

MODELO DINAMICO DEL METABOLISMO DEL NITROGENO EN PLANTAS SUPERIORES. I. DESCRIPCION DEL MODELO¹

Rafael Novoa²
y Dr. R. S. Loomis³.

INTRODUCCION

El nitrógeno generalmente representa entre un 1 y un 40% del peso de los tejidos vegetales. Las moléculas que contienen nitrógeno están actuando en todas las funciones reconocidas para los elementos minerales en la fisiología de las plantas. Las proteínas son especialmente importantes por desempeñar funciones estructurales, catalíticas, de transporte y de reserva. Los ácidos nucleicos y algunas hormonas actúan como transportadores de información. Los iones nitrato y amonio junto con aminoácidos como la prolina cumplen funciones osmóticas en las vacuolas. El rol especial de las proteínas y ácidos nucleicos en el transporte de información, en la regulación metabólica y en los procesos de desarrollo confieren al nitrógeno una participación central en la vida vegetal.

El suministro de nitrógeno, su absorción, reducción e incorporación en los aminoácidos y proteínas, así como su acción en el crecimiento y desarrollo de las plantas representa un sistema complejo y dinámico. La gran cantidad de factores y procesos involucrados en el metabolismo del nitrógeno ha impedido la mejor comprensión del comportamiento del sistema, incluyendo su control por procesos limitantes. La investigación inicial del metabolismo del nitrógeno dio importancia a los procesos de asimilación y al rol central

de las amidas. Ese trabajo mostró la necesidad de una comprensión molecular de las enzimas y genes lo que condujo a intensificar estas investigaciones a partir de 1950. Ultimamente, Pate (1973, 1976), Jackson, Kwit y Wolk (1976), Radin (1977) y otros han empezado a tratar de ubicar ese conocimiento bioquímico dentro de una planta completa. Estos trabajos demuestran claramente la necesidad de un método adecuado para una integración cuantitativa y dinámica del sistema nitrógeno.

El enfoque reduccionista sirve para caracterizar los procesos individuales y su modulación por otras variables, es esencial para la descripción de los elementos de un sistema, pero no conduce directamente a una comprensión cuantitativa del sistema completo, al igual que el fijar la atención en un solo actor no permite comprender un drama. Parece ser posible usar, para este fin, el análisis de sistemas y las técnicas de modelación dinámicas (Forrester, 1968; de Wit, Brouwer y Penning de Vries, 1970; de Wit y Goudriaan, 1974; Fick, Loomis y Williams 1975; Loomis, Rabbinge y Ng, 1979).

De hecho, el modelar se ve como el único método existente para integrar conocimientos y extrapolar el conocimiento científico acumulado a condiciones locales específicas (Van Keulen, 1975). El objetivo de la investigación presentada aquí es el ensayo de construcción de un modelo dinámico explicativo del metabolismo del nitrógeno en una planta. La explicación se consigue usando información de nivel molecular o celular que se integra para predecir el comportamiento a niveles de organización superior (órgano u organismo).

Los modelos biológicos son representaciones simplificadas del sistema real que se comportan como el siste-

¹Recepción originales: 22 de septiembre de 1980.
Parte de tesis de doctorado del primer autor.

²Ing. Agr., Ph.D., Programa Ecología y Manejo, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

³Department of Agronomy and Range Science, University of California, Davis, USA.

ma real. No tiene objeto construir modelos excesivamente detallados y complejos ya que ello oscurece la comprensión del sistema analizado. El modelo presentado en esta oportunidad sólo incluye detalles de la absorción del nitrato, su distribución en los organelos celulares, reducción y la incorporación del nitrógeno a los cinco aminoácidos iniciales: glutamina, glutamato, aspartato, asparagina y alanina. El crecimiento de la planta se hace depender de la disponibilidad de azúcar y aminoácidos. Esto permitiría estudiar a las interacciones carbono-nitrógeno y el balance funcional (Brower, 1961) entre actividades radiculares y del follaje.

El sistema

Para una mejor comprensión del metabolismo del nitrógeno como un sistema, es útil distinguir tres clases de tejidos: los no fotosintetizantes como las raíces o tallos; los tejidos fotosintetizantes como las hojas, y los tejidos de almacenaje o tejidos jóvenes en crecimiento. Esto representa una simplificación de una planta real. La distinción se basa en la fotosimilación del nitrógeno en los tejidos y no es tan radical como parece, ya que es posible encontrar células fotosintetizantes y no fotosintetizantes en el mismo órgano, como es el caso de los tallos. El modelo más simple de una planta superior involucra a estas tres clases de tejidos conectados por xilema y floema. Los tejidos fotosintéticos (hojas) son considerados fuentes de azúcares y aminoácidos, los no fotosintéticos (raíces) como fuentes de aminoácidos y usuarios de azúcares mientras que los tejidos de almacenaje o en crecimiento sólo son usuarios de aminoácidos y azúcares (Figura 1). Para simplificar, cada tejido es considerado como una célula gigante formada de citosol, organelos, vacuolas y espacio libre.

El modelo

Como se mencionó anteriormente un modelo representa una simplificación o resumen del sistema real. Por sistema se entiende un conjunto de elementos interrelacionados que participan en un propósito común. El modelo descrito a continuación es del tipo llamado dinámico y de variables de estado. Un modelo dinámico es uno en el cual los cambios en el estado del sistema son simulados en función del tiempo en respuesta a cambios en las variables independientes que manejan el sistema. Así se caracterizan las interacciones entre el sistema y su medio. La condición del sistema en cualquier momento está definida por el valor de ciertas variables llamadas variables de estado que representan atributos tales como peso de las hojas, cantidad de nitrato en el citosol o vacuola, etc. La manera como estas variables cambian en el tiempo o con las condiciones ambientales es el producto del modelo y una representación del comportamiento del

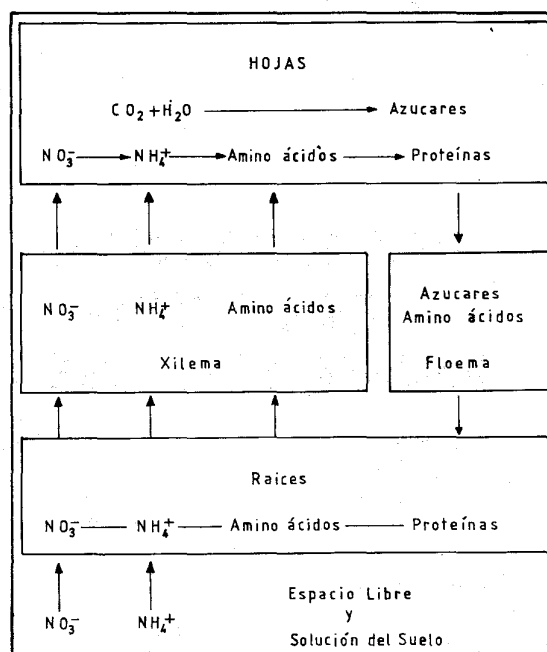


FIGURA 1. Esquema básico de la absorción, reducción e incorporación del nitrógeno en las proteínas de una planta superior.

sistema. Los valores de las variables de estado se calculan para intervalos de tiempo durante los cuales se suponen condiciones estacionarias.

Un requerimiento importante en el desarrollo de un modelo es cuantificar matemáticamente los transportes de masa o energía que determinan el cambio en las variables de estado. En la simulación, se parte con un valor inicial de las variables de estado, luego se calcula el cambio de estas variables, para un intervalo de tiempo dado, usando funciones de transporte y/o transformación. Sumando estos cambios al valor inicial de las variables de estado se calcula un nuevo valor de ellas.

Ej.: Cambio peso hoja = $f(\text{CH}_2\text{O}, \text{aminoácidos})$
 Peso hojas (t_2) = Peso hojas (t_1) + Cambio peso hojas $\times \Delta t$.

t_1 = tiempo inicial

t_2 = tiempo final

Δt = intervalo de tiempo o integración

Debido a que cada variable de estado puede estar influida por varios procesos de transporte, también debe obedecer la ley de conservación de masa o energía. Así, para calcular la cantidad de nitrato en el citosol (variable de estado) se suman los flujos que hacen ingresar, salir o transformar el nitrato en este compartimento celular; con ello se calcula el cambio por unidad de tiempo. La correcta evaluación de los flujos es muy importante para el modelo.

Las tasas o valores de los flujos que se requieren para este modelo se calculan usando dos tipos de ecuaciones: ecuaciones de difusión basadas en la ley de Fick que describen los flujos pasivos de nitratos o aminoácidos a través de las membranas celulares, y ecuaciones tipo Michaelis-Menten usadas para describir el transporte activo de sustancias a través de membranas, las reacciones enzimáticas, tales como la reducción de nitratos o la síntesis de aminoácidos y el efecto de la concentración de aminoácidos y de la glucosa en el crecimiento de hojas, raíces y tejidos jóvenes.

Así, por ejemplo, la absorción de nitratos queda dada por la absorción pasiva (R1) más la activa (R2):

$$\text{Absorción nitratos} = R1 + R2$$

$$R1 = \text{PPN} (N(1) / \text{DDC} - N(2) \text{CMF})$$

PPN: Coeficiente permeabilidad del plasmalemma, $0,05 \text{ h}^{-1}$

N(1): Concentración nitrato en solución espacio libre, micromoles l^{-1} .

N(2): Concentración nitratos en citosol, micromoles g^{-1} (peso fresco).

DDC: Densidad tejido raíces, $1,030 \text{ g l}^{-1}$.

CMF: Factor morfológico citoplasma usado para expresar la concentración real de los nitratos en citosol, 4,0

$$R2 = (\text{VMAXR2} N(1) / \text{DDC}) / (R2\text{KM} + N(1) / \text{DDC})$$

VMAXR2: Velocidad máxima absorción nitratos, $7,5 \text{ micromoles g}^{-1} \text{ (peso fresco) h}^{-1}$

R2KM: Concentración de nitratos en la solución para la cual se tiene la mitad de la velocidad máxima, $0,85 \text{ micromoles g}^{-1}$ (peso fresco)

El valor de VMAXR2 es modificado por efecto de la temperatura y el pH. Como no se conoce la función que define estos efectos se usó tablas con valores obtenidos de Van den Honert y Hooymans (1955), Ezeita y Jackson (1975) y Rao y Rains (1976). Se supuso que la absorción de nitratos era máxima a 30°C . Por otra parte, la presencia de iones amonio disminuye VMAXR2. Este efecto se calculó considerando que el amonio actúa como inhibidor no competitivo (D.W. Rains, comunicación personal), según la relación siguiente (expresada en FORTRAN):

$$\text{VMAXR2} = \text{VMAXR2} / (1,0 + N(5) / 158,0)$$

N(5): Concentración iones amonio en solución externa.

Constante inhibición: $158,0 \text{ micromoles l}^{-1}$.

Por último la absorción activa, R1, se consideró disminuida por efecto de una retroalimentación de la concentración de nitratos en el citoplasma (Smith, 1973; Cram, 1973) que se estimó de la expresión:

$$\text{ENITR2} = (1,0 - 0,71 * \text{ALOG10} (N(2)))$$

ENITR2 = Coeficiente que refleja el efecto de la concentración de nitrato en citoplasma sobre la absorción activa de nitratos.

ALOG10: logaritmo base 10.

N(2): Concentración nitratos en citoplasma;

Este coeficiente es aplicado para concentraciones hasta $25 \text{ micromoles g}^{-1}$ (peso fresco) en el citosol que, se asume, es lo máximo tolerable en ese compartimento celular.

Supuestos principales

En la formulación del modelo se usaron los siguientes supuestos:

- El intervalo de integración es tan pequeño que las condiciones estacionarias se cumplen.
- El efecto de los componentes eléctricos en los flujos pasivos no se considera. Estas propiedades se agrupan con otras propiedades de las membranas en un solo factor, "el coeficiente de permeabilidad", que se supone constante. Así los flujos pasivos sólo dependen de este coeficiente y de las gradientes de concentración a través de las membranas.
- Mecanismos pasivos y activos operan para todas las sustancias a través de las membranas.
- Hay retroalimentación de la concentración de nitratos e iones amonio en el citosol que opera sobre los flujos activos de estos iones.
- Se usaron valores relativos de tamaño de los organelos celulares para reducir concentraciones dadas en peso de tejido a concentraciones en la solución de estos compartimentos.
- Sólo se consideraron las reacciones enzimáticas en la dirección principal.
- La reducción de nitrito se consideró que era mucho más rápida que la de nitrato.
- La composición de los tejidos vegetales (proteína y carbohidratos) se supuso fija y todas las proteínas de igual composición en aminoácidos.
- El contenido de agua de raíces y hojas usado fue de 85 y 80%, respectivamente.

Estructura y descripción del modelo

El modelo consiste en un conjunto de ecuaciones diferenciales escritas en FORTRAN adecuado para ser procesado en un minicomputador DIGITAL, PDP 11/34.

Se construyeron 3 submodelos: uno que describe el metabolismo del nitrógeno de un tejido no fotosintetizante (raíz) (Figura 2), otro de un tejido fotosintetizante (hoja) (Figura 3) y uno de una planta compuesta de estos dos tejidos más un tejido que sólo usa los productos de los otros dos o tejido "parásito" (Figura 4).

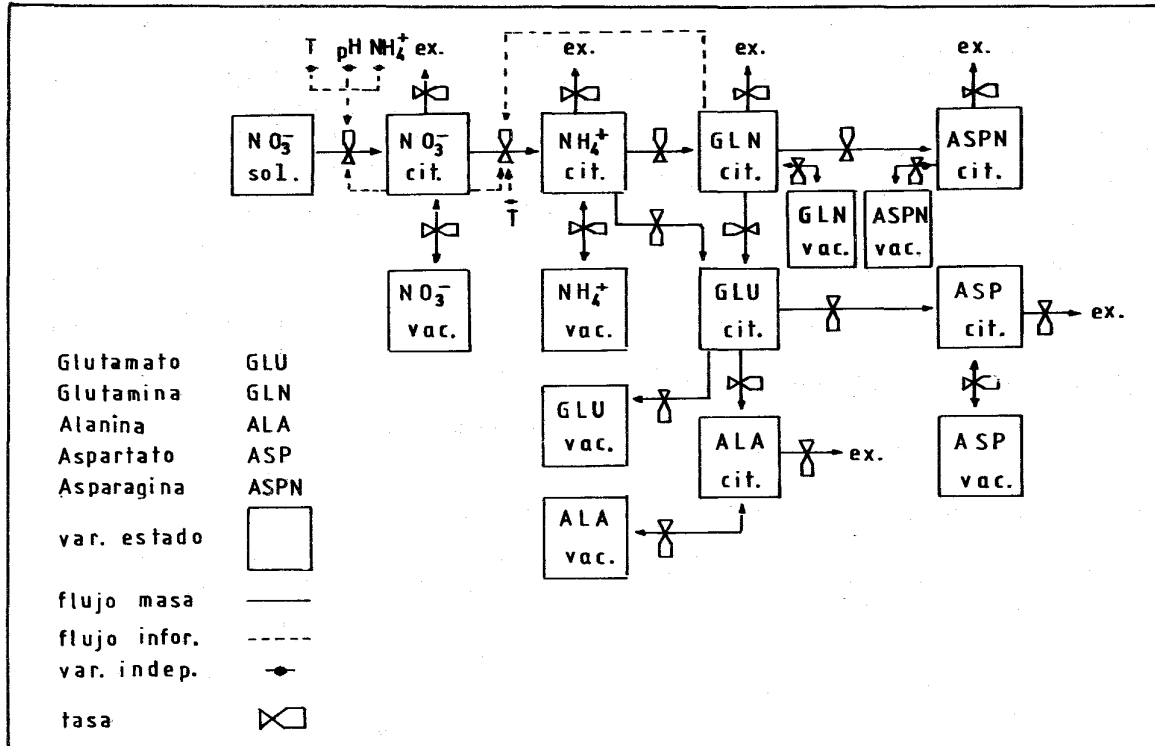


FIGURA 2. Diagrama del metabolismo del nitrógeno en una célula no fotosintetizante. Basado en Van den Honert y Hooymans (1955), Beking (1956), Lycklama (1963), Rao y Rains (1976), Ezeta y Jackson (1975), Miflin y Lea (1977).

El nitrato es absorbido por las raíces desde la solución externa asumiendo que todas las raíces son igualmente eficientes en este proceso, lo cual no es necesariamente válido (Milthorpe y Moorby, 1974), pero los parámetros de la ecuación de absorción activa del nitrato fueron tomados de experimentos con sistemas radiculares completos (Rao y Rains, 1976). Parte del nitrato absorbido es almacenado en las vacuolas de las raíces, otra parte es reducida y el resto es exportado a las hojas (Figura 2). Los aminoácidos formados en la raíz pueden ser almacenados ahí o exportados a un reservorio imaginario que representa a los aminoácidos disponibles para el crecimiento. De esta manera las raíces sirven como fuente de nitrato, amonio y aminoácidos para el resto de la planta.

Las hojas realizan tres funciones importantes: son el lugar donde se realiza la fotosíntesis y, por lo tanto, fuente de carbón reducido representado por azúcares;

reducen nitratos y sintetizan aminoácidos (Figura 3). Los azúcares producidos en las hojas son exportados a un reservorio de azúcares disponibles para el crecimiento, y los aminoácidos que exportan se unen al reservorio de aminoácidos disponibles para crecimiento.

El crecimiento de hojas, raíces y tejidos parásitos es dependiente de la concentración de glucosa en el reservorio de azúcares (CGLCP) y de la concentración de aminoácidos en el reservorio de éstos (CAAP) (Figura 4). Se asume que una función tipo Michaelis-Menten describe el efecto de la concentración de glucosa (ECGLC) y el efecto de la concentración de aminoácidos (ECAAC) en las tasas de crecimiento de hojas, raíces o tejidos parásitos. El más pequeño de estos dos valores es seleccionado para representar al factor limitante (MIN) y es multiplicado por la tasa de crecimiento potencial (PTRGR, 0,5 día⁻¹) para obtener la tasa real de crecimiento (ARGR). Para cal-

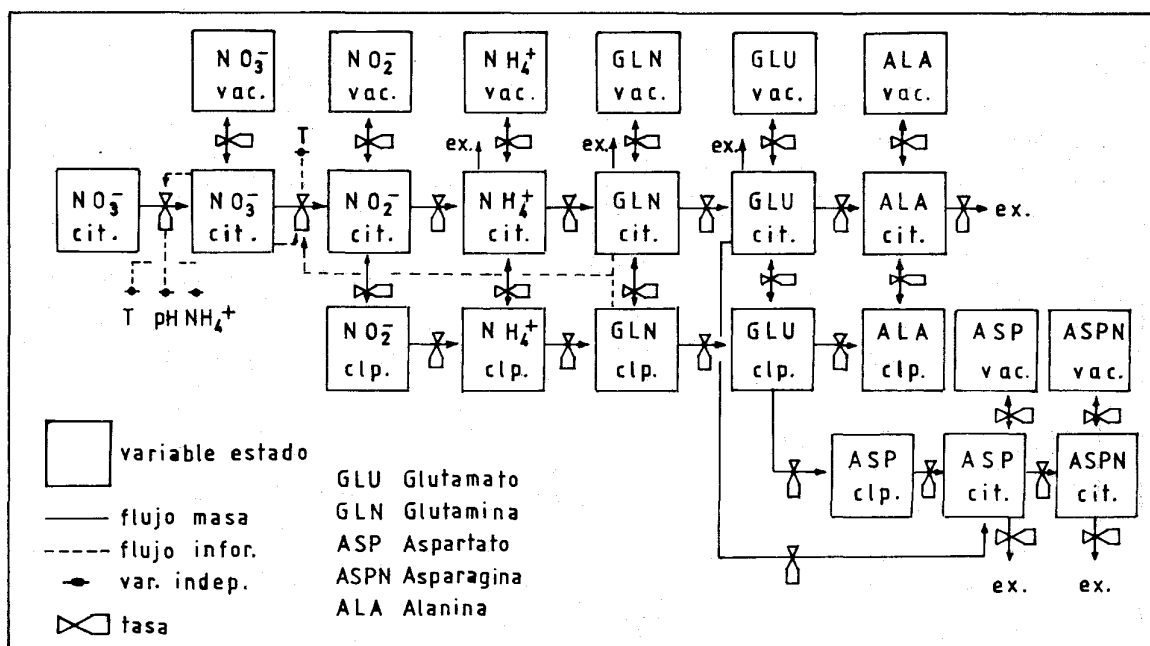


FIGURA 3. Diagrama del metabolismo del nitrógeno en una célula fotosintetizante. Basado en Kirk y Leech (1972), Krogman (1973), Mitchell y Stocking (1975), Wallsgrave, Lea y Mifflin (1979).

cular el incremento de peso en la hoja o raíz u otro tejido, se multiplica esta tasa por la fracción de tejidos capaz de crecer (FRCG) y por intervalo de tiempo. Este valor se agrega al peso inicial del órgano para obtener los nuevos pesos de hojas, tejidos parásitos y raíces (WL, WS, WR).

El programa de cálculos está dividido en secciones: una trata del suministro, uso y cambio de los azúcares; otra trata del suministro, uso y cambio de los aminoácidos; una sección que calcula el crecimiento de los tejidos de las hojas, raíces y tejidos parásitos, y finalmente una sección que estima el efecto de la concentración de glucosa en los niveles de energía (ATP), poder reductor (NADH) y ácidos orgánicos.

La sección que estima el suministro de glucosa calcula la tasa de fotosíntesis del follaje como función del índice de área foliar (LAI) y del seno de la elevación del sol. El LAI se calcula por transformación del peso de las hojas por planta a área, asumiendo que 0,01 m² equivalen a un gramo de peso seco y multiplicando por el número de plantas por m². Con los valores de la elevación solar y del índice área foliar se obtiene la tasa fotosintética de una tabla dada por Fick *et al* (1975) para remolacha. Esta tabla da la fotosíntesis en g. de carbohidrato m⁻² h⁻¹; el valor de la tabla se divide por el número de plantas por m² para obtener la fotosíntesis por planta. La respiración (R) se calcula como la suma de la respiración de crecimiento para

cada parte de la planta y la de mantención. La respiración de mantención se calcula como una función lineal del peso de la planta. El coeficiente usado se tomó de Penning de Vries (1972), transformado a las unidades adecuadas, micromol h⁻¹. La respiración de crecimiento se calculó considerando el aumento en peso seco, la composición química en proteínas y carbohidratos de las hojas, raíces y tejidos parásitos y los coeficientes dados por Penning de Vries, Brunsting y Van Laar (1974). La tasa neta de fotosíntesis se calcula restando la respiración a la fotosíntesis por planta.

La tasa de cambio de la glucosa en la planta se obtiene a partir del valor de la tasa de fotosíntesis neta, la tasa de uso de la glucosa en el crecimiento de la planta (RGUGRP), la respiración de crecimiento, el costo en glucosa de la síntesis de aminoácidos en hojas y raíces, los pesos de las hojas y raíces y las tasas a las cuales el glutamato, la glutamina, el aspartato, la asparagina y la alanina se utilizan en el crecimiento de la planta. La respiración de crecimiento se resta para evitar contarla dos veces, ya que está incluida en R y en RGUGRP. El costo de síntesis de los aminoácidos, expresado en micromoles h⁻¹ de glucosa, se multiplica por el peso de raíces y hojas para obtener el costo por planta. El costo de los aminoácidos usados en crecimiento se resta porque ya está incluido en RGUGRP. El valor de la tasa de cambio de la glucosa en la planta se utiliza para calcular, por integración

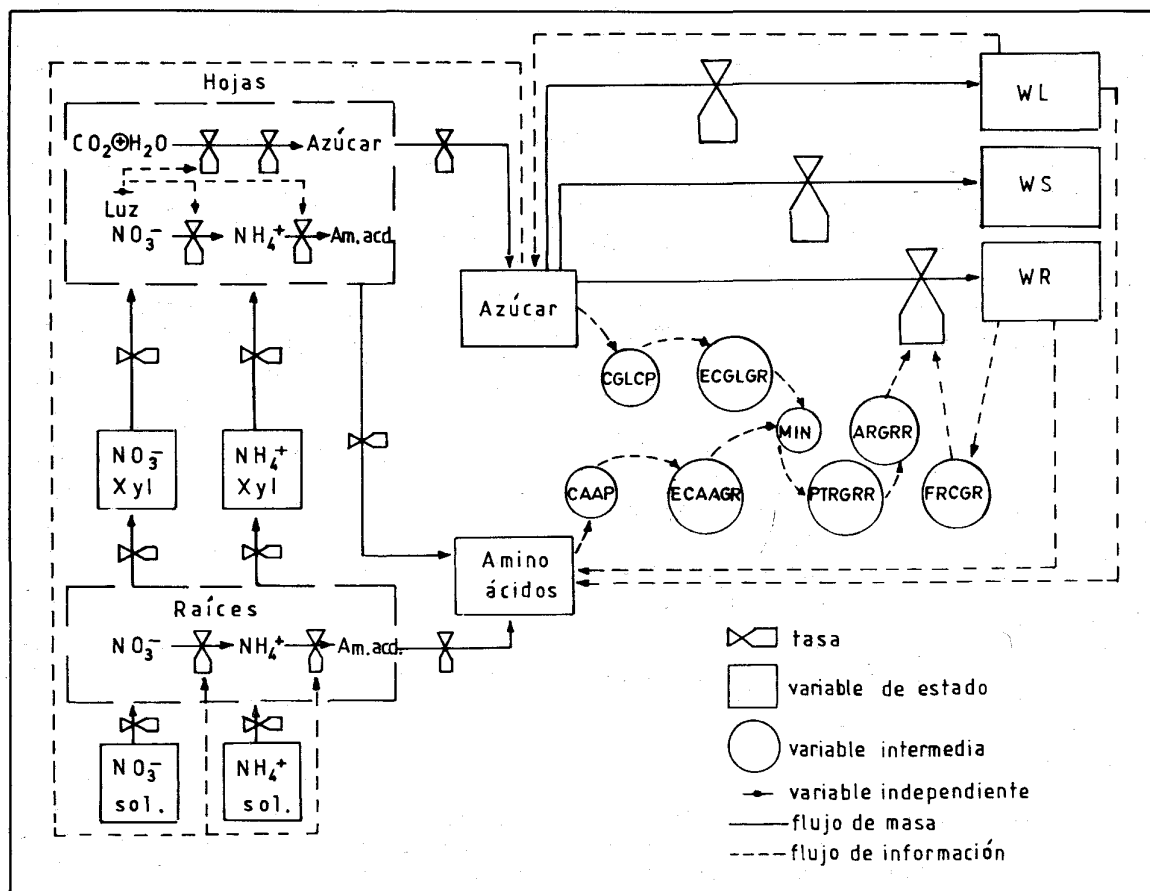


FIGURA 4. Diagrama simplificado del modelo del metabolismo del nitrógeno en una planta superior. CGCP es la concentración de glucosa en la planta y CAAP es la concentración de aminoácidos. El valor más bajo (MIN) de los efectos de la concentración de glucosa (ECGLGR) y de la concentración de aminoácidos (ECAAGR) en el crecimiento junto con la tasa de crecimiento relativa potencial de las raíces (PTRGRR) es usado para estimar el crecimiento relativo real de las raíces (ARGRR). Este valor (ARGRR), la fracción de las raíces capaces de crecer (FRCGR) y el peso de las raíces (WR) son usados para calcular la tasa de cambio en el peso de las raíces. Igual procedimiento es seguido para estimar las tasas de cambio en hojas y tejidos "parásitos".

numérica, la cantidad de glucosa en ella. A partir de este valor y del peso de la planta se calcula la concentración de glucosa en la planta (CGLCP). Con este valor se estima el efecto de la disponibilidad de glucosa en las tasas de crecimiento de las hojas, tejido parásito (ECGLGS) y raíces (ECGLGR) suponiendo que el crecimiento de cada órgano sigue una función tipo Michaelis-Menten de la concentración de glucosa en la planta. Para establecer diferencias en las tasas y en las prioridades del uso de la glucosa por los distintos tejidos se usan diferentes valores de los KM para cada órgano (KMGL, KMGS, KMGR) y diferentes niveles críticos (THRGL, THRGS, THRGR) sobre los cuales crecen los diversos órganos.

La sección siguiente del modelo, trata de la demanda, el suministro, los cambios y los niveles de los aminoácidos en la planta así como el efecto de estos últi-

mos en las tasas de crecimiento.

La demanda de aminoácidos se calcula multiplicando el aumento de peso de los tejidos por el porcentaje de cada aminoácido en la proteína (glutamato, glutamina, etc.) y por un factor que reduce a micromoles $h^{-1} g^{-1}$ (peso seco). Además el consumo de los cinco aminoácidos (GLU, GLN, ASP, ASPN, y ALA) requerido para la síntesis de otros aminoácidos se estima basándose en que la síntesis de argininas requiere 4 nitrógenos, 2 suministrados por el glutamato, uno por aspartato y uno por el ion amonio; la síntesis de histidina usa una glutamato y 2 glutaminas; las síntesis de glicina, leucina, fenilalanina, prolina, tiroxina y valina usa un glutamato cada uno; la síntesis de serina requiere dos glutamatos y libera un ion amonio; por último la síntesis de triptofano usa una serina y una glutamina. El consumo o formación de glutama-

to (cuando la glutamina es el sustrato) se toma en cuenta al calcular la tasa de uso de glutamato en el crecimiento de la planta. El mismo sistema se usa para calcular la tasa de uso de glutamina y la de uso de aspartato para crecimiento de la planta. La síntesis de valina puede requerir de glutamato o alanina como donador de nitrógeno. Esta diferencia se toma en cuenta asumiendo que si la cantidad de glutamato en la planta es mayor que la cantidad de alanina, la síntesis de valina usa glutamato; en caso contrario usa alanina. Una vez calculadas las tasas de uso de los aminoácidos para crecimiento, se evalúa las tasas de cambio de los aminoácidos. Por ej.: el cambio en la cantidad de glutamato en la planta se obtiene restando al glutamato exportado de hojas y raíces, la cantidad de glutamato usado en el crecimiento de la planta. El mismo procedimiento se usa para los cálculos de los cambios en la glutamina, aspartato, asparagina y alanina. Las fracciones capaces de crecer de cada tejido fueron introducidas en forma de tablas en el modelo.

Finalmente, el efecto de los niveles de glucosa en los niveles de ATP, NADH, oxaloacetato, piruvato y alfa-ketoglutarato en el citosol y en los cloroplastos se estiman asumiendo que los niveles, no limitantes iniciales de estos compuestos, decrecen en proporción (0,1) de la razón entre la cantidad de glucosa disponible y el total de glucosa usada para síntesis de aminoácidos.

El modelo integrado

Los submodelos para tejidos fotosintéticos, no fotosintéticos y de la planta se combinan en un modelo integrado. El programa principal lee la información requerida para realizar los cálculos de todos los subprogramas incluyendo las variables ambientales y los parámetros. Luego llama al modelo de tejidos no fotosintéticos (raíces); después al modelo de tejidos fotosintéticos (hojas); a continuación, al modelo de la planta y al programa de integración numérica.

Con la información suministrada por los submodelos

se calcula el peso de la planta y de las principales variables de estado. Estas variables y las principales tasas calculadas se guardan en memoria para graficar o imprimir. Después de algún tiempo dado, los resultados son impresos. Después del mismo lapso de tiempo u otro se llama a la subrutina para graficar.

Este modelo incluye eventos que se producen a tasas muy diversas. Así, por ejemplo, las variaciones de los contenidos de amonio en los cloroplastos pueden variar en pocos segundos, mientras que el peso de las hojas o raíces varía perceptiblemente al cabo de varias horas.

Para poder mantener cambios suaves en el amonio del cloroplasto se requiere usar intervalos de integración no mayores de 4 segundos lo cual obliga a un elevado número de interacciones y hace muy costoso el simular períodos largos de tiempo. Este problema puede ser disminuido con algunas modificaciones sencillas del modelo, tales como reduciendo el detalle de los cálculos de costos en carbón de los aminoácidos o introduciendo reversibilidad en las reacciones enzimáticas. Por otra parte el modelo simula razonablemente bien la dinámica del metabolismo del nitrógeno en una planta simplificada. Detalle de las simulaciones y de algunos aspectos de validación, se presentan a continuación, en la segunda parte de este trabajo.

Al construir este modelo se percibió que la información bioquímica disponible parece adecuada para describir la dinámica y la asimilación del nitrógeno nítrico en aminoácidos. A este nivel se requiere mejor información sobre los mecanismos de acción enzimáticas, controles y mecanismos de transporte a nivel de membranas. A nivel de la planta la información fisiológica parece suficiente para procesos tales como la fotosíntesis, pero no lo es para los procesos de transporte en xilema y floema. La información morfológica es pobre, sobre todo en lo referente a volúmenes ocupados por xilema y floema en diferentes órganos y cómo varían durante el crecimiento. Tampoco se tiene buena información sobre la fracción de tejido capaz de crecer y su cambio durante el crecimiento de las plantas.

RESUMEN

Se construyó un modelo dinámico del metabolismo del nitrógeno en plantas superiores. El modelo es un resumen de nuestros conocimientos sobre el sistema real, tiene una estructura integrativa y jerarquizada. El nivel más bajo de organización está dado por las vías enzimáticas y el superior lo constituye el crecimiento de la planta. El modelo simula la absorción

del nitrógeno y su incorporación en aminoácidos. También considera la fotosíntesis y la respiración. El crecimiento de la planta se hace depender del suministro de azúcares y aminoácidos. El modelo consiste en un conjunto de ecuaciones diferenciales escritas en FORTRAN.

SUMMARY

A DYNAMIC MODEL OF NITROGEN METABOLISM IN HIGHER PLANTS. I. DESCRIPTION OF THE MODEL

A dynamic model of nitrogen metabolism in higher plants was developed. The model represents a summary of what is known about the real system. The model has an integrative, hierarchic structure, with enzyme pathways at the lowest level of organization, and plant growth at the highest. The model simulates ni-

trogen uptake and its assimilation into aminoacids. It also estimates photosynthesis and respiration. Plant growth is calculated as a function of aminoacids and sugar supply. The model consists of a set of differential equations, written in FORTRAN.

LITERATURA CITADA

- BECKING, J.H. 1956. On the mechanism of ammonium ion uptake by maize roots. *Acta Bot. Neerland.* 5: 1-79.
- BROUWER, R., 1962. Distribution of dry matter in the plant. *Neth. J. Agr. Sci.* 10: 361-376.
- CRAM, W.J. 1973. Internal factors regulating nitrate and chloride influx in plant cells. *J. Exp. Bot.* 24: 328-341.
- EZETA, F. G. and JACKSON, W.A. 1975. Nitrate translocation by detopped corn seedlings. *Plant Physiol.* 56:48-16 156.
- FICK, G.W.; LOOMIS, R.S. and WILLIAMS, W.A. 1975. Sugar beet. *In: Crop Physiology.* Ed. L.T. Evans, pp. 259-295. London, Cambridge University Press. 374 pp.
- FORRESTER J.M. 1968. Principles of Systems. Wright-Allen Press, Inc. Cambridge, Massachusetts, 381 pp.
- JACKSON, W. A.; KWIT, D. and WOLK, J. 1976. Nitrate uptake during recovery from nitrogen deficiency. *Physiol. Plant.* 36: 174-181.
- KIRK, P.R. and LEECH, R.M. 1972. Amino acids biosynthesis by isolated chloroplasts during photosynthesis. *Plant Physiol.* 50: 228-234.
- KROGMAN, DAVID. 1973. The biochemistry of green plants. Prentice - Hall Inc., Englewood Cliffs, 239 p.
- LOOMIS, R.S.; RABBINGE, R. and Ng., E. 1979. Explanatory models in crop physiology. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30: 339-367.
- LYCKLAMA, J. 1963. The absorption of ammonium and nitrate by perennial ryegrass. *Acta Bot. Neerland.* 12: 361-423.
- MIFLIN, B.J. and LEA, P.J. 1977. Amino acids metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28:299-329.
- MILTHORPE, F.L. and MOORBY, J. 1974. An introduction to plant physiology. Cambridge University Press. 202 p.
- MITCHELL, C.A. and STOCKING, C.R. 1975. Kinetics and energetics of light driven chloroplast glutamine synthesis. *Plant Physiol.* 55: 59-63.
- PENNING DE VRIES, F.W.T. 1972. Respiration and growth. *In: Crop Processes in Controlled Environments.* Eds. A.R. Rees, R.E. Cochshull, D.W. Hand and R.G. Hurd. pp. 327-346. Academic Press, London.
- BRUNSTING, A.H.M. and VAN LAAR, H.H. 1974. Products, requirements and efficiency of byosynthesis: A quantitative approach. *J. Theor. Biol.* 45: 339-377.
- PATE, J. S. 1973. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol. Biochem.* 5: 109-119.
- _____. 1976. Nutrients and metabolites of fluids recovered from xylem and phloem: significance in relation to long distance transport in plants. *In: Transport and Transfer Processes in Plants.* Eds. J.F. Wardlaw y J. B. Passioura pp. 253-281. Academic Press, New York.
- RADIN, J. 1977. Contribution of the root system to nitrate assimilation in whole cotton plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 4: 811-819.
- RAO, K. P. and RAINS, D. W. 1976. Nitrate absorption by barley. I. Kinetics and energetics. *Plant Physiol.* 57: 55-58.
- SMITH, F. A. 1973. The internal control of nitrate uptake into excised barley roots with differing salt contents. *New Phytol.* 72: 769-782.
- VAN DEN HONERT, T.H. and HOOYMANS, J.J.M. 1955. On the absorption of nitrate by maize in water culture. *Acta Bot. Neerland.* 4:376-384.
- VAN KEULEN, H. 1975. Simulation of water and herbage growth in arid regions. Wageningen: PUDOC. 176 pp.
- WIT DE, C.T.; BROUWER, R.; PENNING DE VRIES, F.W.T. 1970. The simulation of photosynthetic systems. *In: Prediction and measurement of photosynthetic productivity.* Ed. Stlik, I. Proc. IBP/PP Technol. Meet., Trebon. Wageningen: PUDOC. 632 pp.
- _____. and GOUDRIAAN, J. 1974. Simulation of Ecological Processes. Wageningen: PUDOC. 159 pp.
- WALLSGROVE, R.M.; LEA, P.J. and MIFLING, B.J. 1979. Distribution of the enzyme of nitrogen assimilation within the pea leaf cell. *Plant Physiol.* 63: 232-236.