

RITMO DIURNO NA ATIVIDADE DA REDUTASE DE NITRATO EM FOLHAS E RAÍZES DE *COFFEA ARABICA* L.¹

CRISTINA G. S. QUEIROZ², ALEMAR B. RENA³,
ANTONIO T. CORDEIRO⁴ e JOSÉ D. ALVES⁵

RESUMO – Estudou-se a distribuição da atividade da redutase do nitrato na parte aérea e no sistema radicular do cafeeiro, em função da hora do dia, associada aos teores de nitrato e de carboidratos nos tecidos. Observou-se declínio gradual da atividade enzimática nas folhas no decorrer do período luminoso, seguido por aumento da atividade nas primeiras horas de escuro, e com um pico no final da noite. Esse padrão rítmico correspondeu às flutuações na concentração de nitrato translocado no xilema. A redução do nitrato apresentou um pequeno aumento na raiz durante o dia, coincidindo com acréscimos nos teores de açúcares solúveis totais e de nitrato nesse órgão, e de nitrogênio orgânico no exsudato do xilema. A maior contribuição das raízes para a redução do nitrato ocorreu durante o período luminoso, enquanto as folhas apresentaram maior participação à noite. No entanto, no ciclo de 24 horas a contribuição dos dois principais sítios de redução do nitrato foi a mesma, 50% aproximadamente.

Termos para indexação: carboidratos, tecidos, atividade enzimática, fotoperíodo, cafeeiro.

DIURNAL RHYTHM IN NITRATE REDUCTASE ACTIVITY OF *COFFEA ARABICA* L. SHOOTS AND ROOTS.

ABSTRACT – The distribution of nitrate reductase activity in the shoots and roots of coffee plants was studied according to the time of the day associated with the availability of nitrate and carbohydrates in the tissues. In the leaves, the enzyme rate declined gradually in the light, followed by an increase during the night period. The diurnal rhythm corresponded to the variations in the nitrate concentration in the xylem sap during the photoperiod. The nitrate reductase activity in the roots showed a little increase during the day, coinciding with increase in the levels of soluble sugars and nitrate in the organic nitrogen concentration in the xylem sap. The greatest contribution of the roots to the nitrate reduction occurred in the light while the leaves showed a greater contribution during the night. However, in a 24-hour cycle, the total average contribution was approximately identical both for roots and for leaves.

Index terms: carbohydrates, tissue, coffee tree, enzymatic activity, photoperiod.

INTRODUÇÃO

A participação do sistema radicular no fornecimento de nitrogênio reduzido à planta tem sido evidenciada em diversas espécies, principalmente em gimnospermas (Martin et al., 1981; Adams & Attwill, 1982a; Smirnov et al., 1984). Essas es-

pécies caracterizam-se pela predominância do N-orgânico sobre a forma nítrica na seiva xilemática (Pate, 1973; Olday et al., 1976; Smirnov & Stewart, 1985), fornecendo, desse modo, grupos amino essenciais para a formação de aminoácidos e proteínas na parte aérea (Lee, 1980). Entretanto, a contribuição relativa do sistema radicular varia amplamente com a espécie (Radin, 1978; Andrews et al., 1984), com o estágio de desenvolvimento da planta (Pate, 1973) e fatores do ambiente (Pate, 1980; Adams & Attwill, 1982a, 1982b).

A contribuição relativa da raiz e da folha no processo de redução do nitrato varia significati-

¹ Aceito para publicação em 4 de janeiro de 1993

² Bióloga, M.Sc., Dep. de Botânica, Inst. de Ciências Biológicas, Univ. Fed. de Minas Gerais, Caixa Postal 2486, CEP 31270, Belo Horizonte - MG.

³ Eng.-Agr., Ph.D., Dep. de Biol. Veg., Univ. Fed. de Viçosa, CEP 36570, Viçosa - MG.

⁴ Eng.-Agr., M.Sc., Dep. de Biol. Veg., Univ. Fed. de Viçosa.

⁵ Eng.-Agr., M.Sc., EPAMIG, CEP 36570, Viçosa-MG.

vamente em função da hora do dia, pois a atividade da redutase do nitrato nesses dois órgãos ocorre tanto à luz quanto no escuro (Aslam et al., 1979; Rufty et al., 1982; Claussen, 1986), embora nas folhas ocorra mais rapidamente à luz (Aslam & Huffaker, 1982; Reed et al., 1983; Shivashankar & Rajgopal, 1983). O estímulo da atividade enzimática à luz tem sido associado à maior disponibilidade de ATP (Sawhney et al., 1978), de NADH (Klepper et al., 1971), de nitrato (Beever et al., 1965) e de carboidratos (Aslam et al., 1973). No entanto, a luz por si parece não ser um requerimento absoluto para redução do nitrato, uma vez que níveis consideráveis de atividade enzimática podem ocorrer nos tecidos, com um suprimento adequado de carboidratos (Guerrero et al., 1981). Dessa forma, carboidratos armazenados aparentemente suprem a energia requerida para a indução e a redução do nitrato no escuro (Claussen, 1986).

O cafeeiro jovem, contrariamente à maioria das espécies estudadas, apresentou maiores níveis de atividade da redutase do nitrato nas folhas durante o período de escuro do que no período de luz (Cordeiro et al., 1984; Alves et al., 1985). O aumento da atividade enzimática observado logo após o período de luz, poderia ter sido causado pela maior disponibilidade de ATP e de NAD (P)H no citoplasma, decorrente da fotossíntese (Alves et al., 1985). No entanto, o decréscimo da atividade da redutase do nitrato ainda no período luminoso parece não estar correlacionado com a fotossíntese corrente (Alves et al., 1985). Todavia, os fatores que induziram estímulo na atividade da redutase do nitrato nas folhas no escuro não foram ainda investigados, sugerindo novas abordagens sobre poder redutor e disponibilidade de nitrato ao sítio de ação da enzima.

Este estudo objetiva investigar alguns mecanismos que poderiam induzir as flutuações diurnas na atividade da redutase do nitrato no cafeeiro jovem, na parte aérea e no sistema radicular.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se cafeeiros da linhagem de Catuai Vermelho LCH-2077-2-5-44, de seis meses de idade, cultivados em solução nutritiva, permanentemente

arejada, com a seguinte composição: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 4,0mM, KNO_3 2,0mM, MgSO_4 1,0mM, KH_2PO_4 0,5mM e micronutrientes (Hoagland & Arnon, 1950). A solução nutritiva foi renovada a cada 21 dias e o pH corrigido semanalmente para $5,5 \pm 0,1$, pela adição de H_2SO_4 ou NaOH 0,1N.

As plantas foram mantidas nessas condições, em casa de vegetação, por um período de seis meses.

Sete dias antes de se iniciarem os estudos, as plantas foram conduzidas da casa de vegetação para uma sala de crescimento, com umidade relativa aproximada de 50%, temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de aproximadamente $2,0\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia. Durante a permanência na sala de crescimento, o pH da solução de cultivo foi corrigido a cada dois dias para $5,5 \pm 0,1$, e 24 horas antes das determinações a solução nutritiva foi renovada.

A primeira amostragem do dia foi realizada no início do fotoperíodo, às 6h, e as seguintes em intervalos sucessivos de 3 horas.

A atividade *in vivo* da redutase do nitrato foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Queiroz et al. (1991). Amostras de discos foliares de 3,5mm de diâmetro, com peso aproximado de 200mg de matéria fresca, foram retiradas com o auxílio de um perfurador de rolhas e introduzidas em frasco de Erlenmeyer, contendo o meio de incubação. Esse meio era composto de tampão fosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) 100mM, pH 7,5, KNO_3 20mM, propanol 2% cloranfenicol 10ppm e Triton X-100 0,1%. O conteúdo dos frascos contendo as amostras foliares foi, imediatamente após a introdução das mesmas, submetido a vácuo (650mmHg), por 1 minuto, após o que se introduziu o ar, e, novamente, vácuo por 1 minuto. Em seguida, os frascos de Erlenmeyer foram tampados e imersos em banho-maria a 30°C , no escuro. Após 20 e 40 minutos de incubação foram retiradas alíquotas para estimativa da atividade da redutase do nitrato, devido à presença de uma fase latente nos primeiros 20 minutos de incubação. A quantificação do nitrito foi feita pela reação com 0,3ml de sulfanilamida 1% em HCl 3N e 0,3ml de dicloridrato de N-1-naftiletileno diamina 0,02%. As absorbâncias foram determinadas a 540 nm.

Concluída a coleta das amostras de folhas, as raízes foram lavadas com água destilada, separada a raiz principal (primária) das suas ramificações, e cada um dos tipos de raiz foi seccionado em fragmentos de 1-2 mm, transferidos para solução de CaSO_4 0,5mM. Logo a seguir, aproximadamente 100mg de raízes foram enxugadas, pesadas e transferidas para o meio de

incubação semelhante ao descrito para as folhas, mas sem a adição de Triton. O conteúdo dos frascos de Erlenmeyer com raiz foi borbulhado com N_2 , durante 2 minutos, logo após a sua introdução. A incubação foi feita nas mesmas condições dos discos foliares. A coleta das amostras para quantificação do nitrito foi realizada após 30 minutos de incubação.

O caule foi seccionado em dois segmentos: região entre o 1º e o 4º par de folhas (C-1) e abaixo do 4º par de folhas (C-2). As amostras foram incubadas de maneira semelhante à descrita para as raízes.

A coleta das amostras para a avaliação dos teores de açúcares solúveis totais, amido e nitrato, foi feita logo após a retirada de amostras para determinação da atividade da redutase do nitrato em cada órgão. Amostras de discos foliares e de fragmentos do caule e da raiz foram coletadas, pesadas rapidamente e transferidas para 2ml de uma mistura contendo metanol: clorofórmio: água (MCA, 12:5:1, v/v/v), a $-15^\circ C$, e mantidas nestas condições até o seu processamento analítico, seguindo a metodologia relatada por Queiroz et al. (1992).

O exsudato foi coletado decapitando-se as plantas, a 2 cm, aproximadamente, da base do caule. Coletaram-se conjuntamente os exsudatos dos xilemas de oito

plantas, durante 20 minutos, por meio de pipetas capilares, e foram transferidos para tubos imersos em gelo. Adicionou-se uma gota (50 μ l) de toluenoxileno (1:1,v/v) ao exsudato, para evitar o desenvolvimento de microrganismos. Seguiu-se o armazenamento do material a $-15^\circ C$, até o momento da análise.

Determinou-se o nitrogênio total no exsudato do xilema, submetendo-se alíquotas desse material à digestão sulfossalicílica (McClure & Israel, 1979), seguindo-se a avaliação do íon amônio pela reação com fenol alcalino (Cataldo et al., 1974) e do nitrato, segundo as técnicas indicadas por Cataldo et al. (1975). O teor de N-orgânico foi obtido pela diferença entre os teores de N-total e de nitrato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se nas folhas declínio gradual da atividade da redutase do nitrato ao longo do período luminoso, seguido por aumento da atividade nas primeiras horas de escuro e, ao final deste, o aparecimento de um pico (Fig. 1). Esse padrão rítmico assemelha-se aos resultados descritos em

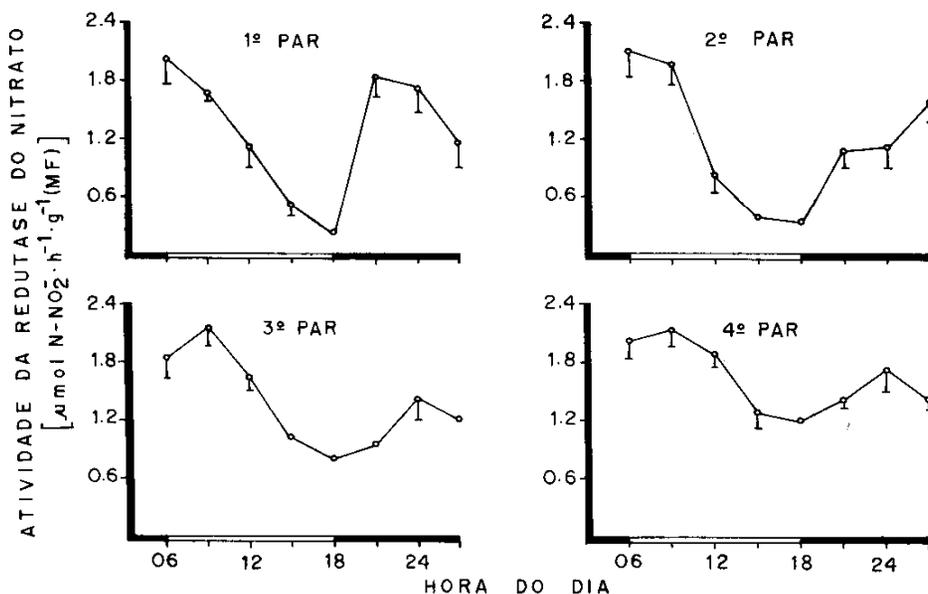


FIG. 1. Variação na atividade da redutase do nitrato em folhas do cafeeiro Catuái, ao longo do ciclo fotoperiódico. Os pares de folhas foram numerados a partir do ápice do ramo ortotrópico. O 4º par de folhas corresponde à "orelha-de-onça". Os símbolos e barras indicam o valor médio de três repetições \pm s(m).

cafeeiros da mesma idade por Cordeiro et al. (1984) e Alves et al. (1985), independentemente da temperatura e do fotoperíodo.

A variação do teor de nitrato no 2º par de folhas (Fig. 2-A) não se correlaciona com as variações na atividade da enzima durante o período luminoso, uma vez que se observou aumento no teor de nitrato à medida que a atividade enzimática declinava. No entanto, entre 18 e 24 horas, o nitrato foliar decresceu concomitantemente com um aumento na sua taxa de redução. A comparação entre as duas curvas (Figs. 1 e 2-A) sugere que o nitrato quantificado na folha reflete mais o nitrato armazenado no vacúolo que o disponível para redução, não sendo possível, nesse caso, estabelecer uma relação direta entre a taxa de redução do nitrato e o teor de nitrato na folha.

O teor de açúcares solúveis totais na folha aumentou no período da manhã, alcançando um patamar entre 12 e 15h (Fig. 2-B), à semelhança dos

resultados obtidos por Carelli et al. (1990) em cafeeiros de 10 meses de idade. No período de escuro, o teor de açúcares solúveis totais declinou, enquanto as taxas de redução do nitrato aumentaram (Fig. 1). A análise desses dados permite levantar a hipótese de que a atividade da redutase do nitrato durante o período de luz não foi limitada pelo suprimento de carboidratos, mas pela sua oxidação que produz NADH para a redução do nitrato a nitrito, por processos respiratórios (Lee, 1980).

Recentemente, Carelli et al., (1990), trabalhando com plantas jovens de café submetidas a diferentes níveis de luz e de nitrogênio, observaram que plantas cultivadas em pleno sol apresentaram menor atividade da redutase do nitrato que plantas de sombra, embora apresentando altos teores de açúcares totais e de nitrato. Aqueles autores levantaram a hipótese de que a redutase do nitrato em plantas de café utilizaria preferencialmente a energia gerada pela oxidação dos açúca-

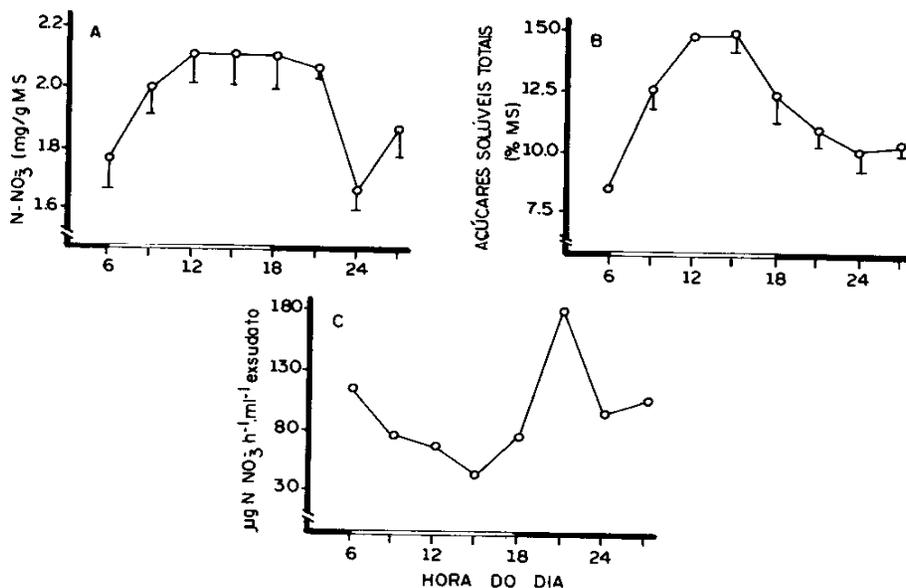


FIG. 2. Variação nos teores de $N-NO_3^-$ (A), e de açúcares solúveis totais (B) no 2º par de folhas, e concentração de $N-NO_3^-$ no exsudato do xilema (C) do cafeeiro Catuaí, ao longo do ciclo fotoperiódico. Em (A) e (B) os símbolos e barras indicam o valor médio de três repetições $\pm s(m)$. Em (C) cada ponto refere-se à média da amostra composta por oito plantas.

res, a exemplo do que ocorre em tecidos não fotossintetizantes. Desse modo, em pleno sol ocorreria menor taxa de oxidação de carboidratos, em virtude da alta relação ATP:ADP, e conseqüentemente menor atividade da redutase do nitrato. Comportamento semelhante poderiam apresentar as folhas durante o dia, apresentando nesse período menor atividade da redutase do nitrato que à noite.

Por outro lado, as flutuações na concentração de nitrato translocado no xilema (Fig. 2-C) mostraram-se semelhantes às variações na redução do nitrato nas folhas (Fig. 1), sugerindo que o influxo de nitrato desempenha um papel mais importante na indução da atividade enzimática na folha que o nitrato previamente armazenado no vacúolo, conforme mostrado em outras espécies por Shanner & Boyer (1976), Smirnov et al. (1984) e Gojon et al. (1991).

Com relação às raízes, observaram-se também variações diurnas na atividade da redutase do nitrato do nitrato (Figs. 3-A e B), embora bem me-

nos acentuadas que nas folhas (Fig. 1). O aumento na atividade enzimática detectado nas ramificações da raiz, no período de 12 às 18h, também foi observado no teor de açúcares solúveis totais no mesmo intervalo (Fig. 3-C), indicando possivelmente uma dependência da raiz, durante o dia, em relação à translocação de fotoassimilados. Recentemente, experimentos conduzidos em cafeeiros Catuaí, cultivados em condições semelhantes às deste trabalho, por Queiroz et al. (1992), demonstraram que a excisão da parte aérea, a remoção de folhas e o anelamento do caule causaram declínio acentuado na atividade da redutase do nitrato na raiz, confirmando a dependência do sistema radicular de plantas jovens em relação ao suprimento de fotoassimilados.

A Fig. 3-C mostra também aumento no teor de amido na raiz durante o período de luz, conseqüência provavelmente de um fluxo maior de açúcares proveniente das folhas. À noite, o declínio na concentração de amido, paralelo à manutenção de níveis médios de açúcares solúveis totais, pare-

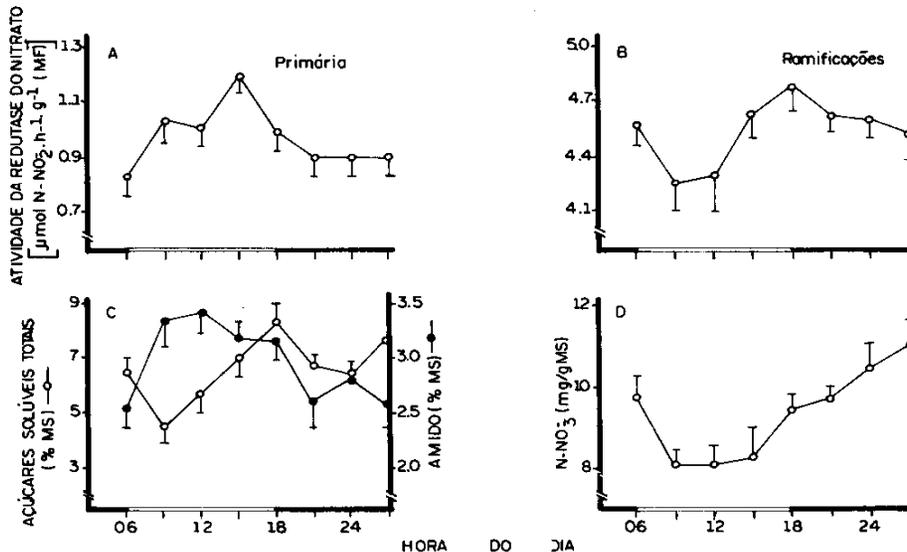


FIG. 3. Variação na atividade da redutase do nitrato na raiz primária (A) e suas ramificações (B) e nos teores de açúcares solúveis totais (C), amido (C) e N-NO_3^- (D) nas ramificações da raiz principal do cafeeiro Catuaí, ao longo do ciclo fotoperiódico. Os símbolos e barras indicam o valor médio de três repetições \pm s(m).

ce ser conseqüência da hidrólise do amido nesse período, a qual fornecerá substrato respiratório para atender, dentre outros processos, a demanda de poder redutor para a assimilação do nitrato na raiz.

O teor de nitrato na raiz, ao longo do dia (Fig. 3-D), apresentou um incremento a partir das 15h, que se manteve durante o período de escuro, o que parece reflexo de uma maior taxa de absorção de nitrato nesse período.

A análise do exsudato do xilema, durante todo o ciclo fotoperiódico (Figs. 4-A e B) revelou aumento gradual da relação N-orgânico/N-nítrico no exsudato, alcançando um pico no final do período de luz. Como não se detectou a presença de íons amônio e nitrito na seiva do xilema (dados não apresentados), pode-se concluir que o processo de assimilação do nitrato seja completo na raiz de cafeeiros jovens. A predominância do N-orgânico sobre a forma nítrica no exsudato tem sido utilizada geralmente como indicadora de alta eficiência do sistema de redução do nitrato na raiz (Pate, 1973, 1980). Contudo, a capacidade do sistema radicular para reduzir nitrato pode variar em função de fatores ambientais, tais como concentração de nitrato. Recentemente, Carelli & Fahl (1991), trabalhando com cafeeiros cultivados em diferentes níveis de nitrogênio, relataram que o aumento da concentração de nitrato de 3,75 a 15,00mM, induziu acréscimo na atividade *in vivo* da redutase do nitrato nas raízes, sem adição de nitrato no meio de incubação. Portanto, em plantas submetidas a baixas concentrações de nitrato podem ocorrer limitações no processo de redução do nitrato. No presente trabalho, no qual as plantas foram mantidas em solução nutritiva contendo 10mM de N-nitrato, e a atividade da redutase do nitrato foi avaliada com a adição de nitrato ao meio, os dados apresentados refletem mais o potencial dos tecidos para redução do nitrato do que as taxas de redução *in situ*.

Quanto à análise da seiva do xilema, é possível que os compostos nitrogenados determinados sejam provenientes não apenas de síntese recente na raiz, mas também da mobilização de reservas ou da circulação via floema (Pate et al., 1965; McClure & Israel, 1979; Rufty et al., 1982; Oaks & Hirel, 1985). Segundo Radin (1977), a análise

do exsudato do xilema é limitada, uma vez que as raízes exportam apenas o excedente de nitrogênio e que as taxas de absorção, redução e transporte de nitrato podem ser alteradas após remoção da parte aérea.

Com relação ao caule, observou-se baixa atividade enzimática e um ritmo praticamente constante de redução de nitrato durante o ciclo de 24

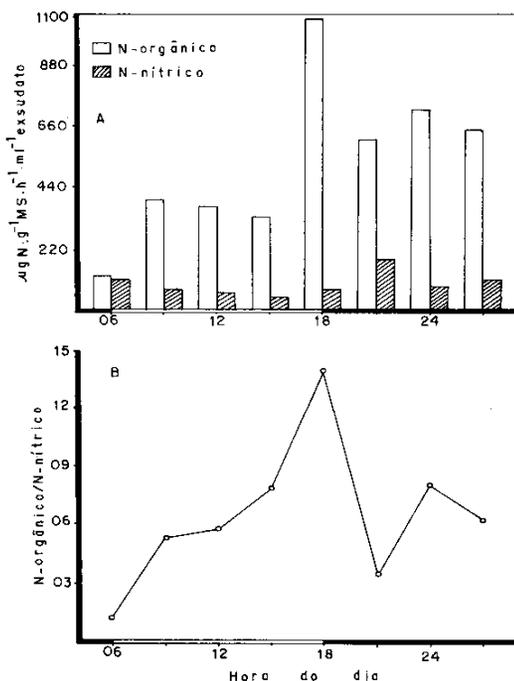


FIG. 4. Variação nos teores de nitrogênio orgânico e nítrico (A), e na relação nitrogênio orgânico/nitrogênio nítrico (B) no exsudato do xilema do cafeeiro Catuaí, ao longo do ciclo fotoperiódico. Os volumes de exsudato (µl) coletados em cada tempo foram: 6h(37), 9h(89), 12h(20), 15h(33), 18h(12), 21h(20), 24h(25) e 3h(32).

horas (Fig. 5-A), não havendo correlação entre a atividade enzimática e as variações dos teores de açúcares solúveis totais (Fig. 5-B) e de nitrato (Fig. 5-C) no mesmo período. Esse fato indica mais uma vez que o caule é um órgão essencialmente de transporte e armazenamento temporário de carboidratos.

Uma vez determinada a atividade específica da redutase do nitrato em toda a planta, estimou-se a contribuição relativa de cada órgão para a atividade total em função da hora do dia (Fig. 6). Durante o período de luz, a contribuição maior foi do sistema radicular, máxima em torno das 18h, quando representou cerca de 70% do nitrogênio reduzido pela planta. A participação das folhas aumentou no período noturno, alcançando 54% da atividade total às 6h. No entanto, no ciclo de 24 horas, a contribuição dos dois principais sítios

de redução do nitrato foi a mesma, 50% aproximadamente.

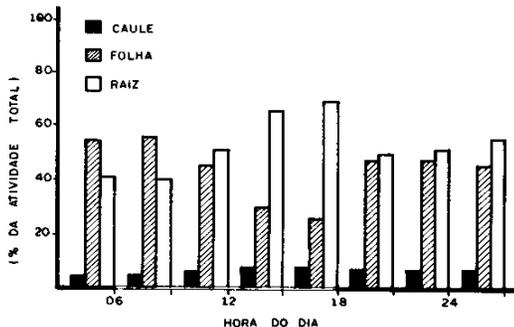


FIG. 6. Contribuição relativa de cada órgão para a atividade da redutase do nitrato no cafeeiro Catuaí, ao longo do ciclo fotoperiódico.

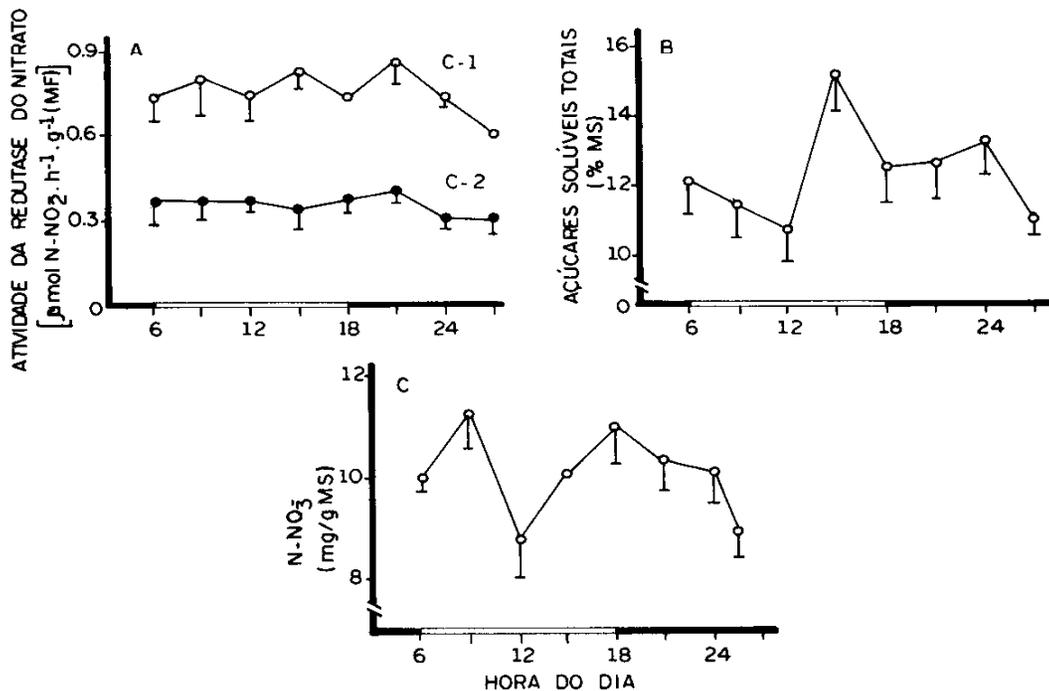


FIG. 5. Variação da atividade da redutase do nitrato no caule (A) e dos teores de açúcares solúveis totais (B) e de N-NO₃ (C) no 1º segmento do caule (C-1) do cafeeiro Catuaí, ao longo do ciclo fotoperiódico. Os símbolos e barras indicam o valor médio de três repetições \pm s(m). C-1:Caule entre o 1º e o 4º par de folhas; C-2: Caule abaixo do 4º par de folhas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. A.; ATTWILL, P. M. Nitrate reductase activity and growth response of forest species to ammonium and nitrate sources of nitrogen. *Plant Soil*, v.66, p.373-381, 1982a.
- ADAMS, M. A.; ATTWILL, P. M. Nitrogen mineralization and nitrate reduction in forests. *Soil Biology & Biochemistry*, v.14, p.197-202, 1982b.
- ALVES, J. D.; CORDEIRO, A. T.; RENA, A. B. Relações entre fotossíntese, resistência difusiva e variação circadiana da redutase do nitrato em *Coffea arabica* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 12, Caxambu. Anais... Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1985, p.142-145.
- ANDREWS, M.; SUTHERLAND, J. M.; THOMAS, R. J.; SPRENT, J. I. Distribution of nitrate reductase activity in six legumes: the importance of the stem. *New Phytologist*, v.98, p.301-310, 1984.
- ASLAM, M.; HUFFAKER, R. C. *In vivo* nitrate reduction in roots and shoots of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings in light and darkness. *Plant Physiology*, v.70, p.1009-1013, 1982.
- ASLAM, M.; HUFFAKER, R. C.; TRAVIS, R. L. The interaction of respiration and photosynthesis in induction of nitrate reductase activity. *Plant Physiology*, v.52, p.137-141, 1973.
- ASLAM, M.; HUFFAKER, R. C.; RAINS, D. W.; RAO, K. P. Influence of light and ambient carbon dioxide concentration on nitrate assimilation by intact barley seedlings. *Plant Physiology*, v.53, p.1205-1209, 1979.
- 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*, v.40, p.691-698, 1965.
- CARELLI, M. L. C.; FAHL, J. I. Distribuição da assimilação de nitrato e de matéria seca em plantas jovens de café cultivadas em diferentes níveis de nitrogênio. *Bragantia*, Campinas, n.50, v.1, p.29-37, 1991.
- CARELLI, M. L. C.; FAHL, J. I.; MAGALHÃES, A. C. Redução de nitrato em plantas jovens de café cultivadas em diferentes níveis de luz e de nitrogênio. *Bragantia*, Campinas, n.49, v.1, p.1-9, 1990.
- CATALDO, D. A.; HARRON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications Soil Science Plant Analysis*, v.6, p.71-90, 1975.
- CATALDO, D. A.; SCHRADER, L. E. YOUNGS, V. L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissues high in nitrate. *Crop Science*, v.14, p.854-856, 1974.
- CLAUSSEN, W. Influence of fruit load and environmental factors on nitrate reductase activity and on concentration of nitrate and carbohydrates in leaves of eggplant (*Solanum melongena*). *Physiologia Plantarum*, v.67, p.73-80, 1986.
- CORDEIRO, A. T.; RENA, A. B.; MENDES, L. F.; ALVES, J. D.; PEREIRA, A. A. Atividade da redutase do nitrato em plantas jovens e adultas de *Coffea arabica*, L.; à luz e na obscuridade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 11, Curitiba. Anais... Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1984, p.77-79.
- GOJON, A.; BUSSI, C.; GRIGNON, C.; SALSAC, L. Distribution of NO_3^- reduction between roots and shoots of peach-tree seedlings as affected by NO_3^- uptake rate. *Physiologia Plantarum*, v.82, p.505-512, 1991.
- GUERRERO, M. G.; VEGA, J. M.; LOSADA, M. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. *Annual Review of Plant Physiology*, v.32, p.169-204, 1981.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture methods for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Sta., Circ.*, p.347, 1950.
- KLEPPER, L.; FLESHER, D.; HAGEMAN, R. H. Generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide for nitrate reduction in green leaves. *Plant Physiology*, v.48, p.580-590, 1971.
- LEE, R. B. Sources of reductant for nitrate assimilation in non-photosynthetic tissue: a review. *Plant, Cell and Environment*, v.3, p.65-90, 1980.
- MARTIN, F.; CHEMARDIN, M.; GADAL, P. Nitrate assimilation and nitrogen circulation in Austrian pine. *Physiologia Plantarum*, v.53, p.105-110, 1981.

- McCLURE, P.; ISRAEL, D. W. Transport of nitrogen in the xylem of soybean plants. *Plant Physiology*, v.64, p.411-416, 1979.
- OAKS, A.; HIREL, B. Nitrogen metabolism in roots. *Annual Review of Plant Physiology*, v.36, p.345-365, 1985.
- OLDAY, F. C.; BARKER, A. V.; MAYNARD, D. N. A physiological basis for different patterns of nitrate accumulation in cucumber and pea. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.3, p.219-221, 1976.
- PATE, J. S. Transport and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review of Plant Physiology*, v.31, p.313-340, 1980.
- PATE, J. S. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biology & Biochemistry*, v.5, p.109-119, 1973.
- PATE, J. S.; WALVER, J.; WALLACE, W. Nitrogen-containing compounds in the shoot system of *Pisum arvense* L. II. The significance of amino-acids and amides released from nodulated roots. *Annals of Botany*, v.29, p.475-493, 1965.
- QUEIROZ, C. G. S.; ALVES, J. D.; RENA, A. B.; CORDEIRO, A. T. Efeito do cloranfenicol, propanol, pH e temperatura sobre a atividade *in vivo* da redutase do nitrato em cafeeiros jovens. *Revista Brasileira de Botânica*, v.14, p.73-77, 1991.
- QUEIROZ, C. G. S.; RENA, A. B.; CORDEIRO, A. T.; ALVES, J. D. Efeitos da excisão da parte aérea, remoção de folhas e anelamento do caule sobre a atividade da redutase do nitrato nas raízes do cafeeiro. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.4, n.1, p.55-57, 1992.
- RADIN, J. W. Contribution of the root system to nitrate assimilation in whole cotton plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, v.4, p.811-819, 1977.
- RADIN, J. W. A physiological basis for the division of nitrate assimilation between roots and leaves. *Plant Science Letters*, v.13, p.21-25, 1978.
- REED, A. J.; CANVIN, D. T.; SHERRARD, J. H.; HAGEMAN, R. H. Assimilation of ^{15}N nitrate and ^{15}N nitrite in leaves of five plant species under light and dark conditions. *Plant Physiology*, v.71, p.291-294, 1983.
- RUFTY, T. W.; VOLK, R. J.; McCLURE, P. R.; ISRAEL, D. W.; RAPER JUNIOR, C. D. Relative content of NO_3^- and reduced N in xylem exudate as an indicator of root reduction of concurrently absorbed $^{15}\text{NO}_3^-$. *Plant Physiology*, v.69, p.166-170, 1982.
- SAWHNEY, S. K.; NAIK, M. S.; NICHOLAS, D. J. D. Regulation of NADH supply for nitrate reduction in green plants via photosynthesis and mitochondrial respiration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.81, p.1209-1216, 1978.
- SHANNER, D. L.; BOYER, J. S. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) leaves. I. Regulation by nitrate flux. *Plant Physiology*, v.58, p.499-504, 1976.
- SHIVASHANKER, S.; RAJGOPAL, K. Diurnal rhythm in nitrate reductase activity of *Cocos nucifera* L. leaves. *Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie*, v.112, p.181-185, 1983.
- SMIRNOFF, N.; STEWART, G. R. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Physiologia Plantarum*, v.64, p.133-140, 1985.
- SMIRNOFF, N.; TODD, P.; STEWART, G. R. The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annals of Botany*, v.54, p.363-374, 1984.