

Stikstof in de plant

Nitrogen in the plant

Stikstof kan zowel in de vorm van anorganische als van organische verbindingen door de planten worden opgenomen. Eerstgenoemde groep omvat de nitraten en de ammoniumverbindingen; verder de in de atmosfeer voorkomende elementaire stikstof. Hoewel bepaalde organische N-verbindingen door de meeste planten goed kunnen worden opgenomen en geassimileerd, is onder natuurlijke omstandigheden de voeding van land- en tuinbouwgewassen met deze stoffen waarschijnlijk niet van grote betekenis.

In het hier volgende overzicht zal eerst een korte bespreking worden gewijd aan het voorkomen buiten de plant en de opneming van de belangrijkste N-verbindingen, waarna het voorkomen en de assimilatie van deze verbindingen in de plant zullen worden behandeld.

Aanwezigheid buiten de plant en opneming van de belangrijkste stikstofverbindingen

a. Nitraten en ammoniumzouten

Deze twee groepen van verbindingen vormen voor de meeste planten de belangrijkste stikstofbron. In voedingsproeven met watercultures, zowel als bij planten die onder natuurlijke omstandigheden groeien, zal de stikstof als regel of als NO_3 -ion of als NH_4 -ion worden opgenomen. Dit hangt niet alleen af van de verbinding, waarin de stikstof is toegevend, doch in even belangrijke mate van de in het voedingsmedium heersende omstandigheden. Bij bemesting van een snelgroeiend gewas op een zure grond met een ammoniumzout zal het grootste deel

van de toegediende stikstof als NH_4 -ion worden opgenomen. De voorwaarden voor de omzetting van het ammoniumzout in nitraat door nitrificerende bacteriën zijn dan meestal niet gunstig. Bij een licht zure tot alkalische reactie van de grond verloopt de nitrificatie van de toegediende ammoniumverbindingen als regel veel sneller. Onder dergelijke omstandigheden zal het grootste deel van een als ammoniumverbinding toegediende meststof als nitraat door de planten worden opgenomen. Dit geldt in het bijzonder, wanneer de stikstofmeststof betrekkelijk lange tijd vóór de opneming door het gewas wordt toegediend, zoals bv. het geval is wanneer aardappelen kort na het poten met een ammoniumzout worden bemest.

*) Wetenschappelijk medewerker van het Landbouwkundig Bureau der Ned. Stikstofmeststoffen-Industrie.

Hoewel bijna alle planten zowel nitraat- als ammoniakstikstof kunnen assimileren, bestaat er een belangrijk verschil tussen nitraat- en ammoniumvoeding. Dit betreft zowel de opneming van NO_3^- - en NH_4^+ -ionen als de invloed welke deze ionen uitoefenen op de opneming van andere voedingsstoffen. Dit laatste effect komt vooral tot uiting door het feit, dat de planten van alle voedingsstoffen stikstof in de grootste hoeveelheid opnemen. In het algemeen kan men zeggen, dat nitraatbemesting de opneming van kationen bevordert, doch die van anionen remt. Ammoniumzouten daarentegen remmen de opneming van kationen, doch bevorderen die van anionen. Als gevolg van dit verschijnsel komt bv. magnesiumgebrek bij ammoniumbemesting in veel sterkere mate voor dan bij nitraatbemesting (zie [8]).

Behalve een verschil in opneming van andere voedingselementen en dus een verschil in gehalte aan laatstgenoemde elementen onder invloed van een nitraat- of ammoniumbemesting komen ook belangrijke verschillen in het gehalte aan organische zuren voor. Planten, die met nitraat worden bemest, zijn als regel veel rijker aan deze zuren dan planten, die bemest zijn met een ammoniumzout. Ergle en Eaton [2] hebben dit nagegaan bij katoenplanten. Zij kweekten deze planten in kwartszand met als stikstofbemesting in het ene geval natriumnitraat of calciumnitraat en in het andere geval ammoniumsulfaat of ammoniumnitraat. Bij het oogsten bleken de bladeren van de met ammoniumstikstof gevoede planten 40 me minder anorganische kationen per 100 g droog gewicht te bevatten dan de nitraatplanten, terwijl het gehalte aan anorganische anionen 40 me hoger was. Dit kationenoverschot bij de nitraatplanten werd grotendeels gecompenseerd door een hoger gehalte aan organische zuren, vooral appelzuur, van deze planten. De schrijvers vermoeden, dat de directe oorzaak van het verschil in organische zuren gezocht moet worden in de kationen-anionenverhouding in de plant, zodat de invloed van de stikstofvoeding, toegediend als ni-

traat of als ammoniumverbinding, slechts indirect is.

Soortgelijke resultaten werden verkregen door Wadleigh en Shive [17] met maisplanten. Ook bij tabaksbladeren heeft men het verband tussen het gehalte van de bladeren aan kationen en anionen en dat aan organische zuren geconstateerd [14].

b. Elementaire stikstof

Deze stikstofbron komt alleen in aanmerking voor de voeding van planten, die in symbiose met een micro-organisme N_2 kunnen binden (vlinderbloemige gewassen, elzen en enkele andere planten). Daarnaast komt binding van de luchtstikstof voor bij de zgn. vrijlevende bacteriën *Azotobacter* en *Clostridium pasteurianum*. Door gebruikmaking van de zware stikstofisotoop N^{15} heeft men in de laatste jaren kunnen aantonen, dat binding van de luchtstikstof, zij het in betrekkelijk kleine hoeveelheden, een veel meer voorkomend verschijnsel is dan men oorspronkelijk dacht. Het zijn vooral de fotosynthetisch werkzame micro-organismen, die tot deze N-binding in staat zijn (blauw-groene algen en verschillende bacteriën). Het lijkt niet uitgesloten dat onder bepaalde omstandigheden deze organismen van belang kunnen zijn bij de stikstofvoeding van de gewassen (bv. bij de natte rijstcultuur).

c. Organische stikstofverbindingen

Over de betekenis van organische N-verbindingen voor de stikstofvoeding van de hogere planten onder natuurlijke omstandigheden is slechts weinig bekend. Het onderzoek op dit gebied is niet eenvoudig, omdat de organische verbindingen in de grond door de werking van micro-organismen zeer gemakkelijk in anorganische N-verbindingen kunnen worden omgezet. Proeven met dergelijke organische voedingsstoffen dienen onder steriele omstandigheden te worden genomen. Bij een onderzoek met erwten bleek ons dat asparagine, het amide van het aminozuur asparaginezuur, een even goede stikstofbron is als nitraat of als een ammoniumzout.

Ook verschillende aminozuren kunnen vermoedelijk goed worden opgenomen en benut voor de stikstofvoeding. Of onder natuurlijke omstandigheden, in het bijzonder in een milieu dat rijk is aan organische N-verbindingen, opneming van deze stoffen plaatsvindt, is niet bekend; het is echter wel waarschijnlijk.

De betekenis van organische N-verbindingen voor bemestingsdoeleinden wordt in de laatste jaren groter, doordat bespuitingen met ureum op vrij ruime schaal worden toegepast. Omdat de opneming hier niet via de wortels doch door het blad plaatsvindt, zal het blad in staat moeten zijn ureum te assimileren. Aangezien de meeste planten in het bezit zijn van het enzym urease, dat ureum omzet in CO_2 en NH_3 , is deze assimilatie als regel goed mogelijk.

Aanwezigheid en assimilatie van nitraat en ammonium in de plant

Tussen nitraat- en ammoniakstikstof bestaan behalve verschillen in opneming ook belangrijke verschillen in assimilatie door de plant. Ammoniumionen worden meestal direct na de opneming door de wortels omgezet in organische N-verbindingen, zodat ze als regel slechts in geringe hoeveelheden in gezonde plantenweefsels worden aangetroffen; vindt men ze wel in vrij grote hoeveelheden, dan wijst dit meestal op ongunstige omstandigheden, die samengaan met beschadigingen. Alleen bij planten met zeer zuur celsap, zoals rabarber, komen onder normale omstandigheden vrij grote hoeveelheden ammoniumzouten in de plant voor. Aangezien bij de assimilatie van ammoniakstikstof NH_4 -ionen worden uitgewisseld tegen H-ionen, heeft het niet te verwonderen, dat bij NH_4 -voeding, vooral in de buitenste cellagen van de wortels, waar deze assimilatie in hoofdzaak plaatsvindt, lage pH-waarden worden gevonden.

In de meeste plantenwortels verloopt de assimilatie van nitraat minder snel dan van NH_4 -ionen. Hoge concentraties nitraat in de plant werken echter niet

schadelijk, zoals dat bij ammoniak het geval is. Zeer hoge waarden voor nitraatstikstof vonden wij in spinaziebladeren, in het bijzonder bij een onvoldoende molybdeenvoorziening (zie tabel 1). Molybdeen is namelijk nodig voor de assimilatie van nitraat-N (zie tabel 3).

Vermoedelijk kan nitraat bij vele planten door de meeste cellen zowel van de wortels als van de stengels en de bladeren worden geassimileerd. Toch is waarschijnlijk in vele gevallen de assimilatie in de wortels van veel minder betekenis dan die in het belichte blad. Het opgenomen nitraat wordt vermoedelijk via de houtvaten naar de bladeren getransporteerd en daar geassimileerd. Dit blijkt ook uit het feit, dat bij een geremde nitraatassimilatie (bij een onvoldoende molybdeenvoorziening) grote verschillen in nitraatgehalte werden gevonden in de bladeren, matige verschillen in de stengels en vrijwel geen verschillen in de wortels (proef met tomaten [5]).

a. Nitraatassimilatie

Daar nitraat-N minder snel wordt geassimileerd dan NH_4 -N, vindt de vorming van organische stikstofverbindingen bij ammoniumvoeding sneller plaats dan bij voeding met nitraat. Vooral bij snelgroeiende organismen, zoals bv. de schimmel *Aspergillus niger*, komt dit tot uiting in een snellere groei (zie fig. 1). Bij de hogere planten wordt het voordeel van de snellere stikstofassimilatie bij NH_4 -voeding vaak teniet gedaan door groeiremmingen als gevolg van secundaire effecten zoals verzuring van het groeimedium, geremde opneming van magnesium en andere kationen, koolhydraatgebrek e.d. Dat nitraat minder snel wordt geassimileerd dan ammoniumstikstof moet worden toegeschreven aan het feit, dat nitraat eerst door verschillende enzymsystemen via nitriet (HNO_2), en waarschijnlijk ondersalpeterigzuur (HNO), en hydroxylamine (NH_2OH) tot NH_3 moet worden gereduceerd, alvorens het met de ketozuren aminozuren kan vormen.

Tabel 1. Stikstof fracties *) in spinazie bij een normale en een onvoldoende molybdeenvoorziening

Table 1. Nitrogen fractions *) in spinach with and without an adequate supply of molybdenum

Materiaal	Met molybdeen + molybdenum			Geen molybdeen No molybdenum added		
	Nitraat- N	Oplos- bare niet- eiwit N**)	Eiwit- N	Nitraat- N	Oplos- bare niet- eiwit N**)	Eiwit- N
Material	Nitrate- N	Soluble non-pro- tein-N**)	Protein- N	Nitrate- N	Soluble non-pro- tein-N**)	Protein- N
Blad Leaves	0.71	1.38	3.43	3.13	1.56	2.78
Stengel Stems	2.42	1.49	2.28	3.45	1.42	1.86

*) In % van droge stof. **) Uitgezonderd nitraat-N.

*) In % of dry matter. **) Nitrate-N not included.

Tabel 2. Invloed van molybdeen op de denitrificatie

Table 2. Effect of molybdenum on denitrification

Bacterie-stam	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O per flesje	Na 5 dagen bij 25° C After 5 days incubation at 25° C	
		Omgezette NO ₃ -N, mg per flesje *)	NO ₂ -N, mg per flesje
Strain of bacterium	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O per bottle	NO ₃ -N converted, mg per bottle *)	NO ₂ -N, mg per bottle
W ₁	0	2,7	1,3
W ₁	5	9,6	7,9
S ₁	0	0,0	0,0
S ₁	5	12,6	6,0
S ₂	0	0,0	0,0
S ₂	5	10,8	5,0
W ₂	0	0,7	0,0
W ₂	5	6,2	2,7

*) Begin concentratie: 13,1 mg NO₃-N per flesje (= 50 cc).

*) Initial concentration: 13,1 mg NO₃-N per bottle (= 50 cc).

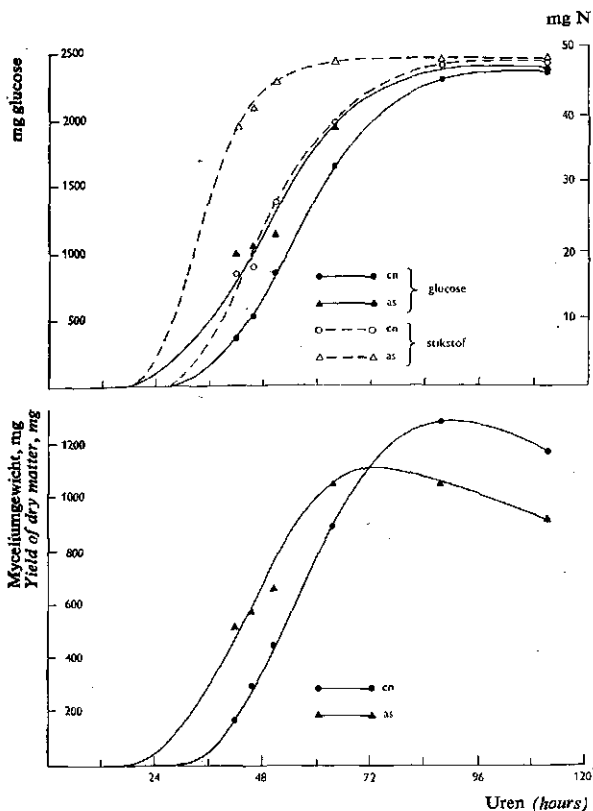


Fig. 1. Opneming van glucose en stikstof (bovenste grafiek) en vorming van droge stof (onderste grafiek) door *Aspergillus niger* in een voedingsoplossing met resp. calciumnitraat (cn) en ammoniumsulfaat (as).

Uptake of glucose and nitrogen (upper graphs) and yield of dry matter (lower graphs) with Aspergillus niger grown in a nutrient medium with calcium nitrate (cn) and ammonium sulphate (as) respectively.

Het is reeds geruime tijd bekend, dat molybdeen een rol speelt bij de nitraatreductie: In een in 1948 gepubliceerd onderzoek [5] bleek ons, dat molybdeen nodig is voor de nitraatreductie zowel bij micro-

organismen als bij hogere planten. In het onderzoek met *Aspergillus niger* bedroeg het myceliumgewicht bij nitraatvoeding, indien aan het voedingsmedium geen molybdeen werd toegevoegd, slechts 18% van het gewicht, verkregen bij een optimale molybdeenvoeding. Bij ammoniakvoeding was dit cijfer 91%. Ook bij denitrificatie vonden wij een zeer belangrijke invloed van de aanwezigheid van sporen molybdeen in het voedingsmedium (zie tabel 2).

De betekenis van molybdeen voor de nitraatassimilatie bij tomaten konden wij op de volgende wijze aantonen. Tomatenplanten werden gekweekt in een voedingsoplossing, die geen molybdeen bevatte en bovendien vrij arm was aan stikstof. Op het moment, dat zich verschijnselen zowel van stikstof- als van molybdeengebrek vertoonden, werd aan alle planten nitraat toegediend, terwijl een aantal planten tevens molybdeen ontving. Na 3 dagen werd de proef afgebroken en werden de planten geanalyseerd op nitraat, oplosbare organische stikstof en eiwit-N. Uit tabel 3 blijkt duidelijk, dat de toevoeging van molybdeen een sterke daling van het nitraatgehalte en een overeenkomstige stijging van het gehalte aan oplosbare stikstof en eiwit heeft veroorzaakt. Soortgelijke resultaten werden verkregen met gerst.

Het enzym, dat verantwoordelijk is voor de reductie van nitraat tot nitriet, de zgn. nitraatreductase, is voor het eerst geïsoleerd door Evans en Nason [4] uit de schimmel *Neurospora* en uit sojabladeren. Het bleek een flavoproteïne te zijn, waarvan de prothetische groep uit FAD (flavine-adenosine-dinucleotide) bestaat. Als substraat kan het enzym zowel DPNH (gereduceerd difosfopyridine-nucleotide) als TPNH (gereduceerd trifosfopyridine-nucleotide) gebruiken. Later isoleerden Nicholas en Nason [12] het enzym uit *Neurospora crassa* en vonden, dat het molybdeen als een cofactor bevatte. De elektronen, die nodig zijn voor de nitraatreductie, worden van het TPNH via FAD en molybdeen overgebracht op het nitraat.

Tabel 3. Invloed van molybdeen op de nitraatassimilatie door tomatenplanten *)
 Table 3. Effect of molybdenum on the assimilation of nitrate bij tomato plants *)

Toegediende γ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Bladeren <i>Leaves</i>				Stengels <i>Stems</i>			
	Vers gew., g	Eiwit- N, mg	Oplosb. org. niet- eiwit-N, mg	$\text{NO}_3\text{-N}$ mg	Vers gew., g	Eiwit- N, mg	Oplosb. org. niet- eiwit-N, mg	$\text{NO}_3\text{-N}$ mg
γ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ added	Fresh weight g	Protein- N, mg	Soluble org. non- protein- N, mg	$\text{NO}_3\text{-N}$ mg	Fresh weight g	Protein- N, mg	Soluble org. non- protein- N, mg	$\text{NO}_3\text{-N}$ mg
0**)	11,51†)	15,1	4,22	0,00	—	7,75	4,01	0,00
0	6,08	15,8	5,42	4,19	7,54	6,74	3,79	3,53
200	6,10	19,1	5,65	0,61	8,61	8,63	6,20	2,70

*) Gemiddelde waarden per plant. **) Planten geoogst vóór de nitraattoevoeging.

†) Blad + stengel.

*) Mean values per plant. **) Plants harvested before adding the nitrate.

†) Leaves + stems.

DPN en TPN zijn zeer bekende co-enzymen bij talrijke enzymatische reacties in plantaardige en dierlijke weefsels. Om de nitraatreductie snel te kunnen laten verlopen, is het nodig dat het geoxydeerde DPN of TPN weer snel wordt gereduceerd. Dit kan geschieden door dehydrogenasewerking of door een fotochemische werking. In hoeverre de door Burström [1] in bladeren van jonge graanplanten geconstateerde koppeling van de nitraatreductie aan de belichting berust op de fotochemische reductie van TPN is niet uitgemaakt.

Met behulp van papierchromatografie hebben Nicholas en Stevens [13] kunnen aantonen, dat tijdens de werking van de nitraatreductase het molybdeen in het enzym een valentieverandering ondergaat. De elektronen worden via FAD overgebracht op het molybdeen, dat hierbij van 6-waardig tot 5-waardig wordt gereduceerd. Dit 5-waardige Mo draagt dan

de elektronen weer over op het nitraat en wordt bij deze laatste trap dus weer geoxydeerd tot het 6-waardige Mo.

Invloed van het licht op de nitraatreductie. Hoewel nitraat in vele planten zowel in de wortels als in de stengels en de bladeren kan worden geassimileerd, mag worden aangenomen, dat de nitraatreductie in hoofdzaak in het belichte blad plaatsvindt. Dit is o.a. gebleken uit het bovengenoemde onderzoek van Burström [1] met bladeren van jonge graanplanten. Een door ons genomen proef met tarweplanten met opklimmende hoeveelheden stikstof in de vorm van nitraat resp. ammoniumsulfaat bij een goede en een slechte belichting gaf hetzelfde resultaat. Bij analyse bleken de groene delen van de in de schaduw gegroeide planten een veel hoger nitraatgehalte te

bezitten dan die van in het zonlicht gegroeide planten (16,0 resp. 0,2 mg NO₃-N per 10 g vers materiaal). Dank zij het feit, dat de plant hoge nitraatconcentraties kan verdragen, deden zich geen groei-stoornissen voor.

Dit lichteffect op de nitraatassimilatie komt ook tot uiting als seizoeninvloed. Bij bemestingsproeven met kalkammonsalpeter op grasland vonden wij in het gras bij dezelfde N-gift in het voorjaar en in de voorzomer aanzienlijk lagere nitraatgehalten dan in de herfst wanneer de lichttoetreding aanzienlijk was gedaald [6].

Aangezien grote hoeveelheden nitraat ongunstig zijn voor de gezondheid van mens en dier, lijkt het mij van belang, dat meer aandacht aan het nitraatgehalte van plantaardige voedingsmiddelen wordt besteed. Het is waarschijnlijk, dat consumptie van grote hoeveelheden spinazie als vermeld in tabel 1 nadelig voor de gezondheid zal zijn.

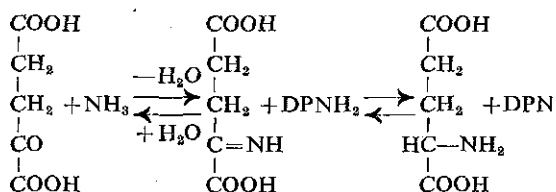
Voor de reductie van nitriet tot NH₂OH en van NH₂OH tot NH₃ zijn ook weer specifieke enzymen nodig, waarbij als H-donor weer DPNH of TPNH optreedt. Er is echter zeer weinig bekend van deze enzymen in planten. Evans en Nason [4] (zie ook [10]) gingen de verdwijning van nitriet bij homogenaten van sojabladeren na. Deze reactie verliep enzymatisch en gebruikte TPNH als substraat. De prosthetische groep van dit enzym, de nitrietreductase, bestond uit FAD. Op soortgelijke wijze toonden zij het bestaan aan van hydroxyl-aminoreductase in sojabladeren, een enzym dat hydroxylamine omzet in ammoniak en dat DPNH en FAD voor zijn werking nodig heeft.

b. Assimilatie van ammoniumstikstof

Bij de omzetting van ammoniumstikstof, hetzij direct opgenomen door de plantenwortels, hetzij gevormd door reductie van opgenomen nitraat, kan men drie trappen onderscheiden, die nauw verband met elkaar houden, namelijk: de vorming van aminozuren, de vorming van amiden en eenvoudige peptiden en de vorming van eiwitten.

De vorming van de aminozuren. Bij de vorming van aminozuren spelen α -keto-zuren nl. α -ketoglutaarzuur en misschien oxaalazijnzuur en pyrodruivenzuur een belangrijke rol. Uit deze keto-zuren kan, door reductieve aminering met NH₃, glutaminezuur en misschien asparaginezuur en α -alanine worden gevormd.

Von Euler en medewerkers [3] slaagden erin met behulp van het enzym glutaminezuurdehydrogenase en gereduceerd DPN uit α -ketoglutaarzuur en ammoniak glutaminezuur te vormen.



α -ketoglutaarzuur iminoglutaarzuur glutaminezuur

Dit enzym komt voor in planten en kan ook reversibel werken, dus glutaminezuur omzetten in α -ketoglutaarzuur. Of overeenkomstige enzymensystemen bestaan voor de vorming van asparaginezuur uit oxaalazijnzuur en van α -alanine uit pyrodruivenzuur is niet met zekerheid bekend.

Om te onderzoeken via welke verbindingen de assimilatie van ammoniak in de plant verloopt, kan men verschillende wegen bewandelen. Zo kan men ammoniumzouten, die het zware isotoop N¹⁵ bevatten, aan het voedingsmedium toedienen en na verloop van een aantal uren nagaan hoe de zware stikstof zich over de verschillende organische verbindingen heeft verdeeld.

Een andere manier is, dat men planten met stikstofgebrek voorziet van een ammoniumverbinding en dan na verloop van een aantal uren resp. dagen met behulp van bv. papierchromatografie de aminozuren bepaalt. Wij gebruikten voor dit doel molybdeenarme planten. Deze zijn in het algemeen zeer rijk aan nitraat. Door aan dergelijke planten molybdeen toe te dienen, waardoor ammoniak uit nitraat

Tabel 4. Invloed van de toediening van molybdeen aan spinazieplanten met Mo-gebrek op het gehalte aan aminozuren, eiwit-N, oplosbare niet-eiwit-N en nitraat-N in de bladeren (mg per 10 g droge stof) na verloop van verschillende tijden

Table 4. Effect of the addition of molybdenum to molybdenum-deficient spinach plants on the contents of amino acids, protein-N, soluble non-protein-N and nitrate-N in the leaves (mg per 10 g of dry matter) after different periods of time

N-verbinding N-compound	2 uur 2 hours		4 uur 4 hours		6 uur 6 hours		24 uur 24 hours	
	H ₂ O	Mo	H ₂ O	Mo	H ₂ O	Mo	H ₂ O	Mo
Glycine	—	—	—	0,7	—	3,8	—	4,8
Alanine	6,0	8,9	6,9	20,4	10,4	16,5	10,8	21,7
Serine	7,5	8,9	5,5	13,6	5,2	14,0	8,1	16,0
Threonine	4,5	3,0	2,7	4,1	3,9	5,1	5,4	5,4
Valine	1,5	2,8	2,3	3,5	2,5	3,4	1,4	4,1
Methionine + meth. sulfoxide	0	0	0	0	0	0	0	0
Leucinen	3,0	2,7	2,9	4,4	2,5	5,7	1,9	7,3
Tyrosine	0	0	0	0	0	0	0	0
Proline	sp.**)	sp.	sp.	sp.	sp.	sp.	sp.	sp.
Asparaginezuur	13,4	13,4	13,7	34,0	16,8	34,2	10,8	62,6
Glutaminezuur	47,8	59,5	55,0	69,4	55,8	68,3	48,5	80,0
Arginine	0	0	0	0	0	0	0	0
Lysine	0	0	0	0	0	0	0	0
γ-Aminoboterzuur	9,0	7,5	6,9	13,6	10,4	10,1	12,1	16,3
Asparagine	0	0	0	0	0	0	0	0
Glutamine	6,0	11,9	4,1	32,6	5,2	55,7	9,4	96,2
Eiwit-N	277	280	267	263	266	263	280	294
Protein-N								
Oplosbare niet- eiwit-N*)	114	93	89	107	92	104	83	145
Soluble non- protein-N*)								
Nitraat-N	288	307	374	319	361	310	306	239
Nitrate-N								

*) Uitgezonderd NO₃-N.

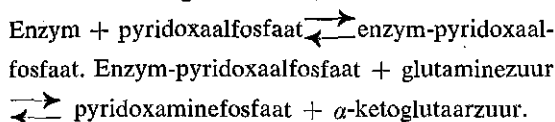
**) sp. = spoor.

*) NO₃-N not included.

**) sp. = spoor, trace.

ontstaat, en vervolgens na verloop van verschillende tijden de aminozuursamenstelling te bepalen, is het mogelijk een indruk te krijgen van de aminozuren, die het eerst worden gevormd. Tabel 4 geeft de resultaten van een dergelijke proef met spinazie. Uit deze proeven is wel duidelijk gebleken, dat glutaminezuur, asparaginezuur en α -alanine tot de eerste aminozuren behoren die worden gevormd. Hoewel het waarschijnlijk is, dat deze drie aminozuren, zoals boven beschreven, direct uit ammoniak en de overeenkomstige ketozen worden gevormd, is het niet uitgesloten, dat slechts één aminozuur, bv. glutaminezuur, op deze manier ontstaat, doch dat de andere twee, evenals dit met de meeste andere aminozuren het geval is, door zgn. transaminering uit glutaminezuur ontstaan.

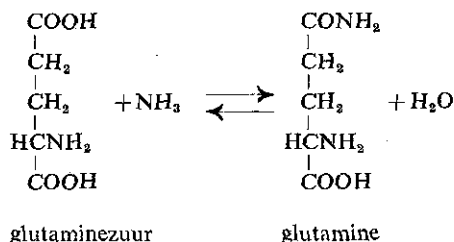
Bij deze transaminering wordt de aminogroep van bv. glutaminezuur omgewisseld tegen het dubbel gebonden zuurstofatoom van een ketozuur, terwijl uit glutaminezuur weer α -ketoglutaarzuur ontstaat. Bij deze enzymreacties is pyridoxaalfosfaat een belangrijke co-factor. Het verloop van de reactie moet men zich als volgt voorstellen:



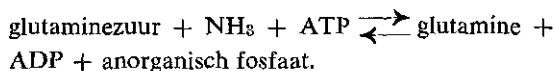
Pyridoxaminefosfaat kan dan reageren met een ander ketozuur, waarbij eerstgenoemde verbinding als aminogroepdonor optreedt.

De vorming van amidene en eenvoudige peptiden. De aminozuren asparaginezuur en glutaminezuur kunnen ammoniak opnemen en daarbij overgaan in de overeenkomstige amidene asparagine en glutamine.

Hoewel de enzymatische afbraak van deze amidene reeds geruime tijd bekend is, is het evenwicht van de reactie zover naar links gelegen, dat de synthese zeer waarschijnlijk geen eenvoudige omkering van de afbraak is. Het is nu gebleken, dat de in de plant plaatsvindende synthese wordt verkregen door kop-



pling van de genoemde reactie aan een andere, energie-leverende, reactie. Hiervoor is de aanwezigheid van een energierijk fosfaat ATP (adenosinetri-fosfaat) nodig; bovendien moeten magnesiumionen aanwezig zijn. De reactie verloopt dan als volgt:



De vorming van asparagine verloopt vermoedelijk op dezelfde wijze.

De amidene functioneren in de plant als onschadelijke opslagvormen van overmaat ammoniak, die als zodanig in de meeste planten niet kan worden opgehoopt, omdat hij een schadelijke werking uitoefent. Behalve deze amidene kan ook het aminozuur arginine in bepaalde gevallen dienst doen als opslagverbinding voor overmaat ammoniak.

Het direct verwerken van opgenomen of uit nitraat gevormde ammoniakstikstof tot aminozuren en amidene heeft een belangrijke invloed op het koolhydraatgehalte van de plant. Als gevolg hiervan kan zowel de fysiologie als de morfologie van de plant worden beïnvloed. Het ligt voor de hand, dat deze invloed het sterkst zal zijn bij een overmatige stikstofvoeding. Zo vonden Sideris en medewerker's [15] bij een uitvoerig onderzoek betreffende de ammonium- en nitraatvoeding van ananas, dat toediening van ammoniumverbindingen het koolhydraatgehalte van de wortels veel meer deed dalen dan een toediening van nitraat. Deze daling van het koolhydraatgehalte bij een rijke bemesting met stikstof in het algemeen en met ammoniumverbindingen in het bijzonder, kan men bij

Tabel 5. Invloed van de stikstofbemesting op het suikergehalte, de bieten- en loofopbrengst, q/ha, en de bieten-loofverhouding bij suikerbieten. (Pr 1160, kleigrond)

Table 5. Effect of the nitrogen nutrition on the sugar content, the yields of roots and leaves (q/ha) and the root/leaf ratio of sugar beet (Exp. 1160, clay soil)

Kg N/ha	N als zwavelzure ammoniak <i>N as sulphate of ammonia</i>				N als kalkammonsalpeter <i>N as ammonium nitrate limestone</i>			
	Suiker, % <i>sugar, %</i>	Bieten <i>roots</i>	Loof <i>leaves</i>	Verhouding bieten/loof <i>root/leaf ratio</i>	Suiker, % <i>sugar, %</i>	Bieten <i>roots</i>	Loof <i>leaves</i>	Verhouding bieten/loof <i>root/leaf ratio</i>
0	19,6	393	230	1,71	19,6	393	230	1,71
30	19,1	418	235	1,78	19,9	437	242	1,81
60	19,7	469	283	1,66	19,2	451	285	1,58
90	19,7	468	306	1,53	19,1	476	315	1,51
120	19,3	462	330	1,40	18,9	466	323	1,44
150	18,9	459	314	1,46	18,7	446	337	1,32

bemestingsproeven herhaaldelijk waarnemen. Zo vonden wij bij proeven met suikerbieten een daling van het suikergehalte van de wortels en van de wortel-loofverhouding bij een stijgende stikstofbemesting (zie tabel 5). Naarmate meer stikstof was toegediend, werden meer koolhydraten gebruikt voor de vorming van N-verbindingen, waardoor het suikergehalte van de bieten daalde. Aangezien de N-houdende bestanddelen de bladvorming bevorderen, zien we in deze proef een stijging van de loofopbrengst ten koste van de suikeropbrengst. Ook bij bepaalde aardappelvariëteiten vonden wij bij hoge stikstofgiften een daling van de knolopbrengst en een stijging van de loofopbrengst.

Bij graanplanten bevorderde een ruime stikstofvoorziening de vorming van blad en stengel ten koste van korrel- en wortelopbrengst. Bovendien was in de halm en ook in de wortels de vorming van verdikte celwanden (cellulose, lignine) door overmatige stikstofbemesting ongunstig beïnvloed, zodat de halmen veel minder stevig waren dan bij een matige stikstofvoorziening [7] (zie ook fig. 2).

Wanneer de voeding met ammoniumstikstof een zodanig gebruik van koolhydraten tengevolge kan hebben, dat de planten min of meer lijden aan koolhydraatge-

brek, dan mag men verwachten, dat dit effect in sterkere mate tot uiting zal komen bij een onvoldoende koolhydraatvorming, dat wil zeggen bij een onvoldoende belichting. Om dit na te gaan hebben wij haverplanten gekweekt in een kas bij opklimmende hoeveelheden stikstof in de vorm van calciumnitraat resp. ammoniumsulfaat. Een aantal potten ontving normaal zonlicht, de andere potten stonden in een beschaduwde gedeelte van de kas. De grootste hoeveelheid ammoniumstikstof veroorzaakte een duidelijke groeiremming bij een slechte belichting, doch niet bij een goede. In tegenstelling tot $\text{NH}_4\text{-N}$ veroorzaakte de grootste gift nitraat geen groeiremming (zie fig. 3). Dat koolhydraatgebrek waarschijnlijk de oorzaak van de groeiremming bij toediening van veel $\text{NH}_4\text{-N}$ aan de beschaduwde planten is geweest, mag worden geconcludeerd uit de zeer geringe verhouting van de halmen van deze planten.

De vorming van peptiden kan worden beschouwd als een amidevorming; in plaats van ammoniak reageert de aminogroep van het ene aminozuur met de carboxylgroep van het andere. In goede overeen-

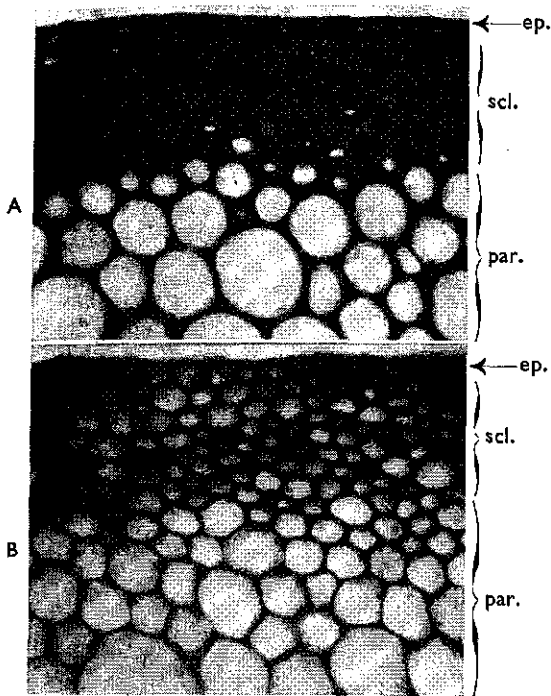


Fig. 2. Sclerenchymring (scl.) en verhout parenchymweefsel (par.) in de onderste leden van roggehalmen (ep. = epidermis). A: staande planten, bemest met 30 kg stikstof per ha. B: gelegerde planten, bemest met 140 kg stikstof per ha. De stikstof werd gegeven in de vorm van kalkammonsalpeter.

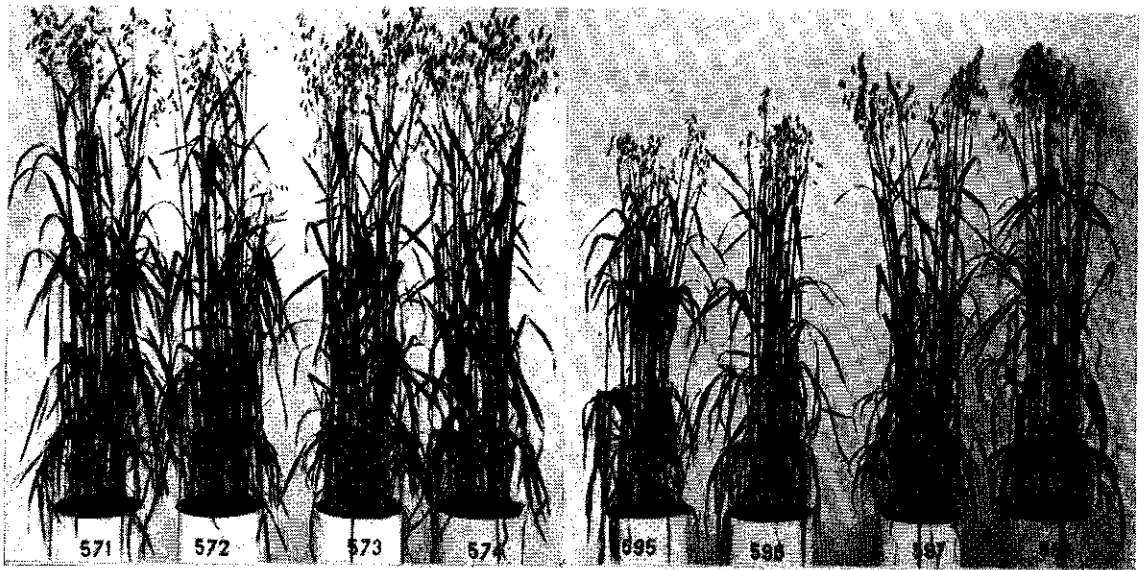
Sclerenchymatous ring (scl.) and lignified parenchyma (par.) of basal culm internodes of rye (ep. = epidermis). A: erect plants, dressed with 30 kg N per ha; B: lodged plants, dressed with 140 kg N per ha. N applied as ammonium nitrate limestone.

stemming met deze opvatting is door Webster [18] aangetoond, dat de vorming van het tripeptide glutathion, evenals de vorming van een amide, ATP vereist. Verder zijn Mg- en K-ionen nodig.

Eiwitvorming. Eiwitten zijn opgebouwd uit een aantal verschillende aminozuren (zie tabel 6). Deze zijn daarin op een regelmatige wijze gerangschikt. De binding tussen de aminozuren in een eiwit is als in de peptiden: een aminogroep van het ene aminozuur is gebonden aan de carboxylgroep van een ander. De verschillende eiwitten lopen aanzienlijk uiteen wat de samenstellende aminozuren betreft. In sommige eiwitten kunnen bepaalde aminozuren geheel ontbreken.

Evenals de vorming van peptiden is ook de eiwitsynthese een energievereisend proces, waarbij bepaalde energierijke fosfaten (ATP) een rol spelen. Op welke wijze deze synthese in de plant tot stand komt, is niet met zekerheid bekend. In het algemeen wordt aangenomen, dat geleidelijke condensatie van kleinere peptiden plaatsvindt. Er bestaan aanwijzingen, dat nucleïnezuuren bij de vorming van eiwitten een belangrijke rol spelen [18]. Andere onderzoekers zijn van oordeel, dat de in de plant voorkomende vrije aminozuren niet als bouwstenen voor het toekomstige eiwit moeten worden opgevat, maar als hydrolyseproducten. Het eiwit zou volgens deze onderzoekers direct uit suikers (ketozuren) en ammoniak ontstaan [16]. Glutamine zou bij deze synthese een belangrijke rol vervullen. Deze onderzoekers wijzen op de nauwe relatie tussen ademhaling en eiwitvorming in de plant.

Om een indruk te krijgen van de eiwitvorming bij granen en aardappelen hebben wij een aantal proeven uitgevoerd. Bij het onderzoek met granen werden planten, die waren gegroeid bij een optimale resp. een onvoldoende fosfaatvoorziening en bij een optimale resp. een onvoldoende kaliumvoorziening, nadat de stikstofvoorraad in de potten was uitgeput en verschijnselen van stikstofgebrek zichtbaar werden, bemest met een ruime hoeveelheid stikstof in de vorm van ammoniumsulfaat. Na verloop van 2, 3, 5 en 12 dagen werden in de bladeren eiwit, oplosbare niet-eiwit-stikstof en amidestikstof bepaald. Aangenomen kan worden, dat het verschil tussen oplosbare N en amide-N grotendeels aminozuur-



Schaduw
Shaded

N als calciumnitraat
N as calcium nitrate

Zonlicht
Illuminated

Schaduw
Shaded

N als ammoniumsulfaat
N as ammonium sulphate

Zonlicht
Illuminated

Fig 3. Invloed van de vorm, waarin de stikstof werd gegeven, en van de lichttoetreding op de ontwikkeling van haverplanten.

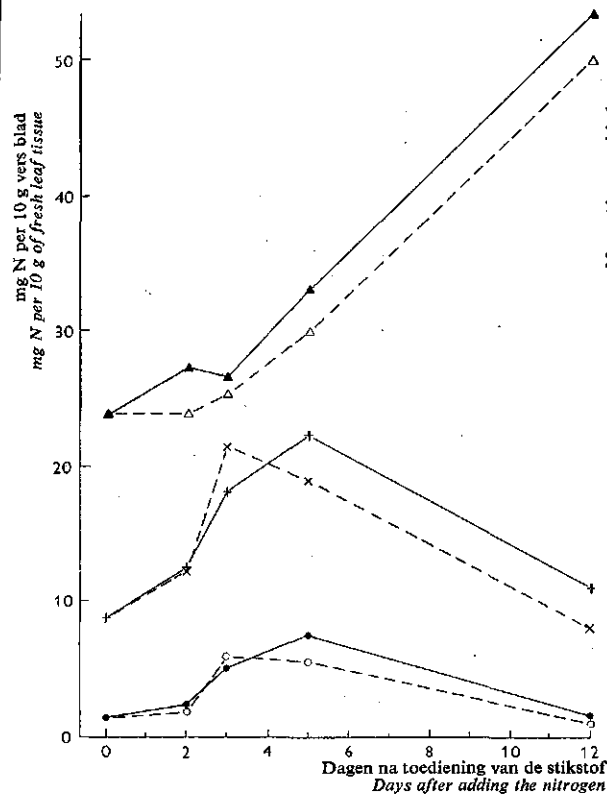
Effect of the kind of nitrogen compound applied and of illumination on the appearance of oat plants.

stikstof is. De uitkomsten van deze proeven zijn in de figuren 4 en 5 te zien. Bij de K-proef viel na twee dagen en vooral na drie dagen een zeer sterke toename van het aminozuur- en amidegehalte te constateren. Het eiwitgehalte was toen nog maar zeer weinig gestegen. Dit nam vooral toe na de derde dag toen het gehalte aan aminozuren en amiden reeds weer daalde. Deze uitkomsten vormen geen bevestiging van de theorie van Steward en Thompson [16]; zij demonstreren, dat eerst vorming van aminozuren en amiden plaats vindt, waarna uit deze verbindingen de eiwitten worden opgebouwd. Het feit, dat bij K-gebrek zowel de hoeveelheden amiden, totale oplosbare N als eiwit-N groter zijn dan bij voldoende kalium wijst niet op een belangrijke rol van kalium bij de eiwitsynthese. Bij de fosfaatproef (fig. 5) was het algemene beeld hetzelfde als bij de K-proef. Ook hier eerst een stijging van het gehalte aan aminozuren en amiden en pas daarna een stijging van het eiwitgehalte. In te-

genstelling tot de K-proef zijn bij fosfaatgebrek vrijwel alle fracties lager dan bij voldoende P.

Bij een ander onderzoek hebben wij in aardappelen, gegroeid op proefvelden bij een verschillende N-, P- en K-bemesting, de vrije aminozuren zowel als de in het eiwit gebonden aminozuren met behulp van een papierchromatografische methode bepaald [9]. De uitkomsten van deze analyses zijn in de figuren 6, 7 en 8 in grafiek gebracht. De aminozuren zijn hier gerangschikt naar de rangorde van voorkomen in het eiwit met als maatstaf de hoeveelheid in de aminozuren voorkomende stikstof. De oplosbare niet-eiwit fractie is hier vermeld met uitsluiting van de amiden. In deze fractie kan 60 en soms meer dan 70 % van de stikstof als amiden (glutamine of asparagine) voorkomen. In het eiwit is dit maximaal 20 %.

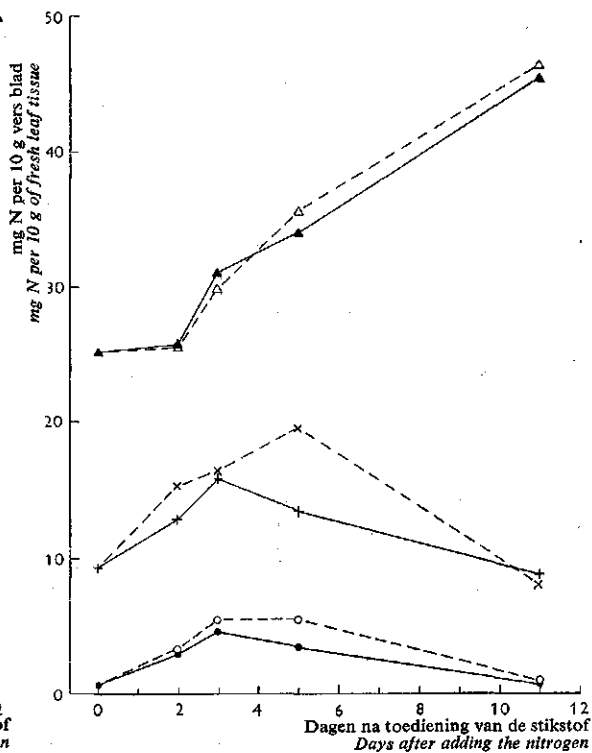
Uit deze grafieken blijkt, dat er geen verband bestaat tussen de aminozuursamenstelling van het eiwit en die van de oplosbare niet-eiwit-fractie.



- ▲ ——— ▲ 0 K } Eiwit-N
- △ - - - - △ + K } Protein-N
- + ——— + 0 K } Oplosbare niet-eiwit-N
- × - - - - × + K } Soluble non-protein-N
- ——— ● 0 K } Amide- + NH₄-N
- - - - - ○ + K }

Fig. 4. Invloed van de kaliumvoorziening op het gehalte aan eiwit-N, oplosbare niet-eiwit-N (uitgezonderd nitraat-N) en amide- + NH₄-N in haverbladeren geoogst op verschillen tijden na toevoeging van ammoniumsulfaat aan planten met N-gebrek. De stikstof werd toegediend enkele weken voor het uitkomen van de pluim.

Effect of the potassium supply on the content of protein-N, soluble non-protein-N (nitrate-N not included), and amide- + NH₄-N, of oat leaves harvested after different periods of time upon the addition of ammonium sulphate to nitrogen-deficient plants. The nitrogen was added a few weeks before the emergence of the panicles.

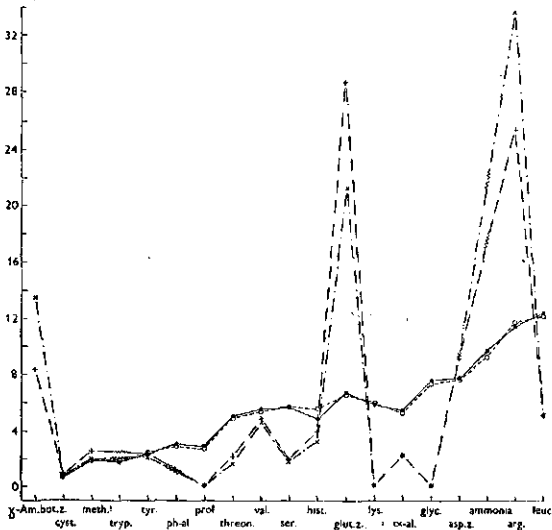


- ▲ ——— ▲ 0 P } Eiwit-N
- △ - - - - △ + P } Protein-N
- + ——— + 0 P } Oplosbare niet-eiwit-N
- × - - - - × + P } Soluble non-protein-N
- ——— ● 0 K } Amide- + NH₄-N
- - - - - ○ + K }

Fig. 5. Invloed van de fosfaatvoorziening op het gehalte aan eiwit-N, oplosbare niet-eiwit-N (uitgezonderd nitraat-N) en amide- + NH₄-N in haverbladeren geoogst op verschillende tijden na toevoeging van ammoniumsulfaat aan planten met N-gebrek. De stikstof werd toegediend enkele weken voor het uitkomen van de pluim.

Effect of the phosphorus supply on the content of protein-N, soluble non-protein-N (nitrate-N not included), and amide- + NH₄-N, of oat leaves harvested after different periods of time upon the addition of ammonium sulphate to nitrogen-deficient plants. The nitrogen was added a few weeks before the emergence of the panicles.

N, % van het totaal van bepaalde aminozuur-N, resp. eiwit-N
N, % of sum of estimated amino-acid-N and protein-N resp.

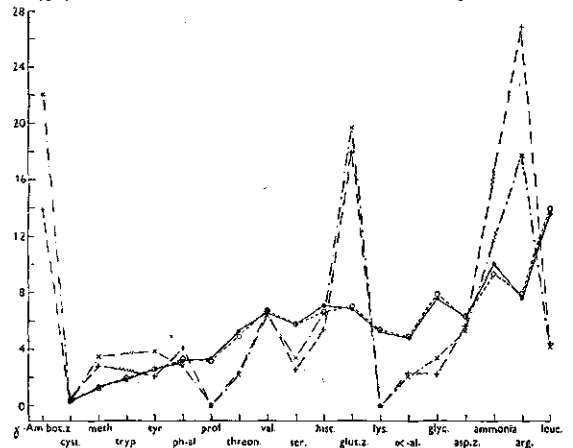


- 0 N } eiwit
- + N } protein
- + 0 N } vrije aminozuren
- × + N } vrije amino acids

Fig. 6. Samenstelling van de eiwit- en de oplosbare niet-eiwit-fractionen van aardappelknollen gegroeid bij twee N-niveaus, bewaard gedurende 4 maanden (Pr 1388, 1952, var. Noordeling).

Composition of the protein and the soluble non-protein fractions of potato tubers grown at two N-levels, stored for 4 months (Exp. 1388, 1952, Var. Noordeling).

N, % van het totaal van bepaalde aminozuur-N, resp. eiwit-N
N, % of sum of estimated amino-acid-N and protein-N resp.

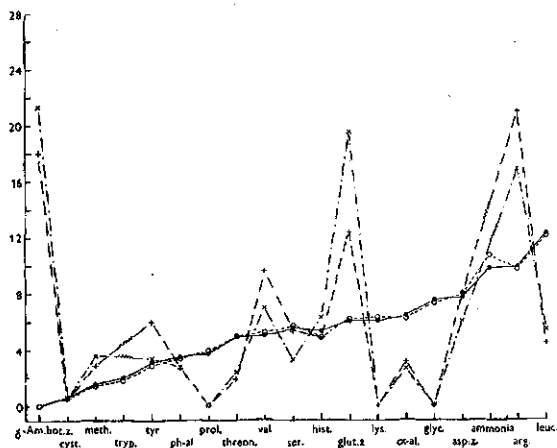


- 0 P } eiwit
- + P } protein
- + 0 P } vrije aminozuren
- × + P } vrije amino acids

Fig 7. Samenstelling van de eiwit- en de oplosbare niet-eiwit-fractionen van aardappelknollen gegroeid bij twee P-niveaus, bewaard gedurende 1 maand (Pr 1472, 1954, var. Noordeling).

Composition of the protein and the soluble non-protein fractions of potato tubers grown at two P-levels, stored for 1 month (Exp. 1472, 1954, Var. Noordeling).

N, % van het totaal van bepaalde amino-zuur-N, resp. eiwit-N
 N, % of sum of estimated amino-acid-N and protein-N resp.



- 0 K } eiwit
- + K } protein
- + 0 K } vrije aminozuren
- × + K } free amino acids

Fig. 8. Samenstelling van de eiwit- en de oplosbare niet-eiwit-fractionen van aardappelknollen gegroeid bij twee K-niveaus, bewaard gedurende 2 maanden (Pr 1472, 1954, var. Noordeling).

Composition of the protein and the soluble non-protein fractions of potato tubers grown at two K-levels, stored for 2 months (Exp. 1472, 1954, Var. Noordeling).

γ -Aminoboterzuur, dat niet in het eiwit voorkomt, is in grote hoeveelheden aanwezig in de vrije fractie. Glutaminezuur en arginine komen eveneens in aanzienlijk grotere hoeveelheden in de vrije fractie dan in de eiwitten voor. De aminozuren glycine, alanine, serine, threonine, de leucinen, proline en lysine komen in hogere concentraties in het eiwit voor dan in vrije toestand.

De minerale voeding van de aardappelen, die het eiwitgehalte van de aardappelen wel beïnvloedt, heeft geen invloed op de aminozuursamenstelling van het eiwit. Dit geldt voor stikstof, fosfaat en kalium en waarschijnlijk ook voor de andere voedingsstoffen. De samenstelling van de oplosbare fractie wordt daarentegen duidelijk beïnvloed. Zo was bij een ruime stikstofbemesting een relatief groter deel van de niet-eiwit-stikstof als amide aanwezig dan bij een slechte stikstofvoorziening. Zowel glutamine als asparagine waren verhoogd. Van de aminozuren kwam vooral arginine in grotere hoeveelheden voor bij een ruime stikstofvoorziening. Glutaminezuur daarentegen was relatief lager. Ook γ -aminoboterzuur kwam in grotere hoeveelheden voor bij een ruime N-bemesting.

Bij P-gebrek was het gehalte aan asparagine en arginine hoger dan bij een normale P-voeding. γ -Aminoboterzuur was lager dan bij een voldoende fosfaatvoeding.

Bij K-gebrek zijn aardappelen als regel rijker aan oplosbare niet-eiwit-stikstof dan bij een goede K-voeding. Het beeld komt min of meer overeen met dat van stikstofovermaat. Evenals in het laatstgenoemde geval zien we ook bij K-gebrek een relatief hoog gehalte aan amidene en arginine, terwijl het gehalte aan glutaminezuur lager is dan bij een goede K-voorziening. Opvallend is ook het relatief hoge gehalte aan tyrosine bij aardappelen met K-gebrek. Met het laatste hangt samen de grote gevoeligheid van aardappelen met K-gebrek voor zgn. stootblauw. Tyrosine wordt hierbij geoxydeerd tot dioxylfenylalanine en chinonachtige verbindingen, die tenslotte door polymerisatie overgaan in het

Tabel 6. Invloed van de N- en K-voeding van aardappelplanten op het gehalte aan aminozuren van de knollen berekend als mg aminozuur per 10 g droge stof)

Table 6. Effect of the N- and K-nutrition of potato plants on the amino-acid content of the tubers (calculated as mg amino acid per 10 g of dry matter)

Amino-verbinding	Pr 1388 Exp. 1388				Pr 1299 Exp. 1299			
	N-gebrek Low N		ruime N-gift High N		K-gebrek Low K		ruime K-gift High K	
Amino compound	Eiwit- fractie Protein fraction	Opl. niet- eiwit-N- fractie Soluble non- protein fraction	Eiwit- fractie Protein fraction	Opl. niet- eiwit-N- fractie Soluble non- protein fraction	Eiwit- fractie Protein fraction	Opl. niet- eiwit-N- fractie Soluble non- protein fraction	Eiwit- fractie Protein fraction	Opl. niet- eiwit-N- fractie Soluble non- protein fraction
Glycine	29,0	sp	40,3	sp	35,2	sp	31,5	sp
Alanine	25,1	1,6	33,6	2,2	39,2	3,3	35,0	2,7
Serine	33,5	1,6	48,3	2,1	43,9	7,9	35,0	6,9
Cystine + cysteïne	5,4	1,1	8,7	1,1	6,7	2,6	4,1	2,4
Threonine	32,0	2,0	43,6	2,2	44,5	7,2	38,0	5,8
Valine	33,9	4,4	43,6	5,9	39,2	17,9	36,2	11,5
Methionine + methionine sulf- oxide	13,8	3,0	20,8	3,3	16,6	8,9	13,4	7,4
Leucinen	79,7	5,2	109,4	7,4	101,8	11,5	88,8	7,7
Fenylalanine	24,6	—	32,9	—	36,6	13,5	31,5	6,4
Tyrosine	20,7	3,3	30,9	4,4	34,6	30,9	29,2	14,6
Proline	18,7	sp	25,5	sp	28,6	sp	30,4	sp
Tryptofaan	8,9	—	13,4	—	12,6	—	10,5	—
Asparaginezuur	51,7	9,5	70,5	14,0	68,5	16,4	61,3	17,2
Glutaminezuur	48,7	32,9	65,8	35,1	62,5	34,7	57,8	38,2
Arginine	28,5	8,6	36,9	16,3	27,9	27,2	25,6	23,1
Lysine	20,7	sp	26,9	sp	30,6	4,3	29,2	3,7
Histidine	12,3	1,6	17,5	1,9	17,3	3,5	14,0	2,8
γ-Aminoboterzuur	0,0	6,7	0,0	15,6	0,0	38,0	0,0	23,4
Asparagine	—	55,3	—	141,3	—	224,8	—	172,0
Glutamine	—	14,6	—	45,4	—	83,5	—	55,0
Ammonia	8,4	—	10,7	—	10,6	—	10,5	—

blauw-zwarte melanine, dat verantwoordelijk is voor de blauw-zwartkleuring.

Deze aminozuurbepalingen zijn behalve uit biochemisch-plantenfysiologisch oogpunt ook van grote betekenis voor de menselijke en dierlijke voeding. Bij deze voeding gaat het namelijk niet zozeer om het eiwit als wel om de aminozuren, in het bijzonder om de zogenaamde essentiële aminozuren. Dit zijn de aminozuren, die door het dierlijk lichaam niet kunnen worden gesynthetiseerd: threonine, valine, methionine, leucine, isoleucine, fenylalanine, tryptofaan en lysine. In tabel 6 is de invloed vermeld van de stikstof- en kaliumbemesting op het gehalte aan de verschillende aminozuren voorkomende in het eiwit en in de vrije fractie van aardappelen.

Zoals uit deze tabel blijkt, is bij een aantal aminozuren de hoeveelheid, die in het eiwit voorkomt, meer dan tienmaal zo hoog als die in vrije toestand. In een aantal gevallen vormen vrije aminozuren een belangrijke bijdrage tot het geheel; bij tyrosine, glutamine en arginine is dit zelfs 30-50 %.

Hoewel de stikstofbemesting van het gewas de aminozuursamenstelling van het eiwit niet beïnvloedt, wordt het eiwitgehalte door een ruime stikstofgift aanzienlijk verhoogd. Als gevolg hiervan is het totale aminozuurgehalte van aardappelen met een ruime N-bemesting aanzienlijk hoger dan dat van aardappelen met N-gebrek. Om dezelfde reden is het gehalte van de verschillende aminozuren van aardappelen bij P- en K-gebrek hoger dan bij een voldoende voorziening met deze elementen.

Samenvatting

Een kort overzicht wordt gegeven van de vormen, waarin stikstof in de grond kan voorkomen en door de planten kan worden opgenomen. Hierbij wordt gewezen op de uiteenlopende werking van de belangrijkste twee groepen van N-verbindingen, namelijk de nitraten en de ammoniumzouten. Dit verschil betreft zowel de opneming als het voorkomen in de plant en de assimilatie door de cellen. De omzettingen in de plant van de anorganische N-verbindingen tot aminozuren en eiwit worden uitvoerig

behandeld. De invloed van een aantal factoren zoals belichting en minerale voeding (N, P, K, Mo) van de plant op deze omzettingen wordt besproken.

Summary

Nitrogen in the plant

A short survey is given of the forms in which nitrogen may occur in the soil and in which it may be absorbed by the plants. The two most important groups of nitrogen compounds, viz. the nitrates and the ammonium salts, display clear differences in uptake, occurrence within the plant and assimilation by the plant cells. The conversions within the plant of the inorganic N-compounds to amino acids and protein, and the effect of various factors such as illumination and mineral nutrition (N, P, K, Mo) of the plant on these conversions, are amply discussed.

Literatuur

1. Burström, H.: *Photosynthesis and assimilation of nitrate by wheat leaves*. Ann. Agr. Coll. Sweden 11, 1943: 1-50.
2. Ergle, D. R. and F. M. Eaton: *Organic acids of the cotton plant*. Plant Physiol. 24, 1949: 373-388.
3. Euler, H. von, E. Adler und T. Steenhoff Eriksen: *Über die Komponenten der Dehydrasesysteme*. XIV. Glutaminsäure-dehydrase aus Hefe. Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem 248, 1937: 227-241.
4. Evans, H. J. and A. Nason: *Pyridine nucleotide-nitrate reductase from extracts of higher plants*. Plant Physiol. 28, 1953: 233-254.
5. Mulder, E. G.: *Importance of molybdenum in the nitrogen metabolism of micro-organisms and higher plants*. Plant and Soil 1, 1948: 94-119.
6. Mulder, E. G.: *Onderzoekingen over*de stikstofvoeding van landbouwgewassen*. I. Proeven met kalkammonsalpeter op grasland. Versl. Landbouwk. Onderz. 55, 7, 1949. 95 blz.
7. Mulder, E. G.: *Effect of mineral nutrition on lodging of cereals*. Plant and Soil 5, 1954: 246-306.
8. Mulder, E. G.: *Nitrogen-magnesium relationships in crop plants*. Plant and Soil 7, 1956: 341-376.

9. Mulder E. G. and K. Bakema: *Effect of the nitrogen phosphorus, potassium and magnesium nutrition of potato plants on the content of free amino acids and on the amino-acid composition of the protein of the tubers.* Plant and Soil 7, 1956: 135-166.
10. Nason, A.: *Enzymatic steps in the assimilation of nitrate and nitrite in fungi and green plants.* P. 109-136 in: *Inorganic Nitrogen Metabolism.* The John Hopkins Press, Baltimore, 1956.
11. Nason, A. and H. J. Evans: *Triphosphopyridine nucleotide-nitrate reductase in Neurospora.* J. Biol. Chem. 202, 1953: 655-673.
12. Nicholas, D. J. D. and A. Nason: *Molybdenum and nitrate reductase. II. Molybdenum as a constituent of nitrate reductase.* J. Biol. Chem. 207, 1954: 353-360.
13. Nicholas, D. J. D. and H. M. Stevens: *Valency changes of molybdenum during the enzymatic reduction of nitrate in Neurospora.* Nature 176, 1955: 1066-1067.
14. Pucher, G. W., H. B. Vickery and A. J. Wakeman: *Relationship of the organic acids of tobacco to the inorganic basic constituents.* Plant Physiol. 13, 1938: 621-630.
15. Sideris, C. P., B. H. Krauss and H. Y. Young: *Assimilation of ammonium and nitrate by pineapple plants grown in nutrient solutions and its effect on nitrogenous and carbohydrate constituents.* Plant Physiol. 13, 1938: 489-527.
16. Steward, F. C. and J. F. Thompson: *Proteins and protein metabolism in plants.* P. 513-594 in: *The Proteins, Vol. II, part A.* Academic Press, New York, 1954.
17. Wadleigh, C. H. and J. W. Shive: *Organic acid content of corn plants as influenced by pH of substrate and form of nitrogen supplied.* Am. J. Botany 26, 1939: 244-248.
18. Webster, G. C.: *Nitrogen metabolism.* Ann. Rev. Plant Physiol. 6, 1955: 43-70.

