

NH₄⁺-N 部分代替 NO₃⁻-N 对番茄生育中后期氮代谢相关酶活性的影响*

董园园 董彩霞 卢颖林 缪辰 沈其荣[†]

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要 采用砂培实验研究 NH₄⁺-N 部分代替 NO₃⁻-N 对番茄的影响, 结果表明: 与全硝处理 (100% NO₃⁻) 相比较, 增铵处理 (NH₄⁺: NO₃⁻ = 25%: 75%) 下番茄鲜果重显著提高; 同时叶片内 NO₃⁻-N 含量随增铵而显著降低, 叶片与果实内 NH₄⁺-N 含量及果实的可溶性蛋白含量随增铵而升高; 增铵条件抑制了叶片和果实的硝酸还原酶 (NR) 活性, 提高了叶片和果实的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPcase) 活性及叶片谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性, 但对果实的谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性影响不大。上述结果表明, NH₄⁺-N 部分代替 NO₃⁻-N 可增加番茄产量, 提高集约化基地的生产量。

关键词 NH₄⁺-N; NO₃⁻-N; 番茄; 硝酸还原酶; 谷氨酰胺合成酶; 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶

中图分类号 S641.2 **文献标识码** A

硝酸还原酶 (NR) 和谷氨酰胺合成酶 (GS) 是植物体氮素代谢的关键酶^[1~3]。植物吸收 NO₃⁻ 后, 首先在硝酸还原酶 (NR) 的作用下启动 NO₃⁻ 的还原反应, 在此过程中消耗 1 mol H⁺, 同时产生等量 OH⁻, 细胞质 pH 升高^[4]。稳定的 pH 是细胞进行一切生命活动的基础^[4], 同时由于氮素同化需要大量碳架, 因此, 生物体必然启动碳的回补反应合成苹果酸和 α-酮戊二酸, 在此过程中 PEPcase 起着重要的调节作用^[5,6]。不仅如此, 在果实发育的中后期, PEPcase 还能将果实呼吸跃变释放的 CO₂ 重新固定生成苹果酸和柠檬酸, 以避免碳水化合物的大量损失^[7]。番茄是喜硝作物, 适当的增铵能显著提高生物量和产量^[8,9], 但有关增铵后 N 素代谢关键酶活性变化的报道并不一致, 有的报告认为增铵后 NR 活性比单一 NO₃⁻ 营养下提高, 氮素代谢增强^[1,10], 也有相反报道认为随 NH₄⁺ 比例增加 NR 活性下降^[11]; 增铵后 GS 活性增加或不变^[13], 而有关增铵后 PEPcase 的活性变化则报道极少。为此在前期研究^[8]的基础上, 本研究对 25% 增铵营养下番茄不同生育期内叶片和果实的 NR、GS 和 PEPcase 活性的动态变化进行了研究, 以期从生理水平上找到增铵营养促进番茄产

量提高的原因, 也能为土壤条件下控制土壤无机氮比例, 使之更有利于作物生长发育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

番茄品种为宝大 903。

1.2 番茄培养

2004 年 1 月 6 号育苗, 常规管理, 3 月 15 号移栽: 选择生长一致的幼苗移栽到装有特制的基质-营养液的塑料盆钵中培养, 每盆移苗 3 棵。设置 2 个处理, 每处理 4 个重复。以 100% 硝酸盐处理为对照 (CK), 在全氮浓度相等 (15 mmol L⁻¹) 的基础上设 NH₄⁺: NO₃⁻ = 25%: 75% (以下称增铵处理, T)。以 KNO₃ 提供 NO₃⁻, (NH₄)₂SO₄ 提供 NH₄⁺。2 处理下 K、Ca、P、Mg、S 浓度分别为 6、4、2、1、2 mmol L⁻¹, Cl、B、Mn、Zn、Cu、Mo 浓度分别为: 50、25、2.0、2.0、0.5、0.5 μmol L⁻¹, 以 EDTA-Fe (20 μmol L⁻¹) 为 Fe 源, 加入二氰胺 (7 μmol L⁻¹) 作为硝化抑制剂, pH 设为 6.3~6.5。营养液浓度从 1/2 到全营养, 逐步提高浓度。移栽初期每次浇液 0.5 L, 后期随蒸腾量增加浇液量增至 1 L 到 2 L, 隔天浇一次营养液, 试验期

* 土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放基金项目 (055131) 和“山东省作物生物学重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地”资助

[†] 通讯作者: 沈其荣, 025-84395212, qshen@njau.edu.cn

作者简介: 董园园 (1981~), 女, 硕士研究生, 主要从事番茄有机酸代谢研究。E-mail: qianlicao99@sina.com

收稿日期: 2005-01-25; 收到修改稿日期: 2005-06-27

间营养液的总用量约为 45 L 盆^{-1} 。分别于开花期、幼果期(坐果 7~10 d)、青果期(坐果 15~20 d)、膨大期(坐果 35~40 d)和完熟期(坐果 50~60 d)采集番茄叶片和果实。果实均采第一果枝,叶片为所采果实(或花)下的第一片叶(是果实养分的主要供应者)。每个处理采 3 盆。分别将叶片剪碎混匀,果实用打浆机匀浆后取 1.50 g 左右,用液氮速冻, -20°C 保存,以待测定 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 、 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量及各种酶的活性。

1.3 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量测定

参照李合生的提取方法^[12],上清液过滤后用流动分析仪测定。

1.4 可溶性蛋白含量测定

参照文献[12],用考马斯亮蓝 G-250 染色法于 595 nm 下比色,并根据标准曲线计算可溶性蛋白质含量。

1.5 硝酸还原酶活性测定

参照文献[12],提取液为 $5 \text{ ml } 25 \text{ mmol L}^{-1}$ 的磷酸提取缓冲液(成分为 10 mmol L^{-1} 半胱氨酸, 1 mmol L^{-1} EDTA, pH8.7), $18\,000 \text{ r min}^{-1}$ 离心(离心温度为 4°C) 20 min,取粗酶液 0.4 ml,加入 1 ml 0.1 mol L^{-1} KNO_3 磷酸缓冲液和 0.6 ml NADH,混匀, 25°C 水浴中保温 30 min,对照不加 NADH,而以 $0.6 \text{ ml } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ pH7.5 的磷酸缓冲液代替。保温结束后立即加入 1 ml 1% 磺胺溶液终止酶反应,再加 1 ml 0.02% 萘基乙烯胺溶液,显色 15 min 后于 $18\,000 \text{ r min}^{-1}$ 下离心 5 min,取上清液在 540 nm 下比色测定吸光度,根据标准曲线计算反应液中所产生的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 总量。酶活性以单位时间内单位鲜重产生的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 量计,单位为 $\text{NO}_2^- \text{-N } \mu\text{g h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ 。

1.6 谷氨酰胺合成酶活性测定

按《植物生理学实验手册》^[13],提取液为 $5 \text{ ml } 5 \text{ mmol L}^{-1}$ 磷酸提取缓冲液(成分为 0.5 mmol L^{-1} EDTA, 50 mmol L^{-1} K_2SO_4 , pH7.2), $18\,000 \text{ r min}^{-1}$ 离心(离心温度为 4°C) 20 min,取粗酶液 1 ml,加入 0.6 ml 咪唑-盐酸缓冲液(0.25 mol L^{-1}), 0.4 ml 谷氨酸钠(0.30 mol L^{-1}), 0.4 ml ATP-Na(30 mmol L^{-1}), 0.2 ml MgSO_4 (0.5 mol L^{-1}), 30°C 水浴中保温 5 min,然后立即加入 0.2 ml 羟胺试剂(0.5 mol L^{-1}),开始反应,于 30°C 水浴保温 15 min 后加入 1 ml 三氯化铁试剂,终止其反应。混合液在 $4\,000 \text{ r min}^{-1}$ 离心 15 min,上清液于 540 nm 处测定其光密度,根据标准曲线计算 γ -谷氨酰基氧肟酸(γ -glutamylhydroxamate, $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4$) 生成量。酶活性以单位时间内单位鲜重

产生的 γ -谷氨酰基氧肟酸量计,单位为 $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4 \text{ mmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ 。

1.7 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性测定

参照 Nobuhisa 和 Motoki^[14] 的方法,并略有改动,如下:(1)提取:将材料置于预冷研钵中,加入少许石英砂、0.15 g 左右聚乙烯吡咯啉酮(PVP)及 3 ml 咪唑-HCl 提取缓冲液(成分为 20% (V/V) 甘油、 5 mmol L^{-1} MgCl_2 溶液、 5 mmol L^{-1} NaF 溶液、 5 mmol L^{-1} 巯基乙醇、 15 mmol L^{-1} 苯甲基磺酰氟(PMSF)、 1 mmol L^{-1} EDTA, pH7.1),冰上研磨成匀浆,再分别用 1 ml 咪唑-HCl 提取缓冲液洗 2 次,接着 $18\,000 \text{ r min}^{-1}$ 离心(离心温度为 4°C) 20 min,得到的上清液即为酶的粗提取液。(2)分离与提纯:将粗酶提取液经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤,吸取滤液 1.5 ml,经 Sephadex-G25 柱脱盐、分离和提纯,收集流出液。(3)测定:取收集液 1 ml 与 0.8 ml 50 mmol L^{-1} HEPES-KOH 缓冲溶液(成分为 0.2 mmol L^{-1} NADH、 10 mmol L^{-1} MgCl_2 溶液、 10 mmol L^{-1} NaHCO_3 溶液、 2 mmol L^{-1} 磷酸烯醇式丙酮酸)混合,混合液在室温(25°C)下保温 5 min,然后放入紫外分光光度计中并开始计时,在 340 nm 处进行测定,并以 OD_{340} 下降 0.01 作为一个酶活性单位。

2 结果与分析

2.1 增铵营养对番茄果实鲜重的影响

如图 1 所示,增铵处理下除幼果期外,青果期、

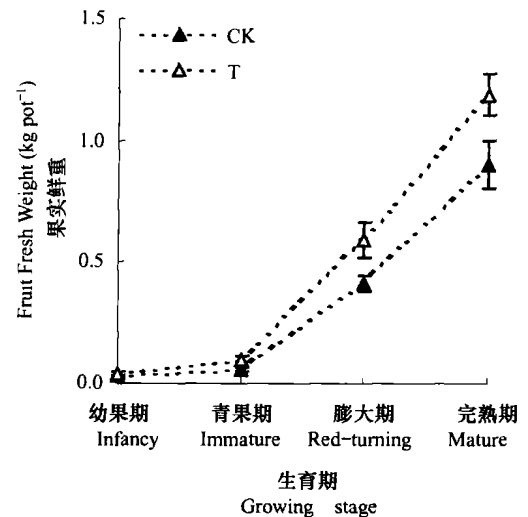


图 1 增铵营养对番茄果实鲜重的影响

Fig 1 Effect of enhanced ammonium nutrition on fresh weight of tomato fruit

膨大期和完熟期番茄果实重量都显著高于全硝处理,且随果实的发育,增铵处理与全硝处理间的果实鲜重差距逐渐增大。

2.2 增铵营养对番茄叶片 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 含量及果实可溶性蛋白、 NH_4^+ -N 含量的影响

如表 1 所示,增铵处理下叶片及果实内 NH_4^+ -N 含量显著高于全 NO_3^- 处理,而叶片 NO_3^- -N 含量则显著低于全硝处理。番茄叶片内 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 含量在整个生育期出现先增加后降低的趋势:开花期叶片内二者含量均较低,果实坐果 1 周后叶片内 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 含量呈现最高值,随着果实的快速

发育至青果期,叶片内 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 含量已呈快速下降趋势。

果实内的 NH_4^+ -N 含量与对应叶片内 NH_4^+ -N 含量变化趋势基本一致,增铵后青果期内果实 NH_4^+ -N 含量仍与幼果期一致而此时全 NO_3^- 处理 NH_4^+ -N 含量已呈快速下降趋势。果实内 NO_3^- -N 含量极其微量,基本检测不到。

尽管叶片和果实内 NH_4^+ -N 含量在番茄不同生育期呈现快速下降的趋势,但果实内可溶性蛋白含量却呈高一低一高的变化趋势,除幼果期增铵处理显著高于全 NO_3^- 处理外,其他时期 2 处理间无显著性差异。

表 1 增铵营养对番茄叶片硝态氮、铵态氮含量及果实可溶性蛋白、铵态氮含量的影响

Table 1 Effect of enhanced ammonium nutrition on NO_3^- -N, NH_4^+ -N contents in leaves and the soluble protein, NH_4^+ -N contents in fruits

生育期 Grouing Stage	叶片 Leaf				果实 Fruit			
	硝态氮 NO_3^- -N		铵态氮 NH_4^+ -N		可溶性蛋白 Soluble protein($\text{mg g}^{-1}\text{FW}$)		铵态氮 NH_4^+ -N	
	$(\mu\text{g g}^{-1}\text{FW})$		$(\mu\text{g g}^{-1}\text{FW})$				$(\mu\text{g g}^{-1}\text{FW})$	
	CK	T	CK	T	CK	T	CK	T
开花期 Anthesis	226.8±40.2	139.3±23.8	78.0±9.8	114.8±18.2	—	—	—	—
幼果期 Infancy	688.4±183.9	310.5±89.6	150.5±12.6	187.6±15.4	1.13±0.08	1.36±0.09	210.0±18.2	226.9±11.2
青果期 Immature	525.6±71.4	186.5±77.2	129.8±14.0	166.9±16.8	1.10±0.04	1.11±0.06	179.2±15.4	219.9±16.8
膨大期 Red tuming	171.8±18.7	143.2±32.2	80.8±8.4	110.3±11.2	0.95±0.07	1.00±0.03	100.8±11.2	137.2±19.6
完熟期 mature	74.8±23.8	66.1±29.4	12.2±3.2	44.9±10.1	1.10±0.05	1.21±0.03	95.2±5.6	106.4±14.0

2.3 增铵营养对番茄叶片、果实内 NR、GS、PEPcase 活性的影响

如图 2 所示,增铵营养对不同时期的番茄叶片和果实的 NR、GS 和 PEPcase 活性有较大的影响。其中果实中 NR 活性在整个生育期内均为增铵处理显著低于全硝处理,叶片在幼果期与完熟期时也有同样的趋势。从全生育期的变化趋势来看,叶片 NR 活性在开花期处于较低水平,随着果实的快速发育,两处理下该酶活性均于幼果期达到最高值(约为开花期的 5 倍),青果期达最低值。以后随果实的膨大,叶片 NR 活性呈升高—降低趋势,与此同时,果实中 NR 活性则随自身的发育而逐渐下降。

与 NR 变化不同,叶片 GS 活性在各个时期均显著高于果实,同时增铵处理显著提高了叶片 GS 活性,而对果实中该酶活性则影响不大。增铵处理下叶片 GS 活性在幼果期达到最大值,为开花期的 12 倍,以后随果实的发育而急剧下降;全硝处理下叶片 GS 活性于青果期达到最高,比增铵处理滞后一个生长时期,上升的幅度也较增铵处理小,青果期后 GS 活性又随果实发育缓慢下降。果实内 GS 活性基本

随番茄的发育而降低。

增铵处理显著促进了番茄叶片和果实的 PEPcase 活性。其中除完熟期外,果实内 PEPcase 活性显著高于叶片,大约 2~3 倍。从番茄整个生长发育过程来看,叶片 PEPcase 活性增铵处理下呈高一低一高起伏变化趋势,而全硝处理下该酶活性变化较为平缓。增铵处理下果实 PEPcase 酶活性从幼果期到膨大期无显著变化,膨大期后该酶活性急剧下降。全硝处理下果实 PEPcase 活性于青果期达到最高,随后急剧下降。

3 讨论

硝酸还原酶(NR)是高等植物氮同化的关键酶,是将 NO_3^- 还原为 NH_4^+ 的限速因子。 NH_4^+ 、 NO_3^- 混合营养可以促进 NR 活性^[1,5,10],也可能降低其活性^[11,15],且不同器官有不同的反应^[5]:Sagi^[15]指出,黑麦草地上部 NR 活性在 NH_4^+ 、 NO_3^- 共存时活性最高,而根 NR 活性则在全硝处理下最高,且根 NR 活性与根中 NO_3^- 含量具有较高的线性关系。本研究

增铵后叶片与果实的 NR 活性均有所减弱,二者 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量升高而叶片内 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 有明显的下降(果实中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量极微);另外在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量最高的幼果期,两处理下番茄叶片内的 NR 活性也达到最高点,这说明 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 是影响 NR 酶活性的一个关键因素,增铵后番茄优先吸收 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 而对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的吸收减少,植株内 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度下降,因此抑制了该酶活性,同时 NR 酶活性的降低与增铵处理下 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度低于全硝处理也有关系。另一方面,增铵营养极显著地降低了叶片 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量,而两处理下叶片 NR 活性却差异不大,另外果实中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量极微,几乎检测不出,但测得果实中 NR 活性仍高于叶片,且全硝处理下 NR 活性显著高于增铵处理,以上结果表明虽然 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 是非常重要的影响因素,但

并非完全决定 NR 活性。这与 Sagi^[5]、Matt 等^[15] 的结果一致。

PEPcase 在作物的氮素同化过程中也发挥着不可替代的重要作用。大量试验结果表明,供给 NO_3^- 后,叶片内碳水化合物的合成量减少,较多的光合新固定的碳(fixed carbon)通过糖酵解合成磷酸烯醇式丙酮酸,并在 PEPcase 的作用下生成草酰乙酸,进入三羧酸循环^[16,17]。高等植物中 PEPcase 活性受氮素形态的影响很大,Sagi 等^[5] 在黑麦草上的研究发现:PEPcase 活性在铵硝混合培养下最高,全硝培养次之,全铵培养最低。我们的研究同样表明:增铵条件能够显著增强番茄的 PEPcase 活性,其中青果期叶片内提高约 3 倍而幼果期果实内提高约 2 倍。Carrara 等^[22] 指出:PEPcase 的羧化并不是主要为果实生

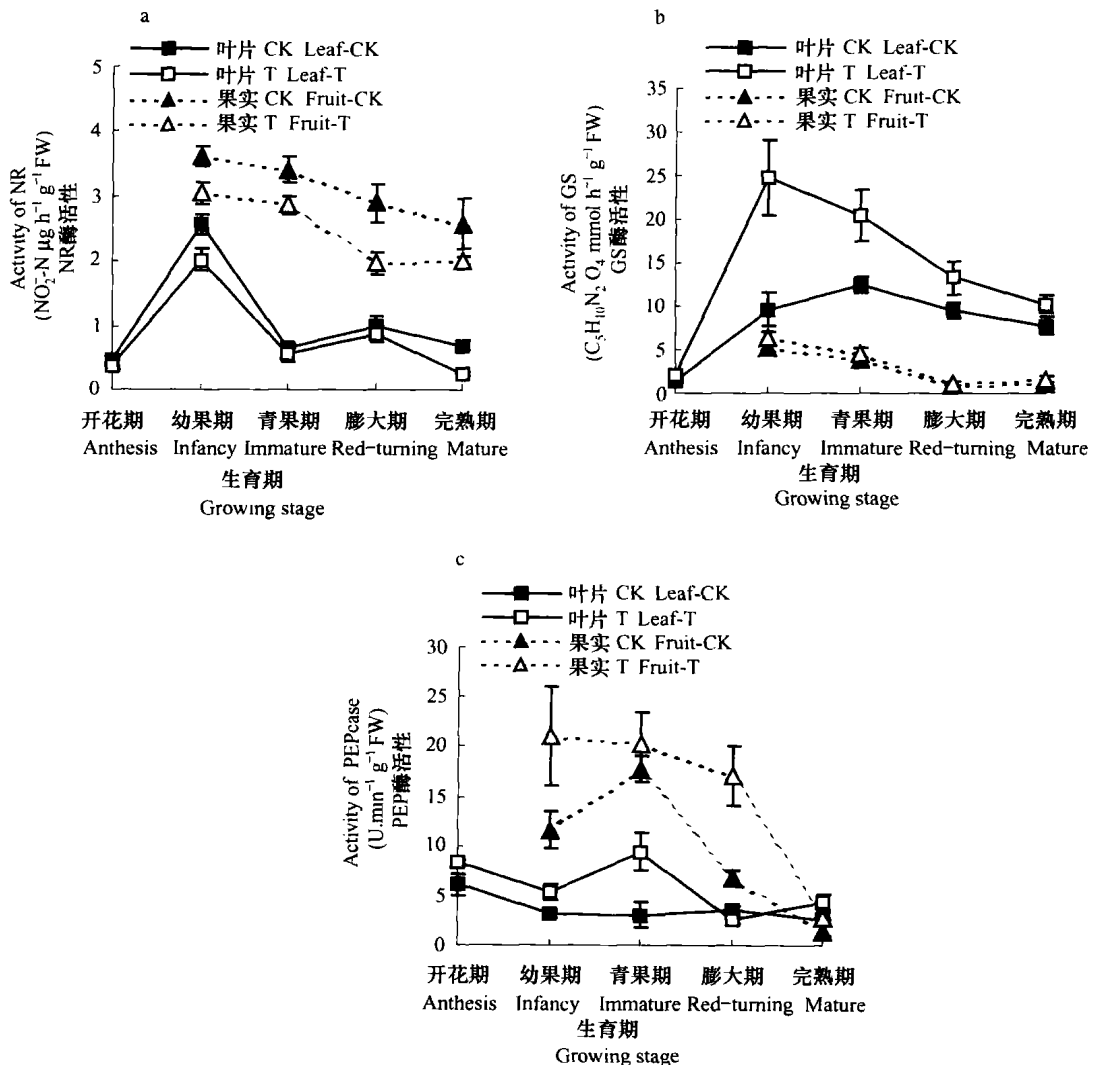


图2 增铵营养对番茄叶片及果实NR(a)、GS(b)、PEPcase(c)活性的影响

Fig 2 Effect of enhanced ammonium nutrition on NR(a), GS(b) and PEPcase(c) activity in tomato leaves and fruits

长提供所需的碳水化合物, 而是重新固定随果实呼吸所释放的 CO_2 并积累苹果酸和柠檬酸, 以维持细胞膨压, 而细胞膨压正是细胞扩增、果实生长的原动力。由此可见, PEPcase 不仅能够影响果实的酸度, 它也在一定程度上影响着果实的产量, 增铵后 PEPcase 活性显著增强, 这对番茄的产量提高与品质改善都有着重要意义。

GS 是植物氮素同化中的另一个关键酶。为免对植物体造成毒害, 植物直接吸收的铵或者由硝酸盐还原的铵会被其立即同化。与 NR 不同的是, 研究证明该酶是受 NH_4^+ 诱导的。Arnozis 指出, 铵化反应的底物是番茄根系对铵态氮同化的产物, 铵态氮促进根系的 GS 活性进而促进磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPcase) 的作用而为铵化反应提供了基质。这表明, 铵态氮更有利于其 GS 活性增加, 并在一定程度上促进碳代谢酶的作用。从番茄全生育期来看, 叶片和果实中 NH_4^+ -N 含量与其各自的 GS 活性升降变化趋势比较一致(表 1、图 2); 而相对不同器官来说, 虽然果实中 NH_4^+ -N 含量高于叶片, 但果实中 GS 活性却比叶片低的多, 说明番茄不同部位对铵的同化反应有所差异。

增铵后虽然 NR 活性有所降低, 但这不能构成影响氮素正常代谢的限制因子, 因为由于营养液中 NH_4^+ -N 比例的增加, 番茄各生育期叶片的 NH_4^+ -N 含量有显著的提高, 叶片 GS 活性、叶片和果实 PEPcase 活性均显著增加, 同时果实的可溶性蛋白含量也有上升的趋势, 因此, 增铵营养在一定程度上促进了番茄的氮素代谢。

参考文献

[1] Alexander K G, Miller M H, Beanchamp E G. The effect of an NH_4^+ -enhanced nitrogen source on the growth and yield of hydroponically grown maize (*Zea mays* L.). *J. Plant Nutri.*, 1991, 14: 31~ 34

[2] Claussen W, Lenz F. Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspberry and strawberry. *Plant and Soil*, 1999, 208: 95~ 102

[3] Anne B, Werner M K. Nitrate reductase activation state in barley roots in relation to the energy and carbohydrate status. *Planta*, 1996, 201: 496~ 501

[4] Raven J A. Acquisition of nitrogen by the shoots of land plants: its occurrence and implications for acid base regulation. *New Phytologist*, 1988, 109: 1~ 20

[5] Sagi M, Dovrat A, Kipnis T. Nitrate Reductase, phosphoenolpyruvate carboxylase, and glutamine synthetase in annual ryegrass as affected by salinity and nitrogen. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, 21(4): 707~

723

[6] Chollet R, Vidal J, O'leary M H. Phosphoenolpyruvate carboxylase: An ubiquitous, highly regulated enzyme in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1996, 47: 273~ 298

[7] Guillet C, Just D, Bérnard N. A fruit specific phosphoenolpyruvate carboxylase is related to rapid growth of tomato fruit. *Planta*, 2002, 214: 717~ 726

[8] Dong C X, Shen Q R, Wang G. Influence of partial replacement of NO_3^- -N by NH_4^+ -N in nutrient solution on the growth and the contents of organic acids of tomato (*Lycopersicon esculentum*) seedlings leaves. *Pedosphere*, accepted

[9] Pandey S T, Kudrev T. Effect of the different correlation of nitrogen source on the productivity of pepper and content of plastid pigments. *In: Kudrev T, Georgieva V G, Kamenova Y S. eds. Mineral Nutrition of Plants*. London, 1988. 191~ 194

[10] Zornoza P, Caselles J, Carera O. Response of pepper plants to $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio and light intensity. *J. Plant Nutrition*, 1987, 10: 773~ 782

[11] Takács E, Técsi L. Effects of $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio on photosynthetic rate, nitrate reductase activity and chloroplast ultrastructure in three cultivars of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Plant Physiol.*, 1992, 140: 298~ 305

[12] 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 125~ 128. Li H S. ed. Theory and Technique of Plant Physiological and Biochemical Experiments (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 2000. 125~ 128

[13] 上海植物生理学会主编. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 223~ 235. Plant Physiology Society of Shanghai. ed. Handbook of Plant Physiology Experiments (In Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1985. 223~ 235

[14] Nobuhisa K, Motoki I. Responses to Nitrogen Sources and Regulatory Properties of Root Phosphoenolpyruvate Carboxylase. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1997, 43(3): 643~ 650

[15] Matt P, Geiger M, Walchr Liu P. Elevated carbon dioxide increases nitrate uptake and nitrate reductase activity when tobacco is growing on nitrate, but increase ammonium uptake and inhibits nitrate reductase activity when tobacco is growing on ammonium nitrate. *Plant, Cell and Environment*, 2001, 24: 1 119~ 1 137

[16] Stitt M, Müller C, Matt P. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53(370): 959~ 970

[17] Scheible W R, Gonzalez Fontes A, Lauerer M. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *The Plant Cell*, 1997, 9: 783~ 798

[18] Insande J, Touraine B. N demand and the regulation of nitrate uptake. *Plant Physiol.*, 1994, 105: 3~ 7

[19] Stitt M, Krapp A. The molecular physiological basis for the interaction between elevated carbon dioxide and nutrients. *Plant, Cell and Environment*, 1999, 22: 553~ 562

[20] Sascha E, Oliver E, Udo G. Molecular evolution C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase in the genus *Flaveria*—A gradual increase from C_3 to C_4 characteristics. *Planta*, 2003, 217: 717~ 725

[21] Oliver E, Blasing K E. The non photosynthetic phosphoenolpyruvate

carboxylases of the C₄ dicot *Flaveria trinervia* Implications for the evolution of C₄ photosynthesis. *Planta*, 2002, 215: 448~ 456

[22] Carrara S, Pardossi A, Soldatini G F. Photosynthetic activity of ripening tomato fruit. *Photosynthetica*, 2001, 39(1): 75~ 78

INFLUENCE OF PARTIAL REPLACEMENT OF NO₃⁻-N WITH NH₄⁺-N IN NUTRIENT SOLUTION ON ENZYME ACTIVITY IN NITROGEN ASSIMILATION OF TOMATO AT DIFFERENT GROWING STAGES

Dong Yuanyuan Dong Caixia Lu Yinglin Miao Chen Shen Qirong[†]

(*College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*)

Abstract Studies were carried out on influences of replacement of 25% NO₃⁻-N with NH₄⁺-N in nutrient solution (enhanced ammonium nutrition) on tomato growth and activity of such key enzymes in N assimilation and organic acids as nitrate reductase (NR), glutamine synthetase(GS) and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPcase) in tomato leaves and fruits sampled at different developmental stages. The results showed that the replacement of 25% NO₃⁻-N with NH₄⁺-N led to a significant increase in fruit fresh weight, NH₄⁺-N content in both leaves and fruits and soluble protein content in fruits, while led to decrease significantly in NO₃⁻-N content in tomato leaves. Meanwhile, significant enhancement of the activity of PEPcase in both leaves and fruits and of GS in leaves were observed but not much change in GS activity in tomato fruits was. NR activity was often observed to decrease dramatically in both fruit and leaves in enhanced ammonium treatment.

Key words NH₄⁺-N; NO₃⁻-N; Tomato; NR; GS; PEPcase