

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

**Morfologia, Arquitetura Radicular e
Metabolismo de Nitrogênio em Variedades de Arroz
sob Baixa Disponibilidade de Amônio**

Rafael Passos Rangel

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**MORFOLOGIA, ARQUITETURA RADICULAR E
METABOLISMO DE NITROGÊNIO EM VARIEDADES DE ARROZ
SOB BAIXA DISPONIBILIDADE DE AMÔNIO**

RAFAEL PASSOS RANGEL

Sob a Orientação do professor
Manlio Silvestre Fernandes

e Co-orientação do professor
Leandro Azevedo Santos

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2014

641.3318

R196m

T

Rangel, Rafael Passos, 1983-

Morfologia, Arquitetura radicular e metabolismo de nitrogênio em variedades de arroz sob baixa disponibilidade de amônio / Rafael Passos Rangel – 2014.

63 f.: il.

Orientador: Manlio Silvestre Fernandes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo.

Bibliografia: f. 51-60.

1. Arroz – Teses. 2. Solos – Teor de amônio – Teses. 3. Solos – Absorção – Teses. 4. Gases – Absorção e adsorção – Teses. I. Fernandes, Manlio Silvestre, 1939-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA-CIÊNCIA DO SOLO**

RAFAEL PASSOS RANGEL

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/ 02 /2014

Manlio Silvestre Fernandes. Ph.D. UFRRJ
Orientador

Marcel Giovanni Costa França. Dr. UFMG

Carlos Alberto Bucher. Dr. UFRRJ

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, José Bodart Rangel e Gilda Ribeiro Passos por todo incentivo
e amor.*

A Iara Maria Lopes Rangel minha esposa e amiga

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre iluminou o meu caminho e me deu forças para superar todas as barreiras durante essa jornada.

À população brasileira por todo conhecimento científico que adquiri durante a graduação e mestrado nesta instituição pública.

A minha família que sempre acreditou no meu potencial e me incentivou a seguir essa carreira profissional.

À minha esposa, Iara Maria Lopes Rangel, pelo incentivo, atenção, amor e carinho durante esse período.

Ao Prof. Manlio Silvestre Fernandes pela orientação, pelos ensinamentos científicos que muito contribuíram para minha formação.

Ao professor Leandro Azevedo Santos pelos ensinamentos, amizade e apoio durante a execução dos experimentos e análises.

A Prof^ª. Sonia Regina de Souza e a Elvia Marian Lis Martinez Stark pela oportunidade de iniciar minha vida científica ainda na graduação, orientação, ensinamentos, amizade e carinho durante esse tempo de convivência.

Ao professor Everaldo Zonta e ao aluno de mestrado Rafael pela orientação inicial nos procedimentos para obtenção dos parâmetros morfológicos.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, Leilson Arruda, Leandro Martins Ferreira, Cássia Coelho, Marcus Sperandio, Orlando Huertas, Osmário Araújo, Rafaela Eloi, prof. Carlos Bucher, Luiziene Soares, Marcela Jacques, Vinícius Miranda e Flávia Caldeira por toda troca de conhecimentos, contribuição na execução deste trabalho e pelos momentos de descontração.

Aos bolsistas de iniciação científica Sara Brasil, Sara Yumi, Andressa Fabiane, Otávio Itacarambi e pela amizade, apoio na condução dos trabalhos e análises laboratoriais.

Aos professores e funcionários do Departamento de Solos, pela cordialidade, presteza e amizade.

Ao CPGA-CS e sua coordenação pela atenção com que fui tratado.

A CAPES pelo fomento.

A todos que de alguma forma contribuíram para a elaboração deste trabalho.

BIOGRAFIA

Rafael Passos Rangel nasceu em Guarapari – ES, em 09 de fevereiro de 1983. Concluiu o ensino fundamental e o ensino médio na Escola de 1º e 2º Grau Dr. Roberto Calmon. Iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônoma na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em junho de 2006, diplomando – se em 2012. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica por três anos e meio no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos estudando técnicas para aumentar a eficiência de uso de nitrogênio em arroz sob a orientação do professor Manlio Silvestre Fernandes. Em março de 2012 foi aprovado para o mestrado no Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo (CPGA-CS), continuando na mesma linha de pesquisa sob a orientação do professor Manlio Silvestre Fernandes.

RESUMO

RANGEL, Rafael Passos. **Morfologia, arquitetura radicular e metabolismo de nitrogênio em variedades de arroz sob baixa disponibilidade de amônio**. 2014. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

A morfologia radicular é uma das principais características relacionadas à eficiência de aquisição de nutrientes em plantas. Deste modo, variedades de arroz contrastantes: uma melhorada, (IAC-47) e duas variedades locais do Maranhão: (Piauí e Manteiga, originárias de cultivos com baixa disponibilidade de nutrientes) foram submetidas a um baixo suprimento de $N-NH_4^+$ e avaliadas quanto aos parâmetros de morfologia radicular, expressão dos transportadores de alta afinidade para amônio (*OsAMT1.1~1.3*) e atividade de GS em três segmentos do sistema radicular. Também foram determinadas as frações solúveis e o nitrogênio total nas diferentes partes da planta (folha, bainha e raiz) de forma a acompanhar alterações metabólicas em resposta a baixa disponibilidade de amônio. A atividade da GS foi maior na segunda coleta, nas variedades Manteiga e IAC-47 em relação a Piauí, nas demais coletas. Resultado semelhante foi observado na parte inferior do sistema radicular, para a variedade Manteiga na terceira coleta com ressuprimento com amônio. Quando cultivada sem suplementação amoniacal, a variedade Manteiga apresentou maior expressão do *OsAMT1.3* na parte inferior (PI) do sistema radicular, e maior crescimento de raízes, indicando um possível envolvimento desse transportador com o controle da morfologia radicular de plantas de arroz. Houve menor expressão do *OsAMT1.1* e *OsAMT1.2* diferentemente do *OsAMT1.3*, porém distribuindo-se a outros segmentos do sistema radicular. No ressuprimento com amônio aos 38 dias após a germinação (38 DAG) houve repressão dos transportadores de amônio na parte inferior (PI) do sistema radicular e aumento de expressão do *OsAMT1.2* na parte mediana (PM) para a variedade Piauí. Na parte superior das raízes (PS) os maiores níveis de expressão dos transportadores de amônio de alta afinidade foram observados para as variedades IAC-47 e Manteiga. Esta diferença de expressão entre variedades oriundas de regiões com baixa disponibilidade de N (Piauí e Manteiga) e a variedade melhorada IAC-47 é um indicio que sob condições limitantes de N, a maior expressão do *OsAMT1.3* pode estar associado com incremento nos parâmetros morfológicos.

Palavras-Chave: *Oryza sativa* L. Volume radicular. Variedades Locais.

ABSTRACT

RANGEL, Rafael Passos. **Morphology, root architecture and nitrogen metabolism in rice varieties under low ammonium availability**. 2014. 49 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

Root morphology is a major factor related to the efficiency of nutrient acquisition. For this reason, this work compared this characteristic in three contrasting rice varieties: IAC 47 (improved variety) and two traditional varieties cultivated in the state of Maranhão (Piauí and Manteiga originated in an environment with low nutrient input). These varieties were subjected to a low N-NH₄⁺ supply and analyzed for the root morphology parameters, expression of ammonium high affinity transport system (*OsAMT1.1~1.3*) and GS activity in three segments of the root system. It was also determined the soluble fractions and total nitrogen in the different segments of the plants (leaves, sheaths and roots) to verify the metabolic alterations as a result of low ammonium input. The GS activity was higher in the second segment in the Manteiga and IAC-47 varieties compared to Piauí, in the other segments. A similar result was observed in the Manteiga variety in the third segment (bottom of the root system) submitted to NH₄⁺ resupply. When grown without NH₄⁺, the Manteiga variety showed higher *OsAMT1.3* expression in the lower segment of the root system, and greater root growth, indicating a possible involvement of this transporter in the control of root morphology in rice plants. There was lower expression of *OsAMT1.1* and *OsAMT1.2* unlike *OsAMT1.3* but being distributed to other segments of the root system. In resupply with NH₄⁺ (38 DAG) there was repression of ammonium transporters in the bottom (PI) of the root system and increased expression of *OsAMT1.2* the median part (PM) in Piauí variety. In the upper part of the roots (PS) higher levels of ammonium transporter expression was observed in the IAC-47, and Manteiga. This difference in expression between varieties originated from regions with low N availability (Piauí and Manteiga) and improved IAC-47 is an indication that under conditions of limited N, the highest expression of *OsAMT1.3* may be associated with an increase in morphological parameters.

Key words: *Oryza sativa* L. Root volume. Local varieties.

LISTA DE SÍMBOLOS

AMT1	Família gênica dos transportadores de NH_4^+ de alta afinidade (<i>Ammonium transporter 1</i>)
AMT2	Família gênica dos transportadores de NH_4^+ de baixa afinidade (<i>Ammonium transporter 2</i>)
ATP	Adenosina trifosfato
DAG	Dias Após a Germinação
EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético
GS	Glutamina sintetase
HATS	Sistema de Transporte de Alta Afinidade (“ <i>High Affinity Transport System</i> ”)
LATS	Sistema de Transporte de Baixa Afinidade (“ <i>Low Affinity Transport System</i> ”)
pb	Pares de bases
RNA_m	Ácido Ribonucléico mensageiro (“ <i>Ribonucleic Acid Messenger</i> ”)
TRIS	2-(2-hidroxietil)amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol
PI	Parte inferior do sistema radicular
PM	Parte mediana do sistema radicular
PS	Parte superior do sistema radicular

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Sequências dos iniciadores (<i>primers</i>) (“ <i>forward</i> e <i>reverse</i> ”) usados nas reações de PCR em tempo real para os genes dos transportadores de amônio (<i>OsAMT1.1</i> , <i>OsAMT1.2</i> e <i>OsAMT1.3</i>), actina (<i>OsAct11</i>), ubiquitina (<i>OsUBC5</i>) de arroz e do fator de alongamento 1- α (ϵ EF-1 α), e respectivos acessos nos bancos de dados TIGR e NCBI... 13	13
Tabela 2. Massa fresca de folha, bainha e raiz das variedades IAC-47, Manteiga e Piauí, submetidas a diferentes suprimentos com N-NH ₄ ⁺ 16	16
Tabela 3. Razão Raiz: Parte Aérea das variedades, IAC-47, Manteiga e Piauí, submetidas a diferentes suprimentos com N-NH ₄ ⁺ 17	17
Tabela 4. Parâmetros Morfológicos das variedades IAC-47, Manteiga e Piauí, submetidas a diferentes tratamentos com N-NH ₄ ⁺ 19	19
Tabela 5. Parâmetros Morfológicos das variedades IAC-47, Manteiga e Piauí cultivadas no rizotron..... 20	20

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Condução do experimento com as variedades de arroz Piauí, Manteiga e IAC-47 em 0,2mM de $N-NH_4^+$ ou sem N (S). DAG: dias após a germinação. 11
- Figura 2.** Critério para o corte do sistema radicular do arroz em três segmentos: Parte superior - PS; Parte mediana - PM e Parte inferior - PI..... 12
- Figura 3.** Esquema de construção do rizotron e cultivo das três variedades de arroz por até 40 dias após a germinação. Onde **A** são as dimensões do rizotron; **B** suporte com 20 cm de altura; **C** rizotrons já montados com plantas de arroz em pleno desenvolvimento e **D** plantas de arroz com aproximadamente 40 dias após a germinação. 15
- Figura 4.** Imagens do sistema radicular das três variedades de arroz: **1** Piauí, **2** Manteiga e **3** IAC-47. A letra **A** refere-se a 1ª coleta 24 (DAG); **B** e **C** a 2ª coleta 31 (DAG), onde **B** são as plantas no tratamento constante de N e **C** plantas sem amônio; **D** e **E** correspondem a 3ª coleta 38 (DAG), onde **D** são plantas ressupridas com $N-NH_4^+$ e **E** as que permaneceram com N constante. Escala de 5 cm. 18
- Figura 5.** Arquitetura radicular das três variedades IAC-47 (Figuras A,D e G), Manteiga (B, E e H) e Piauí (C, F, e I). Cultivadas no rizotron por 40 dias A, B, C, após este período o sistema radicular foi lavado em uma cama de pregos (Figuras D, E e F). Em seguida escaneadas no programa Winrhizo (Figuras G, H e I). Fotos representativas de 4 repetições, escala 4cm..... 21
- Figura 6.** Teores de Nitrato observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de $N-NH_4^+$ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período, ressupridas com 0,2 mM de $N-NH_4^+$. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 22
- Figura 7.** Teores de Amônio observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de $N-NH_4^+$ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de $N-NH_4^+$. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 23
- Figura 8.** Teores de N-amino observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de $N-NH_4^+$ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de $N-NH_4^+$. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 25

- Figura 9.** Teor Açúcar observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de N-NH₄⁺ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24° ao 31° DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de N-NH₄⁺. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 26
- Figura 10.** Teor N observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de N-NH₄⁺ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24° ao 31° DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de N-NH₄⁺. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 27
- Figura 11.** Atividade de GS aos 24 DAG sobre suplementação constante 0,2 mM N-NH₄⁺ (A), 31 DAG sobre suplementação constante 0,2 mM NH₄⁺ (B) e sem N-NH₄⁺ (C), 38 DAG sobre suplementação constante 0,2 mM N-NH₄⁺ (D) e ressupridas com 0,2 mM N-NH₄⁺ (E), nas diferentes partes da raiz: Raiz Inferior (PI), Parte Mediana (PM), Parte Superior (PS). Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes partes do sistema radicular dentro de cada variedade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes partes do sistema radicular pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... 29
- Figura 12.** Expressão relativa de três transportadores de NH₄⁺ (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) na raiz de plantas de arroz das variedades Piauí, Manteiga e IAC-47, com tratamento constante de 0,2 mM de N-NH₄⁺ aos 24 dias após a germinação (DAG). As plantas da variedade IAC-47 foram utilizadas como referência. Barras representam o erro padrão das médias de quatro repetições..... 31
- Figura 13.** Expressão relativa de três transportadores de NH₄⁺ (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) na raiz de plantas de arroz das variedades Piauí, Manteiga e IAC-47, sob suprimento constante com 0,2 mM de N-NH₄⁺ e sem N-NH₄⁺ aos 31 dias após a germinação (DAG). As plantas no tratamento constante com 0,2 mM de N- N-NH₄⁺ foram utilizadas como referência. Barras representam o erro padrão das médias de quatro repetições. 33
- Figura 14.** Expressão relativa de três transportadores de NH₄⁺ (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) em raízes de plantas de arroz das variedades Piauí, Manteiga e IAC-47, sob suprimento constante com 0,2 mM de N-NH₄⁺ e ressuprimento com N-NH₄⁺ (0,2 mM) aos 38 dias após a germinação (DAG). As plantas do tratamento constante com 0,2 mM de N- N-NH₄⁺ foram utilizadas como referência. Barras representam o erro padrão das médias de quatro repetições. 35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Sistema Radicular do Arroz	5
2.2 Morfologia e Distribuição Radicular e Sua Relação com a Absorção de Nutrientes ..	6
2.3 Raízes Nodais	8
2.4 Ramificação Lateral	8
2.5 Absorção e Assimilação de Amônio.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Análise das Frações Solúveis.....	11
3.2 Massa Seca e Análise do N-total	12
3.3 Avaliação da Expressão Gênica por RT-PCR	12
3.3.1 Extração de RNA total.....	12
3.3.2 Síntese de cDNA e PCR em tempo real	13
3.3.3 Atividade da Glutamina Sintetase	13
3.4 Aquisição das Imagens do Sistema Radicular	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1 Massa Seca das plantas de arroz	16
4.2 Arquitetura e Morfologia Radicular	17
4.3 Metabolismo de Plantas de Arroz	22
4.4 Atividade de Glutamina Sintetase.....	28
4.5 Expressão dos Transportadores de Amônio.....	30
5. CONCLUSÕES	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
7. ANEXO	47

1. INTRODUÇÃO

O arroz é o grão mais importante na dieta de mais da metade da população mundial, representando acima de 50 % da ingestão diária de calorias de asiáticos, africanos e latino-americanos (Counce Etal., 2000; Lian et al., 2005; IBGE, 2012). A produção mundial de arroz duplicou de 257 milhões de toneladas, em 1965, para 520 milhões, em 1990, devido principalmente à adoção de cultivares semi-anãs (modernas) (Khush, 1995), com alto potencial de rendimento. No entanto, nos últimos anos os ganhos de rendimento na cultura diminuíram e a população mundial está aumentando em proporção maior do que os incrementos na produção do arroz, especialmente nos países consumidores do grão.

No Brasil, apesar da cultura do arroz ser amplamente difundida, sua produção concentra-se em cinco estados: Rio Grande do Sul, onde predomina o arroz irrigado, Santa Catarina, Mato Grosso, Maranhão e Tocantins.

As estimativas para a projeção de área plantada de arroz mostram que deverá ocorrer redução de área nos próximos anos. A área de plantio de arroz vem caindo ano a ano segundo a Conab e no Rio Grande do Sul está estagnada ou com ligeira tendência de aumento. A produtividade deverá ser a principal variável no comportamento desse produto nos próximos anos (Fonte: AGE/ Mapa e SGE/Embrapa 2013). A produção projetada para 2021/2022 é de 15,2 milhões de toneladas, o que equivale a um crescimento anual de produção de 1,4% de 2011/2012 a 2021/2022 (Fonte: AGE/ Mapa e SGE/Embrapa 2013). Esse acréscimo de produção deverá ocorrer especialmente por meio do arroz irrigado, uma vez que o arroz de terras secas diminuiu a expansão no Brasil, pela menor incorporação de novas terras em áreas de fronteira agrícola. O caso mais típico é Mato Grosso, onde a produção diminuiu em função da redução do cultivo de variedades de sequeiro. Como a área cultivada com arroz tem se mantido estável mundialmente desde 1981 e, com a menor perspectiva de expansão, o aumento do rendimento é necessário para atender a sua crescente demanda (FAO, 2013).

As plantas cultivadas apresentam forte dependência da adubação nitrogenada, aplicada principalmente nas formas de $N-NO_3^-$ e $N-NH_4^+$. Estudos apontam que aproximadamente entre 85 e 90 milhões de toneladas de fertilizantes nitrogenados são adicionados nos solos ao redor do mundo anualmente, e acredita-se que este valor possa chegar a 240 milhões em 2050 (Tilman, 1999; Good et al., 2004; Miller e Cramer, 2004). Além disso, dados experimentais indicam que de 50 a 70% do nitrogênio aplicado no solo é perdido do sistema solo-planta (Peoples et al., 1995 Glass, 2003).

Quando se objetiva alcançar rendimentos de grãos mais altos em lavouras de arroz irrigado, um dos aspectos a ser procurado é o aumento da absorção de nutrientes, para satisfazer a maior demanda que será criada. Também é necessário que se busque o aumento da eficiência na utilização de nutrientes pelas plantas (Abichequer, A. D. 2004). O uso de altas densidades de semeadura também pode causar esgotamento de nutrientes pela competição entre raízes adjacentes, podendo ser vantajosa uma maior exploração de solo pelas raízes, atingindo camadas mais profundas. Plantas de arroz mais eficientes na absorção de nutrientes podem também reduzir perdas de nutrientes por percolação, volatilização (no caso do N) ou com a água de drenagem, ao absorvê-los em maior quantidade e mais rapidamente. Como consequência, é reduzida a contaminação da água de drenagem e melhor aproveitamento da adubação, refletindo-se em redução de custos (Abichequer, A. D. 2004).

Embora autores como Lynch (1995) e Osmont et al. (2007) reconheçam a importância do melhoramento do sistema radicular para o incremento do potencial produtivo do arroz, o melhoramento de plantas não tem dedicado a mesma atenção dada à melhoria de características da parte aérea. Um dos motivos para essa menor ênfase é a dificuldade para a retirada e avaliação das raízes, em condições de campo (Pessemier et al., 2013).

No entanto, compreender os mecanismos de estimulação do crescimento e repressão das raízes laterais, pela disponibilidade de nitrogênio, pode ajudar a redesenhar a arquitetura

do sistema radicular, se configurando em uma estratégia para o desenvolvimento de um sistema radicular denso e profundo e com maior eficiência de absorção de nutrientes (López-Bucio et al., 2003).

Como as plantas são organismos sésseis e não pode migrar para habitats mais prósperos, elas desenvolveram mecanismos para se adaptarem a mudanças na disponibilidade de água e nutrientes, onde o sistema radicular responde à flutuações de recursos, mostrando plasticidade de desenvolvimento, a fim de modular a superfície disponível para a absorção, onde o padrão de ramificação ocupa um papel importante (Zolla et al., 2010).

A absorção de nitrogênio é regulada pela demanda da cultura se a oferta de N não é limitada (Clarkson, 1985). Quando sob baixa disponibilidade de N a absorção depende do tamanho e da eficácia do sistema radicular (Jackson et al., 1986). Cultivares com sistema radicular mais profundo e maior densidade foram capazes de esgotar mais N-NO₃⁻ do subsolo (Wiesler & Horst, 1994). Densidade e comprimento radicular geralmente decaí (Barraclough et al, 1991; Kjellströma and Kirchmann, 1994) de modo que um pequeno aumento na densidade e comprimento radicular podem resultar em considerável aumento da captação de nitrogênio.

Na maioria dos solos, os nutrientes para as plantas não estão distribuídos homogeneamente, especialmente se forem provenientes de matéria orgânica ou adsorvidos na matriz do solo, o que restringe a sua solubilidade e o transporte à superfície radicular (Ettema e Wardle, 2002.; Hinsinger et al., 2005). As plantas podem responder a disponibilidade limitada de nutrientes espacialmente com alteração da arquitetura do sistema radicular, levando ao desenvolvimento raízes laterais em locais mais ricos em nutrientes. Esta resposta é específica e observada somente se a disponibilidade de um determinado nutriente em geral é limitada. Experimentos iniciais com cevada (*Hordeum vulgare* L.) mostraram que o fornecimento localizado de nitrato ou fosfato, mas não de potássio, estimula o crescimento das raízes laterais dentro de uma região do solo rico em nutrientes, enquanto a formação de raízes laterais foi suprimida em zonas pobres em nutrientes (Drew, 1975; Drew & Saker, 1975, 1978).

Entre os fatores ambientais mais críticos, a disponibilidade de nutrientes pode moldar profundamente a arquitetura de raiz (Pez-Bucio Lo et al., 2003; Hodge, 2006). A deficiência de Nitrogênio (N), enxofre (S) ou fósforo (P) geralmente induz o alongamento do sistema radicular (Marschner, 1995; Pez-Bucio Lo et al., 2003), enquanto que o fornecimento local de nitrato ou fosfato para plantas estimula o desenvolvimento das raízes laterais (Drew, 1975; Zhang et al, 1999; Linkohr et al., 2002).

No caso de fosfato, baixa disponibilidade parece ser detectada no ápice da raiz, onde o alongamento das células e a atividade do meristema tornar-se fortemente reduzido, evitando desenvolvimento de raízes em zonas com depleção de fósforo no solo (Svistoonoff et al., 2007; Desnos, 2008). No caso de nitrato, o papel do meristema apical na detecção do nitrogênio permanece pouco claro, no entanto, raízes laterais também se alongam em zonas do solo contendo nitrato, se o sistema radicular restante estiver com deficiente de nitrogênio (Drew, 1975; Remans et al., 2006).

Segundo Robinson (1991), a diversidade de funções do sistema radicular se encontra associado à capacidade de absorção de água e nitrato, onde 10% e 30% do comprimento total do sistema radicular está envolvido na absorção de nitrato e água, respectivamente. Isso levanta a questão de que partes do sistema radicular estão envolvidos na absorção de nutrientes, variando de acordo com sua disponibilidade de nutrientes. Esta diversidade anatômica, fisiológica e morfológica foi chamada de "heterorhizy" (Noelle 1910; Waisel e Eshel 1992; Hishi 2007). As variações na morfologia ou função podem ocorrer entre as raízes de origem diferente (ontogênese) ou ao longo da raiz (diferenciação).

Morfológicamente, grandes diferenças entre raízes ocorrem devido ao diâmetro da raiz: por exemplo, em monocotiledônea, *Musa acuminata* (bananeira) variações no diâmetro da raiz podem chegar a duas ordens de grandeza 0,06-6 mm (Lecompte et al 2001). Tais variações são comuns em muitas espécies, embora geralmente em ordens de grandeza inferiores e está ligada a variação da estrutura da radicular (Fitter 2002, Varney e McCully, 1991). Em espécies dicotiledôneas tais variações são reforçadas pelo crescimento secundário. Isto tem grandes conseqüências sobre as propriedades de transporte da raiz. Segundo (Vercambre et al., 2002) raízes crescimento secundário diferenciado podem apresentar um aumento de 100-1.000 vezes em condutividade hidráulica axial em comparação com raízes sem crescimento secundário.

Diferenças de funcionamento entre raízes de diferentes origens foram demonstrados, por exemplo, em milho, onde raízes seminais, mesmo relativamente pouco numerosas, desempenham papel dominante no fornecimento de água por um período significativo do ciclo de vida das plantas (Navara, 1987), porém com menor capacidade de adquirir P, quando comparado com raízes nodais (Mistrik e Mistrikova 1995). As variações entre a raiz principal e as laterais na absorção de Cl ou K foram demonstrados em ervilha (Waisel e Eshel 1992), enquanto que no milho, a taxa de absorção de nitrato foi 1,5 vezes maior em comparação com as raízes do eixo principal (Lazof et al., 1992).

Em *Arabidopsis* quatro efeitos de fornecimento de N sobre o desenvolvimento das raízes foram identificados (Zhang et al., 2007.): (i) um efeito estimulador de nitrato externo no alongamento das raízes laterais, (ii) um efeito sistêmico inibidor de altas concentrações de nitrato no tecido sobre a ativação dos meristemas das raízes laterais, (iii) a supressão de iniciação de raízes laterais por uma alta relação C: N, e (iv) inibição do crescimento da raiz principal e estímulo a ramificação radicular sobre a presença de L-glutamato (N orgânico) em meio externo.

O crescimento axial define o comprimento e trajetória das raízes e contribui para a dinâmica e crescimento do sistema radicular. Do ponto de vista da arquitetura tanto o alongamento como a direção são considerados. O alongamento vai definir a dinâmica de colonização do solo, enquanto a direção irá definir a sua forma. Além disso, ambos são altamente variáveis entre as raízes e são sensíveis a condições externas. O crescimento da raiz axial ocorre a partir da extremidade distal (ponta da raiz). A faixa de temperatura ótima para o crescimento das raízes no solo varia de 17 - 35 C° dependendo da espécie e da sua origem (McMichael et al., 2002). Deste modo, a formação de raízes laterais é afetada por nutrientes em diferentes fases do desenvolvimento (por exemplo, início do crescimento e alongamento) e da forma de nutrientes específicos. No caso do N, tem sido mostrado que amônio e nitrato apresentam efeitos complementares sobre a arquitetura das raízes laterais, onde o nitrato reforça principalmente no início do crescimento já o amônio está envolvido no alongamento de raízes laterais (Giehl et al., 2014).

Em particular para o amônio, evidências experimentais demonstram que a iniciação das raízes laterais não é causada por um efeito nutricional, mas sim por um evento de detecção (Lima et al., 2010). Isto promove o conceito de que adaptações de desenvolvimento das raízes primárias ou laterais para fornecimentos de nutrientes não tóxicos, pode ser visto como uma adaptação morfológica para a detecção de nutrientes.

O objetivo do estudo foi avaliar o comportamento de três variedades de arroz, sendo uma melhorada, (IAC-47) e duas variedades locais do Maranhão: (Piauí e Manteiga, originárias de cultivos com baixa disponibilidade de nutrientes), quanto ao desenvolvimento, arquitetura e morfologia radicular e verificar a influência desses parâmetros na absorção de nitrogênio e sua correlação com a expressão de genes que codificam para, transportadores de alta afinidade de amônio. Estas variedades locais são adaptadas a condições de baixa fertilidade, apresentando melhores parâmetros de eficiência no uso do nitrogênio quando

comparadas a variedades melhoradas (referencias), podendo estar relacionado a uma melhoria da arquitetura radicular das variedades locais em relação à melhorada, quando cultivada sob baixa disponibilidade de nitrogênio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema Radicular do Arroz

A raiz é um órgão que tem sua formação ainda no estágio embrionário da planta. A raiz embrionária é chamada de radícula, que surge através da diferenciação celular que origina o eixo hipocótilo/radícula. Após a germinação e a emergência da radícula, tem início o desenvolvimento e o crescimento do órgão. A raiz pode ser dividida em três partes: a zona meristemática, zona de alongamento e zona de maturação. A origem destes tecidos está em um grupo de células localizados no meristema apical da raiz, denominado centro quiescente – região com células de baixa taxa mitótica – que é circundado por uma camada de células que apresentam altas taxas de divisões mitóticas. A partir de certo ponto de desenvolvimento as raízes são classificadas de acordo com sua ontogênese em três categorias principais: primária, nodais e raízes laterais (Cannon 1949; Harper et al 1991; Klepper 1992.). Esta classificação também reflete as diferenças entre espécies monocotiledônea e dicotiledôneas: sistema radicular de dicotiledôneas são derivados de raízes primárias e ramificações laterais (sistema radicular primário), com raízes que podem apresentar crescimento radial.

Dependendo da extensão das raízes laterais em relação ao eixo principal, a morfologia do sistema radicular varia entre difusa ou fasciculada. Em monocotiledôneas, sistemas radiculares decorrem não só da ramificação de raízes primárias, mas também a partir de raízes nodais (raízes adventícias). Raízes de monocotiledôneas não sofrem crescimento radial secundário. A raiz principal se diferencia da radícula já presente no embrião da semente.

O crescimento de raízes de arroz abrange uma notável diversidade genética em termos de padrões de crescimento, arquitetura e adaptações ambientais. Podem ser divididas em três classes diferentes, estas classes são diferentes na origem, função e anatomia: seminais (radícula), raízes do mesocótilo são escassamente ramificadas e persistem apenas por um curto período de tempo após a germinação e raízes nodais (adventícias) que são produzidos a partir dos nós subterrâneos sendo livremente ramificadas (Pessemier et al., 2013). A radícula emerge após a germinação, sendo o primeiro sinal de germinação das sementes. Ela cresce 3-5 cm de comprimento em 2-3 dias após a germinação atingindo no máximo 15 cm e mantém-se ativa até o estágio da sétima folha (Yoshida, 1981). O principal sistema radicular do arroz é formado pelas raízes adventícias. Cada entrenó da planta normalmente desenvolve de 5 a 25 raízes primárias, cujos diâmetros variam de 0,5 a mais de 1 mm (Fujii 1974). Uma folha e raízes finas surgem da parte superior do entrenó, enquanto um afilho e raízes grossas emergem da parte inferior (Kawata et al., 1963).

As raízes grossas tendem a crescer em profundidade, já as finas são mais superficiais. As raízes primárias, à medida que se desenvolvem, ramificam-se em secundárias, terciárias etc., até de sexta ordem, com diâmetro progressivamente menor, reduzindo de 1 até 0,04 mm. (Yoshida, 1981). Segundo Yoshida & Hasegawa (1982), geralmente as cultivares de arroz de sequeiro apresentam raízes longas e espessas, que se aprofundam mais no solo (atingindo até 140 cm de profundidade), enquanto as cultivares melhoradas para o cultivo irrigado desenvolvem raízes finas e fibrosas. Uma característica interessante do arroz é a ocorrência de sincronia entre o crescimento da parte aérea e raízes nodais. (Yoshida, 1981).

O crescimento radicular é diretamente relacionado ao crescimento da parte aérea do arroz (Yoshida, 1981; Lopes, 1991; Morita & Yamazaki, 1993). A taxa máxima de crescimento das raízes ocorre no estágio de diferenciação da panícula, havendo quase uma paralisação durante o enchimento de grãos. As taxas máximas de absorção de nutrientes ocorrem da diferenciação da panícula até a floração, período que coincide com o maior crescimento da parte aérea do arroz (Lopes, 1991).

2.2 Morfologia e Distribuição Radicular e Sua Relação com a Absorção de Nutrientes

As diferenças entre espécies e variedades de plantas quanto à capacidade de absorver nutrientes são decorrentes da variação na magnitude e morfologia do sistema radicular e/ou na cinética de absorção de nutrientes (Anghinoni et al., 1989). No campo, além desses aspectos, a distribuição das raízes ao longo do perfil do solo também é muito importante para a determinação da quantidade de nutrientes absorvidos pelo arroz.

Além das características morfológicas que afetam a aquisição de água e nutrientes por meio do controle de comprimento radicular e área de superfície, a morfologia da raiz também afeta a aquisição de recursos, influenciando a taxa de crescimento radicular, com raízes mais finas, associados a mais rápida taxa de crescimento de raiz (Eissenstat, 1991; Robinson et al., 1991, 1999). Onde a maior eficiência na aquisição de recursos do solo está associada ao desenvolvimento de raízes de menor diâmetro possibilitando um maior comprimento por massa fresca de raiz (Hernández et al., 2010; Henry et al., 2012).

Pêlos radiculares produzidos por muitas espécies também podem aumentar substancialmente a superfície da raiz e são particularmente sensíveis às reduções de água no solo e disponibilidade de nutrientes (Mackay & Barber, 1985; Bates & Lynch, 2001). O aumento da área de superfície da raiz via pêlos radiculares pode compensar reduções no alongamento do sistema radicular decorrentes de solos extremamente secos (Mackay & Barber, 1985). Promovendo o contato da raiz com as partículas do solo, reduzindo o impacto de condições ambientais adversas, favorecendo a aquisição de água no solo (Wasson et al., 2012).

O desenvolvimento de sistema radicular extensivo, mas estruturado, pode ser considerado como um processo evolutivo em resposta a variabilidade espaço-temporal como a oferta de recursos e constrangimentos associados ao seu crescimento (Harper et al., 1991). Como consequência, a extensão no espaço e no tempo do sistema radicular é governada por regras de desenvolvimento geneticamente guiadas que são moduladas por condições ambientais. Mapeamentos de QTLs recentemente revelaram que a morfologia do sistema radicular é na maioria dos casos regulada por um conjunto de pequenas regiões no genoma que interagem com o ambiente (Dorlodot et al., 2007; Cooper et al., 2009). Essas regiões no genoma que contribuem na morfologia radicular podem ser considerada constitutivas ou adaptativas, variando de acordo com a espécie e ambiente alvo (Collins et al., 2008). Ambas características adaptativas e constitutivas, podem ser difíceis de serem observadas quando se analisa o fenótipo do sistema radicular. Portanto, não é de estranhar que a maioria das pesquisas genéticas tem se concentrado em características da parte aérea, enquanto o sistema radicular da planta é muito menos representados em pesquisa recente (Herder et al., 2010).

Apesar das dificuldades de se avaliar sistema radicular principalmente a campo, inúmeros estudos relataram QTLs associados com o aumento da capacidade sistema radicular na aquisição de recurso do solo em diferentes espécies. Em arroz foi observado aumento do comprimento da raiz (Price et al., 2002; MacMillan et al., 2006; Courtois et al., 2009), biomassa radicular (Courtois et al., 2003), e número de raízes (Zheng et al., 2000, 2003; Courtois et al., 2009). Em trigo foi relatado aumento da biomassa total de raízes, comprimento e número de raízes (Sharma et al. 2011), ângulo da raiz seminal (Christopher et al. 2013), e crescimento radicular profundo e número de raízes seminais (Hamada et al., 2012.). Resultados semelhantes foram observados em milho, associado maior número de raízes, ramificação, massa seca e diminuição do diâmetro das raízes (Giuliani et al., 2005, Ruta et al., 2010). Várias linhagens de mutantes de arroz estão sendo usadas em estudos sobre controle molecular na ramificação de raízes laterais (Smith & De Smet, 2012).

Estudos moleculares estão examinando genes e as vias de sinalização que controlam a resposta morfológica à seca (Fukao & Xiong, 2013).

Além disso, o comprimento radicular é altamente correlacionado com o espaço disponível para seu desenvolvimento como, barreiras físicas e o tipo de plantas concorrentes existentes (Fang et al., 2013).

A exploração de um maior volume de solo pelas raízes, que pode ser obtida com um maior aprofundamento, reduzindo a competição entre raízes adjacentes. Esta competição causa esgotamento dos nutrientes no cilindro de solo ao redor das raízes podendo não ser atendida a demanda nutricional no caso de cultivos de alto rendimento (Abichequer 2004). Teo et al. (1995), testando um modelo de absorção de nutrientes em arroz irrigado, observaram que a absorção de N e P foi mais sensível à meia distância entre raízes, que é um indicador da competição entre raízes adjacentes.

A morfologia radicular depende da disponibilidade de nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo, sendo os principais macronutrientes limitantes desenvolvimento do sistema radicular. A disponibilidade de nitrogênio e fósforo pode alterar a arquitetura da raiz inibindo ou promovendo o crescimento da raiz principal e o crescimento e formação de raízes laterais. Em *Arabidopsis thaliana*, altas concentrações globais de nitrogênio inibem o crescimento tanto da raiz primária como laterais, enquanto sua falta promove o alongamento de raízes laterais.

Entretanto, altas concentrações locais são capazes de promoverem o crescimento da raiz lateral. Cabe ressaltar que o efeito da falta ou excesso de nitrogênio depende da sua fonte (nitrato, amônio, compostos orgânicos etc), do ambiente e da espécie de planta a ser estudada. O excesso de fósforo promove o desenvolvimento da raiz primária, enquanto sua falta promove o desenvolvimento de raízes laterais. Como o fósforo é um nutriente de baixa mobilidade, sua disponibilidade no solo é reduzida, justificando as mudanças que sua falta causa na arquitetura da raiz (Osmont et al., 2007). Entretanto, pouco se sabe ainda sobre os mecanismos de regulação envolvidos neste processo.

Dependendo do ambiente, as plantas possuem algumas adaptações para captação de nutrientes Comas et al , 2012). Um exemplo são plantas carnívoras, que obtém os nutrientes escassos no solo através de armadilhas que capturam pequenos animais. Outras optam pela associação com fungos ou bactérias. Em troca de carboidratos, as plantas recebem nutrientes ou água, caracterizando uma relação simbiótica. A associação com fungos micorrizicos ocorre em condições naturais e é distribuída em quase todas as espécies de plantas (Hausmann & Hawkes, 2010). Já na associação com bactérias o caso mais comum são o das plantas leguminosas, que formam nódulos nas raízes da planta hospedeira e fornecem compostos nitrogenados fixados do ar atmosférico (Reed et al., 2011).

A profundidade máxima de alcance radicular é determinada geneticamente e difere substancialmente entre cultivares sob condições idênticas, mas ao mesmo tempo é afetada pela ambiente (Yoshida & Hasegawa, 1982). Profundidade máxima de raízes de um genótipo específico só é alcançada quando as raízes não encontrarem nenhum limite físico para o crescimento, com o aumento da densidade de comprimento de raízes, a absorção de água e nutrientes geralmente aumenta, mas até um determinado comprimento, chamado de densidade de comprimento crítico da raiz. No arroz, como outras culturas, a densidade de comprimento crítico da raiz depende de condições de solo, especialmente de umidade (Siopongco et al., 2005) onde as raízes são distribuídas de tal forma que o seu comprimento e massa vão diminuir exponencialmente com a profundidade. A densidade de raízes em profundidade determina a exploração de água presente em níveis mais profundos.

Novas tecnologias de utilização de imagens para análise do sistema radicular permiti um olhar mais atento à natureza dinâmica da arquitetura radicular do arroz. Técnicas de imagem não-invasivas podem fornecer informações importantes sobre a distribuição espacial das raízes de arroz permitindo a identificação de controle genético sobre a arquitetura do sistema radicular do arroz (Comas et al., 2013). No entanto, a maioria dos estudos de

imagiologia requer plantas a serem cultivadas em meios artificiais. Assim testes são necessários para determinar se características do sistema radicular do arroz observados em meios artificiais são encontrados em condições reais de campo (Clark et al., 2011; Feng et al., 2012).

2.3 Raízes Nodais

O arroz é composto por uma raiz de origem embrionária, isto é, uma única raiz seminal e é geralmente a maior raiz antes do período de terceira folha (Zhang et al., 2001). Todas as raízes após este período são oriundas dos respectivos nós, a partir do coleóptilo (Zonta, 2003). Para isso são necessários quatro processos básicos: diferenciação, desenvolvimento, emergência e posterior crescimento, de acordo a seguinte ordem: uma região de enraizamento e uma folha na parte basal do nó, e outra região de enraizamento e um perfilho na parte superior (Hoshikawa, 1993). As raízes originadas do nó, ditas nodais ou adventícias são consideradas eixos primários.

Em condições ótimas de crescimento, a estrutura morfológica e histológica de raízes seminais e nodais é similar (Harada & Yamasaki, 1993). O comprimento das raízes nodais depende da parte do eixo do colmo onde são formadas, e de sua posição no nó (inferiores ou superiores) (Zonta, 2003). Em geral, raízes originadas da diferenciação de primórdios imediatamente abaixo do nó, são de menor comprimento que as originadas acima do nó.

A duração do período de alongamento de cada eixo radicular é relativamente curto e se processa desde sua emergência até a emergência da 2ª ou 3ª folha superior. As taxas diárias de alongamento são variáveis, refletindo condições de crescimento, posição de sua formação e tipo de raiz (inferior ou superior) (Zonta, 2003). Em condições edafoclimáticas ideais, a taxa máxima de crescimento pode chegar a 30-40 mm dia⁻¹, onde raízes nodais com maiores taxas de alongamento mostram tendência a maior comprimento final, após a cessação do período de alongamento (Harada & Yamasaki, 1993).

2.4 Ramificação Lateral

As raízes finas (laterais) são a parte mais ativa do sistema radicular para a absorção de água, e nutrientes, constituindo maior parte do comprimento e superfície radicular em plantas herbáceas e lenhosas (Bauhus & Messier, 1999; Rewald et al., 2011). Essas raízes laterais originam-se da ramificação de um eixo principal, muitas vezes em ângulos retos a partir das raízes mãe e se diferenciam através da iniciação de um primórdio nas células do periciclo coincidindo com o aparecimento dos primeiros elementos vasculares localizados adjacentes aos vasos do floema (Rebouillat et al., 2009; Jansen et al., 2012). Este processo resulta em uma frente de ramificação que segue do ápice acima do meristema em direção a base (ramificação acrópeta), (Dubrovsky et al., 2000; Beeckman et al., 2001). No entanto, essa relação espacial com a diferenciação do tecido vascular não é um pré-requisito para iniciação de uma raiz lateral, pois algumas espécies, tais como *Marsilea*, *Ceratopteris*, *Eichornia*, *Pistia*, *Musa*, *Cucurbita* (Dubrovsky & Rost, 2003), este processo ocorre no meristema radicular, onde não há tecido vascular diferenciado .

Muito antes das primeiras divisões tornam-se visíveis na zona de diferenciação, os eventos de pré-iniciação ocorrem na região basal do meristema, uma zona de transição na ponta da raiz, onde a divisão celular diminui e aumenta de tamanho de célula (Beemster et al., 2003; Smet et al., 2007, 2008; De Rybel et al., 2010; Moreno-Risueño et al., 2010).

Em praticamente todos os aspectos da formação de raízes laterais, o hormônio auxina desempenha um importante papel. Apesar de outros hormônios estarem envolvidos, auxina é de longe o mais bem estudado quando se trata de desenvolvimento de raízes laterais. Auxina produzida nas folhas é transportada para a ponta de raiz através dos tecidos vasculares

(Overvoorde et al., 2010). Além da parte aérea, a região meristemática do sistema radicular também produz auxina (Ljung et al., 2005). Onde um equilíbrio complexo de biossíntese de auxina e transporte cria gradientes de auxina pontuais, necessários para a formação de raízes laterais (Benková et al., 2003).

No entanto, as raízes laterais também podem aparecer fora desta seqüência, diferenciando dos tecidos mais velhos geralmente perto da base da raiz principal.

O primórdio radicular secundário diferencia-se endogenamente a certa distância do ápice de um eixo nodal, a partir da atividade mitótica localizada em células do periciclo, exteriores aos vasos do protofloema, (Harada & Yamasaki, 1993). Em arroz, um eixo nodal completamente alongado, possui muitas ramificações laterais, dando um comprimento total de 6-15cm, e um colmo produtivo pode apresentar em média 28-30 raízes nodais alongadas. As raízes grossas podem ser discernidas das finas pelo fato de serem as únicas a ramificar subsequentemente, dando origem a raízes terciárias a densidade de raízes laterais não é uniforme ao longo do eixo primário, sendo seu número máximo, na parte média do mesmo (Harada & Yamasaki, 1993).

2.5 Absorção e Assimilação de Amônio

O nitrogênio é um dos nutrientes mais quantitativamente essencial para as plantas e um importante fator limitante no crescimento, produtividade e rendimento das culturas (Hirelet et al., 2007; Tabuchi et al., 2007; Sobolev et al., 2010; McAllister et al., 2012; Xu et al., 2012) . A maioria das plantas são capazes de absorver nitrogênio inorgânico disponível nos solos, quer na forma de nitrato ou de amônio. Após a absorção pela raiz, o nitrato pode ser reduzido nas raízes ou na parte aérea gerando amônio pela ação sequencial de nitrato e nitrito redutase.

A utilização de amônio pelas plantas tem maior eficiência energética comparada ao nitrato, pois o amônio é prontamente assimilável pelas enzimas GS/GOGAT, diferentemente do que ocorre com o nitrato, que necessita passar por uma etapa de redução até NH_4^+ com uso de poder redutor na forma de NAD(P)H e ferredoxina pelas enzimas Nitrato Redutase (NR) e Nitrito Redutase (NiR) respectivamente. Entretanto, quando absorvido, o amônio precisa ser rapidamente assimilado a esqueletos de carbono na produção de aminoácidos devido a sua toxidez (Bernard & Habash, 2009), fato que pode ser prejudicial à sua absorção em ambientes de baixa luminosidade e alta temperatura (Kant et al., 2011).

O amônio é assimilado em plantas em aminoácidos através do ciclo glutamina sintetase (GS)/glutamato sintase (GOGAT). Neste ciclo, a GS catalisa a conversão de amônio e glutamato a glutamina, a GOGAT catalisa a transferência do grupo amida de glutamina para 2-oxoglutarato formando duas moléculas de glutamato (Mifflin & Lea, 1980; Mifflin & habash, 2002; Fernandes & Souza, 2006; Masclaux - Daubresse et al., 2010. Onde uma das moléculas de glutamato podem ser reciclado como um substrato para a reação de GS (Fernandes & Souza 2006). Ambas as enzimas são encontradas em várias isoformas em diferentes tecidos das plantas. A GS1 citosólica (NADH- GOGAT), sendo responsável pela assimilação primária do amônio nas raízes e reassimilação de amônio liberado durante o catabolismo de aminoácidos (Tabuchi et al., 2007). Sendo os altos teores de aminoácidos principalmente glutamina no sistema radicular uma forma de controlar a expressão dos transportadores de amônio . Quando as raízes são nutridas com glutamina (gln) ou se usa inibidores da atividade da glutamina sintetase (GS) é possível observar que a gln na célula altera a transcrição dos genes AMT, (*Ammonium Transporter*) enquanto o NH_4^+ citosólico pode regular pós-transcricionalmente os genes AMTs (Rawat et al., 1999).

Segundo Patterson et al. (2010) a acidificação do apoplasto resultante da absorção de NH_4^+ e consequente bombeamento de H^+ pelas PM H^+ -ATPases atuaria como sinal para a expressão de genes relacionados com a absorção de NH_4^+ . Essa hipótese foi demonstrada

usando um inibidor específico da glutamina sintetase sulfoximina de metionina (MSX), que não permite a assimilação de NH_4^+ e não inibe a sua absorção. Os dois mecanismos afetam a resposta transcricional exercida pelo NH_4^+ , contudo, a expressão dos transportadores de NH_4^+ está diretamente relacionada com o status de N na raiz na forma de N-amino livre. A regulação da absorção de amônio pode ocorrer transcionalmente e os transcritos AMTs são fortemente dependentes do status de N da planta, mas em *Arabidopsis* o padrão é diferente para os diferentes membros desta família (Miller et al., 2007).

A expressão de alguns genes AMTs aumenta rapidamente logo no início da deficiência de N, enquanto outros podem aumentar só após uma deficiência muito prolongada (Loqué & Von Wirén, 2004). Experimentos “split-root” (experimentos com separação espacial das raízes de uma mesma planta em ambientes distintos) sugerem que a disponibilidade local e não o status de N da planta inteira é que regula a expressão de transportadores de amônio, diferente do observado para os transportadores de NO_3^- onde o status de N da planta inteira é que foi importante para tal regulação (Gansel et al., 2001).

Plantas de tabaco transformadas com um AMT de *Arabidopsis*, sob o controle do promotor 35S, mostrou aumento de 30% na absorção de NH_4^+ em cultivo hidropônico, quando comparado com o tipo selvagem (Yuan et al., 2007). Por outro lado, em solo suplementado com NH_4^+ como fonte de N, as plantas transformadas não mostraram crescimento ou absorção de NH_4^+ diferentes do tipo selvagem (Yuan et al., 2007).

Em *Arabidopsis* foi demonstrado que o gene *AtAMT1.3* está envolvido na emissão e crescimento de raízes laterais, uma característica até então conhecida para o NO_3^- (Lima et al., 2010). O *AtAMT1.1* que exerce a mesma função na absorção de NH_4^+ não está relacionado com a emissão e crescimento de raízes laterais (Sperandio et al., 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) utilizando três variedades de arroz, sendo uma melhorada, IAC-47 e duas variedades locais do Maranhão: Piauí e Manteiga, originárias de cultivos com baixa disponibilidade de nutrientes. Foi avaliado o comportamento das variedades de arroz: IAC-47, Piauí, e Manteiga quanto ao desenvolvimento, arquitetura e morfologia radicular, bem como a influencia desses parâmetros na absorção de nitrogênio e sua correlação com a expressão de genes que codificam os transportadores de alta afinidade de amônio. Estas variedades locais são adaptadas a condições de baixa fertilidade, apresentando melhores parâmetros de eficiência no uso do nitrogênio quando comparadas a variedades melhoradas (referencias). Entre esses parâmetros podem estar aqueles relacionados à morfologia e arquitetura radicular, sobretudo sob condições de baixa disponibilidade de nitrogênio.

As sementes de arroz foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos sob agitação e em seguida lavadas com água destilada. A seguir, as sementes foram germinadas na superfície de uma lamina d'água sustentadas por gaze até o 10º dia após a germinação (DAG). As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 12h/12h (luz/escuro), luminosidade de $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (fluxo de fótons fotossintéticos), umidade relativa do ar de 70% e temperatura 28°C/24°C (diurna/noturna), em solução de Hoagland & Arnon (1950) modificada a meia força iônica, contendo 0,2 mM N-NH₄⁺ em copos de 0,7 litros trocada a cada três dias, com duas plantas por copo e quatro repetições para cada variedade dentro de cada coleta. A primeira coleta foi realizada 24 (DAG), (Figura 1). Após esse período, metade das plantas foi transferidas para solução sem N onde permaneceram por sete dias, e as demais foram mantidas com a mesma concentração de amônio até o final do experimento. As plantas que se encontravam em solução sem N, até o 31º DAG, foram ressupridas com 0,2 mM de N-NH₄⁺ e mantidas até 38º DAG (Figura 1).

As coletas das plantas foram realizadas aos 24, 31 e 38 DAG para avaliar a morfologia do sistema radicular, massa de raiz e parte aérea, frações solúveis nitrogenadas, N-total, atividade da Glutamina sintetase e expressão gênica.

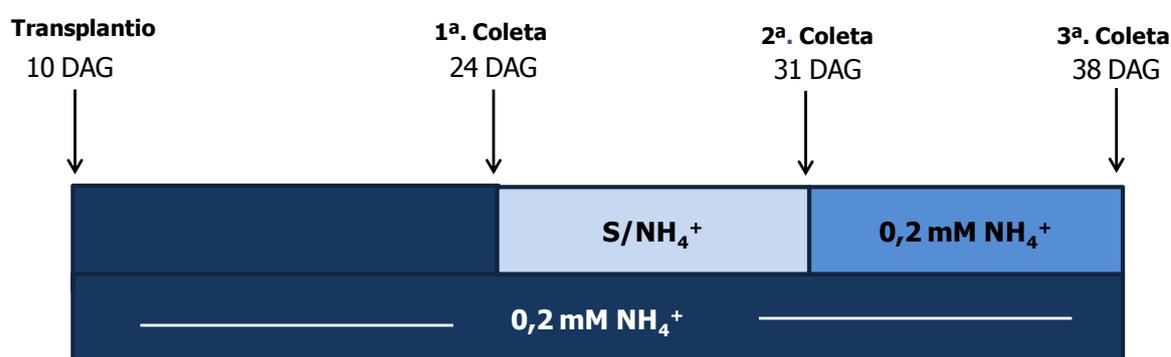


Figura 1. Condução do experimento com as variedades de arroz Piauí, Manteiga e IAC-47 em 0,2mM de N-NH₄⁺ ou sem N (S). DAG: dias após a germinação.

3.1 Análise das Frações Solúveis

Amostras de um grama de material coletado da parte aérea ou raízes foram homogeneizadas em etanol 80%, e após partição com clorofórmio (Fernandes, 1984) a fração solúvel obtida foi utilizada para a determinação dos teores de N-amino livre (Yemm & Cocking, 1955), N-NH₄⁺ (Felker, 1977), N-NO₃⁻ (Miranda 2001) e açúcares solúveis (Yemm & Willis, 1957).

3.2 Massa Seca e Análise do N-total

O material vegetal coletado foi pesado e colocado para secar a 65°C em estufa de ventilação forçada por 72h para obtenção da massa seca raiz e parte aérea. Após secagem o material foi triturado e usado para avaliação de N-total (Tedesco et al., 1998)

3.3 Avaliação da Expressão Gênica por RT-PCR

3.3.1 Extração de RNA total

Para extração de RNA total e posterior análise da expressão dos transportadores de amônio de alta afinidade e atividade de glutamina sintetase (GS), o sistema radicular foi seccionado em três partes: Parte superior (PS), Parte mediana (PM) e Parte inferior (PI) (Figura 2).

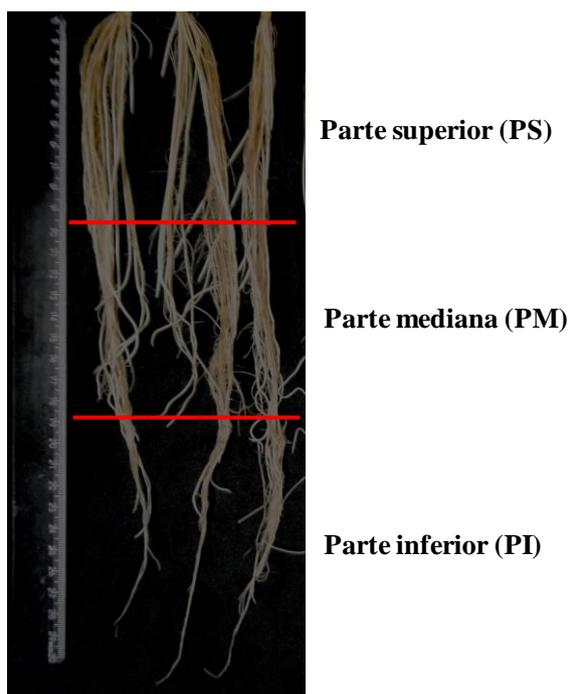


Figura 2. Critério para o corte do sistema radicular do arroz em três segmentos: Parte superior - PS; Parte mediana - PM e Parte inferior - PI.

O RNA total foi extraído segundo Gao et al. (2001) utilizando tampão NTES (0,2 M Tris-Cl pH 8,0; 25 mM EDTA; 0,3 M NaCl; 2% SDS). As amostras foram maceradas em N₂ líquido e homogeneizadas em uma mistura contendo 1 ml de tampão NTES e 700uL de solução fenol:clorofórmio (1:1). Após centrifugação a 12.000 x g por 10 minutos a 4°C o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. O RNA total foi precipitado pela adição de 1/10 volume de 2 M acetato de sódio pH 4,8 (NaOAc_{DEPC}) e 1 volume de isopropanol puro gelado. A seguir as misturas foram mantidas a -80 °C por 1 hora seguida de centrifugação a 12.000 x g por 20 min. O precipitado foi solubilizado em 0,5 mL de H₂O_{DEPC} e precipitado novamente pela adição de 0,5 mL de cloreto de lítio 4M pH 4,8 (LiCl_{DEPC}). Após centrifugadas a 12.000 x g por 10 minutos, o precipitado foi lavado com etanol 70% e dissolvido em 30uL de H₂O_{DEPC}. A qualidade do RNA extraído foi verificada espectrofotometricamente por meio das relações A₂₆₀/A₂₃₀ e A₂₆₀/A₂₈₀ e visualização em gel de agarose (1%) com brometo de etídio.

3.3.2 Síntese de cDNA e PCR em tempo real

O RNA total foi quantificado em duplicata no aparelho Thermo Scientific NanoDrop 2000c. Amostras de 1µg de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen) seguindo as recomendações do fabricante. A fita simples de cDNA foi sintetizada utilizando o kit “*High Capacity RNA-to-cDNA*” (*Life Technologies*) seguindo as instruções do fabricante.

Os iniciadores (primers) foram desenhados com o auxílio do programa Primer Express 3.0. A especificidade de cada primer foi analisada por alinhamento das seqüências no banco de dados (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e experimentalmente no fim da reação de PCR durante a curva de dissociação. Todos os primers foram específicos para os genes analisados.

As reações de PCR em tempo real foram realizadas em duplicata, utilizando o kit “SYBR® Green PCR Master Mix” (Applied Biosystems) de acordo com as recomendações do fabricante. A reação foi realizada da seguinte maneira: dez minutos a 95°C, quarenta ciclos de amplificação com 95 °C por 15 segundos e 60 °C por um minuto e finalmente a “curva de dissociação” com aumento progressivo de temperatura em 0,3°C de 60°C até 95°C, para verificar a especificidade da reação. Os genes de referencia utilizados para o cálculo da expressão gênica relativa foram o da actina, o da ubiquitina 5 e do fator de alongamento 1-α de arroz (*eEF1-α*) (Jain et al., 2006) (Tabela 1).

Tabela 1. Sequências dos iniciadores (*primers*) (“*forward* e *reverse*”) usados nas reações de PCR em tempo real para os genes dos transportadores de amônio (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*), actina (*OsAct11*), ubiquitina (*OsUBC5*) de arroz e do fator de alongamento 1-α (*eEF-1α*), e respectivos acessos nos bancos de dados TIGR e NCBI.

Gene	Primer Forward	Primer Reverse	Nº acesso
<i>OsAMT1.1</i>	5'-GGTCATCTTCGGGTGGGTCA-3'	5'-CGTGCCGTGTCAGGTCCAT-3'	AF289477
<i>OsAMT1.2</i>	5'-GAAGCATGCGCAGACA-3'	5'-GACGCCCAGACTGAACAGC-3'	AF289478
<i>OsAMT1.3</i>	5'-GCGAACGCGACGGACTA-3'	5'-GACCTGTGGGACCTGCTTG-3'	AF289479
<i>OsActin</i>	5'-TTATGGTTGGGATGGGACA-3'	5'-AGCACGGCTTGAATAGCG-3'	NM_197297
<i>OsUBC5</i>	5'-ACCACTTCGACCGCCACTACT-3'	5'-ACGCCTAAGCCTGCTGGTT-3'	AK061988
<i>eEF-1α</i>	5'-TTTCACTCTTGGTGTGAAGCAGAT-3'	5'-GACTTCCTCACGATTCATCGTAA-3'	AK061464

Foram utilizados “primers” desenhados por Duan et al. (2007) para os transportadores de amônio *OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*. A especificidade dos “*primers*” foi analisada por alinhamento das seqüências nos bancos de dados (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e experimentalmente ao fim da reação de PCR durante a “*curva de melting*” (dissociação). Todos os “*primers*” apresentaram especificidade para cada gene analisado. Como controle foi utilizado a variedade IAC-47 na primeira coleta, já na segunda e terceira coleta foram utilizadas como controle as três variedades utilizadas no experimento com suplementação constante de 0,2 mM N-NH₄⁺.

3.3.3 Atividade da Glutamina Sintetase

Amostras de raízes dos diferentes segmentos foram maceradas em nitrogênio e homogeneizadas em tampão de extração na proporção 3:1 (tampão : amostra). O tampão de extração foi composto por 50 mM de Tris-Cl pH= 8,0, 1 mM de EDTA, 1,5% de

polyvinylpolypirrolidone (PVPP), 10mM de dithiothreitol (DTT), 30% de glicerol e 1mM de phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF). O homogenato foi centrifugado a 14.000g durante 30 min e o sobrenadante (extrato protéico) armazenado no freezer - 80° C. O conteúdo de proteína foi determinado como descrito por Bradford (1976), usando albumina de soro bovino como padrão.

A atividade da Glutamina Sintetase (GS) foi realizada como descrito por Farden e Robertsen (1980). A atividade foi realizada em 500 uL de uma solução contendo 50 mM de Imidazol-HCl pH 7,5, 5 mM de hidroxilamina neutralizada com Tris, 20 mM de MgCl₂, 25 mM de L-glutamato, 5 mM de β-mercaptoetanol e 5 mM de ATP. O controle da reação foi realizado sem a adição de ATP no meio de reação. A reação foi iniciada pela adição de 50 µg de proteína já incluso nos 500 µL da reação e conduzida a 30° C durante 30 min. A reação foi paralisada pela adição de 350µL de uma solução composta por 4% (p/v) de ácido tricloroacético – TCA e 3,2% (p/v) de cloreto férrico anidro – FeCl₃ preparada em HCl 0,5N. O γ-glutamil monohidroxamato (GHD) foi usado como padrão e colorimetricamente determinado em λ=540 nm.

3.4 Aquisição das Imagens do Sistema Radicular

Após coletadas, as raízes foram armazenadas em álcool 50% e digitalizadas com auxílio de escâner de mesa (Epson Expression 10000XL) com resolução de 600 pontos por polegada (dpi; dots per inch) e salvas no formato TIF. Esta alta resolução se deve ao pequeno diâmetro das raízes, possibilitando uma melhor quantificação. Para facilitar o escaneamento e diluir o efeito de sobreposição das raízes, foi utilizado uma cuba de acrílico com uma lamina de água de aproximadamente 2 mm, sendo trocada a cada novo escaneamento.

Em seguida, as imagens foram analisadas com auxílio do programa Winrhizo^{Tim}, com escala previamente estabelecida com a mesma resolução das imagens para uma adequada determinação dos parâmetros morfológicos fornecidos pelo programa. Simultaneamente a cada imagem analisada no programa Winrhizo^{Tim} os dados foram salvos em um documento formato bloco de notas, gerado com a primeira imagem analisada. Ao final, este documento foi convertido para Excel para análise posterior dos dados.

Após a obtenção das imagens do sistema radicular, os parâmetros morfológicos analisados foram: comprimento, volume, área de superfície, número de pontas e bifurcações. Esses parâmetros foram avaliados nos tratamentos, sobre suplementação constante de 0,2 mM de N-NH₄⁺, sem N-NH₄⁺ e ressuprimento com 0,2 mM de N-NH₄⁺, simulando o comportamento das variedades locais do estado do Maranhão, Manteiga e Piauí e da variedade melhorada IAC-47 diante da sazonalidade e baixa disponibilidade de nitrogênio. Além disso, foram montados rizotrons como mostrado na (Figura 3A e B) para avaliar o arranjo espacial e temporal do sistema radicular sobre uma condição de baixa disponibilidade de nitrogênio. Para montagem do rizotron foram utilizadas duas lâminas de vidro medindo 30 cm de largura e 50cm de comprimento. Entre as lâminas foram utilizados espaçadores de madeira plastificados com 0,5cm de espessura onde foi colocado o substrato. O substrato foi composto de uma mistura de areia, vermiculita e terra preta, na proporção 2:1:0.25, previamente lavadas com água destilada e autoclavada por 4 horas.

Após a montagem do rizotron, três sementes de cada variedade foram colocadas para germinar, após a germinação duas plântulas foram eliminadas permanecendo a que apresentava melhor desenvolvimento para cada variedade. Após o desbaste os rizotrons foram mantidos inclinados de forma a favorecer o desenvolvimento do sistema radicular na fase inferior dos rizotrons possibilitando a visualização do desenvolvimento do sistema radicular (Figura 3C e D). Sendo molhados com água destilada em dias alternados, onde 20 DAG, as plantas foram tratadas com 50 ml da solução Hoagland & Arnon (1950) modificada a meia

força iônica, contendo 0,2 mM N-NH₄⁺, após dois dias as plantas voltaram a receber somente água destilada, sendo analisadas 40 DAG.

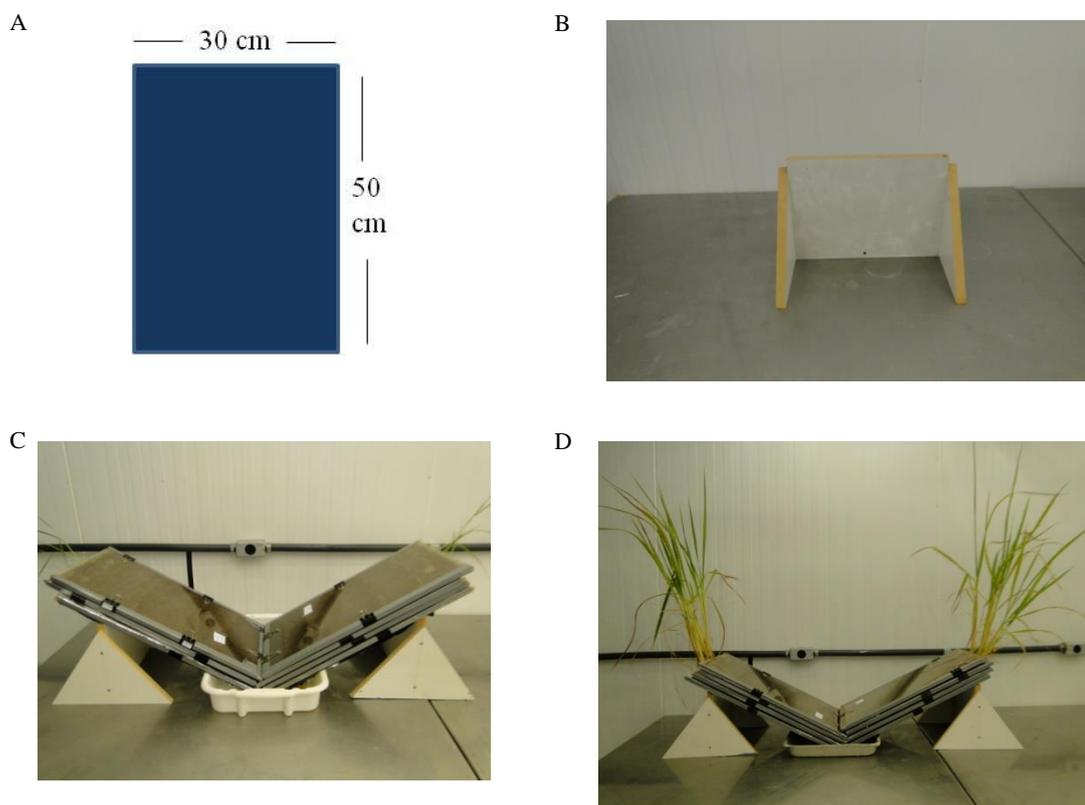


Figura 3. Esquema de construção do rizotron e cultivo das três variedades de arroz por até 40 dias após a germinação. Onde **A** são as dimensões do rizotron; **B** suporte com 20 cm de altura; **C** rizotrons já montados com plantas de arroz em pleno desenvolvimento e **D** plantas de arroz com aproximadamente 40 dias após a germinação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Massa Seca das plantas de arroz

Na Tabela 2 são apresentados os dados referentes a massa fresca de folha, bainha e raiz das três variedades de arroz utilizadas no experimento. Nota-se, que as variedades Manteiga e Piauí apresentaram ao longo da segunda e terceira coleta massa de folha, bainha e raiz significativamente menor que a variedade IAC-47 no tratamento constante (Tabela 2). Estes resultados estão de acordo com os observados em trabalhos anteriores, que mostram que durante o início do período vegetativo (primeiros 30 dias), a variedade Piauí apresenta menor massa quando comparada à variedade IAC-47 (Garrido et al., 2008; Santos et al., 2007). No entanto, trabalhos realizados com essas variedades mostram que com o avanço no desenvolvimento, plantas da variedade Piauí passam a apresentar maior massa, devido ao maior desenvolvimento da parte aérea (plantas mais altas), comparada a variedade IAC-47 (Santos et al., 2009; Souza et al., 1998; Bucher 2011).

Tabela 2. Massa fresca de folha, bainha e raiz das variedades IAC-47, Manteiga e Piauí, submetidas a diferentes suprimentos com N-NH₄⁺.

Coleta Tratamen- tos	24(DAG)			31(DAG)			38(DAG)		
	IAC-47	Manteiga	Piauí	IAC-47	Manteiga	Piauí	IAC-47	Manteiga	Piauí
Massa de Raiz (g/vaso)									
Const.	0.58 AB	0.50 B	0.69 A	1.37 Aa	1.08 ABa	0.85 Ba	2.32 Aa	1.81 Ba	1.91Aba
RES							1.57 b	1.49 b	1.17 b
S/N				0.74 Ab	0.85Ab	0.73Ab			
Massa de folha (g/vaso)									
Const.	0.45 A	0.34 B	0.44 A	1.06 Aa	0.87 Ba	0.84 Ba	1.57 Aa	1.19 Ba	1.13 Ba
RES							1.03 Ab	0.91 Ab	0.80 Bb
S/N				0.70 Ab	0.61 Ab	0.64 Ab			
Massa de bainha (g/vaso)									
Const.	0.67 A	0.49 B	0.56 B	1.53 Aa	1.27 Ba	1.32 Ba	2.64 Aa	1.94 Ba	1.81 Ba
RES							1.67 Ab	1.39 Bb	1.26 Bb
S/N				0.97 Ab	0.84 Ab	0.81 Ab			

Const. = constante com 0,2mM de NH₄⁺; RES.= ressuprimento com 0,2mM de NH₄⁺ a partir da segunda coleta; S/N = sem NH₄⁺ entre o 24° e 31° dia após a germinação (DAG). Letras maiúsculas distintas na linha e letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Entre a primeira e segunda coleta, período em que as plantas foram submetidas ao período de privação de N, as variedades Manteiga e IAC-47 apresentaram um incremento relativo de massa de 70 e 48% respectivamente (Tabela 2). Esse comportamento da variedade Manteiga tem sido verificado como uma resposta típica das variedades locais do estado do Maranhão à baixa disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente N e P. Em *Arabidopsis* essa resposta envolve os transportadores de N, que além de absorção de N, parecem controlar a redistribuição de AIA nas raízes (Remans et al., 2006; Scheible et al., 1997; Linkhor et al., 2002). Por outro lado, quando as plantas que estavam em uma condição sem N-NH₄⁺ aos 31DAG são ressupridas com solução contendo 0,2 mM de N-NH₄⁺ até 38DAG, pode ser observada a inversão entre a variedade Manteiga e IAC-47 onde a variedade melhorada apresenta maior incremento de massa fresca de raiz mostrando-se responsiva a disponibilidade de N-NH₄⁺ na solução.

O maior investimento relativo de massa de raiz da variedade de arroz Manteiga durante o período de privação de N, resultou em aumento da sua razão raiz/parte aérea (Tabela 3). Essa característica pode ser resultado de uma maior capacidade de acúmulo de N na raiz, favorecendo um sistema radicular mais ramificado com maior desenvolvimento de raízes laterais e pêlos radiculares, proporcionando maior volume de solo a ser explorado e beneficiando maior absorção de nutrientes. Ao avaliar dentro da segunda coleta 31 DAG, nos diferentes tratamentos, pode ser observado que a variedade IAC-47 apresenta comportamento contrário as variedades locais do estado do Maranhão, com maior razão raiz:parte aérea no tratamento constante, diferentemente das demais variedades que apresentaram incremento na razão raiz:parte aérea na deficiência de nitrogênio (Tabela 3).

A Teoria do equilíbrio funcional sugere que as plantas modulam a alocação de metabólitos entre os tecidos para adquirir recursos que mais limitam o crescimento (Brouwer, 1983). Esta teoria sugere que as plantas podem se adaptar para produzir determinada razão raiz: parte aérea, sendo deslocada para equilibrar recursos os que mais limitam o crescimento das plantas (Shiple & Meziane, 2002). As variedades Piauí e Manteiga (Tabela 4) apresentaram maior número de pontas e bifurcações quando comparado a variedade IAC-47 após um período de privação de N (31DAG), podendo indicar um maior número de raízes laterais. Plantas com maior comprimento de raiz por unidade de massa (maior desenvolvimento de raízes finas) favorece um aumento de área e superfície em contato com a solução do solo e maior volume de solo explorado (Hernández et al., 2010; Comas et al., 2012). Assim, a diminuição do diâmetro da raiz tem sido proposta como uma característica importante para aumentar a produtividade e aquisição de água pelas plantas sobre condições ambientais adversas (Wasson et al., 2012).

Tabela 3. Razão Raiz: Parte Aérea das variedades, IAC-47, Manteiga e Piauí, submetidas a diferentes suprimentos com $N-NH_4^+$.

Coleta Tratamen- tos	24(DAG)			31(DAG)			38(DAG)		
	IAC- 47	Manteiga	Piauí	IAC- 47	Manteiga	Piauí	IAC -47	Manteiga	Piauí
Const.	0,52 B	0,61AB	0,69A	0,53Aa	0,50 Ab	0,39Bb	0,55Aa	0,58 Aa	0,65Aa
RES							0,58Aa	0,65 Aa	0,57Aa
S/N				0,45Bb	0,59 Aa	0,49ABa			

Const. = constante com 0,2mM de NH_4^+ ; RES.= resupridas com 0,2mM de NH_4^+ a partir da segunda coleta; S/N = sem NH_4^+ entre 24° e 31° dia após a germinação (DAG). Letras maiúsculas distintas na linha e letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Arquitetura e Morfologia Radicular

As plantas de arroz submetidas a condições de baixa disponibilidade de NH_4^+ apresentaram maior desenvolvimento de raízes laterais (Figura 4). Segundo Lopez-Bucio et al. (2003), nitrogênio, fósforo, ferro e enxofre foram relatados como os nutrientes que mais alteram o desenvolvimento pós embrionário das raízes, e portanto, a arquitetura e morfologia do sistema radicular. Celis-Aramburo et al. (2011) observaram em plantas de pimenta (*Capsicum chinense*) um aumento no crescimento de raízes laterais quando submetidas a baixas concentrações de NH_4^+ . Estando de acordo com a (Figura 4), onde plantas de arroz submetidas a condições de baixa disponibilidade de NH_4^+ apresentaram maior desenvolvimento de raízes laterais.

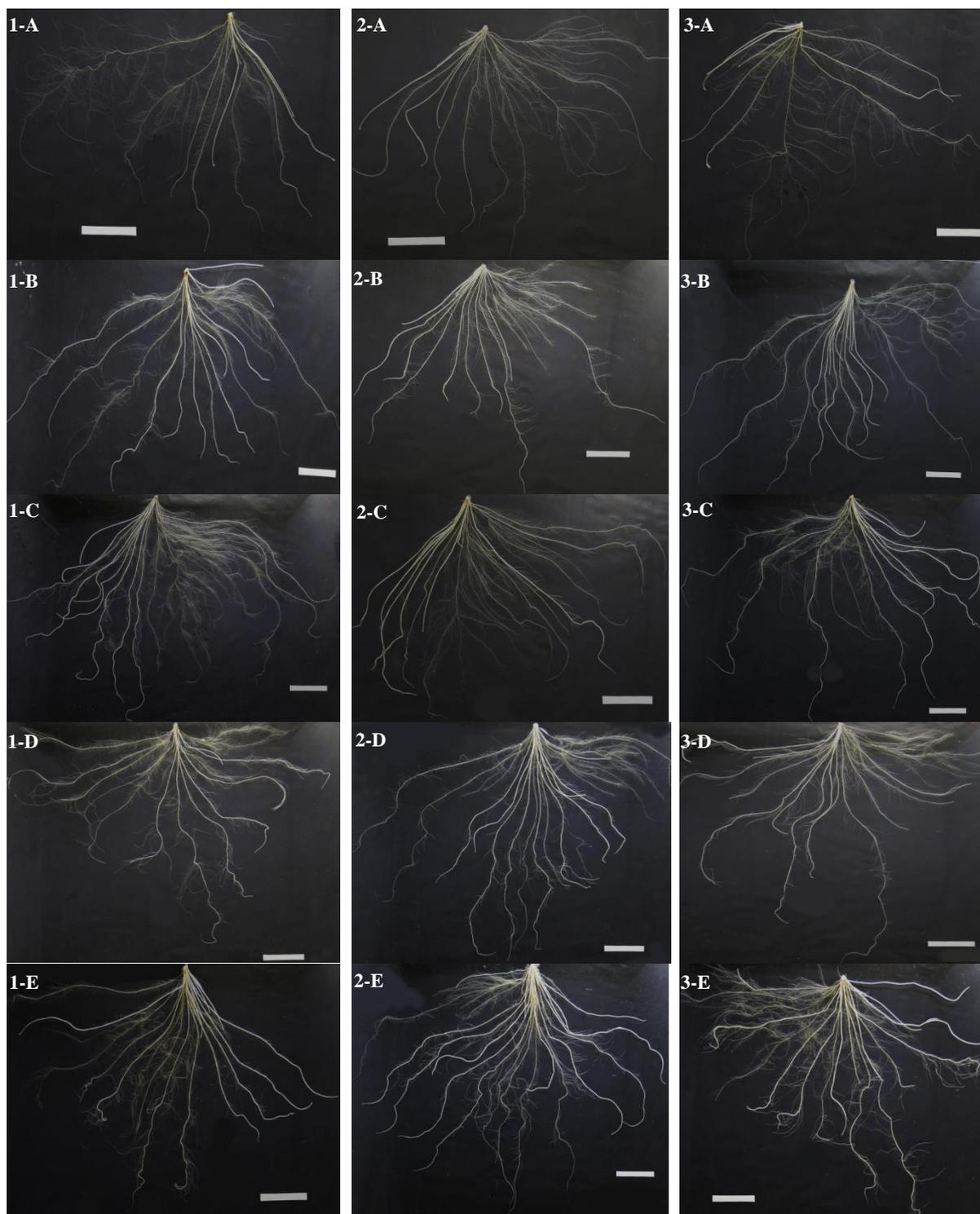


Figura 4. Imagens do sistema radicular das três variedades de arroz: **1** Piauí, **2** Manteiga e **3** IAC-47. A letra **A** refere-se a 1ª coleta 24 (DAG); **B** e **C** a 2ª coleta 31 (DAG), onde **B** são as plantas no tratamento constante de N e **C** plantas sem amônio; **D** e **E** correspondem a 3ª coleta 38 (DAG), onde **D** são plantas ressupridas com N-NH_4^+ e **E** as que permaneceram com N constante. Escala de 5 cm.

Diferente do que ocorre quando sob deficiência de fósforo, as plantas de arroz não apresentam grandes variações no comprimento da raiz sob deficiência de N (Linkohr et al., 2002; Zhang et al., 1999; Zhang & Forde, 1998). Por outro lado, há grande variação no

comprimento das raízes laterais (Figura 4). Zhang & Forde (1998) observaram aumento de 300% no crescimento das raízes laterais de *Arabidopsis* quando reduziram a concentração de NO_3^- de 1 para $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$. Após o período de privação de N, houve maior incremento relativo dos parâmetros morfológicos na variedade Manteiga que nas variedades IAC-47 e Piauí (Tabela 4).

O aumento do alongamento, número de raízes laterais e da densidade de pêlos radiculares sob deficiência de N pode incrementar significativamente o massa seca das raízes (Tabela 2), como observado por (Anandacoomaraswamy et al., 2002) em plantas de chá (*Camellia sinenses*). No entanto, maior aumento em número e comprimento de raízes laterais e pêlos radiculares ocorre quando a raiz está sob limitação de N, e em seguida encontra regiões do solo ricas nesse nutriente.

Tabela 4. Parâmetros Morfológicos das variedades IAC-47, Manteiga e Piauí, submetidas a diferentes tratamentos com N-NH_4^+ .

Coleta	Tratamento	Variedade	Comp. mm	A. Sup. mm^2	Volume mm^3	Pontas	Bifurcações
1	0,2 mM NH_4^+	IAC-47	24438,54 B	18413,05 AB	1110,76 AB	13869,75 B	8223,25 B
		Mant	20965,63 B	15044,46 B	860,27 B	13003,59 B	7476,50 B
		Piauí	31007,24 A	23224,67 A	1259,59 A	16275,66 A	9126,66 A
2	0,2 mM NH_4^+	IAC-47	47492,27 Aa	36681,24 Aa	2296,57 Aa	25737,25 Aa	16560,00 Aa
		Mant	36464,04 Bb	28819,80 Bb	1867,67 Aba	19124,25 Bb	13282,50 Bb
		Piauí	34096,45 Bb	27053,57 Bb	1626,22 Bb	20551,66 Bb	14097,00 Bb
	S/ NH_4^+	IAC-47	39422,04 Bb	29721,44 Ab	1829,15 Ab	21345,75 Bb	13465,75 Bb
		Mant	46082,65 Aa	32153,66 Aa	1880,34 Aa	28574,59 Aa	16284,25 Aa
		Piauí	43187,64 Aa	31452,34 Aa	1865,49 Aa	27081,25 Aa	16180,00 Aa
3	0,2 mM NH_4^+	IAC-47	76341,39 Aa	58651,82 Aa	3631,03 Aa	32527,75 Aa	25375,50 Aa
		Mant	56275,34 Bb	45346,78 Ba	2562,20 Ba	36570,75 Aa	19755,75 Ba
		Piauí	50888,68 Ba	38387,89 Ba	1994,09 Ba	33380,00 Aa	19182,50 Ba
	R/ NH_4^+	IAC-47	63021,62 Ab	46875,12 Ab	2822,45 Ab	33397,50 Aa	22587,50 Ab
		Mant	62846,99 Aa	42032,79 Aa	2514,93 ABa	36423,50 Aa	19784,50 Ba
		Piauí	49953,11 Ba	34635,72 Bb	2110,24 Ba	28882,33 Bb	18818,33 Ba

Na primeira coleta, valores seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para segunda e terceira coleta, valores seguidos de mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem entre si para as variedades dentro de cada tratamento (Tukey $p < 5\%$). Valores seguidos de mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si para cada variedade nos diferentes tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Comp. Comprimento; A. Sup. Área superfície.

Sabe-se que a forma de N disponível para as plantas e sua concentração regulam a arquitetura da raiz (Marschner, 1995). Uma fonte localizada de amônio estimula principalmente a iniciação de raízes laterais (Lima et al., 2010), enquanto que o nitrato promove fortemente o alongamento das raízes laterais (Zhang et al., 1998). Plantas de arroz da variedade Manteiga apresentaram arquitetura radicular diferenciada quando cultivadas em rizotron, apresentando maior densidade de raiz laterais (Figura 5B, E e H), observação que pode ser confirmada nos parâmetros morfológicos mostrados na (Tabela5). Onde incremento no comprimento do sistema radicular da variedade Manteiga esta associado a maior bifurcação, proporcionando um maior volume de solo a ser explorado, sendo um indicativo que sobre condição de déficit nutricional, variedades oriundas de regiões de baixa fertilidade natural dos solos, tendem a investir em crescimento radicular como uma resposta a baixa disponibilidade de nutrientes no solo.

Tabela 5. Parâmetros Morfológicos das variedades IAC-47, Manteiga e Piauí cultivadas no rizotron.

Variedade	Comp. mm	A. Sup. mm ²	Volume mm ³	Pontas	Bifurcações
IAC-47	28895,09 B	36314,07 B	3711,84 B	18922,50 B	37325,75 B
Mant.	47317,24 A	55271,46 A	5291,31 A	31147,25 A	59154,75 A
Piauí	39790,42 AB	48710,40 AB	4820,89 AB	25876,50AB	45217,00 AB

Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as variedade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.. Comp. Comprimento; A. Sup. Área superficial

A arquitetura de raiz é um fator preponderante para melhorar a eficiência de absorção de nitrogênio (Lynch, 2013). Manutenção da atividade de raiz durante o período de enchimento de grãos pode aumentar o teor de N nos grãos e a eficiência de uso de nitrogênio (EUN) (Bogard et al., 2010). Maior expressão da citocinina oxidase/desidrogenase (CKX) em raízes de *Arabidopsis* e tabaco, causa uma diminuição dos teores de citocinina na raiz, um regulador negativo do crescimento radicular, e resulta em até 60% de aumento no alongamento de raiz primária, ramificação de raiz, e ganho de biomassa radicular, enquanto que o crescimento e o desenvolvimento de parte aérea não foi alterado (Werner et al., 2010).

A arquitetura radicular das plantas terrestres é um ponto crítico para a absorção de água e nutrientes do solo, exibindo uma considerável plasticidade em resposta a sinais ambientais e de desenvolvimento.

Durante o desenvolvimento pós-embrionário, o crescimento da raiz primária depende de dois processos de desenvolvimento fundamentais: divisão celular na zona meristemática do ápice da raiz, e o alongamento das células na zona de alongamento logo acima do meristema radicular (Scheres, Benfey & Dolan, 2002). Li et al. (2010) trabalhando com fornecimento local de 0-60 mM N-NH₄⁺ em raízes de *Arabidopsis*, verificaram que o fornecimento localizado na ponta da raiz principal ocasionava inibição do crescimento do sistema radicular, porém quando o suprimento era feito em todo comprimento da raiz exceto na ponta, pouca inibição do crescimento ocorreu, mesmo quando a concentração de N-NH₄⁺ foi aumentado para 120 mM, fato atribuído a inibição na divisão de células do meristema e / ou do tamanho das células do meristema devido a alta concentração de amônio no ápice da raiz.

Para comprovar que a inibição do alongamento celular era de fato provocada pelo amônio e não por produtos oriundos de sua assimilação, foi adicionado ao meio de crescimento (MSX), um inibidor da Glutamina sintetase (GS). No entanto, a aplicação de (MSX) ligeiramente aumentada, porém não resgatar o crescimento radicular apoiando a ideia de que o próprio N-NH₄⁺ provoca a inibição de raízes primárias, independentes dos processos envolvidos na assimilação do amônio (Li et al., 2010). Este fato pode estar associado a capacidade diferenciada de espécies e variedades em perceber o nutriente mesmo em concentrações mínimas na solução do solo e absorve-lo. Miranda, (2010) trabalhando com variedades contrastantes quando ao uso de nitrogênio verificou que a variedade de arroz Manteiga apresentava um menor valor de C_{min} para NH₄⁺, indicando uma maior adaptação a baixas concentrações de N-NH₄⁺ na solução do solo, sendo capaz de absorver o N-NH₄⁺ em concentração inferior as demais variedades.

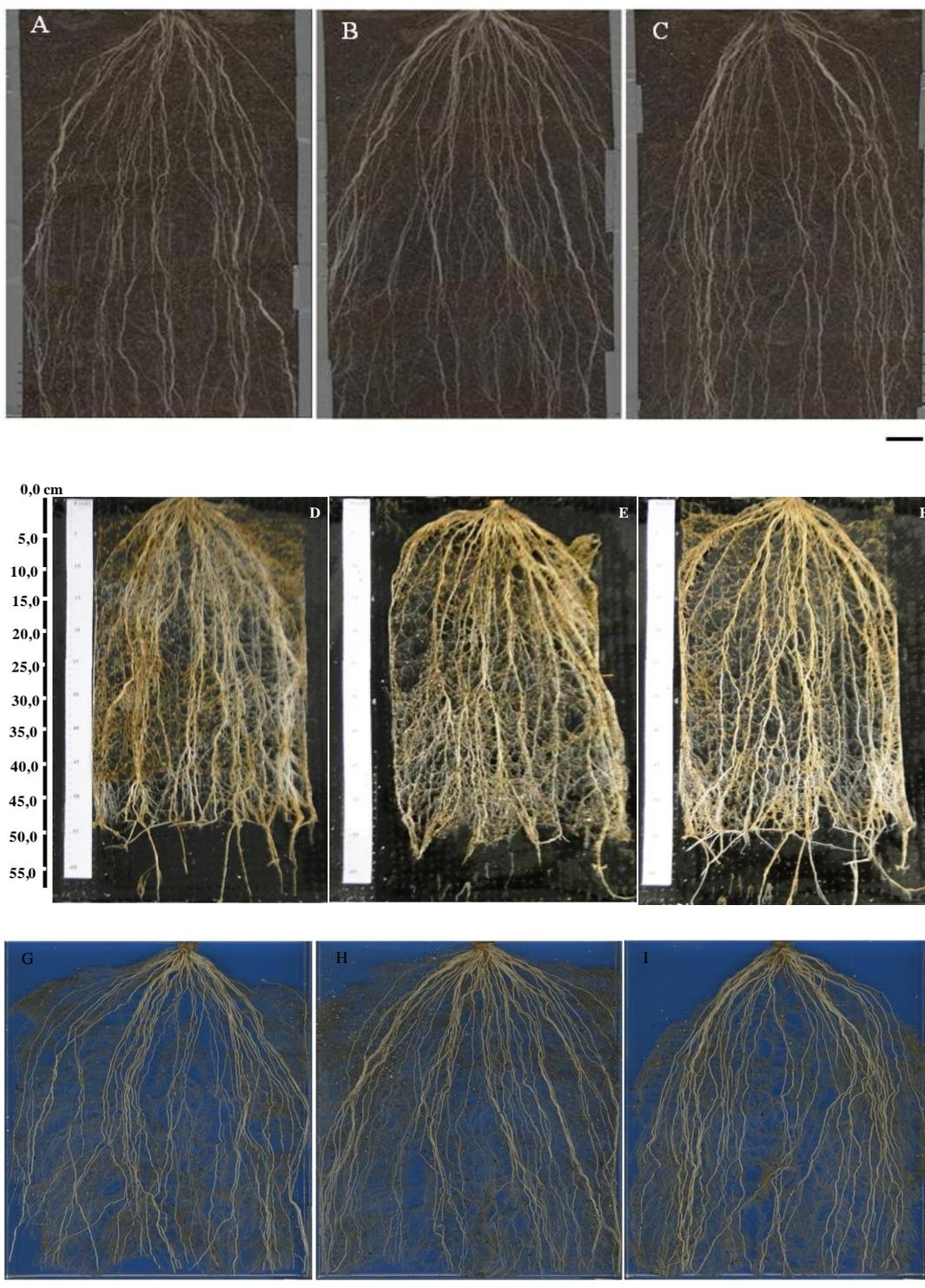


Figura 5. Arquitetura radicular das três variedades IAC-47 (Figuras A,D e G), Manteiga (B, E e H) e Piauí (C, F, e I). Cultivadas no rizotron por 40 dias A, B, C, após este período o sistema radicular foi lavado em uma cama de pregos (Figuras D, E e F). Em seguida escaneadas no programa Winrhizo (Figuras G, H e I). Fotos representativas de 4 repetições, escala 4cm.

4.3 Metabolismo de Plantas de Arroz

Os baixos teores de nitrato observados nas três variedades nas diferentes partes das plantas ao longo do experimento não apresentam relevância biológica (Figura 6).

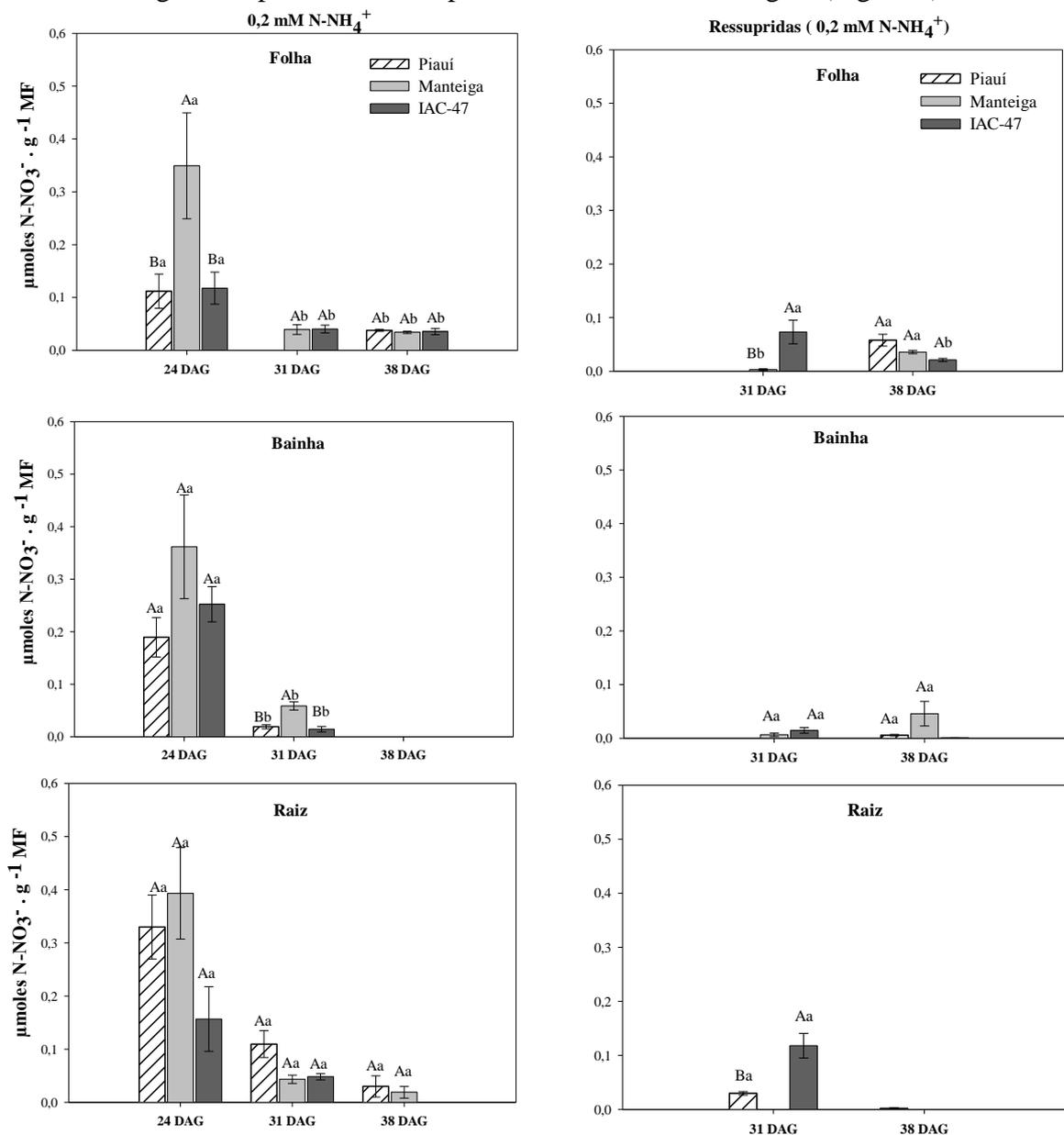


Figura 6. Teores de Nitrato observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de N-NH₄⁺ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período, ressupridas com 0,2 mM de N-NH₄⁺. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Podem ser observados maiores teores de N-NH₄⁺ nas folhas das variedades locais do Maranhão quando cultivadas sobre uma condição de suprimento constante com 0,2 mM de N-

NH_4^+ e ressurgimento com a mesma dose de N-NH_4^+ (Figuras 7A e B). Esse resultado indica que as variedades locais possuem maior capacidade de absorção sob baixa disponibilidade ou disponibilidade sazonal de nitrogênio no solo. Esse comportamento das variedades locais pode ser uma resposta adaptativa a ambientes com baixo suprimento ou suprimento transitório de N, que frequentemente ocorre no Maranhão, região de origem dessas variedades.

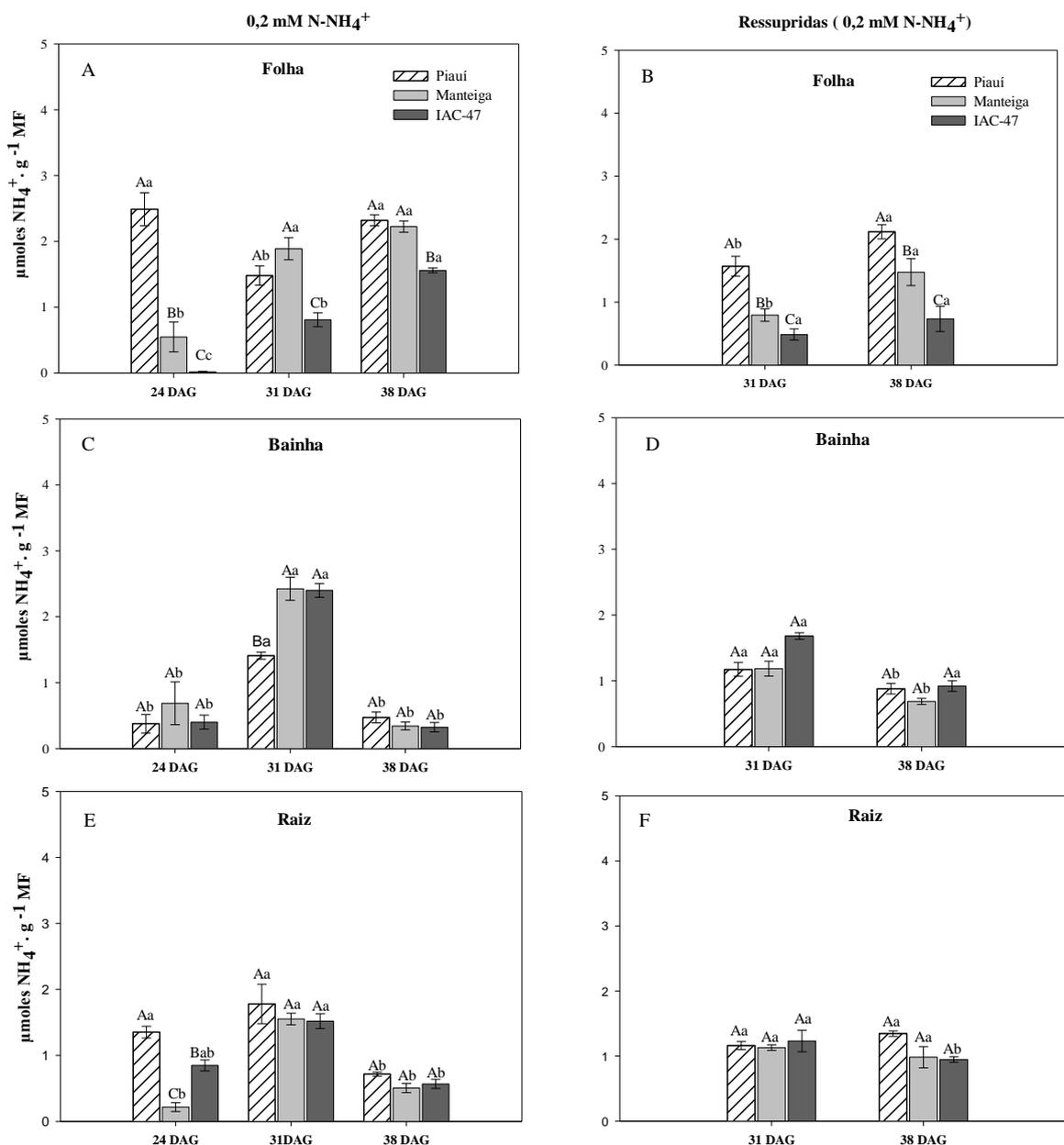


Figura 7. Teores de Amônio observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de N-NH_4^+ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de N-NH_4^+ . Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O acúmulo de carboidratos nas folhas pode ocorrer como resultado de uma deficiência de N (Scheible et al., 1997; Scheible et al., 2004; Remans et al., 2006; Hirai, et al. 2004) e fósforo (Cakmak, et al. 1994; de Groot, et al., 2003). Resultam em acúmulo de carboidratos nas folhas (figura 9A e B), proporcionando altos níveis de carbono alocados para as raízes e um aumento da razão raiz:parte aérea (Tabela 3). A deficiência de N e P afeta em vários níveis a fotossíntese, metabolismo de açúcares e a partição de carboidratos entre os tecidos fonte e dreno. Ao contrário da deficiência de K (Cakmak, et al. 1994; Zhao et al. 2001) e Mg (Cakmak et al. 1994; Hermans & Verbruggen, 2005) que embora ocasionem acúmulo de açúcares, não promovem aumento da massa radicular.

Os maiores teores de N-amino observados nas folhas das variedades locais do Maranhão sob suplementação constante de nitrogênio difere significativamente da variedade melhorada IAC-47 (Figura 8A).

Após o ressuprimento, aos 38DAG, a variedade Piauí apresentou maiores teores de N-amino, correlacionando-se com os teores de amônio descritos anteriormente, indicando maior eficiência de absorção de nutrientes das variedades locais quando sob condições de baixa disponibilidade de N. Isso pode ter ocorrido em função da folha ser caracterizada como um sítio de intensa atividade metabólica.

Segundo Ferraz Jr. (1993), a síntese de N-amino nas folhas requer esqueletos de carbono, produzidos pela fotossíntese, os quais são usados tanto para a incorporação dos grupamentos amínicos, quanto para a geração de energia no processo respiratório. Quando passam por um período de fome de nitrogênio as variedades Piauí e Manteiga sobressaem à IAC-47, mostrando alta capacidade adaptativa aliada a alterações morfológicas do sistema radicular que resultam maior volume de solo a ser explorado (Figura 5).

A análise da interação variedade x tratamento revela maiores teores de N-amino livre nas plantas com suplementação constante de $N-NH_4^+$ das variedades locais do Estado do Maranhão (Figura 9A). Na bainha, o comportamento é similar ao encontrado nas folhas, onde as variedades Manteiga e Piauí apresentaram maiores teores de N-amino quando comparado com a variedade melhorada IAC-47 (Figura 9C). Já nas raízes, não são observadas diferenças entre as variedades ao longo das três coletas, tanto nas plantas sobre suplementação constante (Figura 9E), como nas plantas que receberam o ressuprimento (Figura 9F).

Alguns trabalhos mostram que a síntese e interconversão de aminoácidos são de grande importância para o desenvolvimento de sementes (Seebauer et al., 2004; Cañas et al., 2009). Portanto, esse comportamento de variedades locais de arroz pode indicar uma maior capacidade de absorção de nutrientes, quando em baixa disponibilidade e/ou uma maior capacidade de remobilização de N, uma vez que os teores de N-amino observados, principalmente nas folhas, podem ser resultado da síntese de aminoácidos para remobilização a partir das reservas de proteínas existentes nos tecidos.

Acompanhando os resultados de N-amino, as variedades locais apresentaram maiores teores de açúcares solúveis no tratamento constante com 0,2 mM de $N-NH_4^+$ na segunda coleta, (31DAG), diferindo significativamente da variedade melhorada (Figura 9A). As variedades locais mantiveram essa característica após um período de 7 dias sem N, aos 31 DAG (Figura 9B). Já nas plantas ressupridas com 0,2 mM $N-NH_4^+$, aos 38 DAG, apenas a variedade Piauí manteve os teores a açúcares observados na segunda coleta, diferindo significativamente das demais variedades (Figura 9B).

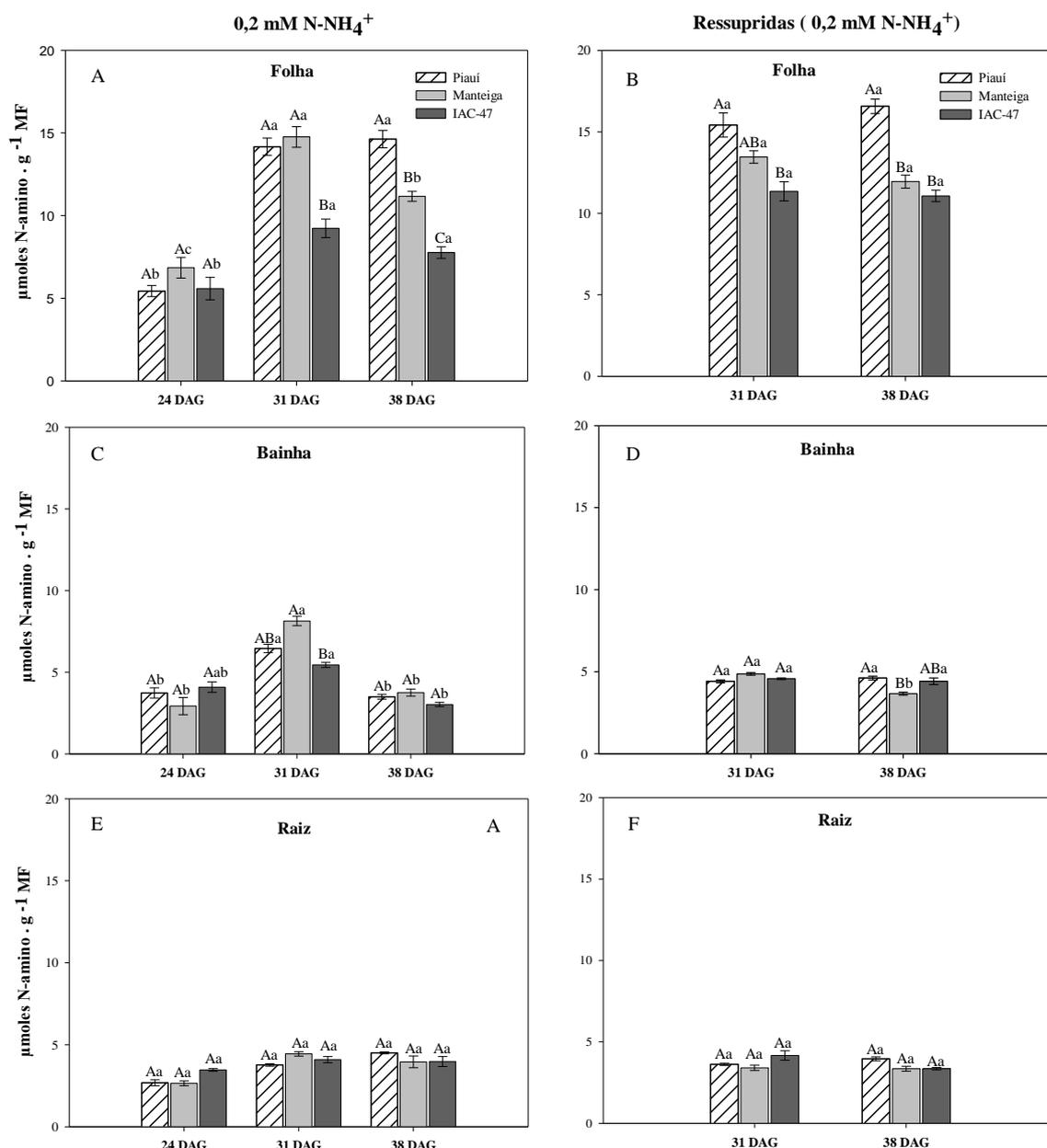


Figura 8. Teores de N-amino observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de N-NH₄⁺ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de N-NH₄⁺. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na bainha, não houve diferença significativa dentro e entre a primeira e terceira coletas para as três variedades. Na segunda coleta, as plantas da variedade IAC-47 sobre suplementação constante, apresentaram maiores valores de açúcares na bainha, quando comparado com a variedade Piauí (Figura 9C), correlacionando-se com os menores valores de N-amino observados nesta variedade nas folhas (Figura 8A). Os açúcares solúveis podem ser considerados como energia prontamente disponível para os processos celulares (Fernandes,

1984) e seus teores na célula podem variar em função da atividade metabólica. Além de fonte de energia, os açúcares solúveis são fonte de esqueletos de carbono para a síntese de ácidos orgânicos para assimilação do nitrogênio absorvido (Bucher, 2007). O que indica menor eficiência em realocar metabolitos de órgãos fonte para drenos da variedade melhorada IAC-47 comparado às variedades locais do Piauí e Manteiga. Nas raízes não houve diferença significativa entre as variedades dentro de cada coleta e entre as coletas (Figura 9E e F).

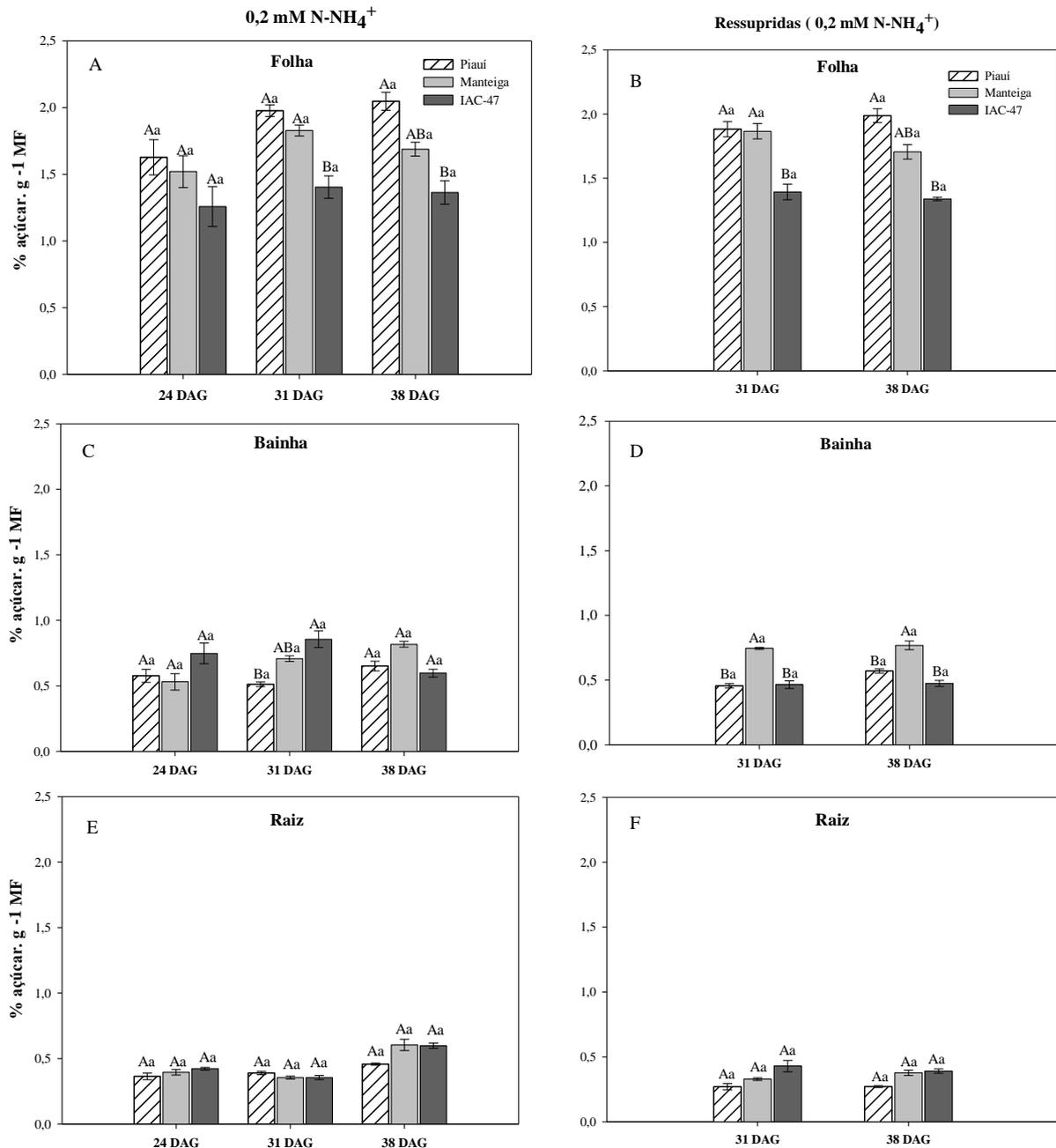


Figura 9. Teor Açúcar observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC- 47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de N-NH₄⁺ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de N-NH₄⁺. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os maiores teores de N total nas três variedades na segunda coleta sobre suprimento constante de $N-NH_4^+$ nas folhas pode estar relacionado ao estágio de desenvolvimento das plantas, onde na terceira coleta, aos 38DAG, pode ser observada redução no N-total (Figura 10A). Aos 38 DAG, as plantas mostravam folhas amareladas, indício de redução no N total. Não foram observadas diferenças significativas entre as três variedades, nas folhas, bainhas e raízes (Figuras 10B, D e E) e nos tratamentos sem N (31DAG) e ressuprimento (38DAG).

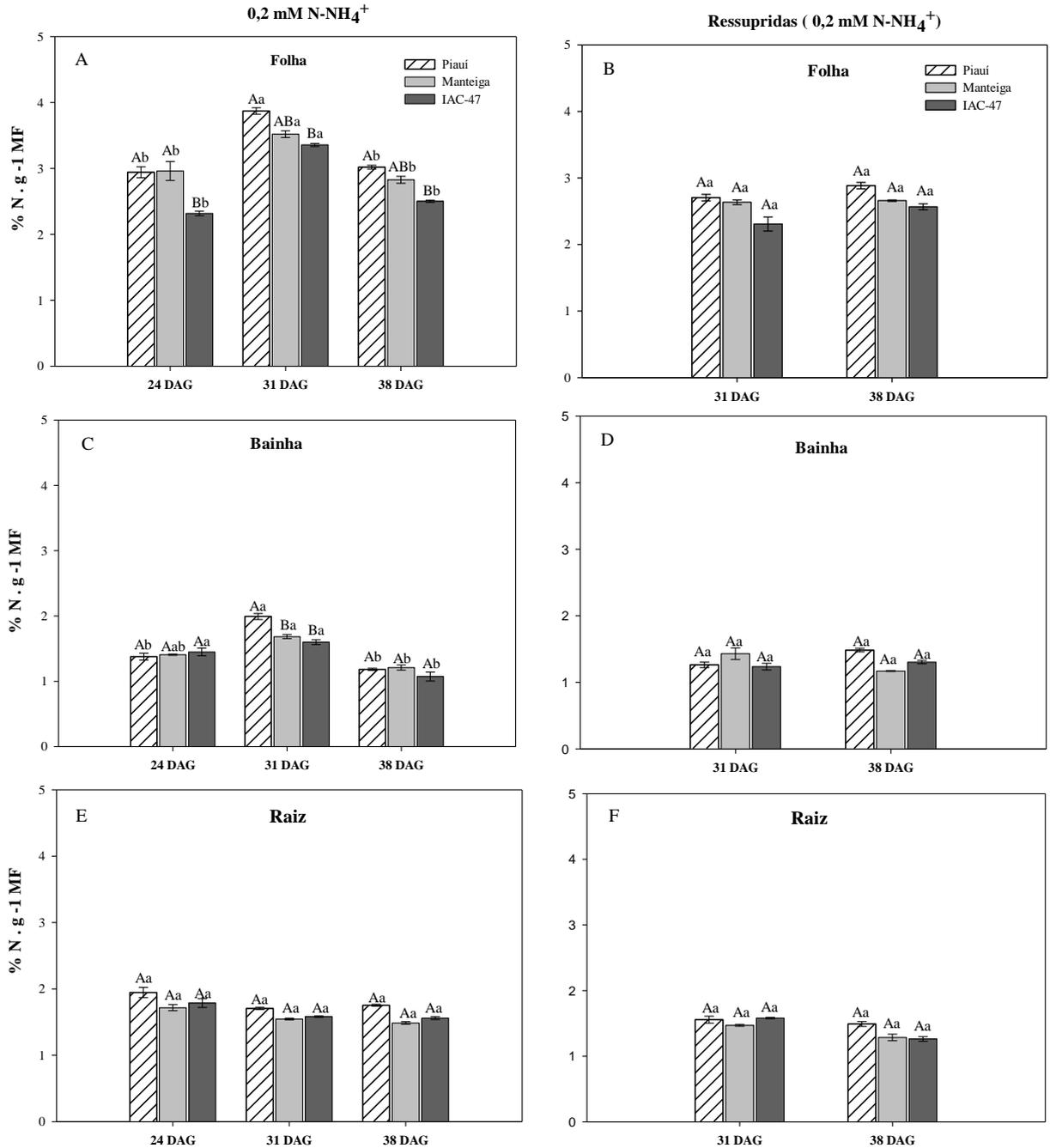


Figura 10. Teor N observado em diferentes partes das plantas de arroz das duas variedades locais de arroz do estado do Maranhão (Piauí, e Manteiga) e na variedade melhorada (IAC-47), sendo dividido em dois grupos: um constante submetidas a 0,2 mM de $N-NH_4^+$ durante todo experimento e um segundo grupo passando por um período de deficiência de N do 24º ao 31º DAG, após este período ressupridas com 0,2 mM de $N-NH_4^+$. Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes variedades dentro de cada coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes épocas de coleta pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.4 Atividade de Glutamina Sintetase

A Glutamina sintetase é a enzima responsável por incorporar o NH_4^+ ao glutamato, usando energia fornecida pelo ATP para formar glutamina. Sendo esta atividade analisada em três diferentes partes do sistema radicular como forma de avaliar a absorção e assimilação de amônio ao longo do sistema radicular do arroz.

Como pode ser observado na Figura 11A, aos 24DAG, não houve diferenças significativas entre as variedades nas seções inferiores e medianas das raízes, podendo ser este resultado relacionado ao fato das plantas estarem sob suprimento constante de N-NH_4^+ . Já na parte superior (PS), houve diferenças significativas entre as variedades, onde a variedade Piauí apresentou maior atividade de GS quando comparado com as variedades IAC-47 e Manteiga. A maior atividade de GS na variedade Piauí aos 24 DAG pode explicar, ao menos em parte a maior massa fresca de raiz (Tabela 2) e comprimento radicular (Tabela 4).

Segundo Omari et al. (2010), trabalhando com plantas de sorgo sob alto suprimento de N-NH_4^+ (5-50 mM), observaram que duas isoformas de GS1 (*SbGln1.2* e *SbGln1.3*) são diferencialmente expressas ao longo das raízes, seccionadas em quatro partes, onde a abundância relativa da proteína GS1 aumentou a partir da ponta para a junção caule/raiz, onde o número de raízes laterais foi particularmente proeminente.

Outro ponto que deve ser considerado é a forma como a expressão dos transportadores de amônio é controlada de modo a coordenar a absorção de amônio com a sua disponibilidade no meio. Yuan et al. (2007), relataram que a capacidade de absorção de amônio por transportadores de alta afinidade em raízes de *Arabidopsis* depende do arranjo espacial de AMT1s no sistema radicular. Assim, a distribuição dos transportadores de amônio nas células de raízes laterais poderiam controlar a disponibilidade de elevados níveis de amônio e a subsequente acumulação de produto da atividade *SbGln1.3* nestes tecidos vegetais.

Na segunda coleta, aos 31DAG, pode ser observado um aumento na atividade de GS nas variedades IAC-47 e Manteiga no segmento PI diferindo da variedade Piauí (Figura 11B), correlacionando-se elevados teores de N-amino na folha da variedade Manteiga (Figura 9A) e com incremento nos parâmetros morfológicos observado nessas duas variedades quando comparado a variedade Piauí (Tabela 4). Já na terceira coleta, a variedade Manteiga apresentou maior atividade de GS no segmento inferior da raiz no tratamento onde as plantas foram submetidas ao ressuprimento de amônio, diferindo significativamente das demais variedades (Figura 11E). Nos demais segmentos do sistema radicular não foram observadas diferenças na atividade da enzima glutamina sintetase.

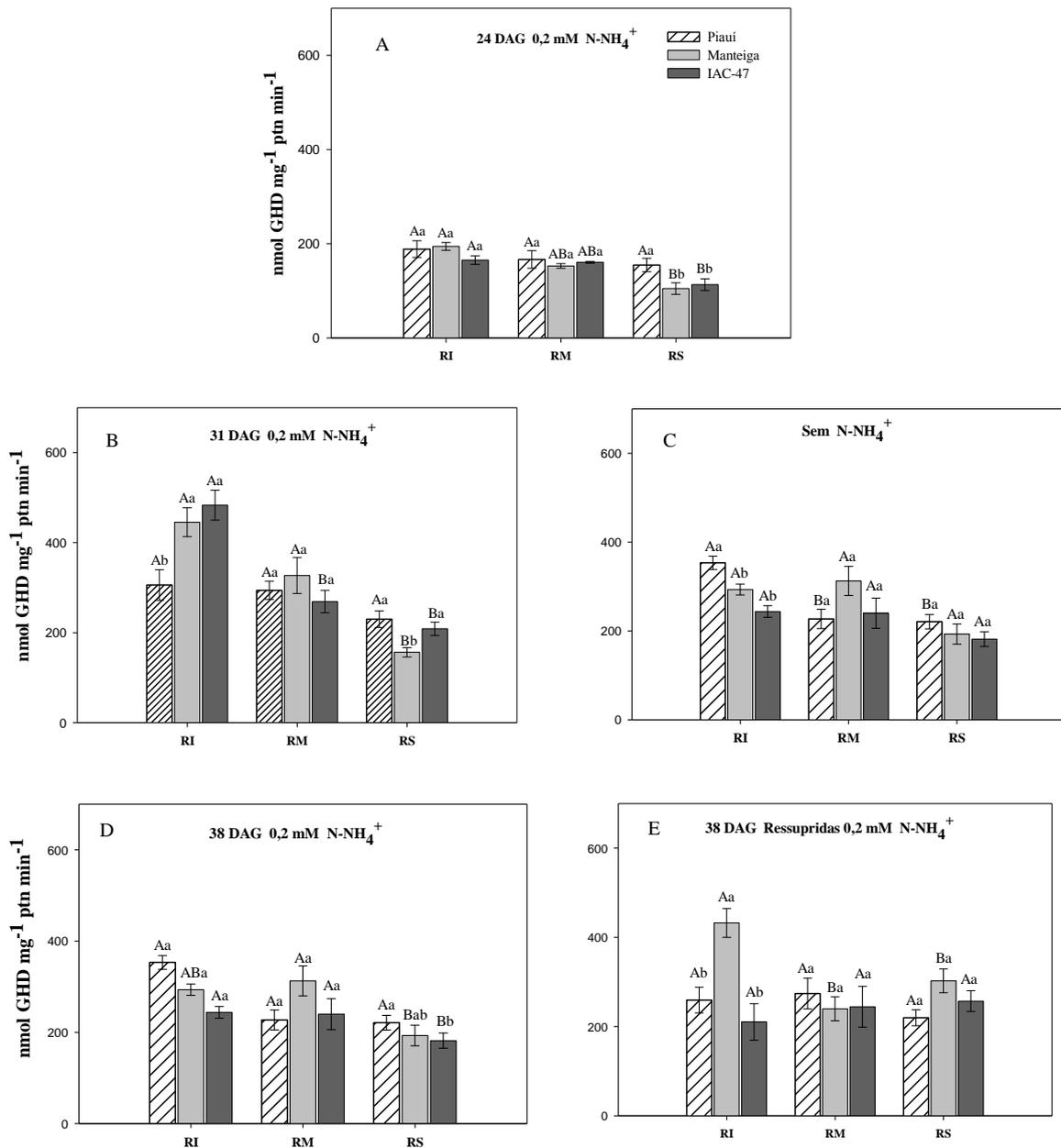


Figura 11. Atividade de GS aos 24 DAG sobre suplementação constante 0,2 mM N-NH₄⁺ (A), 31 DAG sobre suplementação constante 0,2 mM NH₄⁺ (B) e sem N-NH₄⁺ (C), 38 DAG sobre suplementação constante 0,2 mM N-NH₄⁺ (D) e ressupridas com 0,2 mM N-NH₄⁺ (E), nas diferentes partes da raiz: Raiz Inferior (PI), Parte Mediana (PM), Parte Superior (PS). Letras maiúsculas distintas nas colunas diferem entre si para as diferentes partes do sistema radicular dentro de cada variedade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si para cada variedade nas diferentes partes do sistema radicular pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.5 Expressão dos Transportadores de Amônio

Foi avaliada a expressão de três transportadores de NH_4^+ de alta afinidade (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) a fim de verificar o efeito do suprimento constante com baixa dose de N-NH_4^+ , da deficiência de N, e do ressuprimento com 0,2 mM de N-NH_4^+ sobre a expressão desses transportadores e sua correlação com a morfologia radicular das três variedades utilizadas no experimento.

Na primeira coleta, aos 24DAG, não houve diferença de expressão dos transportadores de amônio de alta afinidade AMT1.1~1.3, nos diferentes segmentos do sistema radicular analisados. A estabilidade dos níveis de expressão desses transportadores entre os diferentes segmentos da raiz pode estar associada ao sistema radicular ainda pouco diferenciado aos 24DAG (Figura 12).

De acordo com o observado por YAO et al. (2008), a expressão do *OsAMT1.3* é reprimido na presença de nitrogênio e aumentada em condições de deficiência deste nutriente. Após o período de privação de N, a variedade Manteiga apresentou níveis de expressão do *OsAMT1.3* no segmento inferior da raiz, 40 vezes mais elevados que as variedades Piauí e IAC-47 (Figura 13C). Dados semelhantes foram encontrados por SONODA et al. (2003), onde plântulas de arroz foram cultivadas em solução nutritiva sem N por três semanas e após serem transferidas para os tratamentos sem N, 0,15 mM de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou 0,3 mM de KNO_3^- verificou-se que a expressão do *OsAMT1.3* era induzida no tratamento sem N e reprimida nos tratamentos em que foram adicionadas fontes nitrogenadas.

O mesmo padrão de expressão não foi observado nas demais variedades utilizadas no experimento, bem como nos segmentos do sistema radicular analisados (Figura 13). Esse resultado mostra que o *OsAMT1.3* não é apenas regulado pelo status de N da planta e/ou pela concentração de N-NH_4^+ no meio, como também pode sofrer regulação diferencial entre os diferentes segmentos do sistema radicular, com expressão pronunciada segmento inferior da raiz em alguns genótipos.

Colmer & Bloom, (1998) estudando o fluxo de nitrato e amônio ao longo do sistema radicular de plantas de arroz e milho verificaram que a absorção de amônio ocorre preferencialmente 1 mm acima do ápice radicular diferente do nitrato que teve sua absorção distribuída 21 mm acima do ápice radicular. A preferência na absorção de amônio pelo meristema apical radicular esta associado ao fornecimento de nitrogênio para a síntese de proteínas com o mínimo dispêndio de energia. A assimilação de NH_4^+ em aminoácidos gera um próton que geralmente é libertado para a rizosfera (Allen 1988), de modo a acidificar a ponta da raiz e aumentar o alongamento da radicular, sendo a extensibilidade da parede celular controlada, parcialmente pelo pH (Taiz & Zeiger, 1991).

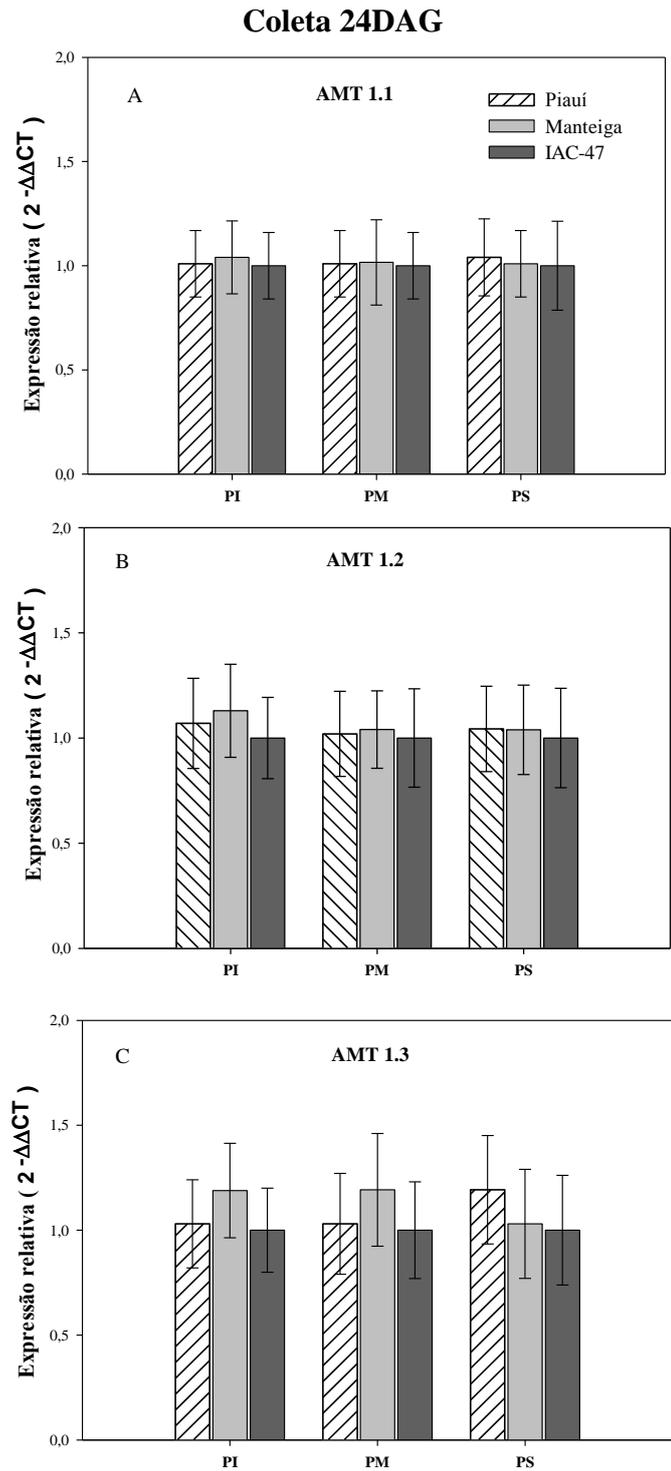


Figura 12. Expressão relativa de três transportadores de NH_4^+ (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) na raiz de plantas de arroz das variedades Piauí, Manteiga e IAC-47, com tratamento constante de 0,2 mM de N-NH_4^+ aos 24 dias após a germinação (DAG). As plantas da variedade IAC-47 foram utilizadas como referência. Barras representam o erro padrão das médias de quatro repetições.

Dados recentes mostram que a repressão do *OsAMT1.3* com o aumento do suprimento de nitrogênio pode não ser considerado um mecanismo universal, mas sim dependente do genótipo e do nível de nitrogênio requerido pelo mesmo (Gaur et al., 2012a). Esses autores mostraram que a cultivar de arroz Kalanamak 3119 apresentou repressão do *OsAMT1.3* em doses crescentes de amônio em solução até 1,0 mM, enquanto que a cultivar Pusa Basmati apresentou comportamento oposto, com aumento de expressão do *OsAMT1.3* nas maiores doses de N-NH_4^+ .

Os resultados obtidos neste trabalho, mostram que de fato a expressão do *OsAMT1.3* tem comportamento genótipo-dependente, onde a variedade local do estado do Maranhão Manteiga, obteve maior expressão do transportador de amônio de alta afinidade *OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3* em condição sem nitrogênio na parte inferior (RI) do sistema radicular, diferindo significativamente das demais variedades (Figura 13). Este fato pode estar relacionado ao maior crescimento e ramificação do sistema radicular desta variedade sobre deficiência de nitrogênio, sendo a região de crescimento e diferenciação celular do sistema radicular, a que mais influencia na absorção e percepção do nitrogênio no solo (Tabela 4).

Ferreira (2013) produziu plantas transgênicas de arroz superexpressando o *OsAMT1.3* e verificou que essas plantas apresentavam maior comprimento, número e volume de raízes comparada as plantas não transformadas, e sugere o envolvimento do *OsAMT1.3* na sinalização para emissão de raízes quando as plantas são submetidas a deficiência de N.

(Lima et al., 2010) analisando plantas de *Arabidopsis* nocaute para quatro transportadores de amônio (*AtAMT1.1*, *AtAMT1.2*, *AtAMT1.3* e *AtAMT2.1*) demonstrou que o surgimento de raízes laterais foi ausente nessas linhagens e significativamente baixo em um mutante silenciando apenas o gene *AtAMT1.3* em condição de baixo suprimento de N na forma nítrica e amoniacal. Esses autores sugerem um envolvimento particular do *AtAMT1.3* no desencadeamento da formação de raízes laterais em *Arabidopsis*.

O transportador de amônio *AtAMT1.3* não possui similaridade genética com o *OsAMT1.3* (Bao-zhen, 2009). Ferreira, (2013) fusionou o promotor do gene *OsAMT1.3* à proteína β -glucuronidase (GUS) e observou que na condição de deficiência de N o promotor apresenta forte atividade (coloração azul) em pontos de emissão de raízes laterais, bem como nas pontas das raízes, indicando mais uma vez seu envolvimento com a formação e crescimento de raízes. Os maiores níveis de expressão do *OsAMT1.3* na variedade Manteiga, estão de acordo com as diferenças de arquitetura radicular observado entre as variedades, onde a variedade Manteiga apresenta melhor distribuição espacial das raízes (Figura 5) e melhores parâmetros morfológicos (Tabela 5).

Coleta 31 DAG

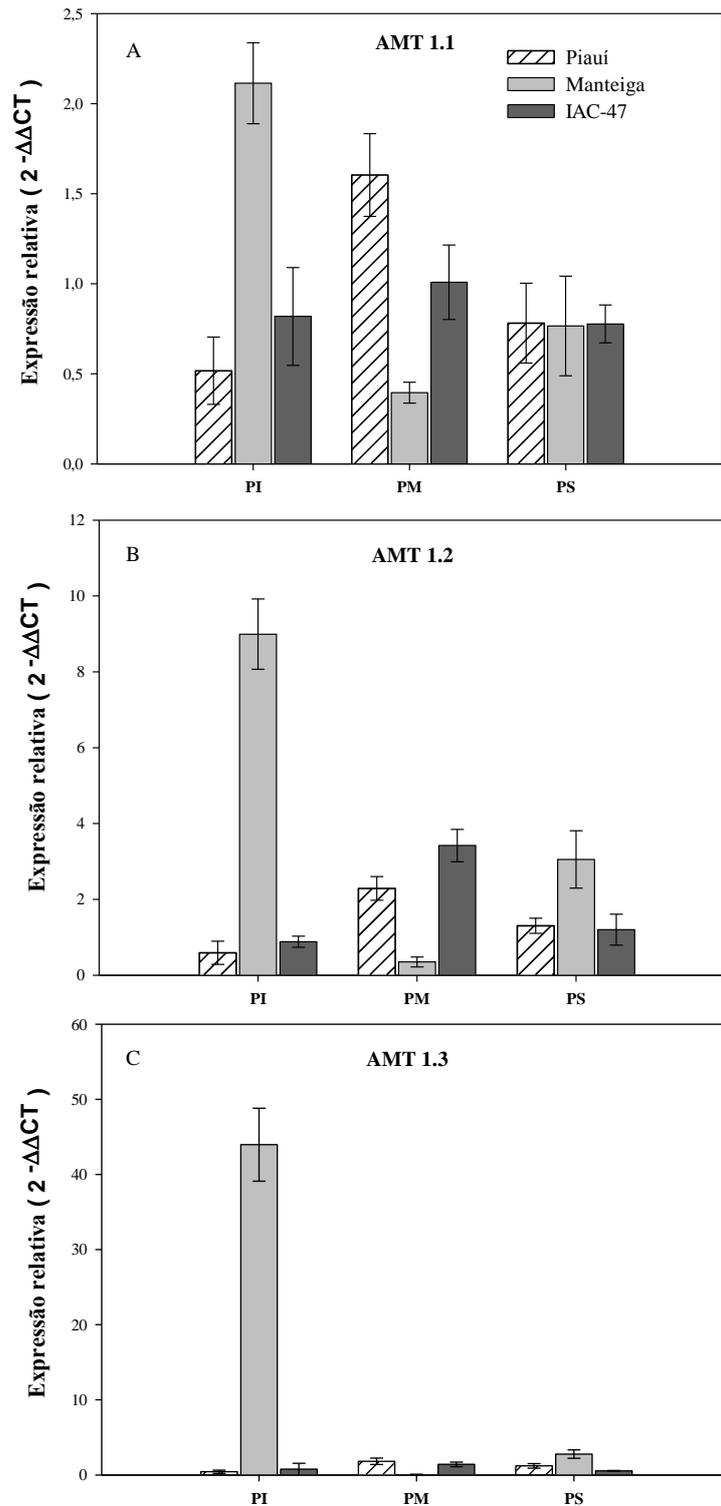


Figura 13. Expressão relativa de três transportadores de NH_4^+ (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) na raiz de plantas de arroz das variedades Piauí, Manteiga e IAC-47, sob suprimento constante com 0,2 mM de N-NH_4^+ e sem N-NH_4^+ aos 31 dias após a germinação (DAG). As plantas no tratamento constante com 0,2 mM de N-NH_4^+ foram utilizadas como referência. Barras representam o erro padrão das médias de quatro repetições.

Algumas proteínas de membrana são capazes de transportar determinados nutrientes e também funcionar como sensores desses nutrientes no solo, levando a grandes alterações no metabolismo vegetal através da ativação de vias de transdução de sinais. Essas proteínas são conhecidas como "transceptors" (Gojon et al., 2011). O aparecimento do *OsAMT1.3* em regiões de emissão de raízes laterais indica uma outra função dessa proteína além da absorção do amônio. Já quando as plantas foram ressupridas com $N-NH_4^+$ (Figura 14C) a expressão foi fortemente reduzida principalmente no segmento inferior do sistema radicular, indicando o envolvimento do *OsAMT1.3* no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular apenas na condição de deficiência e/ou baixo suprimento de N.

Ao avaliar outros segmentos do sistema radicular como o segmento mediano (RM) e superior (RS) na terceira coleta, aos 38DAG, onde as plantas foram ressupridas com amônio, pode ser observado um aumento de expressão dos transportadores de amônio *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*, (Figuras 14B e C). Este fato pode estar associado à diferenciação celular em cada segmento radicular analisado, pois sobre a mesma condição, houve uma forte redução da expressão dos transportadores de amônio no segmento inferior (RI) do sistema radicular.

Resultados semelhantes foram obtidos por, Kaiser et al. (2002) e Loque et al. (2006) trabalhando com plantas de *Arabidopsis*, onde genes das proteínas AMTs foram nocauteados resultando em decréscimo significativo no influxo de amônio nas plantas mutantes. Com a perda do *AtAMT1.1* (plantas *Atamt1.1*), houve queda de 30% no influxo de amônio, e uma redução adicional de influxo de até 30% foi observado com a perda do *AtAMT1.3*, indicando que ambos transportadores contribuem de forma significativa para o influxo de amônio, sobretudo em condição de privação de N (Loque et al., 2006). Corroborando com o envolvimento do *AtAMT1.1* e *AtAMT1.3* na absorção $N-NH_4^+$ da solução do solo, ambas as proteínas foram localizados na membrana plasmática e expressa na epiderme e células corticais de raízes primárias e laterais, incluindo a zona de pêlos radiculares em *Arabidopsis* (Loque et al., 2006; Mayer et al., 2006).

Em raízes de *Arabidopsis*, o *AtAMT1.2* está localizado na membrana plasmática e é expresso na endoderme da raiz e mais fracamente no córtex. Esta localização subcelular distinta pode explicar sua regulação transcricional pouco alterada em relação a de outros AMTs na raiz. *AtAMT1.2* está envolvido na transferência de amônio para o tecido vascular, uma vez que o transporte de amônio via apoplástica é interrompido na endoderme pelas estrias de Caspary (Neuhauser et al., 2007). Os resultados obtidos neste trabalho mostram que sob deficiência de N amoniacal houve aumento de expressão do *OsAMT1.2* de 8 vezes em relação ao controle (0,2 mM de $N-NH_4^+$ constante) na parte inferior do sistema radícula da variedade Manteiga (Figura 13B) e aumento de 5 vezes em relação ao *OsAMT1.1* (Figura 13 B), mostrando que o padrão de expressão dos diferentes transportadores de amônio de alta afinidade podem variar entre genótipos, condições de cultivo e regiões do sistema radicular das plantas.

Coleta 38 DAG

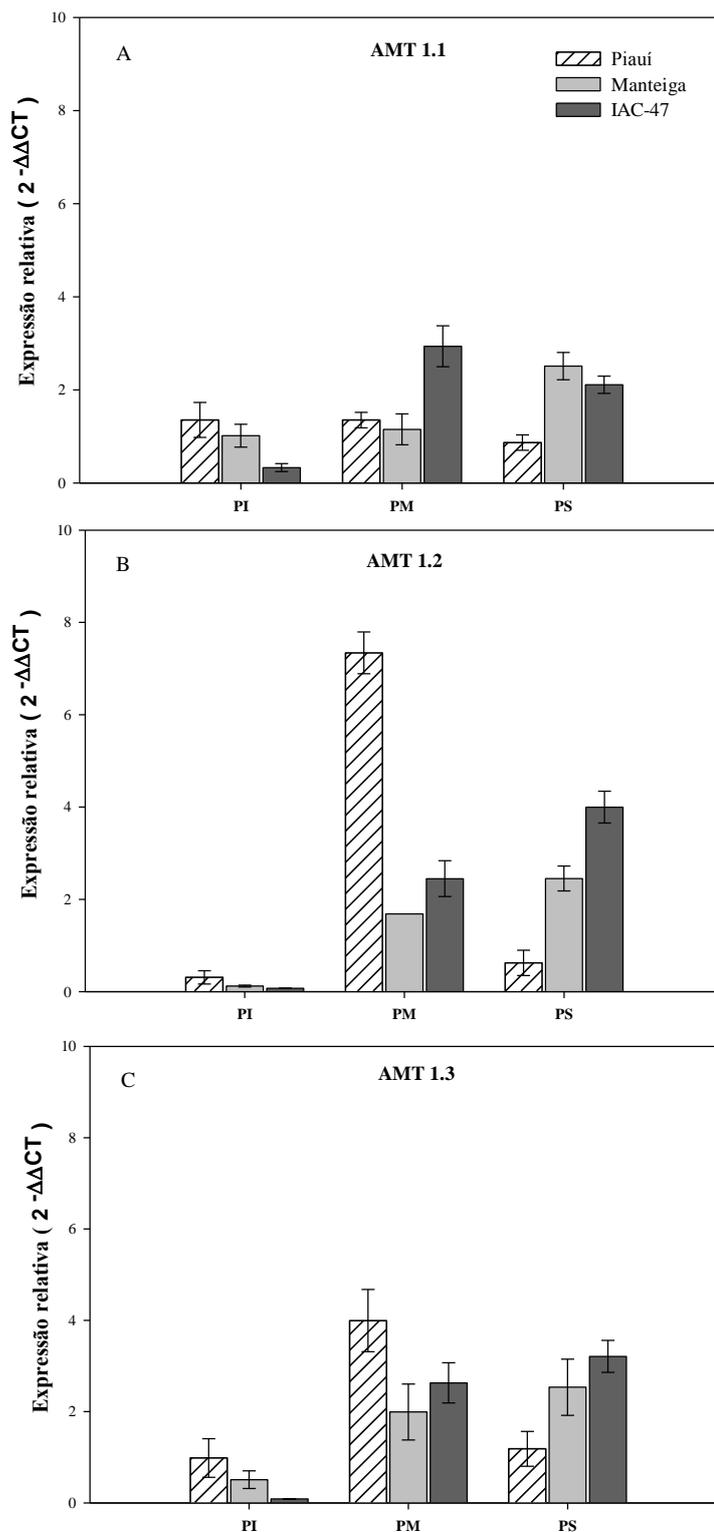


Figura 14. Expressão relativa de três transportadores de NH₄⁺ (*OsAMT1.1*, *OsAMT1.2* e *OsAMT1.3*) em raízes de plantas de arroz das variedades Piauí, Manteiga e IAC-47, sob suprimento constante com 0,2 mM de N-NH₄⁺ e ressuprimento com N-NH₄⁺ (0,2 mM) aos 38 dias após a germinação (DAG). As plantas do tratamento constante com 0,2 mM de N- N-NH₄⁺ foram utilizadas como referência. Barras representam o erro padrão das médias de quatro repetições.

5. CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente trabalho permitiram a confirmação de que plantas da variedade Manteiga sob deficiência de NH_4^+ , apresentam altos níveis de expressão do *OsAMT1.3* na parte inferior do sistema radicular acompanhado de incremento de massa, comprimento e volume radicular.

A expressão diferenciada dos transportadores de NH_4^+ observada na variedade Manteiga sob deficiência de N confirmam resultados obtidos no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da UFRRJ quando foram observados incrementos na expressão dos transportadores de N, principalmente do *OsAMT1.3* e a localização tecido-específica deste transportador em regiões de crescimento radicular.

De modo geral os parâmetros morfológicos de raiz das variedades de arroz locais do estado do Maranhão, Piauí e Manteiga foram superiores os da variedade melhorada IAC-47 quando cultivadas sem suplementação nitrogenada, indicando que a alteração na morfologia radicular representa uma adaptação dessas variedades à condições de deficiência de N.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Morfologia e distribuição de raízes de arroz irrigado por inundação e sua relação com a absorção de nutrientes e o rendimento de grãos. PESQ. Agrop. Gaúcha, Porto Alegre, v.14, n.1, p.13-20, 2008.
- ANANDACOOMARASWAMY, A.; DE COSTA, W. A. J. M.; TENNAKOON, P. L. K.; VAN DER WERF, A. The physiological basis of increased biomass partitioning to roots upon nitrogen deprivation in young clonal tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz). Plant and soil, v.238, p.1-9, 2002.
- ANGHINONI, I.; VOLKART, C. R.; FATTORE, N.; ERNANI, P. R. Morfologia de raízes e cinética de absorção de nutrientes em diversas espécies e genótipos de plantas. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v.13, n.3, p.355-361, 1989.
- BATES, T. R.; & LYNCH, J. P. Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. Plant Soil, v.236, p.243–250, 2001.
- BRASIL, F. C. Estudo de características radiculares de uma pastagem de *Brachiaria humidicola* com auxílio de análise digital de imagens. 2001. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.
- BARRACLOUGH, P. B.; WEIR, A. H.; KUHLMAN, H. Factors affecting the growth and distribution of winter wheat roots under U.K. conditions, in McMichael, B. L., Person, H. (ed.): Plant roots and their environment. Elsevier Science, Amsterdam, pp. p.410–417, 1991.
- BAUHUS, J.; & MESSIER, C. Soil exploitation strategies of fine roots in different tree species of the southern boreal forest of Eastern Canada. Can. J. For. Res, v.29, p.260–273. 1999.
- BEEMSTER, G.T.; FIORANI, F.; INZÉ, D. Cell cycle: the key to plant growth control? Trends Plant Sci, v.8, p.154–158, 2003.
- BEECKMAN, T.; BURSSSENS, S.; INZÉ, D. The peri-cell-cycle in Arabidopsis. J Exp Bot, v.52, p.403–411, 2001.
- BENKOVÁ, E.; MICHNIEWICZ, M.; SAUER, M.; TEICHMANN, T.; SEIFERTOVÁ, D.; JÜRGENS, G.; FRIML, J. Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. Cell, v. 115(5), p.591-602, 2003.
- BERNARD, S.M. & HABASH, D.Z. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. The New phytologist. v.182, p.608-20, 2009.
- BOGARD, M.; ALLARD, V.; BRANCOURT-HULMEL, M.; HEUMEZ, E.; MACHET, J.M. Deviation from the grain protein concentration-grain yield negative relationship is highly correlated to post-anthesis N uptake in winter wheat. J. Exp. Bot, v.61. p.4303–12. 2010.
- BUCHER, C. A. Avaliação através de RT-PCR da expressão dos genes que codificam para enzimas de assimilação de nitrogênio em variedades de arroz. 2007. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.
- BUCHER, C. A. Expressão de genes relacionados à absorção e metabolismo de nitrogênio em arroz sob alto e baixo suprimento de nitrato. 2011. 81f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.
- CANNON, W.; A. A tentative classification of root systems. Ecology, v.30, p.452–458, 1949.

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*, New York, v.6, p. 853-855, 1975.

CHRISTOPHER, J.; CHRISTOPHER, M.; JENNINGS, R.; JONES, S.; FLETCHER, S.; BORRELL, A.; HAMMER, G. QTL for root angle and number in a population developed from bread wheats (*Triticum aestivum*) with contrasting adaptation to water-limited environments. *Theoretical and Applied Genetics*, v.126, p.1563–1574, 2013.

CLARKSON, D. T. Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* V.36, p.77–115, 1985.

COMAS, L. H.; BECKER, S. R.; CRUZ, V. M. V.; BYRNE, P. F.; DIERIG, D. A. Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*, v.4, p. 442-16, 2013.

COMAS, L. H.; MUELLER, K. E.; TAYLOR, L. L.; MIDFORD, P. E.; CALLAHAN, H. S.; & BEERLING, D. J. Evolutionary patterns and biogeochemical significance of angiosperm root traits. *Int. J. Plant Sci*, v.173, p.584–595, 2012.

COLLINS, N. C.; TARDIEU, F.; TUBEROSA, R. (2008). Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiol.*147, 469–486. doi: 10.1104/pp.108.118117.

COOPER, M.; VAN EEUWIJK, F. A.; HAMMER, G. L.; PODLICH, D. W.; & MESSINA, C. Modeling QTL for complex traits: detection and context for plant breeding. *Curr. Opin. Plant Biol*, v.12, p.231, 2009.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. *Crop Science*, Madison, v.40, n.2, p.436-443, 2000.

COURTOIS, B.; AHMADI, N.; KHOWAJA, F.; PRICE, A. H.; RAMI, J. F.; FROUIN, J.; RUIZ, M. Rice root genetic architecture: meta-analysis from a drought QTL database. *Rice*, 2(2-3), p.115-128, 2009.

COURTOIS, B.; SHEN, L.; PETALCORIN, W.; CARANDANG, S.; MAULEON, R., & LI, Z. Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC165×Co39. *Euphytica*, v.134, p.335–345. 2003.

DESNOS, T. Root branching responses to phosphate and nitrate. *Curr. Opin. Plant Biol*, v.11, p.82–87, 2008.

DEMCHENKO, N.; P.; DEMCHENKO, K. N. Resumption of DNA synthesis and cell division in wheat roots as related to lateral root initiation. *Russ J Plant Physiol*, v.48, p.755–76, 2001.

DE SMET, I.; VASSILEVA, V.; DE RYBEL, B.; LEVESQUE, M. P.; GRUNEWALD, W.; VAN DAMME, D.; BEECKMAN, T. Receptor-like kinase ACR4 restricts formative cell divisions in the Arabidopsis root. *Science*, v.322, p.594–597, 2008.

DE SMET, I.; TETSUMURA, T.; DE RYBEL, B.; DIT FREY, N. F.; LAPLAZE, L.; CASIMIRO, I.; BEECKMAN, T. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of Arabidopsis. *Development*, v.134, p.681–690, 2007.

DE RYBEL, B.; VASSILEVA, V.; PARIZOT, B.; DEMEULENAERE, M.; GRUNEWALD, W.; AUDENAERT, D.; BEECKMAN, T. A novel aux/IAA28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity. *Current Biology*, v.20, p.1697–1706, 2010

- DORLODOT, S.; FORSTER, B.; PAGÈS, L.; PRICE, A.; TUBEROSA, R.; DRAYE, X. Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *Trends Plant Sci*, v.12, p.474–481, 2007.
- DREW, M. C. Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth of the seminal root system, and the shoot, in barley. *New Phytol*, v.75, p. 479–490, 1975.
- DREW, M. C.; SAKER, L.R. Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. II. Localized, compensatory increases in lateral root growth and rates of nitrate uptake when nitrate supply is restricted to only part of the root system. *J. Exp. Bot.* v.26, p.79–90, 1975.
- DREW, M.C., e SAKER, L.R. Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. III. Compensatory increases in growth of lateral roots, and in the rates of phosphate uptake, in response to a localized supply of phosphate. *J. Exp. Bot.* v. 29, p. 435–451, 1978.
- DUBROVSKY, J. G.; DOERNER, P. W.; COLON-CARMONA, A.; ROST, T. L. Pericycle cell proliferation and lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, v.124, p.1648–1657, 2000.
- EISSENSTAT, D. M. On the relationship between specific root length and the rate of root proliferation: a field study using citrus rootstocks. *New Phytol*, v.118, p.63–68, 1991.
- EISSENSTAT, D. M.; & ACHOR, D. S. Anatomical characteristics of roots of citrus rootstocks that vary in specific root length. *New Phytol*, v.141, p.309–321, 1999.
- ERMILOVA, E. V.; NIKITIN, M. M., & FERNÁNDEZ, E. Chemotaxis to ammonium/methyl ammonium in *Chlamydomonas reinhardtii*: The role of transport systems for ammonium/methyl ammonium. *Planta* v. 226, p.1323–1332, 2007.
- ETTEMA, C.H., e WARDLE, D.A. Spatial soil ecology. *Trends Ecol. E.*v.17, p.177–183, 2002.
- FANG, S.; CLARK, R. T.; ZHENG, Y.; IYER-PASCUZZI, A. S.; WEITZ, J. S.; KOCHIAN, L. V.; EDELSBRUNNER, H.; LIAOB H.; BENFEY, P. N. Genotypic recognition and spatial responses by rice roots. *Proc. Natl . Acad. Sci. U.S.A*, v.110, p.2670–2675, 2013.
- FAGERIA, N. K. *The Role of Plant Roots in Crop Production*. Boca Raton, FL: CRC Press. 2013.
- FAO. Faostat database results. Disponível : site FAO. <http://www.apps1.fao.org> Consultado em 20 de fev. 20014.
- FERREIRA, L. M. Caracterização Funcional do Transportador de Amônio OsAMT1.3 e seu Efeito sobre a Nutrição Nitrogenada em Plantas de Arroz. 2013. 71f. (Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo), Seropédica: UFRRJ
- FERNANDES, M. S. N carriers, light and temperature influences on the free amino acid pool composition of rice plants. *Turrialba*, v.33, n.3, p.297-301, 1984.
- FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R. ABSORÇÃO DE NUTRIENTES. In: FERNANDES, M.S. (Org.) *Nutrição Mineral de Plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006.
- FITTER, A. Characteristics and functions of roots systems. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds) *Plant roots: the hidden half*. Marcel Dekker Pub, New York, p.15–32, 2002.
- GANSEL, X.; MUNOS, S.; TILLARD, P.; GOJON, A. Differential regulation of the NO₃⁻ and NH₄⁺ transporter genes AtNrt2.1 and AtAmt1.1 in *Arabidopsis*: relation with long-distance and local controls by N status of the plant. *The Plant Journal*, v.26, p.143–155, 2001.

- FUJII, Y. The morphology and physiology of rice roots. ASPAC, Food Fert. Technol. Cent. Tech. Bull. 20. Taiwan, China. 1974.
- FUKAO, T., & XIONG, L. Genetic mechanisms conferring adaptation to submergence and drought in rice: simple or complex? *Curr. Opin. Plant Biol*, v.16, p.196–204, 2013.
- GAZZARRINI, S.; LEJAY, L.; GOJON, A.; NINNEMANN, O.; FROMMER, W.B.; VON WIREN, N. Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into *Arabidopsis* roots. *Plant Cell*, v.11, p.937–948., 1999.
- GIEHL, R. F. H.; GRUBER, B. D.; WIRÉN, N. V. It's time to make changes: modulation of root system architecture by nutrient signals. *J. Exp. Bot.*, v. 65, n.3, p. 769–778, 2014.
- GIULIANI, S.; SANGUINETI, M. C.; TUBEROSA, R.; BELLOTTI, M.; SALVI, S., & LANDI, P. Root-ABA1, a major constitutive QTL, affects maize root architecture and leaf ABA concentration at different water regimes. *J. Exp. Bot*, v.56, p.3061–3070, 2005.
- GLASS, A. D. M. Nitrogen use efficiency of crop plants: physiological constraints upon nitrogen absorption. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.22, p.453–470, 2003.
- GOOD, A. G.; SHRAWAT, A. K.; MUENCH, D. G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? *trends in plant science*, v.9, n.12, p.597-605, 2004.
- HAMADA, A.; NITTA, M.; NASUDA, S.; KATO, K.; FUJITA, M.; MATSUNAKA, H.; OKUMOTO, Y. Novel QTLs for growth angle of seminal roots in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Soil*, v.354, p.395–405, 2012.
- HARADA, J.; YAMASAKI, K. Roots In: *Science of the rice plant. V. Morphology.* (Matsuo, T.; Hoshikawa, K. Eds.) Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo, 1993.
- HARPER, J. L.; JONES, M.; HAMILTON, N. R. The evolution of roots and the problem of analysing their behaviour. In: Atkinson D (ed) *Plant root growth: an ecological perspective.* Blackwell Scientific Publications, Oxford, p.3–24, 1991.
- HAUSMANN, N.T.; HAWKES, C.V. Order of plant host establishment alters composition of arbuscular mycorrhizal communities. *Ecology*, v. 91, p. 2333–2343, 2010.
- HERNÁNDEZ, E. I.; VILAGROSA, A.; PAUSAS, J. G.; & BELLOT, J. Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecol*, v..207, p. 233–244, 2010.
- HENRY, A. IRRI's drought stress research in rice with emphasis on roots: accomplishments over the last 50 years *Plant Root*, v.7, p.5–19, 2012.
- HERDER, G. D.; VAN ISTERDAEL, G.; BEECKMAN, T.; & DE SMET, I. The roots of a new green revolution. *Trends Plant Sci*, v.15, p.600–607, 2010.
- HINSINGER, P.; GOBRAN, G.R.; GREGORY, P.J.; WENZEL, W.W. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytol*, v.168, p.293–303, 2005.
- HISHI, T. Heterogeneity of individual roots within the fine root architecture: causal links between physiological and ecosystem functions. *J For Res* v.12, p.126–133, 2007.
- HIREL, B. GOUIS, J.L. NEY, B. GALLAIS, A. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants : towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*. v. 58, p.2369-2387, 2007.

- HODGE, A. Plastic plants and patchy soils. *J. Exp. Bot.*, v.57 p.401–411, 2006.
- HOCHHOLDINGER, F.; WOLL, K.; SAUER, M.; DEMBINSKY, D. Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific developmental programs. *Ann Bot (Lond)*, v.93, p.359–368, 2004.
- HSIAO, T. C.; & XU, L.-K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *J. Exp. Bot*, v.51, p.1595–1616, 2000.
- HUANG, B.; & EISSENSTAT, D. M. “Root plasticity in exploiting water and nutrient heterogeneity,” in *Plant–Environment Interactions*, 2nd Edn, ed. R. Wilkinson (New York: Marcel Dekker, Inc.), p.111–132, 2000.
- JAIN, A.; POLING, M.D.; SMITH, A.P.; NAGARAJAN, V.K.; LAHNER, B.; MEAGHER, R.B.; RAGHOTHAMA, K.G. Variations in the composition of gelling agents affect morphophysiological and molecular responses to deficiencies of phosphate and other nutrients. *Plant Physiol*, v.150, p.1033–1049, 2009.
- JAIN, M.; TYAGI, A. K.; KHURANA, J. P. Molecular characterization and differential expression of cytokinin-responsive type-A-response regulators in Rice (*Oryza sativa*). *BMC Plant Bio*, 2006.
- JACKSON, W. A.; PAN, W. L.; MOLL, R. H.; KAMPRATH, E. J. Uptake, translocation, and reduction of nitrate, in Neyra C. A. *Biochemical basis of plant breeding. Nitrogen metabolism*, CRC press, Boca Raton, FL, v.2, p.95–98, 1986.
- JANSEN, L.; ROBERTS, I.; DE RYCKE, R.; BEECKMAN, T. Phloem-associated auxin response maxima determine radial positioning of lateral roots in maize. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, v.367, p.1525–1533, 2012.
- KAISER, B.N.; RAWAT, S.R.; SIDDIQI, M.Y.; MASLE, J.; GLASS, A.D. Functional analysis of an Arabidopsis T-DNA knockout of the high-affinity NH₄⁺ transporter *AtAMT1;1*. *Plant Physiol*, v.130, p.1263–1275, 2002.
- KANT, S.; BI, Y.-M.; ROTHSTEIN, S.J. Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency. *Journal of Experimental Botany*, v.62, n.4, p.1499–1509, 2011.
- KJELLSTRÖM, C. G.; KIRCHMANN, H. Dry matter production of oilseed rape (*Brassica napus* L.) with special reference to the root system. *J. Agric. Sci.* v.123, p.327–332, 1994.
- KLEPPER, B. Development and growth of crop root systems. *Adv Soil Sci*, v.19, p.1–25, 1992.
- KHUSH, G.S. Aumento do potencial genético de rendimento do arroz: perspectivas e métodos. In: EMBRAPA-CNPAF. *Arroz na América Latina: perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo*. Goiânia. EMBRAPA-CNPAF-APA, v.1, p.13–29, 1995.
- KAWATA, S.; YAMAZAKI, K.; ISHIHARA, K.; SHIBAYAMA, W.; LAI, K. L. Studies on root system 1963.
- LAZOF, D.; RUFTY, T. W. Redingbaugh MG Localization of nitrate absorption and translocation within morphological regions of corn roots. *Plant Physiol*, v.100, p.1251–1258, 1992.
- LECOMPTE, F.; OZIER-LAFONTAINE, H.; PAGÈS, L. The relationships between static and dynamic variables in the description of root growth. Consequences for field interpretation of rooting variability. *Plant Soil* v. 236, p. 19–31, 2001.

- LI, Q.; LI, BAO-HAI.; J, H. K.; & SHI, WEI-MING. Root growth inhibition by NH₄⁺ in *Arabidopsis* is mediated by the root tip and is linked to NH₄⁺ efflux and GMPase activity. *Plant Cell Environ*, v. 33, p.1529–1542, 2010.
- LIAN, X.; XING,Y.; XU, H.Y.C.; LI, X.; ZHANG, Q.QTLs for low nitrogen tolerance at seedling stage identified using a recombinant inbred line population derived from an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, v.112, p.85–96, 2005.
- LIMA, J.E.; KOJIMA, S.; TAKAHASHI, H. & VON WÍREN, N. Ammonium Triggers Lateral Root Branching in *Arabidopsis* in an AMMONIUM TRANSPORTER1 ; 3-Dependent Manner. *The plant cell. Society* 22, p.3621-3633, 2010.
- LINKOHR, B.I.; WILLIAMSON, L.C.; FITTER, A.H.; LEYSER, H.M.O. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of *Arabidopsis*. *Plant J.*, v.29, p.751–760, 2002.
- LJUNG, K.; HULL, A. K.; CELENZA, J.; YAMADA, M.; ESTELLE, M.; NORMANLY, J.; & SANDBERG, G. Sites and Regulation of Auxin Biosynthesis in *Arabidopsis* Roots. *Plant Cell*, v.17, p.1090–1104, 2005.
- LOQUÉ, D.; VON WIRÉN, N. Regulatory levels for the transport of ammonium in plant roots. *Journal of Experimental Botany*, v.55, p.1293–1305, 2004.
- LOQUE, D.; YUAN, L.; KOJIMA, S.; GOJON, A.; WIRTH, J.; GAZZARRINI, S.; ISHIYAMA, K.; TAKAHASHI, H.; & VON WIREN, N. Additive contribution of AMT1;1 and AMT1;3 to high-affinity ammonium uptake across the plasma membrane of nitrogen-deficient *Arabidopsis* roots. *Plant J.* v.48, p.522–534, 2006.
- LOPES, S.I.G. Eficiência da adubação potássica e distribuição radicular no arroz irrigado. 1991. 96p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- LÓPEZ-BUCIO, J.; CRUZ-RAMI´REZ, A.; HERRERA-ESTRELLA, L. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Opin. Plant Biol.*, v.6, p.280–287, 2003.
- LORENZ, M.C.; HEITMAN, J. The MEP2 ammonium permease regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Embo J.*, v.17, p.1236–1247, 1998.
- LYNCH, J.P. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Annals of Botany*, v.112, p.347–357, 2013.
- MACKAY, A. D.; & BARBER, S. A. Effect of soil-moisture and phosphate level on root hair-growth of corn roots. *Plant Soil*, v.86, p.321–331, 1985.
- MACMILLAN, K.; EMRICH, K.; PIEPHO, H. P.; MULLINS, C. E.; & PRICE, A. H. Assessing the importance of genotype x environment interaction for root traits in rice using a mapping population ii: conventional QTL analysis. *Theor. Appl. Genet*, v.113, p.953–964, 2006.
- MARINI, A.M.; SOUSSI-BOUDEKOU, S.; VISSERS, S.; ANDRE´B. A family of ammonium transporters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, v.17, p.4282–4293, 1997.
- MARSCHNER, H. mineral nutrition of higher plants. London, Academic Press, 1995.
- MCMICHAEL, B. L.; BURKE, J. J. Temperature effects on root growth. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds) *Plant roots: the hidden half*. Marcel Dekker Pub, New York, p.717–728, 2002.

- MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany*. v.105(7), p. 1141-1157, 2010.
- MAYER, M.; & LUDEWIG, U. Role of AMT1;1 in NH_4^+ acquisition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biol*, v.8, p.522–528, 2006.
- MILLER, A. J.; CRAMER, M. D. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil*, v. 274, p. 1-36, 2004.
- MIFLIN, B.J.; LEA, P.J. Ammonia assimilation. In: Miflin BJ, ed. *The biochemistry of plants..Amino acids and their derivatives*. New York: Academic Press, v.5, p.169–202, 1980.
- MILLER, A.J.; FAN, X.; ORSEL, M.; SMITH, S.J.; WELLS, D.M. Nitrate transport and signalling. *J. Exp. Bot.*, v.58, p.2297–2306, 2007.
- MISTRİK, I.; MISTRİKOVÁ, I. Uptake, transport and metabolism of phosphate by individual roots of *Zea mays* L. *Biologia (Bratisl)*, v. 50, p. 419–426, 1995.
- NAVARA, J. Participation of individual root types in water uptake by maize seedlings. *Biologia Bratisl*, v.42, p.17–26, 1987.
- NEUHAAUSER, B.; DYNOWSKI, M.; MAYER, M.; & LUDEWIG, U. Regulation of NH_4^+ transport by essential cross-talk between AMT monomers through the carboxyl-tails. *Plant Physiol*, v.143, p.1651–1659, 2007.
- NOELLE, W. Studien zur vergleichenden Anatomie und Morphologie der Koniferenwurzeln mit Rücksicht auf die Systematik. *Botanik. Zeit* 68:169–266, 1910.
- EL OMARI, R.; RUEDA-LOPEZ, M.; AVILA, C.; CRESPILO, R.; NHIRI, M.; & CANOVAS, F. M. Ammonium tolerance and the regulation of two cytosolic glutamine synthetases in the roots of sorghum. *Funct. Plant Biol.*, v.37, p.55–63, 2010.
- OSMONT, K. S.; SIBOUT, R.; & HARDTKE, C.S. Hidden Branches: Developments in Root System Architecture. *Annu. Rev. Plant Biol.*, v.58, p. 93–113, 2007.
- OVERVOORDE, P.; FUKAKI, H.; BEECKMAN, T. Auxin control of root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010.
- PATTERSON, K.; CAKMAK, T.; COOPER, A.; LAGER, I.; RASMUSSEN, A. L.; ESCOBAR, M. A. Distinct signalling pathways and transcriptome response signatures differentiate ammonium and nitrate-supplied plants. *Plant, Cell and Environment*, v. 33, p. 1486–1501, 2010.
- PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F.; LADHA, J. K. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant Soil*, v.174, p.3–28, 1995.
- PESSEMIER, J.; CHARDON, F.; JURANIEC, M.; DELAPLACE, P.; HERMANS, C. Natural variation of the root morphological response to nitrate supply in *Arabidopsis thaliana*. *Mechanisms of Development*, v.103, p. 45-53, 2013.
- PRICE, A. H.; STEELE, K. A.; MOORE, B. J.; & JONES, R. G. W. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water deficit regimes: II. Mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. *Field Crops Res.*, v.76, p.25–43, 2002.

- RAWAT, S. R.; SILIM, S. N.; KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D. AtAMT1 gene expression and NH₄⁺ uptake in roots of *Arabidopsis thaliana*: evidence for regulation by root glutamine levels. *Plant Journal*. v.19, p.143–152, 1999.
- REBOUILLAT, J.; DIEVART, A.; VERDEIL, J. L.; ESCOUTE, J.; GIESE, G.; BREITLER, J. C.; PÉRIN, C. Molecular genetics of rice root development. *Rice*, v.2, p.15–34, 2009.
- REED, S.C.; CLEVELAND, C.C.; TOWNSEND, A.R. Functional ecology of free living nitrogen fixation: a contemporary perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v.42, p.489–512, 2011.
- REMANS, T.; NACRY, P.; PERVENT, M.; FILLEUR, S.; DIATLOFF, E.; MOUNIER, E.; TILLARD, P.; FORDE, B.G.; GOJON, A. The *Arabidopsis* NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, v.103, p.19206–19211, 2006.
- REWALD, B.; EPHRATH, J. E.; & RACHMILEVITCH, S. A root is a root is a root? Water uptake rates of citrus root orders. *Plant Cell Environ*, v.34, p.33–42, 2011.
- RIEGER, M.; & LITVIN, P. Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *J. Exp. Bot*, v.50, p. 201–209, 1999.
- ROBINSON, D. Roots and resource fluxes in plants and communities. In: Atkinson D (ed) *Plant root growth: an ecological perspective*. Special publication of the British ecological society n°10. Blackwell Scientific Pub., London, p. 103–130, 1991.
- RUTA, N.; LIEDGENS, M.; FRACHEBOUD, Y.; STAMP, P.; & HUND, A. QTLs for the elongation of axile and lateral roots of maize in response to low water potential. *Theor. Appl. Genet.*v.120, p.621–631, 2010.
- SHARMA, S.; XU, S.; EHDAIE, B.; HOOPS, A.; CLOSE, T.J.; LUKASZEWSKI, A.J.; WAINES, J.G. Dissection of QTL effects for root traits using a chromosome arm-specific mapping population in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, v.122, p.759–769, 2011.
- SCHERES, B.; BENFEY, P.; & DOLAN, L. Root development. In *The Arabidopsis Book*(eds C.R. Somerville & E.M. Meyerowitz), American society of Plant Biologists, Rockville, MD, USA, 2002.
- SHIPLEY, B.; & MEZIANE, D. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Funct. Ecol*, v.16, p.326–331, 2002.
- SMITH, S.; & DE SMET, I. Root system architecture: insights from *Arabidopsis* and cereal crops. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, v.367, p.1441–1452, 2012.
- SPERANDIO, M.V.L. Expressão gênica de transportadores de nitrato e amônio, proteína reguladora NAR e bombas de prótons em arroz (*Oryza sativa* L.) e seus efeitos na eficiência de absorção de nitrogênio. 2011. 80f. (Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo), Seropédica: UFRRJ
- SONODA, Y.; IKEDA, A.; SAIKI, S.; VON WIRÉN, N.; YAMAYA, T.; YAMAGUCHI, J. Distinct expression and function of three ammonium transporter genes (OsAMT1;1–1;3) in rice. *Plant Cell Physiology*, v.44, p.726–734, 2003.
- SUENAGA, A.; MORIYA, K.; SONODA, Y.; IKEDA, A.; VON WIRÉN, N.; HAYAKAWA, T.; YAMAGUCHI, J.; YAMAYA, T. Constitutive expression of a novel-type ammonium transporter OsAMT2 in rice plants. *Plant and Cell Physiology*, v.44, p.206–211, 2003.

- SOUZA, V. M. Avaliação dos parâmetros cinéticos de absorção de amônio entre variedades locais e melhorada de arroz (*Oryza sativa* L.) e expressão em real-time RT-PCR dos transportadores OsAMT1. 2010. 80f. (Dissertação de Mestrado em Fitotecnia), Seropédica: UFRRJ.
- SOUZA, S. R.; STARK, E. M. L. M. & FERNANDES, M. S. Nitrogen Remobilization During the Reproductive Period in Two Brazilian Rice Varieties. *Journal of Plant Nutrition*, New York, US, v.21, n.10, p.2049-2063, 1998.
- SVISTOONOFF, S.; CREFF, A.; REYMOND, M.; SIGOILLOT-CLAUDE, C.; RICAUD, L.; BLANCHET, A.; NUSSAUME, L.; DESNOS, T. Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture. *Nat. Genet*, v. 39, p. 792–796, 2007.
- TABUCHI, M.; ABIKO, T.; YAMAYA, T. Assimilation of ammonium ions and reutilization of nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, v.58, n.9, p.2319–2327, 2007.
- WASSON, A. P.; RICHARDS, R. A.; CHATRATH, R.; MISRA, S. C.; PRASAD, S. S.; REBETZKE, G. J.; WATT, M. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of experimental botany*, v.63, p.3485–3498, 2012.
- WERNER, T.; NEHNEVAJOVA, E.; KO'LLMER, I.; NOVAK, O.; STRNAD, M.; KRA'NER, U.; & SCHMU'LLING, T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Cell*, v.22, p.3905– 3920, 2010.
- XU, G.; FAN, X. & MILLER, A.J. Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology*. v.63, p.5.1-5.30, 2012.
- YUAN, L.; LOQUÉ, D.; YE, F.; FROMMER, W. B.; VON WIRÉN, N. Nitrogen-dependent post-transcriptional regulation of the ammonium transporter AtAMT1;1. *Nature*, v.143, p.732–744, 2007.
- ZHANG, H.; FORDE, B.G. An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science*, v.9, p.279:407, 1998.
- SVISTOONOFF, S.; CREFF, A.; REYMOND, M.; SIGOILLOT-CLAUDE, C.; RICAUD, L.; BLANCHET, A.; NUSSAUME, L.; DESNOS, T. Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture. *Nat. Genet*, v. 39, p. 792–796, 2007.
- TEO, Y.H.; BEYROUTY, C.A.; GBUR, E.E. Evaluation of a model to predict nutrient uptake by field-grown rice. *Agronomy Journal*, Madison, v.87, n.1, p. 7-12, 1995
- TILMAN, D. Global environmental impacts of agriculture expansion; the need for sustainable and efficient practices. v. 96, p. 5995-6000, 1999.
- VAN NULAND, A.; VANDORMAEL, P.; DONATON, M.; ALENQUER, M.; LOURENÇO, A.; QUINTINO, E.; VERSELE, M.; THEVELEIN, J. M. Ammonium permease-based sensing mechanism for rapid ammonium activation of the protein kinase A pathway in yeast. *Mol. Microbiol*, V.59, p.1485–1505, 2006.
- VARNEY, G. T.; MCCULLY, M. E. The branch roots of *Zea*: I– First order branches, their number, sizes and division into classes. *Ann Bot (Lond)*. v. 67, p. 357–364, 1991.
- VERCAMBRE, G.; DOUSSAN, C.; PAGÈS, L.; HABIB, R. PIERRET. A Influence of xylem development on axial hydraulic conductance within *Prunus* root systems. *Trees Struct Funct*, v. 16, p. 479–487, 2002.

- WASEL, Y.; ESHEL, A. Differences in ion uptake among roots of various types. *J Plant Nutr* v.15, p. 945–958, 1992.
- WIESLER, F., HORST, W. J. Root growth and nitrate utilization of maize cultivars under field conditions. *Plant Soil*, v.163, p.267–277, 1994.
- 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. J. The estimation of carbohydrate in plants extracts by anthrone. *Biochemistry*, v.57, p.508-514, 1954.
- YOSHIDA, S. *Fundamentals of rice crop science*. Manila: The International Rice Research Institute, 289p, 1981.
- YOSHIDA, S.; HASEGAWA, S. The rice root system: its development and function. IRRI, *Drought resistance in crops with emphasis on rice*, Los Baños, p. 97-114, 1982.
- YONG, L., ZHOU, Y., GUO, S., AND SHEN, Q. Effects of different N forms on root morphology and water absorption of lowland and upland rice plants. *Chin. J. Rice Sci.*, v.21, p, 294–298, 2007.
- YOSHIDA, Y.; BHATTARHACHARJEE, D.P.; CABUSLAY, G.S. Relationship between plant type and root growth in rice. *Soil Science and Plant Nutrition*, Tokyo, v.28, n.4, p.473-482, 1982.
- ZHANG, H.; FORDE, B.G. An Arabidopsis MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science*, v.279 p.407–409, 1998.
- ZHANG, H.; JENNINGS, A.; BARLOW, P.W.; FORDE, B.G. Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, v.96, p.6529–6534, 1999.
- ZHANG, J.; ZHENG, H.G.; AARTI, A.; PANTUWAN, G.; NGUYEN, T.T.; TRIPATHY, J.N.; SARIAL, A.K.; ROBIN, S.; BABU, R.C.; NGUYEN, B.D.; SARKARUNG, S.; BLUM, A.; NGUYEN, H.T. Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species. *Theor. Appl. Genet.*, v.103, p.19–29, 2001.
- ZHANG, H.; RONG, H.; PILBEAM, D. Signalling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, v.58, p.2329–2338, 2007.
- ZHENG, B.S.; YANG, L.; ZHANG, W. P.; MAO, C. Z.; WU, Y.R.; YI, K. K.; LIU, F. Y.; WU, P. Mapping QTLs and candidate genes for rice root traits under different water-supply conditions and comparative analysis across three populations. *Theor. Appl. Genet.*, v.107, p.1505–1515, 2003
- ZOLLA, G.; HEIMER, Y.M.; BARAK, S. Mild salinity stimulates a stress-induced morphogenic response in *Arabidopsis thaliana* roots. *J. Exp. Bot.*, v.61, p.211–224, 2010.
- ZONTA, E. Estudos da tolerância ao alumínio em arroz de sequeiro e seus efeitos sobre a interface solo-planta. 2003. 139p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ. 2003.

7. ANEXO



Figura 1 Anexo. Sistema radicular da variedade IAC-47 cultivado no rizotron por 40 dias após a germinação.



Figura 2 Anexo. Sistema radicular da variedade Manteiga cultivado no rizotron por 40 dias após a germinação.



Figura 3 Anexo. Sistema radicular da variedade Piauí cultivado no rizotron por 40 dias após a germinação.