

담배에서 窒素 形態에 따른 吸收 樣相 및 生長과
窒素代謝 酵素의 活性 變化

李相珪* · 沈相仁* · 姜炳華* · 裴吉寬**

Changes of Nitrogen Uptake, Growth and Activities
of Nitrogen Metabolizing Enzymes by
Different Source of Nitrogen in Tobacco

Sang Gak Lee*, Sang In Shim*, Byeung Hoa Kang* and Kill Kwan Bae**

ABSTRACT: Tobacco plant was grown for 40 days hydroponically in nutrient solutions composed of different forms of nitrogen, like NO_3^- -N, NH_4^+ -N, and a mixed formulation of NO_3^- -N and NH_4^+ -N. Uptake response, nitrate reductase, and glutamine synthetase activity at growth stage were investigated to understand the basic knowledge of nitrogen metabolism. The better growth of shoot and root was observed in the mixed nutrient solution than NO_3^- -N or NH_4^+ -N, alone. The plant growth in NH_4^+ -N nutrient solution was poor due to ammonium toxicity. The pH of nutrient solution containing NO_3^- -N increased up to 40 days after transplanting. But the pH of solution containing NH_4^+ -N decreased drastically to 3.42 at 20 days after transplant. The pH in the mixed formulation dropped to pH 3.64 at 30 days after transplant and showed re-increase. It is assumed that nitrogen of NH_4^+ -N form was taken up preferentially at early stage and NO_3^- -N form was taken up preferentially at middle stage in the treatment with the mixed solution. The result indicates that the relative proportion of nitrogen forms affected the uptake patterns at each growth stages. The contents of chlorophyll and soluble protein were high with the mixed solution. Total nitrogen content was the highest in NH_4^+ -N solution and the content also increased by the application of the mixed type of nitrogen. The amount of nitrate in leaves was high in NO_3^- -N treatment and the amount of ammonium was high in NH_4^+ -N treatment. The activity of nitrate reductase or glutamine synthetase was highest in the leaves grown in mixed nutrient solution than in those with any other single of nitrogen form.

Key words: Nitrogen forms, Ammonium, Nitrate, Nitrate reductase, Glutamine synthetase, *Nicotiana tabacum* L.

* 고려대학교 자연자원대학 식량자원학과(Dept. of Agronomy, College of Natural Resources, Korea Univ., Seoul 136-701, Korea)

** 충북대학교 농과대학 연초학과 (Dept. of Tobacco, College of Agriculture, Chungbuk National Univ, Chongju 361-240, Korea) <'96. 12. 9 接受>

植物에 吸收될 수 있는 窒素形態는 窒酸態 窒素 (NO_3^- -N)와 암모니아態 窒素(NH_4^+ -N)로 植物의 種과 發達段階에 따라 吸收能力과 利用形態도 상당히 다르다^{2,5)}. 植物의 生長과 發達에 가장 중요한 役割을 담당하는 窒素는 根系에서 土壤으로부터 吸收하여 蛋白質, 核酸, 葉綠素 및 生長調節物質 등의 窒素化合物 合成에 이용된다^{2,13)}. 自然環境 下에서 암모니아態 窒素는 窒酸化 細菌에 의하여 쉽게 窒酸態로 酸化된다. 作物의 窒素 吸收는 體內 窒素 또는 炭水化合物 含量과 같은 內部 要因과 溫度, 酸素 水準, 根圈의 pH 같은 外部 要因에 따라 변화한다^{2,6,11,17,18)}.

窒酸態 窒素의 吸收는 낮은 pH 조건에서 吸收量이 크고 pH가 높아질수록 減少하며, 吸收된 窒酸鹽은 뿌리세포의 液胞에 貯藏(蓄積)되거나 잎으로 輸送되어 nitrate reductase와 nitrite reductase에 의해 암모늄으로 還元된다. 이 過程에 필요한 에너지는 炭水化合物과 有機酸의 酸化過程에서 생긴 에너지를 이용한다^{1,2,8,12,14)}. 암모니아態 窒素는 中性 pH 범위에서 受動的인 分散에 의하여 吸收되며 pH가 떨어지면서 吸收가 減少하지만, 뿌리로부터 직접 吸收되거나 窒酸鹽의 還元에 의해 生成된다. 體內에 들어온 암모니아는 일반적으로 過剩 狀態로 蓄積되지 않으나, 蓄積되면 비교적 낮은 濃度에서도 毒性을 보인다^{2,7,15,16)}. 암모니아 同化에 가장 중요한 酵素의 하나인 glutamine synthetase는 잎 組織의 葉綠體 및 細胞質에서 遊離 암모니아를 消費하여 암모니아의 解毒 및 代謝作用에 중요한 役割을 수행한다²⁾. 담배는 대부분의 作物과 마찬가지로 窒素源으로 窒酸態 窒素를 選好한다⁴⁾. 그러나 移植初期의 低溫과 土壤 pH의 變化 등 環境 要因의 차이는 각 生育段階別 窒素形態에 따른 吸收樣相도 달리 할 것으로 생각되므로, 다양한 圃場 環境 條件에 대처하기 위해서 窒素 形態別 吸收 類型을 밝히는 것도 安定的 收量 確保와 品質 向上을 위해 중요하다.

本 實驗은 窒素源의 形態를 窒酸態, 암모니아態 그리고 窒酸態와 암모니아態의 混合型으로 달리한 養液 條件 下에서 水耕栽培를 통하여 담배의 生育段階別 窒素의 種類에 따른 吸收反應의 差異와 이들이 nitrate reductase, glutamine syn-

thetase 酵素活性에 미치는 영향을 評價하여 窒素 施肥 類型에 따른 體內 窒素代謝의 基礎資料를 提供하고자 遂行하였다.

材料 및 方法

本 實驗은 高麗大學校 自然資源大學 附屬溫室에서 1996年 4월부터 7월까지 黃色種담배 NC82를 使用하여 水耕栽培로 실시하였다. 播種 後 6枚의 잎이 展開된 均一한 苗를 選拔하여 3ℓ의 營養液을 채운 포트에 移植하였다. 營養液은 移植初期에는 7日, 中·後期에는 3日 間隔으로 交替하였고 溶存 酸素 供給을 위해 air compressor로서 空氣를 45分마다 15分間 供給하였다.

處理는 窒素源의 形態에 따라 總窒素 濃度를 기준으로 10mM이 되도록 養液에 窒酸態 窒素와 암모니아態 窒素의 比率를 窒酸態 窒素 處理區(1:0), 암모니아態 窒素 處理區(0:1) 및 窒酸態 窒素 : 암모니아態 窒素 混合處理區(1:1)에 각기 다르게 처리하였다. 實驗에 이용된 養液은 Hoagland 溶液의 組成을 變形하여 다음과 같이 조제하였다. 窒酸態 窒素의 養液은 1mM KH_2PO_4 , 2mM K_2SO_4 , 5mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2mM MgSO_4 , 5mM KCl , 25 μM H_3BO_3 , 4 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.05 μM $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 15 μM Fe-EDTA 로 조제하였다. 암모니아態 窒素은 위 養液에 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 를 5mM CaCl_2 로 代置시켰고 그리고 窒素水準을 맞추기 위해 10mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 상당량을 가하여 일정하게 하였다. 窒酸態 窒素 : 암모니아態 窒素混合養液은 2.5mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 와 5mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 로서 窒素 濃度를 조정하였다.

生育調査는 10日 間隔으로 4回, 幹長, 地上部와 地下部の 生體重, 葉面積, 養液의 pH를 調査하였고, 酵素活性和 分析試料는 移植 後 40日 中位葉 12枚째를 標本으로하여 실시하였다. 葉綠素 含量은 담배 標準分析法¹⁰⁾, 全窒素 含量은 micro Kjeldahl法, 可溶性 蛋白質 含量은 Bradford법³⁾, 窒酸態 窒素와 암모니아態 窒素含量은 이온 分析機(Fisher, Model 750, US)를 사용하였다. Ni-

trate reductase 活性은 Klepper 등⁹⁾의 方法에 따라 *in vivo* 條件에서 NaNO_2 를 標準物質로서 測定하였다. Glutamine synthetase 活性은 McNally et al.¹⁰⁾의 方法에 따라 生成된 glutamyl hydroxamate을 定量하여 測定하였다.

結果 및 考察

窒素源의 形態別 담배生育에 따른 養液의 pH 變化는 그림 1과 같다. pH 變化는 窒素源으로서 窒酸態 窒素(NO_3^- -N) 處理區에서는 生育이 進展됨에 따라 높아졌고, 암모니아態 窒素(NH_4^+ -N) 處理區와 混合(NO_3^- -N + NH_4^+ -N) 處理區에서는 낮아졌다. 養液의 處理別 pH 變化는 NO_3^- -N 處理區에서 移植 初期부터 移植 後 40日까지는 일정하게 pH가 증가하였고, NH_4^+ -N 處理區에서는 移植 初期부터 減少하여 移植 後 20日에 pH 3.42 까지 떨어진 후 증가하였다. 또한 混合處理區에서도 移植 後 30日까지는 pH 5.48에서 pH 3.64까

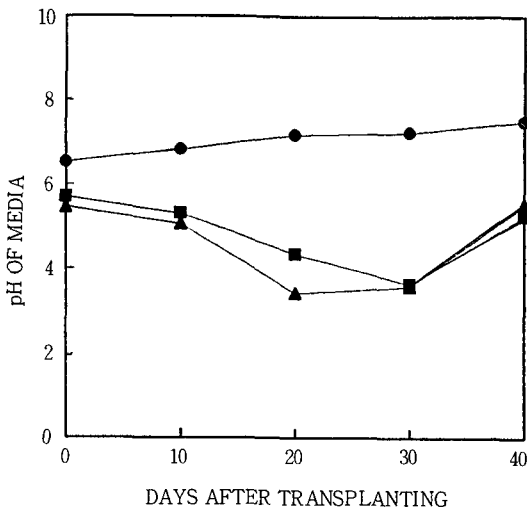


Fig. 1. Changes in pH of the nutrient solutions for tobacco cultivation with different nitrogen forms. The seedlings were transplanted into nutrient solution at 6-leaf stage. ●: NO_3^- -N form; ▲: NH_4^+ -N form; ■: Mixed (NO_3^- -N: NH_4^+ -N = 1:1) form.

지 떨어졌다가 증가하였다. 根圈의 pH 變化의 主原因은 NH_4^+ -N 處理區에서는 NH_4^+ -N를 吸收하는 過程에 뿌리에서 H^+ 이온을 放出함에 따라 外部 媒質의 pH가 낮아지고, 이와 반대로 NO_3^- -N 處理區에서는 양이온보다 음이온의 吸收量이 많아져 암모니아와는 逆의 現狀이 일어나 媒質이 더욱 알칼리화 되었기 때문에 사료된다. 窒素의 供給 形態는 媒質內 H^+ 의 濃度에 作用하여 pH에 직접적으로 影響을 주었다. 특히 NH_4^+ -N 處理區에서는 pH의 變化가 混合 處理區와 큰 차이가 없음에도 불구하고 큰 生育의 差異(表 1)가 있음을 볼 때 養液의 pH에 의해서 生育이 低下되었다기 보다는 體內로 吸收된 過量의 암모니아에 의한 毒性 때문인 것으로 보여진다.

NO_3^- -N 處理區에서는 生育 中期 이후 pH가 높아짐에 따라 窒素를 비롯한 養分 吸收의 障礙가 일어나 生育이 불량해진 것으로 사료된다(表 1). 混合 處理區의 경우, 生長은 生育 段階別 窒素 形態에 대한 選好度의 차이가 있어, 生長 初期인 移植 30日까지와 이후의 養液 pH 變化를 통해 알 수 있는 것처럼 窒素 吸收에 있어서 窒素의 形態別 吸收量이 차이가 있으며 이것은 窒素의 形態가 窒素의 절대 供給量보다 吸收量에 있어서 더욱 중요한 要因으로 作用하는 것으로 나타났다. NO_3^- -N의 吸收은 NH_4^+ -N의 吸收보다 低溫에 민감하게 反應²⁾하여 吸收가 不良하나, 吸收反應의 차이는 生育 初期 幼植物의 NO_3^- -N 吸收 및 同化를 위한 吸收 機構의 부족 또는 生長에 따른 뿌리의 炭水化合物 狀態의 變化^{2,12)}에 影響을 받는다고 알려져 있다.

窒素의 形態에 따른 幹長, 地上部 및 地下部の 生體重과 葉面積은 表 1과 같다. 窒素形態에 따른 幹長의 生長은 生育이 持續됨에 따라 NO_3^- -N 處理區와 混合處理區에서 같은 傾向을 보였으나 NH_4^+ -N 處理區의 경우 다른 處理區보다 不良하였다. 처리별 地上部和 地下部の 生體重의 변화도 幹長의 變化와 같은 樣相을 보여 移植 後 30日까지는 NO_3^- -N 處理區에서 가장 양호하였지만, 移植 後 30日부터 40日까지는 混合型 處理區가 전반적인 生育이 좋았다. 또한 NH_4^+ -N 處理區의 경우 불량한 뿌리발달이 地上部の 乾物生産에

Table 1. Stem height, fresh weight of shoot and root and leaf area of tobacco grown in solution cultures with different nitrogen forms

Nitrogen source	Stem height (cm)				Fresh weight(g /plant)								Leaf area (cm ² /plant)			
					Shoot				Root							
	10**	20	30	40	10	20	30	40	10	20	30	40	10	20	30	40
NO ₃ ⁻ -N	3.5 ^{a*}	8.3 ^a	23.7 ^a	64.3 ^a	11.4 ^a	56.7 ^a	321.8 ^a	544.3 ^a	6.6 ^a	54.5 ^a	78.6 ^a	90.2 ^a	297 ^a	1129 ^a	3288 ^a	5453 ^a
NH ₄ ⁺ -N	3.1 ^a	6.4 ^b	11.6 ^b	22.8 ^b	8.0 ^b	28.5 ^b	93.2 ^b	88.3 ^b	3.5 ^b	11.0 ^b	12.5 ^b	15.6 ^b	225 ^b	565 ^b	861 ^b	857 ^b
Mixed(1:1)	3.4 ^a	8.8 ^a	27.5 ^a	66.5 ^a	11.3 ^a	53.8 ^a	315.2 ^a	602.4 ^a	5.3 ^{ab}	42.1 ^a	70.1 ^a	86.6 ^a	303 ^a	1137 ^a	3292 ^a	5647 ^a

* The same letters in a column are not significantly different with Duncan's multiple range test (P=0.05).

** Days after transplanting

영향을 주어 地上部の生育不實을誘導한 것으로 보인다. 葉面積도 地上部 結果와 같은 경향으로 移植後 30日까지 NO₃⁻-N 處理區와 混合處理區間에 비교적 비슷한 葉發達이 이루어졌으나, 移植後 40日에는 混合處理區가 가장 큰 葉面積을 나타냈다. NH₄⁺-N 處理區는 小葉化, 厚葉化된 葉을 가지며 葉의 物性이 正常葉과는 달리 彈性이 減少되고 葉의 가장자리가 오그라드는 등 암모늄 毒性의 전형적인 反應을 나타냈다. 混合處理區에서의 生長特性은 外形上 特異現狀은 없지만 發蓄時期가 他處理區보다 3日 정도 빨랐으며, 뿌리가 짧고 굵어져 NO₃⁻-N 處理區와 對照되는 현상을 보였다. 즉 移植後 30日까지는 NH₄⁺-N 吸收가 선행됨에 따라 다소의 암모늄 被害가 일어나 뿌리발달이 불량해져 生育初期 뿌리발달이 NO₃⁻-N 處理區보다 低調하였으나 移植後 30日 이후 地上部 最大生長期에 들어서면서 NO₃⁻-N의 吸收增加로 回復되는 경향이었다. 결과적으로 담배에 있어서 窒素源 類型別 選好도는 生育段階에 따라 變化하는 것으로 추정되었다.

窒素의 形態에 따른 葉綠素, 全窒素 및 可溶性 蛋白質含量 변화는 表 2와 같다. 잎의 葉綠素含量은 窒素源 形態에 따라서 混合處理區가 3.32mg /

g으로 가장 높았고 NH₄⁺-N 處理區가 낮았는데 NH₄⁺-N 處理區는 암모니아 毒性에 의한 뿌리發達 抑制가 地上部の 生長 뿐만 아니라 葉綠素含量에 크게 영향을 미치는 것으로 사료된다. 全窒素含量은 NH₄⁺-N 處理區가 가장 높고 混合處理區, NO₃⁻-N 處理區 順으로서 특히 NH₄⁺-N를 施肥하였을 때는 窒素含量이 증가하였다. 可溶性 蛋白質은 混合處理區에서 6.05mg /g으로 가장 높았고 NO₃⁻-N 處理區, NH₄⁺-N 處理區 順이었으며, 이러한 可溶性 蛋白質 含量의 處理別 樣相은 酵素活性(그림 3)과 聯關 지워 생각해 볼 때 混合處理區에서 植物體內 光合成을 비롯한 전반적인 代謝作用이 활발한 것으로 추정된다.

窒素의 形態에 따른 移植後 40日에 中位葉의 nitrate와 암모늄 含量은 그림 2와 같다. 처리에 따른 中位葉에서 nitrate含量은 NO₃⁻-N 處理區에서 18ppm로 가장 높았다. NH₄⁺-N는 비교적 낮은 濃度에서도 毒性을 일으키기 때문에 吸收된 암모니아는 빠르게 有機化合物 合成에 이용되는데, 處理에 따른 中位葉내 암모늄含量은 NH₄⁺-N 處理區에서 32.9ppm으로 가장 높았다. 이 處理區에서 體內 암모늄 含量의 增加에 따른 毒性의 誘發은 生理代謝의 諸機能에 영향을 미치는 전반적

Table 2. Chlorophyll, total nitrogen, and soluble protein content of tobacco leaves grown in solution cultures with different nitrogen forms

Nitrogen source	Soluble protein(mg / g FW)	Total nitrogen(%)	Chlorophyll(mg / g FW)
NO ₃ ⁻ -N	5.34ab*	2.09c	2.66b
NH ₄ ⁺ -N	4.87b	3.92a	2.32b
Mixed(1:1)	6.05a	2.99b	3.32a

* The same letters in a column are not significantly different with Duncan's multiple range test(P=0.05).

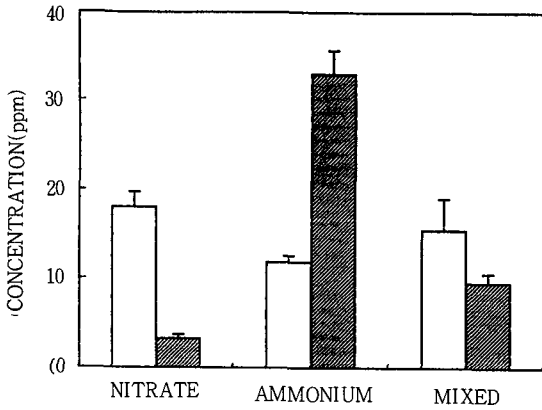


Fig. 2. Effects of nitrogen forms on the contents of nitrate and ammonium in the leaves of tobacco plants grown with solution cultures. The both content of nitrate and ammonium were determined at 40 days after transplanting. For formulation and additive as nitrogen forms of medium, see the materials and methods. □: nitrate; ▨: ammonium.

인 生長低下를 일으킨 것으로 보인다. 그러나 混合處理區에서 nitrate含量은 NO_3^- -N 단독 處理區와 비슷하였고 암모늄含量은 NO_3^- -N 단독 處理區보다 높았다.

窒素의 形態에 따른 移植後 40日의 中位葉의 nitrate reductase, glutamine synthetase 活性은 그림 3과 같다. 窒素形態에 따른 處理에서 nitrate reductase 活性은 混合處理區에서 $0.95 \mu\text{mol NO}_2/\text{g}$ 로 높았고 NH_4^+ -N 處理區에서 낮았는데 NH_4^+ -N 處理區의 경우 體內의 높은 암모늄의 含量이 이 酵素의 낮은 活性을 誘導한 것으로 사료된다. 그림 2의 nitrate 含量은 NO_3^- -N 處理區에서 높았으나 nitrate reductase 活性은 낮았는데 이는 nitrate의 含量이 混合處理區보다는 높았으나 可溶性 蛋白質 含量에서 볼 수 있는 것처럼 混合處理區가 生長이 좋아 諸般 生化學的 代謝 作用이 원활하여 아미노산 合成이 活潑하여 이 酵素의 活性 增加가 요구되어 酵素의 活性이 높아진 것으로 추정된다. Glutamine synthetase의 活性은 NH_4^+ -N 處理區에서 葉內 암모

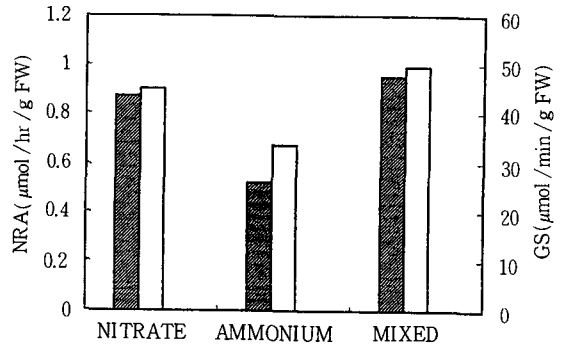


Fig. 3. Effects of different nitrogen forms on the activities of two major enzymes, nitrate reductase and glutamine synthetase, in the nitrogen metabolism in tobacco leaves. Activities of the enzymes were assayed at 40 days after transplanting. □: nitrate reductase; ▨: glutamine synthetase.

늄 含量이 제일 높았음에도 불구하고 混合處理區에서 높았는데, 이러한 결과는 nitrate reductase의 경우와 같이 混合處理區 植物體의 葉內 제한 代謝 活性이 높아 이러한 결과를 보인 것으로 사료된다. 즉 生長에 있어서 類似한 結果를 보인 NO_3^- -N 處理區에서도 混合處理區와 큰 차이는 없음을 통해서도 이것을 확인할 수 있다. 그림 2에서의 NH_4^+ -N 處理區는 體內 암모늄含量은 증가시키나 吸收된 암모늄의 이용에 있어서는 암모니아 毒性으로 인하여 吸收된 암모늄의 利用性이 커지지 않는 것으로 사료된다. Hoff et al.⁸⁾은 glutamine synthetase에 의해 生成된 glutamate가 nitrate reductase 活性의 調節役割을 수행한다고 하였으나 이러한 현상은 體內 다른 機能이 정상적일 때 일어나는 것으로 보인다.

窒素 代謝는 供給하는 窒素源의 形態에 따라 吸收되는 각 形態의 窒素量이 변하지만 吸收된 窒素의 形態에 따라 체내 生理的 機能이 영향을 받으므로, 窒素 施肥時 窒素源의 形態는 암모늄과 nitrate 두가지 形態로 供給할 경우 암모늄 毒性이 일어나지 않는 水準에서 組合시켜 供給하는 것이 합리적인 것으로 보인다. 즉 窒素源의 形態別 處理에 따른 結果에서 混合處理區에서 地上·

地下部の生育狀況과 生理的인 代謝에 關여하는 葉綠素, 窒素 및 蛋白質含量이 높은 것은 體內 生化學的 機能이 阻害되지 않는 수준에서 암모늄이 供給되었기 때문에 사료된다.

摘 要

窒素의 形態를 窒酸態(NO_3^- -N), 암모니아態(NH_4^+ -N) 그리고 窒酸態와 암모니아態(NO_3^- -N + NH_4^+ -N)를 混合한 養液 條件 下에서 水耕栽培하여 담배의 生長段階別 窒素利用에 따른 吸收樣相과 生長 및 nitrate reductase, glutamine synthetase 酵素活性을 評價하여 窒素 施肥 類型에 따른 體內 窒素代謝의 基礎資料를 提供하고자 遂行한 結果는 다음과 같다. 窒素의 形態別 生長은 NO_3^- -N, NH_4^+ -N 單獨 處理區보다 混合處理區에서 地上 및 地下部の 生育이 좋았고, NH_4^+ -N 處理區에서는 암모늄 毒性에 의해 生育이 극히 불량하였다. 生長段階別 養液의 pH 變化는 NO_3^- -N 處理區에서 移植 初期부터 移植 後 40日까지 증가하였고, NH_4^+ -N 處理區에서는 移植 後 20日에 pH 3.42, 混合處理區에서는 移植 後 30日에 pH 3.64까지 떨어졌다가 증가하였다. 混合處理區의 窒素吸收反應은 生育初期에서는 NH_4^+ -N의 吸收를 優先하고 生育中期부터 NO_3^- -N 吸收가 증가하여 吸收 樣相을 달리하였다. 生育時期에 따라 吸收形態도 NO_3^- -N와 NH_4^+ -N 사이의 相對的인 比率에 의해 크게 영향을 미쳤다. 葉綠素와 可溶性 蛋白質은 混合處理區에서 全窒素는 NH_4^+ -N 處理區에서 높았고, 특히 NH_4^+ -N 窒素를 施肥하였을 때는 窒素含量이 증가하였다. 窒酸含量은 NO_3^- -N 處理區에서 암모니아含量은 NH_4^+ -N 處理區에서 높았고, 酵素 活性은 混合處理區에서 nitrate reductase와 glutamine synthetase 活性이 높았다.

LITERATURE CITED

1. Alvarez D. Saco M and Martin S. 1995.

- Activity of nitrate reductase and the content of proteins in *Nicotiana rustica* grown with various levels of molybdenum. J. Plant Nutr. 18(6):1149-1157.
2. Below F.E. 1995. Nitrogen metabolism and crop productivity. In Pessarakli, M (eds). Handbook of plant and crop physiology. pp. 275-301. Marcel Dekker. New york.
3. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. biochem. 72:248-254.
4. Collins W.K and Hawks Jr. S.N. 1993. Principles of flue-cured tobacco production. N. C. State Univ. pp. 23-139.
5. Errebhi M and Wilcox G.E. 1990. Plant species response to ammonium-nitrate concentration ratios. J. Plant Nutr. 13: 1017-1029.
6. Findenegg G.R. 1987. A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. Plant and Soil. 103:239-243.
7. Hirel B and Gadal P. 1980. Glutamine synthetase ; A comparative study of the enzymes from roots and leaves. Plant Physiol. 66:619-623.
8. Hoff T, Stummann M and Henningsen K. W. 1992. Structure, function and regulation of nitrate reductase in higher plants. Physiol. Plant 84:616-624.
9. Klepper L.A, Flesher D.E and Hageman R.H. 1971. Generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide for nitrate reduction in green leaves. Plant Physiol. 48:580-590.
10. Korea Ginseng & Research Institute. 1991. Analytical methods of tobacco & tobacco smoke. pp. 165-167.

11. Leidi E.O, Silberbush M and Lips S.H. 1991. Wheat growth as affected by nitrogen type, pH and salinity. I. Biomass production and mineral composition. *J. Plant Nutr.* 14(3):235-246.
12. Li X.Z and Oaks A. 1993. Induction and turnover of nitrate reductase in *Zea mays*. *Plant Physiol.* 102:1251-1257.
13. Lips S.H, Silberbush E.O, Soares M.I.M and Lewis O.E.M. 1990. Physiological aspects of ammonium and nitrate fertilization. *J. Plant Nutr.* 13:1271-1289.
14. Magalhaes J.R. and D.M Huber. 1991. Response of ammonium assimilation enzymes to nitrogen form treatments in different plant species. *J. Plant Nutr.* 14:175-185.
15. Magalhaes J.R, Huber D.M and Tsai C.Y. 1995. Influence of the form of nitrogen on ammonium, amino acids and N-assimilating enzyme activity in maize genotypes. *J. Plant Nutr.* 18(4):747-763.
16. McNally S.F, Hirel B, Gadal P, Mann A. F and Stewart G.H. 1983. Glutamine synthetase of high plants. *Plant Physiol.* 72:22-25.
17. Troelstra S.R, Wagenaar R and Smant W. 1995. Nitrogen utilization by plant species from acid heathland soils. I. Comparison between nitrate and ammonium nutrition at constant low pH. *J. Exp. Bot.* 46(290):1103-1112.
18. Warucke D.D and Barber S.A. 1973. Ammonium and nitrate uptake by corn as influenced by nitrogen concentration and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio. *Agron. J.* 69:950-953.