

Ionoma de plantas: cenário atual e perspectivas

Ionomics: current scenario and prospects

Adriano Alves da Silva^I Carla Andrea Delatorre^{II} Marcelo Gravina de Moraes^{III}

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

Os sistemas biológicos são governados pela soma de todos os genes expressos, proteínas, metabólitos e elementos de um organismo. A análise do ionoma de um tecido auxilia a identificar, entre outros aspectos, genes que contribuam para maior ou menor acúmulo de elementos essenciais e metais pesados, bem como a interação entre processos metabólicos. O conhecimento do ionoma, aliado ao uso de técnicas de biologia molecular, formam um sistema muito eficiente para mapeamento gênico, para estudos de genômica funcional e para caracterização geral do estado fisiológico das plantas em uma determinada condição. Além disso, o estudo do ionoma permite avaliar as interações existentes entre os mais diversos íons das plantas e como a disponibilidade de um íon afeta a absorção e uso de outros. O objetivo desta revisão é apresentar e discutir o ionoma como uma ferramenta importante na elucidação dos mais diversos mecanismos envolvidos na absorção, translocação e acúmulo de elementos essenciais e não-essenciais em plantas e sua relação com o metabolismo delas.

Palavras-chave: *genômica funcional, transportadores de íons, nutrientes minerais.*

ABSTRACT

Biological systems are governed by the sum of all expressed genes, proteins, metabolites and components of an organism. The analysis of a tissue ionome helps to identify, among others, genes that contribute to a greater or lesser accumulation of essential elements and heavy metals, as well as interaction between metabolic processes. The ionome knowledge, coupled with the use of molecular biology techniques, form a very efficient system for gene mapping, and functional genomic studies, and general characterization of

plants physiological status in a given condition. Another interesting process that the ionome study allows to analyse is the interactions among plants' ions and how such ion availability can affect the absorption and use of others. The aim of this review is to present and discuss the ionome as an important tool in the elucidation of several mechanisms involved in absorption, translocation and accumulation of essential and nonessential elements in plant and its relation with their metabolism.

Key words: *functional genomics, ion transporters, mineral nutrients.*

INTRODUÇÃO

Os sistemas biológicos são governados pelo genoma através da ação do transcrito, que conduz ao estabelecimento do proteoma, definindo o metaboloma e o ionoma do sistema em condições ambientais específicas. Esses são considerados os quatro pilares básicos da genômica funcional e representam, respectivamente, a soma de todos os genes expressos, proteínas, metabólitos e elementos de um organismo (SALT et al., 2008). A resposta dinâmica e a interação desses quatro pilares definem como um sistema vivo funciona, sendo que atualmente seu estudo constitui-se em um dos maiores desafios da ciência (SALT, 2004). O ionoma, tema desta revisão, pode ser definido como o conjunto de todos os metais,

^IEquipe de Melhoramento Genético, Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), Av. Bonifácio Carvalho Bernardes, 1494, 94930-030, Cachoeirinha, RS, Brasil. E-mail: agroadriano@gmail.com. Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Plantas de Lavoura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

^{III}Departamento de Fitossanidade, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

metalóides e não-metais presentes em um organismo (LAHNER et al., 2003).

Estudos sobre a interação entre genoma e transcrito (MARTZIVANOU E HAMPP, 2003; BECHER et al., 2004; LEONHARDT et al., 2004), entre genoma e proteoma (KOLLER et al., 2002) e entre genoma e metaboloma (FIEHN et al., 2000) estão bem avançados. Em contraste, o estudo do ionoma está apenas começando, sendo desconhecida a maioria dos genes envolvidos em sua regulação. Além disso, por estar envolvido em um amplo espectro de fenômenos biológicos, incluindo a eletrofisiologia, a sinalização, a enzimologia, a osmorregulação e os transportes, o estudo do ionoma apresenta grande potencial para se obter novas e importantes descobertas científicas (SALT et al., 2008).

Assim, a análise do ionoma é uma ferramenta importante para identificar, entre outros aspectos, genes envolvidos no acúmulo de elementos essenciais e metais pesados, pois se constitui em um mecanismo muito preciso para avaliação do perfil de íons presentes em um tecido sob determinada condição. O conhecimento do ionoma aliado ao uso de técnicas de biologia molecular formam um sistema muito eficiente para mapeamento gênico, para estudos de genômica funcional e para caracterização geral do estado fisiológico das plantas.

Dessa maneira, o objetivo desta revisão é apresentar e discutir o ionoma como uma ferramenta importante na elucidação dos diversos mecanismos envolvidos na absorção, translocação e acúmulo de elementos essenciais e não essenciais em plantas.

DESENVOLVIMENTO

Noventa e dois elementos já foram identificados na Terra, sendo que 17 desses são considerados como elementos essenciais a todas as plantas. Segundo WILLIAMS & SALT (2009), aqueles elementos essenciais presentes em grandes quantidades (>0,1% da massa seca) são chamados de macronutrientes e incluem C, H, O, N, S, P, Ca, K e Mg. Os elementos requeridos pelas plantas em quantidades menores (<0.01% da massa seca) são chamados de micronutrientes como o Ni, Mo, Cu, Zn, Mn, B, Fe e Cl. O crescimento e desenvolvimento das plantas dependem da disponibilidade balanceada desses elementos essenciais. Para lidar com as flutuações nutricionais do ambiente, as plantas desenvolveram ao longo da sua evolução uma gama de mecanismos homeostáticos para garantir que este balanço seja mantido. Além dos elementos essenciais, outros elementos têm sido considerados benéficos e

promovem o crescimento vegetal, podendo ser essenciais em algumas espécies, estes incluem o Na, Co, Al, Se e Si (WILLIAMS & SALT, 2009). Elementos como o metal pesado Cd e os metalóides As e Al não apresentam função biológica demonstrada em plantas e, apesar disso, são absorvidos e causam severa toxidez na maioria das espécies. A identificação de como esses elementos são absorvidos e transportados, assim como sua disponibilidade no solo ou na planta, a forma como é percebida e regulada, tem sido objeto de estudo há mais de meio século, porém ainda não existe uma visão clara do sistema.

Até recentemente, cada íon era estudado isoladamente e o estudo de interações entre íons era dificultada pela necessidade de análises sequenciais laboriosas e de consideráveis quantidades de tecido vegetal. As novas técnicas de quantificação permitem a identificação simultânea de diversos íons facilitando a obtenção do ionoma.

Atualmente, é aceito que a disponibilidade de um íon tem efeitos sobre o transcrito, alterando inclusive a capacidade de absorção e uso de outros íons, estando cada vez mais evidente a existência de interação indireta entre nutrientes (GUERINOT & MORRISEY, 2009). Dessa maneira, a complexidade de interações entre esses elementos e as formas pelas quais são absorvidos, translocados e acumulados nas plantas constituem um campo muito extenso e interessante a ser estudado pela comunidade científica. Considera-se que o perfil quantitativo dos metabólitos de uma planta pode indicar o estado fisiológico desta, portanto, o estudo do ionoma pode auxiliar na elucidação de muitos outros processos metabólicos de plantas, uma vez que a disponibilidade de nutrientes tem efeito significativo sobre a maioria dos processos metabólicos, especialmente sobre a alocação de recursos (SALT et al., 2008).

O que é ionoma?

O ionoma foi descrito pela primeira vez como o conjunto de todos os metais, metalóides e não-metais presentes em um organismo (LAHNER et al., 2003), estendendo o termo metaloma (OUTTEN & O'HALLORAN, 2001; WILLIAMS, 2001; SZPUNAR, 2004) para incluir não-metais importantes, como nitrogênio, fósforo, enxofre, selênio, cloro e iodo. O ionoma, o metaboloma e o proteoma se sobrepõem. Compostos não-metálicos contendo P, S ou N, por exemplo, enquadram-se tanto no ionoma quanto no metaboloma. Em metaloproteínas, metais como Zn, Cu, Mn e Fe seriam estudados dentro do proteoma ou do metaloproteoma (SZPUNAR, 2004). A ionômica é o estudo do ionoma, ou seja, a composição de íons

presentes em determinado tecido ou órgão em determinada fase sob definidas condições ambientais.

Potencial de uso do ionoma

A acumulação de um dado elemento é um processo extremamente complexo, controlado por uma rede de produtos gênicos necessários para absorção, ligação, transporte, uso e/ou sequestro dele (BAXTER, 2009). A ação de muitos destes genes afetam mais de um elemento e a disponibilidade de um dado elemento pode afetar os processos de homeostase de outros elementos. Assim, para compreender como a obtenção e uso de um determinado elemento são regulados, é necessário determinar a concentração do maior número possível de elementos em uma determinada célula, tecido ou organismo (ionoma) e se relacionar com as condições ambientais (especialmente disponibilidade do ion no solo) e com os processos metabólicos. Os elementos que dividem os mesmos componentes de transporte variam, dependendo da espécie e do genótipo das plantas estudadas e também do ambiente em que são crescidas. O ionoma pode refletir o estado fisiológico da planta através da análise dos íons, portanto, a análise das mudanças no ionoma em decorrência de alterações ambientais auxilia na identificação das interações entre os estímulos ambientais e o controle da absorção e alocação de minerais. Avaliações em múltiplas situações pode determinar o estabelecimento de relações entre minerais que possam ser utilizadas para inferir a condição fisiológica da planta, facilitando a fenotipagem de processos fisiológicos complexos ou difíceis de serem acessados, como os relacionados à parede celular. O desenvolvimento das novas tecnologias de genotipagem (sequenciamento e identificação de polimorfismos) tornou a fenotipagem o processo limitante na descoberta da função gênica. O uso da ionômica permite a geração de uma grande quantidade de dados (quantificação de minerais) de grande número de indivíduos de forma rápida e relativamente barata. Assim, quando combinada com as novas tecnologias de genotipagem, a ionômica constitui-se num mecanismo rápido de identificação de genes que controlam a acumulação de elementos em plantas, para estudos de genômica funcional e para caracterização geral do estado fisiológico das plantas.

Tecnologias envolvidas na ionômica

O avanço nas técnicas de espectrometria nas últimas décadas tem possibilitado superar obstáculos que impediam a identificação do ionoma de uma maneira ampla. A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) permite a

mensuração simultânea de dezenas de elementos, enquanto a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) detecta somente os mais evidentes (DELHAIZE et al., 1993). Com o equipamento apropriado, a preparação das amostras para utilização do ICP-MS não requer mais trabalho do que naquelas utilizadas para a determinação de um único elemento. A maioria dos estudos em ionômica tem quantificado de 12 a 20 elementos (BAXTER et al., 2008a; CHEN et al., 2009; CHEN et al., 2008; EIDE et al., 2005; LAHNER et al., 2003; WATANABE et al., 2007). Quando esses estudos não compreendem toda a lista de elementos de interesse em plantas, eles normalmente compreendem a maioria dos macronutrientes e muitos dos micronutrientes. As alterações no ambiente, fisiologia ou genética de plantas podem afetar múltiplos íons ou um único íon isoladamente. Portanto, a ionômica é uma excelente ferramenta para detectar alterações na fisiologia da planta.

Mesmo quando um pesquisador está interessado em um único elemento, a ionômica se destaca por aumentar a qualidade dos dados obtidos através da quantificação de elementos análogos. Análogos químicos de elementos de interesse como o Rb para o K, o Sr para o Ca e o Se para o S permitem mensurações independentes que são altamente correlacionadas com os elementos de interesse. Esses dados podem ser utilizados tanto para confirmar, de forma independente, a concentração dos elementos de interesse, mitigando os efeitos dos ruídos na análise, quanto em casos em que o elemento de interesse é difícil de ser determinado (ex. Rb e Se são mais fáceis de medir por ICP-MS do que K e S) (SALT et al., 2008). Nesses casos, o análogo pode ser utilizado como referência. Entretanto, é importante salientar que, apesar de esses elementos serem altamente correlacionados com os elementos de interesse, algumas plantas possuem a capacidade de discriminá-los, como as plantas do gênero *Astragalus* sp., que podem discriminar entre S e Se (SORS et al., 2005), prejudicando a eficácia do método.

Exemplos de utilização do estudo do ionoma
Estudo de variabilidade na absorção de íons de uma população natural de *Arabidopsis thaliana*

A variação natural existente entre e dentro de populações naturais de *A. thaliana* tem sido utilizada como uma ferramenta para a descoberta de novos genes (ALONSO-BLANCO et al., 2000; PARAN et al., 2003; KOORNNEEF et al., 2004). *A. thaliana* tem uma vasta distribuição geográfica, produzindo um grande e diverso grupo de populações naturais, muitas das quais

têm sido coletadas e armazenadas pelo Arabidopsis Biological Resource Center (ABRC). Uma variação considerável para cada característica, como resistência a estresses bióticos e abióticos, desenvolvimento e metabolismo tem sido descrita (KOORNNEEF et al., 2004; KEURENTJES et al., 2008). A variação observada pode ser qualitativa, definida pela distribuição fenotípica em classes discretas, causada por um ou dois *loci* principais. A variação pode também ser quantitativa, definida pela distribuição fenotípica contínua, que é causada pela combinação de efeitos de múltiplos *loci*.

A utilização de RILs (Linhagens endogâmicas recombinantes), derivadas de vários acessos de Arabidopsis, tem auxiliado na identificação de muitas características relacionadas ao ionoma (SALT et al., 2008). Entre elas, podem ser citadas a acumulação de fosfato na semente e na parte aérea (BENTSINK et al., 2003), a eficiência de uso do N (RAUH et al., 2002; LOUDET et al., 2003), a tolerância ao Al (HOEKENGA et al., 2003; KOBAYASHI e KOYAMA, 2002), o acúmulo de Cs na parte aérea (PAYNE et al., 2004) e o acúmulo de selenato na parte aérea (ZHANG et al., 2006a; ZHANG et al., 2006b).

Após quantificar os elementos (ionoma) nas linhagens e associar as quantidades a marcadores moleculares, é possível identificar QTLs (quantitative trait locus) relacionados ao acúmulo ou uso desses elementos. Uma vez que os QTLs para as características de interesse tenham sido identificados, as ferramentas genômicas existentes para *A. thaliana* podem ser utilizadas para localizar os genes que controlam esses QTLs e, dessa forma, descrever as características em nível molecular (BOREVITZ & NORDBORG, 2003).

Relações entre a absorção de íons

O estudo das relações existentes entre íons é fundamental para o entendimento de como o ionoma é regulado. Enquanto algumas relações entre íons podem existir dependendo do tecido, espécie ou ambiente em estudo, muitas associações podem variar com a combinação desses fatores. Por exemplo, em arroz, transportadores de Si são também utilizados na absorção de arsenito (MA et al., 2008). Essa descoberta contrasta com a obtida com arsenato, o qual é absorvido pela planta via transportadores de fosfato (ABEDIN et al., 2002). Assim, o íon com o qual o As está dividindo o transportador depende da forma iônica do As, a qual depende, principalmente, do pH e da capacidade oxidativa do solo em que a planta está se desenvolvendo.

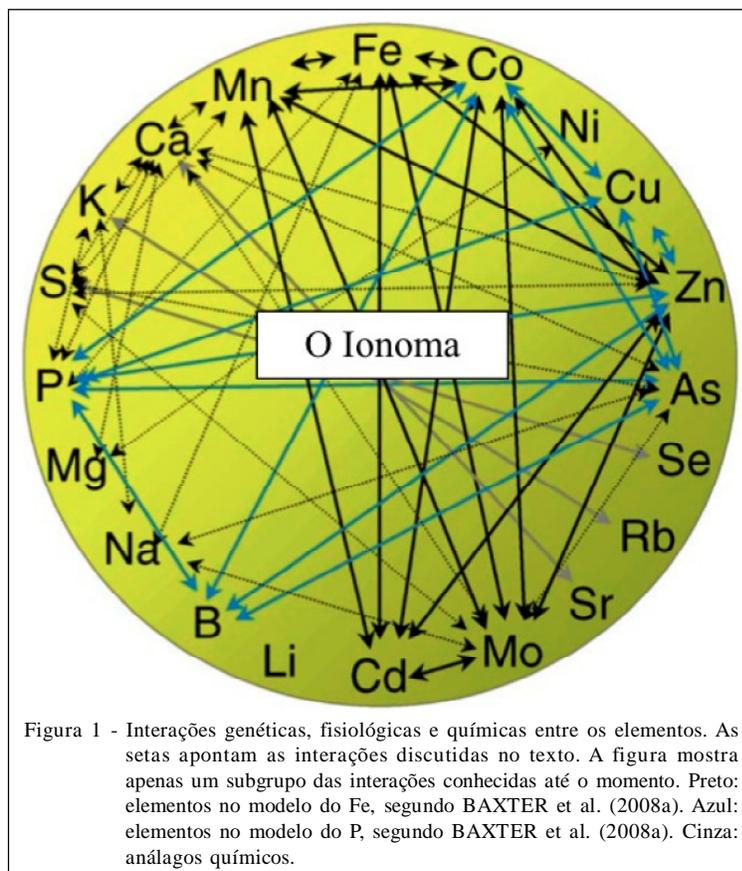
Nessa mesma linha de estudos sobre as interações entre a absorção de íons, BAXTER et al.

(2008a) avaliaram o ionoma da parte aérea do ecótipo de *A. thaliana* Col-0 crescida sob condições que induziam a resposta à deficiência de Fe e P na planta. Na condição de deficiência de Fe, observou-se aumento da concentração de Mn, Co, Zn e Cd e uma redução de Mo nos tecidos (Figura 1). Já a condição de deficiência de P induziu um aumento na concentração de B, Zn e As e redução de P, Cu e Co (Figura 1). No caso da deficiência de Fe no meio, as respostas fisiológicas são bem conhecidas. A baixa concentração de Fe no meio induz a acidificação da rizosfera, o que torna Mn, Fe, Co, Zn e Cd mais solúveis e Mo menos solúvel (KIM & GUERINOT, 2007). Além disso, segundo os mesmos autores, a atividade do ferro quelato redutase e do transportador IRT1 são induzidas fazendo com que aumente o transporte de Mn, Co, Zn e Cd, já que IRT1 possui menos especificidade por Fe que outros transportadores. Por outro lado, os determinantes moleculares da alteração no ionoma causado pela flutuação na disponibilidade de P ainda não são conhecidos. Pode ocorrer uma maior absorção de As através de transportadores de P induzidos pela deficiência deste íon. Mesmo assim, os padrões do ionoma neste trabalho foram tão consistentes que KIM & GUERINOT (2007) afirmaram que, em alguns casos, a concentração de um íon pode ser predita mesmo sem a quantificação direta do íon em questão, podendo ser determinada através da concentração de outros íons relacionados. Este trabalho comprova a estreita relação existente entre a absorção dos íons.

Alguns mecanismos pelos quais os elementos são absorvidos pelas plantas podem ser preditos pela análise de algumas propriedades deles, como a ligação e as propriedades dos transportadores. Porém, na prática, sistemas vivos são tão complexos que a maioria das relações entre elementos não pode ser predita facilmente através de suas características químicas ou biológicas e precisa ser determinada através de experimentos, até o momento. Possivelmente, com o acúmulo de informações sobre o ionoma em diferentes condições e em diferentes genótipos, será possível prever com maior acuidade o efeito dessas relações sobre o acúmulo e uso de minerais. Partindo-se do princípio de que a interação entre genótipo e ambiente é claramente uma peça importante na alteração do ionoma, a maioria dos estudos atualmente visando ao estudo das relações entre elementos tem focado na identificação das correlações genéticas e/ou fisiológicas.

Identificando genes através da ionômica

Como discutido anteriormente, a quantidade dos elementos é raramente correlacionada com a



quantidade do mesmo elemento ou de outros elementos entre diferentes tecidos, condições ambientais ou genótipos. Dessa forma, é improvável que se encontre um grupo de elementos cuja absorção e acúmulo sejam controlados pelos mesmos genes. Assim, para entender de uma maneira mais ampla a complexa regulação do ionoma, é necessário descobrir os genes que controlam a acumulação e distribuição de cada elemento e sua regulação.

A ionômica torna o processo de descoberta desses genes responsáveis pela variação no ionoma mais eficiente, pois permite que experimentos de mapeamentos simultâneos sejam conduzidos na mesma população segregante. Em uma população de mutantes, em que um único *locus* mutante é mapeado em cada linhagem, a análise do fenótipo de múltiplos elementos é mais fácil de mapear, pois aumenta a segurança de se classificar corretamente os indivíduos.

As concentrações de íons em populações naturais também têm sido utilizadas para a identificação de genes (BAXTER et al., 2008a; LOUDET et al., 2007; RUS et al., 2006). Em populações desenvolvidas, para identificar alelos naturais como RILs, a utilização de múltiplos íons para identificação do locus não tem sido

utilizada. Como os indivíduos parentais dessas populações são escolhidos por sua diversidade, é muito comum que cada elemento seja controlado por múltiplos loci. Dessa forma, cada íon tem sido tratado isoladamente e a colocação de QTL tem sido utilizada para determinar quais íons um determinado locus controla.

Muitos avanços foram feitos recentemente na identificação de genes que controlam a absorção e acúmulo de íons em plantas. Entre esses avanços, podemos citar a identificação do gene *AtHKT1*, o qual codifica um transportador de Na que determina o fenótipo de alto Na em dois acessos naturais distintos de *A. thaliana* Tsu-1 e Ts-1 (RUS et al., 2006). Ainda em *A. thaliana*, o gene *AtMOT1*, um possível transportador de Mo, é responsável pela redução na acumulação de Mo em mais de 80% em 7 acessos (BAXTER et al., 2008b) e o gene *FPN2*, um transportador de Fe e Co é responsável pelo aumento na acumulação de Co em 6 acessos (MORRISSEY et al., 2009).

Existem diversos estudos que analisam as bases genéticas que controlam a acumulação de um único íon em populações de RILs, porém apenas poucos estudos examinam múltiplos íons em mais de

uma população com o objetivo de investigar a arquitetura genética do ionoma (GHANDILYAN et al., 2009a; WATERS & GRUSAK, 2008; GHANDILYAN et al., 2009b).

Perspectivas

Recentemente, uma nova tecnologia de sequenciadores de DNA está sendo desenvolvida e testada no meio científico. Essa nova tecnologia, conhecida como a terceira geração de sequenciadores, promete realizar o sequenciamento de uma espécie em pouco tempo e por um custo bastante reduzido. Segundo RUSK (2009), será possível realizar o sequenciamento do genoma humano em menos de três minutos e por um custo inferior a cinco mil dólares. Assim, um campo grande e ainda inexplorado de novas técnicas e tecnologias estará disponível para ser explorado. Nesse contexto, o ionoma surge como uma ferramenta poderosa de identificação de genes de interesse em espécies até o momento pouco exploradas molecularmente. A partir da caracterização ionômica de diferentes cultivares ou acessos de uma determinada espécie, poderá se identificar aquela com maior potencial para absorção de um determinado íon de interesse, realizar o sequenciamento do DNA da cultivar em questão e de uma cultivar controle. A partir desses resultados, seria possível identificar a região do genoma que está coordenando o fenótipo de interesse em uma população recombinante e, posteriormente, identificar-se o gene de interesse. Assim, essa nova geração de sequenciadores possui um excelente potencial de estudo junto com o ionoma na realização de estudos diretos na espécie de interesse, fazendo com que os resultados sejam obtidos de uma maneira mais rápida e direta, não limitando os estudos a espécies modelos.

CONCLUSÃO

A acumulação de íons é um processo complexo que atinge quase todos os aspectos do crescimento, desenvolvimento e sobrevivência de uma planta. A tecnologia ICP permite a avaliação de múltiplos íons simultaneamente, permitindo a exploração da dinâmica do ionoma como um todo e não de um íon apenas, de maneira isolada. Isso torna os experimentos de identificação de genes mais eficientes, permitindo a identificação de novos *loci* que controlam este complexo sistema solo-planta-atmosfera.

Com a redução do custo e do tempo necessário para o sequenciamento do genoma das plantas tornando-se uma realidade, a rápida fenotipagem será crucial para a associação do genótipo ao fenótipo no processo de descoberta de novos genes.

Nesta revisão, foi discutido o desenvolvimento e a aplicação da ionômica como uma plataforma eficiente de fenotipagem, com capacidade de analisar milhares de amostras por semana com um único equipamento. Além disso, pelo fato do ionoma de uma planta ser a soma de vários processos biológicos, uma plataforma com potencial de gerar uma grande quantidade de dados como a ionômica, por exemplo, oferece um sistema viável de estudo dos mais diversos processos fisiológicos e bioquímicos que afetam o ionoma, em dezenas de milhares de indivíduos. O estudo do ionoma oferece o potencial de reduzir a lacuna existente entre o genótipo e o fenótipo, quando associado a outras plataformas de fenotipagem, como o transcrito, proteoma e metaboloma.

REFERÊNCIAS

- ABEDIN, M.J. et al. Uptake kinetics of arsenic species in rice plants. **Plant Physiology**, v.128, p.1120-1128, 2002. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/128/3/1120.full.pdf+html>>. Acesso em: 20 set. 2009. doi: 10.1104/pp.010733.
- ALONSO-BLANCO, C.; KOORNNEEF, M. Naturally occurring variation in Arabidopsis: an underexploited resource for plant genetics. **Trends in Plant Science**, v.5, n.1, p.22-29, 2000.
- BAXTER, I.R. Ionomics: studying the social network of mineral nutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, n.3, p.381-386, 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TD1YF9HWT16&_user=10&_coverDate=01%2F01%2F2000&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C00050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=349b7f112361c56bee8d8aaff69a40ff&searchtype=a>. Acesso em: 7 fev. 2010. doi: 10.1016/S1360-1385(99)01510-1.
- BAXTER, I.R. et al. The leaf ionome as a multivariable system to detect a plant's physiological status. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, n.33, p.12081-12086, 2008. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/105/33/12081.full.pdf+html>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1073/pnas.0804175105.
- BAXTER, I.R. et al. Variation in molybdenum content across broadly distributed populations of *Arabidopsis thaliana* is controlled by a mitochondrial molybdenum transporter (MOT1). **PLoS Genetics**, v.4, n.2, p.e1000004, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2265440/pdf/pgen.1000004.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1371/journal.pgen.1000004.
- BECHER, M. et al. Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. **Plant Journal**, v.37, n.2, p.251-268, 2004. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-313X.2003.01959.x/pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2010. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01959.x.
- BENTSINK, L. et al. The genetics of phytate and phosphate accumulation in seeds and leaves of *Arabidopsis thaliana*,

- using natural variation. **Theoretical and Applied Genetics**, v.106, n.7, p.1234-1243, 2003. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/ce7cyw5rfqylwvww/>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1007/s00122-002-1177-9.
- BOREVITZ, J.O.; NORDBORG, M. The impact of genomics on the study of natural variation in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.132, n.2, p.718-725, 2003. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/132/2/718.full.pdf+html>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1007/s00122-002-1177-9.
- CHEN, Z. et al. Elemental interconnections in *Lotus japonicus*: a systematic study of the affects of elements additions on different natural variants. **Soil Science & Plant Nutrition**, v.55, n.1, p.91-101, 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1747-0765.2008.00311.x/pdf>>. Acesso em: 06 abr. 2010. doi: 10.1111/j.17470765.2008.00311.x.
- CHEN, Z. et al. Rapid characterization of plant mutants with an altered ion-profile: a case study using *Lotus japonicus*. **New Phytology**, v.181, n.4, p.795-801, 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2008.02730.x/pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02730.x.
- DELHAIZE, E. et al. Screening *Arabidopsis* for mutants in mineral nutrition. **Plant Soil**, v.155, n.156, p.131-134, 1993. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/lgq32xj517v78731/>>. Acesso em: 12 mar. 2010. doi: 10.1007/BF00025001.
- EIDE, D.J. et al. Characterization of the yeast ionome: a genome-wide analysis of nutrient mineral and trace element homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. **Genome Biology**, v.6, n.9, p.R77, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1242212/pdf/gb-2005-6-9-r77.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2010. doi: 10.1186/gb-2005-6-9-r77.
- FIEHN, O. et al. Metabolite profiling for plant functional genomics. **Nature Biotechnology**, v.18, n.1, p.1157-1161, 2000. Disponível em: <http://www.nature.com/nbt/journal/v18/n11/full/nbt1100_1157.html>. Acesso em: 10 set. 2009. doi: 10.1038/81137.
- GHANDILYAN, A. et al. A strong effect of growth medium and organ type on the identification of QTLs for phytate and mineral concentrations in three *Arabidopsis thaliana* RIL populations. **Journal of Experimental Biology**, v.60, n.5, p.1409-1425, 2009. Disponível em: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/60/5/1409.full.pdf+html>>. Acesso em: 27 mar. 2010. doi: 10.1093/jxb/erp084.
- GHANDILYAN, A. et al. Genetics analysis identifies quantitative trait loci controlling rosette mineral concentrations in *Arabidopsis thaliana* under drought. **New Phytology**, v.184, n.1, p.180-192, 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2009.02953.x/pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1111/j.14698137.2009.02953.x.
- GUERINOT, M.; MORRISSEY, J. Iron uptake and transport in plants: the good, the bad, and the ionome. **Chemical reviews**, v.109, n.10, p.4553-4567, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2764373/pdf/nihms146277.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1021/cr900112r.
- HOEKENGA, O.A. et al. Identification and characterization of aluminum tolerance loci in *Arabidopsis (Landsberg erecta x Columbia)* by quantitative trait locus mapping. A physiologically simple but genetically complex trait. **Plant Physiology**, v.132, n.2, p.936-948, 2003. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/132/2/936.full.pdf+html>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1104/pp.103.023085.
- KEURENTJES, J. et al. Quantitative genetics in the age of omics. **Current Opinion in Plant Biology**, v.11, n.2, p.123-128, 2008. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/5526110_Quantitative_genetics_in_the_age_of_omics>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1016/j.pbi.2008.01.006.
- KIM, S.A.; GUERINOT, M.L. Mining iron: iron uptake and transport in plants. **FEBS Letter**, v.581, n.12, p.2273-2280, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014579307004310>>. Acesso em: jan. 2010. doi: 10.1016/j.febslet.2007.04.04.
- KOBAYASHI, Y.; KOYAMA, H. QTL analysis of Al tolerance in recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology**, v.43, n.3, p.1526-1533, 2002. Disponível em: <<http://pcp.oxfordjournals.org/content/43/12/1526.long>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1093/pcp/pcf174.
- KOLLER, A. et al. Proteomic survey of metabolic pathways in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.99, n.1, p.11969-11974, 2002. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/99/18/11969.full.pdf+html>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1073/pnas.172183199 .
- KOORNNEEF, M. et al. Naturally occurring genetic variation in *Arabidopsis thaliana*. **Annual Review in Plant Biology**, v.55, n.1, p.141-172, 2004. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141605>>. Acesso em: 13 jan. 2010. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141605.
- LAHNER, B. et al. Genomic scale profiling of nutrient and trace elements in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Biotechnology**, v.21, n.10, p.1215-1221, 2003. Disponível em: <<http://www.nature.com/nbt/journal/v21/n10/full/nbt865.html>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1038/nbt865.
- LEONHARDT, T.N., et al. Microarray expression analysis of *Arabidopsis* guard cells and isolation of a recessive abscisic acid hypersensitive protein phosphatase 2C mutant. **Plant Cell**, v.16, n.3, p.596-615, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC385275/pdf/tpc1600596.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1105/tpc.019000.
- LOUDET, O. et al. Natural variation for sulfate content in *Arabidopsis thaliana* is highly controlled by APR2. **Nature Genetics**, v.39, n.7, p.896-900, 2007. Disponível em: <<http://www.nature.com/ng/journal/v39/n7/full/ng2050.html>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1038/ng2050.
- LOUDET, O. et al. Quantitative trait loci analysis of nitrogen use efficiency in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.131, n.1, p.345-358, 2003. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/131/1/345.full.pdf+html>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1104/pp.102.010785.

- MA, J.F. et al. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, n.29, p.9931-9935, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2481375/pdf/zpq9931.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1073/pnas.0802361105.
- MARTZIVANOU, M.; HAMPP, M. Hyper-gravity effects on the *Arabidopsis* transcriptome. **Physiologia Plantarum**, v.118, n.2, p. 221-231, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-3054.2003.00092.x/pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2010. doi: 10.1034/j.1399-3054.2003.00092.x.
- MORRISSEY, J. et al. The ferroportin metal efflux proteins function in iron and cobalt homeostasis in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v.21, n.10, p.3326-3338, 2009. Disponível em: <<http://www.plantcell.org/content/21/10/3326.full.pdf+html>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1105/tpc.109.069401.
- OUTTEN, C.E.; O'HALLORAN, T.V. Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis. **Science**, v.292, n.1, p.2488-2492, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/content/292/5526/2488.long>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1126/science.1060331.
- PARAN, I.; ZAMIR, D. Quantitative traits in plants: beyond the QTL. **Trends in Genetics**, v.19, n.6, p.303-306, 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ShoppingCartURL&_method=add&_udi=B6TCY48J455K1&_acct=C000050221&_version=1&_userid=10&_ts=1302956158&md5=fbbbc94588812ad4066b20e3e5192b9a>. Acesso em: 15 fev.2010. doi:10.1016/S01689525(03)00117-3.
- PAYNE, K. et al. Natural genetic variation in caesium (Cs) accumulation by *Arabidopsis thaliana*. **New Phytology**, v.162, n.2, p.535-548, 2004. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2004.01026.x/pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01026.x.
- RAUH, L. et al. Quantitative trait loci analysis of growth response to varying nitrogen sources in *Arabidopsis thaliana*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.104, n.5, p.743-750, 2002. Disponível em: <<http://springerlink3.metapress.com/content/57hvp3u5agy316t9/resourcesecured/?target=fulltext.pdf&sid=nnvzxlefoaufdfqobkloj55&sh=www.springerlink.com>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1007/s00122-001-0815-y.
- RUS, A. et al. Natural variants of AtHKT1 enhance Na⁺ accumulation in two wild populations of *Arabidopsis*. **PLoS Genetics**, v.2, n.12, p.e210, 2006. Disponível em: <<http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.0020210>>. Acesso em: 13 jan. 2010. doi: 10.1371/journal.pgen.0020210.eor.
- RUSK, N. Cheap third-generation sequencing. **Nature Methods**, v.6, n.1, p.244, 2009. Disponível em: <<http://www.nature.com/nmeth/journal/v6/n4/full/nmeth0409-244a.html>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1038/nmeth0409-244a.
- SALT, D. et al. Ionomics and the study of the plant ionome. **Annual Review in Plant Biology**, v.59, n.1, p.709-733, 2008. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092942>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092942.
- SALT, D. Update on plant ionomics. **Plant Physiology**, v.136, n.1, p.2451-2456, 2004. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/136/1/2451.full.pdf+html>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1104/pp.104.047753.
- SORS, T.G. et al. Analysis of sulfur and selenium assimilation in *Astragalus* plants with varying capacities to accumulate selenium. **Plant Journal**, v.42, n.6, p.785-797, 2005. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-313X.2005.02413.x/pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02413.x.
- SZPUNAR, J. Metallomics: a new frontier in analytical chemistry. **ANalytical and Bioanalytical Chemistry**, v.378, n.1, p.54-56, 2004. Disponível em: <<https://springerlink3.metapress.com/content/e5j88b11v7j3e0gk/resourcesecured/?target=fulltext.pdf&sid=nnvzxlefoaufdfqobkloj55&sh=www.springerlink.com>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1007/s00216-003-2333-z.
- WATANABE, T. et al. Evolutionary control of leaf element composition in plants. **New Phytology**, v.174, n.3, p.516-523, 2007. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2007.02078.x/pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2010. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02078.x.
- WATERS, B.; GRUSAK, M.A. Quantitative trait locus mapping for seed mineral concentrations in two *Arabidopsis thaliana* recombinant inbred populations. **New Phytology**, v.179, n.4, p.1033-1047, 2008. Disponível em: <<http://aob.oxfordjournals.org/content/105/7/1221.long>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1093/aob/mcq050.
- WILLIAMS, L.; SALT, D. The plant ionome coming into focus. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, n.3, p.247-249, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2700188/pdf/nihms120642.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1016/j.pbi.2009.05.009.
- WILLIAMS, R.J.P. Chemical selection of elements by cells. **Coordination Chemistry Reviews**, v.216-217, n.1, p.583-595, 2001. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chin.200136294/pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1016/S0010-8545(00)00398-2.
- ZHANG, L. et al. Investigation of selenate tolerance mechanisms in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, v.128, n.2, p.212-223, 2006. Disponível em: <<http://rydberg.biology.colostate.edu/epsmitlab/3%20ecotype%20Se%20paper%20Zhang%20et%20al%2020106.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2009. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00739.x.
- ZHANG, L. et al. Mapping quantitative trait loci associated with selenate tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytology**, v.170, n.1, p.33-42, 2006. Disponível em: <<http://rydberg.biology.colostate.edu/epsmitlab/New%20Phytologist%20Zhang%20et%20al.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2010. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01635.x.