a Genética Mendeliana e a Biometria em 1918, dando origem à Genética Quantitativa, em um artigo publicado na *Transactions of the Royal Society of Edinburg*. Essa publicação foi de fundamental importância para a ciência e não tinha sido aceita antes pela *Royal Society of London* (RAMALHO e LAMBERT, 2004).

O uso da ciência no melhoramento genético tem possibilitado o crescimento e desenvolvimento da produção de alimentos no mundo moderno. Segundo Margis (2010) o melhoramento genético clássico foi o responsável pelo aumento espetacular da produtividade das espécies cultivadas, um exemplo disso, foi o aumento da produção mundial de arroz (*Oryza sativa* L.), que triplicou nas três últimas décadas. Se o aumento da produtividade fosse mantido nesse mesmo ritmo, a produção global desse cereal seria suficiente para alimentar uma população que deverá atingir oito bilhões de habitantes nos próximos 50 anos.

Em virtude disto, o emprego de técnicas avançadas de identificação de constituições genéticas superiores têm sido uma constante entre os melhoristas para a otimização do ganho genético. O desenvolvimento de novas variedades que satisfaçam as exigências de maior potencial genético para produtividade é a principal meta de todo programa de melhoramento. Desta forma, o sucesso de tal programa depende de um método dinâmico e eficiente para atender seus objetivos. O melhoramento genético de plantas requer três etapas fundamentais para a obtenção de genótipos desejados: presença da variabilidade genética, eficiência na seleção dos genótipos mais promissores e ajuste das melhores constituições genéticas ao ambiente de cultivo (CARVALHO et al., 2008).

O grande desafio dos melhoristas de plantas consiste em disponibilizar, permanentemente, genótipos de qualidade elevada e identificar constituições genéticas que superem o rendimento de grãos e outros caracteres agrônômicos expressados pelos cultivares existentes no mercado (BROWN e FORSBERG, 1987). Portanto, existe a busca constante do aumento na eficiência da seleção, melhor conhecimento e caracterização do germoplasma e a maximização dos ganhos genéticos. Novas formas de alcançar estes objetivos têm sido

constantemente perseguidas pelo melhoramento (MILACH, 1998), assim, cabe ressaltar o uso da biotecnologia e da bioinformática neste contexto.

A caracterização do sistema radicular no solo e o conhecimento de suas variações genéticas podem auxiliar o melhoramento genético de plantas, porque são fundamentais para a escolha dos melhores genótipos, ou seja, os mais adaptados às condições de estresse do solo e, conseqüentemente, com maior capacidade de crescimento, desenvolvimento e produtividade nestes solos. Isto está relacionado com a eficiência de aquisição de água e nutrientes, que determina, parcialmente, a habilidade competitiva das plantas (SILVA, 2003; CANTÃO, 2007).

Com o entendimento do sistema radicular, será possível a aplicabilidade do mesmo no melhoramento genético do arroz. Atualmente, este cereal é cultivado em um décimo das terras aráveis. No entanto, 30% delas contêm níveis elevados de sal, outros 20% estão periodicamente sujeitos à seca e 10% a baixas temperaturas (MARGIS, 2010).

O sucesso da produção agrícola depende fortemente do uso de variedades com desempenho superior e adaptadas ao meio de cultivo, sendo este o objetivo contínuo dos programas de melhoramento genético de qualquer espécie cultivada (LORENCETTI et al., 2006).

1.2. ARROZ

O arroz é um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico. Os países em desenvolvimento têm no arroz uma importante cultura sob o ponto de vista social e econômico, pois este é considerado um dos alimentos com melhor balanceamento nutricional, extremamente versátil, que se adapta a diferentes condições de solo e clima, sendo a espécie de maior potencial de aumento de produção para o controle da fome no mundo (AZAMBUJA et al., 2004). Este cereal está presente na dieta de mais de dois terços da população mundial, sendo responsável por cerca de 11% da área total cultivada. Na América Latina, o arroz é a fonte básica de calorias da dieta (FERREIRA & VILLAR, 2004).

A produção mundial de arroz em casca em 2008 foi aproximadamente 685 milhões de toneladas em uma área de 158 milhões de hectares (FAO, 2008). O maior produtor mundial é a China, respondendo com 31% do total produzido no

mundo, seguida por Índia, Indonésia, Bangladesh e Vietnã. O Brasil ocupa a 9ª colocação na produção mundial, segundo a CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) (2010) o Brasil produziu 12,07 milhões de toneladas, nesse mesmo ano, e o Rio Grande do Sul é o principal estado produtor, responsável por 61% da produção nacional.

O arroz pertence à divisão Angiosperma, classe das monocotiledôneas, ordem Glumiflora, família Poaceae, subfamília Oryzoideae, tribo Oryzea, e gênero *Oryza* (BOTELHO). É uma planta anual ou perene, que pode se desenvolver em condições de solo alagado ou seco (MAGALHÃES JUNIOR et al., 2004).

O nome científico, *Oryza*, foi dado por Linneu, e vem de um termo grego antigo, designativo do arroz, que provém do árabe ou do chinês e significa “bom grão da vida”. O arroz é mencionado, diversas vezes, em escrituras chinesas e hindus muito antigas. Sua taxonomia, como a de outras espécies, foi e continua sendo objeto de discussão. Nos anos 40 o gênero foi dividido em 23 espécies, na década de 60 a classificação foi revisada e mantida até os anos 80, quando foram reclassificadas em 20 espécies. Atualmente o gênero inclui 21 espécies selvagens e duas cultivadas, sendo *Oryza glaberrima*, cultivada somente no oeste da África e *Oryza sativa* L. cultivada em todo mundo (LONDO et al. 2006). Citogeneticamente, ambas são diplóides com número básico (x) de 12 cromossomos ($2n=24$, no tecido somático). Apesar da grande semelhança, existem diferenças entre seus genomas e, por isso, o da *Oryza sativa* é representado por AA e o da *Oryza glaberrima*, por AgAg. Embora possam apresentar cruzamento natural entre si (hibridação), dependendo da interação genótipo-ambiente, ambas as espécies são predominantemente autógamas (TERRES et al., 1998).

Entre as gramíneas, o arroz apresenta um genoma pequeno, mapas genéticos e físicos, e seu seqüenciamento completo (IRGSP, 2005), e devido a estes fatos tem sido considerado um modelo para o melhoramento genético de gramíneas (IZAWA & SHIMAMOTO, 1996; GALE & DEVOS, 1998). A maioria das aplicações comparativas utiliza as seqüências genômicas do arroz como fonte para marcadores de genes de interesse em outras espécies gramíneas (BRUNNER et al., 2003; SUTTON et al., 2003; GOTTWALD et al., 2004; DEVOS, 2005). A alta conservação na ordem e conteúdo dos genes dentro dos cereais indica que a pesquisa com arroz pode proporcionar benefícios aos programas de

pesquisa de outras gramíneas (BENNETZEN & MA, 2003). A espécie pode prover valiosas informações para investigação de características semelhantes no genoma de outras gramíneas (BENNETZEN, 2002).

Os programas de melhoramento das culturas podem usar a genética comparativa para transferir informação sobre genes de espécies modelo para outras espécies de interesse, para auxiliar na identificação de genes que controlam características de interesse, e para acessar a diversidade alélica intra-espécies de forma que os melhores alelos possam ser identificados e agrupados em variedades superiores (SORRELS et al., 2003).

1.3. BIOTECNOLOGIA

A natureza química do material genético começou a ser elucidada por meio do trabalho de R. Griffith, em 1928, quando ele mencionou a existência do que foi denominado de princípio transformante. Griffith realizou experimentos com a bactéria *Streptococcus pneumoniae* que causa pneumonia em humanos, porém, em camundongos é normalmente letal. Entretanto, algumas linhagens dessa espécie de bactéria evoluíram para serem menos virulentas (menos capazes de causar doença ou morte). Nesses experimentos, Griffith usou duas linhagens que são distinguíveis pelo aparecimento de suas colônias quando cultivadas em culturas de laboratório, uma era um tipo virulento mortal para a maioria dos animais, a outra era um tipo não virulento mutante que cresce em camundongos, porém, não letal. Griffith matou algumas células virulentas por aquecimento e as injetou em camundongos, e os mesmos sobreviveram, mostrando que o envoltório das células não causa a morte, entretanto, os camundongos injetados com uma mistura de células virulentas mortas pelo calor e células vivas não-virulentas morreram. Além disso, células vivas podiam ser recuperadas dos camundongos mortos, de algum modo, os restos celulares das células virulentas aquecidas tinham convertido as células não virulentas em células virulentas vivas. O processo foi chamado de transformação, faltava então determinar que componente químico das células mortas tinha causado essa transformação.

Hoje é sabido que os fragmentos do DNA transformante que conferem a virulência entram no cromossomo bacteriano e substituem suas contrapartes que conferem não virulência. Porém, isso foi determinado mais tarde, em 1944,

quando três pesquisadores, Avery, MacLeod e McCarty, demonstraram que a substância responsável pela transmissão da informação entre indivíduos e células era o DNA.

Os experimentos conduzidos por Avery e colaboradores foram definitivos, mas muitos cientistas relutaram em aceitar o DNA como o material genético, e não as proteínas. Alfred Hershey e Martha Chase deram evidências adicionais, em 1952, em um experimento que usou o fago T2, um vírus que infecta bactérias. Eles demonstraram que o DNA é o material hereditário. A estrutura da molécula foi estabelecida em 1953, por Watson e Crick, em um trabalho que foi a base de todo o desenvolvimento da Biologia Molecular.

A descoberta das enzimas de restrição, que cortam o DNA em pontos específicos, foi feita por Arber, em 1968. Esse foi um marco importante na transformação genética, sendo que logo depois, em 1973, Stanley, Cohen e Brown combinaram uma enzima de restrição com o plasmídeo de *Agrobacterium*, para isolar um gene e introduzi-lo em outro organismo. A manipulação do material genético começou efetivamente em 1972, na Universidade Stanford, nos Estados Unidos, quando o Dr. Paul Berg conseguiu unir a seqüência do DNA de *Escherichia coli* à do vírus *Simian papiloma*. Esse feito pode ser considerado o marco zero da denominada “era da genômica”. Todas essas técnicas e muitas outras não comentadas têm levado a um melhor conhecimento da ação gênica.

Atualmente, já são conhecidos mais detalhes da atuação dos genes em relação ao que se dispunha há mais de cinquenta anos, quando a estrutura do DNA foi estabelecida. Sabe-se, hoje, por exemplo, que o gene depende de regiões reguladoras situadas em várias posições nos cromossomos. Além disso, possui um sítio promotor, que é uma região do DNA próxima ao gene propriamente dito, onde se prende a RNA polimerase, enzima responsável pela transcrição da informação (GRIFFITHS et al. 2008).

Em 1913, A.H. Sturtevant, interpretando dados oriundos da segregação de genes ligados, sugeriu o uso da porcentagem de recombinantes como indicador quantitativo da distância linear entre dois genes na construção de mapas genéticos. Os mapas mostravam que a posição dos genes correspondia à sua ordem linear nos cromossomos. Assim, o conceito de localização dos genes em uma ordem linear passou a ser incorporado à teoria cromossômica da herança (GARDNER & SNUSTAD, 1986; GRIFFITHS et al., 2008).

Estas idéias se desenvolveram a partir de então, ao longo das décadas de 20, 30 e 40, com a participação de pesquisadores como R. A. Fisher, J. B. S. Haldane, D.D. Kosambi, A. R. G. Owen, entre outros (BAILEY, 1961). Mas foi com o surgimento dos marcadores moleculares, na década de 80, que a construção de mapas genéticos saturados tornou-se possível. Marcadores moleculares estão disponíveis em grande número, podem ser polimórficos, seletivamente neutros e não sofrem ação do ambiente. Mapas genéticos de marcadores moleculares permitem identificar, mapear e medir a magnitude do efeito dos principais genes envolvidos no controle de características qualitativas e quantitativas (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Os primeiros mapas genéticos eram fundamentados em marcadores morfológicos e citológicos. Estes se originaram de “estoques cromossômicos” com aberrações (como aneuploidias, translocações, deleções e inversões), principalmente nas culturas do milho, tomate e ervilha (COE et al., 1988). Em espécies cujo cariótipo é bem conhecido, é possível atribuir genes a um determinado cromossomo, relacionando aberrações cromossômicas com alterações fenotípicas causadas por estes genes. Os trabalhos realizados com marcadores morfológicos em muito contribuíram para a elucidação do fundamento teórico da análise de ligação gênica e para a construção das primeiras versões de mapas genéticos (KNAPP, 1991). Atualmente, têm sido úteis nos casos em que os grupos de ligação já estão associados a determinados cromossomos, podendo ser também utilizados para ancorar grupos de ligação construídos com base em marcadores moleculares a cromossomos específicos.

No início da década de 60, as isoenzimas foram descobertas e passaram a ser usadas como marcadores bioquímicos, permitindo a construção de mapas genéticos, potencialmente, em todas as espécies de plantas (GARVIN e WEEDEN, 1994). Os marcadores isoenzimáticos apresentam um controle genético normalmente simples, em que a ação alélica é, na maioria dos casos, co-dominante. Considerando que o número total de locos isoenzimáticos detectado seja superior a 100 (MURPHY et al., 1984), são raros os trabalhos que utilizam mais de 30 locos. Esse número é muito baixo para fins de mapeamento, principalmente quando existe a intenção de obter ampla cobertura do genoma (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Uma das ferramentas de biotecnologia amplamente utilizada no melhoramento genético é a o uso de marcadores moleculares, segundo Varshney et al. (2005a), atualmente, definem marcadores moleculares como sendo “marcadores genéticos baseados num conjunto de marcadores que podem detectar polimorfismo de DNA em nível de um loco específico e no nível completo do DNA”. Estes marcadores são de muitos tipos: polimorfismo no tamanho da restrição de fragmentos de DNA (RFLP - *restriction fragment length polymorphism DNA*), polimorfismo de amplificação aleatória de DNA (RAPD - *random amplification polymorphic DNA*), polimorfismo de seqüência clivada e amplificada (CAPS - *cleveaded amplified fragment sequence*), seqüência de repetição simples ou microssatélites (SSR - *single sequence repeat, microsattelites*) e polimorfismo no tamanho de fragmentos amplificados de DNA (AFLP - *amplifided fragment length polymorphism DNA*). Os mais recentes marcadores moleculares desenvolvidos são polimorfismo simples de nucleotídeo (SNP - *single nucleotide polymorphism*) e polimorfismo de caráter simples (SFP - *single feature polymorphism*).

Uma classe de marcadores moleculares muito promissora são os Microssatélites. Segundo Varshney et al. (2005b), esta classe de marcadores é poderosa em variadas aplicações na genética e melhoramento de plantas, devido a sua reprodutibilidade, natureza multi-alélica, característica co-dominante e abundância em genomas. Esses marcadores vêm sendo utilizados para a integração de mapas genéticos, posicionamento físico para sequenciamento de trechos em plantas melhoradas e pode prover para geneticistas e melhoristas uma potente ferramenta para ligar variações genotípicas a variações do fenótipo.

Segundo Oliveira et al. (2006) o alto nível de transferibilidade de marcadores microssatélites, grande quantidade e dispersão nos genomas são os principais atributos o que tornam uma potente ferramenta.

Entre as diversas aplicações que os marcadores moleculares podem ter no melhoramento de plantas, pode citar-se, a seleção assistida (SAM – Seleção Assistida por Marcadores) a qual é fundamentada no mapeamento e associação de marcadores a genes que controlam características de interesse (MILACH, 1998).

A combinação de métodos clássicos de genética e melhoramento com tecnologias moleculares de análise genômica abre uma nova perspectiva para a

ampliação do conhecimento genético e para a aceleração de programas de melhoramento, além de constituir um importante componente de um processo contínuo de acúmulo de informações. (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Segundo Ramalho e Furtini (2009), a biotecnologia vem sendo considerada, nas últimas décadas, a área tecnológica com maior potencial para a solução de vários problemas da sociedade, entre eles, os do setor agrícola.

1.4. BIOINFORMÁTICA

Nos últimos anos a genômica e a bioinformática vêm auxiliando as pesquisas em biologia, genética e melhoramento. Durante as últimas décadas, os principais avanços no campo da biologia molecular, junto com os avanços nas tecnologias genômicas, conduziram a um crescimento na informação biológica gerada pela comunidade científica. Principalmente nestas duas últimas décadas, o armazenamento de dados biológicos em bancos de dados públicos, vem se tornando cada vez mais comum e esses bancos de dados têm crescido exponencialmente. Essa revolução está ligada a importantes progressos nos métodos e tecnologias que permitem o seqüenciamento de DNA em grande escala (OLIVEIRA, 2007). Genômica é a denominação dada à ciência que estuda o genoma de forma completa, pela integração de várias áreas tradicionais da genética, como a Genética Mendeliana, a Citogenética, a Genética Molecular, a Genética de Populações e a Genética Quantitativa, incluindo a bioinformática e sistemas automatizados (SCHUSTER e CRUZ, 2008). A grande quantidade de informações geradas conduziu a uma exigência absoluta de bancos de dados computadorizados para armazenar, organizar e indexar os dados e por ferramentas especializadas para visualizar e analisar estes dados. A literatura biológica também está crescendo fortemente, dessa forma, é impossível até mesmo para o pesquisador mais cuidadoso, manter-se atualizado com as informações necessárias da área sem o auxílio de ferramentas computacionais (MAIA, 2007). Segundo Goodmam (2002), bioinformática é uma arte, uma engenharia e uma ciência, que esta cercada pelo desenvolvimento de um novo método computacional e a aplicação destes para resolver problemas biológicos. A comparação de seqüências de DNA, RNA e seqüências protéicas fornece a base para muitas ferramentas de bioinformática e pode permitir a inferência da função,

estrutura e evolução de genes e genomas. Desta forma, a bioinformática está se tornando uma ferramenta que será parte essencial na pesquisa científica de plantas, e acredita-se que cada pesquisador irá incorporar cada vez mais ferramentas de bioinformática em seus projetos de pesquisa (RHEE et al., 2006).

Segundo Sumner et al. (2003), ferramentas apropriadas de bioinformática e métodos de análise são a chave para a integração da metabolômica com outras ferramentas de genômica funcional, e a ciência de plantas em geral.

Nos últimos anos a rápida acumulação de informações, provenientes de experimentos de seqüenciamento de genomas, predições de funções dos genes e perfis de expressão gênica, tem contribuído com a descoberta de elementos *cis-acting*, bem como, sua participação nas rotas de sinalização celular em plantas. Desta forma, a utilização arbitrária de regiões promotoras dos genes, vem sendo utilizada em diversos trabalhos para identificar motivos candidatos de DNA (PRIEST et al., 2009).

A bioinformática é a aplicação da tecnologia de informação ao gerenciamento de dados biológicos. É uma disciplina científica de rápida evolução. Nas duas últimas décadas, o armazenamento de dados biológicos em bancos de dados públicos vem se tornando cada vez mais comum, e esses bancos de dados tem crescido exponencialmente. A literatura biológica também está crescendo fortemente, dessa forma é impossível até mesmo para o pesquisador mais cuidadoso, manter-se atualizado com as informações necessárias da área sem o auxílio de ferramentas computacionais. A *internet* (rede mundial de computadores) possibilita que pesquisadores de qualquer lugar interajam com programas e bancos de dados em qualquer outro local – desde que eles saibam criar as ferramentas certas (GIBAS, 2001).

1.5. ELEMENTOS *CIS-ACTING*

O entendimento dos mecanismos envolvidos na regulação da expressão dos genes é essencial para compreender a forma e a função dos sistemas vivos (ACEITUNO et al., 2008). A expressão gênica é amplamente controlada em nível transcricional, onde as interações entre fatores de transcrição e elementos *cis-*

acting em regiões promotoras de um gene desempenham um papel crucial (BRIVANLOU & DARNELL, 2002).

Os elementos *cis-acting* são regiões do DNA que atuam como interruptores moleculares envolvidos na regulação da transcrição de uma rede gênica dinâmica (STRÄHLE & RASTEGAR, 2007). Embora freqüentemente tenham somente cinco a 20 pares de bases (pb) de tamanho, os elementos *cis-acting* são críticos para o entendimento da regulação gênica (LIU et al., 2004).

Esses elementos *cis-acting* de controle transcricional, contêm sítios de reconhecimento para os elementos *trans-acting* (fatores de transcrição), que atuam tanto para aumentar como para reprimir a transcrição (MASTON et al., 2006).

Em organismos Eucariotos, a transcrição é realizada através da enzima RNA POLIMERASE II. Segundo Maston et al. (2006), genes transcritos por essa enzima, geralmente possuem duas diferentes famílias de elementos *cis-acting* que atuam na regulação da transcrição. A primeira é composta por sequências localizadas próximas ao sítio de início da transcrição dos genes alvos, podem estar contidas no núcleo promotor ou proximais aos genes (Figura 1). Esses elementos desempenham um papel importante na regulação de genes individuais (ARNOST, 2003). O elemento *cis-acting* mais conhecido dessa família, é o motivo TATAbox, que é reconhecido por proteínas que se ligam no sítio TATA. O TATAbox é uma seqüência rica em T/A geralmente localizada a 25–35 pares de bases do sítio de iniciação da transcrição na região promotora dos genes (BURLEY & ROEDER, 1996). Aproximadamente 85% dos genes de plantas seqüenciados contêm esta seqüência, que tem papel crucial na transcrição, pois serve como um sítio de ligação do complexo de iniciação da transcrição.

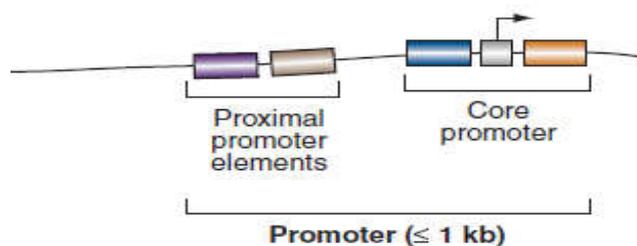


Figura 1. Representação de elementos *cis-acting* proximais ao gene. Fonte: MASTON et al., 2006.

A segunda família é composta por elementos regulatórios distantes do gene alvo, que podem ser, potenciadores (*enhancers*), silenciadores (*silencers*), isoladores (*insulators*) ou regiões de controle de locus (*locus control regions*). *Enhancers* são funcionalmente semelhantes a elementos proximais ao gene, e a distinção entre as duas classes ainda não está completamente estabelecida, primeiramente, esses elementos foram definidos como regiões virais, e mais tarde, como sequências de DNA que aumentam a expressão de genes (BANERJI et al., 1981; BLACKWOOD & KADONGA, 1998). Segundo Brand & Perrimon (1993), *enhancer* são sequências localizadas a mais de 1000 pb (pares de base) do sítio de iniciação da transcrição do gene, em que fatores de transcrição são ligados, e essa ligação pode aumentar ou diminuir a transcrição do gene. Silenciadores são elementos que conferem um efeito negativo na transcrição do gene alvo, e normalmente atuam de forma independente da orientação e distância da região promotora, eles tanto podem estar situados próximos ao gene como fazer parte de um *enhancer* distal, atuando independentemente e distante ao gene (SERTIL et al., 2003). Elementos isoladores bloqueiam genes através da transcrição de genes vizinhos, eles podem atuar de duas maneiras, bloqueando a comunicação de um *enhancer* e o promotor, ou impedir a extensão da cromatina (RECILLAS-TARGA et al., 2002). Regiões de controle de locus são compostas por grupos de elementos regulatórios, envolvidos na regulação de um locus ou um grupos de genes (LI et al., 2002), esses elementos podem ser *enhancers*, silenciadores ou isoladores, e a atividade de cada um desses elementos afeta diferencialmente a expressão gênica, e a sua atividade conjunta define a expressão do gene (MASTON et al., 2006) (Figura 2).

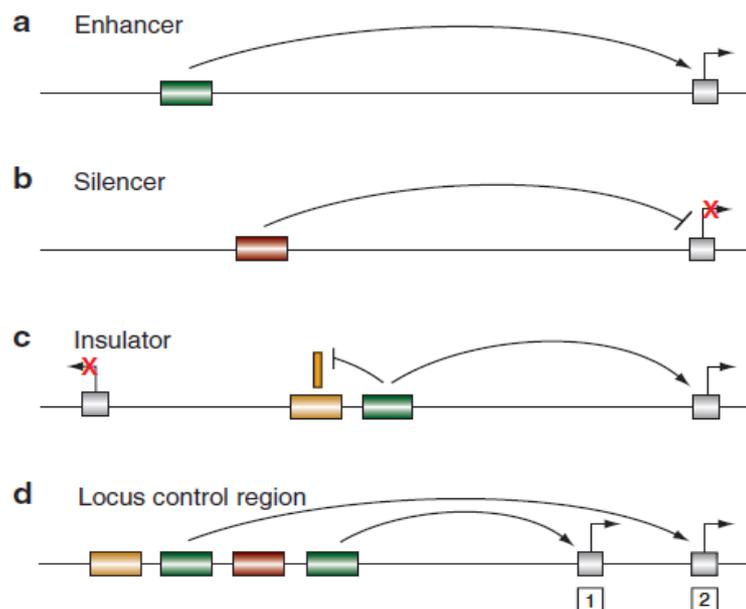


Figura 2. Representação de elementos *cis-acting* distais. (a,b) *Enhancers* e silenciadores ativam e reprimem a transcrição, respectivamente. (c) Isoladores bloqueiam genes que são afetados pela transcrição de genes vizinhos. (d) Regiões de controle de locus compostas por vários elementos regulatórios que atuam em conjunto, afetando a expressão de um gene específico ou um grupo gênico. Fonte: MASTON et al., 2006.

A identificação dos elementos *cis-acting* é um dos maiores e principais desafios biológicos do genoma, pois os elementos reguladores normalmente são curtos, degenerados, escondidos em repetições muito longas e não codificam proteínas (WANG e STORMO, 2005). Uma das maiores e principais tarefas no entendimento de redes de regulação de transcrição é identificar todos os elementos *cis-acting* onde se ligam os fatores de transcrição que são codificados em um genoma, os quais eventualmente fornecerão a informação necessária para a construção de modelos de redes gênicas de regulação da transcrição (LI et al., 2002).

Existem muitos trabalhos relacionados com mudanças na regulação de genes, em que o ganho ou a perda de sequências onde se ligam fatores de transcrição, é responsável pela divergência de padrões regulatórios de genes e pela alteração de fenótipo (WEIRAUCH & HUGHES, 2010).

Com o aumento de dados experimentais e de genomas seqüenciados, é possível o uso de técnicas computacionais para análise de elementos *cis-acting* que controlam a regulação transcricional (HUGHES et al., 2000).

Segundo Priest et al. (2009), identificar e entender o funcionamento de elementos *cis-acting* é essencial para elucidar os mecanismos de identificação e respostas a sinais realizados pelas células, e sua participação no desenvolvimento e homeostasia dos organismos.

Em regiões promotoras de vários genes, elementos *cis-acting* têm sido definidos e investigados para isolar fatores de transcrição específicos, e buscar elucidar como ocorre a regulação dos genes. Foram identificados vários elementos *cis-acting* associados a muitos processos celulares em tecidos radiculares de diversas espécies (ELLIOTT & SHIRSAT, 1998; KLINEDINST et al., 2000; KAMIYA et al., 2003; VIEWEG et al., 2004; OGO et al., 2006). Também foram identificados vários outros elementos *cis-acting* envolvidos em uma série de processos metabólicos fisiológicos, como motivos específicos respondendo a hormônios, açúcares, condições ambientais e outros fatores (LOIS et al., 1989; MUNDY et al., 1990; BALLAS et al., 1993; GRIERSON et al., 1994; YAMAGUCHI-SHINOZAKI & SHINOZAKI, 1994; SHINSHI et al., 1995; SAVINO et al., 1997; DUNN et al., 1998; CERCOS et al., 1999; MENKE et al., 1999; SHINOZAKI & YAMAGUCHI et al., 2000; TRINDADE, 2003, SHINOZAKI et al., 2003; YAMAGUCHI-SHINOZAKI e SHINOZAKI, 2005; WON et al., 2009).

Nesse estudo, os elementos *cis-acting* que estão localizados a até 1000 pb anteriores ao sítio de transcrição dos genes serão contemplados.

1.6. GENÔMICA COMPARATIVA

Genômica Comparativa é o estudo das semelhanças e diferenças, em estrutura e função, da informação hereditária entre os *taxa*, através de ferramentas moleculares e computacionais. Particularmente nas plantas, é possível verificar que a evolução de porções pequenas, mas essenciais do genoma ocorre de forma relativamente lenta, possibilitando, entre espécies que divergiram há muito tempo, o reconhecimento tanto de regiões intragênicas comuns quanto de arranjos similares de genes ao longo dos cromossomos. Os desvios da colinearidade e sintenia se devem a diversos fatores, como

duplicações e segmentações cromossômicas, mobilidade de elementos transponíveis (transposons e retrotransposons), deleções de genes e rearranjos localizados (PATERSON et al. 2000).

Estudos comparativos das espécies sempre apresentaram grande importância científica para tentar elucidar aspectos evolutivos. Similaridades e diferenças entre genomas de espécies distintas podem ser estudadas pela genômica comparativa, um área da genética que permite a compreensão da função de tais genomas e os processos evolucionários atuantes (JARDIM, 2007).

A genômica comparativa tem se mostrado uma ferramenta poderosa para decifrar genes e evolução dos genomas, além de melhorar a anotação do genoma (LU et al., 2009).

O nível de conservação dos genes é um importante critério para determinar a extensão com que o conhecimento comparativo possa ser aplicado entre as espécies. As análises de genômica comparativa demonstraram que a ordem dos genes entre espécies de plantas relacionadas permanecem largamente conservadas ao longo dos milhões de anos de evolução. Desta forma, os principais objetivos destas pesquisas são comparar a organização de genomas relacionados, inferir sobre os processos básicos da evolução dos genomas, transferir a informação de espécies modelo para aquelas relacionadas, integrar a informação da localização do gene e a sua expressão nas espécies. (DEVOS, 2005).

Uma espécie amplamente utilizada em pesquisas de genômica comparativa é o arroz. Salvo os aspectos econômicos e culturais, o arroz também é considerado como espécie modelo, pois, entre os cereais é a espécie que possui o menor genoma entre outras espécies gramíneas de importância agrônômica. Possui um genoma composto por aproximadamente 430Mpb (milhões de pares de bases) de nucleotídeos, pequeno, quando comparado ao milho com 2500 Mpb, a cevada com 4900 Mpb e ao trigo com 16000 Mpb. Fatos referentes à importância econômica e científica do arroz estabeleceram a criação de um consórcio internacional denominado IRGSP (*International Rice Genome Sequence Project*) formado por vários países, incluindo o Brasil (IRGSP, 2005).

Segundo Maia (2007), mapas de genomas de trigo (*Triticum aestivum* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), centeio (*Secale cereale* L.), aveia (*Avena sativa* L.), milho (*Zea mays* L.), cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.),

arroz (*Oryza sativa*), milho (*Pennisetum americanum* L.) e capim setária (*Setaria itálica* L.) foram estudados por vários pesquisadores. Estes dados, combinados com a filogenia, permitem algumas generalizações sobre as estruturas destes genomas, e também conclusões sobre as direções de algumas mudanças, possibilitando deduzir que estes arranjos estão presentes ao longo das subfamílias e espécies gramíneas. O acúmulo de resultados em genômica comparativa tem transformado as gramíneas (principalmente cereais) num único sistema genético, assim os ganhos obtidos no conhecimento de uma espécie podem também beneficiar outros cereais menos favorecidas com investimentos tecnológicos (VARSHNEY et al., 2006).

Moore et al. (1995), Devos & Gale (1997) e Devos (2005) através de um Diagrama em Círculo (figura 4), elucidaram que mapas genéticos de gramíneas como aveia, trigo, milho, milho, sorgo, cana-de-açúcar e arroz representados por sondas comuns de DNA (marcadores RFLP) revelaram notável conservação no conteúdo e na ordem de genes.

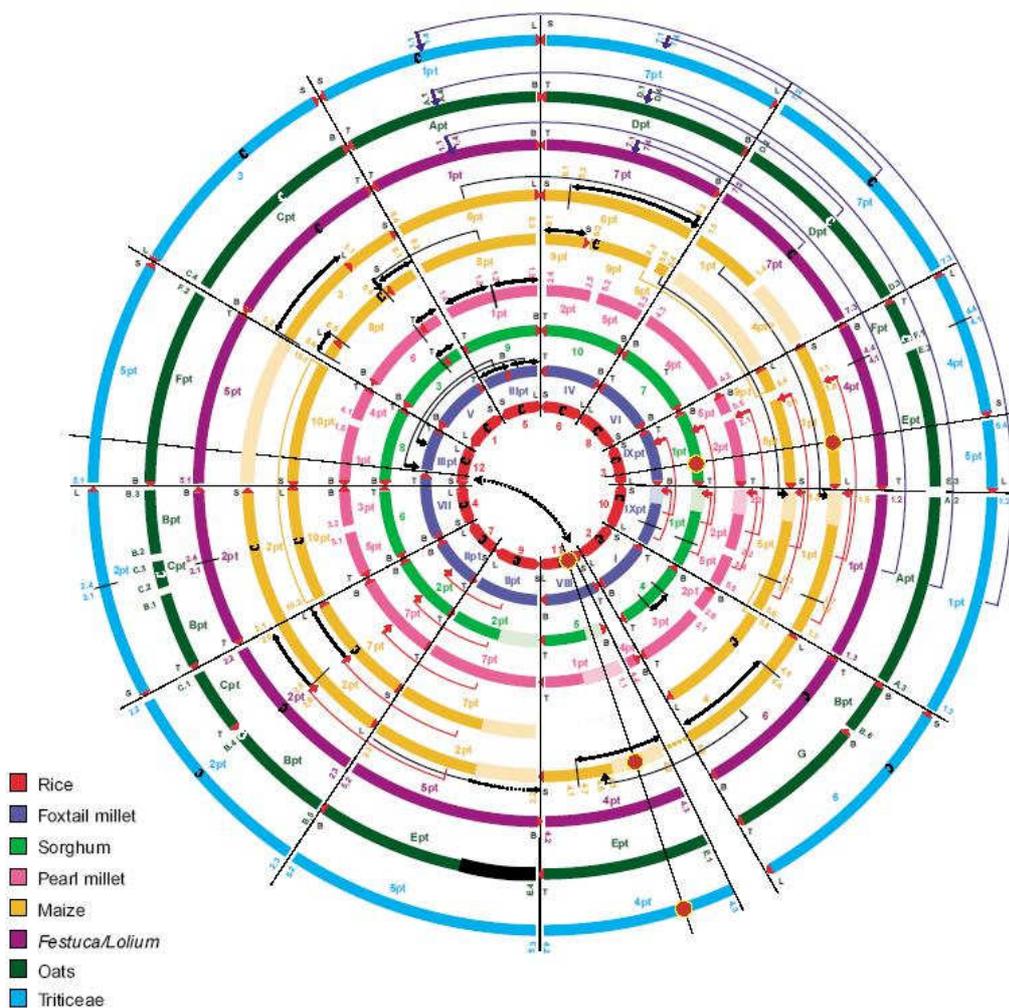


Figura 3. Diagrama em círculo, mostrando o alinhamento entre regiões conservadas em diferentes cromossomos nas diferentes gramíneas. Fonte: Devos (2005).

Arabidopsis é a espécie mais estudada no meio científico atual. Apesar de sua proximidade com outras espécies como nabo, repolho, couve, brócolis e canola, ela não possui importância econômica direta. *A. thaliana* é considerada uma planta daninha de pequena importância agrícola. Apesar disto, esta espécie vem sendo, há mais de 40 anos, o foco de muitas pesquisas na área da genética, bioquímica e fisiologia. *A. thaliana* foi a primeira planta, e o terceiro organismo multicelular depois de *Caenorhabditis elegans* (The *C. elegans* Sequencing Consortium, 1998) e *Drosophila melanogaster* (ADAMS et al. 2000), a ser completamente seqüenciada (The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000). A partir de 1980, a *A. thaliana* começou a ser amplamente utilizada em laboratórios de pesquisa vegetal em todo mundo, sendo um dos vários candidatos à planta modelo, que incluíam milho, petúnia e tabaco. O estabelecimento desta como

planta modelo preferencial ocorreu em 1986 quando foram publicados sua transformação genética, mediada por T-DNA, e o isolamento do primeiro gene (STACHEL et al., 1986). No ano de 2000 obteve-se o primeiro rascunho da seqüência de seu genoma, o que consolidou o uso desta como modelo (*The Arabidopsis Genome Initiative*, 2000). Segundo Bevan e Walsh (2006), a evolução do número de trabalhos publicados foi tão grande que, atualmente, são produzidos mais de 20 artigos por dia útil mencionando *A. thaliana*.

O primeiro modelo utilizado em biologia molecular foi da bactéria *Escherichia coli* (RILEY & LABEDAN, 1997; THOMAS, 1999; KARP et al., 2002). Em eucariotos, *Saccharomyces cerevisiae* tem sido amplamente estudada, devido à facilidade e rapidez de crescimento (KUCHARCZYK & RYTKA, 2001; SUTHERLAND et al., 2001). A mosca das frutas, *Drosophila melanogaster*, também é utilizada como modelo, sendo um organismo animal multicelular de fácil manipulação (PARSELL & LINDQUIST, 1993; STELLER, 1995; ADAMS et al., 2000; GUELMAN et al., 2006). *Caenorhabditis elegans* possui padrões de desenvolvimento bem definidos e pode facilmente ser avaliada em relação a anormalidades, sendo utilizada como modelo em estudos de desenvolvimento na biologia animal e humana (BRENNER, 1974; *The C. elegans Sequencing Consortium*, 1998; OH et al., 2006; PANG et al., 2006). Outros modelos usados na biologia humana incluem o camundongo (*Mus musculus*) e o anfíbio *Xenopus laevis*.

A genômica comparativa tem fornecido a base e estímulo para integrar o conhecimento para aplicação em todas as culturas de cereais (DEVOS & GALE, 2000).

1.7. SISTEMA RADICULAR

A exploração do solo é definida pelo crescimento do sistema radicular (FISHER et al., 2002). A importância do estudo do sistema radicular das espécies vegetais utilizadas na agricultura, sua distribuição, extensão e atividade, é de extrema valia e fundamental para o entendimento científico da produção agrícola. Se houver um dano no sistema radicular que cause uma considerável redução na sua superfície de absorção, o crescimento do sistema caulinar é reduzido pela falta de água, íons inorgânicos e hormônios produzidos pela raiz. Os hormônios

(particularmente as citocininas e giberelinas) sintetizados nas regiões meristemáticas da raiz são transportados, pelo xilema, para as partes aéreas, onde estimulam o crescimento e desenvolvimento. As raízes também sintetizam uma grande variedade de metabólitos secundários (RAVEN et al., 2001).

A maioria dos conhecimentos sobre as redes gênicas envolvidas no desenvolvimento radicular vem sendo acumulada na espécie *A. thaliana*, modelo de planta dicotiledônea. O arroz, modelo de espécies monocotiledôneas, apresenta várias particularidades quando comparado com *Arabidopsis*, incluindo a arquitetura radicular, caracterizada por um sistema radicular fibroso, composto por cinco tipos de raízes embrionárias e pós-embrionárias. A anatomia e morfologia do sistema radicular do arroz, típico de um cereal, difere da *Arabidopsis*, como por exemplo, a presença de um córtex lisogênico e presença de camadas adicionais de células (REBOUILLAT et al., 2008). O controle genético do desenvolvimento radicular vem sendo estudado principalmente pela análise de locos de caracteres quantitativos (QTLs) e através de uma alta gama de QTLs de pequeno efeito nos caracteres biomassa radicular, comprimento radicular e número de raiz (KAMOSHITA et al., 2002; LI et al., 2005; QU et al., 2008; STEELE et al., 2006; ZHENG et al., 2000; ZHENG et al., 2003; ZHENG et al., 2006). O mapeamento de QTLs de raiz é dificultado pela alta plasticidade do desenvolvimento radicular, necessitando de uma fenotipagem precisa e por sua vez, a necessidade de uma numerosa população para o mapeamento. Isso pode ser um fator que explique o motivo que nenhum QTL de desenvolvimento radicular tenha sido clonado em arroz, o mesmo valendo para *Arabidopsis*, apenas com uma única exceção (SERGEEVA et al., 2006).

Genes *argonautas* e proteínas relacionadas são efetores de mecanismos de silenciamento de RNA, em que mRNAs são clivadas, a tradução é suprimida, ou modificações epigenéticas são introduzidas no DNA (HAVECKER et al., 2010). Proteínas ARGONAUTAS são chamadas também de proteínas PPD, porque todas possuem os domínios PAZ e PIWI conservados (CERUTTI et al., 2000). Sorin et al. (2005) demonstraram que o gene *ago1* alterava a capacidade de produção de raízes adventícias (aumento de produção) em *Arabidopsis* em resposta a auxina exógena. *Ago1* foi o primeiro membro da família descoberto que é conservado entre os eucariotos (BOHMERT et al., 1998) e este gene está envolvido com a regulação pós transcricional no silenciamento de genes

(FAGARD et al., 2000; MOREL et al., 2002). Além disto, foi mostrado por Vaucheret et al. (2004) que o *ago1* desempenha um papel crucial na regulação da expressão gênica via micro RNA (miRNA). Segundo Miyashima et al. (2009) o gene *ago1* atua na padronização radial da raiz e a perda de função desse gene perturba a assimetria radial do tecido radicular.

Em *Arabidopsis* o gene *cullin3* está envolvido com a regulação do crescimento e o padrão das raízes primárias, sendo essencial para a divisão e organização das células radiculares. Cullin3 juntamente com proteínas com domínio BTB formam uma classe de enzimas chamadas CULLIN-RING UBIQUITINA LIGASE que controlam a degradação rápida e seletiva de importantes proteínas reguladoras em todos os organismos eucariotos (THOMANN et al., 2009). Genes *small-GTP binding* são responsáveis por diversas funções diferentes nas plantas, entre elas, nas vias de secreção. Uma subfamília desses genes são os chamados *Rabs*. Matsui et al. (1989) e Anai et al. (1991) identificaram uma família de proteínas RAB em *Arabidopsis thaliana* e as nomearam como proteínas ARA. Nas plantas, o crescimento polarizado das células requer nova deposição da parede celular e é dependente da secreção polarizada da vesícula de carga, com as RAB GTPASES mediando a triagem e o transporte dessa carga dentro da membrana celular (ZERIAL & MCBRIDE, 2001). Preuss et al. (2004) mostrou que uma RAB GTPASE está localizada nos compartimentos celulares das membranas dos pêlos radiculares, aonde tem função de regular a secreção polarizada. O estabelecimento de polaridade é um aspecto essencial da diferenciação celular nos eucariotos, exigindo um transporte assimétrico das membranas e proteínas nas vias de tráfico (THOLE et al., 2008).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Seqüências de DNA dos genes das famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* de *Arabidopsis* foram obtidas dos bancos de dados do *National Center for Biotechnology Information* – NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Após, genes que apresentaram similaridade com essas famílias foram encontrados em arroz (*Oryza sativa* L.) utilizando as ferramentas BLASTn e BLASTp. Seqüências com E-value menor ou igual que $1e^{-10}$ e com mínimo de 70% de cobertura entre proteínas, foram consideradas como candidatas. Baseados nas informações de localização dos genes no NCBI, através da visualização com a ferramenta Map Viewer, foram selecionadas seqüências de DNA a 1000 pb (pares de bases) da região promotora destes genes (região upstream).

As regiões promotoras dos genes foram investigadas quanto à abundância de elementos *cis-acting*. As seqüências foram analisadas utilizando o programa “*Signal Scan Search*” do portal “*Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements*” (PLACE) (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) para a identificação dos diferentes elementos *cis-acting* presentes em cada uma das regiões promotoras. O portal PLACE é um banco de dados de motivos de seqüências nucleotídicas encontrados em elementos *cis-acting* regulatórios de DNA (Higo *et al.*, 1999; Prestridge *et al.*, 1991). O banco de dados do PLACE contém uma breve definição e descrição de cada um dos motivos, e literatura relevante com números de ID do PubMed e números de acesso dos bancos de dados de seqüências nucleotídicas DDBJ/EMBL/GenBank também estão inclusas.

Após a submissão no PLACE, foram obtidos os elementos *cis-acting* encontrados nas famílias gênicas, e posteriormente os mesmos foram submetidos a uma análise estatística, com a hipótese que os motivos encontrados não apresentem uma distribuição ao acaso no genoma. Para o cálculo desta análise, foi utilizado o cálculo do teste Z, a distribuição de nulidade para cada motivo foi modelada pela contagem do número de ocorrência de cada base dentro dessa região e o número de ocorrência no genoma do arroz. Para o cálculo do valor Z, foi realizada a diferença do número de ocorrência do motivo para cada região upstream dos genes estudados (OP) pela média de ocorrência do elemento no genoma (OG) e dividida pelo desvio padrão (DP), $Z=(OP-OG)/DP$. Desde modo, o cálculo de probabilidade (p) para cada motivo foi realizado da seguinte forma, $p =$

1 – z (tabelado, a 5% de probabilidade), os motivos que apresentaram valor p igual ou inferior a 5% foram considerados como ocorrência não aleatória no genoma, tal estratégia foi utilizada por Nemhauser et al. (2004), para análise de elementos *cis-acting* de regiões promotoras de genes relacionados com brassinosteroides e auxina em arabidopsis.

Para a verificação do padrão de expressão destes genes nas diferentes categorias anatômicas da planta foi utilizado o programa GENEVESTIGATOR (HRUZ et al., 2008). O GENEVESTIGATOR possui um banco de dados com informações de expressão gênica de alta qualidade ao qual foi manualmente curado. O programa reúne centenas de informações de experimentos de microarranjos, permitindo aos pesquisadores o estudo prévio de expressão e regulação dos genes em diferentes tecidos, diferentes estágios de desenvolvimento, resposta a estímulos e modificações genéticas.

Para os elementos *cis-acting* comuns nas famílias gênicas estudadas, foi realizada uma classificação funcional dos genes de acordo com os bancos Gene Ontology (GO) e o InterPRO. O GO serve para a descrição do produto gênico e o InterPRO é um banco de dados de famílias de proteínas e características relacionadas, sendo que estes dois bancos são geralmente utilizados na classificação gênica.

Os elementos mais comuns foram agrupados em tabelas (quantidades) e figuras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise de similaridade entre genes das famílias gênicas *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* de *Arabidopsis thaliana*. Os dados foram obtidos através de análise das ferramentas BLASTN e BLASTP. Foram identificados seis genes da família *Argonauta*, três da família *Cullin* e seis da *ARA* de *Arabidopsis thaliana* em *Oryza sativa* subsp. *japonica*. Esses genes estão apresentados na Tabela 1, na qual são mostrados os cromossomos em que estão localizados os genes, a sua localização dentro do cromossomo, o seu tamanho e o número de exons.

Os seis genes *Argonauta* estão presentes em quatro dos 12 cromossomos que compõem o genoma do arroz. Destes seis locos, o gene *Ago1* está localizado no cromossomo 2, o cromossomo 3 possui 2 genes (*Ago5* e *Ago7*), assim como o cromossomo 4 (*Ago2* e *Ago4*), no cromossomo 7 está localizado o gene *Ago6*. Os genes *Ago1* e *Ago5* apresentaram maiores números de exons, ambos com 23 e também, foram os que apresentaram os maiores tamanhos, 11.557 pb para *Ago1* e 8.687 pb para *Ago5*, seguidos pelo *Ago4* com 22 exons e 7.416 pb. Os genes, *Ago6*, *Ago2* e *Ago7*, apresentaram 11, 3 e 3 exons e tamanhos de 7.557, 4.245 e 4.006 pb, respectivamente.

Em relação à família gênica *Cullin*, os genes estão localizados em três cromossomos distintos, o gene *Cul1* no cromossomo 1, *Cul2* no cromossomo 5 e o *Cul3* no cromossomo 2. Os genes *Cul1* e *Cul2* apresentaram as maiores quantidades de exons e os maiores tamanhos, com 18 exons cada, e tamanho de 8.561 pb e 6.640 pb, respectivamente, o gene *Cul3* apresentou 3 exons e 3.013 pb.

A família *Ara* é a que mais possui genes espalhados pelos cromossomos, cada loco está localizado em um cromossomo distinto. Os genes *Ara1* até o *Ara6* estão localizados nos cromossomos, 2, 6, 7, 8, 1 e 10, respectivamente. O gene *Ara1* apresentou o maior número de exons (28) e o maior tamanho (8.533 pb), os genes *Ara2* e *Ara4* foram os que possuíram menores quantidades de exons, ambos com 2, os locos *Ara3*, *Ara5* e *Ara6* apresentaram 8 exons.

Tabela 1- Distribuição, tamanho e número de exons de genes de *Oryza sativa* subsp. *japonica* similares aos de *Arabidopsis thaliana*.

Gene	Cromossomo	Localização (pb)	Tamanho (pb)	Exons
<i>Ago1</i>	2	27360225-27348668	11.557	23
<i>Ago2</i>	4	31273104-31277349	4.245	3
<i>Ago4</i>	4	3539549-3532133	7.416	22
<i>Ago5</i>	3	33166818-33158131	8.687	23
<i>Ago6</i>	7	9500265-9492708	7.557	11
<i>Ago7</i>	3	19050105-19054171	4.006	3
<i>Cullin1</i>	1	15121438-15112877	8.561	18
<i>Cullin2</i>	5	2780451-2773811	6.640	18
<i>Cullin3</i>	2	31331260-31328247	3.013	2
<i>Ara1</i>	2	2239219-2230686	8.533	28
<i>Ara2</i>	6	20553833-20548315	5.518	2
<i>Ara3</i>	7	7778914-7775125	3.789	8
<i>Ara4</i>	8	26116255-26113359	2.896	2
<i>Ara5</i>	1	4163307-4159622	3.685	8
<i>Ara6</i>	10	15355133-15359394	4.261	8

A Figura 2 mostra o resultado da análise com o programa GENEVESTIGATOR (HRUZ et al., 2008) para os genes de *Argonauta*, a Figura 3 para os genes *Cullin* e a Figura 4 os genes *Ara*. Todos os 15 genes das três famílias estão expressos em tecido radicular de arroz. Além da raiz, os genes estão expressos em vários outros tecidos de plantas de arroz, comprovando sua participação em diversos processos celulares e participação em diversas vias de regulação (UEDA et.al., 1996; MIYASHIMA et al., 2009; THOMANN et al., 2009;).

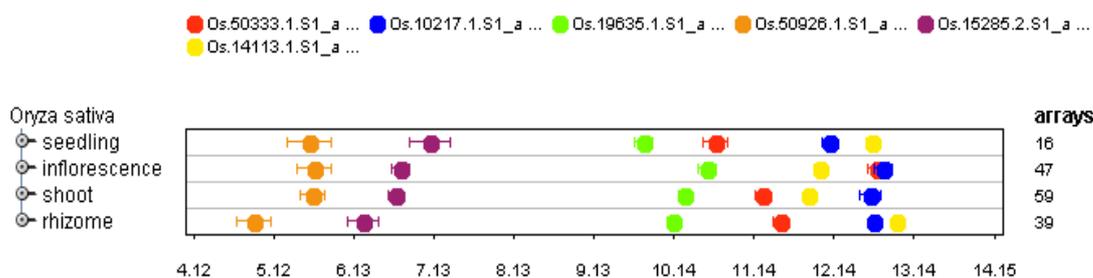


Figura 4 – Taxa de expressão dos genes *Argonauta* em diferentes tecidos de arroz. Vermelho = *ago1*, azul = *ago2*, verde = *ago4*, laranja = *ago5*, roxo = *ago6* e amarelo = *ago7*.

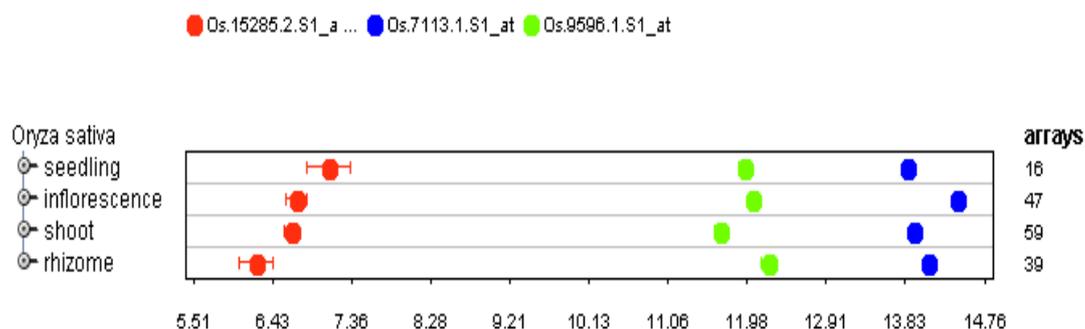


Figura 5 – Taxa de expressão dos genes *Cullin* em diferentes tecidos de arroz. Vermelho = *cullin1*, azul = *cullin2*, verde = *cullin3*.

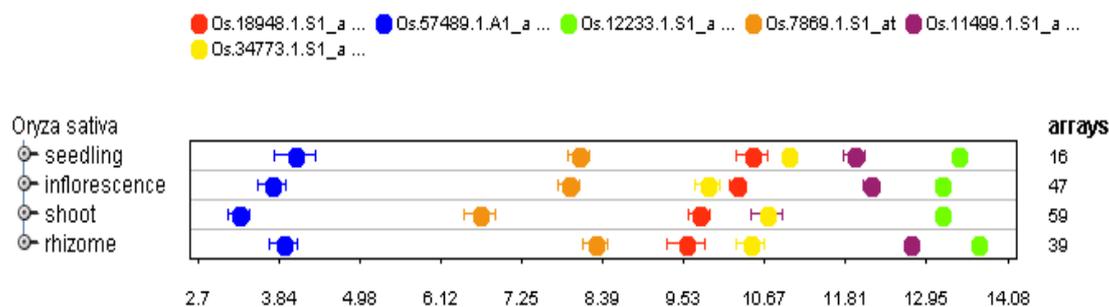


Figura 6 – Taxa de expressão dos genes *Ara* em diferentes tecidos de arroz. Vermelho = *ara1*, azul = *ara2*, verde = *ara3*, laranja = *ara4*, roxo = *ara5* e amarelo = *ara6*.

O resultado prévio de ocorrência dos elementos *cis-acting* nas famílias gênicas estudadas demonstrou 151 diferentes desses elementos, descritos no portal PLACE. Porém, 96 destes (64%), foram identificados com ocorrência significativa no genoma, após a análise com o teste Z, e considerados como

ocorrência não ao acaso no genoma. Esses elementos *cis-acting* encontrados foram distribuídos entre as famílias gênicas estudadas. A família *Ara* apresentou a maior quantidade de diferentes elementos *cis-acting*, com 66 destes elementos, seguida por *Ago* (52 elementos) e *Cullin* (24 elementos). A maioria destes elementos estão presentes em um loco de cada família gênica (82%) e 18% estão presentes em dois ou mais locos dentro de cada família. Na família *Argonauta*, 19 elementos *cis-acting* estão presentes unicamente nesta família, em *Ara* foram encontrados 31 e para a família *Cullin*, cinco elementos *cis-acting*. A menor ocorrência na família *Cullin* pode ser explicada pelo menor número de locos (Figura 4). A grande quantidade total, assim como a maior quantidade de alguns de elementos *cis-acting*, e a maior presença de alguns elementos específicos em alguns locos mostram a complexidade do controle genético destas famílias gênicas.

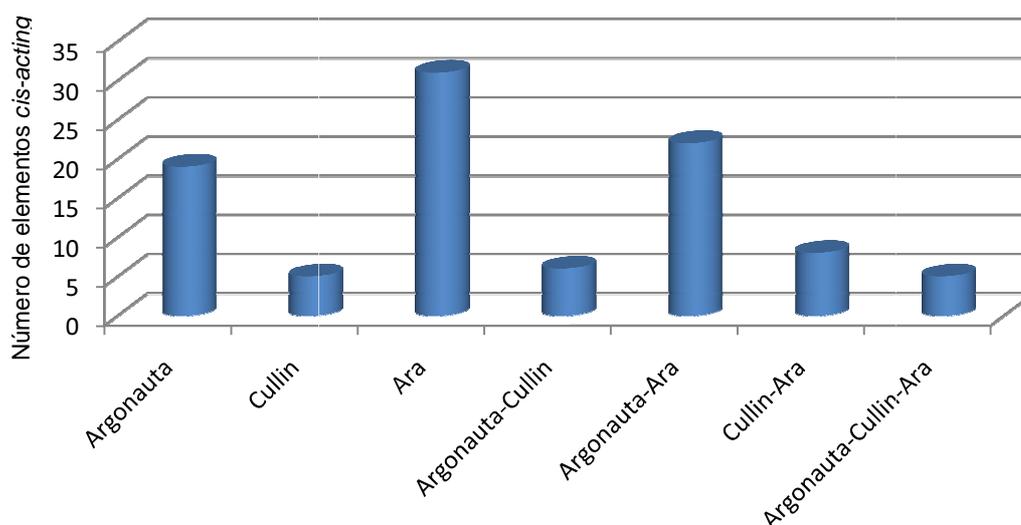


Figura 7 - Ocorrência de elementos *cis-acting* nas famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* em *Oryza sativa* subsp. *japonica*.

Na Tabela 2 são apresentadas informações referentes aos elementos *cis-acting* mais comuns encontrados em cada loco. A média de ocorrência de elementos *cis-acting* foi de 25 ocorrências, variando de 12 a 43, sendo que em média, 12 diferentes elementos *cis-acting* foram encontrados por locos. Os genes da família *Argonauta* com maiores ocorrências de elementos foram, *Ago6* (43) e *Ago4* (31), em *Cullin* o gene *Cullin2* apresentou a maior ocorrência (33) e em *Ara*,

as maiores ocorrências de elementos *cis-acting* nesta família foram em *Ara4*, *Ara2* e *Ara6*, com 43, 39 e 34 ocorrências, respectivamente.

Os genes que apresentaram o maior número de diferentes elementos *cis-acting* em sua região promotora, não necessariamente foram os mesmos que revelaram as maiores ocorrências totais, como é o caso do *Ago6*, *Cullin3*, e *Ara6*. Porém, de forma geral, o número médio de repetições de cada elemento *cis-acting* foi maior naqueles locos que apresentaram o menor número de diferentes elementos, como no caso dos genes *Ago6*, *Cullin2* e *Ara6* os quais apresentaram o maior número médio de repetições.

O número de elementos *cis-acting* por loco juntamente com a ocorrência total dos diferentes elementos, indicam que existe uma grande quantidade e diversidade de elementos *cis-acting* presentes nas regiões promotoras das famílias gênicas *Argonauta*, *Cullin* e *Ara*.

Levando em consideração os diferentes elementos *cis-acting* por locos, na família *Argonauta*, os genes que apresentaram maiores quantidades destes elementos foram em *Ago4*, *Ago5* e *Ago6*, com 14, 12 e 11 elementos, respectivamente, em *Cullin* os genes *Cullin3* e *Cullin2*, com 11 e 10 elementos foram os locos com maiores quantidades, e em *Ara*, nos locos, *Ara2* e *Ara4*, com 17 e 16 elementos. Além destes dados, ainda são apresentados os nomes dos elementos *cis-acting* mais comuns encontrados em cada loco, com o número de repetições em parênteses. Alguns elementos *cis-acting* apresentaram grandes quantidades de repetições em alguns locos, como o elemento CAATBOX1 que apresentou 11 cópias na região promotora dos genes *Ago6* e 9 cópias em *Ara4* e ARR1AT com 11 cópias em *Cullin2*.

Tabela 2- Genes das três famílias gênicas estudadas (*Argonauta*, *Cullin* e *Ara*) do genoma de *Oryza sativa* subsp *japonica* cv. Nipponbare, com os respectivos cromossomos, quantidade de elementos, número de diferentes elementos por loco, número médio de cada elemento, elementos mais comuns, respectivo número de ocorrências por loco.

Loco	Quantidades de elementos	Diferentes elementos por loco	Número médio de cada elemento por loco	Elementos mais comuns (número de ocorrência no locos)
Ago1	17	10	1,7	TAAAGSTKST1 (3)
Ago2	14	10	1,4	EECCRCAH1 (3)
Ago4	31	14	2,2	NODCON1GM (5), OSE1ROOTNODULE (5)
Ago5	18	12	1,5	DPBFCOREDCCDC3 (3), INRNTPSADB (3)
Ago6	43	11	3,9	CAATBOX1 (11), EBOXBNNAPA (8), MYCCONSENSUSAT (8)
Ago7	12	9	1,3	POLASIG1 (3)
Cul1	21	7	3,0	ROOTMOTIFTAPOX1 (7), RAV1AAT (5), CCAATBOX1 (4)
Cul2	33	10	3,3	ARR1AT (11), GTGANTG10 (7)
Cul3	19	11	1,7	MYB2CONSENSUSAT (3), QELEMENTZMZM13 (3), BIHD1OS (3)
Ara1	16	11	1,5	POLASIG1 (3), CATATGGMSAUR (3)
Ara2	39	17	2,3	WRKY71OS (8), WBOXNTERF3 (5), MYBST1 (4)
Ara3	29	12	2,4	ROOTMOTIFTAPOX1 (7), POLLEN1LELAT52 (7)
Ara4	43	16	2,7	CAATBOX1 (9), RAV1AAT (4)
Ara5	13	10	1,3	RAV1AAT (4)
Ara6	34	13	2,6	CURECORECR (8), ACGTATERD1 (6), MYBCORE (4)

A tabela 3 mostra os elementos *cis-acting* associados com as três famílias gênicas, apresentando suas sequências (motivos), número total de cada elemento *cis-acting*, seu mecanismo de ação e referências. Cinco elementos *cis-acting* comuns as famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* foram encontrados, os elementos GAREAT (TAACAAR), TGACGTVMAMY (TGACGT), CCAATBOX1 (CCAAT), LECPLEACS2 (TAAAATAT) e SV40COREENHAN (GTGGWWHG), com o número de ocorrências na região promotora dos genes de 5, 5, 4, 3 e 3 cópias, respectivamente. Esses elementos estão presentes em pelo menos um loco de cada família. Os resultados encontrados podem sugerir uma maior importância responsiva destes elementos *cis-acting* aos fatores de transcrição específicos nos seus respectivos locos. Para Schwechheimer e Bevan (1998), a especificidade da expressão gênica depende dos elementos *cis-acting* presentes na região promotora, e as interações de fatores de transcrição específicos com os mesmos. Além disso, estas curtas seqüências de DNA determinam o tempo, a localização e o nível da expressão gênica e possuem uma grande abundância dos motivos presentes dentro e entre os locos (PENNACCHIO e RUBIN, 2001). O elemento GAREAT, está associado à resposta ao hormônio giberelina (SKRIVER et al., 1991), segundo Gubler et al., (1995) a transcrição gênica é ativada quando o fator de transcrição *HvGAMYB* é ligado a este elemento *cis-acting*, e segundo Salisbury e Ross (1991), na maioria das espécies, as giberelinas atuam no alongamento celular, fazendo com que a raiz primária rompa os tecidos que restringem o seu crescimento, como o endosperma, o tegumento da semente ou estruturas do fruto. Segundo Yamauchi (2001) o elemento TGACGTVMAMY está relacionado com a enzima α -amilase, este elemento atua no aumento de expressão desta enzima em cotilédones de sementes em germinação de *Vigna mungo*. O elemento *cis-acting* CCAATBOX1 está presente nos genes *hsp90-1*, a família desse gene é preferencialmente expressa em tecidos com rápida divisão celular como o ápice das raízes (KONING et al., 1992; HARALAMPIDIS et al., 2002). Segundo Matarasso et al. (2005) o elemento LECPLEACS2 foi identificado na região promotora de genes da enzima ACS (1-aminoacilopropano-1-ácido carboxílico sintase) de tomate (*Lycopersicon esculentum*), essa proteína está localizada no citosol e catalisa a primeira reação da biossíntese de etileno (YANG e

HOFFMANN, 1984), além das outras diversas funções do etileno nas plantas, esse hormônio promove a formação de raízes adventícias e também é considerado como um regulador positivo na formação de pêlos radiculares em várias espécies (TAIZ e ZEIGER, 2006). O elemento SV40COREENHAN foi identificado na região promotora de genes *RBCS* de *Arabidopsis thaliana*, esse gene atua como regulador da enzima ADH (DONALD e CASHMORE, 1990), essa proteína atua em diversos processos celulares, entre eles a sobrevivência de raízes de milho em estresse por hipoxia (ROBERTS et al., 1989).

Tabela 3- Relação dos elementos *cis-acting* comuns encontrados na região promotora dos genes das famílias *Argonauta*, *Cullin* e *Ara* em *Oryza sativa* subsp *japonica* cv. Nipponbare.

Nome do elementos	Sequência do elemento	Número total de cada elemento em todos locos	Mecanismo de atuação	Referências
GAREAT	TAACAAR	5	Ácido Giberélico	Ogawa et al.(2003).
TGACGTMAMY	TGACGT	5	ALFA AMILASE	Yamauchi (2001).
CCAA TBOX1	CCAAT	4	HSE	Rieping e Schoffl (1992); Haralampidis (2002); Wenkel et al. (2006)
LECPLEACS2	TAAAATAT	3	Etileno	Matarasso et al.(2005).
SV40COREENHAN	GTGGWWHG	3	ADH	Weilher et al. (1983); Green et al. (1987); Donald e Cashmore (1990).

Os elementos *cis-acting* mais comuns às três famílias gênicas estudadas foram analisados quanto a sua distribuição total no genoma do arroz (quanto a presença em regiões promotoras de todos genes de arroz). A tabela 4 apresenta o número total de genes em que estão presentes os elementos *cis-acting* comuns e o número de genes que apresentam informação no *Gene Ontology* (GO) e ou INTERPRO. Em média 46% do total do total de genes em que se encontram os elementos a informação foi encontrada em um dos dois bancos de dados analisados. Posteriormente estes genes foram classificados em 14 categorias funcionais (fotossíntese, biossíntese, resposta a estímulos, transporte, estrutura celular/biogênese, catabolismo, metabolismo protéico, metabolismo mineral, metabolismo de carboidrato, outros, fator de transcrição, transdução de sinal, metabolismo energético e metabolismo de ácidos nucléicos), de acordo com os bancos GO e InterPRO.

Tabela 4- Número de genes que apresentaram os elementos *cis-acting* comuns as famílias gênicas *Argonauta*, *Cullin* e *Ara*.

Nome do elementos	Total de genes	Total de genes com informação no GO e ou INTERPRO	%
GAREAT	4.963	2.293	46
TGACGTVMAMY	3.423	1.534	45
CCAATBOX1	2.775	1.331	48
LECPLEACS2	3.229	1.524	47
SV40COREENHAN	3.011	1.330	44

As figuras 6, 7, 8, 9 e 10 apresentam a classificação dos genes com os os elementos *cis-acting* GAREAT, TGACGTVMAMY, CCAATBOX1, LECPLEACS2 e SV40COREENHAN, respectivamente. De um modo geral, os genes envolvidos com o metabolismo de ácidos nucléicos, foram os mais abundantes na maioria das classificações dos genes (22% dos genes que apresentam o elemento TGACGTVMAMY, 13% dos genes com CCAATBOX1 e LECPLEACS2). A taxa de genes envolvidos com transdução de sinal e fatores de transcrição também foi alta. Fator de transcrição não é uma categoria isolada do GO, porém nesse trabalho ela foi separada da transdução de sinal, devido a sua relevância neste estudo.

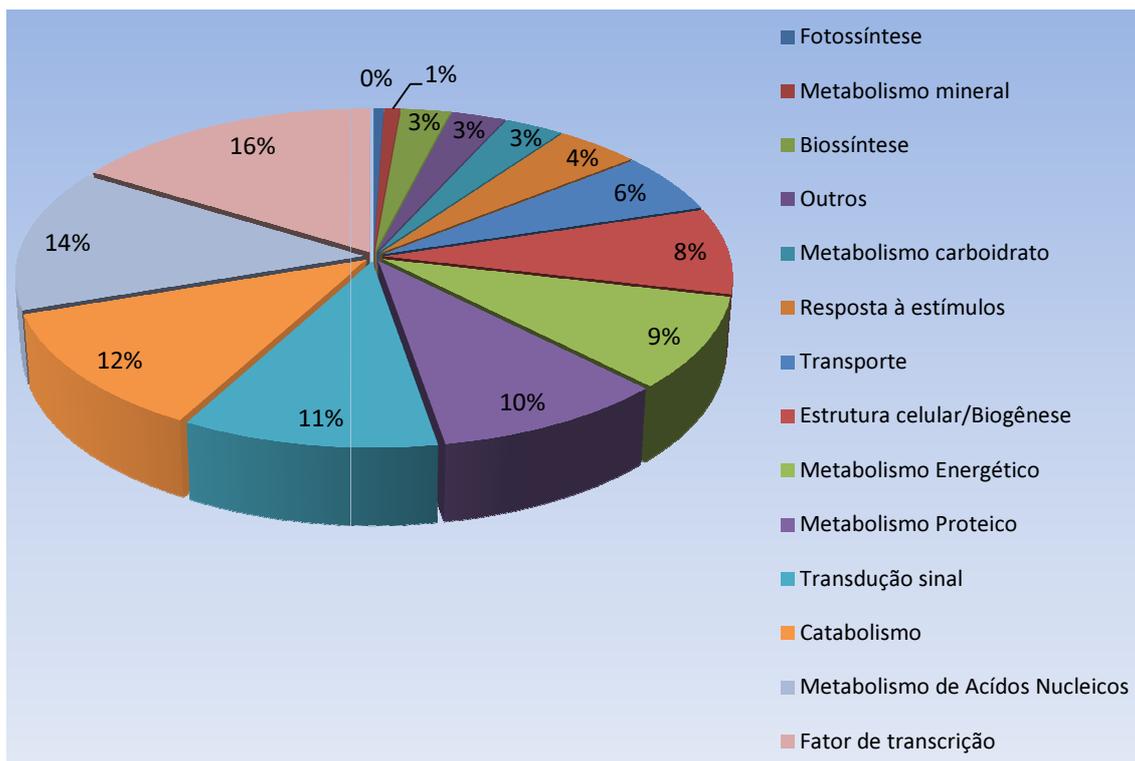


Figura 8 - Classificação funcional dos genes com o elemento *cis-acting* GAREAT presente nas regiões promotoras.

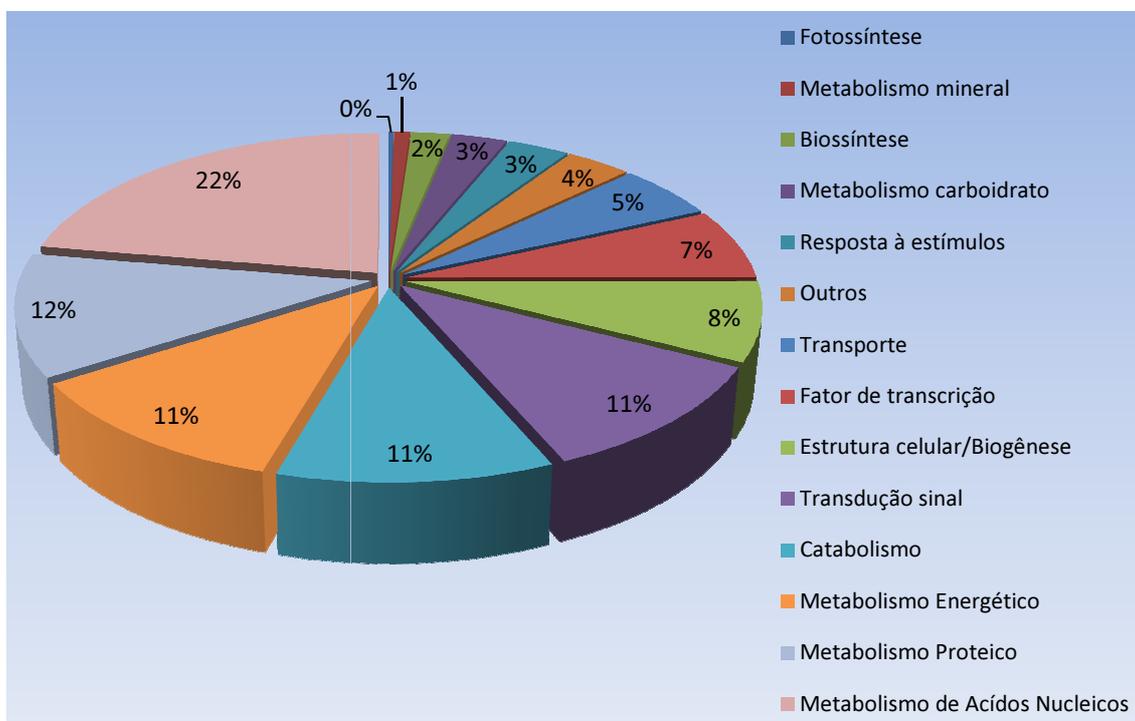


Figura 9 - Classificação funcional dos genes com o elemento *cis-acting* TGACGTVMAMY presente nas regiões promotoras.

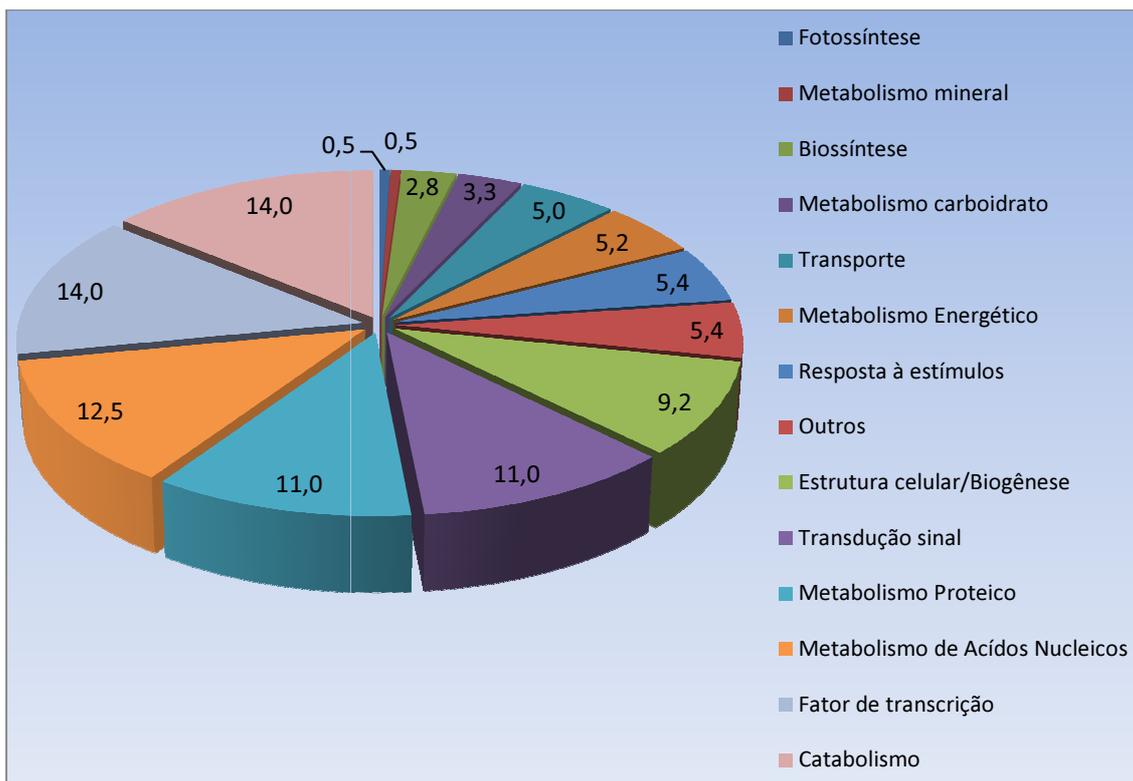


Figura 10 - Classificação funcional dos genes com o elemento *cis-acting* CCAATBOX1 presente nas regiões promotoras.

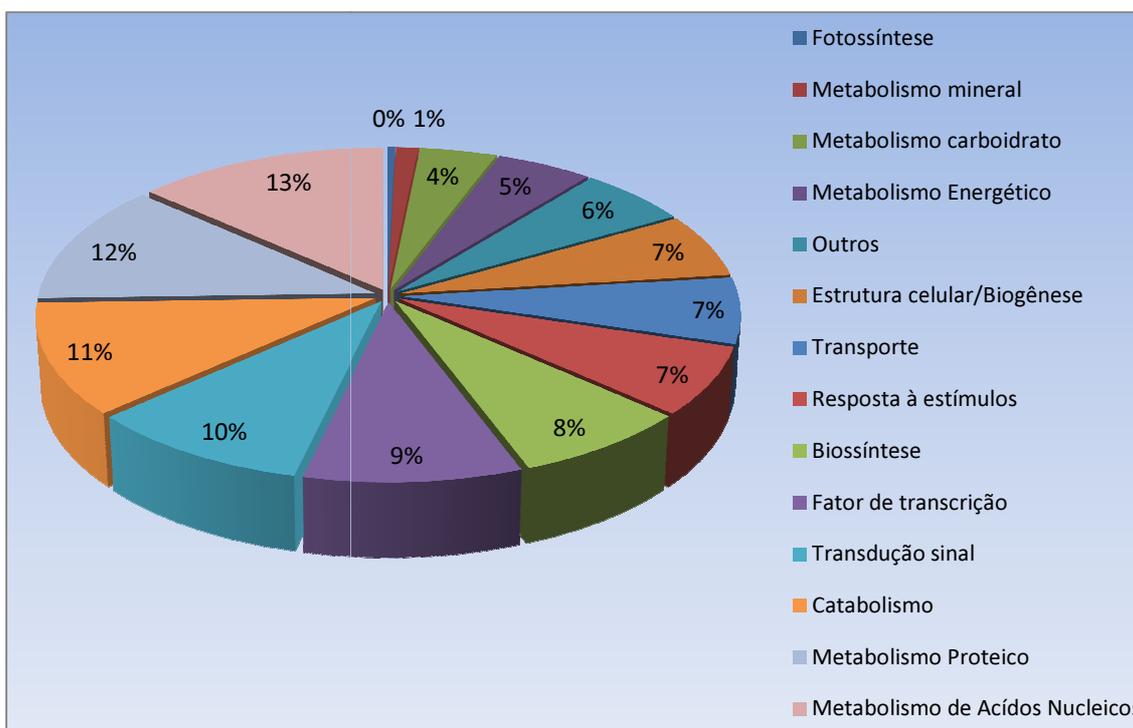


Figura 11 - Classificação funcional dos genes com o elemento *cis-acting* LECPLEACS2 presente nas regiões promotoras.

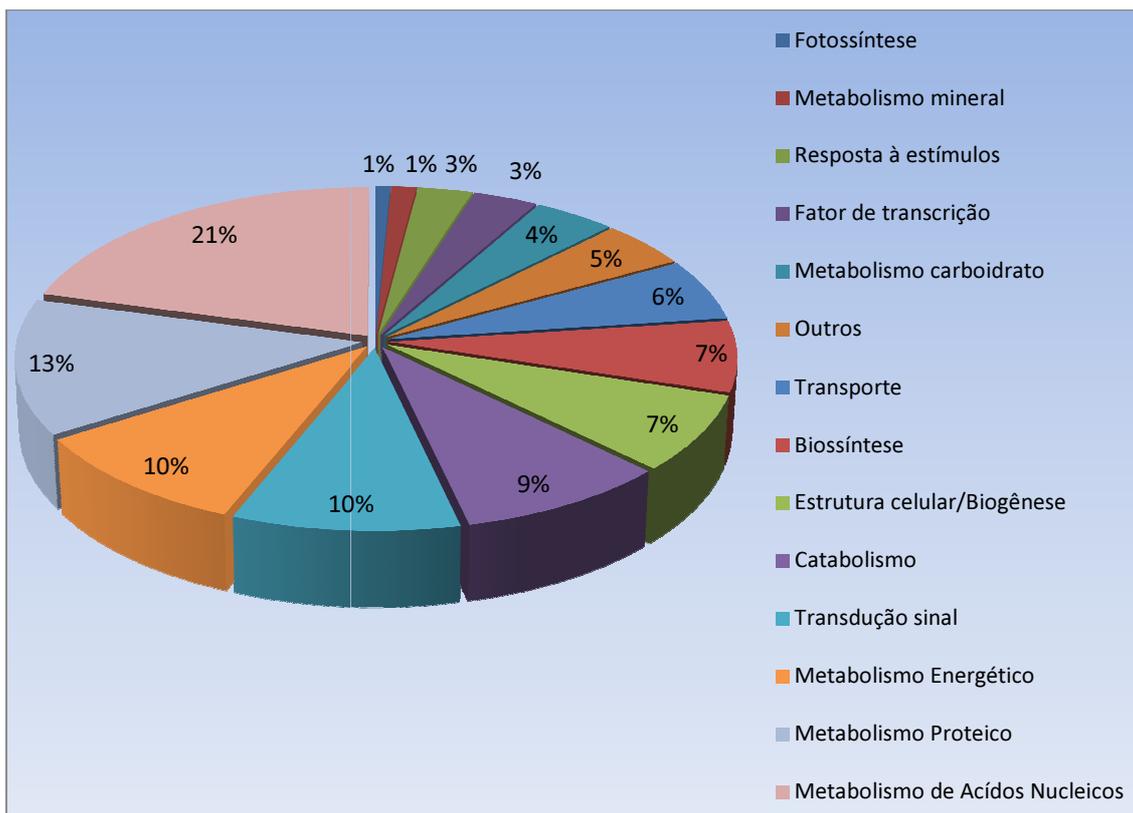


Figura 12 - Classificação funcional dos genes com o elemento *cis-acting* SV40COREENHAN presente nas regiões promotoras.

A identificação de um grande número de genes envolvidos com o metabolismo de ácidos nucléicos e transdução de sinal, que contém os cinco elementos comuns as três famílias gênicas estudadas, é um indicativo que esses elementos possuem um importante papel na regulação gênica, entretanto, é necessário um estudo futuro, mais aprofundado, nesses genes e famílias gênicas para identificar e analisar se exercem funções diretas com desenvolvimento radicular, onde mecanismos envolvidos são extremamente complexos. Portanto, a compreensão dos mesmos, tanto em nível fisiológico quanto molecular contribuirá, com pesquisas que visam o entendimento dessa característica, principalmente na regulação da transcrição, onde os elementos *cis-acting* desempenham um papel fundamental

Os resultados indicam que existem elementos *cis-acting* comuns nas três famílias gênicas estudadas. Porém, além da utilização de futuros algoritmos de bioinformática, é necessária também, a utilização de ferramentas de biotecnologia, como, sequenciamento, clonagem de promotores, transformação e análise de expressão gênica para a validação da participação

desses elementos na regulação de genes responsáveis pelo desenvolvimento radicular, e até mesmo, para a identificação de outros elementos cis-acting envolvidos com essa característica.

4. CONCLUSÕES

Foram encontrados 15 genes de *Oryza sativa* subsp. *japonica* similares aos de *Arabidopsis thaliana* das três famílias gênicas estudadas.

Um total de 96 diferentes elementos *cis-acting* estão presentes na região promotora de genes membros das famílias *Argonautas*, *Cullin* e *Ara* em *Oryza sativa* subsp. *japonica*.

Os elementos *cis-acting*, GAREAT (TAACAAR), TGACGTVMAMY (TGACGT), CCAATBOX1 (CCAAT), LECPLEACS2 (TAAAATAT) e SV40COREENHAN (GTGGWWHG) são comuns as três famílias gênicas *Argonautas*, *Cullin* e *Ara* de *Oryza sativa* subsp. *japonica*.

5. BIBLIOGRAFIA

ACEITUNO, F.F.; MOSEYKO, N.; RHEE, S.Y.; GUTIÉRREZ, R.A. The rules of gene expression in plants: Organ identity and gene body methylation are key factors for regulation of gene expression in *Arabidopsis thaliana*. **BMC Genomics**, v.9 p438, 2008.

ADAMS, M.D. *et al.* The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. **Science**, v.287, n.5461, p.2185-2195, 2000.

ALLARD, R.W. Princípios do melhoramento genético das plantas. **Editora Edgard Blucher**, São Paulo, 1971.

ANAI, T.; HASEGAWA, K.; WATANABE, Y.; UCHIMIYA, H.; ISHIZAKI, R.; MATSUI, M. Isolation and analysis of cDNAs encoding small GTP-binding proteins of *Arabidopsis thaliana*. **Gene** v.108, n.2, p.259-264, 1991.

ARNOSTI, D.N. Analysis and function of transcriptional regulatory elements: Insights from *Drosophila*. **Annual Review of Entomology**, v.48, p.579–602, 2003.

AZAMBUJA, I. H. V; VERNETTI Jr., F. J; MAGALHÃES Jr., A. M. Aspectos socioeconômicos da produção do arroz. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES Jr., A. M. de (Eds técnicos). **Arroz Irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

BALLAS, N.; WONG, L.M.; Identification of the auxin-responsive element, AuxRE, in the primary indoleacetic acid-inducible gene of pea (*Pisum sativum*). **Journal of Molecular Biology**. v.233, n.4, p.580-596, 1993.

BAILEY, N.T.J. **Introduction to the mathematical theory of genetic linkage**. London: Oxford University Press, 1961. 421p.

BANERJI, J.; RUSCONI, S.; SCHAFFNER, W. Expression of a beta-globin gene is enhanced by remote SV40 DNA sequences. **Cell**, v.27, 299–308, 1981.

BENNETZEN, J. The rice genome: Opening the door to comparative plant biology. **Science**, v.296, n.5565, p.60-63, 2002.

BENNETZEN, J.L.; MA, J. The genetic colinearity of rice and other cereals based on genomic sequence analysis. **Current Opinion in Plant Biology**. v.6, p.128-133, 2003.

BEVAN, M.; WALSH, S. The Arabidopsis genome: a foundation for plant research. **Genome Research**, v.12, n.15, 1632-1642, 2006.

BLACKWOOD, E.M.; KADONAGA, J.T. Going the distance: a current view of enhancer action. **Science**, v.281, p.60–63, 1998.

BOHMERT, K.; CAMUS, I.; BELLINI, C.; BOUCHEZ, D.; CABOCHE, M.; BENNING, C. AGO1 defines a novel locus of Arabidopsis controlling leaf development. **Embo Journal**, v.17, n.1 p.170–180, 1998.

BOTELHO, C. **O arroz**. São Paulo: Typografia Levi, 525 p., 1914.

BRAND, A.H.; PERRIMON, N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. **Development**, v.118, p.401–415, 1993.

BRENNER, S. Genetics of *Caenorhabditis elegans*. **Genetics**, v.1, n.77, p.71-94, 1974.

BRIVANLOU, A.; DARNELL, J. Signal transduction and the control of gene expression. **Science**, v.295, n.5556, p.813–818, 2002.

BROWN, C.M.; FORSBERG, R.A. Oat. In: FEHR, W.R. Principles of cultivar development. New York. **Crop Species**, 760p., 1987.

BRUNNER S, KELLER B, FEUILLET C. A large rearrangement involving genes and low-copy DNA interrupts the microcollinearity between rice and barley at the Rph7 locus. **Genetics**. v.164, p.673-683, 2003.

BURLEY, S.K.; ROEDER, R.G. Biochemistry and structural biology of transcription factor IID (TFIID). **Annual Review of Biochemical**, v.65, p.769–799, 1996.

CANTÃO, F. R. O. **Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio**. M.Sc. UFLA, Lavras, MG, 2007.

CARVALHO, F.I.F.; LORENCETTI, C.; MARCHIORO, V.S.; SILVA, S.A. **Condução de populações no melhoramento genético de plantas**. Editora e gráfica Universitária - UFPel, 2008.

CERUTTI, L.; MIAN, N.; BATEMAN, A. Domains in gene silencing and cell differentiation proteins: The novel PAZ domain and redefinition of the Piwi domain. **Trends in Biochemical Science**, v.25 n.10, p.481–482, 2000.

COE, H.E.; NEUFFER, M.G.; HOISINGTON, D.A. The genetics of corn. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J.W. **Corn and corn improvement**, p.81-237, 1988.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Central de Informações Agropecuárias**. 2008. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=131>. Acesso em: 30 de abril de 2010.

DEVOS, K.M.; GALE, M.D. Comparative genetics in the grasses. **Plant and Molecular Biology**. v.35, n.1-2, p.3–15, 1997.

DEVOS, K.M.; GALE, M.D. GENOME RELATIONSHIPS: Genome relationships: the grass model in current research. **The Plant cell**, v.12, n.5, p.637-646, 2000.

DEVOS, K.M. Updating the 'crop circl. **Current Opinion in Plant Biology**. v.8, n.2, p.155-162, 2005.

DONALD, R.G.K.; CASHMORE, A.R. Mutation of either G box or I box sequences profoundly affects expression from the Arabidopsis rbcS-1A promoter. **The EMBO Journal**, v.9, n.6, p.1717-1726, 1990.

ELLIOTT, K.A.; SHIRSAT, A.H. Promoter regions of the extA extensin gene from Brassica napus control activation in response to wounding and tensile stress. **Plant Molecular Biology**, v.37, n.4, p.675-687, 1998.

FAGARD, M.; BOUTET, S.; MOREL, J.B.; BELLINI, C.; VAUCHERET, H. AGO1, QDE-2, and RDE-1 are related proteins required for post-transcriptional gene silencing in plants, quelling in fungi, and RNA interference in animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United of America**, v.97, n.21, p.11650–11654, 2000.

FAO – Food Alimentatio Organization: STATISTICS. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>, Acesso em: 30 Abril de 2010.

FERREIRA, C. M.; VILLAR, P. M. Aspectos da produção e do mercado de arroz. **Informe Agropecuário**, 39, 22, 11-18, 2004.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220p., 1998.

FISHER, M.C.T.; EISSENSTAT, D.M.; LYNCH, J.P. Lack of evidence for programmed root senescence in common bean (*Phaseolus vulgaris*) grown at different levels of phosphorus supply. **New Phytologist**, v.153, p.63-71, 2002.

GALE, M.D.; DEVOS, K.M. Comparative genetics in the grass. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.95, p.1971-1974, 1998.

GARDNER, E. J.; SNUSTAD, P. **Genética**. Rio de Janeiro: Interamericana, 497 p., 1986.

GARVIN, D.F.; WEEDEN, N.F. Genetic-linkage between isozyme, morphological, and DNA markers in tepary bean. **Journal of Heredity**, v.85, n.4, p.273-278, 1994.

GIBAS, C.; JAMBECK, P. **Desenvolvendo bioinformática: ferramenta de software para aplicações em biologia**, Rio de Janeiro, Editora Campus, 440 p. 2001.

GOTTWALD, S.; STEIN, N.; BÖRNER, A.; SASAKI, T.; GRANER, A. The gibberellic-acid insensitive dwarfing gene *sdw3* of barley is located on chromosome 2HS in a region 100 that shows high colinearity with rice chromosome 7L. **Molecular Genetics and Genomics**. v.271, p.426–436, 2004.

GOODMAN, N. Biological data becomes computer literate: new advances in bioinformatics. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, n.1, p. 68-71, 2002.

GRIERSON C, DU JS, ZABALA MT, BEGGS K, SMITH C, HOLDSWORTH M, BEVAN M. Separate *cis* sequences and *trans* factors direct metabolic and developmental regulation of potato storage protein gene. **Plant Journal**, v.5, n.6, p.815-826, 1994.

GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C.; GELBART, W.M. **Introdução à genética**. Rio de Janeiro: Guanabara, 764 p., 2008.

GUBLER, F.; KALLA, R.; ROBERTS, J.K.; JACOBSEN, J.V. Gibberellin-regulated expression of a myb gene in barley aleurone cells: Evidence for Myb transactivation of a high-pI α -amylase gene promoter. **Plant Cell** v.7, n.11, p.1879–1891, 1995.

GUELMAN, S. *et al.* Host cell factor and an uncharacterized SANT domain protein are stable components of ATAC, a novel dAda2A/dGcn5 containing histone acetyltransferase complex in *Drosophila*. **Molecular and Cellular Biology**, v.3, n.26, p.871-882, 2006.

HARALAMPIDIS, K.; MILIONI, D.; RIGAS, S.; HATZOPOULOS, P. Combinatorial interaction of cis elements specifies the expression of the *Arabidopsis Athsp90 1* gene. **Plant Physiology**, v.129 n.3, p.1138–1149, 2002.

HAVECKER, E. R.; WALLBRIDGE, L. M.; HARDCASTLE, T. J.; BUSH, M. S.; KELLY, K. A.; DUNN, R. M.; SCHWACH, F.; DOONAN, J. H.; BAULCOMBE, D. C. The *Arabidopsis* RNA-Directed DNA Methylation Argonauts Functionally Diverge Based on Their Expression and Interaction with Target Loci. **Plant Cell**, tpc.109.072199v, 2010.

HIGO, K.; UGAWA, Y.; IWAMOTO, M.; KORENAGA, T. Plant cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database. **Nucleic Acids Research**. v.27 p.297-300, 1999.

HRUZ, T.; LAULE, O.; SZABO, G.; WESSENDORP, F.; BLEULER, S.; OERTLE, L.; WIDMAYER, P.; GRUISSEM, W.; ZIMMERMANN, P. *Genevestigator V3: a reference expression* database for the meta-analysis of transcriptomes. **Advances in Bioinformatics**, v.2008, 420747, 2008.

HUGHES, J.D.; ESTEP, P.W.; TAVAZOIE, S.; CHURCH, G.M. Computational identification of cis-regulatory elements associated with groups of functionally related genes in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Molecular Biology**. v.296, n. 5, p.1205-1214,2000.

INTERNATIONAL RICE GENOME SEQUENCING PROJECT. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**, v.1, n.7052,p.793-800, 2005.

IZAWA T.; SHIMAMOTO K. Becoming a model plant: The importance of rice to plant science. **Trends in plant science**, v.1, n.3, p.95-99, 1996.

JARDIM, B.S.N. Comparative genomics of grasses tolerant to aluminum. **Genetics and Molecular Research**, v.6 p.1151-1155, 2007.

KAMIYA, N.; NAGASAKI, H.; MORIKAMI, A.; SATO, Y.; MATSUOKA, M. Isolation and characterization of a rice WUSCHEL-type homeobox gene that is specifically expressed in the central cells of a quiescent center in the root apical meristem. **Plant Journal**, v.35, p.429-441, 2003.

KAMOSHITA, A.; WADE, J.; ALI, L.; PATHAN, S.; ZHANG, J.; SARKARUNG, S.; ET AL. Mapping QTLs for root morphology of a rice population adapted to rain fed lowland conditions. **Theoretical and Applied Genetics**, v.104 p.880–93, 2002

KAMOSHITA, A.; ZHANG, J.; SIOPONGCO, J.; SARKARUNG, S.; NGUYEN, H.T.; WADE, L.J. Effects of phenotyping environment on identification of quantitative trait loci for rice root morphology under anaerobic conditions. **Crop Science**, v.42 p.255–65, 2002.

KARP, P.D. *et al.* The ecoCyc database. **Nucleic Acids Research**, v.1, n.30, p.56-58, 2002.

KLINEDINST, S.; PASCUZZI, P.; REDMAN, J.; DESAI, M.; ARIAS, J. A xenobiotic-stress-activated transcription factor and its cognate target genes are preferentially expressed in root tip meristems. **Plant Molecular Biology**, v.42, p.679-688, 2000.

KNAPP, S.J. Mapping quantitative trait loci using molecular makers: multilocus estimators of backcross, recombinant inbreed, and doubled haploid parameters. **Theoretical and Applied Genetic**, v.81, p.333-338, 1991.

KONING, A.J.; ROSE, R.; COMAI, L. Developmental expression of tomato heat-shock cognate protein 80. **Plant Physiology**, v.100 p.801–811, 1992.

KUCHARCZYK, R.; RYTKA, J. *Saccharomyces cerevisiae* - a model organism for the studies on vacuolar transport. **Acta Biochimica Polonica**, v.48, n.4, p.1025-1042, 2001.

LI, Q.; PETERSON, K. R.; FANG, X.; STAMATOYANNOPOULOS, G. Locus control regions. **Blood**, v.100, n.9, p.3077–3086, 2002.

LI, Z.; MU, P.; LI, C.; ZHANG, H.; LI, Z.; GAO, Y.; XIANGKUN, W. QTL mapping of root traits in a doubled haploid population from a cross between upland and lowland japonica rice in three environments. **Theoretical and Applied Genetics**, v.110 p.1244–52, 2005.

LI, B.; PERABEKAM S.; LIU G.; YIN M.; SONG S.; LARSON A. Experimental and bioinformatics comparison of gene expression between T cells from TIL of liver cancer and T cells from UniGene. **Journal of Gastroenterology**, v.37, n.4, p.275-282, 2002.

LIU, Y.; LIU X.S.; WEI, L.; ALTMAN, R.B.; BATZOGLOU, S. Eukaryotic regulatory element conservation analysis and identification using comparative genomics. **Genome Research**, v.14 p. 451–458, 2004.

LOIS, R.; DIETRICH, A.; HAHLBROK, K.; SCHULZ, W. A phenylalanine ammonia lyase gene from parsley: structure, regulation and identification of elicitor and light responsive cis-acting elements. **Embo Journal**, v.8 p.1641-1648, 1989.

LONDO, J.P.; CHIANG, Y.C.; HUNG; K.H.; CHIANG, T.Y.; SCHAAL, B.A. Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.103, n.25, p.9578-9583, 2006.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; VALÉRIO, I.P.; HARTWIG, I.; MARCHIORO, V.S.; VIEIRA, E.A. 2006. Retrocruzamento como uma estratégia de identificar genótipos e desenvolver populações segregantes promissoras em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p.1118-1125, 2006.

LU, F.; AMMIRAJUB, J.S.S.; SANYAL, A.; ZHANG, S.; SONG, R.; CHEN, J.; LI, G.; SUI, Y.; SONG, X.; CHENG, Z.; OLIVEIRA, A.C.; BENNETZEN, J.L.; Comparative sequence analysis of *MONOCULM1*-orthologous regions in 14 *Oryza* genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.106, n.6 p.2071-2076, 2009.

MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; TERRES, A. L.; FAGUNDES, P. R.; FRANCO, D. F.; ANDRES, A. Aspectos genéticos, morfológicos e de desenvolvimento de plantas de arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M. **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 143-160, 2004.

MAIA, L.C. **Desenvolvimento de ferramenta e análise *in silico* da ocorrência de microssatélites (Simple Sequence Repeat) no genoma do arroz**. 120f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2007.

MARGIS, M. P. **A biotecnologia na agricultura: o melhoramento genético do arroz**. Conselho de Informações sobre Biotecnologia – CIB. Disponível em: http://www.cib.org.br/pdf/biotecnologia_na_agricultura_marcia_margis.pdf. Acesso em: 22 de fevereiro de 2010.

MASTON, G.A.; EVANS, S. K.; GREEN, M.R. Transcriptional regulatory elements in the human genome. **The Annual Review of Genomics and Genetics**, v.7, p. 29–52, 2006.

MATARASSO, N.; SCHUSTER, S.; AVNI, A. A novel plant cysteine protease has a dual function as a regulator of 1-aminocyclopropane-1 carboxylic acid synthase gene expression. **Plant Cell**, v.17, p.1205–1216, 2005.

MATSUI, M.; SAKAMOTO, S.; KUNIEDA, T.; NOMURA, N.; ISHIZAKI, R. Cloning of ara, a putative Arabidopsis thaliana gene homologous to the ras-related gene family. **Gene**, v.76, p.313-319, 1989.

MILACH, S.C.K. Marcadores de DNA. **BIOTECNOLOGIA: Ciência e Desenvolvimento**, v.5, p.14-17, 1998.

MIYASHIMA, S.; HASHIMOTO, T.; NAKAJIMA, K.; ARGONAUTE1 acts in arabidopsis root radial pattern formation independently of the SHR/SCR pathway. **Plant and Cell Physiology**, v.50, n.3, p.626-634, 2009.

MOORE, G.; DEVOS, K.M.; WANG, Z.; GALE, M.D. Grasses, line up and form a circle. **Current Biology**, v.5, n.7, p.737-739, 1995.

MOREL, J.B.; GODON, C.; MOURRAIN, P.; BECLIN, C.; BOUTET, S.; FEUERBACH, F.; PROUX, F.; VAUCHERET, H. Fertile hypomorphic ARGONAUTE (ago1) mutants impaired in post-transcriptional gene silencing and virus resistance. **Plant Cell** v.14 p. 629–639, 2002.

MUNDY, J.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; CHUA, N.H. Nuclear proteins bind conserved elements in the abscisic acid-responsive promoter of a rice rab gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.87, p.1406-1410, 1990.

MURPHY, J.P.; FREY, K.J. Comparisons of oat population developed by intraspecific and interspecific hybridization. **Crop Science**, v.24, p.531-536, 1984.

NEMHAUSER, J.L.; FELDMAN, L.J.; ZAMBRYSKI, P.C. Auxin and *ETTIN* in *Arabidopsis* gynoecium morphogenesis. **Development**, v.127 p.3877–3888, 2000.

OGAWA, M.; HANADA, A.; YAMAUCHI, Y.; KUWAHARA, A.; KAMIYA, Y.; YAMAGUCHI, S. Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. **Plant Cell**, v.15, n.7, p.1591–1604, 2003.

OGO, Y.; ITAI, R.N.; NAKANISHI, H.; INOUE, H.; KOBAYASHI, T.; SUZUKI, M.; TAKAHASHI, M.; MORI, S.; NISHIZAWA, N.K. Isolation and characterization of IRO2, a novel iron-regulated bHLH transcription factor in graminaceous plants. **Journal of Experimental Botany**, v.57, p.2867–2878, 2006.

OH, S.W. *et al.* Identification of direct DAF-16 targets controlling longevity, metabolism and diapause by chromatin immunoprecipitation. **Nature Genetics**, v.38, n.2, p. 251-257, 2006.

OLIVEIRA, E. J. ; PÁDUA, J. G. ; ZUCCHI, M. I. ; VENCOVSKY, R. ; VIEIRA, M. L. C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.2, p.294-307, 2006.

OLIVEIRA, A.C.B.; CAIXETA, E.T.; ZAMBOLIN, E.M.; ZAMBOLIN, L.; SAKIYAMA, N.S. Aplicação técnica de marcadores moleculares no melhoramento de plantas. **Documentos IAC**, Campinas: Instituto Agrônômico, n.81, 17p., 2007.

PANG, K.C. *et al.* Rapid evolution of noncoding RNAs: lack of conservation does not mean lack of function. **Trends in Genetics**, v.22, n.1, p.1-5, 2006.

PARSELL, D.A.; LINDQUIST, S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance – degradation and reactivation of damaged proteins. **Annual Review of Genetics**, v.27, n.1, p.437-496, 1993.

PATERSON, A.H.; BOWERS, J.E.; BUROW, M.D.; DRAYE, X.; ELSIK, C.G.; JIANG, C.X.; KATSAR, C.S.; LAN, T.H.; LIN, Y.R.; MING, R.; WRIGHT, R.J. Comparative genomics of plant chromosomes. **Plant Cell**, v.12 n.9 p.1523-1540, 2000.

PENNACCHIO, L.; RUBIN, E. Genomic strategies to identify mammalian regulatory sequences. **Nature Review Genetics**, v.2 p.100-109, 2001.

PRESTRIDGE, D. SIGNAL SCAN: a computer program that scans DNA sequences for eukaryotic transcriptional elements. **Computer Applications In The Biosciences**. v.2, p.203-206, 1991.

PRIEST, H.D.; FILICHKIN, S.A.; MOCKLER, T. C. *Cis*-regulatory elements in plant cell signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, p.643–649, 2009.

QU, Y.; MU, P.; ZHANG, H.; CHEN, C.Y.; GAO, Y.; TIAN, Y.; WEN, F. Mapping QTLs of root morphological traits at different growth stages in rice. **Genetica**, v.133, p.187–200, 2008.

RAMALHO, M. A. P.; FURTINI, I. V. Técnicas biotecnológicas aplicadas ao melhoramento vegetal: alcance e limites. **Ceres**. v.56, n.4, p.473-479, 2009.

RAMALHO, M. A. P.; LAMBERT, E. Biometria e o melhoramento de plantas na era da genômica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. v.3, p.228-249, 2004.

RAVEN, PETER H.; EVERT, RAY F.; EICHHORN, Susan E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan S. A., 906p, 2001.

REBOUILLAT, J.; DIEVART, A.; VERDEIL, J.L.; ESCOUTE, J.; GIESE, E.; BREITLER, J.C.; GANTET, P.; ESPEOUT, S.; GUIDERDONI, E.; PÉRIN, C. Molecular genetics of rice root development. **Rice**, v.2, n.1, p.15–34, 2008.

RECILLAS-TARGA et al. Position-effect protection and enhancer blocking by the chicken β -globin insulator are separable activities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.99, n.10, p.6883–6888, 2002.

RHEE, S.Y.; DICKERSON, J.; XU, D. Bioinformatics and Its Applications in Plant Biology. **Annual Review of Plant Biology**, v.57, p.335-360, 2006.

RILEY, M.; LABEDAN, B. Protein evolution viewed through Escherichia coli protein sequences: introducing the notion of a structural segment of homology, the module. **Journal of Molecular Biology**, v.268, n.5, p.857-68, 1997.

ROBERTS, J.K.M.; CHANG, K.; WEBSTER, C.; CALLIS, J.; WEMMER, P.; WALBOT, V. Dependence of ethanolic fermentation, cytoplasmic pH regulation, and viability on the activity of alcohol dehydrogenase in hypoxic maize root tips. **Plant Physiology**, v.89, p.1275-1278, 1989.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**, Belmont: Wadsworth, 1991. 682p.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C. D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Viçosa : UFV, 568p., 2008.

SCHWECHHEIMER, C.; BEVAN, M. The regulation of transcription factor activity in plants. **Trends in Plant Science**, v.3, n.10, p.378–383, 1998.

SERGEEVA, L.I.; KEURENTJES, J.J.; BENTSINK, L.; VONK, J.; VAN DER PLAS, L.H.; KOORNEEF, M.; VREUGDENHIL, D. Vacuolar invertase regulates elongation of *Arabidopsis thaliana* roots as revealed by QTL and mutant analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United of America**, v.103, n.8, 2994- 2999, 2006.

SERTIL, O.; KAPOOR, R.; COHEN, B. D.; ABRAMOVA, N.; LOWRY, C. V. Synergistic repression of anaerobic genes by Mot3 and Rox1 in *Saccharomyces cerevisiae*. **Nucleic Acids Research**, v.31, n.20, p.5831–5837, 2003.

SKRIVER, K.; OLSEN, F.L.; ROGERS, J.C.; MUNDY, J. *cis*-acting DNA elements responsive to gibberellin and its antagonist abscisic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United of America**, v.88, n.16, p.7266–7270, 1991.

SILVA, AC. **Variações genéticas em candeia [*Eremanthus erythropapus* (DC.) Maclush]: simbiose e desenvolvimento radicular e estabelecimento inicial em áreas degradadas**. 133 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.

SORIN, C.; et al. Auxin and light control of adventitious rooting in *Arabidopsis* require ARGONAUTE1. **Plant Cell**, v.17, n.5, p.1343–1359, 2005.

STACHEL, S.E. *et al.* Generation of single-stranded T-DNA molecules during the initial stages of T-DNA transfer from *Agrobacterium tumefaciens* to plant cells. **Nature** v.322, n.6081, p.706-712, 1986.

STEELE, K.A.; PRICE, A.H.; SHASHIDHARHE; WITCOMBE, J.R. Marker-assisted selection to introgress rice QTLs controlling root traits into an Indian upland rice variety. **Theoretical and Applied Genetics**, v.112, n.2, p.208–21, 2006.

STELLER, H. Mechanisms and genes of cellular suicide. **Science**, v.267, n.5203, p.1445-1449, 1995.

SORRELLS, M.E. *et al.* Comparative DNA sequence analysis of wheat and rice genomes. **Genome Research**. v.13, p.1818-1827, 2003.

STRÄHLE, U.; RASTEGAR, S. Conserved non-coding sequences and transcriptional regulation. **Brain Research Bulletin**. v.75, n.2-4, p.225–230, 2008.

SUMNER L.W.; MENDES.P.; DIXON R.A. Plant metabolomics: largescale phytochemistry in the functional genomics era. **Phytochemistry**, v.62, n.6, p.817– 36, 2003.

SUTHERLAND, C. *et al.* *Saccharomyces cerevisiae* - a model organism to investigate the mammalian AMP-activated protein kinase system. **Yeast**, v.18, n.1, p.191-191, 2001.

SUTTON, T. *et al.* The Ph2 pairing homoeologous locus of wheat (*Triticum Oaestivum*): identification of candidate meiotic genes using a comparative genetics approach. **Plant Journal**. v.36, p.443-456, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719p.

TERRES, A. L.; GALLI, J.; FAGUNDES, P. R. R.; MACHADO, M. O.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; MARTINS, J. F.; NUNES, C. D. M.; FRANCO, D. F.; AZAMBUJA, I. H. V. **Arroz irrigado no Rio Grande do Sul : generalidades e cultivares**. Pelotas : Embrapa Clima Temperado, 58 p., 1998.

THE ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, v.408, n.8692, p.796-815, 2000.

THE *C. ELEGANS* SEQUENCING CONSORTIUM. Genome sequence of the nematode *C. Elegans*: A platform for investigating biology. **Science**, v.282, n.5396, p.2012-2046, 1998.

THOLE, J.M.; VERMEER, J.E.; ZHANG, Y.; GADELLA, T.W J.; NIELSEN, E. ROOT HAIR DEFECTIVE4 encodes a phosphatidylinositol-4-phosphate phosphatase required for proper root hair development in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell**, v.20, n.2, p.381–395, 2008.

THOMANN, A.; LECHNER, E.; HANSEN, M.; DUMBLIAUSKAS, E.; PARMENTIER, Y.; KIEBER, J.; SCHERES, B.; GENSCHIK, P. *Arabidopsis* CULLIN3 genes regulate primary root growth and patterning by ethylene-dependent and –independent mechanisms. **PLoS Genetics**, v.5, e1000328, 2009.

THOMAS, G.H. Completing the *E. coli* proteome: a database of gene products characterised since the completion of the genome sequence. **Bioinformatics** v,15, n.10, p.860-861, 1999.

UEDA, T.; MATSUDA, N.; ANAI, T.; TSUKAYA, H.; UCHIMIYA, H.; NAKANO, A. Na *Arabidopsis* gene isolated by a novel method for detecting genetic interaction in yeast encodes the GDP dissociation inhibitor of Ara4 GTPase. **Plant Cell**, v.8 n.11, p.2079–209, 1996.

VARSHNEY, R.K.; GRANER, A.; SORRELLS, M.E. Genomics-assisted breeding for crop improvement. **Trends in Plant Science**, v.10, n.12, p.621-630, 2005a.

VARSHNEY, R.K.; GRANER, A.; SORRELLS, M.E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends in Biotechnology**, v.23, n.1, p.48-55, 2005b.

VARSHNEY, R.K.; HOISINGTON, D.A.; TYAGI, A.K. Advances in cereal genomics and applications in crop breeding. **Trends in Biotechnology**, v.24, n.11, p.490-499, 2006.

VAUCHERET, H.; VAZQUEZ, F.; CRETE, P.; BARTEL, D.P. The action of ARGONAUTE1 in the miRNA pathway and its regulation by the miRNA pathway are crucial for plant development. **Genes & Development**, v.18, n.10, p.1187–1197, 2004.

VIEWEG, M.F.; et al. The promoter of the *Vicia faba* L. leghemoglobin gene Vflb29 is specifically activated in the infected cells of root nodules and in the arbuscule-containing cells of mycorrhizal roots from different legume and non legume plants. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v.17, n.1, p.62–69, 2004.

WANG, T.; STORMO, G.D. Identifying the conserved network of cis-regulatory sites of a eukaryotic genome. **Proceedings of National Academy of Science USA**, v.102, n.48, p.17400-17405, 2005.

WEIRAUCH, M. T.; HUGHES, T. R. Conserved expression without conserved regulatory sequence: the more things change, the more they stay the same. **Trends in Genetics**, v. 26, n. 2, p.66-74, 2010.

WON, S.; YONG-JU, L.; HA-YEON, L.; YOON-KYUNG, H.; MISUK, C.; HYUNG-TAEG, C. Cis-Element- and Transcriptome-Based Screening of Root Hair-Specific Genes and Their Functional Characterization in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.150, p.1459–1473, 2009.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. **Trends in Plant Science**, v.10, n.2, p.88–94, 2005.

YAMAUCHI, D. A TGACGT motif in the 5'-upstream region of alpha Amylase gene from *Vigna mungo* is a cis-element for expression in cotyledons of germinated seeds. **Plant and Cell Physiology**, v.42, n.6, p.635–641, 2001.

YANG, S.F.; HOFFMANN, N.E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.35, p.155–189, 1984.

ZHENG, B.S.; YANG, L.; MAO, C.Z.; ZHANG, W.P.; WU, P. QTLs and candidate genes for rice root growth under flooding and upland conditions. **Acta Genetica Sinica**, v.33, n.2, p.141–51, 2006.

ZHENG, B.S.; YANG, L.; ZHANG, W.P.; MAO, C.Z.; WU, Y.R.; YI, K.K.; LIU, F. Y.; WU, P. Mapping QTLs and candidate genes for rice root traits under different water-supply conditions and comparative analysis across three populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v.107, n.8, p.1505–1515, 2003.

ZHENG, H.G.; BABU, R.C.; PATHAN, M.S.; ALI, L.; HUANG, N.; COURTOIS, B.; HENRY, T. N. Quantitative trait loci for root-penetration ability and root thickness in rice: comparison of genetic backgrounds. **Genome** v.43, n.1, p.53–61, 2000.

ZERIAL, M.; MCBRIDE, H. Rab proteins as membrane organizers. **Nature reviews**, v.2, n.2, p.107–117, 2001.