

铜胁迫对烟草幼苗氮代谢的影响

张艳英^{1,2}, 周楠¹, 刘鹏^{1,*}, 徐根娣¹, 陈文荣¹, 蔡妙珍¹

(1. 浙江师范大学植物学实验室, 金华 321004; 2. 邢台市第五中学, 河北邢台 054000)

摘要:以耐铜的‘89112’与铜敏感的‘双-70’的两个烟草品种作为试验材料,在水培条件下研究了不同质量浓度的铜(0, 0.5, 1, 5, 10 mg·L⁻¹)对烟草幼苗氮代谢的几个关键酶及相关物质含量的影响。结果表明:两个品种的烟草硝态氮(NO₃⁻-N)含量均随着铜质量浓度的增加呈先增加后降低的趋势,品种 89112 硝态氮的含量明显比双-70 的高,且铜处理时间越长对烟草硝态氮的同化抑制越大;GS、GOGAT 的活性均随着铜质量浓度的增加,呈先上升后降低的趋势,且处理时间越长活性越低,品种 89112 的酶活性的要高于品种双-70 的,表明 89112 对铜胁迫的耐性较强些;低质量浓度铜条件下谷丙转氨酶(GPT)活性与对照相比有所提高,但却降低了游离氨基酸含量,且在品种双-70 的降低幅度更明显;同时铜处理也提高了烟草幼苗蛋白质含量。

关键词:铜;烟草幼苗;氮代谢

文章编号:1000-0933(2009)12-6779-06 中图分类号:Q948 文献标识码:A

Effect of Cu stress on nitrogen metabolism of *Nicotiana tabacum* L. seedling

ZHANG Yan-Ying^{1,2}, ZHOU Nan¹, LIU Peng^{1,*}, XU Gen-Di¹, CHEN Wen-Rong¹, CAI Miao-Zhen¹

1 Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

2 No. 5 Middle School of Xingtai, Xingtai 05400, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(12): 6779 ~ 6784.

Abstract: Under solution culture, used Cu-tolerant cultivar 89112 and sensitive cultivar Shuang-70 of *Nicotiana tabacum* L. as plant material, five Cu levels (0, 0.5, 1, 5, and 10 mg·L⁻¹) were applied to study the effects of copper on nitrogen metabolism. The results showed that with the increase of Cu concentration, the contents of NO₃⁻-N in two *Nicotiana tabacum* cultivars were increased firstly and then decreased, and the NO₃⁻-N contents in 89112 were higher than in Shuang-70. The negative effects of Cu on the assimilation of NO₃⁻-N were increased with the treated length. The activities of GS and GOGAT were increased firstly and then were inhibited by the increased Cu. Then, as the treated length prolonged, the inhibitory effects were increased. In contrast to Shuang-70, the enzyme activities were higher in 89112, implicating that the 89112 is more tolerant to high Cu stress. At low Cu level, activity of glutamate-pyruvate transaminase (GPT) was increased, and content of the free amino acids was reduced. The decline of the free amino acid contents in Shuang-70 was more rapidly. Compared with the control, protein content was increased by Cu stress. In short, it is indicated that Cu stress may enhance nitrogen transformation metabolism in *Nicotiana tabacum* L. seedling.

Key Words: copper; *Nicotiana tabacum* L. seedling; nitrogen metabolism

铜是植物正常生命活动所必需的微量矿质元素,对维持植物正常的新陈代谢及生长发育具有极其重要的意义。然而,适合植物生长的铜含量范围很窄,土壤中稍微过量的铜便会干扰细胞代谢和离子平衡对植物产生毒害作用。铜对植物的毒性作用,归根结底在于铜对植物体内正常的物质代谢的干扰,以及对细胞结构和功能的干扰和破坏。植物体内过量的铜会影响酶活性,尤其是植物体内碳水化合物代谢和氮代谢酶类的活

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30540056);浙江省自然科学基金资助项目(304186,303461)

收稿日期:2008-09-03; **修订日期:**2009-04-10

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sky79@zjnu.cn

性^[1],如当 Cu^{2+} 质量浓度为 $64 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 可使大豆幼苗中磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)的活性受到显著的影响^[2]。过量的铜会抑制脱羧酶的活性,间接阻碍 NH_4^+ 向谷氨酸转化,造成 NH_4^+ 在植物体内积累而使根部受到损伤。学术界对许多植物都进行了氮代谢的研究,研究表明植物生长的不同阶段中,氮代谢水平不同^[3]。植物氮素同化的主要途径是根系对铵离子和硝酸离子的交换吸收,硝酸盐经过硝酸还原酶还原成为铵^[4],然后直接参与氨基酸的合成与转化,期间硝酸还原酶(NR)、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸合酶(GOGAT)、天冬酰胺转氨酶(Asp AT)等关键酶参与了催化和调节^[5]。一些学者通过水培法研究了逆境条件下水稻等植物幼苗氮代谢关键酶活性的变化后指出,GS/GOGAT 途径是氮同化的主要途径,叶片酶活性比根系高,逆境使氮代谢酶活性降低^[6]。本研究就铜胁迫对烟草氮代谢进行了研究,旨在探讨重金属铜对烟草生长代谢的影响,为进一步改善烟草种植管理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料培养及处理

耐铜的‘89112’与铜敏感的‘双-70’的烟草作为试验材料。将种子进行晒种后,用 10% 的 H_2O_2 进行种子表面消毒 15 min,在 25°C 下黑暗浸种 24h,然后播种到铺有滤纸的培养皿中,等种子发芽后种植到沙子中。等幼苗的第 4 片真叶展开后,选取长势较为一致的幼苗移栽在 Hoagland 全营养液中。预培养 7 d 后,向培养液中加入铜,铜以 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的形式加入。铜质量浓度分别为 T1 ($0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), T2 ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), T3 ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), T4 ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), T5 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),每 2d 更换 1 次营养液。处理 15 d 和 30 d 后取样进行相应生理指标的测定,每个处理设 3 个重复。

1.2 测定指标和方法

硝态氮的含量的测定参考张志良^[7]的方法测定。谷氨酰胺合成酶(GS)活性根据王小纯等^[8]的方法测定。谷氨酸酶(GOGAT)活性采用邹琦^[9]的方法测定,植物叶片中游离氨基酸的测定采用茚三酮法^[10]测定。蛋白质含量的测定用考马斯亮蓝染色法^[9]测定。谷丙转氨酶(GPT)活性参照黄维南^[11]的方法测定。

1.3 统计方法

将观测到的重复数据在不同处理间的差异进行单因素方差分析,并用 LSD 法进行差异显著性检验。

2 结果分析

2.1 铜对烟草幼苗氮同化的影响

2.1.1 铜对烟草幼苗硝态氮(NO_3^- -N)的影响

由表 1 可知,相同铜质量浓度下随着处理时间的增加,两个品种叶片中的 NO_3^- -N 含量均下降。而在处理时间一定的条件下,随着铜质量浓度的增加,两个品种叶片中的 NO_3^- -N 含量先增加后降低,并且在铜质量浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最大值,品种 89112 于两个时间分别增加了 51.4% (15 d) 和 98.7% (30 d);而品种双-70 分别增加了 20.4% (15 d) 和 108.2% (30 d)。

表 1 铜对烟草幼苗硝态氮含量的影响

Table 1 Effect of Cu^{2+} stress on the content of NO_3^- -N in tobacco seedling

品种 Species	铜处理时间(d) Time of Cu treatment	铜浓度 Copper concentration($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
		0	0.5	1	5	10
89112	15	$9.787 \pm 1.050\text{b}$	$10.001 \pm 0.388\text{b}$	$14.818 \pm 0.288\text{a}$	$14.604 \pm 0.113\text{a}$	$10.199 \pm 0.488\text{b}$
	30	$7.826 \pm 0.190\text{b}$	$8.929 \pm 0.858\text{a}$	$9.421 \pm 0.434\text{a}$	$6.493 \pm 0.143\text{c}$	$5.723 \pm 0.216\text{c}$
双-70	15	$3.715 \pm 0.677\text{c}$	$3.802 \pm 0.234\text{c}$	$7.382 \pm 0.131\text{a}$	$6.009 \pm 0.822\text{b}$	$3.437 \pm 0.073\text{c}$
	30	$2.890 \pm 0.262\text{c}$	$4.398 \pm 0.346\text{b}$	$6.017 \pm 0.431\text{a}$	$3.969 \pm 1.081\text{bc}$	$3.080 \pm 0.176\text{c}$

表中数值为平均值 $\pm$ 标准误差,不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$, LSD 法) Data are presented in the format of mean $\pm$ standard error;

Different letters mean significant difference at $P < 0.05$ according to LSD test

2.1.2 铜对烟草幼苗谷氨酰胺合成酶(GS)活性的影响

由表 2 可知,两个品种的 GS 的活性在处理的 15 d 和 30 d 都随着铜质量浓度的增加,呈现出先增加后降低的趋势,89112 在铜质量浓度为 1 mg·L⁻¹达到最大值,与对照相比分别增加了 91.0% 和 42.4%;而双-70 在铜质量浓度为 0.5 mg·L⁻¹达到最大值,与对照相比分别增加了 24.5% 和 21.1%。

表 2 铜对烟草幼苗谷氨酰胺合成酶活性的影响
Table 2 Effect of Cu²⁺ stress on the activity of GS in tobacco seedling

品种 Species	铜处理时间(d) Time of Cu treatment	铜浓度 Copper concentration (mg·L ⁻¹)				
		0	0.5	1	5	10
89112	15	0.822 ± 0.198b	0.926 ± 0.151b	1.570 ± 0.143a	1.074 ± 0.276b	0.696 ± 0.192b
	30	0.733 ± 0.022bc	0.844 ± 0.044b	1.044 ± 0.022a	0.585 ± 0.110c	0.533 ± 0.182c
双-70	15	0.696 ± 0.090ab	0.867 ± 0.089a	0.807 ± 0.156ab	0.681 ± 0.051ab	0.585 ± 0.078b
	30	0.563 ± 0.180a	0.681 ± 0.189a	0.593 ± 0.026a	0.504 ± 0.034a	0.422 ± 0.022a

2.1.3 铜对烟草谷氨酸酶(GOGAT)活性的影响

由表 3 可知,在处理 15 d 和 30 d, 两个品种叶片中的 GOGAT 的活性随着铜质量浓度的增加,GOGAT 的活性先增加后降低,当铜质量浓度为 5 mg·L⁻¹GOGAT 的活性达到最大值,与对照相比分别增加了 51.9% 和 34.7% ,34.8% 和 21.5%;而随着处理天数的增加,两个品种烟草的 GOGAT 活性降低。

表 3 铜对烟草幼苗谷氨酸酶活性的影响
Table 3 Effect of Cu²⁺ stress on the activity of GOGA T in tobacco seedling

品种 Species	铜处理时间(d) Time of Cu treatment	铜浓度 Copper concentration (mg·L ⁻¹)				
		0	0.5	1	5	10
89112	15	0.104 ± 0.022c	0.158 ± 0.009a	0.136 ± 0.006b	0.117 ± 0.009bc	0.075 ± 0.009d
	30	0.101 ± 0.019a	0.136 ± 0.019a	0.127 ± 0.022a	0.110 ± 0.005a	0.060 ± 0.006b
双-70	15	0.115 ± 0.006b	0.155 ± 0.011a	0.120 ± 0.012b	0.113 ± 0.028b	0.070 ± 0.009c
	30	0.107 ± 0.008b	0.130 ± 0.005a	0.116 ± 0.003b	0.113 ± 0.010b	0.061 ± 0.009c

2.2 铜对烟草幼苗氮转化的影响

2.2.1 铜对烟草谷丙转氨酶(GPT)活性的影响

由表 4 可知,在铜处理 15 d 和 30 d,随着铜质量浓度的增加, 两个品种叶片中的 GPT 活性随着铜质量浓度的增加先升高后降低,在铜处理浓度为 1mg·L⁻¹时达到最大值。而随着处理天数的增加,89112 的 GPT 的活性有所增加,但是双-70 的 GPT 的活性没有明显的变化。

表 4 铜对烟草幼苗谷丙转氨酶活性的影响
Table 4 Effect of Cu²⁺ stress on the activity of GPT in tobacco seedling

品种 Species	铜处理时间(d) Time of Cu treatment	铜浓度 Copper concentration (mg·L ⁻¹)				
		0	0.5	1	5	10
89112	15	33.832 ± 0.694c	45.731 ± 4.251ab	52.817 ± 4.614a	50.980 ± 4.564ab	42.318 ± 4.594b
	30	48.180 ± 4.624b	54.129 ± 1.093ab	55.442 ± 1.093a	53.430 ± 2.806ab	50.367 ± 1.144ab
双-70	15	33.920 ± 1.347c	43.281 ± 4.100b	55.354 ± 2.083a	54.917 ± 1.604a	34.007 ± 4.518c
	30	47.568 ± 0.994c	51.505 ± 1.061b	53.430 ± 0.401a	47.918 ± 0.994c	44.943 ± 1.446d

2.2.2 铜对烟草游离氨基酸含量的影响

由表 5 可知,在铜处理 15 d 和 30 d,随着铜质量浓度的增加,与对照相比两个品种叶片中的游离氨基酸

含量都是减少的,且铜胁迫质量浓度越高,游离氨基酸的含量越低。而随着处理天数的增加,两个品种叶片中的游离氨基酸含量也均呈下降趋势。

表 5 铜对烟草幼苗游离氨基酸含量的影响

Table 5 Effect of Cu^{2+} stress on the content of free amino acids in tobacco seedling

品种 Species	铜处理时间(d) Time of Cu treatment	铜浓度 Copper concentration ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
		0	0.5	1	5	10
89112	15	$1.251 \pm 0.101\text{a}$	$1.009 \pm 0.182\text{b}$	$0.808 \pm 0.062\text{c}$	$0.754 \pm 0.040\text{c}$	$0.620 \pm 0.084\text{c}$
	30	$1.050 \pm 0.062\text{a}$	$0.835 \pm 0.145\text{b}$	$0.700 \pm 0.153\text{bc}$	$0.633 \pm 0.081\text{bc}$	$0.552 \pm 0.070\text{c}$
双-70	15	$1.090 \pm 0.199\text{a}$	$0.915 \pm 0.040\text{ab}$	$0.875 \pm 0.176\text{ab}$	$0.767 \pm 0.062\text{b}$	$0.727 \pm 0.023\text{b}$
	30	$0.956 \pm 0.107\text{a}$	$0.862 \pm 0.163\text{ab}$	$0.754 \pm 0.185\text{ab}$	$0.673 \pm 0.107\text{ab}$	$0.552 \pm 0.081\text{b}$

2.3 铜对烟草幼苗蛋白质含量的影响

由表 6 可知,在铜处理 15 d 和 30 d 期间,随着铜质量浓度的增加,两个品种叶片中蛋白质含量与对照相比均有不同程度的增加,但未达到显著差异;从时间上看,随着处理时间的增加,两个品种的蛋白质含量均有下降趋势。

表 6 铜对烟草幼苗蛋白质含量的影响

Table 6 Effect of Cu^{2+} stress on the content of protein in tobacco seedling

品种 Species	铜处理时间(d) Time of Cu treatment	铜浓度 Copper concentration ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
		0	0.5	1	5	10
89112	15	$0.332 \pm 0.020\text{b}$	$0.356 \pm 0.040\text{b}$	$0.411 \pm 0.008\text{a}$	$0.420 \pm 0.037\text{a}$	$0.351 \pm 0.009\text{b}$
	30	$0.281 \pm 0.008\text{a}$	$0.288 \pm 0.017\text{a}$	$0.324 \pm 0.006\text{a}$	$0.334 \pm 0.050\text{a}$	$0.295 \pm 0.019\text{a}$
双-70	15	$0.344 \pm 0.014\text{a}$	$0.353 \pm 0.049\text{a}$	$0.373 \pm 0.015\text{a}$	$0.377 \pm 0.006\text{a}$	$0.346 \pm 0.012\text{a}$
	30	$0.280 \pm 0.025\text{ab}$	$0.282 \pm 0.010\text{ab}$	$0.290 \pm 0.046\text{ab}$	$0.327 \pm 0.010\text{a}$	$0.282 \pm 0.004\text{b}$

3 讨论

在植物氮代谢中,细胞内氮同化主要是通过谷氨酰胺合成酶-谷氨酸合成酶(GS-GOGAT)途径进行的^[12]。GS 是处于氮代谢中心的多功能酶^[13],参与多种氮代谢的调节,是烟草 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 同化的关键酶之一^[14],其活性受光、氮素形态、温度及器官与组织的影响^[15]。GS 活性降低可使细胞内多种氮代谢酶和部分糖代谢酶受到严重影响^[16]。谷氨酰胺酶(GOGAT)也是氮素同化过程中的关键酶^[17],在无机氮转化为有机氮的过程中起关键作用^[18]。烟草的氮代谢包括无机氮的还原、同化及有机含氮化合物的转化、合成等过程^[19]。以前研究认为,硝酸还原酶(NR)、谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GO/GAT)是氮素同化过程中的关键酶^[17],GS/GOGAT 偶联形成的循环是高等植物氮同化的主要途径,在无机氮转化为有机氮的过程中起关键作用^[15]。硝酸还原酶(NR)是根系吸收 NO_3^- 还原成 NH_4^+ 的限速酶,硝态氮的含量直接代表着硝酸还原酶的活性的大小。烟草根吸收的 NO_3^- 要经过同化过程,转化成各种游离氨基酸,再合成蛋白质^[20]。本试验中,在低质量浓度的铜处理下,两个烟草品种体内的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量增加,说明低质量浓度的铜处理提高了 NR 的活性,高质量浓度的铜处理下 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量降低,说明高质量浓度铜抑制了 NR 的活性,因此高浓度的铜对烟草苗期的氮代谢有显著的影响,这一结果与其他重金属对植物的氮代谢的有关研究结果相一致^[21~23];GS 在不同植物组织或器官中都存在^[24]。在 ATP 供能的情况下,该酶催化 NH_4^+ 与谷氨酸转变成谷氨酰胺。本试验中,GS、GOGAT 的活性随着铜质量浓度的增加,呈先上升后降低的趋势,且处理时间越长活性越低,说明高质量浓度的铜抑制了烟草生长过程中铵态氮的同化还原,而且这种抑制作用对敏感品种双的抑制作用要大于耐性品种 89112。Mäck 等的研究表明,当大麦体内的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量升高时,GS 活性相应的升高^[25]。Tercé-Laforgue 等解释说 GS

活性的升高是植物对其体内 NH_4^+ 含量升高的一种适应机制,此时 GS 基因的表达和活性被诱导^[26,27]。综合本试验结果可以看出,NR 和 GS 有一定的协同作用。已有研究表明,小麦灌浆过程中这些酶的活性呈现有规律的变化,并具有一定的协同性,说明 NR 活性的增加可以诱导 GS 和 GOGAT 活性的增加^[28],这一结果也与镉(Cd)对植物氮同化^[29]的影响基本一致。

氨基酸是合成蛋白质的主要原料,也是蛋白质降解的主要产物。GPT 催化谷氨酸和丙酮酸可逆地转化为丙氨酸和 α -酮戊二酸之间的氨基转移反应,GPT 在氨基酸的合成和蛋白质的分解代谢中起重要的中介作用,GPT 活性增加,表明氨基酸代谢旺盛,蛋白质分解下降,而合成代谢加强。用游离氨基酸含量和 GPT 活性可部分反映氮转化的生理变化^[30]。本试验中的铜对烟草氮转化与有机氮合成的结果表明低质量浓度的铜处理明显提高了 GPT 的活性,减少了烟草中的游离氨基酸的含量,蛋白质的含量也随着 GPT 的活性变化发生协同变化。由此可见,铜胁迫能减少烟草中的游离氨基酸积累,并促使氮的转化向蛋白质合成的方向发展。

综上所述,当铜处理浓度低于 $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对烟草幼苗的氮代谢有一定的促进作用,从而可用于改善烟草的品质;但是高浓度的铜处理(大于 $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)对烟草幼苗的氮代谢有一定的负面影响,与徐照丽等^[31]研究表明铜对烤烟毒害的临界值在 $1.0\sim 1.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间相一致。

References:

- [1] Lin Y Z, Xu L. Physiological toxicity of copper pollution to higher plant. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2007, 15(1): 201—204.
- [2] McBride M B. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge are USEPA regulations protective. Journal of Environmental Quality, 1995, 24: 5—18.
- [3] Kichey, Thomas. Combined agronomic and physiological aspects of nitrogen management in wheat highlight a central role for glutamine synthetase. New Phytologist, 2006, 169(2): 265—278.
- [4] Petronia C, Gabriella M, Francesco N. Nitrate reductase in durum wheat seedlings as affected by nitrate nutrition and salinity. Functional Plant Biology, 2005, 32(3): 209—219.
- [5] Xu Z Z, Zhou G S. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation. Journal of Applied Ecology, 2004, 15(3): 511—516.
- [6] Chien H F, Lin C C, Wang J W. Changes in ammonium ion content and glutamine synthetase activity in rice leaves caused by excess cadmium are a consequence of oxidative damage. Plant Growth Regulation, 2002, 36(1): 41—47.
- [7] Zhang Z L, Zhai W Q. Experiment instruct of plant physiology. Beijing: Higher Education Press, 2004. 8—9.
- [8] Wang X C, Xiong S P, Ma Mi X, Zhang J J, Wang Z Q. Effects of different nitrogen forms on key enzyme activity involved in nitrogen metabolism and grain protein content in speciality wheat cultivars. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(4): 802—807.
- [9] Zou Q. Experiment instruct of Plant Physiology and Biochemistry. Beijing: Agriculture University Press, 1993. 10—26.
- [10] Wang J Y, Ao H, Zhang J, Qu G Q. Plant Physiology and biochemistry experiment technology and theory. Beijing: Agriculture University Press, 2003. 18—22.
- [11] Huang W N. Plant Physiology Experiment subject. Shanghai: Science Press, 1985. 222—223.
- [12] Lea P J, Mifflin B J. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plant. Nature, 1974, 251: 614—621.
- [13] Li C F, Ma F M, Zhao Y. Effects of nitrogen forms on key enzyme activities and related products in sugar and nitrogen metabolism of sugar beet (*Etavulgaris* L). Acta Agronomica Sinica, 2003, 29(1): 128—132.
- [14] Chang S M, Ma M X. Effects of arsenic on nitrogen metabolism of tobacco. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(1): 132—136.
- [15] Luo C L, Shen Z G. Take and accumulation of heavy metal in plant. Chinese Bulletin of Botany, 2003, 20(1): 59—60.
- [16] Sun J H, Wu M G, Song H Y. Involvement of glutamine synthetase in short-term regulation of nitrogenase activity by ammonia in *Rhodospseudomonas capsulate*. Acta Phytologia Sinica, 1985, 11: 171—179.
- [17] Lam H M, Coschigano K T, Oliveira I C. The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1996, 47: 569—593.
- [18] Verma D P S. Control of Gene Expression. Boca Raton: CRC Press, 1993. 425—479.
- [19] Shi H Z, Han J F. Several problems on carbon and nitrogen metabolism in flue-cured tobacco. Tobacco Science & Technology, 1998, (2): 34—36.
- [20] Wang X D, Yu Z W, Shi Y. Effects of Phosphorus on activities of enzymes related to nitrogen metabolism in flag leaves and protein contents in

- grains of wheat. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(3): 339—344.
- [21] Chen Y, Ren J C, Cai X M. Effects of cadmium on nitrate reductase and speroxide dismutase of submerged macrophytes. *Acta Sci Circum*, 1998, 18(3): 313—317.
- [22] Chaffei C, Pageau K, Suzuki A, Gouia G, Ghorbel M H, Masclaux Daubresse C. Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. *Plant Cell Physiology*, 2004, 15 (11): 1681—1693.
- [23] Gouia H, Suzuki A, Brulfert J, Ghorbal M H. Effect of cadmium on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in bean seedlings. *Plant Physiol*, 2003, 160(4): 367—375.
- [24] Li C J, Lin Q H, Zhang C F, *et al.* Effect of NaCl stress on activity and isozymes of glutamine synthetase in rice plants. *Wuhan University Journal (Natural Science Edition)*, 1999, 45(4): 497—500.
- [25] Mäck G. Organ specific changes in the activity and subunit composition of glutamine synthetase isoforms of barley (*Hordeum vulgare* L.) after growth on different level of NH_4^+ . *Planta*, 1995, 196: 231—238.
- [26] Martins-Loução M A, Lips S H. eds. Nitrogen in a sustainable ecosystem, Leiden: Backhuys Publishers, 2000. 335—338.
- [27] Foyer C H, Noctor G. eds. Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism, London: Kluwer, 2002. 71—92.
- [28] Wang Y F, Yu Z W, Li S X. Effect of nitriton on the change of key enzyme activity during the nitrogen metabolism and kernel protent in winter wheat. *Acta Agronomica Sinica*, 2002, 28 (6): 743—748.
- [29] Houida Gouia, Akira Suzuki, Jeanne Brulfert, Mohamed Habib Ghorbal. Effects of cadmium on the co-ordination of nitrogen and carbon metabolism in bean seedlings. *Plant Physiology*, 2003, (160): 367 376.
- [30] Chang S M, Ma X M, Zhang G L, *et al.* Effects of Arsenic toxicity on carbon and nitrogen metabolism and the yield and quality of flue-cured tobacco. *Journal of Plant Ecology*, 2006, 30(4): 682—688.
- [31] Xu Z, Zhang X H. Reducing copper toxicity to flue-cured tobacco by using interaction of copper and iron. *Tobacco Science*, 2006, (2): 37—40.

参考文献:

- [1] 林义章, 徐磊. 铜污染对高等植物的生理毒害作用研究. *中国生态农业学报*, 2007, 15(1): 201~204.
- [5] 许振柱, 周广胜. 植物氮代谢及其环境调节研究进展. *应用生态学报*, 2004, 15(3): 511~516.
- [7] 张志良, 瞿伟箴. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2004. 7: 8~9.
- [8] 王小纯, 熊淑萍, 马新明, 张娟娟, 王志强. 不同形态氮素对专用型小麦花后氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响. *生态学报*, 2005, 25(4): 802~807.
- [9] 邹琦. 植物生理生化实验指导. 北京: 农业大学出版社, 1993. 10~26.
- [10] 王晶英, 敖红, 张杰, 曲桂琴. 植物生理生化实验技术与原理. 北京: 农业大学出版社, 2003. 18~20.
- [11] 黄维南. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学出版社, 1985. 222~223.
- [14] 常思敏, 马新明. 砷对烤烟氮代谢的影响. *作物学报*, 2007, 33(1): 132~136.
- [15] 罗春玲, 沈政国. 植物中重金属的摄取与积累. *植物学通报*, 2003, 20(1): 59~66.
- [16] 孙金华, 吴梦淦, 宋鸿遇. 谷氨酰胺合成酶参与 *Rhodopseudomonas capsulata* 固氮活性的氨瞬间调节. *物生理与分子生物学学报*; 1985, 11: 171~179.
- [19] 史宏志, 韩锦峰. 烤烟碳氮代谢几个问题的探讨. *烟草科技*, 1998, (2): 34~36.
- [20] 王旭东, 余振文, 石玉, 等. 磷对小麦旗叶氮代谢有关酶活性和籽粒蛋白质含量的影响. *作物学报*, 2006, 32(3): 339~344.
- [21] 陈愚, 任久长, 蔡晓明. 镉对沉水植物硝酸还原酶和超氧化物歧化酶活性的影响. *环境科学学报*, 1998, 18(3): 313~317.
- [24] 李常健, 林清华, 张楚富, 等. NaCl 对水稻谷氨酰胺合成酶活性及同工酶的影响. *武汉大学学报(自然科学版)*, 1999, 45(4): 497~500.
- [28] 王月福, 余振文, 李尚霞, 等. 氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响. *作物学报*, 2002, 28(6): 743~738.
- [30] 常思敏, 马新明, 张贵龙, 等. 砷对烤烟碳氮代谢及其产量和品质的影响. *植物生态学报*, 2006, 30(4): 682~688.
- [31] 徐照丽, 张晓海. 利用铁、铜间相互作用减轻烤烟铜毒害的研究. *中国烟草科学*, 2006, (2): 37~40.