

암모늄태와 질산태 질소가 담배와 콩의 조직배양시 생육 및 질소대사 효소의 활성화에 미치는 영향

박혜선 · 설종호¹ · 장매희*
서울여자대학교 원예학과 · ¹한국식물원협회

Effects of Ammonium and Nitrate on Callus Growth of Tobacco and Soybean and Activities of Nitrogen Metabolizing Enzymes

PARK, Hye-Sun · SUL, Jong-Ho¹ · CHIANG, Mae-Hee*

Dept. of Horticulture, Seoul Women's University, Seoul, 139-774, Korea: and
¹Korean Association of Botanical Garden, Seoul, 137-060, Korea. *Corresponding author

Soybean and tobacco tissue cultured with modified MS media containing 4 different ratio(as N) of nitrate to ammonium combination which were 3:0, 2:1, 1:2 and 0:3.

The highest callus growth in soybean were observed in the 2:1 medium. The medium containing nitrate only was detrimental to soybean callus growth. Tobacco callus grown with nitrate-only grew as well as those in the 2:1 and very slowly with ammonium-only.

In tobacco callus, the total nitrogen in the callus increased with the increase of nitrogen concentration in the medium, but in soybean callus, the opposite result was noted.

Nitrate reductase activity in tobacco callus was high when grown with nitrate-only but low with ammonium-only. In case of soybean callus, nitrate reductase activity was high in the 2:1 and remarkably low in nitrate-only medium.

Both in soybean and tobacco callus, the activity of glutamine synthetase was high with nitrate-only, but low with ammonium.

Key words: NH_4^+ , NO_3^- , total nitrogen, nitrate reductase, glutamine synthetase

식물에 흡수될 수 있는 질소형태는 질산태 질소(NO_3^-)와 암모늄태 질소(NH_4^+)로 식물의 종과 발달단계에 따라 흡수 능력과 이용형태도 상당히 다르다(Lee et al., 1997). 흡수된 질소는 단백질 및 핵산, 가용성 아민류, 엽록소와 coenzyme 등의 주요 성분으로 식물생육에 있어 주요한 요소가 된다. 질소는 농도 뿐만 아니라 질소의 종류도 식물생육에 큰 영향을 끼치는데 이는 식물에 따라 선호하는 흡수 형태가 다르기 때문이다. 대체로 질산태 질소가 식물의 생육에 보다 잘 이용되는 형태이며, 암모늄태 질소와 질산태 질소를 각각 단독사용하는 것보다 두 형태가 공존할 때 흡수율이 높게 나타난다고 알려지고 있으나 작물의 종류에 따라서는 암모늄태 질소 또는 질산태 질소를 단용하는 것이 더 효과적인 것도 있다(Schrader et al., 1972; Yoon et al.,

1979). 한편 작물의 질소 흡수는 체내 질소 또는 탄수화물 함량과 같은 내부요인과 온도, 산소수준, 근권의 pH 같은 외부요인에 따라 변화한다(Leidi et al., 1991). 그러므로 작물은 환경요인 변화에 따라 질소형태에 따른 흡수량상도 달라질 것이므로 질소형태별 흡수 유형을 밝히는 것은 안정적 수확확보와 품질향상을 위해 중요하다. 따라서 본 연구에서는 담배와 대두의 조직배양을 이용하여 배지내 질산태 질소와 암모늄태 질소의 혼합비율에 따른 작물간의 흡수 반응의 차이와 단백질 및 질소대사에 관여하는 nitrate reductase와 glutamine synthetase의 활성을 분석하여 체내 질소대사의 차이를 비교하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시품종은 대두(*Glycine max* L.) '단엽콩'과 담배(*Nicotiana tabacum* L.) 'NC 2326'을 사용하였다. 담배는 소독한 종자를 멸균된 모래에 파종한 후 분엽 2매일 때 멸균된 배양토에 이식하여 30일간 재배하였고, 대두종자는 소독한 후 water agar에 파종하여 발아시켰다. 질소원을 처리하기 위한 callus를 유기하고자 30일간 재배한 담배의 줄기와 발아후 5일된 단엽콩 유묘의 상배축을 잘라 95% ethyl alcohol에 순간 침지하고 멸균수로 수세한 다음 액상 비누 한 방울을 첨가한 1% sodium hypochlorite에 5분간 살균한 후 멸균수로 4-5번 수세하여 3-5mm 크기로 잘라 배지에 치상하였다. Callus 유기용 배지는 MS 배지에 2.2 mM 2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D)를 첨가하였고, pH 5.3-5.5로 조절하였다. 배양조건은 25°C, 2000Lux 연속 조명으로 하여 30일간 배양, callus를 유기시켰다. 그중 건전한 callus를 선별하여 질소의 비율을 달리한 배지로 이식하였다. 질소 비율은 NO₃⁻-N와 NH₄⁺-N의 비율이 2:1인 MS배지를 변형시켜 3:0, 2:1, 1:2, 0:3의 비율로 하되 질소 성분 이외의 다른 성분은 대조구와 동일하게 조절하였으며 각 처리는 5반복으로 하였다. 배양후 20, 40, 60, 80일에 생체중을 측정하였고, 최종 수확후 단백질, 전질소, 효소활성 및 callus의 생육상태를 조사하였다.

단백질과 효소활성 측정을 위한 시료는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.0)를 1:2의 비율로 넣고 4°C에서 마쇄하여 13,000rpm(Sorvall RC50C, Dupont사, SA 600 rotor를 이용)으로 15분간 원심분리한 후 얻은 상등액을 사용하였다. 단백질 측정은 Bradford방법(1976)으로 측정하였다. Glutamine synthetase활성은 Golova등(1984)의 방법에 따라 270mM Tris-HCl buffer (pH 7.2), 70mM NH₂OH HCl, 35mM MgSO₄, 8mM ATP(adenosine triphosphate) 및 170mM mono sodium glutamate를 시료와 합하여 2.25ml이 되도록 하여 37°C 수조에서 15분간 반응시킨 후 0.75ml의 ferric chloride용액을 넣어 반응을 중지시켰다. 반응중지액인 ferric chloride용액은 A(0.2N HCl에 10%의 FeCl₃ 6H₂O를 용해), B(24% trichloroacetic acid (TCA)), C(18.5% HCl)용액을 같은 비율로 섞었다. 반응 중지시 생긴 침전물을 제거하기 위해 3,000rpm으로 10분간 원심분리한 후 그 상등액을 취해 540nm에서 흡광도(Milton Roy, Spectronic 1201, New York)를 측정하였다. 효소 1 unit는 분당 흡광도가 0.01변화한 것으로 하였으며, specific activity는 unit mg⁻¹protein으로 나타내었다.

Nitrate reductase활성은 Jaworski(1971)의 방법에 따라 측정하였다. 0.5g의 callus에 0.1M Na-phosphate buffer(pH 7.5), 0.02M KNO₃, 5% propanol 혼합액 5ml을 넣고 25°C 암소에서 5시간 반응시켰다. 이 반응액 0.4ml에 1% sulfanilamide (3N HCl에 용해)와 0.02% n-1-naphthyl-ethylenediamine

hydrochloride를 각각 0.3ml씩 넣고 20분간 발색시킨후에 증류수 4ml를 넣어 540nm에서 흡광도(Milton Roy, Spectronic 1201, New York)를 측정하여 NaNO₃ 표준곡선과 비교하였다.

全窒素含量은 80°C에서 건조시킨 시료 1g을 digestion tube에 넣고 kjeltab을 1개씩 넣은 다음 sulfuric acid 10ml을 첨가한 뒤 digester (Digestion system 20, 1015, Tecator, Hoganas, Sweden)를 이용하여 420°C에서 2시간 동안 분해시켰다. 분해시킨 시료액에 증류수 50ml를 넣은 다음 distilling unit (Kjeltec system 1028, Tecator, Hoganas, Sweden)을 이용하여 1% bromocresol green과 0.7% methyl red indicator solution이 함유된 4% boric acid 25ml이 담긴 receiver flask에 포집하여 이것을 0.1N HCl이나 0.5N HCl로 색이 없어질 때(neutral grey)까지 적정하였다. 전질소 함량은 AOAC(1980)방법으로 계산하였다.

결과 및 고찰

질소원이 callus 생육에 미치는 영향

Callus의 증식정도를 살펴보면 담배는 질산태와 암모늄태 질소비율이 2:1인 처리구와 질산태 질소 단용처리구에서 높은 증가율을 보이는 반면에 암모늄태 질소단용구는 증가율이 낮았고(Figure 1), 단엽콩은 이와 반대로 암모늄태 질소 단용구에서 가장 높았고, 질산태 질소단용구에서는 가장 낮았으며, 혼용구에서는 질산태 질소의 비율이 더 많았던 2:1 처리구가 암모늄태 질소 비율이 더 많은 1:2처리구보다 그 증식정도가 컸다(Figure 2).

Yoon 등(1979)에 의하면 담배 세포는 액체배지내 질소가 질산태 질소와 암모늄태 질소 비율이 2:1일 때 세포증식이 가장 왕성하였으며 암모늄태 질소만을 함유하는 배지는 세

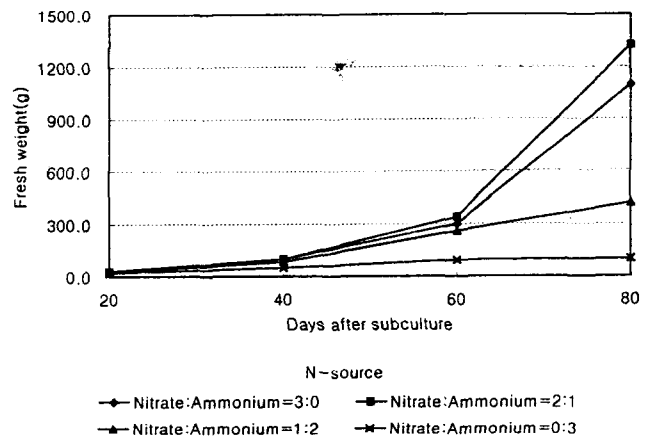


Figure 1. Effect of NO₃⁻ : NH₄⁺ ratio in the culture media on the fresh weight of callus in *Nicotiana tabacum*.

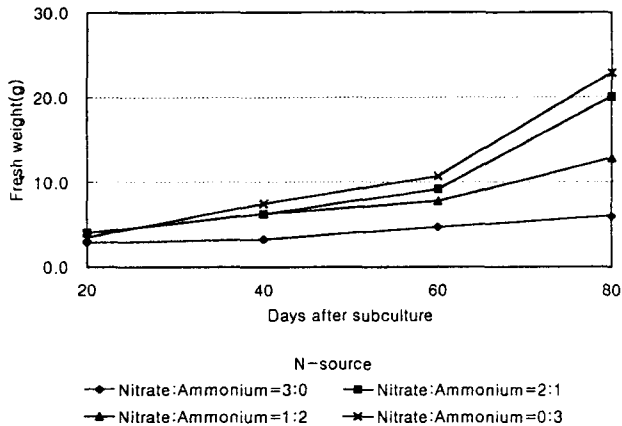


Figure 2. Effect of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ ratio in the culture media on the fresh weight of callus in *Glycin max*.

포중식이 저조하다고 하였는데 이는 본 실험 결과와 상응한다고 볼 수 있다. 일반적으로 암모늄태 질소만이 질소원이 되는 경우 세포증식률이 저하되는 원인중의 하나는 배지내 pH의 불균형 때문이라 하는데 보통 암모늄태 질소는 배지의 pH를 낮출 뿐만 아니라 (Behrend and Mateles, 1975; Martin et al., 1977; Pare, 1973) 질산태 질소의 흡수를 방해하며 (Pare, 1973) 때로는 수용성 암모니아로 인한 독성을 나타내기도 한다고 보고 (Bryne and Hasek, 1979; Wakiuchi et al., 1971) 되었다. 물론 몇몇 식물종은 고농도의 암모늄태 질소하에서도 잘 견딜 수 있지만 보통의 식물은 해를 받기가 쉽다. 이러한 실험 예로 Dougall (1977)은 *Haplopappus gracilis* 세포는 2mM 이상의 NH_4^+ 가 B-5배지에 들어가면 세포증식이 줄어들었다고 보고하였으며, 담배에서 nitrate와 ammonium이 공존할 때 질소 흡수율이 가장 높았고, 이는 배지내 pH를 적정수준으로 유지시키기 때문이라 하였다. 대두에 관한 실험으로 Sargent와 King (1974)은 세포생장에 암모늄이 필요하다고 하였으며, Gamborg와 Shayluk (1968)은 Krebs cycle의 중간 생성물인 유기산을 배지에 첨가시켜주면 암모늄태 질소만으로도 세포증식이 좋다고 하였다. 이들 연구보고를 종합해 보면 대두에는 암모늄태 질소들 우선적으로 흡수 이용하는 특별한 생리적인 기작이 있다고 생각되는데 이는 좀 더 연구해 볼 문제라 사료된다.

Callus의 생육상태를 살펴 보면 담배는 2:1 처리구와 질산태 질소단용구에서 callus의 상태가 전전하였는데 배양이 진전됨에 따라 오히려 질산태 질소단용구가 2:1 처리구보다 더욱 건전해 보였으며, 반면에 암모늄태 질소단용구에서는 그 성장상태가 부진하였다. 단엽콩은 암모늄태 질소단용구에서 callus의 상태가 가장 양호하였으며 반면에 질산태 질소단용구에서는 배양기간이 길어질수록 callus가 갈변화되고 고사하는 경향을 보였다. Ghazi 등 (1986)에 의하면 대두에서 질소원으로 NH_4NO_3 를 사용한 경우보다 NH_4Cl 를 사용한 경우 callus 증식이 왕성하였고 그 상태도 건전하였다고 한

Table 1. Effect of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ ratio in the culture media on the total nitrogen and protein of callus in *Nicotiana tabacum* and *Glycin max*.

Treatment(ratio)		<i>Nicotiana tabacum</i>		<i>Glycin max</i>	
Nitrate	Ammonium	Total nitrogen (% F.W.)	Protein (mg · g ⁻¹ F.W.)	Total nitrogen (% F.W.)	Protein (mg · g ⁻¹ F.W.)
3	0	0.181	0.021	0.237	0.106
2	1	0.109	0.031	0.260	0.082
1	2	0.170	0.042	0.278	0.072
0	3	0.096	0.039	0.285	0.092

다. 본 실험에서도 담배는 암모늄태 질소보다는 질산태 질소의 흡수가 용이하고, 그에 따른 세포증식률도 높았으나 반면에 암모늄태 질소처리 효과는 적은 것으로 생각된다. 한편 단엽콩은 담배와는 반대로 암모늄태 질소를 더 선호하는 것으로 보인다.

질소원이 callus내 전질소 및 단백질 함량에 미치는 영향

질소원을 달리하였을 때 callus의 전질소 및 단백질 함량은 Table 1에서 보는 바와 같았다. 담배는 callus내 전질소 함량은 질산태 질소가 많을수록 증가되는 경향을 나타내어 질산태 질소 단용구에서 가장 높았으며 암모늄태 질소 단용구에서 가장 적었다. 한편 단백질 함량은 암모늄태 질소 단용구나 암모늄태 질소의 비율이 높은 1:2 혼용구에서 높았다. 단엽콩은 전질소 함량은 callus 증식 정도와 비슷하게 암모늄태 질소단용구에서 가장 많았으며, 질산태 질소단용구에서 가장 적었고, 한편 단백질 함량은 생육이 가장 부진하였던 질산태 질소단용구에서 가장 많았고 그외 다른 처리구에서는 callus 증식 정도와 같은 경향으로 나타났다. 이상의 결과를 보면 전질소나 단백질 함량은 질소공급의 영향을 크게 받으며, 또한 식물이 배지내의 질소를 얼마만큼 많이 흡수, 이용하는가에 따라 달라진다고 생각된다. 이는 물론 앞에서 언급되었던 바와 같이 식물이 선호하는 질소형태와 암모늄태 질소와 질산태 질소의 비율 및 이와 관련된 배지내 pH 균형 등 여러가지 요인이 작용한다고 볼 수 있겠다. Patrick 등 (1985)은 질소공급의 증가는 아미노산과 단백질 함량에 변화를 가져온다고 했는데 밑에서는 특히 질소수준이 증가함에 따라 glutamic acid가 증가하였다고 보고하였으며, Peter 등 (1987)은 옥수수에서 nitrate가 단백질 합성을 조절한다고 보고한 바 있다. 한편 ammonium 질소를 단독으로 사용할 경우 전환된 질소량을 증가시킨다는 보고가 있는데 (Goyal et al., 1982) 이는 ammonia의 독성에 대한 방어기작으로 체내에 amide가 축적되기 때문이라 해석되었다 (Curris, 1979). 여러 연구 보고에서 외부로부터 공급된 ammonium이 동화될 때 amide가 축적된다고 밝혀졌는데, 이렇게 축적된 amide는 잎의 노화시 ammonia 독성을 감소시

Table 2. Effect of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ ratio in the culture media on the nitrate reductase and glutamine synthetase activities of callus in *Glycine max* and *Nicotiana tabacum*.

Treatment(ratio)		Nitrate reductase (mM reduced $\text{NO}_3^-/\text{g F.W./hr}$)		Glutamine synthetase (unit/mg protein)	
Nitrate	Ammonium	<i>Glycine max</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Glycine max</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>
3	0	0.053	0.799	1.874	0.760
2	1	0.223	0.540	0.906	0.486
1	2	0.191	0.307	0.697	0.462
0	3	0.197	0.259	0.660	0.418

킨다고 한다. 한편 단엽콩은 생육이 가장 부진했던 질산태 질소단용구에서 단백질 함량이 높았는데 이는 타 연구에서 보고한 바와 같이 stress에 대한 식물의 방어기작으로 단백질의 합성이 증가된 것이 아닌가 생각된다.

질소원이 nitrate reductase(NR)와 glutamine synthetase(GS)활성에 미치는 영향

담배와 단엽콩의 callus에서 배지내 질소원의 변화에 따른 NR의 활성을 보면 담배의 경우 배지내 질산태 질소의 비율이 높을수록 NR활성은 높은 경향을 보여 질산태 질소단용구에서 가장 높았고, 암모늄태 단용구에서 가장 낮았다(Table 2). 암모늄태 질소는 NR활성을 저하시킨다는 결과는 다른 연구자들도 보고하고 있으며, 담배, 나팔꽃 등은 질산태 질소에 의해서 NR이 유도된다고 한다(Nelson et al, 1984; Zielke and Filner, 1971; Zink, 1982). 한편 단엽콩은 2:1처리구에서 활성이 높았고 생육이 가장 부진했던 질산태 질소단용구에서 현저하게 낮았다. 따라서 NR활성은 배지내의 질소 형태에 의존되며, 식물의 생육상태와도 관련된다고 생각된다. Wakhloo와 Staudt(1988)에 의하면 담배의 NR활성은 組織의 老化에 크게 좌우된다고 하였으며, 문등(1991)도 하위엽으로 내려올수록, 葉齡이 많은 것일수록 NR활성이 낮다고 보고하였다.

GS의 활성을 살펴보면 단엽콩, 담배 모두 질산태 질소단용구에서 그 활성이 높았으며 암모늄태 질소 단용구에서 활성이 낮았다(Table 2). Vezina와 Langlois(1989)는 완두 유묘의 뿌리에서 NO_3^- 사용시 NR와 GS활성이 증가한 반면 NH_4^+ 사용시에는 그러한 반응이 나타나지 않았다고 보고하였는데 이는 본 실험과도 유사한 결과였다. 이는 암모니아태 질소를 이용하는 효소인 glutamine synthetase는 NH_4^+ 의 농도가 낮을 때 암모니아 합성 대사에 작용하고, 고농도에서는 오히려 그 활성이 떨어지기 때문인 것으로 생각된다. 즉 NH_4^+ 가 일정농도 이하로 있을 때 glutamic acid와 NH_4^+ 가 이용되어 glutamine이 되고, 이에 따라 α -glutarate는 다시 2 분자의 glutamic acid를 생성함으로써 흡수된 NH_4^+ 가 계속 이용되지만 NH_4^+ 농도가 일정농도 이상으로 높아지면

이러한 기능이 소실되므로 암모늄태 질소가 너무 많을 경우 GS의 활성은 감소한 것으로 생각된다.

적 요

본 실험은 질소원처리가 식물의 생육 및 질소대사에 미치는 영향을 규명하고자 조직배양을 실시하였으며 공시재료로는 담배 'NC 2326'와 대두 '단엽콩'을 사용하였다. 배지내 질소원의 종류와 그 비율을 달리했을 때 callus의 생육, 전질소, 단백질 함량 그리고 nitrate reductase와 glutamine synthetase의 활성 변화를 조사하였다.

단엽콩의 조직배양시 callus증식은 2:1처리구와 암모늄태 질소만 공급한 배지에서 높았던 반면 질산태만 공급한 경우에는 callus증식이 저조하였다. 한편 담배는 질산태와 암모늄태 질소를 2:1로 혼용한 구가 callus증식이 좋았고, 암모늄태 질소단용구에서 저조하였으며, 질산태 질소단용구의 callus생육이 양호하였다.

Callus내 전질소함량은 담배의 경우 배지내 질산태 질소가 많을수록 증가되어 질산태 질소단용구에서 가장 많았으며 암모늄태 질소단용구에서 가장 적었다. 한편 단엽콩은 이와 반대의 경향으로 암모늄태 질소단용구에서 가장 많았으며 질산태 질소단용구에서 가장 적었다.

Callus의 nitrate reductase의 활성을 보면 담배는 질산태 질소단용구에서 활성이 높았으며 암모늄태 질소단용구에서 활성이 낮은 반면 단엽콩은 2:1 처리구에서 활성이 높았고 생육이 부진했던 질산태 질소단용구에서 현저하게 낮았다. Glutamine synthetase의 활성은 단엽콩, 담배 모두 질산태 질소단용구에서 활성이 높았으며 암모늄태 질소단용구에서 활성이 낮았다.

인용 문헌

- AOAC (1980) Official method of analysis of the AOAC. 13th ed, pp 858
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochem* 72: 248-254
- Behrend J, Mateles IR (1975) Nitrogen metabolism in plant cell suspension cultures. *Plant Physiol* 56: 584-589
- Bryne TG, Hasek RF (1979) Poinsettia leaf injury associated with NH_4^+ fertilization and low soil pH. *Flor Rev* 165: 65-68
- Curtis VG (1979) Metabolic detoxification of ammonia in tissue of higher plants. *Phytochemistry* 18: 375-382
- Dougall DK (1977) Current problems in the regulation of nitrogen metabolism in plant cell cultures. In W Bars, E Reinhard, MH Zenk, eds, *Plant tissue culture and its biotechnological application*. Springer-

- Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 76-84
- Gamborg OL, Shyluk JP** (1970) The culture of plant cells with ammonium salts as the sole nitrogen source. *Plant Physiol* **45**: 598-600
- Ghazi TD, Cheema HV, Nabors MW** (1986) Somatic embryogenesis and plant regeneration from embryogenic callus of soybean (*Glycin max* L.). *Plant Cell Reports* **5**: 452-456
- Golova TP, Pushkin AV, Tsupum VL, Evstigneeva EG, Ketovich VL** (1984) Purification, quaternary structure, and some properties of glutamine synthetase from pumpkin roots. Academy of Science of the USSR, Moscow. Translated from *Biokhimiya*. Plenum Pub. Co.
- Goyal SS, Lorenz OA, Huffacker RC** (1982) Inhibitory effects of ammonial nitrogen on growth of radish plants. I. Characterization of toxic effect of NH_4^+ on growth and its alleviation by NO_3^- . *J Amer Soc Hort Sci* **107**: 125-129
- Jaworski EG** (1971) Nitrate reductase assay in intact plant tissue. *Biochem Biophys Res Comm* **43**: 1274-1279
- Lee SG, Shim SI, Kang BH, Bae KK** (1997) Changes of nitrogen uptake, growth and activities of nitrogen metabolizing enzymes by different source of nitrogen in tobacco. *Kor J Crop Sci* **42**: 515-521
- Leidi EO, Silberbush M, Lips SH** (1991) Wheat growth as affected by nitrogen type, pH and salinity. I. Biomass production and mineral composition. *J Plant Nutr* **14**: 235-246
- Martin SM, Rose D, Hul V** (1977) Growth of plant cell suspension cultures with ammonium as the sole source of nitrogen. *Can J Bot* **55**: 2838-2843
- Moon CH, Chung GC, Ha SH** (1991) Effect of light and nitrate on the nitrate reductase activity in cucumber plants. *J Kor Soc Hort Sci* **32**: 157-162
- Nelson RS, Horn ME, Harper JE, Widholm J** (1984) Nitrate reductase activity and nitrogenous gas evolution from heterotrophic photomixotrophic and photoautotrophic soybean suspension cultures. *Plant Sci Lett* **34**: 145-152
- Pare JS** (1973) Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol Biochem* **5**: 109-119
- Patrick NO, Lawrence BO, Samy MA** (1985) Effect of nitrogen level and time of application on the protein content and amino acid composition of irrigated wheats. *J Agric Food Chem* **33**: 688-691
- Peter RM, Thomas EO, Gray MP, Bouthyette PY** (1987) Nitrate-induced changes in protein synthesis and translation of RNA in maize roots. *Plant Physiol* **84**: 52-57
- Sargent PA, King J** (1974) Investigation of growth promoting factors in conditioned soybean root cells and in the liquid medium in which they grow: ammonium, glutamine and amino acids. *Can J Bot* **52**: 1747-1755
- Schrader LE, Domska D, Jung PE, Peterson LA** (1972) Uptake and assimilation of ammonium-N and nitrate-N and their influence on the growth of corn (*Zea mays* L.). *Agron J* **64**: 690-695
- Vezina LP, Longlois JR** (1989) Tissue and cellular distribution of glutamine synthetase in root of pea (*Pisum sativum*) seedlings. *Plant Physiol* **90**: 1129-1133
- Wakhloo JL, Staudt A** (1988) Development of nitrate reductase activity in expanding leaves of *Nicotiana tabacum* in relation to the concentration of nitrate and potassium. *Plant Physiol* **87**: 258-263
- Wakiuchi N, Matsumoto H, Takahashi E** (1971) Changes of some enzyme activities of cucumber during ammonium toxicity. *Plant Physiol* **24**: 248-253
- Yoon KE, Kim JC, Min TK, Son SH, Kang SK** (1979) Effects of nutritional conditions on tobacco (*Nicotiana tabacum*) cell suspension culture. *J Kor Soc Tobacco Sci* **1**: 1-8
- Zielke HR, Filner P** (1971) Synthesis and turnover of nitrate reductase induced by nitrate in cultured tobacco cells. *J Biol Chem* **246**: 1772-1779
- Zink MW** (1982) Regulation of nitrate reductase by various nitrogen source in cultured *Ipomoea* sp. *Can J Bot* **60**: 386-396

(1997년 12월 20일 접수)