

EFEITOS DE NITRATO E DO AMÔNIO NO CRESCIMENTO E FRACIONAMENTO DO N EM CAPIM-COLONIÃO¹

JOSÉ SEBASTIÃO MACHADO SILVEIRA² e RENATO SANT'ANNA³

RESUMO - Plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), com 19 dias de idade, crescidas em solução nutritiva, em casa de vegetação, foram tratadas, durante 96 horas, com 100 ppm de N, distribuídas nas seguintes proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$: 100/0, 75/25, 50/25, 25/75 e 0/100. O tratamento com amônio (NH_4^+) reduziu a produção de matéria seca e a quantidade de N (total, solúvel e insolúvel) do sistema radicular. Nos níveis mais elevados de amônio manifestaram-se alterações morfológicas, caracterizadas por raízes curtas, grossas, quebradiças e pouco ramificadas, o que indica toxidez do amônio. Na parte aérea, a matéria seca aumentou com o teor de amônio até o nível de cerca de 65%, e daí em diante diminuiu. As quantidades de N solúvel aumentaram, e as de N insolúvel diminuíram a partir da proporção 50/50, o que indica perturbação no metabolismo protéico. O maior acúmulo de nitrato (NO_3^-) na planta ocorreu com a proporção 75/25. Com o aumento do nível do amônio, as participações de amônia e de aminoácidos e de formas nitrogenadas não identificadas cresceram significativamente na fração para o N solúvel, a qual se tornou muito grande nos tratamentos com proporção 25/75 e 0/100. Nos tratamentos ricos em nitrato, as principais formas de aminoácidos com N foram: lisina, histidina, arginina, serina e alanina, e as amidas glutamina e asparagina, enquanto nos tratamentos ricos em amônio as duas amidas - mormente a asparagina - passaram a ter ampla dominância sobre os demais aminoácidos.

Termos para indexação: fertilizantes, *Panicum maximum*, nutrição.

EFFECTS OF NITRATE AND AMMONIUM ON GROWTH AND NITROGEN PARTITIONING IN GUINEA GRASS

ABSTRACT - Guinea grass plants (*Panicum maximum*, Jacq.), 19 days old, grown in culture solution in a glasshouse were treated for 96 hours with 100 ppm of nitrogen with the following proportion of $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$: 100/0, 75/25, 50/25, 25/75 and 0/100. The ammonium treatment in the diet caused a fall in the amounts of dry matter and nitrogen (total, soluble and insoluble of root system). Morphological alterations, characterized by short, large diameter, with few branches and brittle roots, appeared in ammonium rich treatments, indicating ammonium toxicity. In the aerial parts of the plant, dry matter increased with the ammonium proportion up to the theoretical level of 65%, decreasing thereafter. The amounts of soluble nitrogen increased and the insoluble decreased, as the ammonium level in the diet increased immediately after 50%, suggesting disturb of protein metabolism. The largest nitrate accumulation occurred in the treatment 75/25. As the ammonium level in the diet increased there was a growing contribution of ammonium, aminoacids and unidentified N forms for the soluble N fraction, which became very large in the treatments 25/75 and 0/100. In the nitrate rich treatments, the main forms of N aminoacids were lysine, histidine, arginine, serine, alanine and the amides glutamine and asparagine while in the ammonium rich ones the two amides were by far the most important forms mainly asparagine.

Index terms: fertilizers, *Panicum maximum*, nutrition.

INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que governam a aquisição de nitrogênio pelas plantas e sua resposta ao crescimento, destaca-se a proporção relativa de amônio

e nitrato no meio de cultivo (Mills et al. 1976). Assim, se o nitrogênio amoniacal fornecido a uma planta for suficiente para induzir sintomas de toxidez, a simples redução de sua concentração não os elimina. No entanto, tal concentração pode ser mantida, sem causar efeitos adversos à planta, se parte do nitrogênio for fornecida na forma de nitrato (McElhannon & Mills 1977).

Os efeitos dos níveis tóxicos do amônio sobre as culturas são, de modo geral, bem conhecidos. O sistema radicular apresenta os sintomas mais nítidos de toxidez, caracterizados por raízes curtas, escuras, grossas e pouco ramificadas (Cox &

¹ Aceito para publicação em 26 de setembro de 1986. Parte do trabalho de tese do primeiro autor, apresentada como um dos requisitos ao grau de Mestre em Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

² Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária (EMCAPA), Caixa Postal 62, CEP 29900 Linhares, ES.

³ Eng. - Agr., Ph.D., Prof. - Titular da Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570 Viçosa, MG.

Reisenauer 1972, Warncke & Barker 1973). A parte aérea pode apresentar necroses marginais e cloroses internervais nas folhas, o que leva, em última análise, à morte da planta (Maynard & Barker 1969). Outros efeitos tóxicos observados são: degradação de proteínas (Barker et al. 1966a, b), redução da fotossíntese através do desacoplamento da fotofosforilação (Krogmann et al. 1959), inibição da respiração (Vines & Werring 1960) e destruição da integridade estrutural das membranas cloroplásticas (Puritch & Barker 1967).

Na maioria das plantas, as principais formas de assimilação de nitrogênio nas raízes e do transporte para a parte aérea são: asparagina, aspartato, glutamato (Muhammad & Kumazawa 1974, Kumazawa & Muhammad 1974, Yoneyama & Kumazawa 1975). A relativa importância de cada uma destas formas depende da espécie McClure & Israel 1979, Pate 1972) e, sobretudo, da fonte de suprimento do nitrogênio inorgânico (Oji & Izawa 1972).

Em plantas de milho, cultivadas em solução nutritiva contendo amônio como fonte de nitrogênio, as principais formas de assimilação e transporte do nitrogênio são as amidas glutamina e asparagina; no entanto, utilizando-se nitrato como fonte de nitrogênio, o glutamato passa a ser a forma predominante (Ivanko & Ingversen 1971). Lorenz (1975) verificou, em tomate, que a substituição do nitrato pelo amônio acarretou um declínio no reservatório de ácido glutâmico e um acúmulo de glutamina na parte aérea, no sistema radicular e na seiva xilemática. Tal comportamento foi atribuído, pelo autor, à necessidade da planta de transformar o ácido glutâmico em glutamina, a fim de neutralizar o excesso de amônio absorvido pelas raízes.

Conforme citações de Mifflin & Lea (1977), há pouco tempo considerava-se que o amônio era assimilado unicamente pela via de aminação reductiva do α ceto glutarato, formando glutamato, reação catalisada pela desidrogenase do glutamato (GDH). Com a descoberta da sintetase do glutamato (GOGAT), estabeleceu-se uma segunda via para a assimilação de amônio. Nesta nova via, a sintetase da glutamina (GS) é a enzima responsável pela assimilação primária do amônio, atuando o glutamato como seu receptor. Posteriormente,

asparagina, glutamato e outros aminoácidos podem ser formados a partir da glutamina. Em plantas, os valores muito baixos dos Km para GS, em relação aos da GDH, indicam alta afinidade da GS com o amônio; assim, é improvável que a rota da GDH opere apreciavelmente em condições de baixa disponibilidade de amônio (Mifflin & Lea 1976). Já na presença de níveis tóxicos de amônio a sua assimilação por esta rota adquire um maior grau de importância (Weissman 1972, Kanamori et al. 1972).

Por ser o capim-colonião uma das forrageiras tropicais mais cultivadas no País, e considerando-se a necessidade de se obter melhor conhecimento de sua nutrição nitrogenada, procurou-se investigar os efeitos do nitrato e do amônio e de sua combinação sobre o crescimento e a composição da fração nitrogenada desta gramínea.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se o delineamento experimental em blocos ao acaso com cinco tratamentos e cinco repetições, onde cada vaso com três plantas constituiu a unidade experimental. Sementes de capim-colonião (*Panicum maximum*, Jacq.) foram germinadas em placas-de-petri, por um período luminoso de 16 horas, a 30°C, seguido de um período escuro de 8 horas, a 20°C. Após a emissão das radículas, o material vegetal foi transferido para o leito de areia esterilizada e mantido em casa de vegetação. Durante os nove primeiros dias de idade, as plântulas receberam irrigações diárias, com solução nutritiva contendo apenas nitrato como fonte de nitrogênio.

No décimo dia, grupos de três plântulas foram transferidos para vasos plásticos, revestidos internamente com plástico preto, e externamente com isopor contendo 1,5 l da solução nutritiva, cuja composição está relatada na coluna 100/0 da Tabela 1, sob constante arejamento. Decorridos oito dias, as plantas foram submetidas às soluções nutritivas de tratamento contendo 100 ppm de nitrogênio distribuído nas proporções de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100, respectivamente (Tabela 1), as quais sofreram renovações 48 horas após e correções diárias de pH para 5,5. Após 96 horas de exposição das plantas às soluções nutritivas de tratamento, procedeu-se à coleta de material vegetal, subdividindo-se as plantas de cada vaso em parte aérea e sistema radicular. Deste material, tomou-se uma alíquota para a determinação do peso de matéria seca e do nitrogênio total. O material vegetal remanescente foi imediatamente imerso em frascos contendo etanol fervente a 80%.

Inicialmente, triturou-se o material imerso em etanol a 80%, em homogeneizador. Seguiram-se quatro extra-

TABELA 1. Composição das soluções nutritivas utilizadas nos experimentos.

Solução esteoqe (M)	Sal	Proporções de nitrato/amônio*				
		0/100	25/75	50/50	75/25	100/0
		Volume tomado (ml/l)				
0,01	CaSO ₄	150,00	150,00	150,00	—	—
1,0	CaCl ₂	1,00	1,00	1,00	0,20	—
1,0	MgSO ₄	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,0	NH ₄ H ₂ PO ₄	0,40	1,00	—	1,00	—
1,0	(NH ₄) ₂ SO ₄	3,37	1,29	—	—	—
0,5	K ₂ SO ₄	2,40	3,00	2,00	1,50	—
1,0	KH ₂ PO ₄	0,60	—	1,00	—	1,00
1,0	NH ₄ NO ₃	—	1,78	3,57	0,78	—
1,0	Ca(NO ₃) ₂	—	—	—	2,29	2,50
1,0	KNO ₃	—	—	—	—	2,00
1,0	NaNO ₃	—	—	—	—	0,14
—	Micronutrientes**	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

* Nitrogênio total igual a 100 ppm.

** Solução de micronutrientes recomendada por Clark & Brown (1974).

ções sucessivas com etanol a 80%, em banho-maria, em ebulição, durante uma hora cada. Após cada extração, a suspensão foi centrifugada a 3.000 rpm, durante 15 minutos. A remoção dos pigmentos e dos lipídios se deu através de quatro extrações da suspensão aquosa resultante, com igual volume de clorofórmio, em funil de separação.

Amostras de cada parte da planta tiveram suas matérias secas determinadas por secagem, em estufa a 75°C, durante 48 horas.

O nitrogênio total foi determinado no material seco e no extrato aquoso (nitrogênio solúvel), submetendo-se alíquotas destes materiais à digestão sulfo-salicílica, conforme técnica descrita por McClure & Israel (1979), seguindo-se a avaliação do íon amônio pela reação com fenol alcalino, segundo Cataldo et al. (1974). A avaliação do nitrogênio insolúvel foi feita pela diferença entre os teores de nitrogênio total e nitrogênio solúvel.

Para a determinação dos aminoácidos livres totais, prepararam-se dois extratos aquosos compostos, constituídos de 1,0 ml de cada um dos extratos aquosos livres de proteínas, das cinco repetições de cada tratamento. Hidrolisou-se um dos extratos compostos em meio HCl 1 N, em estufa a 100°C, durante três horas, a fim de converter a asparagina e a glutamina em ácido aspártico e ácido glutâmico, respectivamente, de acordo com a recomendação de Sodek & Wilson (1971).

As quantidades de nitrogênio nítrico e nitrogênio amoniacal foram avaliadas no extrato aquoso, através da reação do fenol alcalino, segundo as técnicas recomendadas por Cataldo et al. (1975, 1974), respectivamente.

A dosagem dos aminoácidos livres totais foi efetuada de acordo com a técnica da cromatografia de troca iônica, segundo Spackman et al. (1958), empregando-se um analisador automático de aminoácidos Bekman, modelo 121.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As partes aéreas das plantas submetidas às diferentes proporções de nitrato/amônio não apresentaram diferenças de aspecto visual. Os sintomas típicos de toxidez de amônio, caracterizados por necroses e cloroses internervais, evidenciados por Maynard et al. (1966), em *Phaseolus vulgaris*, e por Cordeiro (1981), em *Stylosanthes guyanensis*, não foram constatados, possivelmente em decorrência do tempo de tratamento das plantas. Por outro lado, a partir do nível de 50% de amônio, as raízes mostraram-se curtas e grossas, quebradiças e pouco ramificadas, de forma análoga aos sintomas de toxidez amoniacal observados em milho por Warncke & Barker (1973).

O efeito benéfico do amônio, na parte aérea (Fig. 1), até a proporção de 50/50, pode ser atribuído, segundo sugestão de Cox & Reisenauer (1972), a um decréscimo do dispêndio energético para a redução do nitrato e/ou a um aumento da capacidade fotossintética. Por outro lado, a cres-

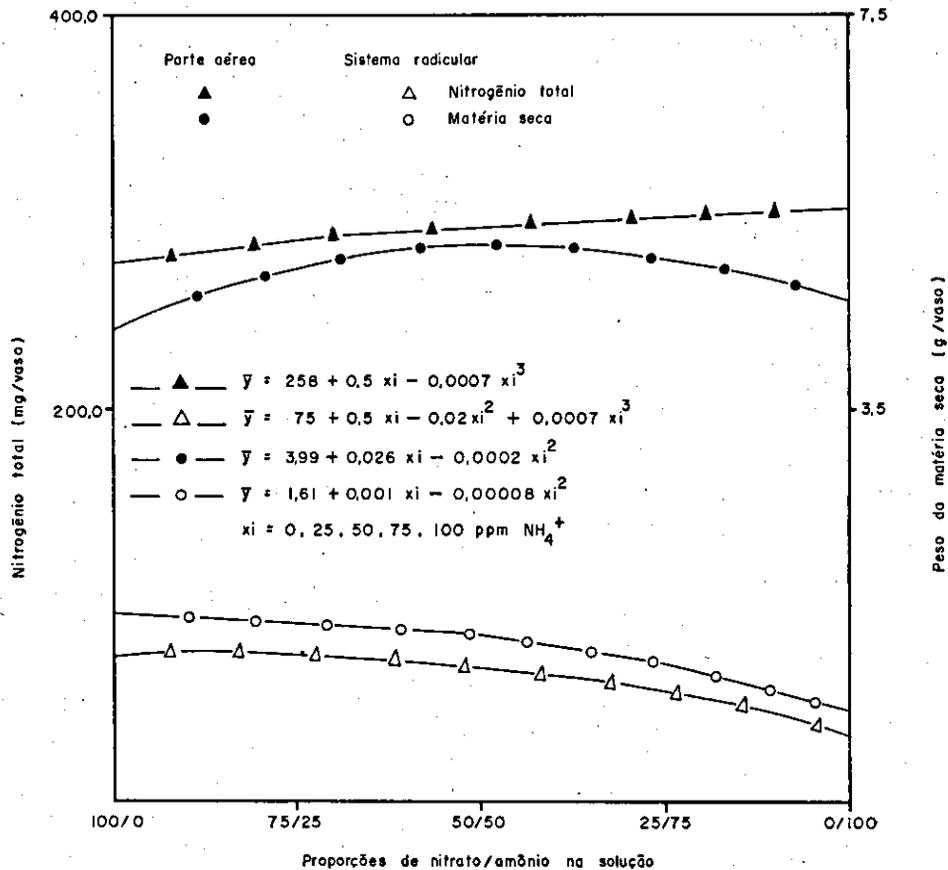


FIG. 1. Efeito das proporções de nitrato/amônio sobre o nitrogênio total e o peso da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), cultivadas em solução nutritiva.

cente ação detrimental do amônio sobre o crescimento do sistema radicular resultou, provavelmente, da gradativa acidificação do meio do cultivo, em decorrência dos processos de absorção e assimilação desta forma de nitrogênio, o que encontra apoio na sugestão de Kafkafi & Neumann (1978). As similaridades das curvas de acúmulo de matéria seca e do N total, para cada parte da planta, reforçam a hipótese da ação estimulatória do amônio sobre o crescimento da parte aérea até a

proporção de 50/50 e o seu efeito prejudicial ao metabolismo radicular.

Confrontando-se as curvas contidas na Fig. 1, verifica-se que a nutrição amoniacal aumentou a absorção radicular do nitrogênio até a proporção de 50/50. Infere-se, daí, ter ocorrido uma crescente exportação de formas nitrogenadas para a parte aérea, em razão da queda de sua demanda metabólica no sistema radicular.

As curvas contidas na Fig. 2 revelam uma ele-

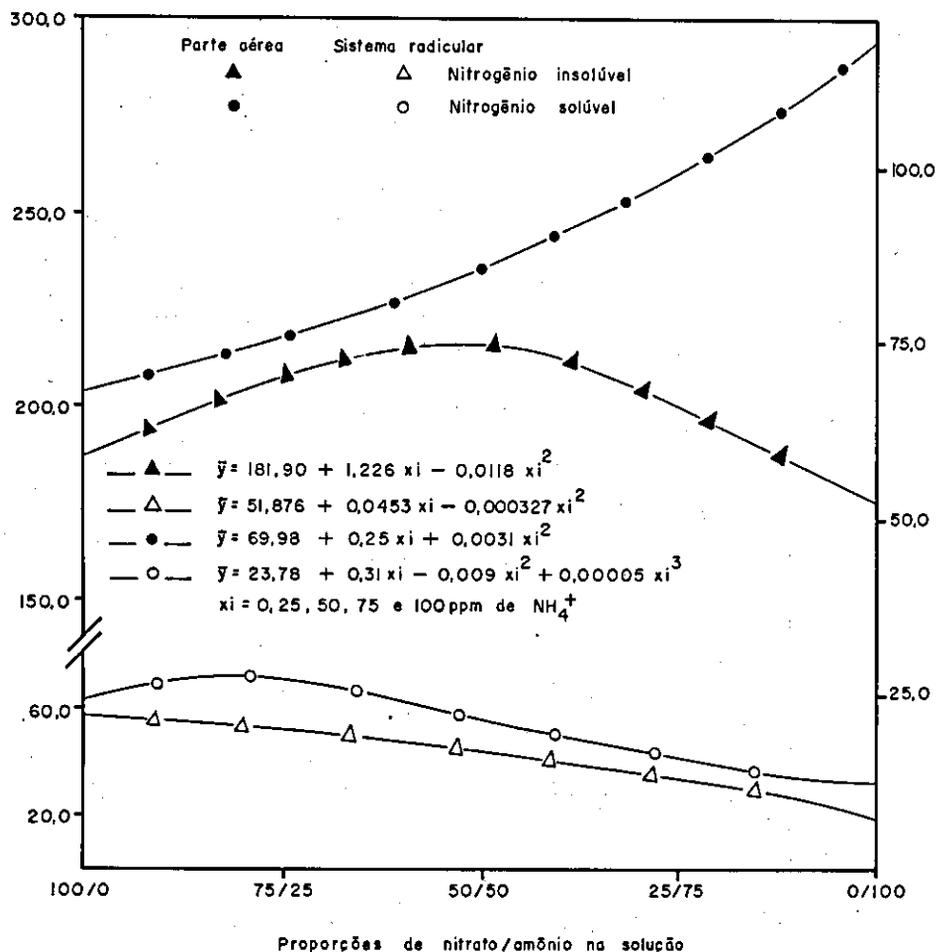


FIG. 2. Efeito das proporções de nitrato/amônio sobre o nitrogênio insolúvel e solúvel da parte aérea e do sistema radicular de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq), cultivadas em solução nutritiva.

vação da quantidade de nitrogênio solúvel, na parte aérea, com o aumento do teor de amônio na solução nutritiva, a partir da proporção de 50% de amônio, coincidente com a queda de peso (Fig. 1). Nas raízes, após um aumento de acúmulo até a proporção de 25% de amônio, o comportamento posterior foi o de decréscimo contínuo, seguindo, de modo geral as mesmas tendências apresentadas para o ganho de peso e quantidade de nitrogênio total.

Em termos quantitativos, a elevação da quan-

tidade de nitrogênio solúvel, na parte aérea, ocorrida entre as proporções de 50% a 100% de amônio (Fig. 2), não pode ser explicada unicamente pelo incremento da exportação do nitrogênio solúvel, pelo sistema radicular, uma vez que correspondeu a uma situação de declínio na curva de absorção do elemento pela planta (Fig. 1). Tal afirmativa encontra certo apoio quando se observa que, a partir da proporção de 50% de amônio, houve um decréscimo na contribuição de nitrogênio insolúvel para o nitrogênio total, o que sugere a ocorrên-

cia de perturbações no metabolismo protéico. Barker et al. (1966b) evidenciaram, em feijão de vagem, um efeito da nutrição amoniacal, tanto na redução da síntese de compostos nitrogenados insolúveis como na substancial elevação do teor de aminoácidos livres às expensas de fontes endógenas. Puritch & Barker (1967) relataram, em tomate, que níveis tóxicos de amônio causaram queda da taxa fotossintética, ao alterar a estrutura e função dos cloroplastos, em face de sua ação depressiva na síntese de proteínas. É bastante provável que a degradação protéica, ao lado de redu-

ção da síntese de proteínas e do aumento da exportação radicular, tenha sido um fator importante para a elevação da quantidade de nitrogênio solúvel na parte aérea.

A parte aérea e o sistema radicular mostraram uma similaridade de comportamento, em relação ao nitrogênio nítrico, com a elevação da proporção de amônio na solução nutritiva (Fig. 3). As apreciáveis quantidades encontradas nas duas partes, no tratamento 0/100, resultaram do pré-tratamento das plantas com nitrato. Nas raízes, a alta predominância do nitrogênio nítrico, no tratamento

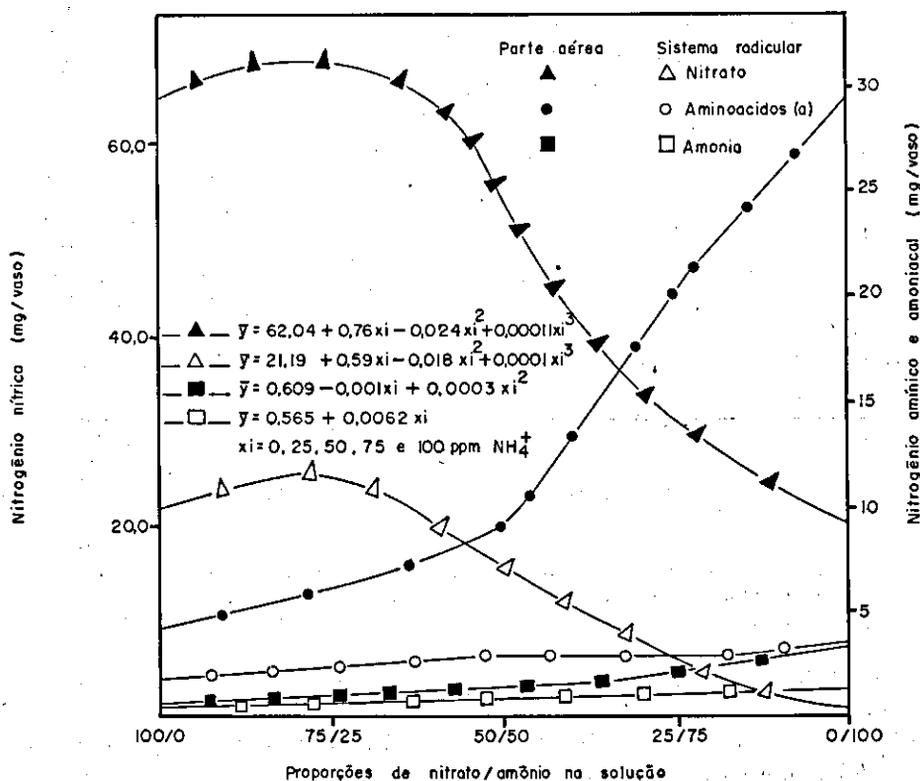


FIG. 3. Efeito das proporções de nitrato/amônio sobre o nitrogênio nítrico, amônico e amoniacal no extrato da parte aérea e do sistema radicular de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), cultivadas em solução nutritiva.

(a) Não foi feita análise estatística.

0/100, constituiu um fato indicativo da incapacidade do sistema redutase do nitrato, de transformar a maior parte do nitrato absorvido. Os expressivos acúmulos verificados nas proporções de 75/25 e 50/50 podem ser atribuídos a um efeito do amônio sobre o pH da solução nutritiva, estimulando a absorção de nitrato (Sheg 1960, citado por Goch & Haynes 1978), ou a uma ação inibitória do amônio sobre a atividade de redutase do nitrato, sem afetar a absorção de ânion, conforme constatado por Shen (1969), em arroz, e Orebamjo & Stewart (1975), em *Lamma minor*.

O grande acúmulo de nitrato na parte aérea das plantas submetidas à nutrição nítrica (100/0) pode ter decorrido da limitada conversão do nitrato exportado pelas raízes, pela redutase do nitrato foliar, conforme observou Pate (1972) em diversas espécies de plantas. A ampla dominância do nitrogênio nítrico sobre as demais formas de nitrogênio solúvel, nos tratamentos 75/25 e 50/50, pode ter resultado da inibição da atividade da redutase do nitrato foliar, causada pelos teores relativamente elevados de amônio livre.

A quantidade de amônio livre na parte aérea e no sistema radicular aumentaram com a elevação da proporção de amônio na solução nutritiva (Fig. 3). No entanto, os padrões de comportamento das duas partes da planta não coincidiram inteiramente com o observado por Silveira et al. (1985), no exsudato do xilema. É bem possível que para as quantidades de amônio livres encontradas nos extratos das partes da planta tenha ocorrido uma contribuição do amônio originado da degradação de compostos nitrogenados, especialmente amidas, durante o processamento das amostras, conforme citação de Pate (1980). Como fonte principal, especialmente na parte aérea, pode-se citar a perturbação do metabolismo protéico, causada por níveis tóxicos de amônio. Barker et al. (1966b) evidenciaram que em plantas de feijão cultivadas na presença de amônio o acúmulo de amônio livre nas folhas foi predominante, de origem endógena.

A quantidade de aminoácidos no sistema radicular pouco cresceu com o aumento da proporção de amônio na solução nutritiva (Fig. 3). Como as raízes foram mais sensíveis à presença de amônio do que a parte aérea, pode-se explicar a tendência

através de um incremento da taxa de exportação de aminoácidos para a parte aérea em razão da queda de sua utilização radicular. A parte aérea parece ter refletido esta situação, principalmente a partir da proporção 50/50, coincidente com as tendências observadas para o fluido xilemático (Silveira et al. 1985).

A Tabela 2 mostra que nos extratos da parte aérea e do sistema radicular dos tratamentos 25/75 e 0/100 ocorreu uma substancial participação de formas não identificadas para o nitrogênio solúvel total, as quais oscilaram entre 38% e 55%, aproximadamente. Durzan & Steward (1967) mostraram, em "White spruce" e "Jack pine", um estímulo da nutrição amoniacal à produção de compostos de tipos guanidino. Relataram o aparecimento de compostos nitrogenados não identificados, quando ocorreu a redução da síntese de proteínas e a do crescimento. Não se pode excluir, também, a possível contribuição de peptídeos solúveis e de aminoácidos não componentes de proteínas, os quais não foram detectados pela metodologia de análise de aminoácidos empregada.

Relativamente à composição da fração aminoácidos livres totais (Tabela 3), constatou-se, no sistema radicular e nas proporções mais elevadas de nitrato na solução nutritiva, a predominância do grupo denominado "outros aminoácidos" (lisina, histina, arginina, serina e alanina, principalmente) e da glutamina sobre os demais aminoácidos. Por outro lado, à medida que se elevou a proporção de amônio na solução nutritiva, a participação de asparagina passou a adquirir importância cada vez maior, atingindo valor superior a 50%, no tratamento 0/100. Este aumento da asparagina resultou, quase inteiramente, da queda da glutamina entre 0% e 25% de amônio, e dos "outros aminoácidos" daí em diante. Isto poderia significar que as proporções mais elevadas de amônio estivessem sendo detrimenais à atividade da GOGAT e benéficas à atividade da sintetase da asparagina. O inverso, entretanto, estaria ocorrendo nas proporções mais elevadas de nitrato. A este respeito, Mifflin & Lea (1976) relatam que altos teores de amônio reduzem a inibição ocasionada pelo ATP e α -ceto-glutarato, da síntese de asparagina. Por outro lado, sob estas condições, a via GOGAT passa

TABELA 2. Composição percentual da fração nitrogenada do extrato de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), submetidas a várias proporções de nitrato/amônio, em solução nutritiva.

Formas	Proporções de nitrato/amônio									
	Parte aérea					Sistema radicular				
	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100
N.A. ácidos	5,99	8,14	13,93	23,90	30,11	8,84	8,87	11,70	15,47	27,29
N-NH ₄ ⁺	0,81	0,80	1,15	1,88	2,63	2,44	2,43	4,50	5,72	10,23
N-NO ₃	90,90	89,84	85,06	36,19	12,49	93,64	95,95	82,15	36,26	18,42
N-não ident.	2,40	1,22	—	38,03	54,77	—	—	1,65	42,55	44,06

TABELA 3. Composição percentual da fração aminoácidos do extrato de plantas de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), submetidas a diferentes proporções de nitrato/amônio, em solução nutritiva.

Aminoácido	Proporções de nitrato/amônio									
	Parte aérea					Sistema radicular				
	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100
Glutamina	39,1	29,2	25,5	24,0	22,7	28,2	22,9	22,7	22,8	21,3
Asparagina	23,7	33,2	49,8	64,6	67,7	11,7	19,9	22,8	36,9	54,9
Aspartado	4,1	4,2	2,7	1,4	1,4	2,6	2,8	2,6	1,5	1,5
Glutamato	12,8	11,8	7,8	2,2	2,2	10,1	7,9	7,5	6,0	4,7
Outros	21,1	21,7	14,2	7,9	6,2	47,3	46,5	43,4	31,7	16,7

a ser limitada pelo fornecimento de substrato. Isto favoreceria a transformação da glutamina em asparagina, a qual possui menor relação C/N, representando um processo econômico de utilização de esqueletos carbonados. (Miflin & Lea 1977, Goh & Haynes 1978).

CONCLUSÕES

1. A produção de matéria seca e o teor de nitrogênio total decresceram com o aumento do teor de amônio na solução nutritiva.
2. O distúrbio no metabolismo protéico foi obtido a partir de 50% de amônio, na solução nutritiva.
3. A maior absorção de nitrato pelo coloniãõ foi obtido na proporção de 75/25 de nitrato e amônio.
4. Na presença de nitrato como fonte de nitrogênio, menos de 10% do nitrato foi reduzido no sistema radicular.

5. Nos níveis mais elevados de nitrato e de amônio, tanto na parte aérea como no sistema radicular, os aminoácidos predominantes foram, respectivamente, a glutamina e a asparagina.

REFERÊNCIAS

- BARKER, A.V.; VOLK, R.J.; JACKSON, W.A. Growth and nitrogen distribution patterns in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to ammonium nutrition. I. Effects of carbonates and acidity control. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30:228-32, 1966a.
- BARKER, A.V.; VOLK, R.J.; JACKSON, W.A. Root environment acidity as a regulatory factor in ammonium assimilation by the bean plant. *Plant Physiol.*, 41:1193-9, 1966b.
- CATALDO, D.A.; HARRON, M.; SHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 6:71-90, 1975.
- CATALDO, D.A.; SHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissue high in nitrate. *Crop Sci.*, 14:854-6, 1974.

- CLARK, R.B. & BROWN, J.C. Differential phosphorus uptake by phosphorus-stressed corn inbreds. *Crop Sci.*, 14:505-8, 1974.
- CORDEIRO, A.T. Efeitos de níveis de nitrato, amônio e alumínio sobre o crescimento e sobre a absorção de fósforo e de nitrogênio em *Stylosanthes guyanensis* e *Stylosanthes macrocephala*. Viçosa, UFV, 1981. 53p. Tese Mestrado.
- COX, J.W. & REISENAUER, H.M. Growth and ion uptake by wheat supplied with nitrogen as nitrate, or ammonium, or both. *Plant Soil*, 38:253-380, 1972.
- DURZAN, D.J. & STEWARD, F.C. The nitrogen metabolism of *Picea glauca* (Moench) Voss and *Pinus banksiana* Lamb affected by mineral nutrition. *Can. J. Bot.*, 45:639-46, 1967.
- GOH, K.M. & HAYNES, R.J. Ammonium and nitrate of plants. *Biol. Rev.*, 53:465-510, 1978.
- IVANKO, S.E. & INGVERSEN, J. Investigation on the assimilation of nitrogen by maize roots and the transport of some major nitrogen compounds by xylem sap. I. Nitrate and ammonia uptake and assimilation in the major nitrogen fraction of nitrogen-starved maize roots. *Physiol. Plant.*, 24:59-65, 1971.
- KAFKAFI, U. & NEUMANN, G.R. Root temperature and percentage $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ effect on tomato development. II. Nutrient composition of tomato plants. *Agron. J.*, 72:762-6, 1978.
- KANAMORI, T.; KONISHI, S.; TAKAHASHI, E. Inducible formation of glutamate dehydrogenase in rice plant roots by the addition of ammonia to the media. *Physiol. Plant.*, 26:1-6, 1972.
- KUMAZAWA, K. & MUHAMMAD, S. Assimilation and transport of nitrogen in rice. I. ^{15}N -labelled ammonium nitrogen. *Plant Cell Physiol.*, 15:747-58, 1974.
- LORENZ, H. Free amino acids in tomato plants in relation to form and concentration of nitrogen in the rooting medium. *Plant Soil* 45:163-8, 1975.
- MACLURE, P.R. & ISRAEL, D.W. Transport of nitrogen in the xylem of soybean plants. *Plant Physiol.*, 64: 411-5, 1979.
- MAYNARD, D.N.; BARKER, A.V.; LACHMAN, W.H. Ammonium induced stem and leaf lesions of tomato plants. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 88:516-20, 1966.
- MAYNARD, D.N. & BARKER, A.V. Studies on the tolerance of plants to ammonium nutrition. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 94:235-9, 1969.
- MCELHANNON, W.S. & MILLS, C.H. The influence of N concentration and $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio on the growth of lima and snap beans and southern pea seedlings. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 8:677-87, 1977.
- MIFLIN, B.J. & LEA, P.J. Amino acid metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 28:299-329, 1977.
- MIFLIN, B.J. & LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. *Phytochemistry*, 15:873-85, 1976.
- MILLS, H.A.; BARKER, A.V.; MAYNARD, D.N. Effects of nitrapyrin on nitrate accumulation in spinach. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 101:202-4, 1976.
- MUHAMMAD, S. & KUMAZAWA, D. Assimilation and transport of nitrogen in rice. II. ^{15}N -labelled nitrate nitrogen. *Plant Cell Physiol.*, 15:759-66, 1974.
- OJI, Y. & IZAWA, G. Quantitative changes of free amino acids and amides in barley plants during ammonia and nitrate assimilation. *Plant Cell Physiol.*, 13: 249-52, 1972.
- OREBAMJO, T.O. & STEWART, G.R. Ammonium repression of nitrate reductase formation in *Lamium minor* L. *Planta*, 122:27-36, 1975.
- PATE, J.S. Transport and partitioning of nitrogenase solutes. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 31:313-40, 1980.
- PATE, J.S. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol. Biochem.*, 5:109-19, 1972.
- PURITCH, G.S. & BARKER, A.V. Structure and function of tomato leaf chloroplasts during ammonium toxicity. *Plant Physiol.*, 42:1229-38, 1967.
- SHEN, T.C. Induction of nitrate reductase and the preferential assimilation of ammonium in germinating rice seedlings. *Plant Physiol.*, 44:1650-5, 1969.
- SILVEIRA, J.S.M.; SANT'ANNA, R.; RENA, A.B.; GARCIA, R. Transporte de nitrogênio em função de várias proporções de nitrato e amônio. *Pesq. agropec. bras.*, 20(1):15-23, 1985.
- SODEK, K. & WILSON, C.M. Amino acid composition of proteins isolated from normal, opaque-2 and floury-2 corn endosperms by a modified Osborne procedure. *J. Agric. Food Chem.*, 19:1144-50, 1971.
- SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 30:1190-206, 1958.
- VINES, H.M. & WERRING, R.T. Some effects of ammonia on plant metabolism and a possible mechanism for ammonia toxicity. *Plant Physiol.*, 35:820-5, 1960.
- WARNCKE, D.D. & BARKER, S.A. Ammonium and nitrate by corn (*Zea mays* L.) as influenced by nitrogen concentration and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio. *Agron. J.*, 65:950-2, 1973.
- WEISSMAN, G.S. Influence of ammonium and nitrate nutrition on enzymatic activity in soybean and sunflower. *Plant Physiol.*, 49:138-41, 1972.
- YONEYAMA, T. & KUMAZAWA, K. A kinetic study of the assimilation of ^{15}N -labelled nitrate in rice seedlings. *Plant Cell Physiol.*, 16:21-6, 1975.