

ISSN 1678-9644

Abril, 2013

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Arroz e Feijão  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 280**

# **Nitrato redutase e sua importância no estabelecimento de plantas de arroz de terras altas**

*Anna Cristina Lanna  
Milene Alves de Figueiredo Carvalho*

Embrapa Arroz e Feijão  
Santo Antônio de Goiás, GO  
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Arroz e Feijão**

Rod. GO 462, Km 12  
Caixa Postal 179  
75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO  
Fone: (0xx62) 3533 2110  
Fax: (0xx62) 3533 2123  
www.cnpaf.embrapa.br  
cnpaf.sac@embrapa.br

**Comitê de Publicações**

Presidente: *Camilla Souza de Oliveira*  
Secretário-Executivo: *Luiz Roberto Rocha da Silva*  
Membros: *Flávia Aparecida de Alcântara*  
*Luís Fernando Stone*  
*Ana Lúcia Delalibera de Faria*  
*Heloísa Célis de Paiva Breseghello*  
*Márcia Gonzaga de Castro Oliveira*  
*Henrique César de Oliveira Ferreira*  
*Cleber Moraes Guimarães*

Supervisor editorial: *Camilla Souza de Oliveira*  
Revisão de texto: *Camilla Souza de Oliveira*  
Normalização bibliográfica: *Ana Lúcia D. de Faria*  
Tratamento de ilustrações: *Fabiano Severino*  
Editoração eletrônica: *Fabiano Severino*

**1ª edição**

Versão online (2013)

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Embrapa Arroz e Feijão**

---

Lanna, Anna Cristina.

Nitrato redutase e sua importância no estabelecimento de plantas de arroz de terras altas / Anna Cristina Lanna, Milene Alves de Figueiredo Carvalho. – Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2013.

36 p. – (Documentos / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9644 ; 280)

1. Arroz – Enzima. 2. Arroz - Nitrogênio. I. Carvalho, Milene Alves de Figueiredo. II. Título. III. Embrapa Arroz e Feijão. IV. Série.

CDD 633.18 (21. ed.)

---

© Embrapa 2013

# **Autores**

## **Anna Cristina Lanna**

Química, Doutora em Fisiologia Vegetal,  
pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo  
Antônio de Goiás, GO, [anna.lanna@embrapa.br](mailto:anna.lanna@embrapa.br)

## **Milene Alves de Figueiredo Carvalho**

Engenheira agrônoma, Doutora em Fisiologia  
Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão,  
Santo Antônio de Goiás, GO,  
[milene.carvalho@embrapa.br](mailto:milene.carvalho@embrapa.br)



# Apresentação

O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado o produto de maior importância econômica em muitos países em desenvolvimento, constituindo-se alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas.

O crescente consumo desse cereal em virtude do aumento populacional e, conseqüentemente, a demanda pelo aumento de sua produtividade exigem da pesquisa a busca de cultivares mais eficientes no uso de nitrogênio.

Dessa forma, a seleção de genótipos com essa característica é considerada, atualmente, uma das maneiras mais adequadas para enfrentar desafios como aumento do vigor das plântulas de arroz de terras altas e, por conseguinte, maior competição com plantas daninhas.

Nitrato e amônia são as principais fontes de nitrogênio inorgânico absorvido pelas raízes de plantas superiores, sendo o nitrato a forma predominante de nitrogênio em solos aerados como é o caso dos solos cultivados com arroz de terras altas.

Para o nitrato ser incorporado em estruturas orgânicas nas plantas e exercer suas funções essenciais como nutriente, ele tem que ser reduzido à amônia por uma série de reações, sendo a nitrato redutase a primeira enzima dessa cascata.

A importância da redução e assimilação de nitrato para as plantas é semelhante à redução e assimilação de CO<sup>2</sup> na fotossíntese. Portanto, a habilidade de genótipos de arroz em reduzir e incorporar nitrato é de fundamental importância para o sucesso dessa cultura em terras altas.

Esse documento sumariza a informação disponível na literatura sobre a enzima nitrato redutase e seu papel como ferramenta bioquímica para o processo de seleção de genótipos de arroz de terras altas com maior eficiência no uso de nitrato como fonte de nitrogênio.

*Luís Fernando Stone*  
*Chefe-Adjunto de P&D*

# Sumário

<b>Introdução.....</b>	<b>9</b>
<b>Arroz de Terras Altas em Sistema Plantio Direto.....</b>	<b>10</b>
<b>Nitrato Redutase como Indicador Bioquímico para Estabelecimento de Plantas de Arroz de Terras Altas .....</b>	<b>14</b>
<b>Atividade, Indução e Distribuição da Nitrato Redutase na Planta.....</b>	<b>19</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>26</b>
<b>Referências .....</b>	<b>26</b>



# Nitrato redutase e sua importância no estabelecimento de plantas de arroz de terras altas

*Anna Cristina Lanna*

*Milene Alves de Figueiredo Carvalho*

## Introdução

A cultura do arroz possui papel estratégico em termos de valor econômico e social. É considerada uma *commodity* e, o seu grão, alimento básico para grande parte da população. No Brasil, a cultura do arroz é encontrada em dois ecossistemas: o de várzeas e o de terras altas. No primeiro, o arroz é cultivado sob inundação e, no último, seu cultivo pode ser realizado sem irrigação ou com irrigação suplementar por aspersão. Visando atingir a sustentabilidade agrícola, sistemas de manejo como o sistema plantio direto (SPD), em que a semeadura ocorre com o revolvimento mínimo do solo, preservando-se a cobertura vegetal de culturas anteriores sobre a superfície, têm se destacado e se mostrado promissores. Para o arroz de terras altas, cultivado no SPD, a fase inicial de seu crescimento é considerada a mais sensível à interferência de plantas daninhas, já que essas se destacam na rapidez e eficiência na utilização dos recursos água, luz e nutrientes. Um dos fatores mais críticos para estabelecer o sucesso da competitividade entre cultura principal e plantas daninhas é o suprimento adequado de nitrogênio (N) às plantas. O N é absorvido do solo, pelas plantas, nas formas de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e/ou amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), sendo o  $\text{NO}_3^-$  a forma predominante nos solos aerados e ácidos (pH abaixo de 5,0), como é o caso dos solos cultivados com arroz de terras altas. A rota de absorção e assimilação de  $\text{NO}_3^-$ , em plantas superiores, envolve uma série sequencial de reações,

cuja primeira etapa, conversão do  $\text{NO}_3^-$  a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), é considerada a mais limitante de todo o processo bioquímico. Essa conversão é mediada pela enzima nitrato redutase (NR), considerada um indicador bioquímico para medida da eficiência do uso de N no início do estabelecimento da cultura. Assim, plantas de arroz de terras altas, em estádios iniciais de desenvolvimento, com alta atividade da NR, utilizam o  $\text{NO}_3^-$  mais eficientemente e, conseqüentemente, competem com plantas daninhas com maior eficácia. Apesar da importância da nutrição nitrogenada para o desenvolvimento, aclimatação e produtividade de plantas de arroz de terras altas, são poucos os trabalhos sobre o metabolismo de N nessa espécie. O objetivo dessa revisão é sumarizar a informação disponível na literatura e discutir o papel da NR, como enzima chave na série de reações de absorção e assimilação de N, pelas plantas de arroz cultivadas em terras altas, assim como comentar e discutir alguns resultados aparentemente contraditórios sobre a assimilação de N em plantas superiores.

## Arroz de Terras Altas em Sistema Plantio Direto

O processo evolutivo da cultura do arroz (*Oryza sativa* L.), planta considerada hidrófila, tem viabilizado sua adaptação às mais variadas condições ambientais (GUIMARÃES et al., 2006). Essa espécie pertence à família *Poaceae* e ao gênero *Oryza* spp., o qual compreende 25 espécies conhecidas, em nível mundial. Dessas, somente duas são cultivadas: *Oryza glaberrima* Steud (arroz africano) e *Oryza sativa* L. (arroz asiático). *Oryza sativa* L. é a espécie agronomicamente mais bem sucedida das duas e, como tal, a mais comercialmente cultivada (OUKO, 2003). Essa espécie é classificada de acordo com sua adaptação a diferentes fatores ambientais, como comprimento do dia e condições de umidade e temperatura, em duas subespécies: *indica* e *japonica* (CHENG et al., 2003). Além dessas adaptações ecológicas, essas subespécies diferem em características de grão; enquanto os genótipos *indica* têm grãos longos e finos; os grãos dos genótipos *japonica* são, em sua maioria, compactos e curtos.

No Brasil, são considerados dois grandes ecossistemas para a cultura do arroz, o de várzeas, irrigado por inundação controlada, e o de terras altas, englobando o sem irrigação e o com irrigação suplementar por aspersão. O arroz de terras altas é encontrado, predominantemente, no Brasil (principalmente, na região Centro-Oeste, estados do Mato Grosso e Goiás; região Norte, estados do Tocantins, Roraima e Pará e região Nordeste, Estado do Maranhão) e, em menor proporção, no continente africano e asiático. Nesse sistema de produção, predominam as cultivares pertencentes à subespécie *japonica* (HEINEMANN et al., 2009) e é caracterizado pela condição aeróbica de desenvolvimento radicular da planta (GUIMARÃES et al., 2006). A participação do sistema de cultivo de arroz de terras altas na produção brasileira de grãos, em 2010, foi de 21% de um total de 12,6 milhões de toneladas, ocupando uma área plantada de 1,4 milhões de hectares (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2011). De acordo com a Conab (2011), na área cultivada com arroz de terras altas, os maiores aumentos de produção se efetivaram nos estados da Paraíba (83,3%) e de São Paulo (23,5%); mas são estados com pouca expressão na produção nacional. Dentre os estados que mais diminuíram a área cultivada com arroz de terras altas, citam-se Pernambuco (20,8%); Minas Gerais (15,4%); Goiás (14,7%) e Mato Grosso (9,5%). Além disso, o cultivo do arroz de terras altas adota o SPD para áreas cultivadas há mais tempo, e o plantio convencional para áreas abertas recentemente. Nas regiões Norte e Nordeste, o predomínio é do plantio convencional tradicional (CONAB, 2011).

Farinelli et al. (2004) relataram que, dentre as culturas agrícolas plantadas no Brasil, o arroz parece ser o menos adaptado ao SPD, apesar de que o mesmo está cada vez mais consolidado nas áreas agricultáveis do país. Corroborando essa afirmação, Soares (2004) diz que o cultivo do arroz de terras altas em plantio direto ainda não pode ser considerado competitivo com o sistema convencional (aração e gradagem), visto que na maioria das vezes a planta apresenta pequeno desenvolvimento radicular, reduzindo sua tolerância à seca; menor número de perfilhos por área, diminuindo o número de panículas por área, além de exibir uma produtividade de grãos aquém do desejado. Sob esse sistema, plantas daninhas emergem ao mesmo tempo em que a cultura do arroz

e, portanto, competem com a cultura para a aquisição de recursos (OUKO, 2003). Além disso, a intensificação do uso do SPD resultou no surgimento de novos padrões de plantas daninhas nas áreas de cultivo do arroz de terras altas no Brasil (GUIMARÃES et al., 2006). Interações entre a cultura principal e plantas daninhas são baseadas na competição por recursos: luz, água, espaço e/ou nutrientes e, na maioria dos casos, as plantas daninhas têm maior capacidade de absorção de nutrientes devido a sua robustez. Portanto, com recursos limitados, plantas daninhas são concorrentes mais eficientes do que a cultura principal e, no caso do arroz de terras altas, essa competição é mais crítica na fase de seu crescimento lento, isto é, antes da formação do dossel. De acordo com West Africa Rice Development Association (1996), a ocorrência de plantas daninhas é a principal limitação de um bom rendimento do arroz de terras altas, contribuindo com aproximadamente 50% de redução de produtividade, seguido de importância pela deficiência de N, ataque de pragas e ocorrência de doenças. Como a morfologia de plantas de arroz é muito similar à de plantas daninhas concorrentes, grandes desafios no seu controle são enfrentados pelo produtor de arroz (ZHAO et al., 2006). Os herbicidas têm se mostrado eficazes em muitos casos (DE DATTA; LLAGAS, 1984), mas o uso intensivo de herbicidas pode causar contaminação ambiental e desenvolvimento de plantas daninhas resistentes a herbicidas (LEMERLE et al., 2001). Assim como os herbicidas, o uso de fertilizantes nitrogenados inorgânicos está associado a uma gama de problemas ambientais e a previsão é de que seu uso vai dobrar ou triplicar nos próximos 50 anos (TILMAN et al., 2001). Atualmente, problemas relacionados ao custo desses fertilizantes e à poluição por  $\text{NO}_3^-$  têm levado à seleção de variedades que absorvam e metabolizem o N do solo mais eficientemente. Segundo Greenland (1958), o clima tropical, caracterizado por duas estações bem definidas (um período de chuvas e um período seco), ocasiona fluxos sazonais de  $\text{NO}_3^-$  no solo. O mesmo fenômeno parece ocorrer nas regiões do Cerrado brasileiro, onde houve acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  no solo em curto período de tempo na estação chuvosa (NARDOTO; BUSTAMANTE, 2003). Dessa forma, o N está sujeito à lixiviação mais intensa durante a estação das chuvas, tornando-se disponível para as plantas apenas no início do

período úmido, portanto, devendo ser absorvido rapidamente (SANTOS et al., 2009). Um processo adaptativo de plantas a ambientes onde a disponibilidade desse nutriente é baixa e ocorre em fluxos sazonais seria a rápida absorção e acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  nos estádios iniciais do desenvolvimento com sua posterior utilização durante as diferentes fases do desenvolvimento do vegetal, sendo menos dependente de fontes externas de N na fase reprodutiva. No processo de absorção e acúmulo de N-  $\text{NO}_3^-$ , está envolvida uma série de enzimas, destacando-se as P- $\text{H}^+$ -ATPase, V- $\text{H}^+$ -ATPase,  $\text{H}^+$ -PPase, NR e Glutamina Sintetase (GS) (MALHEIROS, 2008).

Assim, a utilização de variedades competitivas para suprimir plantas daninhas e assimilar eficientemente o N do solo poderia substancialmente reduzir o uso de insumos agrícolas e o custo de mão de obra (ZHAO et al., 2006). Pesquisadores concordam que o manejo de plantas daninhas e da adubação nitrogenada deve concentrar-se nos estádios iniciais do desenvolvimento da planta de arroz (HIROHIKO; NOBUYUKI, 2002; KNEZEVIC et al., 2002). Desse ponto de vista, o melhoramento de plantas pode contribuir significativamente para o controle de plantas daninhas e a absorção de N, desenvolvendo cultivares capazes de adquirir, eficientemente, nutrientes nas fases iniciais de seu desenvolvimento para que sejam capazes de competir com plantas daninhas (OUKO, 2003). De acordo com Nie et al. (2009), para melhorar o potencial e a estabilidade de produtividade do arroz de terras altas, cultivares que apresentam alta produtividade associadas com sistemas de manejo sustentáveis devem ser desenvolvidas. Esses objetivos são particularmente relevantes nos trópicos, em que diversos estudos têm documentado que o monocultivo do arroz de terras altas, por anos sucessivos, pode resultar em rápido declínio na produtividade. Esse declínio está, em grande parte, relacionado a um solo "doente", resultante de fatores bióticos como nematoides e fungos patogênicos e fatores abióticos como deficiência de nutrientes e toxicidade. Nie et al. (2008) conduziram uma série de experimentos para estudar o efeito de nutrientes e mostraram que a aplicação de N melhorou o crescimento da planta do arroz de terras altas cultivado continuamente numa mesma

área; enquanto fósforo (P), potássio (K) e micronutrientes tiveram pouco ou nenhum efeito. Esses resultados sugeriram que a deficiência de N como um resultado da baixa disponibilidade de N e reduzida absorção de N pela planta podem ser importantes fatores que contribuem para o declínio da produtividade do arroz de terras altas cultivado na mesma área em anos consecutivos. Em consequência, a maior eficiência do uso de N pelas plantas poderia permitir a produção sob baixo nível de fertilização nitrogenada. Para que esse objetivo seja alcançado, é necessário o melhor entendimento do controle fisiológico, bioquímico e molecular da absorção e assimilação de  $\text{NO}_3^-$  (HARRISON et al., 2004).

## **Nitrato Redutase como Indicador Bioquímico para Estabelecimento de Plantas de Arroz de Terras Altas**

N é o mais importante nutriente mineral para as plantas, uma vez que é um elemento requerido para síntese de aminoácidos, proteínas, clorofila, ácidos nucleicos, lipídeos e uma variedade de outros metabólitos contendo N em suas estruturas (KUSANO et al., 2011). Os efeitos do N sobre a fotossíntese, ribulose bifsosfato carboxilase/oxygenase (MAKINO et al., 1983) e metabolismo do N (MAE, 1986) têm sido intensivamente estudados em plantas de arroz. Certas plantas podem obter N da atmosfera via associação entre micro-organismos e sistema radicular, mas a maioria das plantas absorve N na forma de  $\text{NO}_3^-$  ou de  $\text{NH}_4^+$  do solo. Em solos inundados,  $\text{NH}_4^+$  é a forma dominante, enquanto em solos aerados é o  $\text{NO}_3^-$ , uma vez que ocorre a oxidação do  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  pelas bactérias nitrificantes, presentes no solo. Em solos naturais (não cultivados),  $\text{NO}_3^-$  está presente na solução do solo em concentrações que podem ser menores que  $1 \text{ mol m}^{-3}$ , enquanto em solos agricultáveis a concentração de  $\text{NO}_3^-$  alcança valores tão altos quanto  $20 \text{ mol m}^{-3}$ , em consequência da fertilização nitrogenada (CARELLI et al., 2006). No cultivo do arroz em terras altas, a eficiência na absorção e assimilação de  $\text{NO}_3^-$  durante os estádios iniciais de desenvolvimento da planta irá, em grande parte, determinar o vigor das plântulas e a capacidade de competição com plantas daninhas (OUKO, 2003).

Uma vez absorvido pelas raízes, o  $\text{NO}_3^-$  pode ser transportado para o vacúolo, para ser armazenado, ou pode ser reduzido a  $\text{NH}_4^+$  para ser incorporado em aminoácidos e/ou outros compostos orgânicos nas próprias células radiculares. Além disso, o  $\text{NO}_3^-$  pode, ainda, ser transportado imediatamente para a parte aérea, já que é móvel no xilema. O processo de redução do  $\text{NO}_3^-$  na raiz e/ou na parte aérea pode variar entre espécies, idade e fatores ambientais (CARELLI et al., 2006). O  $\text{NO}_3^-$  é considerado absorvido quando há passagem deste do meio externo para o interior da célula através da membrana plasmática, mediada por sítios específicos de origem proteica. O  $\text{NO}_3^-$ , além de ser um nutriente, pode agir como sinal alterando e coordenando o metabolismo de carbono (C) e de N, contribuindo também para a indução de genes envolvidos na absorção de P, K, água, respostas a estresses e reguladores de transcrição. Assim, as plantas podem apresentar múltiplas respostas ao  $\text{NO}_3^-$ , o que promove uma diversidade de efeitos regulatórios capazes de ligar a indução de genes que agem individualmente (WANG et al., 2000).

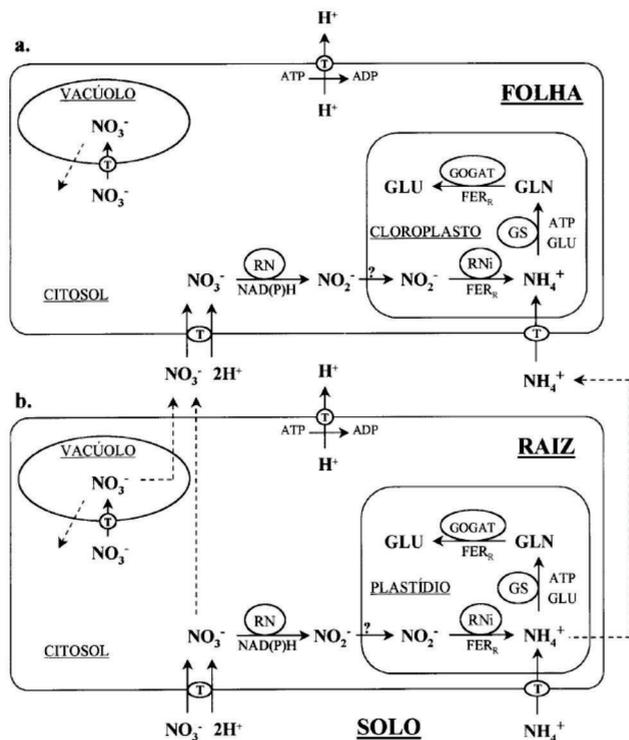
A absorção líquida de  $\text{NO}_3^-$  ou influxo de  $\text{NO}_3^-$  em plantas superiores consiste em dois sistemas e depende de sua concentração na solução do solo. O primeiro sistema é considerado constitutivo, sistema de transporte de baixa afinidade (LATS – Low Affinity Transport System) (pode ser um sistema transportador ou um canal de ânion) e opera a concentrações de  $\text{NO}_3^-$  acima de 0,2 mM. É considerado constitutivo, pois não requer indução por  $\text{NO}_3^-$ . Isto não quer dizer que o LATS não esteja sujeito a alguma forma de regulação, tal como a resposta a demanda de N. O segundo sistema, atuante quando há baixa concentração externa de  $\text{NO}_3^-$  (< 0,5 mM) e o influxo é essencialmente mediado por um sistema saturável, é o sistema de transporte de alta afinidade (HATS – High Affinity Transport System). Dentro desse sistema pode existir aquele que é passível de indução (iHATs - Inducible High Affinity Transport System), que aparece apenas quando há  $\text{NO}_3^-$  no meio externo e o constitutivo (cHATs- Constitutive High Affinity Transport System), o qual já existem na planta independentemente de haver ou não  $\text{NO}_3^-$  no ambiente externo (TOURAINÉ et al., 2001). O sistema HATs é regulado tanto pelo suprimento energético celular quanto pela absorção de  $\text{NO}_3^-$ , sendo que a atividade desse sistema depende

do gradiente eletroquímico de prótons. Este sistema é considerado um mecanismo co-transportador cátion/ânion, que produz uma despolarização transiente na membrana plasmática após a adição de  $\text{NO}_3^-$ . A despolarização é neutralizada pela atividade das bombas de prótons ( $\text{H}^+$ -ATPases), que são enzimas induzidas pela absorção de  $\text{NO}_3^-$  (SANTI et al., 1995). Além desses sistemas, Aslam et al. (1996) citaram que nas células das raízes de cevada existe também um sistema de efluxo de  $\text{NO}_3^-$ , o qual requer síntese *de novo* de proteínas e é induzido pelo  $\text{NO}_2^-$  presente no ambiente. A presença de carregadores específicos e sua afinidade em relação ao  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ , bem como a quantidade de N presente no solo, são moduladores da absorção de N pelas plantas (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000). Em resumo, a absorção e utilização de  $\text{NO}_3^-$  é um processo consumidor de alta quantidade de energia (RAVEN et al., 1992), e os produtos intermediários da assimilação,  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NH}_4^+$ , são potencialmente tóxicos para o tecido de plantas em baixas concentrações. Portanto, plantas superiores desenvolveram complexos mecanismos reguladores que controlam a assimilação de  $\text{NO}_3^-$ .

A redução do  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  ocorre no citosol pela ação da enzima citosólica NR. A energia redutora é fornecida sob a forma de NADH ou NADPH, de acordo com equação:  $\text{NO}_3^- + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O}$  (SANTOS, 2007). Uma vez formado, o  $\text{NO}_2^-$  entra no cloroplasto das células, constituintes da parte aérea; ou no plastídio da célula radicular e é reduzido ao íon  $\text{NH}_4^+$  pela Nitrito Redutase (NiR), de acordo com a equação:  $\text{NO}_2^- + 6\text{Fd}(\text{Fe}^{+2}) + 8\text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+ + 6\text{Fd}(\text{Fe}^{+3}) + 2\text{H}_2\text{O}$  (SANTOS, 2007). No caso do cloroplasto, o transporte de elétrons fotossintético, dirigido pela luz, fornece os elétrons necessários para a redução do  $\text{NO}_2^-$  por meio da ferredoxina reduzida. Já no caso dos plastídeos das raízes, a ferredoxina reduzida deriva do NADPH gerado pela via da oxidação da pentose fosfato nos tecidos não-clorofilados (TAIZ; ZEIGER, 2004). Após sua formação, o íon  $\text{NH}_4^+$  é incorporado em moléculas orgânicas, como por exemplo, o aminoácido glutamato (GLU), com subsequente formação de glutamina (GLN) pela GS (LAM et al., 1995). Em outras palavras, o processo de assimilação de  $\text{NO}_3^-$  se inicia pela enzima GS, que apresenta alta afinidade (baixo  $K_m$ ) pelo substrato ( $\text{NH}_4^+$ ), e, conseqüentemente, atua sob baixas concen-

trações desse íon. São conhecidas duas isoformas da GS nas folhas: GS1 citossólica e GS2 plastidial (HIREL; GODAL, 1980).

Uma característica importante das duas primeiras enzimas da série de reações envolvida na redução do  $\text{NO}_3^-$  é que elas são induzíveis, isto significa que a presença de  $\text{NO}_3^-$  no sistema causa a produção de mais enzimas. Devido ao fato de que a assimilação de  $\text{NO}_3^-$  produz ânions hidroxilas, vários ácidos orgânicos são necessários para a homeostase do pH celular, isto significa que o ânion  $\text{NO}_3^-$  contribui para a manutenção do equilíbrio cátion – ânion, bem como a osmorregulação em tecidos vegetais (SANTOS, 2007). A Figura 1 esquematiza o processo de absorção e assimilação de N pelas plantas superiores.



**Figura 1.** Possíveis rotas de assimilação do N nas raízes e folhas de plantas.

$\text{NO}_3^-$ : nitrato;  $\text{NO}_2^-$ : nitrito;  $\text{NH}_4^+$ : amônio; GLN: glutamina; GLU: glutamato; NR: nitrato redutase; NIR: nitrito redutase; GS: glutamina sintetase; GOGAT: glutamato sintetase; T: transportador

Fonte: Bredemeier e Mundstock (2000).

Todas essas etapas coordenadas são uma rede de regulação que é responsiva a vários sinais interno e externo, como pH, luz e CO<sub>2</sub>.

É sabido que o arroz é uma planta que demanda grande quantidade de N, cujo requerimento aumenta com a idade da planta, especialmente no início da produção dos grãos. No entanto, a eficiente absorção e assimilação de N durante o desenvolvimento inicial da planta tem importância crucial para seu estabelecimento, bem como outros processos bioquímicos/fisiológicos sequenciais, durante o crescimento/desenvolvimento das plantas de arroz de terras altas para obtenção de altas produtividades.

O principal fator limitante da velocidade de assimilação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> é a reação de redução de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, catalizada pela NR (BEEVERS; HAGEMAN, 1969; CAMPBELL, 1989); portanto, essa enzima é considerada chave nesse processo e, por conseguinte, sua atividade pode assim ser usada como um indicador da capacidade de uma planta em utilizar NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como fonte de N (OUKO, 2003). Assim, genótipos de arroz de terras altas com alta atividade de NR, em estádios iniciais do desenvolvimento, podem, então, serem mais eficientes na competição pela disponibilidade do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo com plantas daninhas, (ASCH; BRUECK, 2010). A avaliação da atividade da NR já tem sido proposta como critério de seleção em programas de melhoramento de culturas como plantas forrageiras, milho e *Amaranthus cruentus* (BELONOGOVA; CHIRKOVA, 1994). Celestino (2006) analisou a atividade da enzima NR em plantas de arroz em função dos manejos de solo e água. O autor verificou aumento na atividade dessa enzima quando o solo foi procedente de uma área de plantio direto, independente do manejo de água, indicando disponibilidade de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo em SPD.

É importante ressaltar que a assimilação de C (paralelamente à absorção de luz) e a de N são caminhos metabólicos altamente coordenados em plantas superiores, e suas interações, em nível celular, envolvem uma série de etapas de controle recíproco (CARELLI et al., 2006). O efeito direto da luz sobre a assimilação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, em plantas

superiores, também deve ser considerado, uma vez que o regime de irradiância participa da regulação da NR (LILLO, 1994), tanto em relação à síntese “de novo” da NR quanto à ativação da NR em nível de proteína (LILLO, 1994). Como muitas enzimas, o ritmo circadiano da atividade da NR tem sido relatado em diversas espécies, aumentando durante as horas do dia, com um pico às 12 horas, e diminuindo durante o período noturno (CARELLI et al., 2006). A esse respeito, Meguro e Magalhães (1982) encontraram um aumento de atividade da NR, induzido por luz, em folhas jovens de café, alcançando valores máximos entre duas a seis horas após o início do dia. Para demonstrar a relação entre luz e metabolismo do C e do N, Kaiser e Huber (2001) mostraram que a fotossíntese foi requerida para a atividade da NR, uma vez que mesmo sob alta intensidade luminosa, NR tornou-se inativa quando CO<sub>2</sub> estava ausente. Assim, pode-se constatar que por trás da alta capacidade de aclimação a diferentes condições climáticas, especialmente a diferentes regimes de irradiância, plantas de arroz de terras altas, aparentemente, mantêm as características genéticas de uma espécie adaptada à condição de irradiância mais reduzida. E dessa forma, Asch e Brueck (2010) propuseram uma reflexão sobre o manejo de nutrientes e os genótipos de arroz cultivados em terras altas que, em sua maioria, dispõem de baixo nível tecnológico. Além de indicarem a atividade da NR como atributo bioquímico de avaliação de adaptação dos genótipos de arroz cultivados nesse ecossistema. Assim, Raun e Johnson (1999) já recomendavam a execução de experimentos de campo para identificar genótipos e estratégias de manejo mais eficientes no uso de N, avaliando-se absorção, assimilação, estocagem e mobilização de N no decorrer do crescimento e desenvolvimento da planta, explorando a melhor época de aplicação e a partição desse nutriente na planta.

## **Atividade, Indução e Distribuição da Nitrato Redutase na Planta**

Em estudos que compararam a atividade da NR em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.), Yang e Sung (1980) detectaram atividade da NR

após dois dias de embebição das sementes, sendo o pico de atividade observado no sétimo e no décimo primeiro dia, seguido por rápido declínio. Resultado que confirmou o estudo realizado por Marwaha e Juliano (1976), os quais determinaram um pico de atividade da NR, na parte aérea, 10 dias após a germinação e entre 7 a 10 dias nas raízes de plantas de arroz. Nesse mesmo trabalho, a atividade da NR foi mais alta em plântulas crescidas em solução contendo  $\text{NO}_3^-$  do que  $\text{NH}_4^+$ , e mais alta na parte aérea do que nas raízes. Yang e Sung (1980) observaram considerável variação genotípica na atividade da NR em folhas de arroz, em que plântulas de 10 dias de idade apresentaram valores de atividade da NR entre 80 e 3.000  $\text{nmol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . Barlaan et al. (1998) estudaram 14 cultivares de arroz irrigado, em que a atividade da NR foi determinada aos 15, 30, 45 e 60 dias após o transplântio (DAT). O pico máximo de atividade foi alcançado aos 15 DAT em todas as cultivares, diminuindo gradualmente até a maturidade, e sua atividade variou entre 300 e 600  $\text{nmol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . Semelhantemente, Ouko (2003) observou atividade de NR em arroz de terras altas no sétimo dia após a germinação (DAG), apresentando um pico de atividade no décimo quarto DAG. Shen (1969) relatou atividade da NR de, aproximadamente, 76  $\text{nmol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$  em plântulas de arroz com quatro dias de idade, crescidas em água destilada, indicando que NR pode estar presente, em baixas concentrações, como uma enzima constitutiva. De acordo com Ouko (2003), a atividade da NR nos genótipos de arroz de terras altas (*japônica* e *O. glaberrima*) foi, significativamente, maior do que a obtida em genótipos de arroz irrigado (*indica*). Além disso, o autor concluiu que diferenças na atividade da NR estão relacionadas à fonte de N e, portanto, é dependente do substrato e estágio de desenvolvimento da plântula; a eficiência de assimilação de  $\text{NO}_3^-$  é maior em baixas concentrações desse ânion, uma vez que os genótipos de arroz de terras altas competiram, mais eficazmente, com plantas daninhas; e a atividade da NR em genótipos de arroz de terras altas pode ser usada como um potencial instrumento de triagem (*screening tool*) para competitividade com plantas daninhas somente se fontes de N e tipo de planta daninha são levadas em consideração.

A atividade da NR é regulada por  $\text{NO}_3^-$ , metabólitos de C e N (sacarose e GLN, respectivamente), luz, fitormônios e níveis externos de  $\text{CO}_2$  (SIVASANKAR; OAKS, 1995). Existem dois possíveis mecanismos de regulação para NR: (1) alteração da atividade em função da quantidade de moléculas de enzima existente no citoplasma e (2) síntese “de novo” da enzima ou degradação da enzima existente. Na via de redução do  $\text{NO}_3^-$ , a etapa que envolve a NR é considerada o passo limitante da regulação de assimilação por que: a) NR é a primeira enzima envolvida na via de redução do  $\text{NO}_3^-$ ; b) NR é o fator limitante da velocidade da reação (CRAWFORD; ARST, 1993); c) a atividade da NR é induzível pelo substrato (CAMPBELL, 1996) e d) os efeitos tóxicos dos níveis excessivos de íons  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NH}_4^+$  exigem regulação de sua produção (ZSOLDOS et al., 1997).

NR é considerada uma enzima adaptável devido ao fato de sua atividade ser induzível por  $\text{NO}_3^-$  em plantas intactas e tecido vegetal e, também, por molibdênio (Mo) em tecido de plantas deficientes desse nutriente. Mo está envolvido no processo de indução de NR e não se limita a ativar uma enzima pré-existente (YU et al., 1999). Além disso, a indução de NR por Mo mostra sensibilidade perante aos inibidores de síntese proteica. Indução ótima por  $\text{NO}_3^-$  é muitas vezes obtida nos tecidos vegetais quando o meio de indução está em, aproximadamente, pH 4 a 5, e contém de 10 a 100  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  (AFRIDI; HEWITT, 1965). No entanto, o nível de  $\text{NO}_3^-$  necessário para induzir a atividade ótima da NR difere amplamente entre espécies de plantas e tecidos amostrados. Beevers et al. (1965) afirmaram que essas diferenças, provavelmente, são devido à taxa de absorção de  $\text{NO}_3^-$  entre as espécies, uma vez que a indução da NR dentro de uma dada espécie depende da concentração e da taxa de fornecimento de  $\text{NO}_3^-$  para o tecido. Em plantas intactas, duas fontes de  $\text{NO}_3^-$  podem desempenhar papéis regulatórios para atividade da NR: uma é o  $\text{NO}_3^-$  armazenado no vacúolo das células foliares e a outra é o  $\text{NO}_3^-$  transportado diretamente, via xilema, para as folhas. A indução de NR em vários tecidos pelo  $\text{NO}_3^-$  ou Mo está relacionada com o estágio de desenvolvimento da planta (HAGEMAN; REED, 1980). Com o desenvolvimento da planta,

a inducibilidade da NR diminui. Não está claro se a mudança na inducibilidade da NR com a idade está diretamente associada à diminuição da capacidade em sintetizar mais proteínas ou se é devido ao acúmulo de produtos solúveis nitrogenados que, especificamente, reprime a síntese de NR. Outra possibilidade é o aumento na taxa de síntese de NR por causa da associação com o aumento na disponibilidade de precursores solúveis promotores da síntese de proteínas. É documentado que existe uma exigência para um nível adequado de precursores para síntese de proteínas e ácidos nucleicos antes da indução da NR ocorrer (LILLO, 1994).

Ainda sobre a indução da atividade da NR, existem diversos trabalhos que relatam o efeito do íon  $\text{NH}_4^+$  sobre a atividade da NR. Schrader et al. (1968) determinaram em plântulas de milho que indução apreciável de NR, pelo  $\text{NO}_3^-$ , ocorre apenas quando as plântulas são inicialmente cultivadas em meio contendo  $\text{NH}_4^+$  e o fornecimento de  $\text{NO}_3^-$  ocorre posteriormente. Plantas crescidas em meio contendo  $\text{NH}_4^+$ , embora carente de atividade de NR, tiveram maior conteúdo de ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos e nucleotídeos do que plântulas controle, cultivadas em água. A NR foi rapidamente induzida quando essas plântulas foram transferidas para meio contendo  $\text{NO}_3^-$ . O íon  $\text{NH}_4^+$  impede o aparecimento da NR em fungos (BRUNNER et al., 2000) e em algas eucarióticas (PIKE et al., 2002). Em plantas superiores, a situação é menos clara. Bungard et al. (1999) detectaram atividade da NR em *Clematis vitalba*, cultivadas em hidroponia, com fornecimento exclusivo de  $\text{NH}_4^+$  como fonte de N. A atividade da NR no tecido foliar foi até três vezes maior em plantas cultivadas com  $\text{NH}_4^+$  do que o nível máximo atingido quando elas foram cultivadas com  $\text{NO}_3^-$ . No mesmo trabalho foi possível observar que a atividade da NR, induzida por  $\text{NH}_4^+$ , não ocorreu em plantas de cevada e de tabaco cultivadas sob condições semelhantes. Nie et al. (2009) constataram que o fornecimento de  $\text{NH}_4^+$  como fonte de N proporcionou maior crescimento de plantas de arroz quando comparado àquelas cultivadas em meio contendo  $\text{NO}_3^-$ . Assim, diante dessa constatação, em que o íon  $\text{NH}_4^+$  pode induzir a atividade da NR na ausência completa de  $\text{NO}_3^-$ , Bungard et al. (1999) propuseram um papel alternativo para a NR, além

do fornecimento de  $\text{NO}_3^-$  reduzido, sua atuação na manutenção do pH intracelular. Já para Smith e Thompson (1971), o íon  $\text{NH}_4^+$  inibe a indução da NR em raízes de cevada, e, para Kronzucker et al. (1999) reprime o fluxo na membrana plasmática, acúmulo e metabolismo citosólico de  $\text{NO}_3^-$  em plântulas de arroz *indica* (IR72). Para Radin (1975),  $\text{NH}_4^+$  inibe a indução de NR em extratos radiculares, mas não em células foliares de plântulas de algodão.

Rajasekhar e Mohr (1986) mostraram que, na ausência de  $\text{NO}_3^-$ , o crescimento de sementes de mostarda foi fortemente inibido por  $\text{NH}_4^+$  exógeno. Shen (1969) mostrou que a assimilação de  $\text{NO}_3^-$  por plântulas de arroz *indica* (IR8) é completamente suprimida por  $\text{NH}_4^+$  se o meio contiver tanto o íon  $\text{NH}_4^+$  quanto o íon  $\text{NO}_3^-$ . A captação de  $\text{NO}_3^-$  é retomada somente após o  $\text{NH}_4^+$  ter sido completamente esgotado do meio. De acordo com o autor, o íon  $\text{NH}_4^+$  inibe o primeiro passo da redução de  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$ ), e isto é atribuído à inibição por *feedback* (retroinibição) que ocorre em plantas superiores, ou seja, o aumento da concentração de  $\text{NH}_4^+$  (produto da ação da GS) inibe a atividade da enzima NR, primeira enzima da série de reações de assimilação de  $\text{NO}_3^-$ . Efeitos inibidores de  $\text{NH}_4^+$  sobre a atividade da NR foram também relatados em plantas de milho, trigo, cevada, tabaco e *Aspergillus* (MACKOWN et al., 1982) e arroz (POLETTTO et al., 2011; ARAÚJO et al., 2012). Já Qian et al. (2004) encontraram que o arroz aeróbico (arroz de terras altas) não mostrou uma significativa preferência por  $\text{NH}_4^+$  ou por  $\text{NO}_3^-$  separadamente e que a provisão de ambas as formas de N melhoraram o crescimento e o uso eficiente de N. Enquanto Lin et al. (2005) documentaram que o arroz aeróbico produziu biomassa da parte aérea significativamente menor quando o suprimento de N foi apenas na forma de  $\text{NH}_4^+$  do que sob a forma de  $\text{NO}_3^-$  ou de uma mistura  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ . Resultados semelhantes foram observados por Poletto et al. (2011) em plantas de arroz irrigado IRGA 417, onde o suprimento do  $\text{NO}_3^-$  juntamente com o  $\text{NH}_4^+$  amenizou os efeitos prejudiciais do suprimento apenas na forma de  $\text{NH}_4^+$  sobre o processo de perfilhamento, estimulando a emissão de perfilhos e o sincronismo de desenvolvimento foliar

entre perfilhos e colmo principal. Em trabalho realizado por Araújo et al. (2012), o fornecimento de N na forma exclusiva de  $\text{NO}_3^-$ , ou de  $\text{NH}_4^+$  em maiores proporções que o  $\text{NO}_3^-$ , acarretou em diminuição da produção de matéria seca em cultivares de arroz de terras altas com conseqüente redução da produção de grãos. Os autores sugeriram que a causa do menor crescimento e produção das cultivares de arroz, quando se forneceu apenas  $\text{NO}_3^-$ , foi o acúmulo excessivo dessa forma nos tecidos das plantas na fase inicial do seu crescimento, devido à baixa atividade da NR. Eles afirmam ainda que esses resultados reforçam a hipótese de que a baixa capacidade de aproveitamento do  $\text{NO}_3^-$  pelo arroz na fase inicial de desenvolvimento pode estar associada ao pior desempenho da cultura no SPD.

Quanto à distribuição da NR na célula e, em última análise, na planta; essa enzima está localizada, principalmente, no citosol das células da epiderme e do córtex radicular e nas células do mesófilo foliar (BERCZI; MOLLER, 2000; SIDDIQI; GLASS, 2002). NR transfere dois elétrons do co-fator NAD(P)H para o íon  $\text{NO}_3^-$  por meio de três centros redox, constituídos por dois grupos prostéticos (FAD - flavina adenina dinucleotídeo e heme) e por um cofator (Mo), que é um complexo formado entre Mo e uma molécula orgânica denominada pterina. NR é a principal proteína contendo Mo encontrada nos tecidos vegetais e um dos sintomas da deficiência de Mo é o acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  devido à diminuição da atividade da NR (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A maioria dos estudos sobre NR, em plantas superiores, tem focado a extração de tecidos foliares, principalmente por causa da sua abundância no tecido, mas também pela disponibilidade de material (BEEVERS; HAGEMAN, 1969). No entanto, há evidências de que a assimilação de  $\text{NO}_3^-$  não é exclusivamente associada a folhas, uma vez que a atividade de NR foi detectada em diferentes tecidos, como pecíolos, cotilédones, caules e raízes; numa variação de quantidades traços a  $60 \mu\text{mols de NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (HAGEMAN; HUCKLESBY, 1971). De acordo com Crawford e Arst (1993), tecidos contendo clorofila,

geralmente, têm atividade de NR superior a tecidos aclorofilados. A literatura mostra que na maioria das espécies herbáceas a redução do  $\text{NO}_3^-$  ocorre, predominantemente, nas folhas (ANDREWS, 1986); enquanto estudos da atividade da NR *in vivo* e *in vitro*, realizados em exudatos do xilema, mostraram que espécies lenhosas reduziram a maioria do  $\text{NO}_3^-$  nas células radiculares (THOMAS; HILKER, 2000).

Sanderson e Cocking (1964) observaram que a atividade da NR nas raízes de plantas de tomate foi sempre inferior à atividade detectada nas folhas. Contrariamente, Mifflin (1967) relatou que a atividade específica da NR foi ligeiramente mais elevada nas raízes do que nas folhas de plantas de cevada. Wallace e Pate (1965) estudaram a atividade da NR em ervilhas e mostraram que a atividade nas células dos órgãos da parte aérea era, aproximadamente, a mesma que nas raízes de plantas cultivadas sob altos níveis de  $\text{NO}_3^-$ . Wallace e Pate (1967) utilizaram o local da atividade de NR para categorizar plantas que reduzem o  $\text{NO}_3^-$  nas raízes, por exemplo, *Pisum* spp., *Vicia* spp., *Lupinus* spp. e *Raphanus* spp., e aquelas que não o fazem na raiz, por exemplo, *Xanthium* spp., a qual transporta 95% de  $\text{NO}_3^-$  para os caules e apenas quantidades insignificantes são metabolizadas nas raízes. Tem sido demonstrado que a distribuição do metabolismo de  $\text{NO}_3^-$  entre as folhas e raízes em algumas plantas, por exemplo, *Pisum* spp., pode ser alterada, quando há mudança de concentração de  $\text{NO}_3^-$  no meio de crescimento. De acordo com Andrews (1986), o balanço de redução de  $\text{NO}_3^-$  entre raiz e parte aérea não é necessariamente constante para uma dada espécie e pode variar com as condições de crescimento da planta, estágio de desenvolvimento, bem como com os níveis de irradiância (CARELLI; FAHL, 2006). Assim, tem sido sugerido que quando a fotossíntese é limitada pela luz, ocorre um aumento de assimilação de  $\text{NO}_3^-$  pela raiz, o que pode permitir um controle maior do uso de energia entre assimilação de N e de C (SMIRNOFF; STEWART, 1985). Para plantas de café, as folhas parecem ser o principal sítio de assimilação de  $\text{NO}_3^-$ , quando elas recebem adequados níveis de irradiância (CARELLI et al., 2006).

## Conclusão

Essa revisão fornece uma visão global sobre o papel crucial da NR no metabolismo de N em plantas superiores. No entanto, a correlação direta entre sua atuação e o desempenho das culturas, principalmente, nos estádios iniciais de desenvolvimento, não está completamente estabelecida, visto que resultados obtidos, em várias culturas, são contraditórios e pouco explorados, inclusive para o arroz de terras altas. Portanto, a demanda por pesquisas, em nível de campo e laboratório, com estudos mais avançados sobre os mecanismos regulatórios na absorção e assimilação de N, bem como abordagens com foco em sistemas biológicos é fundamental para o entendimento do tema.

## Referências

AFRIDI, M. M. R. K.; HEWITT E. J. The inducible formation and stability of nitrate reductase in higher plants. II Effects of environmental factors, antimetabolites and amino acids on induction. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 16, n. 4, p. 628-645, 1965.

ANDREWS, S. M. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 9, n. 7, p. 511-519, Sept. 1986.

ARAÚJO, J. L.; FAQUIN, V.; VIEIRA, N. M. B.; OLIVEIRA, M. V. C. de; SOARES, A. A.; RODRIGUES, C. R.; MESQUITA, A. C. Crescimento e produção do arroz sob diferentes proporções de nitrato e de amônio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 36, n. 3, p. 921-930, maio/jun. 2012.

ASCH, F.; BRUECK, H. Rice crop innovations and natural-resource management — A glimpse into the future. In: AFRICA RICE CONGRESS, 2., Bamako. **Innovation and partnerships to realize Africa's rice potential: abstracts**. Mali: Africa Rice Center, 2010. 7 p.

ASLAM, M.; TRAVIS, R. L.; RAINS, D. W. Evidence for substrate induction of a nitrate efflux system in barley roots. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 112, n. 3, p. 1167-1175, Nov. 1996.

BARLAAN, E. A.; SATO, H.; ICHII, M. Nitrate reductase activities in rice genotypes in irrigated lowlands. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 3, p. 728-734, May/June 1998.

BEEVERS, L.; HAGEMAN, R. H. Nitrate reduction in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 20, p. 495-522, 1969.

BEEVERS, L.; SCHRADER, L. E.; FLESHER, D.; HAGEMAN, R. H. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 40, n. 4, p. 691-698, July 1965.

BELONOGOVA, V. A.; CHIRKOVA, T. V. Role of nitrate respiration in adaptation of plants *Amaranthus* to flooding. **Vestnik Sankt Peterburgskogo Universiteta Seriya 3 Biologiya**, St. Petersburg, n. 3, p. 99-105, 1994.

BERCZI, A.; MOLLER, I. M. Redox enzymes in the plant plasma membrane and their possible roles. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 23, n. 12, p. 1287-1302, Dec. 2000.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, mar./abr. 2000.

BRUNNER I.; BRODBECK S.; GENENGER, M. Effects of various nitrogen loads on the nitrate reductase activity in roots and mycorrhizas of Norway spruce seedlings. **Phyton: Annales Rei Botanicae**, Horn, v. 40, n. 4, p. 43-48, 2000.



BUNGARD, R.A.; WINGLER, A.; MORTON, J. D.; ANDREWS, M.; PRESS, M. C.; SCHOLLES, J. D. Ammonium can stimulate nitrate and nitrite reductase in the absence of nitrate in *Clematis vitalba*. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, n. 7, p. 859-866, July 1999.

CAMPBELL, W. Nitrate reductase biochemistry comes of age. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 111, n. 2, p. 355-361, June 1996.

CAMPBELL, W. H. Structure and regulation of nitrate reductase in higher plants. In: WRAY, J. L.; KINGHORN, J. R. (Ed.). **Molecular and genetic aspects of nitrate assimilation**. Oxford: Oxford Science Publications, 1989. p. 125-154.

CARELLI, M. L. C.; FAHL, J. I. Partitioning of nitrate reductase activity in *Coffea arabica* L. and its relation to carbon assimilation under different irradiance regimes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 3, p. 397-406, jul./set. 2006.

CARELLI, M. L. C.; FAHL, J. I.; RAMALHO, J. D. C. Aspects of nitrogen metabolism in coffee plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 9-21, jan./mar. 2006.

CELESTINO, J. C. **Atividade da enzima redutase do nitrato, em arroz cultivado em solo proveniente de áreas sob diferentes preparos, água e doses de nitrogênio**. 2006. 48 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira.

CHENG, C. Y.; MOTOHASHI, R.; TSUCHIMOTO, S.; FUKUTA, Y.; OHTSUBO, H.; OHTSUBO, E. Polyphyletic origin of cultivated rice: based on the interspersed pattern of SINEs. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 20, n. 1, p. 67-75, Jan. 2003.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**. Brasília, DF, mar. 2011.

CRAWFORD, N. M.; ARST, H. N. The molecular genetics of nitrate assimilation in fungi and plants. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 27, p. 115 -146, 1993.

DE DATTA, S. K.; LLAGAS, M. A. Weed problems and weed control in upland rice in tropical Asia. In: UPLAND RICE WORKSHOP, 1982, Bouaké, Ivory Coast. **An overview of upland rice research: proceedings**. Los Banõs: International Rice Research Institute, 1984. p. 321–341.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Dados conjunturais do arroz (área, produção e rendimento)**: Brasil - 1986 a 2011. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 23 mar. 2011.

FARINELLI, R.; PENARIOL, F. G.; FORNASIERI FILHO, D.; BORDIN, L. Características agronômicas de arroz de terras altas sob plantio direto e adubação nitrogenada e potássica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 3, p. 447-454, maio/jun. 2004.

GREENLAND, D. J. Nitrate fluctuations in tropical soils. **Journal Agricultural Science**, Cambridge, v. 50, n. 1, p. 82-92, Feb. 1958.

GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B. dos; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M.; STONE, L. F. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A. B. dos; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. de A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 53-96.

HAGEMAN, R. H.; HUCKLESBY, D. P. Nitrate reductase from higher plants. **Methods in Enzymology**, New York, v. 23, p. 491-503, 1971.

HAGEMAN, R. H.; REED, A. J. Nitrate reductase from higher plants. **Methods in Enzymology**, New York, v. 69, p. 270-280, 1980.

HARRISON, J.; HIREL, B.; LIMAMI, A. M. Variation in nitrate uptake and assimilation between two ecotypes of *Lotus japonicus* and their recombinant inbred lines. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 120, n. 1, p. 124-131, Jan. 2004.

HEINEMANN, A. B.; STONE, L. F.; SILVA, S. C. Arroz. In: MONTEIRO, J. E. B. A. (Org.). **Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília, DF: INMET, 2009. p. 63-80.

HIREL, B.; GODAL, P. Glutamine synthetase in rice: a comparative study of the enzymes from roots and leaves. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 66, n. 4, p. 619-623, 1980.

HIROHIKO, M.; NOBUYUKI, K. Effects of soil moisture conditions on the emergence of weeds and rice plants from rainfed paddy soils in north-east Thailand. **Weed Biology and Management**, Kyoto, v. 2, n. 4, p. 209-212, 2002.

KAISER, W. M.; HUBER, S. C. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 363, p. 1981-1989, Oct. 2001.

KNEZEVIC, S. Z.; EVANS, S. P.; BLANKENSHIP, E. E.; VAN ACKER, R. C.; LINDQUIST, J. L. Critical period for weed control: the concept and data analysis. **Weed Science**, Champaign, v. 50, n. 6, p. 773-786, Nov./Dec. 2002.

KRONZUCKER, H. J.; SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M.; KIRK, G. J. D. Nitrate-ammonium synergism in rice: a subcellular flux analysis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 119, n. 3, p. 1041-1045, Mar. 1999.

KUSANO, M.; FUKUSHIMA, A.; REDESTIG, H.; SAITO, K. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 4, p. 1439-1453, Feb. 2011.

LAM, H. M.; COSCHIGANO, K.; SCHULTZ, C.; MELO-OLIVEIRA, R.; TJADEN, G.; OLIVEIRA, I.; NGAI, N.; HSIEH, M. H.; CORUZZI, G. Use of Arabidopsis mutants and genes to study amide amino acid biosynthesis. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 7, p. 887-898, July 1995.

LEMERLE, D.; GILL, G. S.; MURPHY, C. E.; WALKER, S. R.; COUSENS, R. D.; MOKHTARI, S.; PELTZER, S. J.; COLEMAN, R.; LUCHETT, D. J. Genetic improvement and agronomy for enhanced wheat competitiveness with weeds. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 52, n. 5, p. 527–548, 2001.

LILLO, C. Light regulation of nitrate reductase in green leaves of higher plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 90, n. 3, p. 616-620, Mar. 1994.

LIN, S.; LI, J.; SATTELMACHER, B.; BRÜCK, H. Response of lowland and aerobic rice to ammonium and nitrate supply during early growth stages. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, n. 9, p. 1495-1510, 2005.

MACKOWN, C. T.; JACKSON, W. A.; VOLK, R. J. Restricted nitrate influx and reduction in corn seedlings exposed to ammonium. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 69, n. 2, p. 353-359, 1982.

MAE, T. Partitioning and utilization of nitrogen in rice plants. **JARQ**, Tokyo, v. 20, n. 2, p. 115-120, Sept. 1986.

MAKINO, A.; MAE, T.; OHIRA, K. Photosynthesis and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves: changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 73, n. 4, p. 1002-1007, 1983.

MALHEIROS, M. G. **Acúmulo e remobilização de  $\text{NO}_3^-$  e eficiência de uso de nitrogênio em variedades tradicional e melhorada de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia da Produção) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MARWAHA, R. S.; JULIANO B. O. Aspects of nitrogen metabolism in the rice seedling. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 57, n. 6, p. 923-927, June 1976.

MEGURO, N. E.; MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase de nitrito em cultivares de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 17, n. 2, p. 1725-1731, 1982.

MIFLIN, B. J. Distribution of nitrate and nitrite reductases in barley. **Nature**, London, v. 214, n. 5093, p. 1133-1134, 1967.

NARDOTO, G. B.; BUSTAMANTE, M. M. da C. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 8, p. 955-962, ago. 2003.

NIE, L.; PENG, S.; BOUMAN, B. A. M. Alleviating soil sickness caused by aerobic monocropping: growth response of aerobic rice to nutrient supply. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 107, n. 2, p. 129-136, May 2008.

NIE, L.; PENG, S.; BOUMAN, B. A. M.; HUANG, J.; CUI, K.; VISPERAS, R. M.; XIANG, J. Alleviating soil sickness caused by aerobic monocropping: responses of aerobic rice to various nitrogen sources. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 55, n. 1, p. 150-159, Feb. 2009.

OUKO, M. O. **Nitrate reductase activity in rice as a screening tool for weed competitiveness**. 2003. 73 p. Thesis (Masters of Agriculture) - University of Bonn.

PIKE, C. S.; COHEN, W. S.; MONROE, J. D. Nitrate reductase: a model system for the investigation of enzyme induction in eukaryotes. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, New York, v. 30, n. 2, p. 111-116, Mar./Apr. 2002.

POLETO, N.; MUNDSTOCK, C. M.; GROHS, D. S.; MAZURANA, M. Padrão de afilhamento em arroz afetado pela presença dos íons amônio e nitrito. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p.96-103, 2011.

QIAN, X.; SHEN, Q.; XU, G.; WANG, J.; ZHOU, M. Nitrogen form effects on yield and nitrogen uptake of rice grown in aerobic soil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 27, n. 6, p. 1061-1076, 2004.

RADIN, J. W. Differential regulation of nitrate reductase induction in roots and shoots of cotton plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 55, n. 2, p. 178-182, 1975.

RAJASEKHAR, V. K.; MOHR, H. Appearance of nitrite reductase in cotyledons of the mustard (*Sinapis alba* L.) seedling as affected by nitrate, phytochrome and photooxidative damage of plastids. **Planta**, Berlin, v. 168, n. 3, p. 369-376, 1986.

RAUN, W. R.; JOHNSON, G. V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, n. 3, p. 357-363, May/June 1999.

RAVEN, J. A.; WOLLENWEBER, B.; HANDLEY, I. I. A comparison of ammonium and nitrate as nitrogen- sources for photolithotrophs. **New Phytologist**, Cambridge, v. 121, n. 1, p. 19-32, May 1992.

SANDERSON, G. W.; COCKING, E. C. Enzymic assimilation of nitrate in tomato plants. I. Reduction of nitrate to nitrite. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 39, n. 3, p. 416-422, 1964.

SANTI, S.; LOCCI, G.; PINTON, R.; CESCO, S.; VARANINI, Z. Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in maize roots induced for NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 109, n. 4, p. 1277-1283, Dec. 1995.

SANTOS, A. M. dos. **Absorção, assimilação e remobilização de nitrogênio em arroz, sob nutrição hídrica: avaliação da expressão gênica diferencial.** 2007. 93 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

SANTOS, A. M.; BUCHER, C. A.; STARK, E. M. M.; FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R. Efeito da disponibilidade de nitrato em solução nutritiva sobre a absorção de nitrogênio e atividade enzimática de duas cultivares de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 1, p. 215-220, 2009.

SCHRADER, L. E.; RLTENOUR, G. L.; EILRICH, G. L.; HAGEMMAN, R. H. Some characteristics of nitrate reductase from higher plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 43, n. 6, p. 930-940, 1968.

SHEN, T. C. The induction of nitrate reductase and the preferential assimilation of ammonium in germinating rice seedlings. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 44, n. 11, p. 1650-1655, Nov. 1969.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. An evaluation of the evidence for, and implications of, cytoplasmic nitrate homeostasis. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 10, p. 1211-1217, Oct. 2002.

SIVASANKAR, S.; OAKS, A. Regulation of nitrate reductase during early seedling growth. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 107, n. 4, p. 1225-1231, Apr. 1995.

SMIRNOFF, N.; STEWART, G. R. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 64, n. 2, p. 133-140, 1985.

SMITH, F. W.; THOMPSON, J. F. Regulation of nitrate reductase in excised barley roots. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 48, n. 2, p. 219-223, 1971.

SOARES, A. A. Desvendando o segredo do insucesso do plantio direto do arroz de terras altas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 25, n. 222, p. 58-66, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

THOMAS, F. M.; HILKER, C. Nitrate reduction in leaves and roots of young pedunculate oaks (*Quercus robur*) growing on different nitrate concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 43, n. 1, p. 19-32, Feb. 2000.

TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B.; D'ANTONIO, C.; DOBSON, A.; HOWARTH, R.; SCHINDLER, D.; SCHLESINGER, W. H.; SIMBERLOFF, D.; SWACKHAMER, D. Forecasting agriculturally driven global environmental change. **Science**, Washington, v. 292, n. 5515, p. 282-284, Apr. 2001.

TOURAINÉ, B.; DANIEL-VEDELE, F.; FORDE, B. G. Nitrate uptake and its regulation. In: LEA, P. J.; MOROT-GAUDRY, J-F. **Plant nitrogen**. Berlin: Springer, 2001. p. 1-36.

WALLACE, W.; PATE, J. S. Nitrate reductase in the field pea (*Pisum arvense* L.). **Annals of Botany**, London, v. 29, p. 655-671, 1965.

WALLACE, W.; PATE, J. S. Nitrate assimilation in higher plants with special reference to the cocklebur (*Xanthium pennsylvanicum* Wallr.). **Annals of Botany**, London, v. 31, n. 2, p. 213-228, 1967.

WANG, R.; GUEGLER, K.; LABRIE, S. T.; CRAWFORD, N. M. Genomic analysis of a nutrient response in Arabidopsis reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. **Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 8, p. 1491-1509, Aug. 2000.

WEST AFRICA RICE DEVELOPMENT ASSOCIATION. **Annual report for 1996**. Bouake, 1996. 60 p.

YANG, C. M.; SUNG, J. M. Relations between nitrate reductase activity and growth of young seedlings. **Journal of the Agricultural Association of China**, Taipei, v. 111, p. 15-23, 1980.

YU, M.; HU, C. X.; WANG, Y. H. Influences of seed molybdenum and molybdenum application on nitrate reductase activity, shoot dry matter, and grain yields of winter wheat cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, n. 9, p. 1433-1441, 1999.

ZHAO, D. L.; ATLIN, G. N.; BASTIAANS, L.; SPIERTZ, J. H. J. Cultivar weed-competitiveness in aerobic rice: heritability, correlated traits, and the potential for indirect selection in weed-free environments. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 1, p. 372–380, Jan./Feb. 2006.

ZSOLDOS, F.; VASHEGYI, A.; PECSVARADI, A. Inhibition of ion uptake and growth of wheat and rice exposed to nitrite at low pH. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 25, n. 1, p. 35-42, 1997.