

Partie II : absorption et assimilation de l'Urée chez les végétaux supérieurs



PLAN

I) L'urée : source d'azote pour les plantes

II) Mécanismes physiologiques d'absorption de l'urée

II.1) Transport à haute affinité de l'urée

II.2) Transport passif de l'urée

III) Les uréases

IV) Sources métaboliques de l'urée

IV.1) Dégradation de l'arginine

IV.1) Dégradation des uréides

V) Devenir de l'urée dans la plante

I) L'urée : source d'azote pour les plantes

Il est généralement admis que les plantes prélèvent principalement l'ammonium et le nitrate issu de la dégradation de l'urée dans le sol, son absorption directe et son hydrolyse *in planta* n'étant jusqu'alors pas considérée comme significatives (Mérigout et *al.*, 2008).

Cette opinion est aujourd'hui remise en question depuis la récente découverte des transporteurs d'urée chez les plantes ainsi que leur capacité à assimiler et utiliser l'azote uréique pour leur croissance.

Ceci a été démontré en conditions contrôlées afin d'éviter toute conversion de l'urée dans le milieu tel que son hydrolyse et sa transformation par les processus de nitrification (Mérigout et *al.*, 2008).

Cependant, comparativement à des plantes alimentées en nitrate ou en ammonium, une nutrition uréique stricte conduit à une diminution de la croissance et parfois à l'apparition de symptômes de carence azotée (figure 1) (Gerendás et *al.*, 1998 ; Gerendás et Sattelmacher, 1999 ; Mérigout et *al.*, 2008).

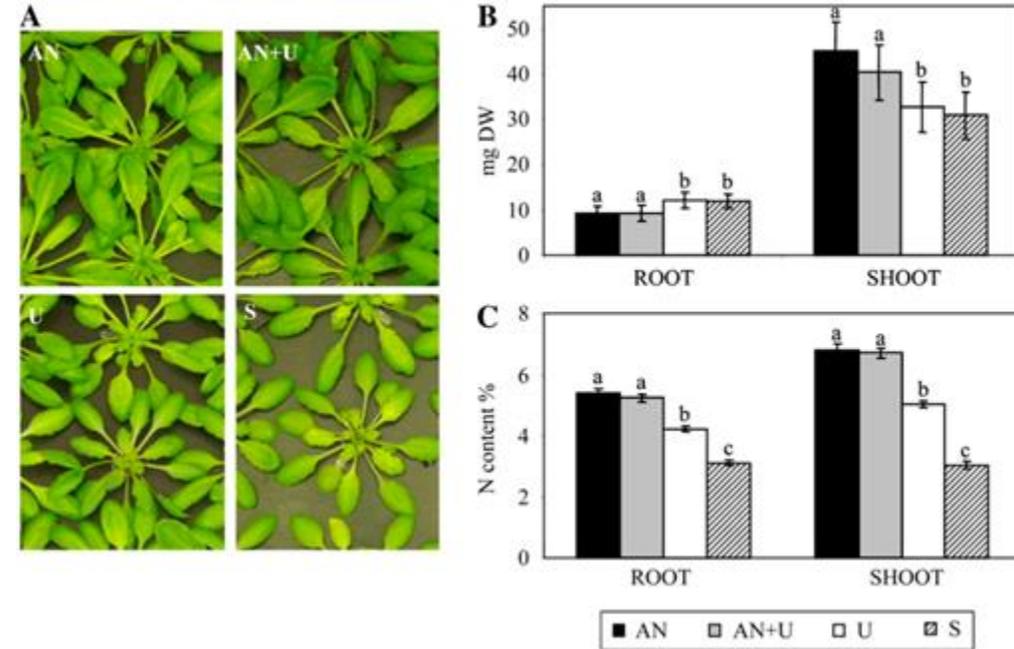


Figure 1 : distribution de la biomasse végétale et de la teneur en N (Mérigout et *al.*, 2008).
 Les plantes ont été cultivées en hydroponie pendant 5 semaines avec un apport continu de 0,5 mM de nitrate d'ammonium.
 Les plantes d'*Arabidopsis* ont ensuite été transférées pendant 1 semaine dans différentes conditions nutritives dans un milieu contenant 1 mM NH_4NO_3 (AN), 0,5 mM NH_4NO_3 et 0,5 mM $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (AN + U), 1 mM $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (U), ou pas de N (S).
 A/ Parties aériennes de la plante.
 B/ Poids sec des racines et des pousses (DW).
 C/ Teneur en N des racines et des pousses (p/p).
 Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les régimes nutritifs à $P < 0,05$.

Lorsque les plantes sont alimentées en urée, la concentration en azote et en acides aminés augmente, en particulier la glutamine et l'asparagine (Cao et *al.*, 2010 ; Mériçout et *al.*, 2008).

Cette augmentation peut contribuer à la diminution de la croissance des plantes.

En effet, les concentrations élevées en amide et acides aminés, qui indiqueraient un statut azoté important, conduiraient à une réduction du prélèvement de l'azote et de sa distribution au sein de la plante (Cao et *al.*, 2010 ; Mériçout et *al.*, 2008).

L'urée utilisée en pulvérisation foliaire facilite la gestion de la fertilisation azotée lorsque les conditions de croissance sont défavorables ou lorsque l'absorption racinaire est réduite lors d'un stress hydrique ou salin par exemple.

Cependant, l'urée directement absorbée au niveau foliaire provoque des brûlures du feuillage et des nécroses (Gooding et Davies, 1992 ; Nicoulaud et Bloom, 1996).

Ces symptômes de phytotoxicité sont d'autant plus sévères que la température est forte, l'humidité faible et que la solution d'urée pulvérisée est concentrée (Krogmeier et *al.*, 1989 ; Nicoulaud et Bloom, 1996 ; Witte, 2001).

L'utilisation des engrais uréiques ne constitue pas l'unique voie d'entrée de l'urée dans les systèmes de culture.

L'urée provient aussi des excréments animales et de la décomposition des molécules azotées issues de la matière organique.

Cependant, l'urée est rapidement hydrolysée par des enzymes des microorganismes du sol. De ce fait, les concentrations en urée du sol sont souvent faibles (< 70 μM dans des sols agricoles) (Becker-Ritt et *al.*, 2007).

Les plantes se sont donc adaptées et ont développé des systèmes de transport spécifiques de l'urée.

II) Mécanismes physiologiques d'absorption de l'urée

II.1) Transport à haute affinité de l'urée

Tout comme pour le nitrate et l'ammonium, les plantes possèdent un transporteur actif (DUR3) impliqué dans le prélèvement de l'urée : DUR3 permet l'absorption de l'urée externe à la plante et son transport endogène (figure 2) (Witte, 2011).

AtDUR3 a été identifié chez *Arabidopsis Thaliana* comme un transporteur majeur à haute affinité.

Il est la première preuve de l'existence d'un **symport actif H⁺/Urée** chez les plantes : l'urée est ainsi co-transportée avec des protons (Liu et *al.*, 2003a ; Kojima et *al.*, 2007).

DUR3 est induit par la présence d'urée dans le milieu mais réprimé par le nitrate et l'ammonium (Merigout et *al.*, 2008 ; Kojima et *al.*, 2007).

DUR3 est localisé dans la membrane plasmique des cellules épidermiques de la racine et s'exprime au niveau du xylème et des parties aériennes afin d'assurer le transport endogène de l'urée (figure 2) (Kojima et *al.*, 2007).

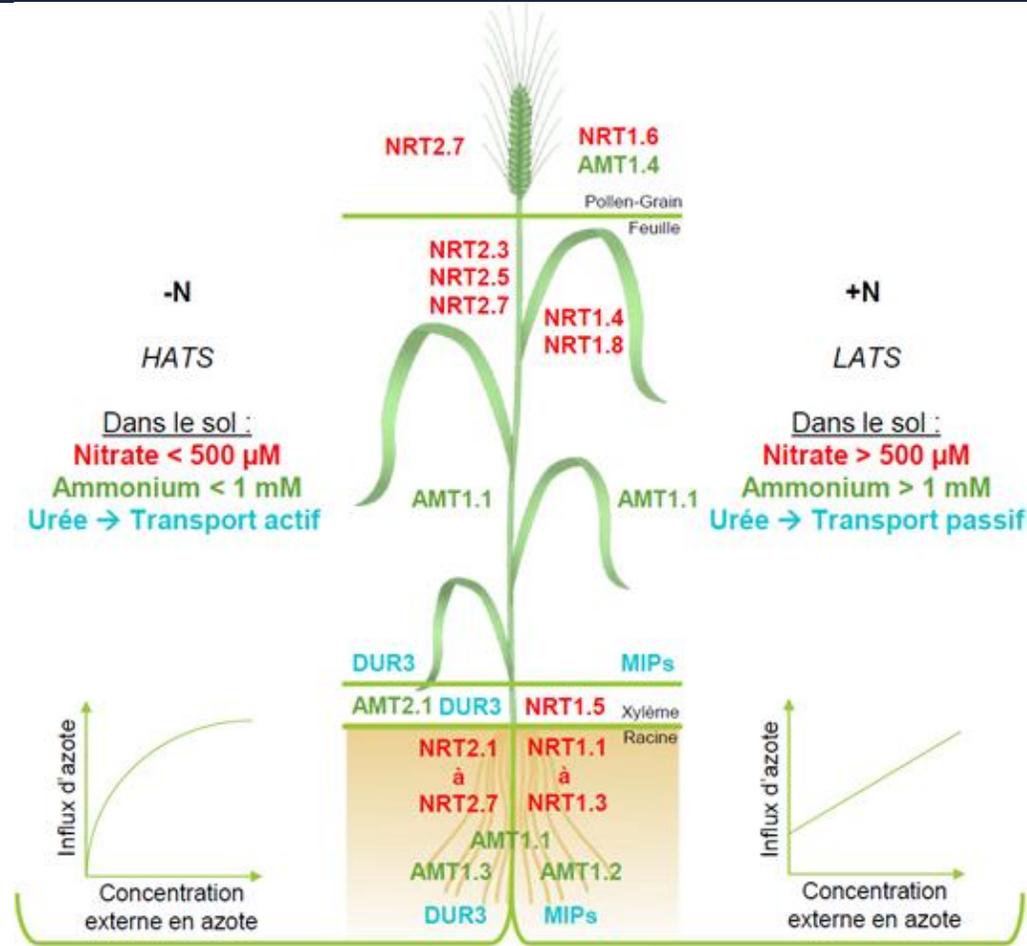


Figure 2 : localisation des principaux transporteurs d'azote mis en jeu selon la concentration en azote du sol (Maignan, 2021)

En cas de carence azotée *DUR3* est surexprimé dans les racines mais pas dans les parties aériennes (figure 3) (Kojima et *al.*, 2007).

Le transport de l'urée des racines vers les parties aériennes a été observé chez les plantes cultivées sur de l'urée et en absence de nickel : ces plantes accumulent des quantités importantes d'urée dans leurs tissus aériens du fait de l'inactivation des uréases (Gerendás et *al.*, 1998 ; Gerendás et Sattelmacher, 1999 ; Méricout et *al.*, 2008).

Le gène *AtDUR3* (*Arabidopsis Thaliana*) s'exprime aussi lors de la germination ainsi que dans les feuilles sénescentes (Liu et *al.*, 2003a) puisqu'il est impliqué dans les processus de remobilisation et de recyclage de l'azote (Böhner et *al.*, 2015) lors de la production d'urée endogène (dégradation de l'arginine et des purines).

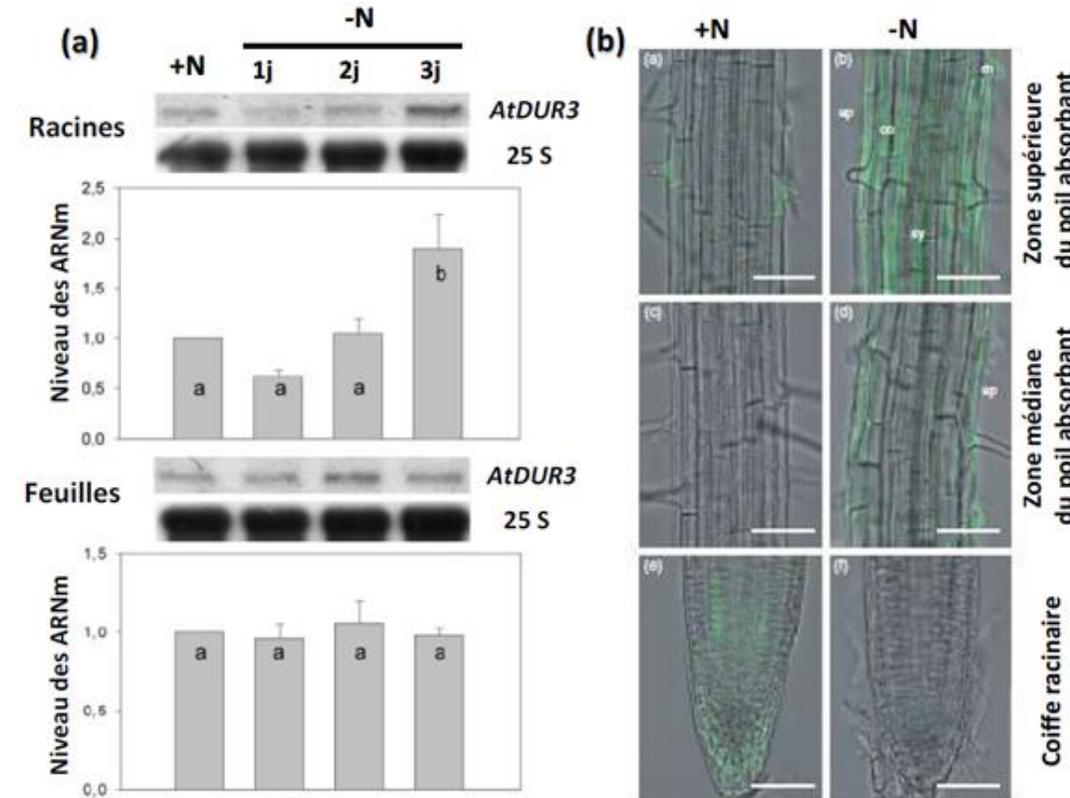


Figure 3 : Régulation de l'expression du gène *AtDUR3* chez *Arabidopsis*, lors d'une carence azotée.

(a) : les plantes sont cultivées sur 2mM d'ammonium nitrate (+N) pendant 4 semaines, puis soumises à une carence azotée (-N) pendant 1, 2 ou 3 jours (Liu et *al.*, 2003a).

(b) : localisation racinaire du promoteur du gène *AtDUR3* couplé à la GFP (Green Fluorescent Protein). Les plantes sont cultivées sur 2mM d'ammonium nitrate (+N) ou en absence de source azotée (-N), pendant 4 jours (Kojima et *al.*, 2007).

II.2) Transport passif de l'urée

Le transport passif de l'urée est assuré par les protéines intrinsèques majeures (MIPs), également appelées aquaporines (Witte, 2010).

Ces protéines facilitent le passage de l'eau et des petites molécules neutres au travers des membranes cellulaires (figure 4) (Witte, 2010).

Les MIPs ont été réparties en 4 sous-classes chez *Arabidopsis* (Forrest et Bhave, 2007) :

- les protéines intrinsèques de la membrane plasmique (PIPs),
- les protéines intrinsèques tonoplastiques (TIPs),
- les protéines intrinsèques membranaires noduline-26-like (NIPs),
- les petites protéines membranaires intrinsèques de base (SIPs)

Les protéines PIPs ont un canal relativement étroit et sélectif pour l'eau, permettant un passage lent de l'urée (Witte, 2010).

Les transporteurs TIPs sont sensibles à la concentration en urée et au pH du milieu (Witte, 2010).

Ces protéines sont localisées dans l'ensemble de la plante (figure 2) (Maignan, 2021).

Dans les racines, elles sont régulées au niveau transcriptionnel par le statut azoté de la plante et induites lors de carence en azote (Maignan, 2021).

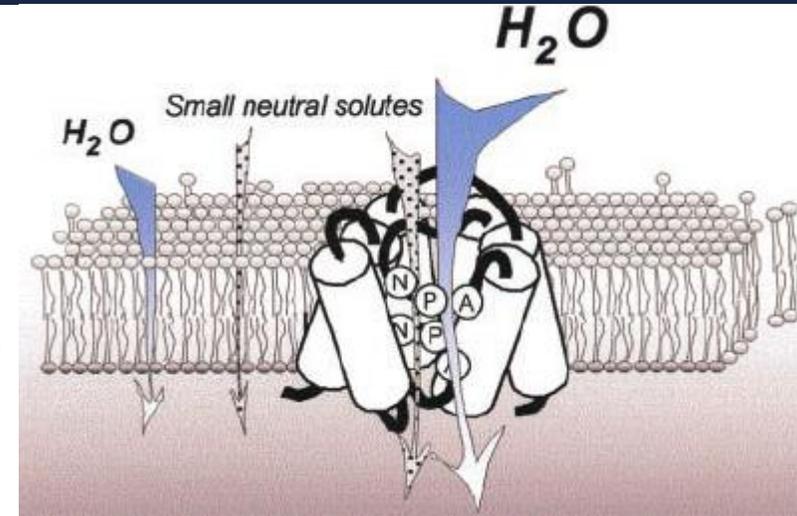
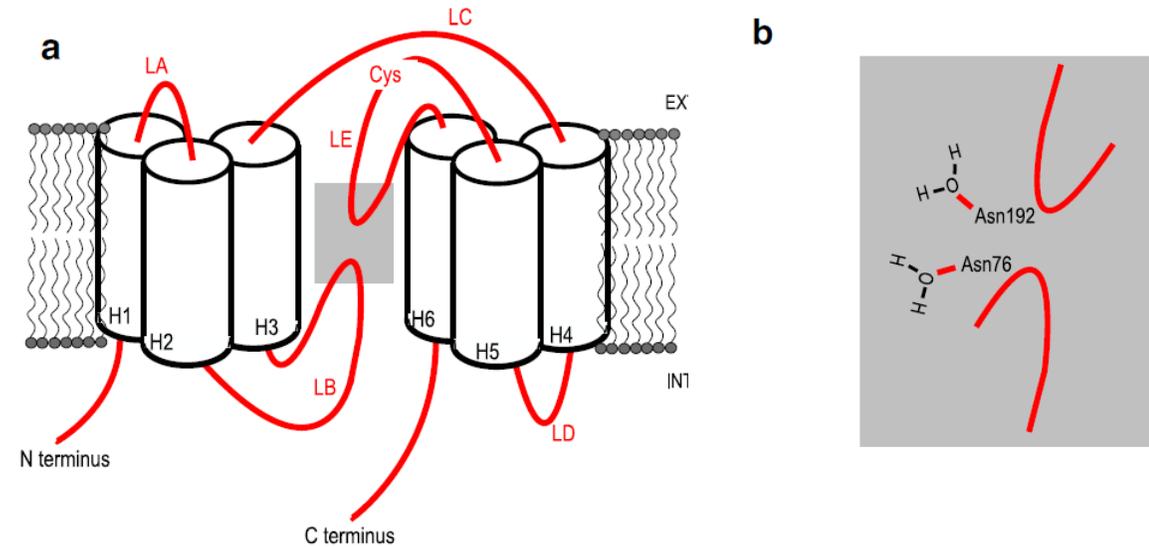


Figure 4 : les aquaporines facilitent la diffusion de l'eau et des petits solutés neutres à travers les membranes des cellules végétales. La perméabilité résiduelle de la membrane lipidique à ces molécules est également prouvée. La capacité de certaines aquaporines à transporter des solutés a été démontrée en utilisant des molécules tests telles que le glycérol et l'urée. On pense que les aquaporines végétales forment des tétramères, chaque monomère étant fonctionnellement indépendant (Maurels et Chrispeels, 2001).

Les MIPs sont constituées de six domaines hélicoïdaux transmembranaires s'insérant dans la bicouche lipidique constituante de la membrane.

Ces 6 hélices sont reliées par des boucles d'acides aminés dont 3 particulièrement importantes se trouvent au milieu des boucles LB et LE : NPA (N pour asparagine, P pour proline et A pour alanine) (figure 5) (Witte, 2010).

C'est face à ce motif NPA que la cassure des ions H^+ peut se faire : les deux boucles interagissent pour former une septième hélice créant un étranglement de 0,3 nm de diamètre dans le canal qui constitue le pore et laissant passer ainsi individuellement les molécules d'eau et certains solutés tel que l'urée.



III) Les uréases

Synthétisées par de nombreux organismes, les uréases forment un groupe d'enzymes très répandues dans la nature : elles sont synthétisées par de nombreux organismes incluant les plantes, les bactéries, les champignons, les algues et les invertébrés (Cox et *al.*, 2000 ; Hirayama et *al.*, 2000 ; Polacco et Havar, 1979).

Elles sont aussi présentes en tant qu'enzymes libres ou liées aux particules colloïdales dans les sols. Ces enzymes permettent d'hydrolyser l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone pour que les organismes vivants puissent l'utiliser comme source d'azote pour leur développement (Andrews et *al.*, 1984 ; Mobley et Hausinger, 1989).

L'activité uréasique a été détectée dans de nombreuses plantes (Hogan et *al.*, 1983 ; Witte et Medina-Escobar, 2001) : c'est une enzyme présente dans tous les tissus des plantes (Polacco et Winkler, 1984 ; Witte et *al.*, 2001) et plus précisément dans le cytosol de la cellule végétal (Witte, 2011).

L'uréase exerce une fonction catalytique aboutissant à l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et dioxyde de carbone. La première étape est une dégradation enzymatique de l'urée en ammoniac et carbamate. Ce dernier est ensuite spontanément hydrolysé formant une deuxième molécule d'ammoniac et du dioxyde de carbone (figure 6.A) (Dixon et *al.*, 1975).

La principale caractéristique commune à toutes ces enzymes est la présence d'un centre métallique dans leur site actif. Ainsi, elles ont besoin de deux atomes de nickel pour pouvoir hydrolyser l'urée (figure 6.B) (Dixon et *al.*, 1975).

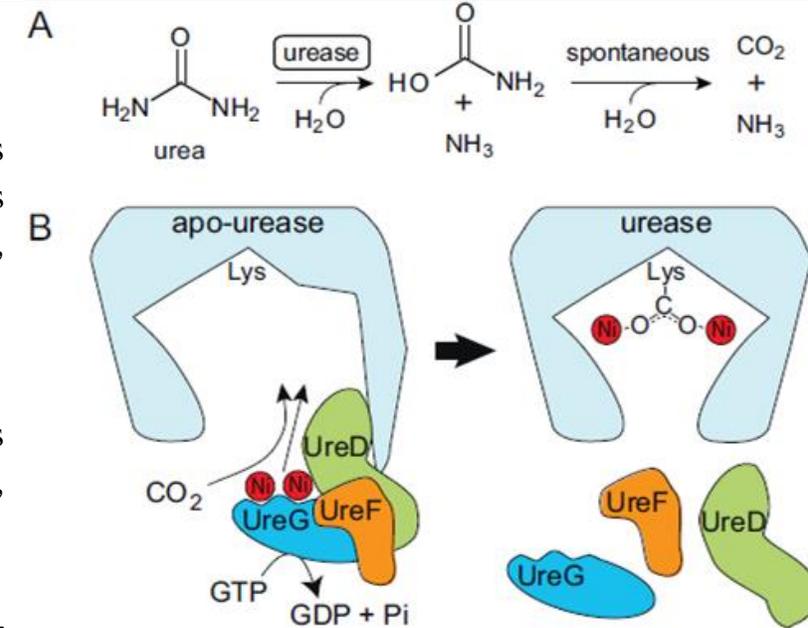


Figure 6 : réaction et modèle d'activation de l'uréase (Witte, 2011).
(A) Hydrolyse enzymatique de l'urée en carbamate catalysée par l'uréase et décomposition non enzymatique ultérieure du carbamate (hydrolyse spontanée). Deux moles d'ammoniac et une mole de dioxyde de carbone sont générées à partir de l'urée par ces réactions.
(B) Modèle d'activation de l'uréase végétale impliquant la liaison des trois protéines accessoires de l'uréase (UreD, UreF et UreG) à l'apo-uréase, la modification covalente d'une lysine du site actif par carboxylation de l'azote, et l'incorporation spécifique de deux ions nickel par site actif. Les protéines accessoires se dissocient de l'uréase après activation. L'activation peut nécessiter une hydrolyse du GTP arbitrée par UreG.

IV) Sources métaboliques de l'urée

Dans les cellules végétales, les uréases participent au métabolisme des composés azotés (Follmer, 2008 ; Wang et *al.*, 2008).

En plus de sa provenance du milieu extérieur, l'urée est un composé intermédiaire important résultant de deux processus métaboliques :

- la dégradation de l'arginine par les arginases (Zonia et *al.*, 1995)
- la dégradation des purines et des uréides (Todd et *al.*, 2006 ; Winkler et *al.*, 1988).

IV.1) Dégradation de l'arginine

Le catabolisme de l'arginine par l'arginase dans la mitochondrie génère l'ornithine et l'urée (figure 7).

L'ornithine est ensuite convertie en glutamate par le métabolisme mitochondrial (Funck et *al.*, 2008). L'urée est exportée vers le cytoplasme probablement par des aquaporines (Soto et *al.*, 2010), puis hydrolysée par les uréases cytosoliques en ammonium.

Ce dernier est assimilé par la glutamine synthétase (GS1 cytosolique). L'azote contenu dans la molécule d'arginine est incorporé dans la glutamine par cette réaction, l'uréase jouant un rôle majeur dans la mobilisation de cet azote (Witte, 2011).

Ainsi, le catabolisme de l'arginine est central pour la remobilisation de l'azote des tissus sources (Witte, 2011).

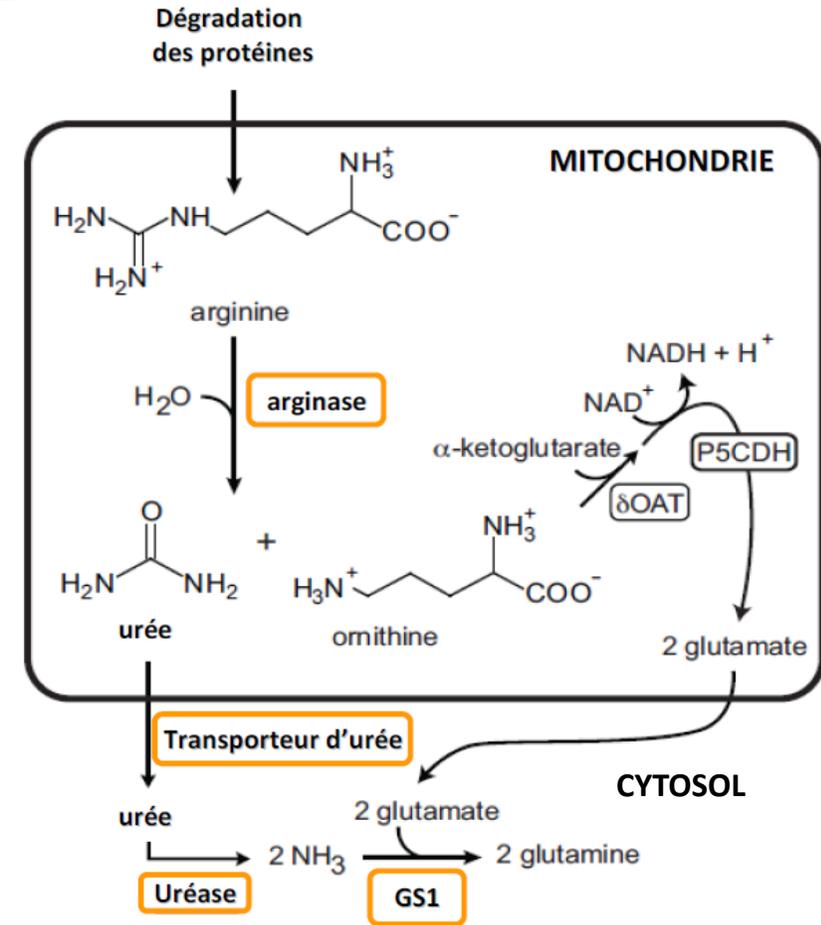


Figure 7 : voie de dégradation de l'arginine chez les plantes (Witte, 2011).

L'arginine est également le métabolite majeur de stockage de l'azote dans les graines de plusieurs espèces végétales (Vanetten et *al.*, 1967).

En effet, lors de la germination, l'activité arginase augmente (Cao et *al.*, 2010 ; Goldraij et Polacco, 1999) et l'arginine est dégradée au niveau de la mitochondrie (Goldraij et Polacco, 2000 ; Polacco et Holland, 1993).

L'urée s'accumule aussi dans les feuilles sources des plantes âgées, probablement générée par la dégradation des protéines et de l'arginine lors de la remobilisation de l'azote dans les tissus en sénescence (Gerendás et *al.*, 1998).

IV.2) Dégradation des uréides

Le second processus majeur de la production d'urée chez les plantes est le catabolisme des uréides, principalement l'allantoïne et l'allantoate (figure 8) (Muñoz et *al.*, 2006).

Ils sont issus de la dégradation des purines qui sont des composés organiques très riches en azote et structurellement proches de l'urée (Muñoz et *al.*, 2006).

Les uréides ont un rôle essentiel dans l'assimilation, le métabolisme, la mise en réserve et le transport de l'azote chez les plantes (Schubert & Boland, 1990)

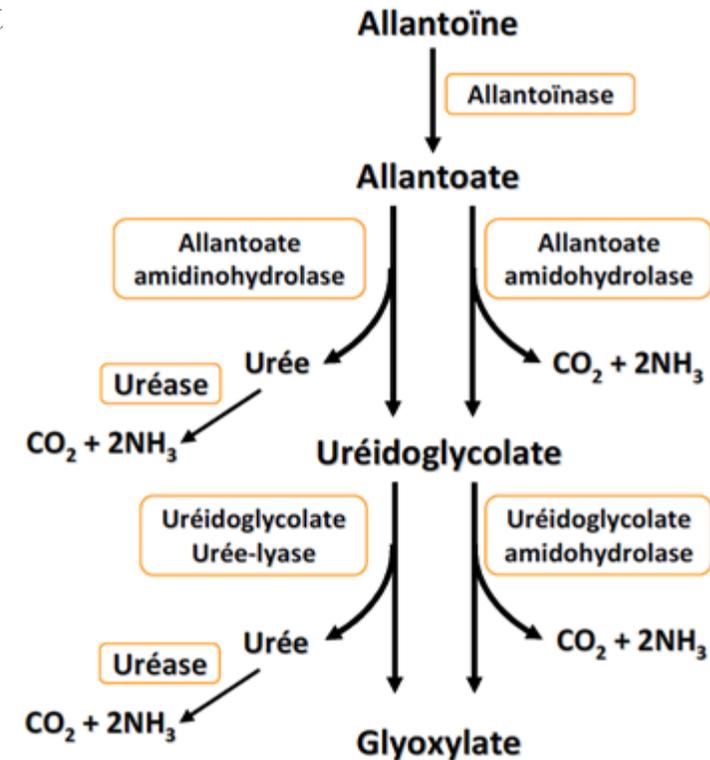


Figure 8 : voies de dégradation des uréides chez les plantes (Todd et Polacco, 2004).

V) Devenir de l'urée dans la plante

Comme nous venons de le voir, quelle que soit son origine endogène ou exogène l'urée n'est pas utilisable par la plante avant d'être prise en charge par les uréases qui catalysent l'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone et ammonium (Mérigout, 2006).

Des flux d'urée existent entre les organes puits et sources de la plante (Gerendás et al., 1999 ; Witte et al., 2002), permettant ainsi la remobilisation préférentielle de l'azote uréique au niveau des organes en croissance : les activités de l'uréase sont particulièrement plus fortes dans les feuilles âgées par rapport aux jeunes feuilles (Witte et al., 2002).

L'urée issue de l'action de l'arginase (Zonia et al., 1995) nécessite un transport de l'urée hors de la mitochondrie car les uréases sont des enzymes cytoplasmiques (Polacco & Holland, 1993).

Suite à l'action des uréases, l'ammonium ainsi formé est incorporé dans les acides aminés par l'action combinée de la glutamine synthétase (GS) et de la glutamate synthase (GOGAT) (Mérigout, 2006) (figure 9).

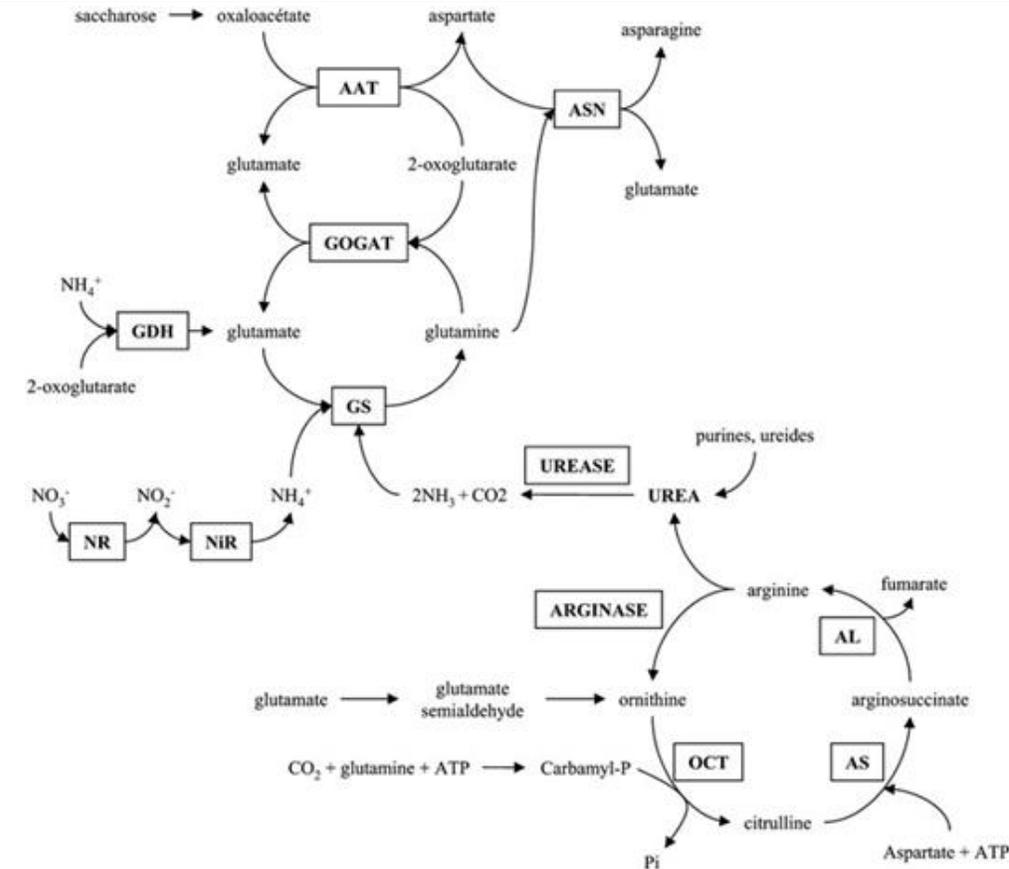


Figure 9 : voie d'assimilation de l'urée (Mérigout et al., 2008).

L'urée est synthétisée à l'intérieur des mitochondries pendant la dégradation de l'Arginine par l'arginase dans le cycle de l'Ornithine ou de l'urée. L'urée dérivée de l'arginase est ensuite exportée vers le cytoplasme et hydrolysée par l'uréase. L'ammonium dérivé de l'urée est assimilé en Glutamine via la GS ; ensuite, la GOGAT catalyse la formation du Glutamate via le cycle GS-GOGAT.

AAT, Asp aminotransférase ; AL, arginosuccinate lyase ; AS, arginosuccinate synthétase ; ASN, Asn synthétase ; GDH, Glu déshydrogénase ; NiR, nitrite réductase ; NR, nitrate réductase ; OCT, Orn carbamyl transférase.

Pour rappel sur l'absorption et assimilation du nitrate, ammonium et urée par les plantes (Cf Synthèse LBV - « Partie I : absorption et assimilation du nitrate et de l'ammonium chez les végétaux supérieurs ») (figure 10) :

La première étape de l'assimilation de l'azote est la réduction du nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-) catalysée par l'enzyme nitrate réductase (NR) et la réaction suivante est la réduction du nitrite en ammonium (NH_4^+) par l'enzyme nitrite réductase (NiR) dans le cytosol.

Puis NH_4^+ est assimilé par les enzymes glutamine synthétase (GS) et glutamate synthétase (GOGAT), pour produire divers acides aminés par l'incorporation de glutamine (Gln) et de glutamate (Glu) dans le chloroplaste et le cytosol (Goel et Singh, 2015 ; Balotf et *al.*, 2016).

L'assimilation de l'urée ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) peut être directement prise en charge par l'enzyme uréase pour former NH_4^+ ou peut suivre la voie de l'ornithine et/ou pendant le catabolisme des purines ou des uréides (Kojima et *al.*, 2006 ; Witte, 2011).

L'enzyme glutamate déshydrogénase (GDH) est impliquée dans l'assimilation du NH_4^+ et catalyse la synthèse du glutamate (Glu) à partir du NH_4^+ et du 2-oxoglutarate (Goel et Singh, 2015).

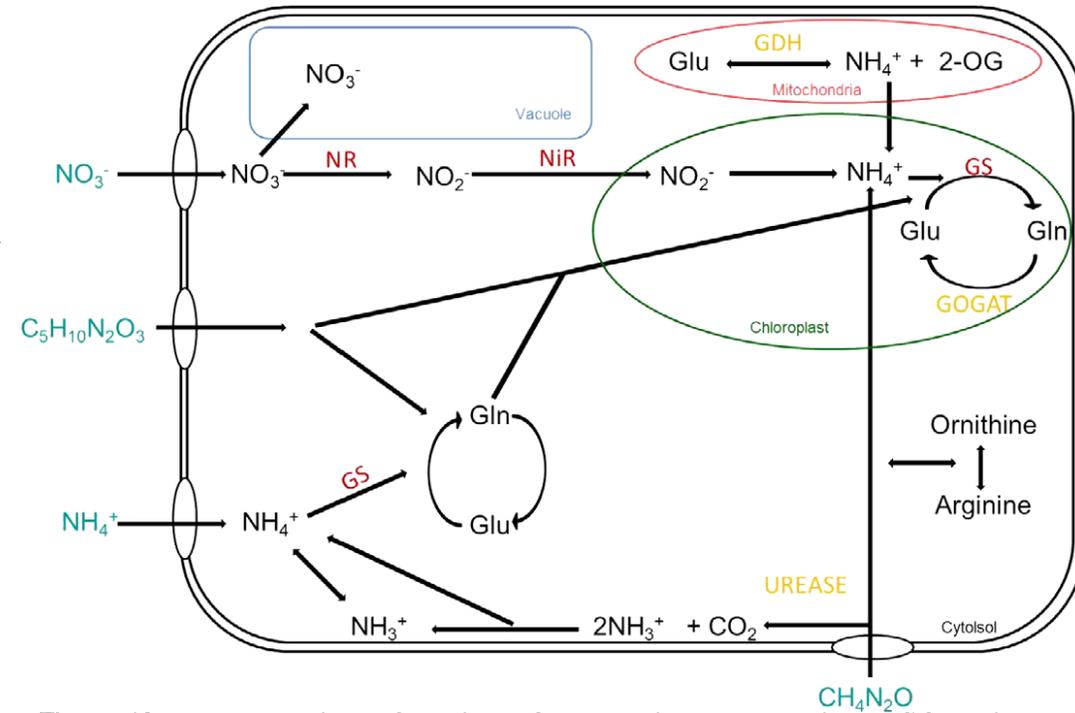


Figure 10 : représentation schématique des mécanismes enzymatiques d'absorption et d'assimilation de l'azote chez les plantes supérieures (Lang et *al.*, 2020).

Formes de l'azote en bleu : Nitrate (NO_3^-), Ammonium (NH_4^+), Urée ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) et Glutamine ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$).

Les enzymes impliquées sont indiquées en jaune et rouge : NR (nitrate réductase), NiR (nitrite réductase), GS (glutamine synthase), GOGAT (glutamate synthase), GDH (glutamate déshydrogénase), UREASE.

Références Bibliographiques

Andrews R-K., Blakeley R-L., Zerner B. (1984). Urea and urease. *Advances in inorganic biochemistry*, 6, 245-283.

Balof, S., Kavooosi, G., & Kholdebarin, B. (2016). Nitrate reductase, nitrite reductase, glutamine synthetase, and glutamate synthase expression and activity in response to different nitrogen sources in nitrogen-starved wheat seedlings. *Biotechnology and applied biochemistry*, 63(2), 220-229.

Becker-Ritt A-B., Martinelli A-H-S., Mitidieri S., Feder V., Wassermann G-E., Santi L., et al. (2007). Antifungal activity of plant and bacterial ureases. *Toxicon*, 50, 971-983.

Bohner, A., Kojima, S., Hajirezaei, M., Melzer, M., & Von Wirén, N. (2015). Urea retranslocation from senescing Arabidopsis leaves is promoted by DUR 3-mediated urea retrieval from leaf apoplast. *The Plant Journal*, 81(3), 377-387.

Cao F-Q., Werner A-K., Dahncke K., Romeis T., Liu L-H., Witte C-P. (2010). Identification and Characterization of Proteins Involved in Rice Urea and Arginine Catabolism. *Plant Physiology*, 154, 98-108.

Cox G-M., Mukherjee J., Cole G-T., Casadevall A., Perfect J-R. (2000). Urease as a virulence factor in experimental cryptococcosis. *Infection and Immunity*, 68, 443-448.

Dixon N-E., Gazzola C., Blakely R-L., Zerner B. (1975). Jack-bean urease (E.C. 3.5.1.5.3). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. *Journal of the American Chemical Society*, **97**, 4131-4133.

Follmer C. (2008). Insights into the role and structure of plant ureases. *Phytochemistry*, **69**, 18-28.

Forrest, K. L., & Bhave, M. (2007). Major intrinsic proteins (MIPs) in plants : a complex gene family with major impacts on plant phenotype. *Functional & integrative genomics*, **7**(4), 263-289.

Funck D., Stadelhofer B., Koch W. (2008). Ornithine-delta-aminotransferase is essential for arginine catabolism but not for proline biosynthesis. *BMC Plant Biology*, **8**, 40.

Gerendás J., Sattelmacher B. (1999). Influence of Ni supply on growth and nitrogen metabolism of *Brassica napus* L. grown with NH_4NO_3 or urea as N source. *Annals of Botany*, **83**, 65-71.

Gerendás J., Zhu Z., Sattelmacher B. (1998). Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, **49**, 1545-1554.

Gerendás, J., Polacco, J. C., Freyermuth, S. K., & Sattelmacher, B. (1999). Significance of nickel for plant growth and metabolism. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **162**(3), 241-256.

Goel, P., & Singh, A. K. (2015). Abiotic stresses downregulate key genes involved in nitrogen uptake and assimilation in *Brassica juncea* L. *Plos one*, **10**(11), e0143645.

- Goldraj A., Polacco J-C. (1999). Arginase is inoperative in developing soybean embryos. *Plant Physiology*, **119**, 299-303.
- Goldraj A., Polacco J-C. (2000). Arginine degradation by arginase in mitochondria of soybean seedling cotyledons. *Planta*, **210**, 652-658.
- Gooding M-J., Davies W-P. (1992). Foliar urea fertilization of cereals: a review. *Fertility Research*, **32**, 209-222.
- Hirayama, C., Sugimura, M., Saito, H., & Nakamura, M. (2000). Purification and properties of urease from the leaf of mulberry, *Morus alba*. *Phytochemistry*, **53**(3), 325-330.
- Hogan M-E., Swift I-E., Done J. (1983). Urease assay and ammonia release from leaf tissues. *Phytochemistry*, **22**, 663-667.
- Kojima S., Bohner A., Gassert B., Yuan L., Von Wirén N. (2007). AtDUR3 represents the major transporter for high-affinity urea transport across the plasma membrane of nitrogen-deficient Arabidopsis roots. *The Plant Journal*, **52**, 30-40.
- Kojima, S., Bohner, A., & Von Wirén, N. (2006). Molecular mechanisms of urea transport in plants. *The Journal of membrane biology*, **212**(2), 83-91.
- Krogmeier M-J., McCarty G-W., Bremner J-M. (1989). Potential phytotoxicity associated with the use of soil urease inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **86**, 1110-2.
- Lang, C. P., Bárdos, G., Merkt, N., & Zörb, C. (2020). Expression of key enzymes for nitrogen assimilation in grapevine rootstock in response to N-form and timing. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **183**(1), 91-98.

Liu LH., Ludewig U., Frommer W-B., von Wirén N. (2003a). AtDUR3 encodes a new type of high-affinity urea/H⁺ symporter in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 15, 790-800.

Maignan, V. (2021). Evaluation des effets biostimulants de la Glutacétine et de ses dérivés sur l'efficacité d'usage de l'azote, le rendement et la qualité grainière du blé tendre : criblage en serre, validation au champ et développement d'outils de diagnostic (Doctoral dissertation, Université Caen Normandie).

Maurel, C., & Chrispeels, M. J. (2001). Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant physiology*, 125(1), 135-138.

Mérigout P., Lelandais M., Bitton F., Renou J-P., Briand X., Meyer C., Daniel Vedele F. (2008). Physiological and transcriptomic aspects of urea uptake and assimilation in *Arabidopsis* plants. *Plant Physiology*, 147, 1225-1238.

Merigout, P. (2006). Étude du métabolisme de la plante en réponse à l'apport de différents fertilisants et adjuvants culturels. Influence des phytohormones sur le métabolisme azoté (Doctoral dissertation, INAPG).

Mobley, H. L., & Hausinger, R. P. (1989). Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological reviews*, 53(1), 85-108.

Muñoz A., Raso M-J., Pineda M., Piedras P. (2006). Degradation of ureidoglycolate in French bean (*Phaseolus vulgaris*) is catalysed by a ubiquitous ureidoglycolate urealyase. *Planta*, 224(1), 175-184.

Nicoulaud B-A-L., Bloom A-J. (1996). Absorption and assimilation of foliarly applied urea in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121, 1117-1121.

Polacco J-C., Holland M-A. (1993). Roles of urease in plant cells. *International Review of Cytology*, 145, 65-103.

Polacco, J. C., & Havir, E. A. (1979). Comparisons of soybean urease isolated from seed and tissue culture. *Journal of Biological Chemistry*, 254(5), 1707-1715.

Polacco, J. C., & Winkler, R. G. (1984). Soybean leaf urease : a seed enzyme?. *Plant physiology*, 74(4), 800-803.

Schubert KR, Boland MJ (1990). The ureides. In *The Biochemistry of Plants 16*: 197-283. Edited by Miflin BJ, Lea PJ, Academic Press, San Diego.

Soto, G., Fox, R., Ayub, N., Alleva, K., Guaimas, F., Erijman, E. J., ... & Muschietti, J. (2010). TIP5; 1 is an aquaporin specifically targeted to pollen mitochondria and is probably involved in nitrogen remobilization in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 64(6), 1038-1047.

Todd C.D., Tipton P.A., Blevins D.G., et al. (2006). Update on ureide degradation in legumes, *Journal of Experimental Botany*, 57, 5-12.

Todd, C. D., & Polacco, J. C. (2004). Soybean cultivars 'Williams 82' and 'Maple Arrow' produce both urea and ammonia during ureide degradation. *Journal of Experimental Botany*, 55(398), 867-877.

Vanetten C-H., Kwolek W-F., Peters J-E, et al. (1967). Plant seeds as protein sources for food or feed. Evaluation based on amino acid composition of 379 species, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **15**, 1077-1089.

Wang W-H., Kohler B., Cao F-Q., Liu L-H. (2008). Molecular and physiological aspects of urea transport in higher plants. *Plant Science*, **175**, 467-477.

Wang, W. H., Köhler, B., Cao, F. Q., Liu, G. W., Gong, Y. Y., Sheng, S., ... & Liu, L. H. (2012). 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*, **193**(2), 432-444.

Winkler R-G., Blevins D-G., Polacco J-C., et al. (1988). Ureide catabolism in nitrogenfixing legumes, *Trends in Biochemical Sciences*, **13**, 97-100.

Witte CP, Tiler SA, Taylor MA, Davies HV (2002). Leaf urea metabolism in potato. Urease activity profile and patterns of recovery and distribution of ¹⁵N after foliar urea application in wild-type and urease-antisense transgenics. *Plant Physiol*, **128**, 1129-1136.

Witte C-P. (2001). Modifying nitrogen use efficiency: molecular manipulation of urea metabolism in leaves of *Solanum tuberosum*. PhD thesis. Scottish Crop Research Institute, University of Dundee, Dundee, UK.

Witte C-P., Isidore E., Tiller S-A., davies H-V., Taylor M-A. (2001). Functional characterization of urease accessory protein G (ureG) from potato. *Plant Molecular Biology*, **45**, 169-179.

Witte CP., Medina-Escobar N. (2001). In-gel detection of urease with nitroblue tetrazolium and quantification of the enzyme from different crop plants using the indophenol reaction. *Analytical Biochemistry*, **290**, 102-7.

Witte, C. P. (2011). Urea metabolism in plants. *Plant Science*, **180**(3), 431-438.

Zonia L-E., Stebbins N-E., Polacco J-C. (1995). Essential role of urease in germination of nitrogen limited *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Physiology*, **107**, 1097-1103.