植物营养与肥料学报 2001,7(2):223～231
Plant Nutrition and Fertilizer Science

高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展

莫良玉,吴良欢,陶勤南
(浙江大学环境与资源学院,浙江杭州 310029)

摘要:高等植物体内 95%以上的 NH_4^+ 通过 GS/GOGAT(谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶)循环同化。GS、GOGAT 在植物叶片、根瘤以及根中均有分布,但在不同器官中 GS/GOGAT 循环的作用不尽相同。在绿色组织中,GS/GOGAT 循环的主要作用是同化光呼吸产生的 NH_4^+ 以及硝酸盐在叶中还原产生的 NH_4^+,在根瘤中则主要同化根瘤菌固 N 产生的 NH_4^+,而在根中则是同化吸收到体内的 NH_4^+ 以及硝酸盐被吸收后在根中还原产生的 NH_4^+。迄今有关植物 GS/GOGAT 循环的研究还不太深入,但是随着基因工程技术、免疫组织化学技术以及现代植物生理学技术的发展,GS/GOGAT 循环研究展示广阔前景。对该循环及其调控机制的进一步了解,可为合理利用氮肥、提高植物 N 的利用率提供理论依据。本文综述了近年来对 GS/GOGAT 循环的研究进展情况。

关键词:高等植物;GS/GOGAT 循环;NH_4^+ 同化
中图分类号:Q945　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008-505X(2001)02-0223-09

植物对 N 素需求量大,但氮素过多或过少不仅对作物产量和品质造成不良影响,而且过多还会造成环境污染和生产成本增加。因此植物对 N 的吸收、同化研究始终受到植物营养学界的高度重视。GS/GOGAT(谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶)循环是植物同化 N 的主要途径,近年来研究进展迅速,其特点是与基因技术、免疫组织化学技术、同位素标记技术以及现代植物生理学技术的结合。

1　GS/GOGAT 循环

植物体内的 NH_4^+ 有多种来源,一部分来自根通过细胞质膜上的专一性转运子吸收的 NH_4^+ 与 NO_3^-[1~3],其中 NO_3^- 由体内细胞质硝酸还原酶(NR)还原为 NO_2^-,再由质体中的亚硝酸还原酶(NiR)将进入质体的 NO_2^- 还原为 NH_4^+;另一部分来自光呼吸、根瘤菌固 N 作用、氨基酸代谢、类苯基丙烷代谢、衰老组织氮化合物转移再利用等多种途径[3,4]。过去认为谷氨酸脱氢酶(GDH)是同化 NH_4^+ 的主要酶,因为该酶在植物体内广泛分布,可催化下列反应:

L- 谷氨酸 + H_2O + NAD(P) ↔ α-戊二酸 + NH_3 + NAD(P)H_2

后来研究表明,GDH 对 NH_3 的亲和力低(K_m = 5～70mmol)[4],只有当体内 NH_3 浓度较高,如 C_3 植物在强光下进行光呼吸时线粒体产生大量 NH_3,植物环境胁迫(包括 NH_4^+ 胁迫)以及防御反应时产生较多 NH_3 时,该酶才起作用,但通常情况下细胞中 NH_3 浓度较低。因此,该酶对植物体内 NH_3 同化的重要作用受到怀疑,目前一般认为 GDH 主要起解除氨毒作用[5]。1974 年一条新的 NH_4^+ 同化途径被发现,植物体内 95% 以上的 NH_4^+ 通过该途径同化[4,6]。NH_4^+ 进入该途径首先由 GS 催化合成谷氨酰胺;然后由 GOGAT 将谷氨酰胺和 α-戊二酸转变为 2 个分子谷氨酸,其中一个分子谷氨酸可作为 GS 的底物,另一个分

收稿日期:2000-01-10
基金项目:国家重点基础研究专项经费(G1999011707);国家自然科学基金项目(39970432;39970146)资助。
作者简介:莫良玉(1968 —),男,广西宜川人,博士,主要从事植物有机营养研究工作。

子谷氨酸可用于合成蛋白质、核酸等含氮化合物。在同化 NH_4^+ 时，GS 和 GOGAT 是同时起作用的，因而该途径被称为 GS/GOGAT 循环(图 1)。GDH 对 GS/GOGAT 循环起辅助作用[7,8]。当植物发芽、衰老及种子形成时，GDH 可催化谷氨酸脱氨，使 NH_3 进入 GS/GOGAT 循环而得以再利用。

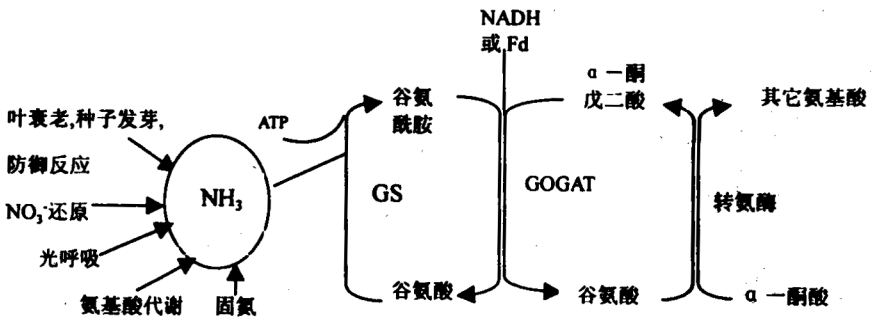

图 1 高等植物体内同化氨的 GS/GOGAT 循环

Fig.1 The GS/GOGAT cycle in higher plants

(GS-谷氨酰胺合成酶;GOGAT-谷氨酸合成酶)

在 GS/GOGAT 循环中，GS 催化下列反应：

L-谷氨酸 + ATP + NH_3 ⟶ L-谷氨酰胺 + ADP + Pi + H_2O

GS 对 NH_3 有高的亲和力($K_m = 0.01 \sim 0.1$mmol)，能迅速将体内的 NH_3 同化为氨基酸，防止 NH_3 积累中毒。

目前在高等植物中发现有两种类型的 GOGAT，一种是以 NADH 为还原剂(NADH-GOGAT)，另一种是以 Fd 作为还原剂(Fd-GOGAT)，它们催化下列反应：

α-戊二酸 + L-谷氨酸 + $NADH_2$ ⟶ 2 L-谷氨酸 + NAD^+

α-戊二酸 + L-谷氨酸 + Fd(还原型) ⟶ 2 L-谷氨酸 + Fd(氧化型)

目前已在多种植物的叶、根、根瘤、子叶等器官中发现有 GS/GOGAT 循环酶系存在。用 GS 抑制剂 MSO(L-methionine-s-sulphoximine)、PPT(phosphinothricin)等处理植物组织时可引起组织内 NH_3 浓度上升，而用 GOGAT 抑制剂重氮乙酰丝氨酸(azaserine)、重氮酮基正亮氨酸(DON)等时则可阻碍 NH_3 同化，同时组织中谷氨酰胺含量也提高。用 ^{15}N-甘氨酸供给 C_3 植物叶片发现谷氨酰胺先被 ^{15}N 标记，然后才是谷氨酸被标记。缺失 GS 的大麦突变体在空气中生长时叶片中 NH_3 浓度很高，与用 GS 抑制剂 MSO、PPT 分别处理的相同，这是因为光呼吸释放出的 NH_3 未被 GS 同化；用 $^{15}NH_4^+$ + MSO 供给缺失叶绿体 GS 小麦未发现有带 ^{15}N 标记的氨基酸。目前已发现有缺失 GOGAT 的拟南芥、大麦、豌豆突变体，这些突变体在空气中生长时叶中谷氨酰胺迅速累积，氨基酸合成减少；缺失叶绿体 GS 和 Fd-GOGAT 的双突变体大麦在高 CO_2 浓度条件下(光呼吸被抑制)可以生长，一旦暴露于空气中生长即受严重抑制；同时 CO_2 同化速率下降，叶中 NH_3 浓度升高[4]。所有这些均表明，植物体内存在 GS/GOGAT 循环，并且是同化 NH_4^+ 的主要途径。

GS/GOGAT 循环在同化 NH_3 时需不断补充碳架，以满足植物生长对 N 的需求，碳架主要来自 α-戊二酸，因而该酸是连接 C、N 代谢的关键点。虽然 α-戊二酸很重要，但其在亚细胞的来源仍未弄清。通常认为是由细胞质型异柠檬酸脱氢酶(NADP-IDH)催化异柠檬酸脱氢产生，该酶在线粒体、叶绿体和细胞质中均有分布；线粒体三羧酸循环中的异柠檬酸脱氢酶(NAD-IDH)能催化异柠檬酸变为 α-戊酸，因而也可能由线粒体 NAD-IDH 催化提供。Chen 用层析技术和免疫染色技术研究 15 种高等植物的 IDH 后认为，由线粒体

三羧酸循环形成的柠檬酸通过载体进入细胞质后，由位于细胞质的乌头酸酶将其变为异柠檬酸，再由 NADP-IDH 将异柠檬酸变为 α-戊二酸提供 GS/GOGAT 循环碳架[9]。已在玉米中发现线粒体膜上有转运柠檬酸的载体存在，线粒体膜上也有 α-戊二酸载体。有些植物如蕨类、柞树等叶绿体中的 NADP-IDH 活性较高，可能提供叶绿体中 GS/GOGAT 循环的大部分碳架[9]。然而，NADP-IDH 活性仅为野生型 8% 的转基因马铃薯仍能象野生型植株那样正常生长[10]，说明细胞质中的 NADP-IDH 不是限制 GS/GOGAT 循环碳架的关键步骤，还有另外的碳架补偿途径。Park 和 Kahn 已从大豆中分离到 2 种 NADP-IDH 异构体基因，IDH4 和 IDH1，IDH1 主要在叶中表达[11]。Lancien 等给经短期饥饿烟草供给 NO_3^- 或 NH_4^+ 后，其根、叶中线粒体 NAD-IDH 的 RNA 增加，说明 NAD-IDH 也能为 GS/GOGAT 环提供碳架；α-戊二酸水平还能反映不同器官 N 同化能力及体内 C/N 比值变化情况[12]。由此不难看出，GS/GOGAT 循环的碳架可有多种来源。

2　植物各器官 GS/GOGAT 循环特点

2.1　叶片 GS/GOGAT 循环

2.1.1　叶片中的 GS 和 GOGAT　目前已发现高等植物 GS 至少有 2 种形式，即细胞质 GS(GS1)和质体 GS(GS2)，GS2 主要存在于叶绿体基质中，为绿色组织的主要 GS 形式，而 GS1 主要存在于非光合组织内，为非光合组织 GS 的主要形式[13,14]。在 C_3 植物光合组织中，GS2 占大多数，而在 C_4 植物光合组织中 GS1 和 GS2 相当。GS1、GS2 作用不同，GS2 主要是参与同化光呼吸及硝酸盐还原产生的 NH_4^+，而 GS1 在叶片维管组织韧皮部伴胞中分布较多，特别是叶片衰老时 GS1 活性增高，说明 GS1 主要参与 N 素的再转移，如转移到正在生长的器官、组织中；GS1 还可参与脯氨酸的合成，而脯氨酸可作为植物体内 NH_4^+ 突然增多时的临时贮藏物质[3,15]。Ochs 等发现编码油菜（*Brassica napus*）GS 的 3 个基因，1 个为质体 GS(BnGS2)、2 个为细胞质 GS(BnGSR1，BnGSR2)。BnGS2 主要参与同化光呼吸及 NO_3^- 还原产生的 NH_4^+，BnGSR2 参于 N 的再转移、而 BnGSR1 为看家基因即在发育过程中均保持不变[13]。Brugiere 等用基因反义策略研究 GS1 在烟草维管组织中的作用后发现，GS1 在韧皮部的主要作用是调节脯氨酸合成[15]。GS1 由一个小的核多基因家族编码，而 GS2 由单个核基因编码；GS 为八聚体，由一或两条多肽构成，分子量依植物而异[3,4]。

GS 活性受多种因子调节，如光、NO_3^-、NH_4^+、温度等，还受器官特异性和发育调节[3]。叶片韧皮部 GS1 可能受 NH_4^+ 调节，因叶衰老时蛋白质降解后产生 NH_4^+ 诱导韧皮部 GS1 活性增加，这可能是含有调节元件的促进子引起指导 GS 基因表达。水稻叶的 GS1 活性在翻译后水平进行调节[16]。叶绿体 GS2 主要受光、NO_3^-、NH_4^+ 等调节。光对 GS2 的调节极其重要，由色素和蓝光受体参与，主要是在转录和翻译后水平进行调节，如黄化叶片和子叶照光后 GS2 的 mRNA 和酶蛋白均增加；光对翻译后调节包括酶蛋白亚基成分修饰，但修饰的生物机制仍未清楚；GS2 转录控制机理也未弄清[3]。研究表明，光对 GS2 转录调节是通过蔗糖间接进行的，因蔗糖可提高生长在黑暗条件下的拟南芥苗的 GS2 mRNA[3]。基因研究表明，一个 323 bp 含有顺式作用元件的豌豆促进子片段可参与转基因烟草或拟南芥叶肉细胞内人工导入的 GUS 报告基因的光调节[3]。在有光条件下，NO_3^- 也参与 GS2 的表达调控，而 NH_4^+ 似乎对番茄叶 GS2 不起作用，但可提高水稻和烟草叶中的 GS2 mRNA；另外，叶绿体的完整性也对 GS2 有调节作用，如番茄受病菌 *Pseudomonas syringae* 侵染或受 PPT 除草剂处理后，GS2 的 mRNA 和酶蛋白下降，叶自然衰老时 GS2 活性下降[3]。温度能影响豌豆及大麦叶的 GS2；CO_2 能通过光呼吸影响豌豆、菜豆叶中 GS2 的表达[3]。

高等植物叶片 GOGAT 主要存在于质体中，其中 Fd-GOGAT 占总 GOGAT 活性的 96%。Coschiganot 等从拟南芥 *gls* 突变体中发现编码 Fd-GOGAT 的 2 个基因(Glu1 和 Glu2)位于不同的染色体上，Glu1 叶中表达量大，而 Glu2 主要在根中表达；该突变体主要是缺失 Glu1 活性，Glu2 不能补偿失去 Glu1 的活性，造成突变体不能在有光呼吸条件下正常生长[17]。Fd-GOGAT 在叶绿体基质中，主要负责同化光呼吸及 NO_3^- 还原产生的 NH_4^+，而 NADH-GOGAT 在叶片韧皮组织中分布较多，主要参与 N 化合物的转移运输[18]。

Fd-GOGAT 为 Fe-S 蛋白,可占叶蛋白的 1%,分子量依植物而异;大麦叶片 Fd-GOGAT 由一条多肽构成,分子量为 154KDa;Fd-GOGAT 受光调节,光可使叶片 Fd-GOGAT 活性增加,同时酶蛋白及 mRNA 也增加[4,19]。NO_3^- 也能提高 Fd-GOGAT 活性[19]。NADH-GOGAT 在叶中活性较低,因而了解较少。该酶分子量依植物不同也有变化,其在豌豆叶中分子量为 158KDa;光对 NADH-GOGAT 影响不明显,NH_4^+、NO_3^- 可提高其活性[4,19]。

2.1.2 叶片 GS/GOGAT 循环 GS2、Fd-GOGAT 在叶中含量丰富,均位于叶绿体基质中,故叶中的 NH_4^+ 同化主要是由 GS2/Fd-GOGAT 循环进行,这可通过对缺失 Fd-GOGAT 拟南芥突变体以及缺失 GS2、Fd-GOGAT 大麦突变体的研究得到证实[4,17]。光呼吸在线粒体中产生的 NH_3 通过扩散进入细胞质,又通过扩散进入叶绿体中被同化。NO_3^- 被植物根系吸收后,正常情况下,大部分 NO_3^- 通过木质部运到叶中还原为 NH_4^+ 而被 GS2/Fd-GOGAT 循环同化[20]。该循环的 α-酮戊二酸可能来自细胞质中 NADP-IDH 催化异柠檬酸转化,已发现线粒体膜上有柠檬酸转运子[21],也可能来自线粒体三羧酸循环(图 2)。

由于缺失 Fd-GOGAT 的大麦突变体在无光呼吸条件下仍能正常生长,说明叶中的 GS1/NADH-GOGAT 循环也可同化 NO_3^- 还原产生的 NH_4^+。叶中的 GS/GOGAT 循环的调节信号可能是光合产物蔗糖(sucrose)[23]。

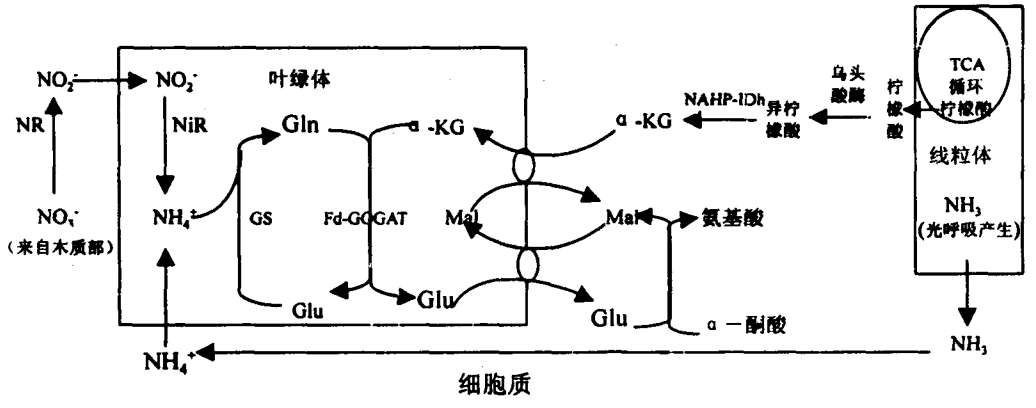

图 2 叶同化 NH_4^+ 的 GS/GOGAT 循环[22]

Fig.2 The GS/GOGAT cycle in leave[22]

(Gln-谷氨酰胺;Glu-谷氨酸;α-KG-α-酮戊二酸;Mal-苹果酸;NR-硝酸还原酶;NiR-亚硝酸还原酶)

2.2 根瘤 GS/GOGAT 循环

豆科植物的根被土壤中的根瘤菌(rhizobia)侵染后向根内形成一个管状结构称为侵染丝(infection threads;ITs),同时在植物根皮层附近的细胞通过有丝分裂形成根瘤原基,侵染丝到达根瘤原基后,细菌就被释放到宿主的细胞质中,细菌经过分化即形成能固 N 类菌体,它利用固 N 酶(Nif)将大气中的 N_2 还原为 NH_3。类菌体被源于植物的环类菌体膜(PBM)包围,PBM 将类菌体和植物细胞质隔开,控制着两共生者间的养分交换。由类菌体、PBM 以及类菌体和 PBM 间的空间(PBS)组成的器官状结构称为共生体,为根瘤固 N 所必需[4,24],根瘤菌和豆科植物共生使植物能在缺 N 的土壤上生长。在根瘤菌和根的相互作用过程中一系列基因被诱导表达,有些在固 N 前表达,有些则在固 N 后表达[24]。根瘤中 N 的同化主要是在被根瘤菌侵染的细胞中进行。

2.2.1 根瘤 GS、GOGAT 酶 根瘤的 GS1 为八聚体蛋白,由 β、γ 两条肽链组成,位于细胞质中,固 N 根瘤

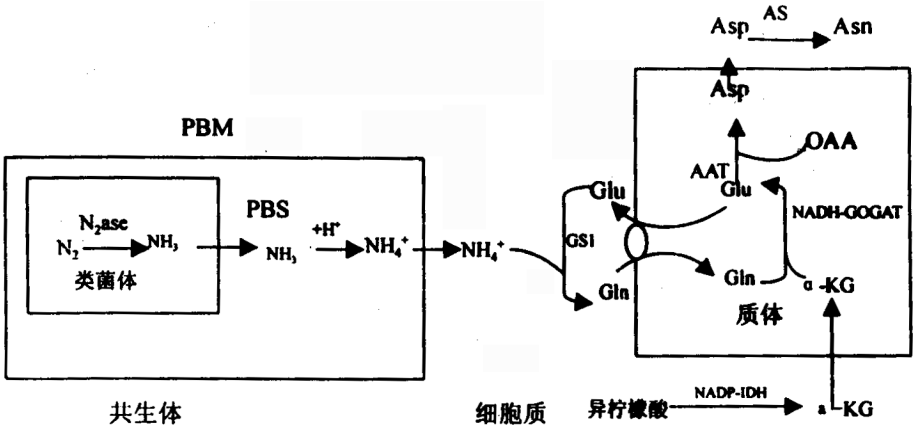

图3 根瘤内GS/GOGAT循环

Fig.3 Nitrogen assimilation via GS/GOGAT cycle in root nodules

(PBM:环类菌体膜;N_2ase:固氮酶;PBS:类菌体和PBM间的空间;Glu:谷氨酸;Gln:谷氨酰胺;α-KG:α-酮戊二酸;Asp:天冬氨酸;Asn:天冬酰胺;AAT:天冬氨酸氨基转移酶;NADP-1DH-NADP:异柠檬酸脱氢酶;AS:天冬酰胺合成酶)

NADH-GOGAT位于根质体内,分子量为200KDa,该基因表达受NH_4^+诱导;低浓度NH_4^+可使水稻幼苗整个根部NADH-GOGAT mRNA酶蛋白及活性增加[34]。用NH_4NO_3或$(NH_4)_2SO_4$处理大豆幼苗时其根的NADH-GOGAT活性、多肽以及mRNA均同时增加[35]。这些表明NADH-GOGAT可能受转录调控,但也不能排除翻译后修饰调控的可能性。NADH-GOGAT专在水稻根尖表面的表皮和外皮层细胞中表达,而且GS1也分布在这些细胞中[36]。Hayakawa等用免疫金标记电子显微技术研究水稻幼苗供NH_4^+后NADH-GOGAT在亚细胞中的定位,结果表明该酶主要分布于根表皮、外皮层细胞、皮层薄壁细胞以及维管薄壁细胞的质体中,说明水稻根尖吸收NH_4^+后即在这些细胞内同化为氨基酸[37]。

根也有Fd-GOGAT存在,且位于质体内,可能由单基因编码。玉米根Fd-GOGAT受NO_3^-诱导,其mRNA与位于质体的硝酸还原酶(NiR)及细胞质中的NR基因表达同时增加,表明这些基因参与根同化NO_3^-[38]。

2.3.2 根GS/GOGAT循环 目前研究水稻根的GS/GOGAT循环较多。NH_4^+被水稻根吸收到根表皮、外皮层细胞后,通过GS1/NADH-GOGAT循环同化为Glu、Gln,这两个氨基酸还可由AAT、AS催化进一步转变为Asp、Asn,经木质部向地上部运输。水稻主要以Gln和Asn向地上部运输。根GS1/NADH-GOGAT的空间分隔情况与根瘤相似,由燕麦叶绿体上存在反向交换Glu和Gln的转运子推测根质体膜上也存在相似的转运子。水稻根中柱对适应厌氧条件的水稻是必须的,而中柱维管薄壁细胞内也有GS1/NADH-GOGAT循环,因而维管薄壁细胞中的GS1/NADH-GOGAT循环可能参与利用由地上部通过维管系统送到根的Gln,以满足根生长所需[37]。水稻根中也有GS2/Fd-GOGAT酶系存在,但施NH_4^+对其活性影响不大,故该循环可能是同化NO_3^-还原产生的NH_4^+[34]。

GS1/NADH-GOGAT循环的调控可能是通过Gln作为信号因子进行,因为用MSO将GS1抑制后施NH_4^+时NADH-GOGAT的mRNA不积累,但提供Gln时有积累,而供给谷氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、丙氨酸和丝氨酸等均不能使NADH-GOGAT的mRNA积累[39]。

玉米等旱地作物,由于旱地中的无机氮多为NO_3^-,因而根吸收的N多为NO_3^-,进入玉米根中的NO_3^-立即被胞质NR还原为NO_2^-,NO_2^-进入质体后被NiR还原为NH_4^+,再由GS2/Fd-GOGAT循环将

NH_4^+ 同化为 Glu、Gln，这两种氨基酸还可进一步转变为 Asn 和 Asp，通过木质部向地上部输送；当给玉米根供给 NH_4^+ 时，GS2、Fd-GOGAT 的 mRNA 均未增加，表明 NH_4^+ 进入玉米根主要通过 GS1/NADH-GOGAT 循环进行同化[39]。

3 展望

由于 N 对农业生产的重要性，N 代谢研究日益受到重视。虽然已发现 GS/GOGAT 循环是植物体内同化 NH_4^+ 的主要途径，但对其调控机制并未完全弄清。Chapin 等认为，植物也能吸收氨基酸态 N[40]，其吸收数量之大将迫使人们对矿质营养理论进行再认识。我们的试验也发现植物能以氨基酸作唯一氮源进行生长[41]，而且氨基酸对一些转氨酶和脱氢酶活性也有影响[42]；但进入体内的氨基酸是否全部或部分通过 GS/GOGAT 循环进行同化，这需在无菌培养条件下进行深入研究。

近代营养科学的发展充分体现出与基因工程技术、现代免疫染色技术和现代植物生理学技术相结合，也只有这种结合所提供的技术支持，才有可能将植物营养理论提高到现代的科学水平。植物营养生理机制被阐明后的进一步利用，必须依靠基因工程技术创造出高效利用营养的新基因型，使科学施肥与创造高效利用营养基因型成为提高肥料利用率的两条主要途径。

参 考 文 献：

[1] Chrispeels M J, Crawford N M, Schoreder J L. Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells[J]. Plant Cell, 1999, 11: 661-675.

[2] Frommer W B, Kwatr M, Hirner B, Fisher W N, Hummel S, Ninnemann O. Transporters for nitrogenous compounds in plants[J]. Plant Mol. Biol., 1994,26: 1651-1670.

[3] Cren M, Hirel B. Glulamine synthetase in higher plant: Regulation of gene and protein expression from the organ to the cell[J]. Plant Cell Physiol., 1999, 40: 1187-1193.

[4]. Lea P J, Blackwell R D, Joy K W. Ammonia assimilation in higher plants[A]. *In*: Meng K and Pilbeam D J (eds.), Nitrogen Melabotism of Plant[C]. Oxford University Press, New York, 1992.153-186.

[5] Melo-oliveira R, Oliveira I C, Coruzzi G M. *Arabidopsis* mutant analysis and gene regulation define a nonredundant role for glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93: 4718-4723.

[6] Lea P J, Miflin B J. Alternative route for nitrogen in higher plants[J]. Nature, 1974, 251: 614-616.

[7] Refouvelet E, Daguin F. Polymorphic glutamate dehydrogenase inlilac vitroplants as revealed by combined preparative IEF and native PAGE: Effect of ammonium deprivation; darkness and atmospheric CO_2 enrichment upon isomerization[J]. Physiol. Plant, 1999, 105: 199-206.

[8] Qusji G O, Madu W C. Ammonium ion salvage by glutamate dehyrogenase during defence response in maize[J]. Phytochemistry, 1996, 42: 1491-1498.

[9] Chen R D. Plant NADP-dependent isocitrate dehydrogenates are predominantly localized in the cytosol[J]. Planta, 1998, 207: 280-285.

[10] Kruse A, Fieuw S, Heiheke D, Muller-Rober B. Antisense inhibition of cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenate in transgenic potato plants[J]. Planta, 1998, 205: 82-91.

[11] Park K S, Kahn M L. Distribution of two isoforms of NADP-dependent isocitrate dehydrogenate in soybean (*Glycine max*)[J]. Plant Mol. Biol., 1999, 40: 13-21.

[12] Lancion M, Ferrario-Mery S, Roux Y, Bismuth E, Masclaux C, Hirel B, Gandal P, Hodges M. Simultaneous expression of NAD-dependent isocitrate dehydrogenase and other krebs cycle genes after nitrate resupply to short-term nitrogen-starved tobacco[J]. Plant Physol., 1999, 120: 717-725.

[13] Ochs G, Schoth G, Trischler M, Kosemund K, Wild A. Complexity and expression of the glutamine synthetase multigene family in the amphidiploid crop *Brassica napus*[J]. Plant Mol. Biol., 1999, 39: 395-405.

[14] Dubois F, Brugiere N, Sangwan R S, Hirel B. Localization of tobacco cytosolic glutamine syntheses enzymes and the corresponding transcripts shows organ-and cell-specific patterns of protein synthesis and gene expression[J]. Plant Mol. Biol., 1996, 31: 803-817.

[15] Brugiere N, Dubois F, Limami A M, Lelamdais M, Roux Y, Sangwan R S, Hirel B. Glutamine syhthetase in the phloem plays a major role in controlling proline preduction[J]. Plant Cell, 1999, 11: 1995-2011.

[16] Obara M, Sato T, Yamaya T. High content cytosolic glutamine synthetase doses not accompany a high activity of the enzyme in rice(*Oryza sativa*)leaves of indica cultivars[J]. Physiol. Plant, 2000,108: 11-18.

[17] Coschigano K T, Melo-Oliveira R, Lim J, Coruzzi G M, Arabidopsis gls mutants and distinct Fd-GOGAT genes: Implications for photorespiration and primary nitrogen assimilation[J]. Plant Cell, 1998, 10: 274-752.

[18] Hayakawa T, Nakamura T, Hattori F, Mae T, Qjima K, Yanaya T. Cellular localization of NADH-dependent glutamate synthase protein in vascular bundles of unexpanded leaf blades and young grains of rice plants[J]. Planta, 1994, 193: 455-460.

[19] Hecht U, Delmueller R, Schmidt S, Mohr H. Action of light, nitrate and ammonium on the levels of NADH-and ferredoxin-dependent Glu synthase in the cotyledons of mustard seedlings[J]. Planta, 1988, 175: 130-138.

[20] Finnemann J, Schioerring J K. Translocation of NH_4^+ in oilseed rape plants in relation to glutamine synthetase isogene expression and activity[J]. Physiol. Plant, 1999, 105: 469-477.

[21] Genchi G, Spagndetta, De Santis A, Stefanizzi L, Palmieri F. Purification and characterization of the reconstitutively active citrate carrier from maize mitochondria[J]. Plant physiol., 1999, 120: 841-847.

[22] Yu J, Woo K C. Glutamine transport and the role of the glutamines translocator in chloroplast[J]. Plant Physiol., 1988, 88: 1048-1054.

[23] Morcuende R, Krapp A, Hurry V, Stitt M. Sucrose-feeding leads to increased rates of nitrate assimilation, increased rates of α-oxoglutarate synthesis, and increased synthesis of a wide spectrum of amino acids in tobacco leaves[J]. Planta, 1998, 206: 304-409.

[24] Mylona P, Pawlowkik, Bisseling T. Symbiotic nitrogen fixation[J]. Plant Cell, 1995, 7: 869-885.

[25] Temple SJ, Bagga S, Sengupta-Gokpalan C. Downregulation of specific members of the glutamine synthetase gene family in alfalfa by antisense RNA technology[J]. Plnant Mol. Biol., 1998, 37: 535-547.

[26] Temple S J, Heard J, Ganit G, Duun K, Sengupta-Gopalan C. Characterization of a nodule-enhanced glutamine synthetase from alfalfa: Nucleotide sequence, in situ localization, and transcript analysis[J]. Mol. Plant-Microbe Interact., 1995, 8: 218-227.

[27] Terce-Laforgue T, Carrayol E, Cren M, Desbrosses G, Hecht V, Hirel B. A strong constitutive positive element is essential for the ammonium-regulated expression of a soybean gene encoding cytosolic glutamine synthetase[J]. Plant Mol. Biol., 1999, 39: 551-564.

[28] Chen F L, Cullimore J V. Localization of two isoenzymes of NADH-dependent Glu synthase in root nodules of *Paseolus vulgaris* L[J]. Planta, 1989, 179: 441-447.

[29] Trepp G B, Temple S J, Bucciarelli B, Shi L F, Vance C P. Expression map for genes involved in nitrogen and carbon metabolism in alfalfa root nodules[J]. MPMI, 1999, 12: 526-535.

[30] Trepp G B, van de Mortel M, Yoshioka H, Miller S S, Samac D A, Gantt J S, Vance C P. NADH-Glu synthase in alfalfa root nodules: Genetic regulation and cellular exprssion[J]. Plant Physiol., 1993, 119: 817-828.

[31] Kaiser B N, Finnegan P M, Tyerman S D, Whitehead L F, Bergerwsen F J, Day D A, Udvardi M K. Characterization of an ammonium transport protein from the peribacteroid membrane of soybean nodules[J]. Science, 1998, 281: 1202-1206.

[32] Robinson D L, Kahn M l, Vance C P. Cellular localization of nodule-enhanced aspartate amino transferase in *Medicago sative* L[J]. Planta, 1994, 192: 202-210.

[33] Sakakibara H, Shimizu H, Hase T, Yamazaki Y, Takao T, Shimonishi Y, Sygigama T. Molecular identification and characterization of cytosolic isoforms of glutamine synthetase in maize Roots[J]. J. Biol. Chem., 1996, 271: 29561-29568.

[34] Yamaya T, Tanno H, Hirose N, Watanabe S, Hayakawa T. A supply of nitrogen cause increase in the level of NADH-dependent glutamate synthase protein and in the activity of the enzyme in roots of rice seedlings[J]. Plant Cell Physiol., 1995, 36: 1197-1204.

[35] Turano F J, Muhitch M J. Differential accumulation of ferrdeoxin- and NADH-dependent glutamate synthase activities, peptides, and transcripts in developing soybean seedlings in response to light, nitrogen, and nodulation[J]. Physiol. Plant, 1999, 107: 407-418.

[36] Ishiyama K, Hayakawa T, Yamaya T. Expression of NADH-dependent glutamate synthase protein in the epidermis and exodermis of rice roots in response to the supply of ammonium ions[J]. Planta, 1998, 204: 288-294.

[37] Hayakawa T, Hopkins L, Peat L J, Yamaya T, Tobin A K. Quantitative Intercellular localization of NADH-dependent glutamate synthase protein in different types of root cells in rice plants[J]. Plant Physiol., 1999, 119: 409-416.

[38] Redinbaugh M G, Campbell W H. Glutamine synthetase and ferredoxin-dependent glutamate synthase expression in the maize(*Zea mays*)root primary response to nitrate: Evidence for an organ-specific response[J]. Plant Physiol., 1993, 101: 1249-1255.

[39] Hirose N, Hayakawa T, Yamaya T. Inducible accumulation of mRNA for NADH-dependent glutamate synthase in rice roots in response to ammonium ions[J]. Plant Cell Physiol., 1997, 38: 1295-1297.

[40] Chapin F S, Moilanedn L, kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhixal article sedge [J]. Nature, 1993, 316: 150-153.

[41] 吴良欢，陶勤南．植物有机营养无菌培养试验方法的研究与应用[J]．土壤学报，1999，36：551-558.

[42] 吴良欢，陶勤南．水稻氨基酸态氮营养效应及其机制研究[J]．土壤学报，2000，37：464-473.

Research advances on GS/GOGAT cycle in higher plants

MO Liang-yu, WU Liang-huan, TAO Qin-nan

(*College of Environ. and Resour. Sci., Zhejiang Univ., HangZhou 310029, China*)

Abstract: The aims of this article are to review recent studies on ammonium assimilation via the GS/GOGAT cycle in higher plants. More than 95% of the ammonium, derived from various metabolisms and uptake from soil, are thought to be assimilated via GS/GOGAT cycle. GS and GOGAT can be found in leave, nodules and roots. The role of GS/GOGAT cycle is to assimilate the ammonium from photorespiration and nitrate reduction in leave, the ammonium from nitrogen fixation in nodule and the ammonium from absorption by roots from soil and nitrate reduction in roots. The regulatory mechanisms of the GS/GOGAT cycle are not clear. But the advances of gene engineering technology, immunocyto-chemistry and modern physiological technology can help us to better understand the regulatory mechanisms of the GS/GOGAT cycle. With modern biotechnology held, the plant nutrition studies can expand more. To better understand the regulatory mechanisms of the GS/GOGAT cycle is essential to adequately apply nitrogen fertilizer and improve plant nitrogen use efficiency.

Key words: higher plant; GS/GOGAT cycle; ammonium assimilation