植物营养与肥料学报 1998,4(4):379～385
Plant Nutrition and Fertilizer Science

氮素形态和光照强度对烟草生长和H_2O_2清除酶活性的影响①

朱祝军　喻景权　Joska Gerendas　Burkhard Sattelmacher

（浙江农业大学园艺系，杭州　310029）　（德国基尔大学植物营养研究所）

摘要　氮素形态和光照强度对烟草植株生长和H_2O_2清除酶活性影响的研究结果表明，在弱光下，氮素形态不影响植株生长，但在强光下，铵态氮明显抑制植株的生长。弱光下供应铵态氮叶片叶绿素含量显著地高于供应硝态氮的叶片；而强光下供应铵态氮叶片单位鲜重叶绿素含量反而显著地低于供应硝态氮的叶片。强光下供应铵态氮的叶片中MDA含量明显高于供应硝酸盐的叶片，但在弱光下则无明显的差异。供应硝态氮叶片中AsA含量高于供应铵态氮的叶片；但供应铵态氮叶片中DAsA含量高于供应硝态氮叶片，尤其是强光下其差异更大。光照强度的增加明显提高AsA-POD、MDAsA还原酶、DAsA还原酶和GSSG还原酶活性。强光下供应铵态氮叶片中AsA-POD和GSSG还原酶活性明显地高于供应硝态氮的叶片，而MDAsA还原酶活性则相反。弱光下供应铵态氮叶片AsA-POD和MDAsA还原酶活性明显高于供应硝态氮的叶片，而GSSG还原酶活性的差异则不显著。铵态氮不显著提高DAsA还原酶的活性。SOD和CAT活性在各处理之间差异不明显。增加光照强度和供应铵态氮都明显地提高AsA氧化酶活性。

关键词　菜豆　氮素形态　光照强度　抗坏血酸　膜脂过氧化　过氧化氢清除酶

在光合作用的电子传递中，分子氧的还原（Mehler反应）会产生超氧阴离子自由基（$O_2^{\cdot-}$），并由此产生其它的活性氧化合物，如：H_2O_2，OH和$^1O_2^{\cdot-}$等。这些活性氧化合物对光合器官产生很大的伤害作用。为了防御这些活性氧化物的毒害作用，叶绿体内存在抗氧化剂和抗氧化防御酶系统，对叶绿体起保护作用。在叶绿体中，超氧化物歧化酶（SOD）催化$O_2^{\cdot-}$歧化成H_2O_2和O_2。由于叶绿体缺少过氧化氢酶（CAT），叶绿体内的H_2O_2主要通过依赖于抗坏血酸的H_2O_2清除途径被清除[1~4]。这条清除途径主要由抗坏血酸过氧化物酶（AsA-POD）和相应的抗坏血酸—谷胱甘肽（AsA-GSH）循环系统所组成，AsA-GSH循环由单脱氢抗坏血酸（MDAsA）还原酶、脱氢抗坏血酸（DAsA）还原酶和谷胱甘肽（GSSG）还原酶所构成。

在干旱、寒冷、臭氧、缺Mg和缺K等环境条件下，特别是结合强光下，植株叶片中依赖于抗坏血酸H_2O_2清除途径的酶活性增加[5~8]。但有关铵供应条件下，依赖于抗坏血酸H_2O_2清除途径酶活性变化的研究还未见报道。

本实验以烟草为材料，研究在不同光强下，氮素形态对烟草植株生长、叶片中抗坏血酸含量和依赖于抗坏血酸H_2O_2清除途径酶活性的影响，探讨强光下铵态氮对植株毒害的生理机制。

① 国家自然科学基金资助项目
收稿日期　1997—08—25

1 材料与方法

1.1 试验处理

烟草(*Nicotiana tobacum* L.)种子播种在蛭石中,4周后挑选生长一致的幼苗移栽于含硝态氮的营养液中(每盆2棵植株,含5L营养液)。硝态氮营养液的组成如下(mol/L):$Ca(NO_3)_2$ 2.5×10^{-3}; K_2SO_4 1.0×10^{-3}; KH_2PO_4 3.0×10^{-4}; $MgSO_4$ 5.0×10^{-4}; $MnSO_4$ 1.0×10^{-6}; H_3BO_3 1.0×10^{-5}; $CuSO_4$ 1.0×10^{-6}; $ZnSO_4$ 1.0×10^{-6}; $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ 1.4×10^{-7}; Fe-EDDHA 4.5×10^{-5}。植株在营养液中生长10天后,设置如下处理:NO_3^-(弱光照),NH_4^+(弱光照),NO_3^-(强光照),NH_4^+(强光照)。每个处理4个重复。总N浓度为5.0×10^{-3}mol/L,光照强度为150和550μ mol·m^{-2}·s^{-1}。铵态氮营养液中以$(NH_4)_2SO_4$和$CaCl_2$代替$Ca(NO_3)_2$,并加$CaCO_3$缓冲营养液pH值,其它与硝态氮营养液相同。所有营养液通气,每2天更换1次。实验在德国基尔大学人工气候室中进行,光照时间为15h/d,温度白天22℃,晚上18℃。处理后16天从植株顶部采取第一完全展开叶片测定叶绿素、丙二醛和抗坏血酸含量。叶片经液氮处理,-30℃保存,用以测定酶的活性。所有测定重复4次。植株于处理后17天收获,分成叶片、茎和根系三部分,冰冻干燥后,称重。

1.2 测定方法

叶绿素含量的测定 用打空器从植株顶部充分展开叶片采取叶园片,加80%丙酮,低温下匀浆,离心,采用Arnon[9]的方法测定叶绿素含量。

丙二醛(MDA)含量的测定 根据Cakmak等[5]的方法测定丙二醛含量。

抗坏血酸含量的测定 以Cakmak[5]的方法测定抗坏血酸(AsA)和脱氢抗坏血酸(DAsA)的含量。

酶的提取和测定 0.5g叶片,加10ml 25mmol/L HEPES缓冲液(含0.2mmol/L EDTA,测定AsA-POD活性提取液含2mmol/L AsA)和2%不溶性PVP。在冰浴中匀浆,然后过2层纱布,15000g离心20min。上清液用作酶的测定。所有操作在4℃进行。除SOD以外,其它酶都在25℃下测定,总体积为1mL,用SHIMADZU UV-2410PC分光光度计酶动力学软件测定吸光度的变化。

采用Giannopolitis和Ries[10]的方法测定SOD的活性。

AsA-POD活性的测定采用修改的Nakano和Asada[11]方法。反应混合液为25mmol/L磷酸缓冲液(pH7.0)(含0.1mmol/L EDTA),1.0mmol/L H_2O_2, 0.25mmol/L AsA和50μ L酶液。测定间隔为10s。以不加H_2O_2的反应速率作空白校正。

采用修改Hossain等[12]的方法测定MDAsA还原酶活性。反应混合液含有25mmol/L HEPES缓冲液(pH 7.8),0.2mmol/L EDTA, 0.1mmol/L AsA, 0.5单位AsA氧化酶(Sigma公司),0.1mmol/L NADH和5μ L酶液。时间间隔为10s。

采用Nakano和Asada[11]的方法测定DHAsA还原酶的活性。反应混合液为25mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.0), 0.1mmol/L EDTA, 3.5mmol/L还原态谷胱甘肽(GSH)(Sigma公司),0.4mmol/L DHAsA和50μ L酶液。时间间隔为10s。以GSH与DHAsA的非酶催化还原反应速率作空白校正。

根据Foyer和Halliwell[13]的方法测定GSSG还原酶活性。反应混合液为25mmol/L HEPES缓冲液(pH 7.8),0.5mmol/L氧化态谷胱甘肽(GSSG)(Sigma公司),0.12mmol/L NADPH和50μ L酶液。以不加GSSG时的测定值作空白校正。时间间隔为30s。

以Cakmak[5]的方法测定过氧化氢酶(CAT)的活性。反应混合液为25mmol/L磷酸缓冲液(pH7.0),10 mmol/L H_2O_2和50μ L酶液。时间间隔为10s。通过测定反应混合液中AsA含量的变化测定AsA氧化酶活性。反应混合液为25mmol/L磷酸缓冲液(pH7.0)(含0.1mmo/L EDTA),0.25mmol/L AsA和50μ L酶液。

采用Bradford[14]的方法测定蛋白质含量。

2 试验结果

2.1 不同光强和形态氮素对烟草植株生长的影响

从表1可见，弱光下，氮素形态不明显地影响植株叶片、茎和根系的生长。但在强光下，铵态氮使植株生长受到明显的抑制；从根冠比看，硝态氮明显地促进植株地下部的生长，而铵态氮则使植株地下部生长受到抑制。在实验中，我们观察到，强光下供应铵态氮植株的老叶迅速失绿变黄，植株生长受到很大的影响。

表 1　不同光照强度和形态氮素对烟草植株生长的影响（g/plant,DW）

Table 1　Effect of light intensyty and N form on growth of tobacco plants

植株器官 Organs	低光强 Low light intensity		高光强 High light intensity	
	NO_3^--N	NH_4^+-N	NO_3^--N	NH_4^+-N
叶片	7.46±1.30a	5.18±1.09a	23.42±0.64c	13.83±2.29b
茎	1.91±0.43a	1.64±0.43a	9.47±0.22c	5.16±1.37b
根系	0.77±0.13a	0.59±0.19a	3.91±0.52c	1.31±0.26b
冠根比	12.15±1.11ab	12.15±2.97ab	8.56±1.44a	14.69±2.02b

表 2　不同光照强度和形态氮素对烟草叶片叶绿素、抗坏血酸和丙二醛含量的影响

Table 2　Effect of light intensyty and N form on the contents of chlorophyll, ascorbate and MDA in tobacco leaves

项目 Item	低光强 Low light intensity		高光强 High light intensity	
	NO_3^--N	NH_4^+-N	NO_3^--N	NH_4^+-N
叶绿素a Chl. a				
μ g/cm²	26.1±1.9c	34.2±3.9b	52.9±6.6a	53.3±4.8a
mg/g, FW	1.59±0.12c	2.13±0.07b	2.36±0.20a	2.02±0.10b
叶绿素b Chl. b				
μ g/cm²	8.3±0.8b	9.9±1.2b	14.7±1.5a	15.5±1.2a
mg/g, FW	0.50±0.05b	0.62±0.03a	0.66±0.06a	0.59±0.04a
总叶绿素 Total Chl.				
μ g/cm²	34.3±2.3c	44.2±5.1b	67.6±7.9a	68.9±5.9a
mg/g, FW	2.09±0.16c	2.75±0.09b	3.02±0.25a	2.62±0.14b
MDA (nmol/g, FW)	6.40±0.68c	7.26±0.39c	8.97±0.98b	10.92±0.61a
ASA (μ mol/g, FW)	1.66±0.56c	1.10±0.39c	6.97±1.53b	3.32±0.92a
DASA (μ mol/g, FW)	0.17±0.06c	0.40±0.03b	0.57±0.21b	1.77±0.91a
Total ASA(μ mol/g, FW)	1.83±0.58c	1.50±0.41c	7.55±1.39a	5.08±1.71b

2.2 不同光强和形态氮素对烟草叶片叶绿素、MDA和AsA含量的影响

强光下生长的叶片单位面积叶绿素含量明显地高于弱光下生长的叶片，而单位鲜重叶绿素含量的差异则不明显。弱光下供应铵态氮叶片的叶绿素含量明显地高于弱光下生长的叶片；强光下供应硝态氮的叶片单位鲜重叶绿素含量反而显著地高于供应铵态氮的叶片，但单位叶面积的叶绿素含量则没有明显差异(表2)。

从膜脂过氧化产物MDA含量可以看出，强光下生长叶片中膜脂过氧化强度高于弱光下生长的叶片。供应铵态氮叶片中的膜脂过氧化程度高于供应硝态氮的叶片，但只在强光下存在显著的差异(表2)。

增加光强显著地增加叶片中的AsA含量；供应硝态氮叶片中AsA含量高于供应铵态氮的叶片，在强光下差异更加明显。光强明显地增加DAsA含量；供应铵态氮叶片DAsA含量明显地高于供应硝态氮的叶片，尤其是强光下其差异更明显(表2)。

2.3 不同光强和形态氮素对SOD、抗坏血酸H_2O_2清除途径酶和CAT等酶活性的影响

表3表明，SOD活性在各处理间没有明显的差异。增加光强明显增加AsA-POD活性；供应

表 3 不同光强和形态氮素对烟草叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸H_2O_2清除途径酶、过氧化氢酶和抗坏血酸氧化酶活性的影响

Table 3 Effect of light intensity and nitrogen form on the activities of superoxide dismutase, ascorbate dependent H_2O_2-scavenging enzymes, catalase and ascorbate oxydase in tobacco leaves

项目 Item	低光强 Low light intensity		高光强 High light intensity	
	NO_3^--N	NH_4^+-N	NO_3^--N	NH_4^+-N
SOD	252±45a	267±44a	211±65a	225±37a
$Ug^{-1}{}_{FW}$	20.8±3.7a	18.8±1.5a	14.5±3.8a	15.7±1.2a
$Umg^{-1}{}_{protein}$				
AsA-POD	17.4±0.8c	29.4±2.9b	33.6±6.3b	61.6±11.6a
$Umol_{AsA}\cdot g^{-1}{}_{FW}\cdot min^{-1}$	1.44±0.09b	2.12±0.49b	2.37±0.64b	4.41±1.36a
$Umol_{AsA}\cdot mg^{-1}{}_{Protein}\cdot min^{-1}$				
MDAsA还原酶	0.22±0.05d	0.38±0.04c	1.51±0.6a	0.79±0.17b
$\mu\ mol_{NADH}\cdot g^{-1}{}_{FW}\cdot min^{-1}$	0.018±0.004d	0.027±0.007c	0.104±0.040a	0.055±0.006b
$\mu\ mol_{NADH}\cdot mg^{-1}{}_{Protein}\cdot min^{-1}$				
DAsA还原酶	0.55±0.13b	0.80±0.41b	3.49±1.19a	4.64±1.90a
$\mu\ mol_{AsA}\cdot g^{-1}{}_{FW}\cdot min^{-1}$	0.046±0.012b	0.052±0.022b	0.245±0.095a	0.334±0.170a
$\mu\ mol_{AsA}\cdot mg^{-1}{}_{Protein}\cdot min^{-1}$				
GSSG还原酶	0.20±0.04b	0.27±0.11b	0.36±0.15b	0.84±0.35a
$\mu\ mol_{NADPH}\cdot g^{-1}{}_{FW}\cdot min^{-1}$	0.017±0.004b	0.021±0.010b	0.026±0.013b	0.059±0.020a
$\mu\ mol_{NADPH}\cdot mg^{-1}{}_{Protein}\cdot min^{-1}$				
AsA还原酶	0.21±0.05c	0.72±0.24b	0.45±0.23bc	1.25±0.21a
$\mu\ mol_{AsA}\cdot g^{-1}{}_{FW}\cdot min^{-1}$	0.017±0.004c	0.050±0.012b	0.032±0.018bc	0.088±0.019a
$\mu\ mol_{AsA}\cdot mg^{-1}{}_{Protein}\cdot min^{-1}$				
CAT	0.93±0.02b	1.53±0.05a	0.73±0.30b	1.09±0.22b
$\mu\ mol\ H_2O_2, g^{-1}{}_{FW}\cdot min^{-1}$	0.076±0.003ab	0.111±0.033a	0.052±0.020b	0.076±0.009ab
$\mu\ mol\ H_2O_2\cdot mg^{-1}{}_{Protein}\cdot min^{-1}$				
蛋白质含量(mg/g,FW)	12.1±0.5	14.4±3.2a	14.5±1.8a	14.3±2.3a

铵态氮叶片中AsA-POD活性明显地高于弱光下生长的叶片，尤其是在强光下差异更显著。强光下生长的叶片中MDAsA还原酶活性明显地高于弱光下生长的叶片。弱光下供应铵态氮叶片中MDAsA还原酶活性明显地高于弱光下生长的叶片；强光下供应铵态氮叶片中MDAsA还原酶活性反而明显地低于供应硝态氮的叶片。增加光强明显增加DAsA还原酶活性；供应铵态氮叶片中DAsA还原酶活性稍高于供应硝态氮的叶片，但差异不显著。增加光强促进GSSG还原酶活性，在强光下供应铵态氮叶片GSSG还原酶活性明显高于供应硝态氮的叶片。

供应铵态氮叶片中AsA氧化酶活性高于供应硝态氮的叶片，尤其是在强光下差异较明显。叶片内CAT活性在各处理间没有明显差异。蛋白质含量除在弱光下供应硝态氮叶片较低以外，各处理间没有明显差异。

3 讨　论

由于生长在铵态氮中的植株需要更多的碳水化合物用于铵的解毒[15]。因此，强光下由于植株光合作用的增加，应该有利于铵的脱毒。但实验结果表明，在强光下供应铵态氮植株的生长明显受到抑制。这与Magalhaes和Wilcox(1983)[16]，Zornoza等(1989)[17]用番茄和甜椒所做的实验结果一致。他们推测，这是由于强光下叶片中较高的游离铵导致光合作用解偶联。但Gerendas[18]的实验表明，仅在极端条件下(20mmol/L NH_4^+，低K)，铵的浓度才足以引起光合作用解偶联作用。

我们的结果表明，强光下铵态氮明显增加膜脂的过氧化(表2)和AsA-POD的活性(表3)，这表明供应铵态氮叶片中有毒活性氧产生的增加。因为在光合器官中AsA-POD主要存在叶绿体中[1~4]，因此，这个酶活性的增加，意味着叶绿体中过氧化氢等有毒氧化合物的增加[2,5]。由于光合作用电子传递中，分子氧的还原(Mehler反应)产生超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)，并由此产生其它的活性氧化合物，如：H_2O_2，OH和$^1O_2$等。强光下电子传递链上产生的过量活性氧化合物会对叶绿素造成光漂白作用(Photobleaching)，损害光合器官，对光合作用造成光抑制作用。因为供应硝态氮的叶片中，硝酸盐的还原需要消耗光合作用电子传递链的一部分电子，因此，硝态氮可能减少活性氧的产生，尤其是在强光下对光合器官起保护作用[19]。虽然供应铵态氮的植株叶片中，AsA-POD酶和GSSG还原酶活性的增加对光合器官起一定的保护作用，但强光下供应铵态氮的植株叶片衰老加快。我们的实验表明，强光下供应硝态氮叶片单位叶重叶绿素含量高于供应铵态氮的叶片，供应铵态氮植株老叶明显失绿黄化。因此，强光下供应铵态氮叶片中有毒活性氧的增加，可能是其植株生长受抑的原因之一。

MDAsA还原酶和DAsA还原酶及GSSG还原酶活性保证了AsA-GSH循环的有效运行，从而保证了AsA的供应。我们的实验表明，光照强度增加DAsA的含量。供应铵态氮叶片中DAsA含量明显地高于供应硝态氮叶片，特别是在强光下供应铵态氮叶片中DAsA含量显著增加。这可能与供应铵态氮烟草叶片中MDAsA还原酶活性减少和AsA氧化酶活性的增加有关。供应铵态氮叶片中总AsA含量明显低于供应硝态氮的叶片，可能是由于供应铵态氮叶片中碳水化合物的缺乏或抗坏血酸的消耗增加之故。

CAT主要存在于过氧化物体中[1]，我们的实验表明，各处理间CAT活性无差异，原因有待

进一步的研究。由于SOD存在不同的细胞器中，因此，光照强度和形态氮素对不同细胞器，特别是叶绿体中SOD活性的影响有待作进一步的研究。

参考文献

1 Asada K, Takahashi M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Klye Dj, Osmond CB, Arntzen CJ (eds.) , Photoinhibition. Amsterdam, Elsevier, 1987, 227～287.

2 Cakmak I. Activity of ascorbate-dependent H_2O_2-scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium-and potassium-deficient leaves, but not in phosphorus-deficient leaves. J. Exp. Bot., 1994, 45:1259～1266.

3 Gillham DJ, Dodge AD. Hydrogen-peroxide-scavenging systems within pea chloroplasts. A quantitative study. Planta, 1986, 167:246～151.

4 Halliwell B. Free radicals, oxygen toxicity and ageing. In:Sohal RS ed . Age pigments. Elsevier, 1986, 1～62.

5 Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. Plant Physiol., 1992, 98:1222～1227.

6 Conklin PL, Last RL. Differential accumulation of antioxidant mRNAs in *arabidopsis thaliana* exposed to ozone. Plant Physiol., 1995, 109:203～212.

7 Schoener S, Krause GH. Protective systems against active oxygen species in spinach response to cold acclimation in excess light. Planta, 1990, 180: 383～389.

8 Smirnoff N, Colombe SV. Drought influences the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. J. Exp. Bot., 1988, 39 :1097～1108.

9 Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol., 1949, 24:1～15.

10 Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plansts. Plant Physiol., 1977, 59:309～314.

11 Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol., 1981, 867～880.

12 Hossain MA, Nakano Y, Asada K. Monodehydroascorbate reductase in spinach chlroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide. Plant Cell Physiol., 1984, 25:385～395.

13 Foyer CH, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts. A proposal role in ascorbic acid metabolism. Planta, 1976, 133:21～25.

14 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. Anal. Biochem., 1976, 72:248～254.

15 Givan CV. Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. Phytochem., 1979, 18:375～382.

16 Magalhaes JR, Wilcox GE. Ammonium toxicity development in tomato plants relative to nitrogen form and light intensity. J. Plant Nutr., 1984, 7: 1477～1496.

17 Zornoza P, Caselles J, Carpena O. Effect of NO_3:NH_4 ratio and light intensity on nitrogen partitioning in pepper plants. J. Plant Nutr., 1989 , 12:307～316.

18 Gerendas J. Einfluss von form und Konzentration des Stickstoffangebotes auf Wachstum und Physiologie junger Maispflanzen. Ph.D. thesis. Kiel: Universitat Kiel, 1992.

19 Gerendas J, Zhu Z, Bendixen R, Ratcliffe RG, Sattelmacher B. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. Z. Pflanzenernahr. Bodenk., 1997, 160:239～251.

EFFECT OF LIGHT INTENSITY AND NITROGEN FORM ON GROWTH AND ACTIVITIES OF H_2O_2-SCAVENGING ENZYMES IN TOBACCO

Zhu Zhujun Yu Jingquan

(Department of Horticulture, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029)

Joska Gerendas Burkhard Sattelmacher

(Institute for Plant Nutrition, University of Kiel, Germany)

Abstract The effects of light intensity and nitrogen form on plant growth and the activities of H_2O_2-scavenging enzymes in leaves of tobacco were studied. The results showed that the plant growth was not affected by nitrogen form under low light intensity, but considerably inhibited by ammonium nutrition under high light intensity. The chlorophyll contents of leaves were significantly increased by ammonium nutrition under low light intensity, however, the chlorophyll content per fresh weight was significantly decreased by ammonium nutrition under high light intensity. The MDA content was greatly increased by ammonium nutrition under high light intensity, but not significantly increased under low light intensity. The ascorbate content was considerably increased by increased light intensity, but significantly decreased by ammonium nutrition. The content of dehydroascorbate was greatly promoted by ammonium nutrition, especially under high light intensity. The activities of AsA-POD, MDAsA reductase, DAsA reductase and GSSG reductase were greatly increased by increased light intensity. Under high light intensity the activities of AsA- POD and GSSG reductase were greatly increased by ammonium nutrition, however, the activity of MDAsA reductase was considerably inhibited. Under low light intensity the activities of AsA-POD and MDAsA reductase were significantly increased by ammonium nutrition and the activity of GSSG reductase was not significantly increased. The activities of DAsA reductase were increased by ammonium nutrition, but not significantly. There were no significant differences of activities of SOD and CAT among the treatments.

Key words Tobacco Light intensity Nitrogen form Ascorbate Lipid peroxidation H_2O_2-scavenging enzymes