

APLICACIÓN FOLIAR DE ÁCIDO GLUTÁMICO EN PLANTAS DE JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

José Reynaldo Serna-Rodríguez; Rogelio Castro-Brindis[†]; María Teresa Colinas-León; Jaime Sahagún-Castellanos; Juan Enrique Rodríguez-Pérez.

Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. Correo-e: rcbrendis@hotmail.com ([†]Autor para correspondencia).

RESUMEN

El ácido glutámico es un aminoácido que participa en diversos procesos metabólicos en la planta. El objetivo fue determinar si la aplicación foliar de ácido glutámico produce mejor desarrollo de la planta de jitomate y un incremento en la producción de frutos. El experimento fue desarrollado bajo condiciones de invernadero e hidroponía. Las variables en las cuales hubo respuesta positiva a la aplicación de ácido glutámico fueron: contenido de clorofila b, peso de frutos frescos, peso de frutos secos y actividad de la enzima glutamina sintetasa.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Absorción de nitrógeno, asimilación de nitrógeno, clorofila b, peso de frutos, glutamina sintetasa.

FOLIAR APPLICATION OF GLUTAMIC ACID TO TOMATO PLANTS (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

ABSTRACT

Glutamic acid is an amino acid that is involved in several plant metabolic processes. This study was conducted to determine whether the foliar application of glutamic acid produces better development of the tomato plant and increases fruit production. The experiment was conducted under greenhouse and hydroponic conditions. The variables which produced positive responses to the application of glutamic acid were chlorophyll b content, fruit fresh weight, fruit dry weight and activity of the enzyme glutamine synthetase.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Lycopersicon esculentum*, nitrogen sorption, nitrogen assimilation, chlorophyll b, fruit weight, glutamine synthetase.

INTRODUCCIÓN

El uso de fertilizantes foliares en la agricultura comercial es una técnica que provee nutrimentos que requiere el cultivo como suplemento a la fertilización del suelo (Trejo *et al.*, 2007). La hoja tiene una función específica de ser una fábrica de carbohidratos, pero por sus características anatómicas presenta condiciones ventajosas para una incorporación inmediata de nutrimentos y la translocación de éstos a los lugares de la planta de mayor demanda (Trinidad y Aguilar, 2000). Los aminoácidos exógenos, como el ácido glutámico, pueden ser absorbidos e incorporados por las plantas tanto por la vía radical como por la foliar e integrarse así al metabolismo vegetal (Arjona *et al.*, 2004). El ácido glutámico no es un nutrimento; sin embargo, su aplicación foliar puede ser positiva para las plantas ya que participa en procesos metabólicos importantes, entre los

que se encuentran la asimilación del amonio y procesos de transaminación (Taiz y Zeiger, 2003).

La formación de ácido glutámico es el punto de entrada del nitrógeno a compuestos orgánicos, y ocurre en los cloroplastos o mitocondrias (Barker y Pilbeam, 2007). Por tanto, con la aplicación de este compuesto vía foliar existe la posibilidad de mejorar la asimilación de nitrógeno en las plantas, lo que puede reflejarse en mayor rendimiento. Se ha observado que su aplicación vía foliar ha permitido disminuir el contenido de nitratos en plantas de *Allium tuberosum* Rottler Spreng, lo que muestra su efecto en la incorporación del nitrógeno en compuestos orgánicos, ya que se incrementaron la síntesis de clorofila, el contenido de aminoácidos libres y la proteína soluble, así como azúcares solubles (Cao *et al.*, 2010).

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la aplicación foliar de ácido glutámico en el desarrollo y producción de plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un invernadero del Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, de febrero a agosto de 2007. Los tratamientos consistieron en aplicaciones foliares de ácido glutámico en concentración de 0.00, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00 y 20.00 g·L⁻¹. Se hicieron cinco aplicaciones, y el intervalo entre aplicaciones fue de tres semanas; la primera se realizó cuatro semanas después del trasplante. La fuente de ácido glutámico fue el ácido glutámico hidrociorado (C₅H₉NO₄·HCl) al 99.5 % de concentración.

Antes de cada aplicación de tratamientos se realizó una "prueba en blanco" para determinar la cantidad de solución que debía ser asperjada en las plantas. El equipo utilizado fue una aspersora manual con capacidad de cinco litros. En la primera aplicación se utilizó un litro de solución para asperjar todas las plantas de cada tratamiento, en la segunda se utilizaron dos litros, y en las tres aplicaciones restantes fueron usados tres litros. Los cálculos y consideraciones para determinar la cantidad de C₅H₉NO₄·HCl a aplicar para cada tratamiento fueron: a) El producto se encuentra al 99.5 %, b) 100.5025 g de producto contienen 100 gramos de C₅H₉NO₄·HCl. El peso molecular del C₅H₉NO₄·HCl es 182.5. El peso molecular del C₅H₉NO₄ (sin considerar el HCl) es 147.0. Por lo tanto, en 100.5025 g de producto hay 80.55 g de C₅H₉NO₄. Para aplicar 1.25 g·L⁻¹ de ácido glutámico, fueron necesarios 1.56 gramos de producto por cada litro de solución preparada. Para las concentraciones 2.50, 5.00, 10.0 y 20.0 g·L⁻¹, se utilizaron 3.12, 6.24, 12.47 y 24.95 gramos de producto, respectivamente. Para lograr adherencia adecuada del producto al follaje de las plantas de jitomate fue utilizado un coadyuvante con los siguientes ingredientes activos: éter de polietilenglicol al 5.20 % en peso, glicol con óxido de etileno al 20.60 % en peso y dimetilpolisiloxano al 1.85 % en peso. La concentración de coadyuvante utilizado fue de 1 ml por cada litro de solución preparada.

Se utilizó el cultivar de jitomate híbrido "Reserva", de crecimiento indeterminado y fruto de tipo saladette. El experimento se llevó a cabo en un diseño de bloques completos al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones. Cada unidad experimental constó de seis bolsas (macetas) de plástico con una planta en cada bolsa. Se realizaron dos muestreos: el primero cuatro días después de la tercera aplicación de los tratamientos, cuando la planta se encontraba en floración e iniciaba la fructificación, y el segundo cuatro días después de la quinta aplicación, en plena etapa de fructificación; en cada uno se tomó una planta (una maceta) como unidad experimental.

Los caracteres evaluados fueron registrados en dos

momentos: cuatro días después de la tercera aplicación de los tratamientos, y cuatro días después de la quinta aplicación. Las variables evaluadas fueron:

Altura de planta (cm). Medida desde el cuello de la planta hasta el meristemo apical de la misma.

Absorbancia (Unidades SPAD). El equipo utilizado fue el SPAD-502. La medición fue realizada en los folíolos intermedios de las hojas de reciente madurez.

Número de frutos. Se determinó el número total de frutos de cada unidad de muestreo de las unidades experimentales.

Área foliar (cm²). Se utilizó el Integrador de Área Foliar LICOR LI-300.

Peso de frutos frescos (g). Se pesaron frutos de cualquier tamaño, desde los totalmente formados hasta los que iniciaban su formación.

Peso de hojas secas (g). Las hojas fueron secadas en estufa a 60 °C durante dos días.

Peso de tallos secos (g). Los tallos y los racimos sin frutos fueron secados en estufa a 60 °C durante dos días.

Peso de frutos secos (g). Los frutos fueron troceados en pedazos y expuestos al sol para secarlos. Para retirarles la humedad restante, los trozos de frutos fueron colocados en una estufa de secado a 60 °C durante dos días. Después se pesaron. Algunos frutos fueron cosechados antes del segundo muestreo, su peso se obtuvo haciendo el ajuste por el contenido de humedad, que fue de 95.32 %.

Contenido de clorofila en hojas (mg·g⁻¹). Se utilizaron los folíolos centrales de las hojas de reciente madurez. Se utilizó la metodología descrita por Whitham *et al.* (1971), con modificaciones; éstas consistieron en el uso de acetona al 98 % en lugar de acetona al 80 %, y el no filtrado de la muestra antes de la centrifugación. La acetona disuelve la clorofila, por lo que el uso de una mayor concentración asegura que toda la clorofila, sea extraída, el filtrado de la muestra es para eliminar residuos; sin embargo, al centrifugar, todos los residuos se quedaron al fondo del tubo de centrifugación, y la acetona con la clorofila disuelta se obtuvo por decantación.

Actividad de la glutamina sintetasa (µM de γ-GHM·g⁻¹·h⁻¹). Se utilizó la metodología de análisis enzimático propuesta por Alcántar y Sandoval (1999), con modificaciones, destacando el uso de 0.4 ml de extracto vegetal en lugar de 0.1 ml, el no filtrado antes de la centrifugación, y el tiempo de incubación de 10 minutos en vez de 20 minutos. Diversas formas para la medición de la actividad de la enzima glutamina sintetasa han sido descritas por varios autores (O'Neal y Joy, 1973; Wallsgrove *et al.*, 1979; Groat y Vance, 1981; Amarjit y Singh, 1985; Smirnov y Stewart, 1987; Vezina y Margolis, 1990). La mayoría de las metodologías miden la enzima mediante colorimetría o cromatografía. La forma de

CUADRO 1. Fuentes utilizadas y cantidad de cada ion para la preparación de la solución nutritiva.

Fuente	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄	SO ₄ ²⁻	NH ₄ ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺
----- (me·L ⁻¹) -----							
(NH ₄) ₂ SO ₄			3.6	3.6			
KH ₂ PO ₄		1.45					1.45
MgSO ₄ ·7H ₂ O			3.28			3.28	
K ₂ SO ₄			3.27				3.27
KNO ₃	1.02						1.02
CaNO ₃ ·4H ₂ O	7.38				7.38		
Total	8.4	1.45	10.15	3.6	7.38	3.28	5.74

extracción de la enzima tiene aspectos similares en todas las metodologías, como son: el pH (que es alcalino, y los valores reportados en las metodologías van de 7.5 a 8.0), la temperatura (en frío a 4 °C o menos), y el uso de polivinilpirrolidona y 2-mercaptoetanol, aspectos en que varían, como la centrifugación (tiempo y fuerza) y el filtrado o no del extracto. Cuando la medición se hace mediante colorimetría, el tiempo de incubación varía de 6 a 30 minutos. La actividad de la enzima no era óptima con la metodología original, después de hacer varios ensayos variando cantidad de extracto utilizado y tiempos de incubación se obtuvo la mayor actividad de la enzima con las modificaciones antes señaladas.

Para los análisis estadísticos de las variables bajo estudio, se utilizaron los valores obtenidos de la unidad de muestreo por unidad experimental. Con éstos se hizo análisis de varianza (ANVA). Para las variables en que se obtuvo significancia estadística ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, se compararon sus medias (DMS, $P \leq 0.05$) con base en la prueba de Tukey.

Solución nutritiva

La solución nutritiva estuvo compuesta por 20 miliequivalentes de cationes y 20 miliequivalentes de aniones por litro (me·L⁻¹). Las fuentes y los miliequivalentes necesarios de las fuentes de macronutrientes se presentan en el Cuadro 1.

Las fuentes y las cantidades requeridas para 1,100 litros de los micronutrientes fueron: Sulfato ferroso 55.0 g, Sulfato de manganeso 5.5 g, Sulfato de zinc 2.2 g, Sulfato de cobre 2.2 g y Borax 11 g.

La composición química de una solución nutritiva está determinada por una relación catiónica mutua, una relación aniónica mutua, la concentración iónica total y pH (Juárez *et al.*, 2006). En las soluciones nutritivas generalmente se utilizan los aniones NO₃⁻, H₂PO₄⁻ y SO₄²⁻, y los cationes K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺, sin embargo, debido a que la enzima glutamina sintetasa cataliza la conversión del nitrógeno inorgánico (amonio) en nitrógeno orgánico (glutamina), se incluyó el catión NH₄⁺ en la solución nutritiva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El metabolismo se regula para lograr balance y economía. Hay miles de intermediarios metabólicos en una célula, muchos de los cuales son intermediarios de más de una ruta metabólica. El metabolismo podría ser representado como una malla de rutas metabólicas interconectadas e interdependientes. Un cambio en la concentración de cualquier metabolito puede que impacte a otras rutas metabólicas, pudiendo afectar en el flujo de materiales a través de otros sectores de la estructura celular (Nelson y Cox, 2005). Determinar exactamente lo que ocurrió en cada paso metabólico queda fuera de los alcances de esta investigación; sin embargo, se plantean explicaciones a los resultados obtenidos.

Primer muestreo

Los resultados del análisis de varianza mostraron efecto significativo en las variables contenido de clorofila b (Cb) y actividad de la glutamina sintetasa (GS). De acuerdo con las comparaciones de medias (Cuadro 2), las mayores cantidades de clorofila b se obtuvieron con las concentraciones de 1.25, 2.50 y 10.00 g·L⁻¹. Lo anterior hace suponer que hasta el momento del primer muestreo el ácido glutámico aplicado foliarmente se encuentra involucrado en la ruta metabólica de la clorofila b. El glutamato, al ser un intermediario de la ruta metabólica de la clorofila (De las Rivas, 2000a), incrementó la concentración de la clorofila b, sin la necesidad de una alta intervención de la enzima glutamina sintetasa para el aporte del nitrógeno necesario; por lo tanto, hay baja actividad enzimática. En el caso de la ausencia de aplicación, el comportamiento fue inverso al requerir de mayor actividad enzimática que aportara nitrógeno para la síntesis de clorofila b, ya que probablemente no se tenía la cantidad suficiente.

La clorofila a es la más abundante, pero la clorofila b actúa como antena, conduciendo la energía que absorbe hacia el centro de reacción. No está directamente involucrada en la transferencia de energía fotosintética, pero sirve para captar más luz que puede ser usada en la fotosíntesis (De las Rivas, 2000b). Por lo tanto, la aplicación de ácido glutámico provoca mayor captación de energía solar debido a la presencia de más clorofila b.

CUADRO 2. Comparación de medias de dos variables en plantas de jitomate de 116 días de edad asperjadas con seis concentraciones de ácido glutámico.

Tratamiento	Cb (mg·g ⁻¹)	GS(μm γ-GHM·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
0.00 g·L ⁻¹	0.5170 c ^z	2.6075 a
1.25 g·L ⁻¹	0.7148 a	1.4175 bc
2.50 g·L ⁻¹	0.6793 a	1.1225 c
5.00 g·L ⁻¹	0.5568 bc	2.3050 ab
10.00 g·L ⁻¹	0.6195 ab	1.7225 abc
20.00 g·L ⁻¹	0.5675 bc	2.2150 ab
Media	0.6091	1.8983
DMS	0.0984	0.9673

^zMedias con la misma letra dentro de las columnas son iguales de acuerdo con la prueba de DMS a una ($P \leq 0.05$); DMS: Diferencia Mínima Significativa; Cb: Contenido de clorofila b. GS: Actividad de la glutamina sintetasa; μm γ-GHM·g⁻¹·h⁻¹: micromoles de gamma glutamil hidroxamato por gramo de tejido fresco por hora.

Por otra parte, la actividad de glutamina sintetasa (Cuadro 2) fue mayor en el testigo (0.00 g·L⁻¹) comparado con la aplicación de 1.25 y 2.50 g·L⁻¹, las que en cambio, tuvieron mayor contenido de clorofila b. Esto puede indicar que las plantas que no recibieron ácido glutámico necesitaron absorber nitrógeno para incorporarlo a las diferentes rutas metabólicas, entre ellas la de formación de clorofila b. La aplicación de 5, 10 y 20 g·L⁻¹ produjo actividad estadísticamente igual a la del testigo, por lo que la concentración ideal de ácido glutámico para la formación de clorofila b en este momento del desarrollo de la planta es 2.50 g·L⁻¹, ya que si ésta se excede, las cantidades de clorofila son menores, y la actividad de la glutamina sintetasa aumenta. El glutamato está a un solo paso metabólico para la formación de α-cetoglutarato, o la formación de aspartato. El α-cetoglutarato es una molécula que participa directamente en el ciclo de Krebs, mientras que el aspartato puede convertirse en oxalacetato, otra molécula participante del ciclo de Krebs. Por otro lado, el glutamato puede dar lugar a la formación de glutamina

o de proteínas, y también es posible que entre en la ruta metabólica de la formación de la molécula de clorofila (Ribas y González, 2000).

Segundo Muestreo

Los análisis de varianza mostraron efecto significativo ($P \leq 0.05$) sólo en las variables: peso de frutos en fresco (PFF), peso de frutos en seco (PST), peso total de la planta en seco (PTotS) y actividad de la glutamina sintetasa (GS).

La producción de fruto (PFF y PFS) fue incrementada con concentraciones de 1.25, 2.5 y 5 g·L⁻¹, mientras que la actividad de la glutamina sintetasa (GS) fue incrementada con 5 g·L⁻¹ (Cuadro 3). Los valores obtenidos en este estudio para GS son similares a los valores obtenidos por Cruz *et al.* (2005), quienes trabajaron con raíces de trigo (*Triticum aestivum* L.), triticale (X *Triticosecale* Wittmack) y maíz (*Zea mays* L.).

Es probable que parte del glutamato aplicado foliarmente se haya trasladado hacia la raíz, y allí la enzima glutamina sintetasa asimilara más nitrógeno amoniacal que sirvió para la síntesis de estos compuestos en el fruto, ya que el fruto de jitomate contiene compuestos nitrogenados como las proteínas, tiamina, riboflavina, niacina y vitamina B₆ (Jones, 1999).

También es posible que la planta, al tener glutamato disponible (el que fue aplicado foliarmente), haya enviado los carbohidratos no empleados en la producción de glutamato hacia el fruto, y por lo tanto se produjeron frutos más pesados. El principal asimilado del jitomate es la sacarosa (Ho, 1996), el cual es un carbohidrato que se compone de fructosa y glucosa. Estos carbohidratos son producidos en fotosíntesis, y aunque todos los tratamientos estuvieran produciendo la misma cantidad de carbohidratos –debido a que no requieren mayor cantidad de clorofilas a y b–, hay que considerar que la formación de glutamato requiere energía (Taiz y Zeiger, 2003), lo que significa consumo de carbohidratos. Además, el glutamato

CUADRO 3. Comparación de medias de cuatro variables en plantas de jitomate de 158 días de edad asperjadas con seis concentraciones de ácido glutámico.

Tratamiento	PFF (g)	PFS (g)	PTotS (g)	GS(μm γ-GHM·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
0.00 g·L ⁻¹	3306.5 b ^z	156.73 b c	277.81 a b	1.6175 b
1.25 g·L ⁻¹	3683.0 a b	173.27 a b	314.82 a	2.1150 b
2.50 g·L ⁻¹	3687.8 a b	172.72 a b	292.73 a	1.9700 b
5.00 g·L ⁻¹	4055.7 a	189.18 a	317.44 a	2.8100 a
10.00 g·L ⁻¹	3346.8 b c	156.77 b c	275.90 a b	2.2375 b
20.00 g·L ⁻¹	2914.0 c	132.58 c	245.98 b	1.9075 b
Media	3474.7	162.42	285.84	2.1095
DMS	917.0	29.10	42.00	0.6593

^zMedias con la misma letra dentro de las columnas son estadísticamente iguales con acuerdo a la prueba de DMS a la ($P \leq 0.05$); DMS: Diferencia Mínima Significativa; PFF: Peso de frutos en fresco; PFS: Peso de frutos secos; PTotS: Peso Total de la planta en seco; GS: Actividad de la glutamina sintetasa. μm γ-GHM·g⁻¹·h⁻¹: micromoles de gamma glutamil hidroxamato por gramo de tejido fresco por hora.

tiene varias funciones en la planta, como la asimilación del amonio (Gonnet y Díaz, 2000), pero también puede servir para la formación de α -cetoglutarato, un compuesto del ciclo de Krebs (Ribas y González, 2000).

El resto de las variables evaluadas no fueron afectadas por la aplicación de ácido glutámico, o el efecto no se mostró debido a que la planta se mantuvo en condiciones de invernadero, evitando cualquier tipo de estrés. Los aminoácidos intervienen en el crecimiento y desarrollo vegetal, particularmente cuando las plantas están sometidas a algún tipo de estrés (Arjona *et al.*, 2004).

La variable peso total en seco (PTotS) no mostró diferencias entre las concentraciones aplicadas de ácido glutámico y el tratamiento testigo (Cuadro 3).

CONCLUSIONES

La aplicación foliar de ácido glutámico favorece la formación de clorofila b.

El efecto acumulado de la aplicación de ácido glutámico provoca incremento en la actividad de la glutamina sintetasa, lo que se refleja en mayor producción de frutos.

LITERATURA CITADA

- ALCÁNTAR GONZÁLEZ, G.; SANDOVAL VILLA M. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Publicación Especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, México. 156p.
- ARJONA H. D.; HERRERA J. E.; GÓMEZ J. A.; J. OSPINA. 2004. Evaluation of the application of urea, molasses and amino acids on growth and yield of onion plants (*Allium cepa* L. Group *cepa*) in the Bogotá Savanna. *Agronomía Colombiana*. 22 (2): 177-184.
- AMARJIT; SINGH R. 1985. Enzymes of ammonia assimilation and ureide biogenesis in developing pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) nodules. *J. Biosci.* 3&4:375-385.
- BARKER, A. V.; D. J. PILBEAM. 2007. Handbook of plant nutrition. CRC press. Boca Ratón, USA. 613 p.
- CAO, Y. P.; GAO, Z. K.; LI, J. T.; XU, G. H.; WANG, M. 2010. Effects of extraneous glutamic acid on nitrate contents and quality of chinese chive. *Acta Hort* 856: 91-98.
- CRUZ FLORES G.; FLORES ROMÁN D.; ALCÁNTAR GONZÁLEZ G.; TRINIDAD-SANTOS A. 2005. Fosfatasa ácida, nitrato reductasa, glutamina sintetasa y eficiencia de uso de fósforo y nitrógeno en cereales. *Terra Latinoamericana* 23 4: 457-468.
- DE LAS RIVAS, J. 2000a. La luz y el aparato fotosintético. pp. 131-153. *In: Fundamentos de Fisiología Vegetal*. AZCÓN BIETO J.; TALÓN M. (eds.). McGraw Hill. México.
- DE LAS RIVAS, J. 2000b. Utilización de la energía luminosa en la fotosíntesis. pp. 155-172. *In: Fundamentos de Fisiología Vegetal*. AZCÓN BIETO J.; TALÓN M. (eds.). McGraw Hill. México.
- GONNET S.; DÍAZ P. 2000. Glutamine synthetase and glutamate synthase activities in relation to nitrogen fixation in *Lotus* spp. *R. Bras. Fisiol. Veg.* 12(3): 195-202.
- GROAT R. G.; VANCE C. P. 1981. Root Nodule enzymes of ammonia assimilation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol.* 67: 1198-1203.
- HO L. C. 1996. Tomato. pp. 709-728. *In: Photoassimilate Distribution in Plants and Crops*. ZAMSKI E.; SHAFFER A.A. (eds.). Marcel Dekker, Inc. USA.
- JONES, J. B. JR. 1999. Tomato Plant Culture: in the Field, Greenhouse, and Home Garden. CRC Press. 199p.
- JUÁREZ HERNÁNDEZ M. J.; BACA CASTILLO G. A.; ACEVES NAVARRO L. A.; SÁNCHEZ GARCÍA P.; TIRADO TORRES J. L.; SAHAGÚN CASTELLANOS J.; COLINAS LEÓN M. T. 2006. Propuesta para la formulación de soluciones nutritivas en estudios de nutrición vegetal. *Interciencia* 31: 246-253.
- NELSON D. L.; COX M. M. 2005. Lehninger Principles of biochemistry. Freeman and Co. USA. 1119p.
- O'NEAL D.; JOY K. W. 1973. Glutamine Synthetase of Pea Leaves. I. Purification, Stabilization, and pH Optima. *Arch. Biochem. Biophys.* 159: 113-122.
- RIBAS CARBÓ M.; GONZÁLEZ MELER M. A. 2000. Fisiología de la respiración de las plantas. pp. 217-233. *In: Fundamentos de Fisiología Vegetal*. AZCÓN BIETO J.; TALÓN M. (eds.). McGraw Hill. México.
- SMIRNOFF N.; STEWART G. R. 1987. Glutamine synthetase and ammonium assimilation in roots of zoonc-tolerant and non-tolerant cones of *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. and *Anthoxanthum odoratum* L. *New Phytol.* 107:659-670.
- TAIZ L.; ZEIGER E. 2003. Plant Physiology. Sinauer Associates Publisher. USA. 623 p.
- TREJO TÉLLEZ L.; RODRÍGUEZ MENDOZA M., ALCÁNTAR-GONZÁLEZ G. 2007. Fertilización Foliar. pp. 325-371. *In: Nutrición de Cultivos*. ALCÁNTAR GONZÁLEZ G.; TREJO TÉLLEZ L. (eds.). Mundi-Prensa. México.
- TRINIDAD SANTOS A.; AGUILAR MANJARREZ D. 2000. Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra Latino Americana* 17(1): 247-255.
- VEZINA P. L.; MARGOLIS H. A. 1990. Purification and properties of glutamine synthetase in leaves and roots of *Pinus banksiana* Lamb. *Plant Physiol* 94: 657-664.
- WALLSGROVE R. M.; LEA P. J.; MIFLIN B. J. 1979. Distribution of the enzymes of nitrogen assimilation within the pea leaf cell. *Plant Physiol.* 63: 232-236.
- WHITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. 1971. Experiments in Plant Physiology. Van Nostrand Reinhold Company. New York. pp. 55-58.