

Ítalo Vinícius Cantanhêde Santos

Caracterização fisiológica de plantas de arroz transgênicas expressando gene de aquaporina transportadora de nitrogênio de *Vriesea gigantea* Gaudichaud (Bromeliaceae)

Physiological characterization of transgenic rice plants expressing the nitrogen-transporting aquaporin gene of *Vriesea gigantea* Gaudichaud (Bromeliaceae)

São Paulo

2024

RESUMO

O arroz é uma das plantas cultiváveis de maior importância para a espécie humana. Um dos fatores limitantes para seu cultivo é a devida disponibilidade de nutrientes nas lavouras. O nitrogênio (N) é o principal macronutriente essencial para o cultivo do arroz, influenciando diversas características do desenvolvimento da planta, em especial a sua produtividade. Entretanto, a eficiência do uso do nitrogênio (EUN) nas lavouras de arroz é muito baixa. Sendo assim, o desenvolvimento de pesquisas que visem à produção de plantas de arroz com melhor EUN é de grande importância. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização do metabolismo do N de plantas de arroz transgênicas superexpressando constitutivamente o gene de uma aquaporina transportadora de amônio da bromélia epífita com tanque *Vriesea gigantea* (*VgPIP1;2*). Foram obtidas 3 linhagens transgênicas superexpressando *VgPIP1;2*, uma delas, a *VgPIP1;2* 3 se destacou dos demais genótipos quanto à expressão do transgene, ao desenvolvimento inicial das plântulas e quanto ao crescimento das plantas em casa de vegetação. Plantas dessa linhagem e as selvagens (WT - controle) foram cultivadas em hidroponia com solução nutritiva de Yoshida (1976). As raízes dessas plantas foram utilizadas para análises morfológicas, de transcriptoma, por RNAseq e de metaboloma, por cromatografia a gás e espectrometria de massa. As plantas transgênicas apresentaram um sistema radicular mais ramificado do que o das WT. Além disso, as plantas transgênicas apresentaram uma mudança no perfil de expressão gênica de diversas vias metabólicas, em especial a do metabolismo do N, com uma regulação positiva de genes que participam da absorção e assimilação do N, além da biossíntese de aminoácidos. Também foram observadas alterações no perfil dos metabólitos, como um aumento dos níveis de aminoácidos, em especial o aspartato, e açúcares, como a trealose e sacarose nas raízes das plantas transgênicas. Com base nesses resultados fica claro que a superexpressão de *VgPIP1;2* modulou o metabolismo do N nas plantas de arroz, causando alterações positivas no desenvolvimento das plantas transgênicas. Sendo assim, o uso do gene da aquaporina PIP1;2 de *V. gigantea* apresenta grande potencial para o desenvolvimento de cultivares de arroz que apresentem maior produtividade usando menos fertilizantes nitrogenados.

Palavras-chave: Absorção de amônio, Aquaporina, Bromélia, Crescimento vegetal, Germinação, Metabolismo do nitrogênio, Metaboloma, Nutrição nitrogenada, RNAseq, Sistema radicular.

ABSTRACT

Rice is one of the most important crop plants for humankind. One of the limiting factors for its cultivation is the proper availability of nutrients in the fields. Nitrogen (N) is the primary essential macronutrient for rice cultivation, influencing various characteristics of plant development, especially its productivity. However, the nitrogen use efficiency (NUE) in rice fields is very low. Therefore, the development of researches aimed at producing rice plants with better NUE is of great importance. Thus, the objective of this study was to characterize the nitrogen metabolism of transgenic rice plants constitutively overexpressing the gene for an ammonium-transporting aquaporin from the epiphytic bromeliad *Vriesea gigantea* (*VgPIP1;2*). Three transgenic lines overexpressing *VgPIP1;2* were obtained, with one of them (*VgPIP1;2* 3) standing out from the others in terms of transgene expression, initial seedling development, and growth in greenhouse. Plants from this lineage and the wild type (WT - control) were grown in hydroponics with Yoshida's (1976) nutrient solution. The roots of these plants were used for morphological analysis, transcriptome analysis by RNAseq and metabolome analysis by gas chromatography and mass spectrometry. The transgenic plants exhibited a more branched root system than the WT. Besides, the transgenic plants showed a change in the gene expression profile of various metabolic pathways, especially nitrogen metabolism, with upregulation of genes involved in nitrogen uptake and assimilation, as well as amino acid biosynthesis. Changes in the profile of metabolites were also observed, such as an increase in the levels of amino acids, especially aspartate, and sugars, such as trehalose and sucrose, in the roots of transgenic plants. Based on these results, it is clear that the overexpression of *VgPIP1;2* modulated nitrogen metabolism in rice plants, causing positive alterations in the development of transgenic plants. Thus, the use of the PIP1;2 aquaporin gene from *V. gigantea* shows great potential for the development of rice cultivars that exhibit higher productivity using fewer nitrogen fertilizers.

Keywords: Ammonium uptake, Aquaporin, Bromeliad, Plant growth, Germination, Nitrogen metabolism, Metabolome, Nitrogen nutrition, RNAseq, Root system

INTRODUÇÃO

Metabolismo do Nitrogênio

O Nitrogênio (N) é um dos principais elementos minerais presentes nos sistemas biológicos, sendo utilizado para síntese de diversas moléculas orgânicas, tais como: aminoácidos, nucleotídeos, clorofila, fito-hormônios, vitaminas e alcaloides (LAM et al., 2006). O ciclo biogeoquímico desse elemento envolve diversos níveis de organização e moléculas nitrogenadas diferentes, sendo a atmosfera terrestre o maior reservatório de N no planeta, compreendendo 78% de sua composição, na forma de N molecular (N_2) (RAVEN; EICHHORN; EVERT, 2014).

A assimilação do N nos sistemas biológicos se dá, em grande parte, através das plantas, a partir da absorção de formas inorgânicas e posterior incorporação dessas em moléculas orgânicas (KERBAUY, 2019). Nos solos, o N é encontrado principalmente na forma de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), provenientes da fixação atmosférica ou provenientes de descargas elétricas; da fixação biológica, pela ação de micro-organismos simbióticos ou de vida livre; bem como a partir da degradação de matéria orgânica animal e vegetal por fungos e bactérias (TAIZ et al., 2021).

O nitrato absorvido pela planta é convertido em moléculas mais energéticas, primeiramente o nitrito (NO_2^-), pela enzima redutase do nitrato (RN), posteriormente o NO_2^- é reduzido a NH_4^+ pela enzima redutase do nitrito (RNi). Devido à natureza tóxica do amônio, as plantas rapidamente translocam o N dessas moléculas para a formação de aminoácidos (KIRK; KRONZUCKER, 2005). Esse processo se dá através da ação da enzima glutamina sintetase (GS), a qual cataboliza a reação entre o NH_4^+ e o glutamato formando o aminoácido glutamina (Gln) com gasto de energia na forma de ATP (LEA; MIFLIN, 2018).

Em seguida a enzima glutamina-2-oxoglutarato aminotransferase (GOGAT) transfere o N presente na Gln para uma molécula de 2-oxoglutarato formando duas moléculas de glutamato, as quais podem voltar novamente para a formação da Gln ou formar outros aminoácidos, através de reações de transaminação, os quais são transportados para os locais a serem utilizados na planta (LAM et al., 1996). As principais formas aminadas de transporte de nitrogênio nas plantas são os aminoácidos glutamina e asparagina, ambos advindos de reações envolvendo o glutamato (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

A utilização do N nos sítios de consumo compreende a transformação das moléculas nitrogenadas de transporte em outros aminoácidos e a utilização desses na formação de proteínas, esse processo se dá principalmente pela via GS/GOGAT seguido por novo processo de transaminação catabolizado por aminotransferases específicas para cada aminoácido. Essas enzimas estão direta ou indiretamente ligadas à formação do grupo 2-amino de todos os aminoácidos a partir da incorporação do N a esqueletos carbônicos advindos de outros processos metabólicos (KERBAUY, 2019; LAM et al., 1996; LI; FAN; SHEN, 2008).

O N é o macronutriente essencial mais consumido pelas plantas, devido à grande importância desse elemento no desenvolvimento vegetal, sua concentração nos solos e disponibilidade de absorção são fatores limitantes do crescimento das plantas (ESCOBAR; GEISLER; RASMUSSEN, 2006). Além disso, diversas características vegetais podem ser afetadas devido à variação na disponibilidade do N, como desenvolvimento das folhas, floração, dormência de sementes, arquitetura da raiz, tamanho da planta, entre outros (VIDAL; GUTIERREZ, 2008). O sintoma visual principal de deficiência de N em plantas é a observação de clorose em folhas mais velhas seguida de abscisão das mesmas (BUZETTI et al., 2006).

Devido ao ciclo biogeoquímico e à influência que o N tem no metabolismo das plantas, esse nutriente é de extrema importância em sistemas agrícolas de cultivo de plantas alimentícias (LAM et al., 1996). A produção de culturas de alto rendimento está diretamente relacionada à disponibilidade de concentrações ideais de N para as plantas, seja por processos naturais ou pela aplicação de fertilizantes químicos nitrogenados nos solos, sendo estes últimos considerados um dos principais responsáveis pelo aumento da produção mundial de alimentos nos últimos 50 anos, aliado ao melhoramento genético das cultivares (BI et al., 2009; XU; FAN; MILLER, 2012).

Importância do N no cultivo do arroz

Dentre as plantas cultivadas, o arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das mais importantes para a espécie humana, sendo considerado alimento básico para quase metade da população e fornecedor de 19% do suprimento energético na forma de calorias consumidos pelos humanos mundialmente (ELERT, 2014; FENG et al., 2002; GOMES; MAGALHÃES JR, 2004). É a terceira planta mais cultivada no mundo, com

produção anual estimada nos últimos anos de mais de 770 milhões de toneladas cultivadas em cerca de 160 milhões de ha plantados. O Brasil se apresenta como grande produtor mundial de arroz, o 9º no mundo, tendo a safra 2023/2024 estimada em quase 2 milhões de ha plantados e produção de mais de 10,8 milhões de toneladas do grão (FAOSTAT, 2022)

São caracterizados três ecossistemas de plantio de arroz, sendo eles o de terras altas, várzeas úmidas e irrigado por inundação, este último representando a maior parte do arroz produzido no mundo (~80%) e no Brasil (~60%) (BARRIGOSI; LANNA; FERREIRA, 2004; MARRENJO et al., 2016). Nesse tipo de cultivo é realizada a inundação das áreas cultiváveis antes ou depois da semeadura e o solo é mantido alagado até a colheita (BURESH; HAEFELE, 2010). Esse tipo de manejo extrai grandes quantidades de nutrientes do solo, principalmente devido a processos de percolação profunda e drenagem superficial, que podem alterar significativamente a ciclagem de nutrientes e produtividade da cultura (CHIEN; PROCHNOW; CANTARELLA, 2009).

Dentre os nutrientes requeridos para o cultivo de arroz, o N é um dos mais importantes devido ao fato de estar diretamente relacionado com a produtividade da planta, estimulando o crescimento do sistema radicular, aumentando o número de espiguetas e quantidade de proteína presente no grão (ARAÚJO, 2011). Esse mineral é requerido em grande quantidade durante o crescimento das plantas de arroz, cerca de 16 kg de N são absorvidos do solo para a produção de 1 tonelada de arroz não beneficiado (CHOUDHURY; KENNEDY, 2005). A alta absorção de N associada às perdas de nutrientes do solo devido ao processo de alagamento ocasionam uma forte diminuição das concentrações desse mineral nos solos cultivados, necessitando a aplicação em larga escala de fertilizantes químicos para possibilitar o cultivo (LADHA et al., 2016).

O principal fertilizante nitrogenado utilizado nas plantações de arroz é a ureia, devido ao seu custo de produção relativamente baixo em comparação com outros fertilizantes a base de N, o que facilita o acesso dos agricultores a esse produto (ABALOS et al., 2014). No solo em contato com a água, a ureia é hidrolisada, liberando amônia (NH_3), molécula bastante volátil, a qual é convertida no íon amônio. Este possui uma maior estabilidade e é a principal molécula nitrogenada absorvida pelas plantas de arroz (ABALOS et al., 2014). A eficiência do uso do N presente na ureia é baixa, por volta de 30-40%, devido aos processos de volatilização da amônia,

desnitrificação e as perdas do nutriente no solo por lixiviação e escoamento (CHOUDHURY; KENNEDY, 2005). Uma das estratégias utilizadas para tentar maximizar a absorção do N pelas plantas de arroz é a aplicação de elevadas quantidades de fertilizante nos solos em concentrações acima das necessárias para o cultivo da planta (PENG et al., 2010). Dessa maneira, estimasse que sejam utilizadas anualmente mais 100 milhões de toneladas de fertilizantes a base de N no cultivo de plantas, dos quais cerca de 15% é utilizado apenas no cultivo do arroz, tornado esse um dos principais custos na produção do grão (FAOSTAT, 2022; LUDEMANN et al., 2022)

O uso exacerbado de N em sistemas agrícolas pode acarretar diversos problemas ambientais, tais como: aumento da deposição de N, emissão de gases do efeito estufa, principalmente o metano e os óxidos nitroso e nítrico, eutrofização de águas superficiais, *blooms* de algas, alterações na estrutura de comunidades ecológicas, perda de biodiversidade, extinção local de espécies, dentre outros (CHOUDHURY; KENNEDY, 2005; HUANG et al., 2017; ROBERTSON; VITOUSEK, 2009). Esses fenômenos acontecem principalmente devido ao fato de que o N utilizado na agricultura não ser absorvido em sua totalidade pelas plantas e por ser um mineral altamente móvel na biosfera e reativo com diversos outros compostos, influenciando, direta ou indiretamente, diferentes habitats (ROBERTSON; VITOUSEK, 2009).

Em busca do aumento da eficiência do uso do Nitrogênio

Dessa maneira, a busca de estratégias que possam aumentar a eficiência do uso do nitrogênio (EUN), definida geralmente como a produção vegetal em função da quantidade de N aplicado, é de extrema importância para diminuir os impactos ambientais acarretados pelo uso de fertilizantes nitrogenados durante o cultivo (GOOD; SHRAWAT; MUENCH, 2004). Dentre as principais abordagens utilizadas com intuito de aumentar a EUN em sistemas agrícolas estão: disponibilidade de informação aos agricultores para melhorar as tomadas de decisão, o emprego de sistema de rotação de espécies cultivadas, melhoramento dos métodos de aplicação dos fertilizantes e o desenvolvimento de estratégias de recuperação do N perdido no campo (CHERRY et al., 2008).

Além das ferramentas utilizadas *in situ* para melhorar a prática agrícola, existe um grande interesse no estudo em nível molecular da absorção do N e as possíveis aplicações biotecnológicas a ela associadas (BI et al., 2009). Dessa maneira, diversas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de alterar o metabolismo do N em plantas agrícolas, como o arroz, sejam elas em nível de absorção, assimilação e/ou translocação desse nutriente na planta (LEE, 2021). A maior parte dessas estratégias envolve a utilização de plantas transgênicas e/ou mutantes visando à sobre-expressão ou ao silenciamento (*knockout*) de genes específicos, os quais propiciam um aumento da EUN dessas plantas (XU; FAN; MILLER, 2012).

Dentre as ferramentas de transgenia referentes ao metabolismo do N já utilizadas em plantas de arroz, vale destacar aquelas relacionadas aos transportadores de nitrogênio. Plantas de arroz transgênicas para um gene de transportador de amônio (*AMT1;1*) com maior permeabilidade ao NH_4^+ apresentaram um maior crescimento e aumento na produtividade quando cultivadas em condições ótimas e sub-ótimas de N (RANATHUNGE et al., 2014). Estudos anteriores também mostraram que a sobre-expressão do gene transportador *OsAMT1-1*, isolado de cultivar *indica*, em linhagens transgênicas de arroz das cultivares Taipei e Jarrah, possibilitou um aumento da absorção de NH_4^+ em altas e baixas concentrações em cultivo hidropônico (HOQUE et al., 2006; KUMAR et al., 2006). Mais recentemente, foi relatado que a ativação concomitante dos genes do transportador de amônio 1;2 (*OsAMT1;2*) e da glutamato sintase 1 (*OsGOGAT1*) em arroz ocasionou um aumento da tolerância à limitação de nitrogênio e a uma melhor absorção de amônio e remobilização de N em toda planta (LEE et al., 2020)..

As permeases de aminoácidos (AAPs) são proteínas de membranas que estão envolvidas no transporte de AAs para dentro das células. Em arroz, foram identificados cerca de 19 genes dessa família, os quais tem sido recentemente vistos como novos alvos moleculares para o aumento da EUN (LEE, 2021). Peng et. al. (2020a) mostraram que o transportador de aminoácidos *OsAAP6* funciona como um regulador positivo dos níveis de proteína presentes nos grãos e modula a absorção e translocação de uma série de aminoácidos. Linhagens que superexpressaram o gene de APP (*OsAAP1*) apresentaram um maior perfilhamento, que culminou num maior número de grãos cheios. Além disso, as plantas apresentaram uma maior concentração de aminoácidos quando comparadas com as selvagens (JI et al., 2020a). A sobre-expressão de duas variantes de *OsAAP4* também resultou num

aumento de perfilhamento e produtividade através do aumento da absorção de aminoácidos neutros, como valina e prolina (FANG; WU; JI, 2021).

A assimilação de N através da via metabólica GS/GOGAT também foi alvo de estudos de transgenia em arroz, os quais focaram em sua maioria na enzima GS. O *knockout* do gene que codifica a forma citosólica de GS causou uma severa redução de crescimento e enchimento dos grãos, mostrando a grande importância dessa enzima no desenvolvimento das plantas de arroz (TABUCHI et al., 2005). Plantas transgênicas sobre-expressando constitutivamente diferentes formas dessa enzima proveniente de arroz, propiciaram aumento no conteúdo total de nitrogênio, produção de espiguetas e EUN (BRAUER et al., 2011; CAI et al., 2009). Plantas silenciadas para *OsGS1;1* apresentaram um desbalanço nos níveis de açúcares e aminoácidos e um grande acúmulo de metabólitos secundários, o que corrobora a importância dessa enzima na modulação de diferentes vias metabólicas vegetais (KUSANO et al., 2020). Também foram realizados estudos com a forma cloroplastídica de GS (GS2). Em um deles (HOSHIDA et al., 2000), observou-se que a sobre-expressão de GS2 ocasionou um aumento da capacidade de fotorrespiração e resistência à salinidade.

O papel da GOGAT como agente de aumento da EUN tem sido investigado. Plantas de arroz com *knockout* para *OsNADH-OsGOAT1* apresentaram uma diminuição no número de grãos ocasionada pela redução no número de perfilhos (TAMURA et al., 2010a). A sobre-expressão conjunta de *OsAMT1;2* e *OsGOGAT1* propiciou uma melhor assimilação de amônio e remobilização de N na planta sob cultivo em condições limitantes de N (LEE et al., 2020b). Em plantas mutantes para *OsNADH-GOGAT 2* foi observado um grande decréscimo no número de espiguetas por panícula em adição a uma diminuição de biomassa e produtividade, evidenciando o papel importante que essa enzima desempenha no desenvolvimento vegetal (YAMAYA, 2011). A isoforma de GOGAT dependente de ferredoxina também foi alvo de estudos. Observou-se que a mutação de *OsFd-GOGAT* levou à senescência prematura das folhas e desbalanço do equilíbrio C/N (YANG et al., 2016; ZENG et al., 2017).

Além dos estudos envolvendo transportadores e enzimas diretamente relacionados a EUN em arroz, nos últimos anos, grande atenção vem sendo dada a grupos de genes regulatórios que possam estar relacionados com a modulação do metabolismo do N (LEE, 2021). A produção de plantas transgênicas sobre-expressando diferentes fatores de transcrição tem mostrado resultados interessantes,

tais como: o aumento da absorção, assimilação e translocação de N na planta, bem como aumento da produtividade de grãos, crescimento vegetal e da EUN (ALFATIH et al., 2020; CHEN et al., 2018; IWAMOTO; TAGIRI, 2016; KURAI et al., 2011; WANG; LI; LIAN, 2020; WU et al., 2021b; YU et al., 2015).

Fica evidente que o maior foco das pesquisas em nível molecular visando ao aumento da EUN em arroz estão direcionadas à manipulação de genes intraespecíficos através da produção de plantas chamadas de *cisgênicas* (HUANG et al., 2018; STICKLEN, 2015). Poucos são os trabalhos que visam identificar e avaliar possíveis alvos moleculares em organismos de outras espécies que possam conferir um melhoramento no uso do N em plantas de arroz.

Apesar de escassos, alguns resultados interessantes foram obtidos em trabalhos que utilizaram genes de outras espécies na transformação do arroz, como o aumento de produtividade de plantas de arroz transgênicas superexpressando *TaGS1* de trigo (WU et al., 2021a), bem como o aumento da biomassa da parte aérea em plantas de arroz que superexpressavam o gene *HvAlaAT*, que codifica uma aminotransferase de cevada (TIONG et al., 2021a). De modo similar, a sobre-expressão do gene homólogo de pepino (*CsAlaAT2*) (SISHARMINI et al., 2019) também aumentou a biomassa das plantas e elevou o número de perfilhos. Além disso, foi observado aumentos consideráveis na altura e massa fresca de plantas sobre-expressando o gene de um transportador de amônio de cana de açúcar (*ScAMT1.1*) (GAO et al., 2023).

Observa-se que, mesmo os trabalhos que utilizam genes de outras espécies vegetais para transferência em arroz, ainda são muito restritos a busca de genes-candidatos em espécies cultiváveis, deixando quase totalmente de lado o grande potencial biotecnológico que plantas nativas podem apresentar. Sendo assim, a elucidação do metabolismo do N e suas vias moleculares relacionadas, bem como a identificação de variações fisiológicas observadas em espécies vegetais que apresentam características únicas relacionadas ao EUN, compreendem um importante passo para a descoberta de potenciais alvos moleculares para aplicações biotecnológicas, visando ao aumento da EUN em plantas de interesse econômico, como o arroz (ROBERTSON; VITOUSEK, 2009).

Metabolismo do N em *Vriesea gigantea* e seu potencial biotecnológico para o melhoramento do arroz

Dentre as plantas nativas que apresentam características peculiares quanto ao metabolismo do N e suas formas preferenciais de absorção, pode-se destacar *Vriesea gigantea* Gaudichaud, uma bromélia epífita formadora de tanque, endêmica do Brasil e nativa da Mata Atlântica (SAMPAIO et al., 2012). Bromélias epífitas têm pouco ou nenhum acesso a obtenção de água e nutrientes do solo através das raízes e são fortemente limitadas pela deficiência de N (BENZING, 2000). No estágio de vida adulta, plantas de *V. gigantea* formam uma estrutura chamada de tanque, através da sobreposição das folhas de maneira imbricada, a qual permite a retenção de água vinda da precipitação e o acúmulo de matéria orgânica proveniente do forófito (ROMERO et al., 2006).

Espécies desse gênero apresentam uma variação funcional das raízes durante o seu desenvolvimento, sendo que na fase atmosférica são importantes na absorção de água, enquanto em bromélias com tanque já formado, elas são responsáveis pela fixação da planta no forófito (VANHOUTTE et al., 2017). Também são observadas diferenças estruturais e fisiológicas entre as porções apicais e basais de folhas de plantas adultas, o limbo foliar de *V. gigantea* é coberto por um tipo especial de tricomas que promovem uma rápida absorção de água e nutrientes da solução aquosa presente nos tanques (INSELBACHER et al., 2007), substituindo a função absorptiva atribuída às raízes (TAKAHASHI; COUTINHO NETO; MERCIER, 2022). Particularmente, a porção basal das folhas apresentam uma maior densidade desses tricomas (TAKAHASHI; CECCANTINI; MERCIER, 2007).

Nos tanques das bromélias podem ser encontrados pequenos animais vertebrados e invertebrados, sendo suas excretas importantes fontes de N orgânico na forma de ureia (Q. ROMERO et al., 2010; ROMERO et al., 2006). *Vriesea gigantea* apresenta uma alta capacidade de absorção desse composto pelas folhas sem observação de saturação de transportadores mesmo em altas concentrações (ENDRES; MERCIER, 2001a). Além disso, essas plantas produzem a enzima urease, a qual é secretada para o interior do tanque, possibilitando a utilização da ureia disponível através da reação de hidrólise, resultando em amônio e carbamato, os quais são absorvidos pela planta (AGUETONI CAMBUÍ; GASPARI; MERCIER, 2009).

Na natureza, NH_4^+ e ureia são as fontes de N mais comuns encontradas nos tanques de *V. gigantea*, as quais são também as formas preferenciais de absorção das plantas (INSELBACHER et al., 2007). O amônio, por exemplo, é rapidamente absorvido pelos tricomas mais densamente localizados na porção basal das folhas, e

evidências sugerem que o NH_4^+ é então transportado para o ápice foliar, onde é observada uma maior atividade das enzimas GS e GOGAT, que realizam a assimilação dessa molécula (TAKAHASHI; MERCIER, 2011a).

Em um trabalho mais recente (MATIZ et al., 2017), foi realizada a identificação e isolamento de genes de aquaporinas (AQP) de *V. gigantea* (*VgTIP2;1* e *VgPIP1;2*), os quais foram caracterizados funcionalmente através de expressão heteróloga em oócitos de *Xenopus* e em leveduras. As proteínas transcritas a partir desses genes foram relacionadas ao transporte de N através da membrana plasmática, sendo que, além de água, *VgTIP2;1* também foi capaz de transportar ureia, enquanto *VgPIP1;2* facilitou a absorção diferencial de NH_4^+ . Esses resultados sugerem que algumas AQPs foliares de *V. gigantea* podem maximizar a absorção de N em ambientes com deficiência desse mineral.

Tendo em vista o grande aumento da população humana nas últimas décadas bem como a tendência de continuação desse quadro para as próximas, com estimativas de que a espécie humana alcance 9,2 bilhões de indivíduos em 2050, a devida atenção deve ser dada para o desafio de alimentar esse crescente número de pessoas, bem como os impactos ambientais relacionados a esse processo (BONGAARTS, 2009; PENG et al., 2010). O N é um dos principais fatores limitantes na produção agrícola na maior parte do mundo e corresponde a um dos principais custos de produção (ELERT, 2014).

Sendo o arroz uma das plantas alimentícias mais importantes para a espécie humana, tanto do ponto de vista nutricional, por ser consumida por mais de metade da população mundial, bem como do econômico, devido ao fato de seu cultivo compreender um mercado multibilionário, é importante fomentar a realização de pesquisas que visem ao desenvolvimento de plantas que apresentem uma maior eficiência na utilização desse recurso (BI et al., 2009; CHAUHAN; JABRAN; MAHAJAN, 2017; ELERT, 2014; HU et al., 2023; LADHA et al., 2016).

Vriesea gigantea apresenta dinâmica de uso do N semelhante a observada no arroz, no sentido de que também tem preferência pelas formas amoniacal e ureídica, em detrimento da nítrica. Há evidências de que a ureia pode também ser absorvida diretamente, sendo metabolizada no interior da planta (ENDRES; MERCIER, 2001b; INSELSBACHER et al., 2007; TAKAHASHI; CECCANTINI; MERCIER, 2007).

Similarmente, o arroz cultivado em plantio alagado possui preferência por amônio em detrimento do nitrato e nas lavouras o principal fertilizante nitrogenado

utilizado é a ureia, a qual é hidrolisada nos solos por microrganismos e disponibilizada para as plantas na forma de amônio (SHRAWAT et al., 2008). Além disso, foi identificado e caracterizado uma permease em arroz (DUR3) que possibilita o transporte de alta afinidade de ureia do meio externo para o interior da planta onde é hidrolisada e o amônio liberado é absorvido pela planta (BEIER et al., 2019; WANG et al., 2012).

Devido às semelhanças em relação ao metabolismo do N observadas entre *V. gigantea* e *O. sativa*, foi imaginado que uma possível inserção do gene *PIP1;2* de *Vriesea gigantea* pudesse trazer benefícios à captura do NH_4^+ pelo arroz, principalmente quando este estivesse em baixas concentrações no ambiente.

Espera-se que a inserção e sobre-expressão do gene da aquaporina de *V. gigantea* (*VgPIP1;2*) em arroz possa promover um aumento na absorção, assimilação e/ou armazenamento de moléculas nitrogenadas nessas plantas, bem como a alteração dos padrões de expressão de genes diretamente ligados ao metabolismo do N ou outras vias metabólicas correlatas, o que poderia promover alterações positivas em relação a parâmetros morfológicos ao longo do desenvolvimento das plantas.

CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos neste trabalho é possível indicar algumas conclusões sobre a caracterização das plantas transgênicas de arroz a respeito do metabolismo do N:

- Foram obtidas três linhagens transgênicas de arroz superexpressando constitutivamente o gene da aquaporina transportadora de água e amônio de *Vrisea gigantea* (*VgPIP1;2*);

- A superexpressão de *VgPIP1;2* nas plantas de arroz causou diferentes alterações na morfologia, fisiologia e desenvolvimento das plantas;

- As linhagens transgênicas expressando *VgPIP1;2* apresentaram um melhor desenvolvimento inicial quando germinadas em placas de Petri com água;

- O cultivo das plantas em vasos em casa de vegetação resultou em um crescimento diferencial entre os genótipos, com a linhagem *VgPIP1;2 3* apresentando maior número de perfilhos e folhas;

- A superexpressão de *VgPIP1;2* na linhagem *VgPIP1;2 3* causou uma mudança na arquitetura das raízes das plantas quando cultivadas em sistema de hidroponia com solução nutritiva contendo nitrato e amônio;

- A superexpressão de *VgPIP1;2* causou um aumento nos níveis de aminoácidos livres totais presentes nas raízes das plantas da linhagem *VgPIP1;2 3* cultivadas em sistema hidropônico com nitrato e amônio como fontes nitrogenadas;

- As raízes das plantas da linhagem *VgPIP1;2 3* apresentaram um perfil de expressão gênica diferente quando comparadas com as plantas selvagem, com alterações na expressão de genes de diferentes vias metabólicas, como o metabolismo do N, sinalização hormonal, biossíntese de aminoácidos, metabolismo do C, dentre outros;

- O perfil dos metabólitos das raízes das plantas da linhagem *VgPIP1;2 3* e das selvagens cultivadas em hidroponia com amônio e nitrato como fontes nitrogenadas apresentou diferenças entre si, em especial quanto aos níveis de açúcares e aminoácidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALOS, D. et al. Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 189, p. 136–144, 2014.
- ADAMS, Z. P.; EHLTING, J.; EDWARDS, R. The regulatory role of shikimate in plant phenylalanine metabolism. **Journal of theoretical biology**, v. 462, p. 158–170, 2019.
- AGUETONI CAMBUÍ, C.; GASPAR, M. LIA; MERCIER, H. Detection of urease in the cell wall and membranes from leaf tissues of bromeliad species. **Physiologia plantarum**, v. 136, n. 1, p. 86–93, 2009.
- ALFATIH, A. et al. Rice NIN-LIKE PROTEIN 1 rapidly responds to nitrogen deficiency and improves yield and nitrogen use efficiency. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 19, p. 6032–6042, 2020.
- ALI, A. S.; ELOZEIRI, A. A. Metabolic processes during seed germination. **Advances in seed biology**, v. 2017, p. 141–166, 2017.
- ANSARI, M. I. et al. GABA shunt: a key-player in mitigation of ROS during stress. **Plant Growth Regulation**, v. 94, p. 131–149, 2021.
- ARAÚJO, A. M. S. DE. Absorção e metabolismo de nitrogênio por arroz em diferentes agroecossistemas sob disponibilidade sazonal de N-NO₃. 2011.
- BALESTRASSE, K. B.; GALLEGRO, S. M.; TOMARO, M. L. Oxidation of the enzymes involved in nitrogen assimilation plays an important role in the cadmium-induced toxicity in soybean plants. **Plant and soil**, v. 284, p. 187–194, 2006.
- BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. Agrotóxicos no cultivo do arroz no Brasil: análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo. **Embrapa Arroz e Feijão. Circular técnica**, 2004.
- BASLAM, M. et al. Recent advances in carbon and nitrogen metabolism in C3 plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 318, 2020.
- BEIER, M. P. et al. The urea transporter DUR3 contributes to rice production under nitrogen-deficient and field conditions. **Physiologia Plantarum**, v. 167, n. 1, p. 75–89, 2019.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, 1995.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation**. [s.l.] Cambridge University Press, 2000.
- BETTS, S. D. et al. Uniform expression and relatively small position effects characterize sister transformants in maize and soybean. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 1209, 2019.

BIELA, A. et al. The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol. **The Plant Journal**, v. 18, n. 5, p. 565–570, 1999.

BI, Y. et al. Increased nitrogen-use efficiency in transgenic rice plants over-expressing a nitrogen-responsive early nodulin gene identified from rice expression profiling. **Plant, cell & environment**, v. 32, n. 12, p. 1749–1760, 2009.

BONGAARTS, J. Human population growth and the demographic transition. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1532, p. 2985–2990, 2009.

BONNER, E. R. et al. Molecular basis of cysteine biosynthesis in plants: structural and functional analysis of O-acetylserine sulfhydrylase from *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 46, p. 38803–38813, 2005.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.

BRAUER, E. K. et al. Reappraisal of nitrogen use efficiency in rice overexpressing glutamine synthetase1. **Physiologia plantarum**, v. 141, n. 4, p. 361–372, 2011.

BRITTO, D. T.; KRONZUCKER, H. J. Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new views on old paradigms. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 11, p. 1396–1409, 2005.

BRYCE, J. H.; THORNTON, J. M. Respiration and growth metabolism. Em: **Photoassimilate Distribution Plants and Crops Source-Sink Relationships**. [s.l.] Routledge, 2017. p. 43–62.

BURESH, R. J.; HAEFELE, S. M. **Changes in paddy soils under transition to water-saving and diversified cropping systems**. World Congress of Soil Science, Brisbane, Australia. **Anais...**2010.

BUYEL, J. F.; STÖGER, E.; BORTESI, L. Targeted genome editing of plants and plant cells for biomanufacturing. **Transgenic Research**, v. 30, n. 4, p. 401–426, 2021.

BUZETTI, S. et al. Resposta de cultivares de arroz a doses de nitrogênio e do regulador de crescimento cloreto de cloromequat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 1731–1737, 2006.

CAI, H. et al. Overexpressed glutamine synthetase gene modifies nitrogen metabolism and abiotic stress responses in rice. **Plant cell reports**, v. 28, n. 3, p. 527–537, 2009.

CARTHEW, R. W. Gene regulation and cellular metabolism: an essential partnership. **Trends in Genetics**, v. 37, n. 4, p. 389–400, 2021.

CASTEGNA, A.; MENGA, A. Glutamine synthetase: localization dictates outcome. **Genes**, v. 9, n. 2, p. 108, 2018.

CHAUHAN, B. S.; JABRAN, K.; MAHAJAN, G. **Rice production worldwide**. [s.l.] Springer, 2017. v. 247

- CHEN, H. et al. OsMADS27 regulates the root development in a NO₃⁻—Dependent manner and modulates the salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Science**, v. 277, p. 20–32, 2018.
- CHEN, Y. et al. Over-expression of OsPIN2 leads to increased tiller numbers, angle and shorter plant height through suppression of OsLAZY1. **Plant biotechnology journal**, v. 10, n. 2, p. 139–149, 2012a.
- CHEN, Y. et al. Over-expression of OsPIN2 leads to increased tiller numbers, angle and shorter plant height through suppression of OsLAZY1. **Plant biotechnology journal**, v. 10, n. 2, p. 139–149, 2012b.
- CHERRY, K. A. et al. Assessing the effectiveness of actions to mitigate nutrient loss from agriculture: a review of methods. **Science of the Total Environment**, v. 406, n. 1–2, p. 1–23, 2008.
- CHIEN, S. H.; PROCHNOW, L. I.; CANTARELLA, A. H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. **Advances in agronomy**, v. 102, p. 267–322, 2009.
- CHONG, J. et al. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W486–W494, 2018.
- CHOUDHURY, A.; KENNEDY, I. R. Nitrogen fertilizer losses from rice soils and control of environmental pollution problems. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 36, n. 11–12, p. 1625–1639, 2005.
- COCK, J.; YOSHIDA, S.; FORNO, D. A. **Laboratory manual for physiological studies of rice**. [s.l.] Int. Rice Res. Inst., 1976.
- COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v. 40, n. 2, p. 436–443, 2000.
- COUTURIER, J. et al. Cysteine-based redox regulation and signaling in plants. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 48641, 2013.
- CZOLPINSKA, M.; RUREK, M. Plant glycine-rich proteins in stress response: An emerging, still prospective story. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 327614, 2018.
- DEUTSCH, J. C. Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide. **Analytical biochemistry**, v. 255, n. 1, p. 1–7, 1998.
- DING, W. et al. Isolation, characterization and transcriptome analysis of a cytokinin receptor mutant *Oskt1* in rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 88, 2017.
- DOMÍNGUEZ-VALDIVIA, M. D. et al. Nitrogen nutrition and antioxidant metabolism in ammonium-tolerant and-sensitive plants. **Physiologia Plantarum**, v. 132, n. 3, p. 359–369, 2008.
- DU, Y.; SCHERES, B. Lateral root formation and the multiple roles of auxin. **Journal of experimental botany**, v. 69, n. 2, p. 155–167, 2018.
- ELERT, E. Rice by the numbers: A good grain. **Nature**, v. 514, p. S50, 2014.

ENDRES, L.; MERCIER, H. Ammonium and urea as nitrogen sources for bromeliads. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 2, p. 205–212, 2001a.

ENDRES, L.; MERCIER, H. Influence of nitrogen forms on the growth and nitrogen metabolism of bromeliads. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 29–42, 2001b.

ESCOBAR, M. A.; GEISLER, D. A.; RASMUSSEN, A. G. Reorganization of the alternative pathways of the Arabidopsis respiratory chain by nitrogen supply: opposing effects of ammonium and nitrate. **The Plant Journal**, v. 45, n. 5, p. 775–788, 2006.

FANG, Z.; WU, B.; JI, Y. The amino acid transporter OsAAP4 contributes to rice tillering and grain yield by regulating neutral amino acid allocation through two splicing variants. **Rice**, v. 14, p. 1–17, 2021.

FAN, X. et al. Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 26, p. 7118–7123, 2016.

FAOSTAT, F. Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **FAO Statistical Databases**, 2022.

FENG, H. et al. Spatial expression and regulation of rice high-affinity nitrate transporters by nitrogen and carbon status. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 7, p. 2319–2332, 2011.

FENG, Q. et al. Sequence and analysis of rice chromosome 4. **Nature**, v. 420, n. 6913, p. 316, 2002.

FICHTNER, F.; LUNN, J. E. The role of trehalose 6-phosphate (Tre6P) in plant metabolism and development. **Annual Review of Plant Biology**, v. 72, p. 737–760, 2021.

FORDE, B. G. Nitrogen signalling pathways shaping root system architecture: an update. **Current opinion in plant biology**, v. 21, p. 30–36, 2014.

FORTUNATO, S. et al. The Role of Glutamine Synthetase (GS) and Glutamate Synthase (GOGAT) in the Improvement of Nitrogen Use Efficiency in Cereals. **Biomolecules**, v. 13, n. 12, p. 1771, 2023.

GALILI, G.; AMIR, R.; FERNIE, A. R. The regulation of essential amino acid synthesis and accumulation in plants. **Annual review of plant biology**, v. 67, p. 153–178, 2016.

GAO, S. et al. CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE4 integrates cytokinin and auxin signaling to control rice crown root formation. **Plant physiology**, v. 165, n. 3, p. 1035–1046, 2014.

GAO, S. et al. Ectopic Expression of Sugarcane ScAMT1. 1 Has the Potential to Improve Ammonium Assimilation and Grain Yield in Transgenic Rice under Low Nitrogen Stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, p. 1595, 2023.

GASPAR, M. et al. Cloning and characterization of ZmPIP1-5b, an aquaporin transporting water and urea. **Plant Science**, v. 165, n. 1, p. 21–31, 2003.

GE, S. X.; JUNG, D.; YAO, R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. **Bioinformatics**, v. 36, n. 8, p. 2628–2629, 2020.

GE, S. X.; SON, E. W.; YAO, R. iDEP: an integrated web application for differential expression and pathway analysis of RNA-Seq data. **BMC bioinformatics**, v. 19, p. 1–24, 2018.

GOBARA, B. N. K. et al. How does a C3 epiphytic tank bromeliad respond to drought? **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 192, n. 4, p. 855–867, 2020.

GOMES, A. DA S.; MAGALHÃES JR, A. M. DE. **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. [s.l.] Embrapa Clima Temperado; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

GONÇALVES, A. Z.; MERCIER, H. Transcriptomic and Biochemical Analysis Reveal Integrative Pathways Between Carbon and Nitrogen Metabolism in *Guzmania monostachia* (Bromeliaceae) Under Drought. **Frontiers in plant science**, p. 2248, 2021.

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.

GUEVARA, D. R.; BI, Y.-M.; ROTHSTEIN, S. J. Identification of regulatory genes to improve nitrogen use efficiency. **Canadian journal of plant science**, v. 94, n. 6, p. 1009–1012, 2014.

GU, J. et al. Roles of nitrogen and cytokinin signals in root and shoot communications in maximizing of plant productivity and their agronomic applications. **Plant Science**, v. 274, p. 320–331, 2018.

GU, J.; YANG, J. Nitrogen (N) transformation in paddy rice field: Its effect on N uptake and relation to improved N management. **Crop and Environment**, v. 1, n. 1, p. 7–14, 2022.

GUO, N. et al. Function, transport, and regulation of amino acids: What is missing in rice? **The Crop Journal**, v. 9, n. 3, p. 530–542, 2021.

HAN, M. et al. L-aspartate: An essential metabolite for plant growth and stress acclimation. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1887, 2021.

HAN, Q.; PHILLIPS, R. S.; LI, J. **Aromatic amino acid metabolism**. **Frontiers in molecular biosciences** Frontiers Media SA, , 2019.

HARTMANN, H. et al. Plant carbon allocation in a changing world—challenges and progress. **The New Phytologist**, v. 227, n. 4, p. 981–988, 2020.

HASSAN, M. U. et al. Trehalose: a key player in plant growth regulation and tolerance to abiotic stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 8, p. 4935–4957, 2023.

HAYAT, F. et al. γ Aminobutyric acid (GABA): a key player in alleviating abiotic stress resistance in horticultural crops: current insights and future directions. **Horticulturae**, v. 9, n. 6, p. 647, 2023.

- HECKWOLF, M. et al. The Arabidopsis thaliana aquaporin AtPIP1; 2 is a physiologically relevant CO₂ transport facilitator. **The Plant Journal**, v. 67, n. 5, p. 795–804, 2011.
- HOQUE, M. S. et al. Over-expression of the rice OsAMT1-1 gene increases ammonium uptake and content, but impairs growth and development of plants under high ammonium nutrition. **Functional Plant Biology**, v. 33, n. 2, p. 153–163, 2006.
- HOSHIDA, H. et al. Enhanced tolerance to salt stress in transgenic rice that overexpresses chloroplast glutamine synthetase. **Plant molecular biology**, v. 43, p. 103–111, 2000.
- HUANG, L. et al. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.). **Ecological Engineering**, v. 58, p. 355–362, 2013.
- HUANG, M. et al. Higher yields of hybrid rice do not depend on nitrogen fertilization under moderate to high soil fertility conditions. **Rice**, v. 10, n. 1, p. 43, 2017.
- HUANG, S. et al. Nitrogen use efficiency in rice. **Nitrogen in agriculture-updates**, p. 187–208, 2018.
- HU, B. et al. Genetic improvement toward nitrogen-use efficiency in rice: lessons and perspectives. **Molecular Plant**, v. 16, n. 1, p. 64–74, 2023.
- IGAMBERDIEV, A. U.; KLECZKOWSKI, L. A. The glycerate and phosphorylated pathways of serine synthesis in plants: the branches of plant glycolysis linking carbon and nitrogen metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 349874, 2018.
- INSELSBACHER, E. et al. Microbial activities and foliar uptake of nitrogen in the epiphytic bromeliad *Vriesea gigantea*. **New Phytologist**, v. 175, n. 2, p. 311–320, 2007.
- IWAMOTO, M.; TAGIRI, A. Micro RNA-targeted transcription factor gene RDD 1 promotes nutrient ion uptake and accumulation in rice. **The Plant Journal**, v. 85, n. 4, p. 466–477, 2016.
- JING, H.; STRADER, L. C. Interplay of auxin and cytokinin in lateral root development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 3, p. 486, 2019.
- JI, Y. et al. The amino acid transporter AAP1 mediates growth and grain yield by regulating neutral amino acid uptake and reallocation in *Oryza sativa*. **Journal of experimental botany**, v. 71, n. 16, p. 4763–4777, 2020a.
- JI, Y. et al. The amino acid transporter AAP1 mediates growth and grain yield by regulating neutral amino acid uptake and reallocation in *Oryza sativa*. **Journal of experimental botany**, v. 71, n. 16, p. 4763–4777, 2020b.
- JOHN, R. et al. Trehalose: metabolism and role in stress signaling in plants. **Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 2**, p. 261–275, 2017.

- JOSHI, R. et al. Enhancing trehalose biosynthesis improves yield potential in marker-free transgenic rice under drought, saline, and sodic conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 653–668, 2020.
- JOSHI, V. et al. Interdependence of threonine, methionine and isoleucine metabolism in plants: accumulation and transcriptional regulation under abiotic stress. **Amino acids**, v. 39, p. 933–947, 2010.
- KAMADA-NOBUSADA, T. et al. Nitrogen-dependent regulation of de novo cytokinin biosynthesis in rice: the role of glutamine metabolism as an additional signal. **Plant and Cell Physiology**, v. 54, n. 11, p. 1881–1893, 10 out. 2013.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 3^a ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan Ltda, 2019.
- KESHISHIAN, E. A.; RASHOTTE, A. M. Plant cytokinin signalling. **Essays in biochemistry**, v. 58, p. 13–27, 2015.
- KHAN, M. I. R. et al. Role of GABA in plant growth, development and senescence. **Plant Gene**, v. 26, p. 100283, 2021a.
- KHAN, M. I. R. et al. Role of GABA in plant growth, development and senescence. **Plant Gene**, v. 26, p. 100283, 2021b.
- KIEBER, J. J.; SCHALLER, G. E. Cytokinin signaling in plant development. **Development**, v. 145, n. 4, p. dev149344, 2018.
- KIM, D. et al. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. **Nature biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 907–915, 2019.
- KIRK, G. J. D.; KRONZUCKER, H. J. The potential for nitrification and nitrate uptake in the rhizosphere of wetland plants: a modelling study. **Annals of botany**, v. 96, n. 4, p. 639, 2005.
- KO, D. et al. Arabidopsis ABCG14 is essential for the root-to-shoot translocation of cytokinin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 19, p. 7150–7155, 2014.
- KOPKA, J. et al. GMD@ CSB. DB: the Golm metabolome database. **Bioinformatics**, v. 21, n. 8, p. 1635–1638, 2005.
- KRAPP, A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. **Current opinion in plant biology**, v. 25, p. 115–122, 2015.
- KUMAR, A. et al. Functional characterisation of OsAMT1. 1 overexpression lines of rice, *Oryza sativa*. **Functional Plant Biology**, v. 33, n. 4, p. 339–346, 2006.
- KURAI, T. et al. Introduction of the ZmDof1 gene into rice enhances carbon and nitrogen assimilation under low-nitrogen conditions. **Plant Biotechnology Journal**, v. 9, n. 8, p. 826–837, 2011.
- KUSANO, M. et al. Cytosolic GLUTAMINE SYNTHETASE1; 1 modulates metabolism and chloroplast development in roots. **Plant physiology**, v. 182, n. 4, p. 1894–1909, 2020.

- LADHA, J. K. et al. Global nitrogen budgets in cereals: A 50-year assessment for maize, rice, and wheat production systems. **Scientific reports**, v. 6, p. 19355, 2016.
- LAL, S. K. et al. Concurrent Overexpression of Rice GS1; 1 and GS2 Genes to Enhance the Nitrogen Use Efficiency (NUE) in Transgenic Rice. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1–22, 2023.
- LAM, H. et al. Putative nitrogen sensing systems in higher plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 48, n. 8, p. 873–888, 2006.
- LAM, H.-M. et al. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. **Annual review of plant biology**, v. 47, n. 1, p. 569–593, 1996.
- LEA, P. J.; MIFLIN, B. J. Nitrogen assimilation and its relevance to crop improvement. **Annual Plant Reviews online**, p. 1–40, 2018.
- LEE, S. et al. Concurrent activation of OsAMT1; 2 and OsGOGAT1 in rice leads to enhanced nitrogen use efficiency under nitrogen limitation. **The Plant Journal**, v. 103, n. 1, p. 7–20, 2020a.
- LEE, S. et al. Concurrent activation of OsAMT1; 2 and OsGOGAT1 in rice leads to enhanced nitrogen use efficiency under nitrogen limitation. **The Plant Journal**, v. 103, n. 1, p. 7–20, 2020b.
- LEE, S. et al. OsASN1 overexpression in rice increases grain protein content and yield under nitrogen-limiting conditions. **Plant and Cell Physiology**, v. 61, n. 7, p. 1309–1320, 2020c.
- LEE, S. Recent advances on nitrogen use efficiency in rice. **Agronomy**, v. 11, n. 4, p. 753, 2021.
- LIANG, T. et al. Integrative transcriptomic and proteomic analysis reveals an alternative molecular network of glutamine synthetase 2 corresponding to nitrogen deficiency in rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7674, 2021.
- LI, H.; HU, B.; CHU, C. Nitrogen use efficiency in crops: lessons from Arabidopsis and rice. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 10, p. 2477–2488, 2017.
- LI, L. et al. The versatile GABA in plants. **Plant signaling & behavior**, v. 16, n. 3, p. 1862565, 2021a.
- LI, L. et al. The versatile GABA in plants. **Plant signaling & behavior**, v. 16, n. 3, p. 1862565, 2021b.
- LIMA, J. E. et al. Ammonium triggers lateral root branching in Arabidopsis in an AMMONIUM TRANSPORTER1; 3-dependent manner. **The Plant Cell**, v. 22, n. 11, p. 3621–3633, 2010.
- LIMA, V. F. et al. Gas chromatography–mass spectrometry-based ¹³C-labeling studies in plant metabolomics. **Plant Metabolomics: Methods and Protocols**, p. 47–58, 2018.

LINQUIST, B. A. et al. Enhanced efficiency nitrogen fertilizers for rice systems: Meta-analysis of yield and nitrogen uptake. **Field Crops Research**, v. 154, p. 246–254, 2013.

LISEC, J. et al. Gas chromatography mass spectrometry–based metabolite profiling in plants. **Nature protocols**, v. 1, n. 1, p. 387–396, 2006.

LIU, X.; HU, B.; CHU, C. Nitrogen assimilation in plants: current status and future prospects. **Journal of genetics and genomics**, v. 49, n. 5, p. 394–404, 2022.

LIU, Y.; VON WIRÉN, N. Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 10, p. 2581–2592, 2017.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, 2001.

LI, Y. L.; FAN, X. R.; SHEN, Q. R. The relationship between rhizosphere nitrification and nitrogen-use efficiency in rice plants. **Plant, cell & environment**, v. 31, n. 1, p. 73–85, 2008.

LÓPEZ-HIDALGO, C. et al. **The rainbow protocol: A sequential method for quantifying pigments, sugars, free amino acids, phenolics, flavonoids and MDA from a small amount of sample.** [s.l.] Wiley Online Library, 2021.

LOVE, M.; ANDERS, S.; HUBER, W. Differential analysis of count data–the DESeq2 package. **Genome Biol**, v. 15, n. 550, p. 10–1186, 2014.

LUDEMANN, C. I. et al. Global data on fertilizer use by crop and by country. **Scientific data**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2022.

LU, K. et al. Blocking amino acid transporter Os AAP 3 improves grain yield by promoting outgrowth buds and increasing tiller number in rice. **Plant Biotechnology Journal**, v. 16, n. 10, p. 1710–1722, 2018.

LUNN, J. E. et al. Trehalose metabolism in plants. **The Plant Journal**, v. 79, n. 4, p. 544–567, 2014.

LUO, L.; ZHANG, Y.; XU, G. How does nitrogen shape plant architecture? **Journal of experimental botany**, v. 71, n. 15, p. 4415–4427, 2020.

LYNCH, J. H.; DUDAREVA, N. Aromatic amino acids: a complex network ripe for future exploration. **Trends in plant science**, v. 25, n. 7, p. 670–681, 2020.

MANN, D. G. J. et al. Gateway-compatible vectors for high-throughput gene functional analysis in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) and other monocot species. **Plant biotechnology journal**, v. 10, n. 2, p. 226–236, 2012.

MÁRQUEZ, G.; ALARCÓN, M. V.; SALGUERO, J. Cytokinin inhibits lateral root development at the earliest stages of lateral root primordium initiation in maize primary root. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, n. 1, p. 83–92, 2019.

MARRENJO, G. J. et al. Impactos do cultivo por longo tempo de arroz inundado em Gleissolos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 8, p. 967–977, 2016.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of botany**, v. 105, n. 7, p. 1141–1157, 2010.

MATIZ, A. et al. Utilization of urea by leaves of bromeliad *Vriesea gigantea* under water deficit: much more than a nitrogen source. **Biologia plantarum**, v. 61, n. 4, p. 751–762, 2017.

MATIZ, A. et al. Involvement of aquaporins on nitrogen-acquisition strategies of juvenile and adult plants of an epiphytic tank-forming bromeliad. **Planta**, v. 250, p. 319–332, 2019.

MATYSIAK, K. et al. Effect of exogenous application of amino acids l-arginine and glycine on maize under temperature stress. **Agronomy**, v. 10, n. 6, p. 769, 2020.

MILLAR, A. H. et al. Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants. **Annual review of plant biology**, v. 62, p. 79–104, 2011.

MIOTO, P. T.; MERCIER, H. Abscisic acid and nitric oxide signaling in two different portions of detached leaves of *Guzmania monostachia* with CAM up-regulated by drought. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 11, p. 996–1002, 2013.

MOHAMMED, S.; ABD SAMAD, A.; RAHMAT, Z. Agrobacterium-mediated transformation of rice: constraints and possible solutions. **Rice Science**, v. 26, n. 3, p. 133–146, 2019.

MONDAL, R.; KUMAR, A.; CHATTOPADHYAY, S. K. Structural property, molecular regulation, and functional diversity of glutamine synthetase in higher plants: a data-mining bioinformatics approach. **The Plant Journal**, v. 108, n. 6, p. 1565–1584, 2021.

MU, X.; CHEN, Y. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 76–82, 2021.

NOCTOR, G. et al. Glutathione in plants: an integrated overview. **Plant, cell & environment**, v. 35, n. 2, p. 454–484, 2012.

NOROOZLO, Y. A.; SOURI, M. K.; DELSHAD, M. Stimulation effects of foliar applied glycine and glutamine amino acids on lettuce growth. **Open Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 164–172, 2019.

OHASHI, M. et al. Lack of cytosolic glutamine synthetase1; 2 in vascular tissues of axillary buds causes severe reduction in their outgrowth and disorder of metabolic balance in rice seedlings. **The Plant Journal**, v. 81, n. 2, p. 347–356, 2015.

PENFIELD, S. Seed dormancy and germination. **Current Biology**, v. 27, n. 17, p. R874–R878, 2017.

PENG, S. et al. Improving nitrogen fertilization in rice by sitespecific N management. A review. **Agronomy for sustainable development**, v. 30, n. 3, p. 649–656, 2010.

PODGÓRSKA, A.; SZAL, B. The role of reactive oxygen species under ammonium nutrition. **Reactive oxygen and nitrogen species signaling and communication in plants**, p. 133–153, 2015.

Q. ROMERO, G. et al. Nitrogen fluxes from treefrogs to tank epiphytic bromeliads: an isotopic and physiological approach. **Oecologia**, v. 162, p. 941–949, 2010.

RANATHUNGE, K. et al. AMT1; 1 transgenic rice plants with enhanced NH₄⁺ permeability show superior growth and higher yield under optimal and suboptimal NH₄⁺ conditions. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 4, p. 965–979, 2014.

RATANASUT, K.; ROD-IN, W.; SUJIPULI, K. In planta Agrobacterium-mediated transformation of rice. **Rice Science**, v. 24, n. 3, p. 181–186, 2017.

RAVEN, P. H.; EICHHORN, S. E.; EVERT, R. F. **Biologia Vegetal, Rio de Janeiro-RJ**. Guanabara Koogan, , 2014.

REBOUILLAT, J. et al. Molecular genetics of rice root development. **Rice**, v. 2, n. 1, p. 15–34, 2009.

REDINBAUGH, M. G.; CAMPBELL, W. H. Glutamine synthetase and ferredoxin-dependent glutamate synthase expression in the maize (*Zea mays*) root primary response to nitrate (evidence for an organ-specific response). **Plant physiology**, v. 101, n. 4, p. 1249–1255, 1993.

REHMANI, M. S. et al. Seedling establishment: The neglected trait in the seed longevity field. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 107765, 2023.

RIBEILLI, J. B. F.; DOUCE, R. Serine and glycine metabolism in higher plants. Em: **Plant amino acids**. [s.l.] CRC Press, 1998. p. 125–160.

ROBERTSON, G. P.; VITOUSEK, P. M. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. **Annual review of environment and resources**, v. 34, p. 97–125, 2009.

ROBLIN, G. et al. Cysteine: A multifaceted amino acid involved in signaling, plant resistance and antifungal development. **Plant physiology and biochemistry**, v. 129, p. 77–89, 2018.

ROMERO, G. Q. et al. Bromeliad-living spiders improve host plant nutrition and growth. **Ecology**, v. 87, n. 4, p. 803–808, 2006.

ROS, R.; MUÑOZ-BERTOMEU, J.; KRUEGER, S. Serine in plants: biosynthesis, metabolism, and functions. **Trends in plant science**, v. 19, n. 9, p. 564–569, 2014.

SAKAKIBARA, H. Cytokinin biosynthesis and transport for systemic nitrogen signaling. **The Plant Journal**, v. 105, n. 2, p. 421–430, 2021.

SAKAKIBARA, H.; TAKEI, K.; HIROSE, N. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. **Trends in plant science**, v. 11, n. 9, p. 440–448, 2006.

SAMPAIO, J. A. T. et al. Inbreeding depression in *Vriesea gigantea*, a perennial bromeliad from southern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 2, p. 312–319, 2012.

SAVCHENKO, T.; TIKHONOV, K. Oxidative stress-induced alteration of plant central metabolism. **Life**, v. 11, n. 4, p. 304, 2021.

SHAH, S. et al. Influence of cultivation practices on the metabolism of cytokinin and its correlation in rice production. **Food and Energy Security**, v. 12, n. 5, p. e488, 2023.

SHARMA, S. et al. Evaluation of genotypic variation for growth of rice seedlings under optimized hydroponics medium. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 78, n. 03, p. 292–301, 2018.

SINCLAIR, T. R. Improved carbon and nitrogen assimilation for increased yield. **Soybeans: Improvement, production, and uses**, v. 16, p. 537–568, 2004.

SISHARMINI, A. et al. Expression of a cucumber alanine aminotransferase2 gene improves nitrogen use efficiency in transgenic rice. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 9, 2019.

SONG, M. et al. OsNAR2. 1 interaction with OsNIT1 and OsNIT2 functions in root-growth responses to nitrate and ammonium. **Plant physiology**, v. 183, n. 1, p. 289–303, 2020.

SOSNOWSKI, J.; TRUBA, M.; VASILEVA, V. The impact of auxin and cytokinin on the growth and development of selected crops. **Agriculture**, v. 13, n. 3, p. 724, 2023.

SRIVASTAVA, V. et al. The γ -aminobutyric acid (GABA) towards abiotic stress tolerance. **Compatible solutes engineering for crop plants facing climate change**, p. 171–187, 2021.

STADTMAN, E. R. Regulation of glutamine synthetase activity. **EcoSal Plus**, v. 1, n. 1, p. 10–1128, 2004.

STEINBRECHER, T.; LEUBNER-METZGER, G. The biomechanics of seed germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 4, p. 765–783, 2017.

STICKLEN, M. Transgenic, cisgenic, intragenic and subgenic crops. **Adv Crop Sci Tech**, v. 3, n. 2, p. e123, 2015.

SUN, L. et al. An overview of sucrose transporter (SUT) genes family in rice. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 6, p. 5685–5695, 2022.

SUZUKI, A. Glutamate synthase and amino acid synthesis in higher plants. Em: **Advances in Botanical Research**. [s.l.] Elsevier, 2021. v. 100p. 129–144.

TABUCHI, M. et al. Severe reduction in growth rate and grain filling of rice mutants lacking OsGS1; 1, a cytosolic glutamine synthetase1; 1. **The Plant Journal**, v. 42, n. 5, p. 641–651, 2005.

TAIZ, L. et al. **Fundamentos de Fisiologia Vegetal-6**. [s.l.] Artmed Editora, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. [s.l.] Universitat Jaume I, 2006. v. 10

- TAKAHASHI, C. A.; CECCANTINI, G. C. T.; MERCIER, H. Differential capacity of nitrogen assimilation between apical and basal leaf portions of a tank epiphytic bromeliad. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, p. 119–126, 2007.
- TAKAHASHI, C. A.; COUTINHO NETO, A. A.; MERCIER, H. An overview of water and nutrient uptake by epiphytic Bromeliads: new insights into the absorptive capability of leaf trichomes and roots. **Progress in Botany Vol. 83**, p. 345–362, 2022.
- TAKAHASHI, C. A.; MERCIER, H. Nitrogen metabolism in leaves of a tank epiphytic bromeliad: characterization of a spatial and functional division. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 11, p. 1208–1216, 2011a.
- TAKAHASHI, C. A.; MERCIER, H. Nitrogen metabolism in leaves of a tank epiphytic bromeliad: Characterization of a spatial and functional division. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 2011, p. 1208–1216, 2011b.
- TAMURA, W. et al. Reverse genetics approach to characterize a function of NADH-glutamate synthase1 in rice plants. **Amino Acids**, v. 39, p. 1003–1012, 2010a.
- TAMURA, W. et al. Reverse genetics approach to characterize a function of NADH-glutamate synthase1 in rice plants. **Amino Acids**, v. 39, p. 1003–1012, 2010b.
- THOMSEN, H. C. et al. Cytosolic glutamine synthetase: a target for improvement of crop nitrogen use efficiency? **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 10, p. 656–663, 2014.
- TIONG, J. et al. Improving nitrogen use efficiency through overexpression of alanine aminotransferase in rice, wheat, and barley. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 628521, 2021a.
- TIONG, J. et al. Improving nitrogen use efficiency through overexpression of alanine aminotransferase in rice, wheat, and barley. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 628521, 2021b.
- UEHLEIN, N. et al. The tobacco aquaporin NtAQP1 is a membrane CO₂ pore with physiological functions. **Nature**, v. 425, n. 6959, p. 734–737, 2003.
- UPADHYAYA, N. M. et al. Agrobacterium-mediated transformation of Australian rice cultivars Jarrah and Amaroo using modified promoters and selectable markers. **Functional Plant Biology**, v. 27, n. 3, p. 201–210, 2000.
- VALDERRAMA-MARTÍN, J. M. et al. A revised view on the evolution of glutamine synthetase isoenzymes in plants. **The Plant Journal**, v. 110, n. 4, p. 946–960, 2022.
- VAN DONGEN, J. T. et al. Regulation of respiration in plants: a role for alternative metabolic pathways. **Journal of plant physiology**, v. 168, n. 12, p. 1434–1443, 2011.
- VANHOUTTE, B. et al. Water and nutrient uptake in Vriesea cultivars: Trichomes vs. Roots. **Environmental and Experimental Botany**, v. 136, p. 21–30, 2017.
- VARET, H. et al. SARTools: a DESeq2-and EdgeR-based R pipeline for comprehensive differential analysis of RNA-Seq data. **PloS one**, v. 11, n. 6, p. e0157022, 2016.

- VEGA-MAS, I.; SARASKETA, A.; MARINO, D. High-throughput quantification of ammonium content in Arabidopsis. **Bio-protocol**, v. 5, n. 16, p. e1559–e1559, 2015.
- VIDAL, E. A.; GUTIERREZ, R. A. A systems view of nitrogen nutrient and metabolite responses in Arabidopsis. **Current opinion in plant biology**, v. 11, n. 5, p. 521–529, 2008.
- WANG, C. et al. Effects of ammonium on the antioxidative response in *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle plants. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 73, n. 2, p. 189–195, 2010.
- WANG, D.; LI, L.; LIAN, X. Overexpression of OsMYB305 in rice enhances the nitrogen uptake under low-nitrogen condition. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 519758, 2020.
- WANG, J. et al. Rice nitrate transporter OsNPF7. 2 positively regulates tiller number and grain yield. **Rice**, v. 11, p. 1–13, 2018a.
- WANG, J. et al. Rice nitrate transporter OsNPF7. 2 positively regulates tiller number and grain yield. **Rice**, v. 11, p. 1–13, 2018b.
- WANG, J. et al. The amino acid permease 5 (OsAAP5) regulates tiller number and grain yield in rice. **Plant Physiology**, v. 180, n. 2, p. 1031–1045, 2019.
- WANG, R. et al. Microarray analysis of the nitrate response in Arabidopsis roots and shoots reveals over 1,000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. **Plant physiology**, v. 132, n. 2, p. 556–567, 2003.
- WANG, W. et al. Rice DUR3 mediates high-affinity urea transport and plays an effective role in improvement of urea acquisition and utilization when expressed in Arabidopsis. **New Phytologist**, v. 193, n. 2, p. 432–444, 2012.
- WANG, Y. et al. Heterogeneity in rice tillers yield associated with tillers formation and nitrogen fertilizer. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 4, p. 1717–1725, 2016.
- WANG, Y. et al. Effects of exogenous cytokinin on photosynthesis, senescence, and yield performance of inferior rice tillers grown under different nitrogen regimes. **Photosynthetica**, v. 58, n. 1, 2020.
- WEI, Y. et al. Nitrogen regulating the expression and localization of four glutamine synthetase isoforms in wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 17, p. 6299, 2020.
- WU, D. et al. Increased glutamine synthetase by overexpression of TaGS1 improves grain yield and nitrogen use efficiency in rice. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 169, p. 259–268, 2021a.
- WU, J. et al. Rice NIN-LIKE PROTEIN 4 plays a pivotal role in nitrogen use efficiency. **Plant Biotechnology Journal**, v. 19, n. 3, p. 448–461, 2021b.

- WU, Y. et al. Rice transcription factor OsDOF11 modulates sugar transport by promoting expression of sucrose transporter and SWEET genes. **Molecular plant**, v. 11, n. 6, p. 833–845, 2018.
- WU, Y. et al. Sucrose transporter in rice. **Plant Signaling & Behavior**, v. 16, n. 11, p. 1952373, 2021c.
- XU, B.; SAI, N.; GILLIHAM, M. The emerging role of GABA as a transport regulator and physiological signal. **Plant Physiology**, v. 187, n. 4, p. 2005–2016, 2021.
- XU, F. et al. Overexpression of rice aquaporin OsPIP1; 2 improves yield by enhancing mesophyll CO₂ conductance and phloem sucrose transport. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 2, p. 671–681, 2019.
- XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual review of plant biology**, v. 63, p. 153–182, 2012.
- YAMAYA, T. Disruption of a novel NADH-glutamate synthase2 gene caused marked reduction in spikelet number of rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 12836, 2011.
- YANG, X. et al. Rice ferredoxin-dependent glutamate synthase regulates nitrogen–carbon metabolomes and is genetically differentiated between japonica and indica subspecies. **Molecular plant**, v. 9, n. 11, p. 1520–1534, 2016.
- YANG, X. et al. Effect of glycine nitrogen on lettuce growth under soilless culture: A metabolomics approach to identify the main changes occurred in plant primary and secondary metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 2, p. 467–477, 2018.
- YEH, S.-Y. et al. Down-regulation of cytokinin oxidase 2 expression increases tiller number and improves rice yield. **Rice**, v. 8, p. 1–13, 2015.
- YONEYAMA, T.; SUZUKI, A. Exploration of nitrate-to-glutamate assimilation in non-photosynthetic roots of higher plants by studies of ¹⁵N-tracing, enzymes involved, reductant supply, and nitrate signaling: a review and synthesis. **Plant physiology and biochemistry**, v. 136, p. 245–254, 2019.
- YU, C. et al. MADS-box transcription factor OsMADS25 regulates root development through affection of nitrate accumulation in rice. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135196, 2015.
- ZENG, D.-D. et al. The ferredoxin-dependent glutamate synthase (OsFd-GOGAT) participates in leaf senescence and the nitrogen remobilization in rice. **Molecular genetics and genomics**, v. 292, p. 385–395, 2017.
- ZHANG, L. et al. Nitrogen levels regulate sugar metabolism and transport in the shoot tips of crabapple plants. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 626149, 2021.
- ZHAO, S. et al. Genetic basis of tiller dynamics of rice revealed by genome-wide association studies. **Plants**, v. 9, n. 12, p. 1695, 2020.

ZHOU, Y. et al. Over-expression of aspartate aminotransferase genes in rice resulted in altered nitrogen metabolism and increased amino acid content in seeds. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, p. 1381–1390, 2009.