

METABOLISMO DE NITROGÊNIO EM ARROZ SOB NÍVEIS DECRESCENTES DE NITRATO

LEANDRO AZEVEDO SANTOS¹; CARLOS ALBERTO BUCHER¹; SONIA REGINA DE SOUZA², MANLIO SILVESTRE FERNANDES³

1. Mestrando do CPGA-CS, Departamento de Solos, UFRural-RJ, E-mail: azevedo@ufrj.br; bucher@ufrj.br. 2. Professora Adj. IV, Departamento de Química, UFRural-RJ, Email: soniabq@ufrj.br. 3. Professor Adj. IV, Departamento de Solos, UFRural-RJ, E-mail: manlio@ufrj.br. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, km 7, CEP: 23 851-970, Seropédica, Rio de Janeiro.

RESUMO

O acúmulo e a remobilização do nitrato em arroz (variedade Caiapó) durante o esgotamento desse íon foi estudado em cultivo hidropônico com 2mM de N-NO₃⁻. Trinta dias após a germinação (DAG) metade dessas plantas continuou a receber a solução nutritiva, enquanto o outro grupo foi mantido sem troca de solução e monitorado até o esgotamento do NO₃⁻. A depleção do NO₃⁻ resultou em maior queda da atividade da Nitrato redutase nas raízes do que nas folhas e bainhas. A redução dos teores de NO₃⁻ das raízes e bainhas foi muito maior do que nas folhas, indicando estes órgãos como alvos preferenciais para a remobilização. Sob 2mM de nitrato as bainhas apresentam maior acúmulo de N-NO₃⁻. Não há queda no N-total de folhas e raízes ao longo das 72 horas de depleção do NO₃⁻, enquanto que nas bainhas há queda acentuada. Plantas sob deficiência de NO₃⁻ mostram aumento significativo de massa fresca de folhas, bainhas e raízes ao fim do período (72 horas). Nessas plantas também foi observada uma correlação negativa entre N-amino e açúcares solúveis. Esses resultados indicam claramente que as bainhas são os sítios preferenciais para o acúmulo, reserva e remobilização de N nesta variedade de arroz.

Palavras-chave: absorção de nitrato, nutrição de plantas, fluxo de nitrato, nitrato redutase.

ABSTRACT

NITROGEN METABOLISM OF RICE UNDER LOW NITRATE AVAILABILITY

The dynamics of NO₃⁻ accumulation and translocations in rice plants (variety Caiapó) was studied in a growth chamber for 30 days in a nutrient solution with 2mM NO₃⁻-N. At this age half the plants were kept in the same N concentration in the solution, while the other half was depleted. Nitrate depletion in the nutrient solution (72 hours) resulted in a sharp decrease in the nitrate reductase activity (NRA) in roots while the same did not happen in roots and sheaths. Remobilization of NO₃⁻ was more intense in roots and sheaths than from leaves, which indicates the formers as preferential sites for N-remobilization. Plants under continuous NO₃⁻-supply (2mM), accumulated more NO₃⁻ in the sheaths than in the leaves and roots. Total N-loss was greater in leaves than in sheaths and roots of plants without NO₃⁻. Seventy two hours after the beginning of nitrate depletion, there was also an increase in the fresh weight of leaves, sheaths and roots. In these plants there was also a negative relationship between free amino-N and free sugars, which indicates N-deficiency, and lower demand for metabolic energy. These results indicate that in rice variety Caiapó, sheaths are the main site for accumulation, storage and remobilization of nitrogen.

Key words: nitrate uptake, plant nutrition, nitrate flush, nitrate reductase.

INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) está presente no solo em diferentes formas, mas é absorvido pelas plantas principalmente como amônio (NH₄⁺) ou nitrato (NO₃⁻) (Wirén et al., 1997). O nitrato é considerado a fonte de N mineral mais importante para o crescimento das plantas em solos bem aerados. Uma vez no interior da célula, o NO₃⁻ absorvido

pode ser reduzido, armazenado no vacúolo via canais iônicos ou exportado para as regiões de consumo na parte aérea.

A primeira etapa da assimilação do NO₃⁻ ocorre no citosol pela ação da enzima nitrato redutase (NR), que catalisa a redução do NO₃⁻ a NO₂⁻ com gasto de poder redutor na forma de NAD(P)H. Nos plastídios o NO₂⁻ é reduzido a NH₄⁺ pela ação da enzima nitrito redutase

(NiR) utilizando ferredoxina reduzida. O NH_4^+ é então incorporado em esqueletos de carbono pelo sistema enzimático GS/GOGAT (glutamina sintase/glutamato sintase). Novamente no citoplasma, o glutamato através da ação das aminotransferases dá origem a outros aminoácidos, que por sua vez darão origem às proteínas (Tischner, 2000).

O movimento do NO_3^- para o vacúolo pode ser muito rápido, resultando na sua depleção no citosol mesmo quando o conteúdo total de NO_3^- na célula é elevado. O vacúolo passa a ser, portanto um local de reserva de NO_3^- que pode ser posteriormente remobilizado e utilizado no metabolismo de N (Rodrigues, *et al.*, 2004).

A NR é uma enzima passível de ativação e indução pelo substrato (nitrato) e possui meia-vida curta (em torno de três horas) (Campbell, 1999). A diminuição no influxo de NO_3^- , e, portanto da quantidade de NO_3^- no citosol, pode resultar em queda da atividade da NR (Siddiqi & Glass, 2002).

A capacidade de rápido acúmulo de NO_3^- na fase inicial de crescimento pode propiciar um maior estoque de N disponível para o metabolismo das plantas nas fases posteriores de seu ciclo de vida, principalmente quando do enchimento dos grãos, e podem ser a razão do alto acúmulo de N nos grãos (Hirel *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 1998; 1999).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar o acúmulo e a remobilização do NO_3^- em plantas de arroz em função da depleção do NO_3^- na solução nutritiva.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em câmara de crescimento na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As plantas de arroz foram submetidas à fotoperíodo de 12h/12h (luz/escuro) luminosidade de $280 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, umidade relativa do ar de 70% e temperatura $28^\circ\text{C}/24^\circ\text{C}$ (diurna/noturna).

Sementes de arroz da variedade Caiapó foram germinadas sobre gaze, em potes contendo água destilada. Sete dias após a germinação (DAG) as plântulas foram transferidas para potes de dois litros (10 plântulas por pote), contendo solução de Hoagland & Arnon (1950) com 2mM de N- NO_3^- , a $\frac{1}{4}$ da força iônica; cinco dias depois a solução foi trocada para $\frac{1}{2}$ da força iônica e após mais cinco dias, passaram a receber solução em força iônica total até os 30 DAG. Depois da última troca de solução aos 30 DAG os potes foram divididos em dois grupos: 1) Controle: troca a cada três dias da solução nutritiva contendo 2 mM de N- NO_3^- e 2) Tratamento: sem troca de solução nutritiva. O conteúdo de NO_3^- dos potes onde não houve troca da solução foi monitorado a cada quatro horas até a 120ª hora, e a partir desse momento a cada duas horas até atingir o C_{min} (concentração externa na qual o fluxo líquido de íons é zero). As amostras de solução nutritiva foram

utilizadas para determinar o conteúdo de NO_3^- pelo método de Cataldo *et al.* (1975).

A partir do esgotamento de NO_3^- da solução nutritiva, foi iniciado o acompanhamento da remobilização do NO_3^- acumulado pela planta. Para isso foram feitas coletas da parte aérea, caule e raiz às 0, 24, 48 e 72 horas das plantas controle e tratamento. Deste material também foram retiradas amostras de 200 mg de folhas, caules e raízes que foram utilizadas para a determinação da atividade da Nitrato Redutase (Jaworski, 1971); e amostras de um grama foram homogeneizadas em etanol (80%), sofreram partição com clorofórmio (Fernandes, 1984) e a fração solúvel obtida foi utilizada para a determinação dos teores de N-amino livre (Yemm & Cocking, 1955), N- NH_4^+ (Felker, 1977), N- NO_3^- (Cataldo *et al.*, 1975) e açúcares solúveis (Yemm & Willis, 1957).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A depleção do NO_3^- da solução nutritiva não ocorre de maneira decrescente e contínua. Nas primeiras horas após a última troca de solução há um efluxo de NO_3^- . Isto pode estar associado às elevadas concentrações de NO_3^- já existente na planta. O fato é que o efluxo ocorre no período da noite, onde não há formação de fotoassimilados pela planta (Figura 1). Matt (2001) observou que a absorção de nitrato durante o dia, foi 40% maior que a absorção durante a noite em tabaco. Nota-se que, com a diminuição do conteúdo de nitrato na solução, a planta passa a absorver o nitrato independentemente da presença ou ausência de luz (Figura 1).

Quando o suprimento de nitrato é cortado, a atividade da nitrato redutase (ANR) nas raízes é sempre menor que no controle (Tabela 1). Esses resultados corroboram os encontrados por Fernandes & Rossiello (1995) que correlacionam positivamente a ANR com o fluxo do seu substrato no citosol das células. O comportamento da ANR nas bainhas parece não seguir essa mesma lógica visto que quantidades significativas de nitrato são remobilizadas desses tecidos (Tabela 2) e isso não está relacionado com uma maior ANR. A atividade da nitrato redutase nas bainhas foi muito baixa quando comparada com as outras partes da planta e sempre maior onde o suprimento de nitrato foi esgotado, diferente do observado nas raízes (Tabela 1).

Como o nitrato que é enviado para as bainhas é aquele que teoricamente está em excesso não haveria então lógica em reduzi-lo, mas quando a planta esta sob deficiência desse nutriente a atividade de redução neste tecido faz sentido, pois como ele também depende do N para manter a sua atividade metabólica, deve haver uma remobilização do NO_3^- estocado justificando uma maior atividade da ANR. Resultados semelhantes foram obtidos por Fernandes & Freire, 1976 em *Brachiaria sp.*

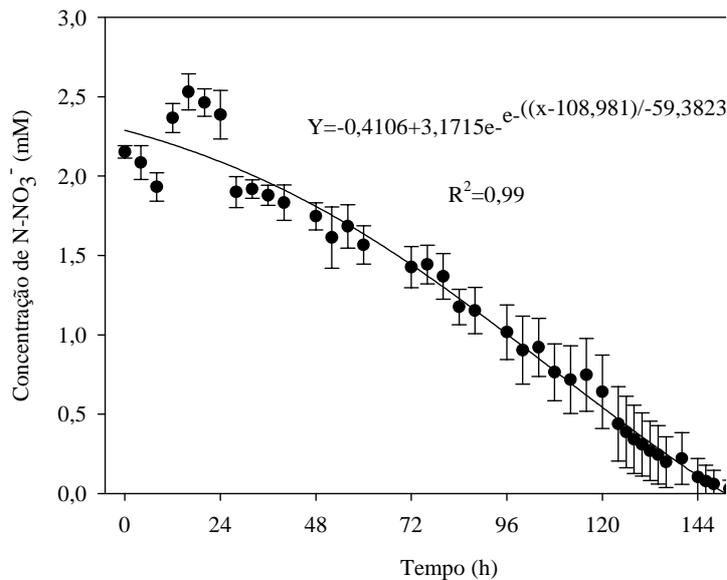


Figura 1 - Depleção de nitrato na solução nutritiva com o cultivo de arroz (var. Caiapo), após a suspensão na adição de nitrato na solução nutritiva.

Tabela 1 - Atividade da Nitrato Redutase, teor de N-total e Massa fresca em folhas, raízes e bainhas de plantas de arroz cultivadas com 2 mM de NO_3^- na solução nutritiva ou sob depleção do NO_3^- durante 72 h. UFRural-RJ, 2004.

Atividade da Nitrato Redutase ($\mu\text{moles de NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)				
	FOLHA		RAIZ	
Coletas	0mM NO_3^-	2mM NO_3^-	0mM NO_3^-	2mM NO_3^-
0 h	0,52 Aa*	0,48 Ba	0,49 Ab	1,62 Ba
24 h	0,67 Aa	0,59 Ba	0,56 Ab	1,68 Ba
48 h	0,23 Bb	0,60 Ba	0,30 Bb	1,69 Ba
72 h	0,28 Bb	0,97 Aa	0,26 Bb	2,14 Aa
CV (%)	31,90		22,33	
N-Total ($\mu\text{moles de N} \cdot \text{g}^{-1}$ de massa se)				
0 h	37,45 Ab*	44,41 Aa	20,33 Aa	23,03 Aa
24 h	40,30 Aa	45,93 Aa	18,17 Aa	22,07 Aa
48 h	34,70 Ab	51,37 Aa	21,18 Aa	24,28 Aa
72 h	34,41 Ab	49,52 Aa	16,41 Aa	19,85 Aa
CV (%)	10,07		15,31	
Massa Fresca (g)- Peso de 10 plantas				
0 h	5,56 Ba	5,47 Aa	5,77 Ba	5,58 Aa
24 h	5,63 Ba	5,31 Aa	5,77 Ba	4,89 Aa
48 h	6,06 Ba	5,82 Aa	6,65 Ba	5,30 Aa
72 h	6,96 Aa	5,91 Ab	8,60 Aa	4,84 Aa

* Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas para cada parte da planta não diferem entre si pelo teste Scott Knott 5%.

Tanto nas raízes como nas folhas, a atividade de remobilização do nitrato se dá de maneira mais rápida nas primeiras 24 horas, justificando a maior atividade da NR nesse período (Tabela 1).

Após o esgotamento do conteúdo de nitrato na solução nutritiva, o teor de NO_3^- presente em todas as partes da planta sofre diminuição gradativa, o que é mais evidente na raiz e bainha, mostrando que esses

dois locais são preferenciais em relação à remobilização desse ânion. A bainha apresenta os maiores níveis de nitrato quando a planta é mantida permanentemente sob nutrição com 2 mM de NO_3^- , mostrando mais uma vez que este tecido é provavelmente o local principal para o armazenamento desse íon no arroz (Tabela 2).

Tabela 2 - Teores de $N-NO_3^-$, N-Amino, $N-NH_4^+$ e Açúcares solúveis em folhas, raízes e bainhas de plantas de arroz cultivadas com 2 mM de NO_3^- na solução nutritiva ou sob depleção do NO_3^- durante 72 h. UFRural-RJ, 2004.

$N-NO_3^-$ (μmoles de $NO_3^- \cdot g^{-1}$ de massa fr)				
FOLHA		RAIZ		
Coletas	0mM NO_3^-	2mM NO_3^-	0mM NO_3^-	2mM NO_3^-
0 h	8,78 Ab*	23,73 Aa	15,54 Ab	21,50 Bb
24 h	7,36 Ab	20,14 Aa	9,93 Ab	23,93 Bb
48 h	3,10 Bb	14,19 Ba	1,68 Bb	22,17 Bb
72 h	2,69 Bb	13,24 Ba	0,23 Bb	29,61 Aa
CV (%)	31,47		24,98	
N-Amino (μmoles de N-Amino. g^{-1} de massa fr)				
0 h	6,90 Ab*	8,80 Ba	4,89 Aa	5,48 Bb
24 h	6,44 Ab	9,19 Ba	6,87 Ab	10,10 Aa
48 h	6,04 Ab	10,70 Aa	7,46 Aa	9,54 Aa
72 h	5,07 Ab	12,36 Aa	6,91 Ab	11,36 Aa
CV (%)	14,73		20,90	
$N-NH_4^+$ (μmoles de $NH_4^+ \cdot g^{-1}$ de massa fr)				
0 h	0,84 Ab*	1,05 Ba	0,58 Aa	0,48 Bb
24 h	0,79 Ab	0,97 Ba	0,48 Bb	0,61 Aa
48 h	0,77 Ab	1,12 Aa	0,45 Ba	0,50 Ba
72 h	0,73 Ab	1,21 Aa	0,43 Bb	0,60 Aa
Média	0,78 b	1,09 a	0,48 b	0,55 a
CV (%)	7,68		11,74	
Açúcares Solúveis (μmoles de Glicose. g^{-1} de massa fr)				
0 h	62,98 Ba*	52,59 Ba	10,66 Aa	9,09 Aa
24 h	73,65 Ba	56,31 Ba	14,05 Aa	10,81 Aa
48 h	89,73 Aa	74,16 Aa	15,45 Aa	10,15 Aa
72 h	102,3 Aa	84,51 Aa	15,88 Aa	14,49 Aa
Média	82,16 a	66,89 b	14,00 a	11,14 a
CV (%)	16,76		25,85	

* Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Scott Knott 5%.

Houve aumento significativo de N-amino livre, entre as coletas 0 – 72 horas, tanto nas folhas, como nas raízes das plantas submetidas à nutrição constante com 2 mM de NO_3^- (Tabela 2). A elevada concentração de nitrato na solução nutritiva em que as plantas estão submetidas aumenta o fluxo interno desse nutriente no interior de raízes e folhas, o que por sua vez através da ação das enzimas de assimilação de N eleva os teores de N-Amino livre. Esse aumento não é observado quando as plantas estão sob condições de privação de fonte externa de N. Por outro lado, observa-se que mesmo com a falta desse nutriente, os níveis de N-amino não sofrem reduções drásticas, indicando que as plantas devem estar remobilizando o NO_3^- acumulado nos vacúolos a fim de manter uma homeostase metabólica.

Nas bainhas, de maneira distinta do que ocorre nas folhas e raízes, não se observam aumentos nos teores

de N-amino quando as plantas são nutridas constantemente com 2 mM de NO_3^- . Esta constatação pode ser um indicativo de que neste tecido a NR é pouco abundante ou a área citosólica do mesmo é pequena, prejudicando dessa forma o contato da enzima com o substrato. O conteúdo de N-Amino nas folhas e bainhas é sempre igual ou menor no tratamento onde houve esgotamento do suprimento de NO_3^- , indicando uma menor velocidade de redução do N, que como pode ser observado na Tabela 2 está sendo remobilizado. Isto indica que as plantas de arroz quando se encontram sob deficiência de N remobilizam o N presente no vacúolo em velocidade menor do que quando sob condição normal desse nutriente, podendo ser esta uma estratégia para garantir um maior período de sobrevivência e/ou formar grãos.

Há uma queda significativa no conteúdo de $N-NH_4^+$

das raízes das plantas nas primeiras 24 horas após o esgotamento do N-NO_3^- da solução nutritiva (Tabela 2). Tanto para folhas quanto para raízes, os teores de amônio nas plantas submetidas ao esgotamento de NO_3^- em solução, relacionam-se negativamente com os teores de açúcares solúveis ($R^2 = -0,94$ e $R^2 = -0,98$, respectivamente para folhas e raízes). De maneira distinta ao que ocorre nas raízes e bainhas das plantas que foram supridas permanentemente com 2 mM de N-NO_3^- em solução, nas folhas há aumento no conteúdo de N-NH_4^+ entre as coletas feitas a 0 hora e 72 horas. Se observarmos os valores médios de cada tratamento, podemos constatar que os menores teores de N-NH_4^+ ocorreram em todas as partes das plantas cultivadas com depleção do N da solução nutritiva (Tabela 2).

Houve aumento nos teores de açúcares solúveis nas folhas e bainhas das plantas após o esgotamento do conteúdo de NO_3^- na solução nutritiva (Tabela 2). Isto se dá provavelmente porque há uma diminuição gradativa no conteúdo de N presente no pool de reserva da planta com o decorrer do tempo. Nas folhas, não há diferenças significativas nas primeiras 24h. Nas bainhas, o aumento no conteúdo de açúcares solúveis só pode ser observado a partir de 48 h após esgotamento do conteúdo de N-NO_3^- na solução (Tabela 2).

Foi observada uma relação negativa ($R^2 = -0,94$) entre os teores de N-amino livre e açúcares solúveis nas folhas das plantas após esgotamento do conteúdo de N-NO_3^- na solução, indicando que a diminuição no conteúdo de N-amino com conseqüente aumento no teor de açúcares solúveis é devido ao decréscimo de N no decorrer do tempo, e pode também estar relacionado a uma menor remobilização do NO_3^- estocado. Nas raízes, para o mesmo tratamento esta relação é alta ($R^2 = 0,88$) e positiva, indicando que a remobilização ocorre de maneira mais rápida mantendo o conteúdo de N-amino aproximadamente constante até as 72 h após esgotamento do NO_3^- na solução. Talvez esta manutenção no conteúdo de N-amino (Tabela 2) nas raízes ocorra em função da necessidade de aminoácidos para suportar o crescimento radicular observado neste órgão após esgotamento do suprimento de N externo (Tabela 1). O N-total das folhas não varia entre os dois tratamentos, no entanto, pode-se notar que após o esgotamento do NO_3^- na solução, o conteúdo de N-total é sempre mais baixo (Tabela 1).

Na raiz, de maneira similar às folhas, não há diferença do conteúdo de N-total no decorrer do tempo, dentro de cada um dos tratamentos com e sem a presença de nitrato em solução. Esta observação pode indicar que sob condição de privação de N os tecidos das raízes são mais favorecidos em termos de compostos nitrogenados para garantir o crescimento radicular observado sob privação de N-NO_3^- (Tabela 1).

Na bainha, de maneira diferente do observado nas folhas e raízes, ocorre um decréscimo contínuo e significativo do conteúdo de N no tratamento onde é cortado o suprimento externo de nitrato. Isto se deve à contínua remobilização de N deste tecido, que se mostra

como principal local de reserva deste nutriente (Tabela 2). Quando a planta é mantida sob nutrição constante com 2 mM de N-NO_3^- o conteúdo de N-total da bainha não sofre grandes variações.

Nota-se na Tabela 1 que sob condição de privação de N, há um estímulo ao crescimento radicular que se torna mais evidente a partir das 48 h horas após esgotamento do suprimento externo de N-NO_3^- . Nas folhas e bainha, também foi verificado um aumento na massa fresca das plantas que teve o suprimento externo de N-NO_3^- esgotado. No entanto, esta constatação só pode ser observada a partir de 72 horas após esgotamento do conteúdo de NO_3^- na solução nutritiva (Tabela 1). No decorrer do tempo, dentro de cada tratamento, nota-se que quando as plantas são submetidas a um suprimento constante de 2 mM de NO_3^- não há aumento significativo na massa fresca em todas as partes da planta. Por outro lado, quando o suprimento externo de NO_3^- foi esgotado houve aumento na massa fresca a partir da 72 horas em todas as partes da planta.

CONCLUSÕES

1. Na fase inicial de crescimento das plantas de arroz da variedade Caiapó ocorre acúmulo de nitrato na bainha foliar, enquanto que nas raízes e folhas o NO_3^- é assimilado em maior intensidade.
2. Sob condição normal de N na solução nutritiva, a atividade da nitrato redutase é muito baixa nas bainhas, caracterizando esse tecido como especializado em armazenar o NO_3^- em excesso.
3. Somente após a depleção de N da solução nutritiva a planta começa a remobilizar o NO_3^- que está armazenado principalmente nas bainhas, para suprir as necessidades de nitrogênio do vegetal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 277-303, 1999.
- CATALDO, D.; HARRON, M.; SCHARADER, L. E. & YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, p. 853-855, 1975.
- FELKER, P. Microdetermination of nitrogen in seed protein extracts. **Analytical Chemistry**, v. 49, 1980, 1977.

- FERNANDES, M. S. ; FREIRE, L. R. Effects of nitric nitrogen applied to soil on nitrate-reductase activity and soluble nitrogen in *Brachiaria* sp. **Turrialba**, v. 26, n. 3, p. 268-273, 1976.
- FERNANDES, M. S. N-carriers, light and temperature influences on uptake and assimilation of nitrogen by rice. **Turrialba**, v.34, p.9-18, 1984.
- FERNANDES, M. S.; & ROSSIELLO, R. O. P. Mineral Nitrogen in Plant Physiology and Plant Nutrition. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.14, n.2, p.111-148, 1995.
- HIREL, B.; BERTIN, P.; QUILLERÉ, I.; BOURDONCLE, W.; et al. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1258-1270, 2001.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Bulletin**, v. 347, p. 1-32, 1950.
- JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Bioquimical and Biophysical Research Communications**, v. 43, n. 6, p. 1274-1279, 1971.
- MATT, P.; GEIGER, M.; WALCH-LIU, P.; ENGELS, C.; KRAPP, A.; SITTI, M. The immediate cause of the diurnal changes of nitrogen metabolism in leaves of nitrate-replete tobacco: a major imbalance between the rate of nitrate reduction and the rates of nitrate uptake and ammonium metabolism during the first part of the light period. **Plant Cell and Environment**, v. 24, p. 170-190, 2001.
- RODRIGUES, F. de S.; SOUZA, S. R.; RODRIGUES, F. de S.; FERNANDES, M. S. Nitrogen Metabolism in Rice Cultivated Under Seasonal Flush of Nitrate. **Journal of Plant Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 395-409, 2004.
- SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. An evaluation of the evidence for, and implications of, cytoplasmic nitrate homeostasis. **Plant Cell and Environment**, v.25, p.1211-1217, 2002.
- SOUZA, S. R., STARK, E. M. L. M., FERNANDES, M. S. e MAGALHÃES, J. R. Effects of supplemental nitrogen on nitrogen-assimilation enzymes, free amino nitrogen, soluble sugars and crude protein of rice. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, v. 30, n. 5 e 6, p. 711-724, 1999.
- SOUZA, S. R.; STARK, E. M. L.; FERNANDES, M.S. Nitrogen remobilization during the reproductive period in two Brazilian rice varieties. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 10, p. 2049-2063, 1998.
- TISCHNER, R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. **Plant Cell and Environment**, v. 23, p. 1005-1024, 2000.
- WIRÉN, N. V.; GAZZARRINI, S.; FROMMER, W. B. Regulation of mineral uptake in plants. **Plant and Soil**, v. 196, p. 191-199, 1997.
- YEMM, E. W. & COCKING, E. C. The determination of amino-acid with ninhydrin. **Analytical Biochemistry**, v. 80, p. 209-213, 1955.
- YEMM, E. W. & WILLIS, A. I. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, p. 508-514, 1957.