

PEG 模拟干旱胁迫对黑大豆硝态氮吸收和根尖质膜 ATP 酶活性的影响

庞晓璐, 刘 昂, 陈东杰, 陈丽梅

(昆明理工大学 生物工程技术研究中心, 云南 昆明 650500)

摘要:以铝耐受型丹波黑大豆(RB)和铝敏感型黑大豆(SB)为试验材料,在水培条件下分析RB和SB的生理生化特性对聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱胁迫的应答。结果表明:在2%、5%、10% PEG(PEG-6000)胁迫处理5 h和2 d后,SB叶片蒸腾速率和气孔传导率下降的幅度均大于RB;在胁迫较短(5 h)时期内,RB和SB硝态氮吸收量均随着PEG胁迫浓度的增加而升高,SB对硝态氮的吸收量显著高于相同处理条件下RB的吸收量;在5% PEG胁迫1、2、3和4 d后,RB和SB的硝态氮吸收量与未胁迫对照相比仍然大幅度增加,但在相同胁迫条件下,RB的硝态氮吸收量显著地超过SB的吸收量;RB和SB根尖质膜 H^+ -ATPase活性和氢泵活性均随着PEG胁迫时间的增加呈现显著降低的趋势,但在相同胁迫处理条件下RB根尖质膜 H^+ -ATPase活性和氢泵活性显著高于SB。说明SB的耐旱性比RB强,PEG模拟干旱胁迫显著增强RB和SB对硝态氮的吸收但降低根尖质膜 H^+ -ATPase活性和氢泵活性。

关键词:PEG模拟干旱胁迫;黑大豆;耐旱性;质膜 H^+ -ATPase活性;硝态氮吸收

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2014.05.0674

Effect of PEG Simulated Drought Stress on Nitrate Uptake and Root Tip Plasma Membrane H^+ -ATP Activity in Black Soybean

PANG Xiao-lu, LIU Ang, CHEN Dong-jie, CHEN Li-mei

(Biotechnology Research Center, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: In this study, aluminum (Al) tolerant Tamba black soybean (RB) and Al-sensitive black soybean (SB) were used as experimental materials to analyze the physiological and biochemical characteristics of RB and SB in response to polyethylene glycol (PEG-6000) simulated drought stress under hydroponic conditions. The results showed that, under 2%, 5%, 10% PEG stress for 5 h and 2 d, the decreases in SB leaf transpiration rate and stomatal conductance were greater than those in RB. Stress in short period (5 h), RB and SB nitrate uptake were increased with the increasing PEG concentration, SB uptake of nitrate uptake was significantly higher than that under the same treatment condition RB. Under 5% PEG stress increased to 1, 2, 3 and 4 d, the nitrate uptake of RB and SB were still significant increase compared with control, but under the same stress conditions, RB nitrate absorption significantly exceeded the amount of absorption of the SB. The apical plasma membrane H^+ -ATPase activity and hydrogen pump activity of RB and SB with increasing PEG stress time showed a significant decreasing trend, but under the same conditions of stress treatments, the apical plasma membrane H^+ -ATPase activity and hydrogen pump activity of RB were significantly higher than SB. Those results suggested that SB drought-tolerance was stronger than RB, PEG simulated drought stress significantly enhanced the absorption of nitrate in RB and SB, but reduced the apical plasma membrane H^+ -ATPase activity and hydrogen pump activity.

Key words: PEG simulated drought stress; Black beans; Drought tolerance; Plasma membrane H^+ -ATPase activity; Nitrate uptake

干旱是世界上最为严重的灾害之一。据统计全世界由于水分胁迫导致的作物减产,可超过其他因素造成减产的总和^[1]。在我国占国土总面积52.5%的干旱和半干旱地区^[2],年降雨量仅在250~500 mm以下,且多集中在7~9月,土壤水分严重亏缺。干旱胁迫严重影响植物的形态结构和生理功能,影响植物的生长、发育和繁殖等生命活动,是被研究最多的逆境因子之一。植物用水效率、光合系统、渗透调节能力等指标的变化^[3],常被用来判断植物抵御干旱胁迫的能力。

质膜 H^+ -ATPase是细胞膜上最丰富的蛋白质,参与植物对各种生物和非生物胁迫如细真菌和病原胁迫、盐胁迫、水分胁迫、冷害胁迫、缺铁胁迫、低磷胁迫和铝胁迫的应答^[4]。此外,质膜 H^+ -ATPase也是调控气孔开度的关键酶^[5]。因此在干旱胁迫下质膜 H^+ -ATPase活性变化是植物适应干旱胁迫的重要机制之一,因植物种类、品种、组织器官或生育时期而异,但总的来看是随着干旱胁迫程度的增加和时间的延长呈现活性下降的趋势,以减少气孔传导率和蒸腾速率,进而减少水分的损失^[6-8]。

收稿日期:2014-01-06

基金项目:国家自然科学基金(31260063)。

第一作者简介:庞晓璐(1987-),男,硕士,主要从事植物代谢途径基因工程研究。E-mail:19475147@qq.com。

通讯作者:陈丽梅(1961-),女,教授,主要从事植物代谢途径基因工程研究。E-mail:chenlimeikm@126.com。

氮是植物需求量最大的矿质元素,氮素缺乏一方面可导致植物生长缓慢,产量下降;另一方面可使粮食作物籽粒蛋白质含量下降,降低品质。硝态氮(NO_3^-)和铵态氮($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$)是植物吸收的主要氮源。在植物细胞和组织中,质膜 H^+ -ATPase 产生的电化学梯度可为多种营养物质的吸收提供驱动力和能量^[4]。对植物吸收转运硝态氮机制的研究表明 NO_3^- 的吸收需要质膜 H^+ -ATPase 水解 ATP 产生的能量和释放的 H^+ ^[9],因此无论是高亲和性还是低亲和性 NO_3^- 转运蛋白对 NO_3^- 的转运都需要供能的主动运输过程。

刘玉库等^[10]的研究表明干旱胁迫影响植物对硝态氮吸收。郭传龙等^[11]研究表明在正常条件下,铝耐受型丹波黑大豆(RB)根尖的质膜 H^+ -ATPase 活性大于铝敏感型黑大豆(SB),两种黑大豆质膜 H^+ -ATPase 对铝胁迫有不同的应答模式:在铝胁迫条件下,RB 质膜 H^+ -ATPase 活性增强而 SB 质膜 H^+ -ATPase 活性下降。本研究以铝耐受型日本丹波黑大豆和铝敏感型云南本地黑豆为试验材料,在水培条件下分析其生理生化特性对聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱胁迫的应答,考查 PEG 模拟干旱胁迫对其硝态氮吸收和质膜 H^+ -ATPase 活性的影响,从大豆根质膜 H^+ -ATPase 活性为切入点,研究硝态氮的吸收情况进而增加对黑大豆应答干旱胁迫的认识。

1 材料与方法

1.1 黑大豆的培养

将日本丹波黑大豆(RB)和云南本地黑豆(SB)种子放在含有滤纸的培养皿中,培养皿中加入 20 mL 无菌水,在 25℃ 恒温培养箱中进行暗处理催芽。种子露白发芽后挑选露白一致的种子放置于有网眼的泡沫板上,置于含有 5 L 自来水的塑料盆中,于温室(昼/夜温度为 30℃/25℃,光照时间为 12 h·d⁻¹,光照强度为 1 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)中培养,塑料盆中的水 2 d 更换 1 次,培养 14 d 后进行干旱胁迫处理。

1.2 植株失水率、气孔传导率及蒸腾速率的测定

水培 14 d 后的 RB 和 SB 植株称鲜重后分别用含有 2%、5% 和 10% (W/V) 聚乙二醇(PEG-6000)的 Hongland 营养液处理 5 h 和 2 d,以无 PEG 的 Hongland 营养液^[12]处理的植株为对照,处理后分别测定植株鲜重、气孔传导率及蒸腾速率。植株失水率根据处理前和处理后植株鲜重的变化计算,植株失水率(%) = (处理前植株鲜重-处理后植株鲜重)/处理前植株鲜重 × 100。气孔传导率和蒸腾速

率用 Yaxin-1301 植物气孔计(北京雅欣理仪科技有限公司)测定。

1.3 NO_3^- 吸收量的测定

根据中国环境保护行业标准(HJ/T 346—2007)中的紫外分光光度法略作修改测定硝态氮的浓度。取处理前和处理 5 h 及 2 d 后的处理液 5 mL,加入 1~2 滴氢氧化铝悬浮液,静置絮凝,离心后上清液用于硝态氮浓度测定。测定时光程长为 10 mm 的石英比色皿,以新鲜去离子水为参比,分别在 220 和 275 nm 波长处检测,硝态氮吸光度的校正值为 $A_{220}-2A_{275}$,从标准曲线 $Y = 4.744 2 (A_{220}-2A_{275}) + 0.101 9$ 查得硝态氮浓度。用处理溶液起始的浓度减去处理不同时间后处理液中剩余硝态氮的浓度,即为 RB 和 SB 植株对处理液中硝态氮的吸收量。用 5% 浓度的 PEG 对 RB 和 SB 进行干旱胁迫处理 1,2,3 和 4 d,测定硝态氮吸收量。

1.4 质膜 H^+ -ATPase 活性、氢泵活性测定

培养 14 d 后的 RB 和 SB 植株用 5% PEG 处理 5 h 和 2 d,以无 PEG 的 Hongland 营养液处理的植株为对照,处理后收集 RB 和 SB 根尖(~2 cm),液氮快速研磨后参考 Shen 等^[13]的方法提取质膜蛋白。使用 Bradford 比色法测定质膜蛋白的浓度,然后参照 Guo 等^[11]的方法检测质膜蛋白的纯度并测定质膜 H^+ -ATPase 的活性。质膜 H^+ -泵活性的测定参照 Yan 等^[14]的方法。

1.5 数据分析

所有生理生化指标分析均进行 3 次重复。使用 Excel 2003 计算平均值及误差分析,用 DPS v14.10 (高级版)数据处理系统对所得数据进行显著性差异分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 短时干旱胁迫处理对生理特性及硝态氮吸收的影响

由图 1 可知,2%、5% 和 10% PEG 处理 5 h 后,RB 和 SB 叶片的蒸腾速率(图 1A)和气孔传导率(图 1B)均随着 PEG 胁迫的浓度增大呈现明显的下降趋势,在相同情况处理下,RB 的叶片蒸腾速率和气孔传导率均显著高于 SB($P < 0.05$),分别是 SB 的 2.12,1.55,1.41 倍和 2.175,1.84,1.43 倍。RB 和 SB 植株的失水率(图 1C)也随着 PEG 胁迫浓度的增加呈现显著上升的趋势,在相同情况的处理下,RB 的失水率均显著高于 SB($P < 0.05$)。说明 RB 的耐旱性比 SB 差。此外,在没有 PEG 胁迫时 SB 硝态氮吸收量显著大于 RB,随着 PEG 处理浓度的增加,RB 和 SB 的硝态氮吸收量均呈明显上升的

趋势,且在相同处理条件下,SB 的硝态氮吸收量显著高于RB(图 1D),说明短时间的 PEG 胁迫显著增

强这两种黑大豆对硝态氮的吸收能力,但在这个时期内 SB 的硝态氮能力显著大于 RB。

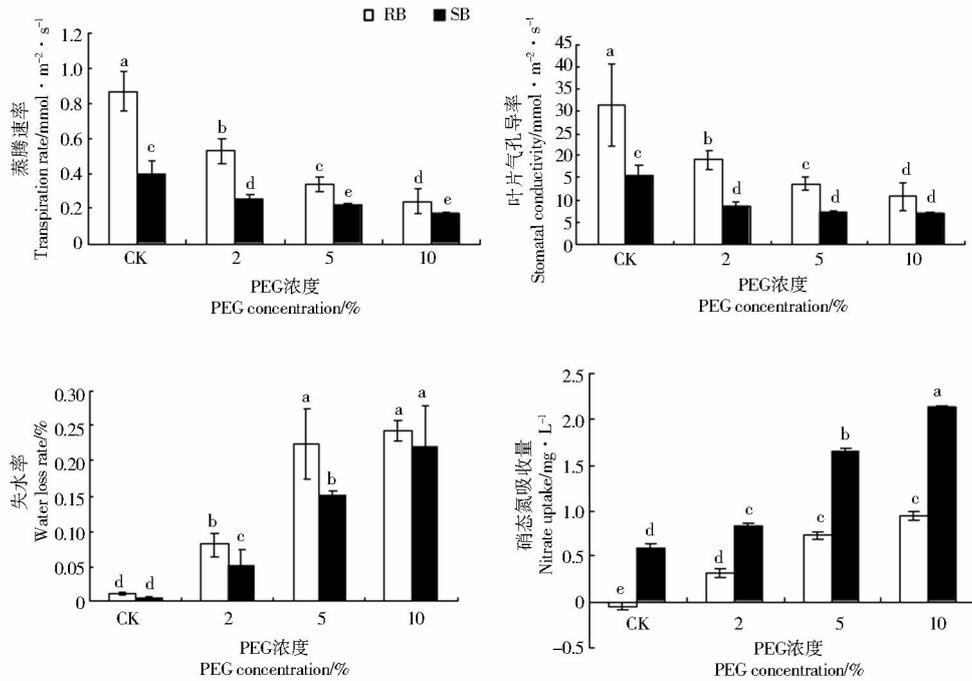


图1 PEG 处理 5 h 对 RB 和 SB 干旱相关生理特性及硝态氮吸收的影响

Fig.1 Effects of PEG treatment for 5 h on drought-stress related physiological characteristics and nitrate uptake by RB and SB

2.2 长时间干旱胁迫处理对生理特性和硝态氮吸收的影响

2.2.1 生理特性 由图 2 可知,RB 和 SB 叶片的蒸腾速率和气孔传导率均随着 PEG 胁迫浓度的增

加呈现明显的下降趋势,且在相同情况处理下,RB 的叶片蒸腾速率和气孔传导率均显著高于 SB($P < 0.05$),2%、5%和 10% PEG-6000 处理 2 d 后 RB 叶片蒸腾速率和叶片气孔传导率分别是 SB 的 1.77,

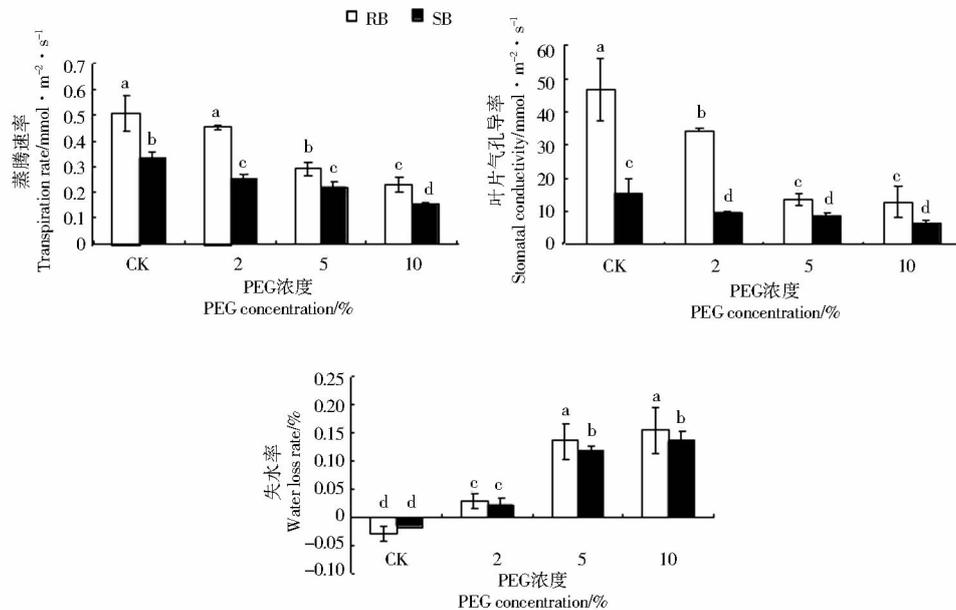


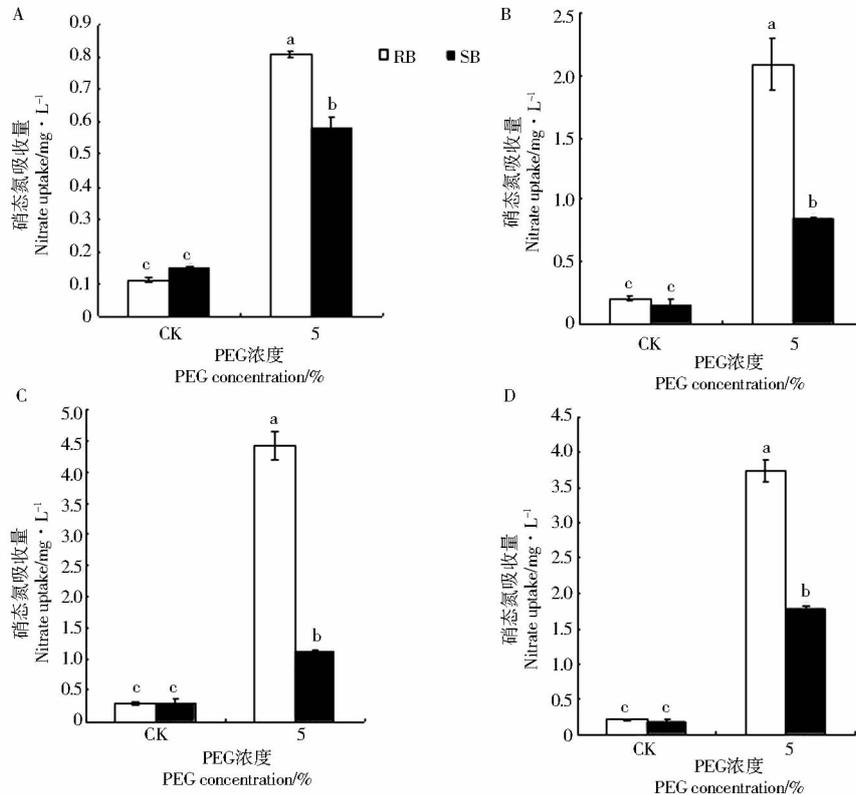
图2 PEG 处理 2 d 对 RB 和 SB 干旱相关生理特性的影响

Fig.2 Effects of 2%,5% and 10% PEG treatment for 2 d on drought-stress related physiological characteristics and nitrate uptake by RB and SB

1.33, 1.53 倍和 3.5, 1.54, 1.98 倍。RB 和 SB 的失水率随着 PEG 浓度的增加呈现更明显的上升趋势, 在相同处理的情况下, RB 的失水率显著高于 SB, 进一步证实 RB 耐旱能力不如 SB。

2.2.2 硝态氮吸收 根据以上短时间和长时间 PEG 干旱胁迫处理的试验结果, 用 5% 浓度的 PEG 对 RB 和 SB 进行干旱胁迫处理 1, 2, 3 和 4 d (图

3), 结果说明与没有 PEG 胁迫的对照相比, RB 和 SB 的硝态氮吸收量均随着 PEG 处理时间的延长而明显增加, 但与短时间 PEG 胁迫的结果相反, RB 的硝态氮吸收量反超 SB, 分别为 SB 的 1.39, 2.464, 3.95 和 2.1 倍。说明长时间的 PEG 干旱胁迫可显著促进 RB 和 SB 对硝态氮的吸收, 且对 RB 的促进效果强于 SB。



A: 处理 1 d; B: 处理 2 d; C: 处理 3 d; D: 处理 4 d。

A: Treated for 1 d; B: Treated for 2 d; C: Treated for 3 d; D: Treated for 4 d.

图 3 5% PEG 胁迫处理对 RB 和 SB 硝态氮吸收的影响

Fig. 3 Effects of 5% PEG treatment on nitrate uptake by RB and SB

2.3 PEG 模拟干旱胁迫对根尖质膜 H^+ -ATPase 活性与 H^+ 泵活性的影响

从图 4 可以看出, 5% PEG 胁迫显著降低 RB 和 SB 根尖质膜的 H^+ 泵活性和 H^+ -ATPase 活性, 随着胁迫时间的增加, 质膜的 H^+ 泵活性和 H^+ -ATPase 活性下降的幅度越大, 在相同处理条件下, RB 根尖质膜的 H^+ 泵活性和 H^+ -ATPase 活性均显著高于 SB。说明 PEG 模拟干旱胁迫显著抑制 RB 和 SB 根尖质膜的 H^+ 泵活性和 H^+ -ATPase 活性, 且对 SB 的抑制作用比 RB 更严重。

3 讨论

RB 和 SB 是两种对铝毒具有不同耐受性的黑大豆栽培种, 武孔焕等^[15]研究表明 RB 的铝耐受性比 SB 强。本研究认为其对于干旱胁迫的应答模式与对铝胁迫的应答模式完全相反: SB 抗旱能力比 RB

强。对植物耐受干旱胁迫机理的研究表明, 在干旱胁迫条件下, 通过降低质膜 H^+ -ATPase 活性及 H^+ 泵活性来减少气孔开度和蒸腾速率, 进而减少水分的丧失是植物的一种耐旱机制^[16], Guo 等^[11]的研究表明在无铝胁迫和有铝胁迫条件下, RB 根质膜 H^+ -ATPase 活性及 H^+ 泵活性都比 SB 强, 这使 RB 分泌柠檬酸的能力比 SB 强, 本实验室最近的研究证实 RB 叶中质膜 H^+ -ATPase 活性及 H^+ 泵活性也比 SB 强(数据未显示), 因此推测 RB 和 SB 对 PEG 模拟干旱胁迫的耐受性不同与它们叶片中质膜 H^+ -ATPase 活性及 H^+ 泵活性的不同有关, RB 由于叶片中质膜 H^+ -ATPase 活性及 H^+ 泵活性也高于 SB, 因此在干旱胁迫下其气孔导度和蒸腾速率也比 SB 高, 这使其失水率比 SB 大, 因而耐旱能力不如 SB 强。

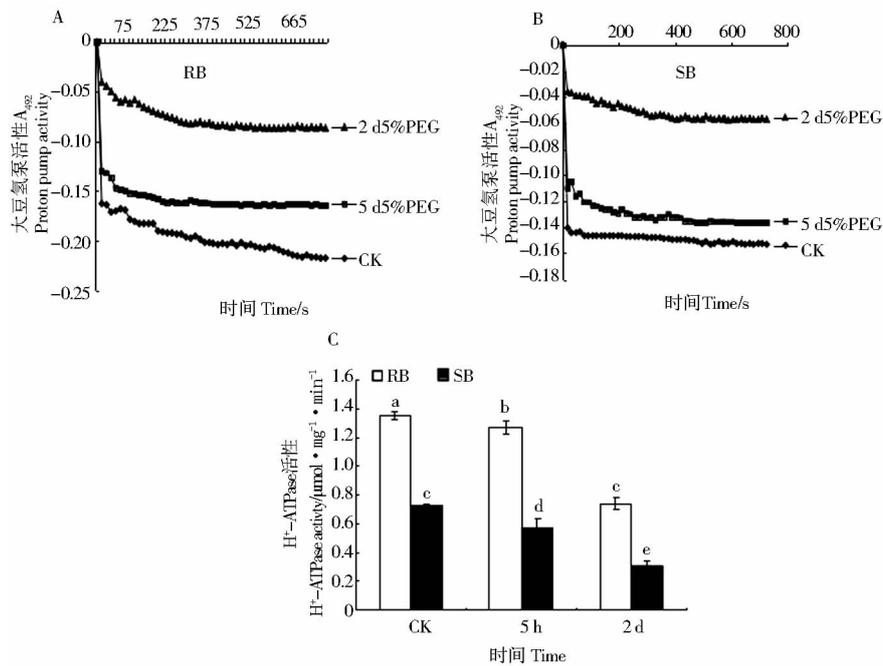


图4 5% PEG 胁迫处理 2 d 对根尖的质膜 H⁺-ATPase 活性与 H⁺ 泵活性的影响

Fig. 4 Effects of 5% PEG treatment on PM H⁺-ATPase activity and H⁺ pump activity in root tips

关于干旱胁迫对植物吸收硝态氮的影响方面的研究报道了两种完全相反的结果, Brewitz 等^[17]和 Larsson 等^[18]的研究表明降低空气湿度引起的干旱胁迫和 PEG 模拟的干旱胁迫都抑制番茄 (Brewitz) 和大麦 (Larsson) 对硝态氮的吸收。然而, 孙园园^[19]、Talouizite 等^[20]、Smirnoff 等^[21]及 Sacala 等^[22]的研究表明 PEG 模拟干旱胁迫刺激水稻、小麦及黄瓜对硝态氮的吸收。本研究的结果也证实 PEG 干旱胁迫显著增强两种黑大豆对硝态氮的吸收作用。沈其荣等^[23]的研究说明当外部环境中硝酸盐浓度很高时, 硝态氮吸收进入植物细胞后可以储存到液泡中。因此, 猜测 PEG 干旱胁迫下 RB 和 SB 吸收的硝态氮可能也会输入液泡中储存, 从而可以增加根部细胞的渗透压, 促进水分的吸收。

很多研究发现 PEG 干旱胁迫增加 ABA 含量的同时降低植物叶片质膜 H⁺-ATPase 活性及 H⁺ 泵活性^[24], 从而降低叶片的气孔传导率和蒸腾速率。本研究结果表明 PEG 干旱胁迫均显著降低 RB 和 SB 黑大豆根尖中质膜 H⁺-ATPase 的活性及 H⁺ 泵活性。铝胁迫增强 RB 根尖中质膜 H⁺-ATPase 活性及 H⁺ 泵活性, 但在 SB 根尖中引起相反的变化^[15], 说明 RB 和 SB 质膜 H⁺-ATPase 应答 PEG 干旱胁迫的模式与铝胁迫的不同。植物对硝态氮的吸收需要质膜 H⁺-ATPase 提供能量及其泵氢作用, 在 PEG 干旱胁迫下 RB 和 SB 质膜 H⁺-ATPase 活性及 H⁺ 泵活性大幅度下降, 而对硝态氮的吸收反而显著增加。此外, SB 的质膜 H⁺-ATPase 活性及 H⁺ 泵活性

均比 RB 小, 但在没有 PEG 胁迫和 PEG 胁迫短时期内 SB 对硝态氮的吸收能力都比 RB 强。植物对硝态氮的吸收不仅需要质膜 H⁺-ATPase 提供能量及其泵氢作用, 同时还需要硝态氮转运蛋白的参与才能完成^[25], 硝态氮转运蛋白的表达受很多因素包括细胞内硝态氮浓度、氮转运氨基酸如 Asp 和 Glu 含量、激素如 IAA 和 ABA 含量的调节^[26], 最近的研究发现 PEG 和盐胁迫都影响拟南芥中某些硝态氮转运蛋白的表达^[27]。因此推测在没有 PEG 胁迫和 PEG 短时期胁迫内 SB 根中硝态氮转运系统的活性可能比 RB 强, 这使 SB 具有比 RB 强的硝态氮吸收能力, PEG 胁迫可能都显著增强了 RB 和 SB 根中硝态氮转运系统的活性, 从而增加它们对硝态氮的吸收, PEG 胁迫时间增加后对 RB 根中硝态氮转运系统活性的上调作用可能比 SB 强, 因此使 RB 对硝态氮的吸收能力反超 SB, 在 PEG 胁迫长时间后 RB 对硝态氮的吸收量显著高于 SB。

参考文献

- [1] 陈培元. 作物对干旱胁迫的反应和适应 [C]//吴相钰. 植物生理补充教材—纪念 56 年教学讨论会 40 周年. 中国植物生理学会, 1996; 46-422. (Chen P Y. Crop to drought stress response and adaptation [C]//Plant physiology and supplementary materials—to commemorate 56 years of teaching seminars 40th anniversary. Plant Physiology Journal, 1996; 46-422.)
- [2] 余叔文, 汤章程. 植物生理与分子生物学 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998. (Yu S W, Tang Z C. Plant physiology and molecular biology [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1998.)
- [3] 鲁松. 干旱胁迫对植物生长及其生理的影响 [J]. 江苏林业科

- 技,2012,39(4):51-54. (Lu S. Effects of drought stress on plant growth and physiological traits[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology,2012,39(4):51-54.)
- [4] 刘尼歌,王占义,莫丙波,等. 质膜 H^+ -ATPase 与环境胁迫[J]. 热带亚热带植物学报,2006,1(3):263-268. (Liu N G, Wang Z Y, Mo B B, et al. Plasma membrane H^+ -ATPase and environmental stress[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2006,1(3):263-268.)
- [5] Schroeder J I, Allen G J, Hugouvieux V, et al. Guard cell signal transduction[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular,2001,52:627-658.
- [6] 胡章立,李琳,荆家海,等. 水分胁迫对玉米幼叶生长区细胞质膜 H^+ -ATPase 活性的影响[J]. 植物生理学报,1993,19(2):124-130. (Hu Z L, Li L, Jing J H, et al. The stimulative effect of water stress on the plasma membrane ATPase activity in the growing zone of maize leaves[J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 1993, 19(2):124-130.)
- [7] Chung G C, Matsumoto H. Localization of the NaCl-sensitive membrane fraction in cucumber roots by centrifugation on sucrose density gradients [J]. Plant and Cell Physiology, 1989, 30 (8) : 1133-1138.
- [8] 邱全胜. 渗透胁迫对小麦根质膜膜脂物理状态的影响[J]. 植物学报,1999,41(2):161-165. (Qiu Q S. Influence of osmotic stress on the lipid physical states of plasma membranes from wheat roots[J]. Acta Botanica Sinica,1999,41(2):161-165.)
- [9] 毛桂莲,许兴,徐兆桢. 植物质膜 H^+ -ATPase 及其在胁迫中的反应[J]. 宁夏农学院学报,2003,24(4):81-91. (Mao G L, Xu X, Xu Z Z. Plant plasma membrane H^+ -ATPase and its response to stresses[J]. Journal of Ningxia Agricultural College,2003,24(4):81-91.)
- [10] 刘玉库,张瑞朋,谈伟. 大豆氮素营养研究进展[J]. 杂粮作物,2006,26(3):200-203. (Liu Y K, Zhang R M, Tan W. Nitrogen nutrition ecology research of soybean[J]. Rain Fed Crops,2006, 26(3):200-203.)
- [11] Guo C L, Chen Q, Zhao X L, et al. Al-enhanced expression and interaction of 14-3-3 protein and plasma membrane H^+ -ATPase is related to Al-induced citrate secretion in an Al-resistant black soybean[J]. Plant Molecular Biology Reporter,2013,31:1012-1024.
- [12] Lipton D S, Blanchar R W, Blevins D G. Citrate, malate, and succinate concentration in exudates from P-sufficient and P-stressed *Medicago sativa* L. seedlings [J]. Plant Physiology, 1987, 85: 315-317.
- [13] Shen H, He L F, Sasaki T, et al. Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. Up-regulation of transcription, translation, and threonine-oriented phosphorylation of plasma membrane H^+ -ATPase [J]. Plant Physiology, 2005,138(1):287-296.
- [14] Yan F, Zhu Y, Muller C, et al. Adaption of H^+ -pumping and plasma membrane H^+ -ATPase activity in proteoid roots of white lupin under phosphate deficiency[J]. Plant Physiology,2002,129(1):50-63.
- [15] 武孔焕,陈奇,李昆志,等. 铝胁迫对黑大豆膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报,2012,32(3):511-517. (Wu K H, Chen Q, Li K Z, et al. Effects of Aluminum stress on membrane lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in black soybean [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2012,32(3):511-517.)
- [16] Huber S C, MacKintosh C, Kaiser W M. Metabolic enzymes as targets for 14-3-3 proteins [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 50 (6):1053-1063.
- [17] Brewitz E, Larsson C M, Larsson M. Responses of nitrate assimilation and N translocation in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) to reduced ambient air humidity [J]. Experimental Botany, 1996, 47 (7):855-861.
- [18] Samuelson M E, Larsson C M. Nitrate assimilatory properties of barley grown under ong-term N limitation; Effects of local nitrate supply in split-root cultures[J]. Plant Science,1993,93(1-2):77-84.
- [19] 孙园园. 水分胁迫和氮素形态对不同基因型水稻生长和氮素吸收的影响及其生理机制[D]. 雅安:四川农业大学,2010. (Chen Y Y. Water stress and nitrogen forms on different genotypes of rice growth and nitrogen uptake and physiological mechanisms [D]. Yaan:Sichuan Agricultural University,2010.)
- [20] Talouizite A, Champigny M L. Response of wheat seedlings to short-term drought stress with particular respect to nitrate utilization[J]. Plant, Cell & Environment,1988,11(3):149-155.
- [21] Smirnov N, Stewart G R. Nitrate assimilation and translocation by higher plants:Comparative physiology and ecological consequences [J]. Physiologia Plantarum,1985,64(2):133-140.
- [22] Sacala E, Grzyś E, Demczuk A, et al. Effect of salt and water stresses on growth, nitrogen and phosphorus metabolism in *Cucumis sativus* L. seedlings[J]. Acta Societatis Botanicorum Poloniae,2008, 77(1):23-28.
- [23] 沈其荣,汤利,徐阳春. 植物液泡中硝酸盐行为的研究概况[J]. 土壤学报,2003,40(3):465-470. (Shen Q R, Tang L, Xu Y C. A review on the behavior of nitrate in vacuoles of plants[J]. Acta Pedologica Sinica,2003,40(3):465-470.)
- [24] 胡章立. 渗透胁迫对玉米内源 ABA 及 PMH^+ -ATPase 活性影响[J]. 深圳大学学报,2002,19(1):54-59. (Hu Z L. The influence of water stress on endogenous ABA and PMH^+ -ATPase activity of the growth zone cell in *Zea mays* L[J]. Journal of Shenzhen University (Science & Engineering), 2002,19(1):54-59.)
- [25] 李宝珍,范晓荣,徐国华. 植物吸收利用铵态氮和硝态氮的分子调控[J]. 植物生理通讯,2009,45(1):80-88. (Li B Z, Fan X R, Xu G H. Molecular regulation for uptake and utilization of ammonium and nitrate in plant [J]. Plant Physiology and Molecular Biology,2009,45(1):80-88.)
- [26] Vargas M A, Mauriño S G, Maldonado J M. Flavin-mediated photoinactivation of spinach leaf nitrate reductase involving superoxide radical and activating effect of hydrogen peroxide [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 1987, 1 (2) : 195-201.
- [27] Chen C Z, Lyu X F, Li J Y, et al. *Arabidopsis* NRT1.5 is another essential component in the regulation of nitrate reallocation and stress tolerance[J]. Plant Physiology,2012,159(4):1582-1590.