

# 低等生物谷氨酸脱氢酶基因用于作物遗传改良的研究进展

龚茵茵, 燕璐, 林建中\*, 刘选明\*

(湖南大学 生物学院 植物功能基因组学与发育调控湖南省重点实验室, 中国湖南 长沙 410082)

**摘要:** 谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GDH)是生物体中普遍存在的氮代谢相关酶。高等植物 GDH 因对  $\text{NH}_4^+$  的亲合力较低而在氨同化过程中仅起辅助作用,但在碳氮代谢、光呼吸和逆境响应中起着重要作用。低等生物 GDH 对  $\text{NH}_4^+$  的亲合力高,氨同化能力强,可异源表达于作物中以提高其氮素利用效率。本文对低等生物 GDH 基因用于作物遗传改良的研究进展进行了综述,重点综述了其在提高作物氮素利用效率和耐逆境性,以及改善作物营养品质等方面的研究,并对 GDH 的作用机制、选择标准和应用前景提出了进一步展望。

**关键词:** 谷氨酸脱氢酶(GDH); 氮素利用效率; 逆境胁迫; 遗传改良; 作物

中图分类号: Q945.13

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2021)01-0031-08

## Research Advances on Glutamate Dehydrogenase Genes of Lower Organisms for Crop Genetic Improvement

GONG Yin-yin, YAN Lu, LIN Jian-zhong\*, LIU Xuan-ming\*

(College of Biology, Hunan Province Key Laboratory of Plant Functional Genomics and Developmental Regulation, Hunan University, Changsha 410082, Hunan, China)

**Abstract:** Glutamate dehydrogenase (GDH) is a common nitrogen metabolism-related enzyme in organisms. GDHs of higher plants only play a complementary role in ammonia assimilation due to their lower affinity for  $\text{NH}_4^+$ , but play an important role in carbon and nitrogen metabolism, photorespiration and stress response. GDHs of lower organisms have a higher affinity for  $\text{NH}_4^+$  and a stronger ability of ammonia assimilation, so they can be heterologously expressed in crops to improve the nitrogen utilization efficiency. Herein, the research progresses in the application of GDH genes derived from lower organisms in crop genetic improvement are summarized. The researches on GDHs of lower organisms in enhancing the nitrogen utilization efficiency and stress tolerance as well as improving the nutritional quality of crops are mainly reviewed. Meanwhile, prospects for functional mechanisms, selection criteria and application of GDHs are put forward.

**Key words:** glutamate dehydrogenase (GDH); nitrogen utilization efficiency; adversity stress; genetic modification; crop

(Life Science Research, 2021, 25(1): 031~038)

氮是氨基酸、蛋白质、核酸、植物激素、叶绿素的重要组分,是植物生长发育的必需元素之一,

在植物的生长发育过程中发挥着重要作用。植物的氮源主要来自土壤中的有机氮和无机氮,而有

收稿日期: 2020-02-26; 修回日期: 2020-04-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31571635, 31871595); 湖南省科技重大专项(2018NK1010); 湖南省自然科学基金资助项目(2017JJ2042); 长沙市科技计划项目(kq1801001, kq1701028); 杂交水稻国家重点实验室(湖南杂交水稻研究中心)开放课题(2019KF02); 广西水稻遗传育种重点实验室开放课题(2018-05-Z06-KF05)

作者简介: 龚茵茵(1995—), 女, 湖南常德人, 硕士研究生; 燕璐和龚茵茵对本文的贡献相同, 为本文共同第一作者; \* 通信作者: 林建中(1975—), 男, 湖南会同人, 博士, 湖南大学副教授, 主要从事植物生理与分子生物学研究, Tel: 0731-85227502, E-mail: jianzhlin@hnu.edu.cn; 刘选明(1963—), 男, 湖南邵阳人, 博士, 湖南大学教授, 主要从事植物功能基因组学研究, Tel: 0731-88821721, E-mail: xmL05@hnu.edu.cn.

机含氮化合物大多数不是水溶性的,通常不能直接被利用,只有氨基酸、酰胺和尿素等水溶性的有机氮化合物能够被吸收<sup>[1]</sup>。因此,以铵盐( $\text{NH}_4^+$ )和硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )为主要形式的无机氮是植物最主要的氮来源<sup>[2]</sup>。植物通过其特定的转运蛋白以主动运输的方式将  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  等矿物质营养元素吸入体内。在长期进化过程中,植物根据环境和自身需求的不同,形成了对氮具有不同亲和力的转运蛋白和相应的调控机制<sup>[3]</sup>。另外,在不同的植物以及植物的不同生长阶段,其对  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  的需求比例也不同。例如,水稻以吸收  $\text{NH}_4^+$  为主,且在幼穗分化期是氮的吸收高峰<sup>[4]</sup>。植物吸收的  $\text{NH}_4^+$  可直接参与合成氨基酸,但吸收的  $\text{NO}_3^-$  必须经过代谢还原转变为  $\text{NH}_4^+$  才能被利用<sup>[5]</sup>。因此,  $\text{NH}_4^+$  相对于  $\text{NO}_3^-$  在植物氮的同化利用中更有优势,研究植物体内  $\text{NH}_4^+$  的同化过程并提高其同化利用效率的工作意义重大。

在高等植物体内,  $\text{NH}_4^+$  的同化一般认为有两条途径:一条是  $\text{NH}_4^+$  由谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS; EC 6.3.1.2)/谷氨酸合成酶(glutamate synthase, GOGAT; EC 1.4.7.1)循环途径合成谷氨酰胺(glutamine, Gln);另一条途径是  $\text{NH}_4^+$  与  $\alpha$ -酮戊二酸( $\alpha$ -ketoglutarate, 2-OG)通过谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GDH; EC 1.4.1.2~4)的作用生成谷氨酸(glutamate, Glu)<sup>[6]</sup>(图1)。在高等植物中,由于 GDH 对  $\text{NH}_4^+$  的亲合力较低,因此 GS/GOGAT 途径是其  $\text{NH}_4^+$  同化的主要途径, GDH 途径仅为辅助性支路途径<sup>[2]</sup>。然而让人惊讶的是,在

低等生物(如细菌、真菌和低等藻类)中,其 GDH 对  $\text{NH}_4^+$  的亲合力很高,在  $\text{NH}_4^+$  的同化中发挥着重要作用<sup>[7]</sup>。

随着转基因技术的广泛应用,原有物种间的生殖隔离已被打破,外源基因的转入成为可能。直接在基因水平进行植物的定向遗传改造和功能研究,不仅发掘和鉴定了大量优质基因,解析了其内在的生理和分子机理,而且为作物的遗传育种提供了基因资源和理论指导。因此,将任意来源的优质基因转入作物以定向遗传改造,为作物的遗传性状改良和优良材料(品种)创制提供了新的思路和技术手段。由于低等生物的 GDH 对  $\text{NH}_4^+$  的亲合力显著高于高等植物,研究者们利用基因工程手段在作物中异源表达低等生物的 GDH 基因,提高作物的氮素利用率,以培育在低氮栽培条件下能够高产或稳产的作物新品种。其中一些作物新品种的耐逆性和品质由于低等生物 GDH 基因的转入被显著提高。本文对近年来在作物中异源表达低等生物 GDH 基因的相关研究进行综述,并对该领域后续相关研究提出了进一步的展望。

## 1 GDH 的生化特性

GDH 是生物界中广泛存在的一种多聚酶。目前已知的 GDH 可分为六聚体和四聚体两大类。六聚体 GDH 分布极为广泛,在细菌、真菌、高等动植物中均有报道,而四聚体 GDH 仅发现于几种酵母中。植物体内的 GDH 以六聚体的形式存在,由  $\alpha$ 、 $\beta$  亚基组成,共有  $6\alpha$ 、 $5\alpha:1\beta$ 、 $4\alpha:2\beta$ 、 $3\alpha:3\beta$ 、 $2\alpha:4\beta$ 、

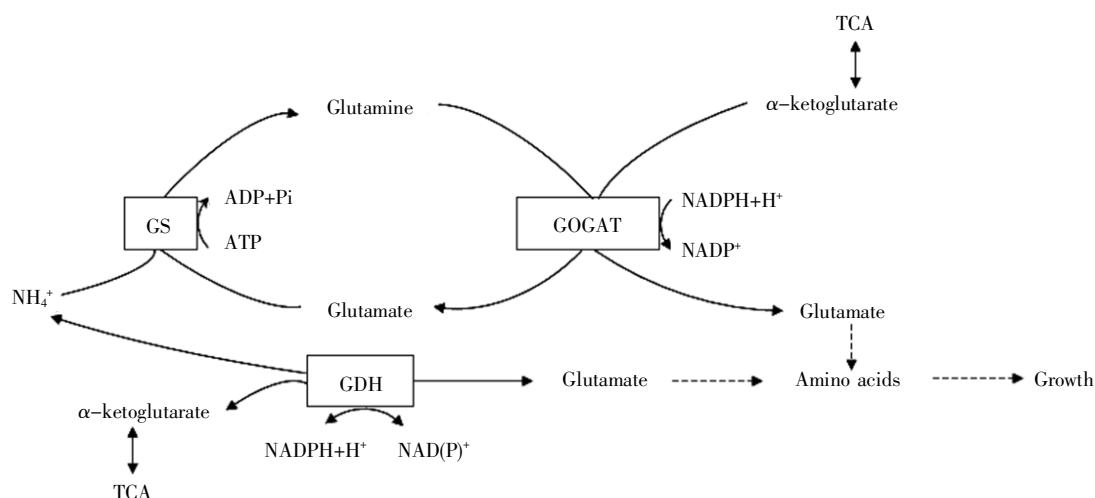


图1 植物氨同化代谢途径

GDH: 谷氨酸脱氢酶; GS: 谷氨酰胺合成酶; GOGAT: 谷氨酸合成酶; TCA: 三羧酸循环。

Fig.1 Ammonia assimilation pathway in plants

GDH, glutamate dehydrogenase; GS, glutamine synthetase; GOGAT, glutamate synthase; TCA, tricarboxylic acid cycle.

1 $\alpha$ :5 $\beta$  和 6 $\beta$  等 7 种同工酶<sup>8</sup>。在 NAD(P)H 作为辅助因子的情况下, GDH 催化 2-OG 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的可逆氨化生成 Glu 的反应: 2-OG + NAD(P)H + NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + H<sup>+</sup>  $\rightleftharpoons$  L-Glu + NAD(P)<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O<sup>9</sup>。GDH 因辅酶不同而分为 NAD(H) 依赖型 GDH [NAD(H)-GDH; EC 1.4.1.2] 和 NADP(H) 依赖型 GDH [NADP(H)-GDH; EC 1.4.1.4]。NAD(H)-GDH 主要存在于线粒体, 在细胞质中也有发现<sup>8</sup>, 而 NADP(H)-GDH 存在于线粒体和叶绿体<sup>9</sup>。水稻中共有 4 个 *GDH* 基因(*OsGDH1*、*OsGDH2*、*OsGDH3* 和 *OsGDH4*), 除 *OsGDH4* 编码的蛋白质属于 NADP(H)-GDH 外, 其余基因编码的蛋白质均属于 NAD(H)-GDH 型<sup>10</sup>。

在高等植物中, GDH 和 GS 都是最初同化 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的酶, 但是 GDH 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的亲合力比 GS 低, 说明 GDH 只有在 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 浓度较高时才能将其同化为谷氨酸<sup>11</sup>。因此, 高等植物对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的同化以 GS/GOGAT 途径为主, 而 GDH 途径仅起辅助作用(图 1)。不同于高等植物, 在低等生物中, GDH 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的亲合力较高<sup>12</sup>。例如, 水稻 *OsGDH4* 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的米氏常数( $K_m$ )为(12.43 $\pm$ 1.84) mmol/L, 而稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)的 MgGDH 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的  $K_m$  为(0.67 $\pm$ 0.05) mmol/L<sup>10</sup>, 鲍鱼菇(*Pleurotus cystidiosus*)的 Pc-GDH 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的  $K_m$  为(3.73 $\pm$ 0.23) mmol/L<sup>13</sup>。由此说明, 低等生物 GDH 在 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的同化过程中起着重要作用, 可以在较低浓度时顺利同化 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 其 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的同化效率显著大于高等植物 GDH。因此, 近年来将低等生物 *GDH* 基因用于改良作物对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的同化效率备受关注。然而比较遗憾的是, 导致高等植物和低等生物 GDH 对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 亲合力有如此大差异的具体机制没有相关报道。

## 2 GDH 的生理功能

碳和氮是植物所必需的元素, 植物在生长过程中需要维持碳氮代谢的平衡, 而 2-OG 是一种连接碳氮代谢的重要中间产物<sup>14</sup>。由于 GDH 可催化 2-OG 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的还原氨化生成谷氨酸, 同时也可将谷氨酸氧化脱氨生成 2-OG 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (图 1), 因此 GDH 在维持碳氮代谢平衡中发挥重要作用。另外, GDH 还参与了光呼吸过程中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的回收利用, 以及逆境胁迫下细胞内过量积累 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的同化。

### 2.1 GDH 在维持碳氮代谢平衡中的作用

碳氮代谢联系密切, 碳代谢为氮代谢提供代谢需要的碳源和能量, 而氮代谢同时又为碳代谢提供酶和光合色素<sup>15-16</sup>。两者协调程度不仅影响植

物生长发育进程, 而且很大程度上决定于物质的积累量。在 GDH 催化的氨同化反应中, 碳骨架 2-OG 和还原力 NAD(P)H 都需要碳代谢来提供, 而 GDH 能够提高氮同化能力, 进而增加酶及叶绿素的量, 间接影响碳同化。因此, GDH 在维持碳氮代谢平衡中起着重要作用。目前, 普遍认为 GDH 具有双重功能: 当外部环境含有过量无机氮源时, GDH 行使 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的同化功能; 当植物缺少有机碳源时, 如处于黑暗而不能进行光合作用, GDH 通过脱氨作用分解谷氨酸产生 2-OG, 为三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)提供碳骨架<sup>17</sup>。Stewart 等<sup>18</sup>报道, 玉米 GDH 通过催化氧化脱氨作用, 将谷氨酸分解为 2-OG 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 在蛋白质水解释放氮的再循环中起着重要作用。在种子萌发和组织衰老等碳源受限的情况下, 细胞需要通过蛋白质的水解维持碳氮平衡。蛋白质水解产生的氨基酸通过转氨作用转化为谷氨酸, 谷氨酸经脱氨作用生成 2-OG 参与碳循环。此外, 在胺酰转化成为谷氨酰胺和天门冬酰胺的过程中也有 GDH 的参与。Melo-Oliveira 等<sup>19</sup>发现, 拟南芥在黑暗或碳源(蔗糖)供给受限时 *GDH1* 的 mRNA 大量积累, 而光照或添加蔗糖则会抑制 *GDH1* 的 mRNA 积累; 在光照条件下生长的植株, 其叶片 *GDH1* 的 mRNA 维持在较低水平, 但用 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 处理可以诱导其增加, 表明 GDH 在碳氮代谢平衡中起着重要的调控作用。

### 2.2 GDH 在光呼吸中的作用

在植物生长过程中, 光呼吸与光合作用相伴而生。与光合作用相反, 光呼吸在吸收 O<sub>2</sub> 的同时释放 CO<sub>2</sub>, 是植物体内仅次于光合作用的代谢流<sup>20</sup>。光呼吸是发生在叶绿体、过氧化物酶体和线粒体等 3 个不同细胞器中的代谢循环, 参与了植物的能量代谢和碳氮代谢, 包括一些复杂的初级代谢网络, 如光合作用、氨基酸代谢、三羧酸循环(TCA)和卡尔文循环(Calvin cycle)等<sup>21</sup>。C<sub>3</sub> 植物的光呼吸实际上是乙醇酸代谢途径, 在叶绿体中形成的乙醇酸转至过氧化物酶体, 经乙醇酸氧化酶催化, 被氧化成乙醛酸和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 后者由过氧化氢酶催化分解成 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>。乙醛酸经转氨酶作用变成甘氨酸, 然后转运至线粒体。在线粒体中, 2 分子甘氨酸发生氧化脱羧和羟甲基转移反应转变为 1 分子丝氨酸, 并产生 NADH 和 NH<sub>3</sub>, 释放出 CO<sub>2</sub>。丝氨酸转运回过氧化物酶体, 并与乙醛酸进行转氨作用, 形成羟基丙酮酸, 后者在甘油酸脱氢酶作用下还原为甘油酸。最后, 甘油酸回至叶绿体, 在甘

油酸激酶的作用下生成 3-磷酸甘油酸, 进入卡尔文循环, 经过一连串复杂的反应后再生成核酮糖-1,5-二磷酸, 重复下一次  $C_2$  循环<sup>[22]</sup>。在光呼吸过程中, 线粒体中经甘氨酸脱羧酶催化产生的  $CO_2$  和  $NH_3$ , 在叶绿体中分别被核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase, Rubisco)和 GS/GOGAT 途径重新固定和利用<sup>[23]</sup>。在高等植物中, 目前认为叶绿体对  $NH_4^+$  最初的同化是由质体谷氨酰胺合成酶(GS2)/铁氧还蛋白依赖型 GOGAT (Fd-GOGAT) 途径来完成的, GDH 起着补充和辅助的作用<sup>[24]</sup>。当叶绿体中的 GS2/Fd-GOGAT 途径受到抑制时, GDH 则参与对  $NH_4^+$  的再固定和利用<sup>[25]</sup>。由于线粒体中的甘氨酸氧化脱羧基过程会积累大量的  $NH_4^+$ , 而 GDH 可以同化  $NH_4^+$  并解除细胞内氨毒害, 我们推测 GDH 在植物光呼吸中也具有重要功能。然而比较遗憾的是, GDH 在植物光呼吸中的作用研究较少, 其具体功能及调控机制仍不清楚。

### 2.3 GDH 在逆境响应中的作用

植物不可避免地会遭受到各种不良环境胁迫, 其中多种不利环境因素(如高温、低温、干旱、高盐和病虫害等)会严重威胁植物的正常生长, 这导致一些重要粮食和经济作物的产量受损<sup>[26]</sup>。当处于逆境胁迫条件下时, 植物会启动一系列生理生化机制来响应各种环境胁迫, 如: 增强蛋白水解酶活性; 促进蛋白质的降解; 增加胞内小分子物质含量; 提高胞内渗透压, 从而增强胁迫耐受力。其中, 蛋白质降解过程会产生大量的  $NH_4^+$ , 而  $NH_4^+$  积累会引起细胞毒害, 因此提高细胞内  $NH_4^+$  的同化能力是减轻胁迫后果的一个胁迫应对机制<sup>[27-28]</sup>。GDH 虽然可催化还原氨化和氧化脱氨的可逆反应, 但是在非正常生长条件下, GDH 更趋向于催化还原氨化(即氨同化)反应<sup>[29]</sup>。有研究证明, 在衰老的叶片中 GS 和 GOGAT 的含量减少而 GDH 积累, 并且 GDH 的活性大大提高<sup>[30-31]</sup>。与此相一致, 在盐胁迫条件下, 与盐敏感水稻品种相比, 耐盐水稻 GDH 的氨同化活性更高<sup>[32]</sup>。在耐铵盐豌豆品种 *Pisum sativum* 中, 根部 GDH 的氨化活性也显著高于对照组<sup>[33]</sup>。大量研究表明, 在逆境条件下植物细胞中 GDH 的氨同化活性增强, 从而可以将细胞内因蛋白质水解产生的过量  $NH_4^+$  同化为谷氨酸, 有效缓解或消除植物体内的毒害作用, 增强植物的耐逆性<sup>[14]</sup>。因此, GDH 也被认为是植物体内的一种逆境响应酶, 参与了逆境胁迫

或胞内高  $NH_4^+$  条件下植物体内过量  $NH_4^+$  的再次同化<sup>[14]</sup>。另外, 脯氨酸的积累在植物非生物胁迫响应和渗透调节中起着重要作用<sup>[34]</sup>, 而谷氨酸是脯氨酸生物合成途径中的主要前体<sup>[35]</sup>。在胁迫条件下, GDH 催化 2-OG 和  $NH_4^+$  形成谷氨酸, 从而促进脯氨酸的合成, 既减少了细胞内  $NH_4^+$  的积累, 又增加了脯氨酸的含量, 从而显著增强了植物的耐逆性<sup>[34]</sup>。GDH 的氨同化能力使得其在植物逆境胁迫中发挥着重要的作用, 其氨同化能力的大小与植物的耐逆性呈正相关。有意思的是, Toyota 等<sup>[36]</sup>报道, 谷氨酸在拟南芥中作为一种受伤信号分子迅速启动植物的防御信号转导, 诱导下游参与防御反应的基因表达。GDH 作为催化谷氨酸合成的重要酶类, 肯定也会参与该防御反应的调控, 但是其具体机制仍鲜见报道。

## 3 低等生物 GDH 基因在作物遗传改良中的应用

在高等植物中, 尽管 GDH 在碳氮代谢平衡、光呼吸和逆境响应等生理功能中起着重要作用, 但是对  $NH_4^+$  的亲合力较低使得其始终处于 GS/GOGAT 途径的补充和辅助地位。与之相反, 在低等生物中, GDH 对  $NH_4^+$  的亲合力较高, 其氨同化能力显著高于高等植物 GDH。因此, 近年来借助基因工程手段将外源的低等生物 GDH 基因异源表达于作物以改良其性状的研究越来越受到关注。目前, 在作物遗传改良中研究者主要利用了低等生物 GDH 对  $NH_4^+$  的高亲合力和高同化效率特性, 其相关研究和探索主要集中在提高作物的氮素利用率和非生物胁迫耐受性, 以及改良作物品质等方面(表 1)。需要特别说明的是, 虽然 GDH 在生物体中能同时可逆催化谷氨酸的合成和分解, 但是 NADP(H)-GDH 主要催化谷氨酸的合成, 而 NAD(H)-GDH 则主要催化谷氨酸的分解<sup>[13, 37]</sup>。因此, 用于作物遗传改良的低等生物 GDH 主要为 NADP(H)-GDH, 其本质是提高作物体内的氨同化效率。

### 3.1 低等生物 GDH 基因用于提高作物氮素利用率

低等生物 GDH 对  $NH_4^+$  的亲合力显著高于高等植物 GDH。例如, 目前已知真菌 GDH 对  $NH_4^+$  的  $K_m$  为 0.2~4.5 mmol/L<sup>[10, 12]</sup>, 而已知高等植物 GDH 对  $NH_4^+$  的  $K_m$  为 10~80 mmol/L<sup>[38]</sup>。与高等植物相比, 低等生物 GDH 对氮素(主要为  $NH_4^+$ )的利用率更高, 这意味着在低浓度条件下其仍能正常同化

环境中的  $\text{NH}_4^+$ 。因此,近年来许多低等生物 *GDH* 基因被异源表达于作物以提高氮素利用效率,用于培育低氮肥需求而高产或稳产的遗传改良新材料(品种)。细菌 *GDH* 基因是最早用于提高作物氮肥利用率的外源基因。1999 年,Lightfoot 等<sup>[39]</sup>将大肠杆菌(*Escherichia coli*)的 *gdhA* 基因异源表达于烟草中,发现其转基因植株的氮素利用效率显著提高。王芳等<sup>[40]</sup>将中间脉孢霉(*Neurospora intermedia*)的 *NiGDH* 基因转入烟草,发现其转基因烟草能在低氮条件下正常生长。黄国存等<sup>[41]</sup>将小球藻(*Chlorella sorokiniana*)的 *NADP(H)-GDH* 基因转入烟草,发现其转基因烟草在低氮培养基中的生长速度和叶片数明显高于对照。Egami 等<sup>[42]</sup>将构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)的 *NADP(H)-GDH* 基因 *gdhA* 过量表达于马铃薯,发现在低氮条件下其转基因马铃薯块茎的碳和氮含量增加,且 *gdhA* 的过量表达能显著增加块茎干物质,并能提高马铃薯的氮素利用效率。

对起源于沼泽地的重要粮食作物水稻来说,其吸收和同化的氮素主要为  $\text{NH}_4^+$ ,因此近年来将真菌 *GDH* 基因用于改良水稻氮素利用效率成为研究热点。2010 年,Abiko 等<sup>[43]</sup>首次将黑曲霉(*Aspergillus niger*)的 *gdhA* 基因过量表达于水稻中,其转基因株系的氮素利用率显著提高,干重、含氮量和籽粒产量在正常栽培条件下均显著提高,但是在低氮条件下并没有明显改善。随后,我们研究组将埃伦柱孢(*Cylindrocarpum ehrenbergii*)的 *CeGDH* 基因转入水稻,发现其转基因株系能显著提高  $\text{NH}_4^+$  的同化效率,并提高在低氮栽培条件下的有效分蘖数、有效穗数和单株产量<sup>[37]</sup>;同样,分别将谢瓦散囊菌(*Eurotium cheralieri*)的 *EcGDH* 基因<sup>[44]</sup>和毛束霉属(*Trichurus*)的 *TrGDH* 基因<sup>[45]</sup>转入水稻,发现 *EcGDH* 和 *TrGDH* 转基因水稻株系的  $\text{NH}_4^+$  同化效率显著提高,苗期的湿重、干重和氮含量也均显著提高,尤其在低氮栽培条件下的有效穗数、千粒重和单株产量均显著高于未转化对照。另外,我们还将芸蓼生链格孢菌(*Alternaria brassicicola*)的 *AbGDH* 基因转入水稻,发现其转基因株系的氮素利用效率显著提高,在低氮水培条件下其幼苗的生长得到显著改善,湿重和干重也显著提高,遗憾的是没有测定其成熟期的农艺性状<sup>[11]</sup>。此外,我们将鲍鱼菇(*P. cystidiosus*)的 *PcGDH* 基因转入水稻,发现其转基因株系的氮素利用效率提高明显,在低氮水培条件下的幼苗生长良好,但是在

低氮栽培中并没有显著改善其产量<sup>[13]</sup>。总之,低等生物 *GDH* 基因确实能够提高作物的氮素利用效率,有些 *GDH* 基因还能够提高低氮栽培条件下的作物产量,具有良好的应用前景。值得注意的是,并不是所有异源表达的低等生物 *GDH* 基因均能提高作物产量,这可能与该 *GDH* 基因的来源物种及其所编码蛋白质本身的理化性质有关。

### 3.2 低等生物 *GDH* 基因用于提高作物耐逆性

植物在逆境胁迫下会增强蛋白水解酶活性,促进蛋白质降解而产生大量  $\text{NH}_4^+$ 。如果积累的过量  $\text{NH}_4^+$  不能得到及时清除,将会导致严重的细胞内氨毒害<sup>[27-28]</sup>。*GDH* 被认为是植物体内的一种逆境响应酶,可通过同化胁迫下产生的过量  $\text{NH}_4^+$  而解除细胞内的氨毒害<sup>[14]</sup>。由于低等生物 *GDH* 同化  $\text{NH}_4^+$  的效率比高等植物内源 *GDH* 更高,因此低等生物 *GDH* 基因也被用于改良作物的耐逆性。Nolte 等<sup>[46]</sup>将大肠杆菌(*E. coli*)的 *gdhA* 基因转入烟草,发现其转基因植株能够提高对除草剂草铵膦(phosphinothricin)的耐受性。后来,Lightfoot 等<sup>[47]</sup>将该 *gdhA* 基因转入玉米,发现其转基因植株在明显缺水季节里的萌发率和生物产量均高于未转化对照,说明其耐旱性显著增强。我们研究组将核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)的 *SsGDH* 基因转入水稻,发现其转基因株系的  $\text{NH}_4^+$  同化效率显著提高,同时也提高了对除草剂草铵膦的耐受性。但让人意外的是,在正常水培条件下 *SsGDH* 转基因幼苗的生长被显著抑制,苗长、湿重和干重均比未转化对照显著降低<sup>[12]</sup>。同样,我们将稻瘟病菌(*M. grisea*)的 *MgGDH* 基因转入水稻,发现其转基因株系的耐旱性显著增强。在干旱胁迫条件下, *MgGDH* 转基因水稻体内  $\text{NH}_4^+$  的含量显著低于未转化对照,小分子物质如脯氨酸和可溶性糖的含量也显著升高<sup>[10]</sup>。该结果说明,外源 *MgGDH* 能有效消除水稻体内的氨毒害,同时积累的脯氨酸和可溶性糖也提供了一定程度的渗透保护,从而提高了水稻的耐旱性。值得指出的是,我们发现只有少部分真菌的 *GDH* 基因能有效改良作物的抗逆性。例如, *EcGDH* 转基因水稻的耐旱性虽然比未转化对照有所提高,但是低于 *MgGDH* 转基因水稻。最近,谷氨酸被发现可以作为一种受伤信号分子启动植物的防御反应,使植物逃避伤害或驱赶植食性昆虫<sup>[36]</sup>。其实,在低等生物 *GDH* 转基因作物中有大量谷氨酸累积,其对作物生物胁迫抗性的影响是一个非常有趣的研究点。遗憾的是,迄今尚未见

相关报道。

### 3.3 低等生物 GDH 基因用于改良作物的营养品质

由于低等生物 GDH 对  $\text{NH}_4^+$  的同化效率比高等植物更高, 所以其不仅能将更多  $\text{NH}_4^+$  同化固定于谷氨酸, 而且谷氨酸还可将其获得的  $\text{NH}_4^+$  用于其他氨基酸和蛋白质的合成。另外, 用于作物遗传改良的低等生物 GDH 主要为 NADP(H)-GDH, 在细胞中主要催化 2-OG 和  $\text{NH}_4^+$  形成谷氨酸, 从而使遗传改良作物中的总氮含量显著提高。因此, 低等生物 GDH 转基因作物在提高氮素利用效率的同时, 还可促进组织器官中谷氨酸、其他氨基酸以及蛋白质含量的显著提高, 从而提高作物的氨基酸和蛋白质含量, 改善作物营养品质。Kisaka 等<sup>[48]</sup>将构巢曲霉(*A. nidulans*)的 *gdhA* 基因过量表达于番茄, 使得果实中游离氨基酸总量比未转化对照高 2~3 倍。后来, Egami 等<sup>[42]</sup>将该 *gdhA* 基因过量表达于马铃薯, 发现 *gdhA* 转基因马铃薯叶片在开花期的光合作用速率和可溶性蛋白质浓度都会增加。我们研究组也发现, 真菌 GDH 转基因水稻在提高氮素同化效率的同时, 其植株中的谷氨酸、游离氨基酸和总氮含量也均显著增加<sup>[10-13, 37, 44-45]</sup>。特别是对于 *PcGDH*<sup>[13]</sup>和 *TrGDH*<sup>[45]</sup>的转基因水稻, 不管在低氮还是高氮栽培条件下, 种子中的谷蛋白和醇溶蛋白含量均显著升高。有意思的是, Zhang 等<sup>[49]</sup>直接将黑曲霉(*A. niger*)的 *gdhA* 基因转入饲

料稻(forage rice), 用于生产氨基酸和蛋白质含量显著提高的青饲料和谷物饲料。由此可见, 低等生物 GDH 基因可用于作物营养品质的改良, 特别是可提高作物中氨基酸和蛋白质的含量, 从而提升其作为食品或饲料的营养价值。

## 4 结语与展望

氮作为植物生长所必需的元素, 对植物的生长发育及作物的产量都十分重要。在高等植物中 GS/GOGAT 途径是主要的氮代谢途径, 其相关机制研究得比较清晰。然而 GDH 途径作为高等植物氮同化的旁路途径, 其参与植物碳氮代谢、光呼吸以及调控逆境胁迫响应的分子机制仍然不太清楚, 相关的生理及分子机制还有待进一步研究。同时, 在低等生物 GDH 基因用于作物的遗传改良方面, 仍然还有以下问题需要解决:

1) 低等生物 GDH 用于作物遗传改良的选择标准。虽然几乎所有低等生物 GDH 均能提高作物的氮素利用效率和总氮含量, 但是不一定能在低氮栽培条件下促进作物的生长和提高产量, 有的甚至还会抑制生长, 而有的却能提高耐逆性(表1)。那么分子育种工作者该如何选择合适的低等生物 GDH 用于特定性状的遗传改良呢? 根据我们研究组多年来的研究结果初步推测, GDH 在植物中导致不同的表型与其对  $\text{NH}_4^+$  的  $K_m$  值有关。当 GDH

表 1 低等生物 GDH 基因及其遗传改良作物的表型  
Table 1 GDHs of lower organisms and phenotypes of their genetically modified crops

Gene	Genetic source	Crop	Phenotype	References
<i>gdhA</i>	<i>Escherichia coli</i>	Tobacco, <i>Zea mays</i>	Increases the nitrogen utilization efficiency, and improves the tolerance to phosphinothricin and drought	[39, 46-47]
<i>NiGDH</i>	<i>Neurospora intermedia</i>	Tobacco	Improves the growth under a lower nitrogen concentration	[40]
<i>NADP(H)-GDH</i>	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Tobacco	Improves the growth under a lower nitrogen concentration	[41]
<i>gdhA</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>	Tomato, potato	Increases the dry matter, the total free amino acids and protein contents	[42, 48]
<i>gdhA</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Rice, forage rice	Increases dry weight, and nitrogen, total free amino acids and protein contents	[43, 49]
<i>PcGDH</i>	<i>Pleurotus cystidiosus</i>	Rice	Improves the growth under a lower nitrogen concentration, and increases the glutelin and prolamine contents in seeds	[13]
<i>SsGDH</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Rice	Increases the tolerance to phosphinothricin, but inhibits the growth	[12]
<i>CeGDH</i>	<i>Cylindrocarpon ehrenbergii</i>	Rice	Increases grain yield under low-nitrogen condition	[37]
<i>MgGDH</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	Rice	Improves the tolerance to drought stress	[10]
<i>EcGDH</i>	<i>Eurotium cheralieri</i>	Rice	Increases grain yield under low-nitrogen condition	[44]
<i>AbGDH</i>	<i>Alternaria brassicicola</i>	Rice	Improves the growth under a lower nitrogen concentration	[11]
<i>TrGDH</i>	<i>Trichurus</i>	Rice	Increases grain yield under low-nitrogen condition, and increases the glutelin and prolamine contents in seeds	[45]

的  $K_m$  值较小时, 其转基因作物的耐逆性增强。如  $K_m$  为  $(0.28 \pm 0.03)$  mmol/L 的 SsGDH 能增强水稻对除草剂草铵膦的耐受性<sup>[12]</sup>。当 GDH 的  $K_m$  值较大时, 其对转基因作物的耐逆性没有显著的提高。如  $K_m$  为  $(3.73 \pm 0.23)$  mmol/L 的 PcGDH 的转基因作物在低氮和高氮栽培中的产量并没有明显的改善<sup>[13]</sup>。只有当 GDH 的  $K_m$  值处于合适的区间时, 其转基因作物在低氮栽培中的产量才会得到明显改善。如  $K_m$  为  $(1.48 \pm 0.11)$  mmol/L 的 TrGDH<sup>[45]</sup> 和  $K_m$  为  $(2.34 \pm 0.21)$  mmol/L 的 EcGDH<sup>[44]</sup> 均能提高低氮栽培条件下水稻的产量。当然, 上述分析都是从受体作物水稻中得到的初步规律, 关于导致不同表型的 GDH 临界  $K_m$  值还需要进一步研究, 甚至很有可能在不同受体作物中其临界  $K_m$  值也有所不同。

2) 低等生物 GDH 对作物光呼吸的影响。GDH 在高等植物光呼吸中的作用研究较少, 其具体功能及调控机制仍不清楚。目前, 仅报道当叶绿体中的 GS2/Fd-GOGAT 途径受到抑制时, GDH 才参与对  $\text{NH}_4^+$  的再固定和利用<sup>[25]</sup>。同样, 低等生物 GDH 对作物光呼吸的影响尚未见报道。其实, 我们研究组发现有些低等生物 GDH 能够抑制作物的光呼吸, 从而提高作物的产量和耐逆性(未发表的结果)。因此, 我们认为作物内源 GDH 和外源低等生物 GDH 对作物光呼吸的影响及其作用机制也将是一个重要的研究课题。

3) 低等生物 GDH 遗传改良作物的安全性问题。虽然异源表达低等生物 GDH 基因可以在一定程度上改善作物的氮素利用效率、耐逆性和营养品质, 但是引入外源基因的安全性问题还存在着一定的争议。其实, 除了对已获得的低等生物 GDH 遗传改良作物进行常规的安全性检测和评价外, 还可以采用基因编辑技术改变作物本身 GDH 某些特定氨基酸残基, 以提高其对  $\text{NH}_4^+$  的亲合力, 从而培育对环境友好而安全的高产或稳产作物新品种。因此, 将来需要加大高等植物和低等生物 GDH 氨基酸序列和空间结构对  $\text{NH}_4^+$  亲合力影响的比较研究, 鉴定决定  $\text{NH}_4^+$  亲和力的关键氨基酸位点、模体(motif)或结构域(domain), 这样才能采用基因编辑技术对作物 GDH 进行有的放矢的改造。

总之, 深入研究植物 GDH 的作用机制, 可以有助于我们更好地理解植物碳氮代谢平衡和逆境胁迫响应的分子机制, 为改良作物的氮素利用效率、耐逆性和营养品质等提供理论指导。同时, 发掘

和鉴定新的低等生物优质 GDH 基因能够为不同作物特定性状的遗传改良提供丰富的基因资源。

### 参考文献(References):

- [1] KUSANO M, FUKUSHIMA A, REDESTIG H, *et al.* Metabolic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(4): 1439–1453.
- [2] BUCHANAN B B, GRUISSEM W, JONES R L, *et al.* *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*[M]. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2015: 370–371.
- [3] GALVAN A, FERNANDEZ E. Eukaryotic nitrate and nitrite transporters[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001, 58(2): 225–233.
- [4] 练兴明. 水稻氮胁迫基因表达谱研究及耐低氮特性数量性状分析[D]. 武汉: 华中农业大学(LIAN Xing-ming. Study on Gene Expression Profile of Nitrogen Stress in Rice and Quantitative Trait Analysis of Low Nitrogen Tolerance[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University), 2005.
- [5] 闫德智, 王德建, 林静慧. 太湖地区氮肥用量对土壤供氮、水稻吸氮和地下水的影响[J]. *土壤学报*(YAN De-zhi, WANG De-jian, LIN Jing-hui. Effects of fertilizer-N application rate on soil N supply, rice N uptake and groundwater in Taihu region[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005, 42(3): 440–446.
- [6] TERCÉ-LAFORGUE T, CLÉMENT G, MARCHI L, *et al.* Resolving the role of plant NAD-glutamate dehydrogenase: III. Overexpressing individually or simultaneously the two enzyme subunits under salt stress induces changes in the leaf metabolic profile and increases plant biomass production[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2015, 56(10): 1918–1929.
- [7] NOOR S, PUNEKAR N S. Allosteric NADP-glutamate dehydrogenase from aspergilli: purification, characterization and implications for metabolic regulation at the carbon nitrogen interface[J]. *Microbiology*, 2005, 151(Pt 5): 1409–1419.
- [8] DUBOIS F, TERCÉ-LAFORGUE T, GONZALEZ-MORO M B, *et al.* Glutamate dehydrogenase in plants: is there a new story for all old enzyme?[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41(6–7): 565–576.
- [9] WOOTTON J C. Re-assessment of ammonium-ion affinities of NADP-specific glutamate dehydrogenases. Activation of the *Neurospora crassa* enzyme by ammonium and rubidium ions[J]. *The Biochemical Journal*, 1983, 209(2): 527–531.
- [10] ZHOU Y, ZHANG C, LIN J, *et al.* Over-expression of a glutamate dehydrogenase gene, *MgGDH*, from *Magnaporthe grisea* confers tolerance to dehydration stress in transgenic rice[J]. *Planta*, 2015, 241(3): 727–740.
- [11] 陈鸣冬, 刘聪, 刘德荣, 等. 异源表达芸蓼生链格孢谷氨酸脱氢酶基因 *AbGDH* 提高水稻氮素利用率的研究[J]. *生命科学*研究(CHEN Ming-dong, LIU Cong, LIU De-rong, *et al.* Ectopic expression of a fungal *AbGDH* gene from *Alternaria brassicicola* improves nitrogen use efficiency in rice[J]. *Life Science Research*), 2019, 23(1): 1–12.
- [12] DU C, LIN J, YANG Y, *et al.* Molecular cloning, characterization and function analysis of a GDH gene from *Sclerotinia sclerotiorum* in rice[J]. *Molecular Biology Reports*, 2014, 41(6): 3683–3693.
- [13] ZHOU Y, LIU H, ZHOU X, *et al.* Over-expression of a fungal NADP(H)-dependent glutamate dehydrogenase *PcGDH* improves nitrogen assimilation and growth quality in rice[J]. *Molecular Breeding*, 2014, 34(2): 335–349.
- [14] SKOPELITIS D S, PARANYCHIANAKIS N V, PASCHALIDIS K A, *et al.* Abiotic stress generates ROS that signal expression of anionic glutamate dehydrogenases to form glutamate for proline synthesis in tobacco and grapevine[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(10): 2767–2781.

- [15] LAWLOR D W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(370): 773–787.
- [16] 阳剑, 时亚文, 李宙炜, 等. 水稻碳氮代谢研究进展[J]. *作物研究*(YANG Jian, SHI Ya-wen, LI Zhou-wei, *et al.* Research progress on carbon and nitrogen metabolism in rice[J]. *Crop Research*), 2011, 25(4): 383–387.
- [17] MIYASHITA Y, GOOD A G. NAD(H)-dependent glutamate dehydrogenase is essential for the survival of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced carbon starvation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(3): 667–680.
- [18] STEWART G R, SHATILOV V R, TURNBULL M H, *et al.* Evidence that glutamate dehydrogenase plays a role in the oxidative deamination of glutamate in seedlings of *Zea mays*[J]. *Functional Plant Biology*, 1995, 22(5): 805–809.
- [19] 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]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1996, 93(10): 4718–4723.
- [20] 魏锦城, AGATA W I. 水稻叶片生育过程中 RubisCO 活性与光合、光呼吸的关系[J]. *植物生理学报*(WEI Jin-cheng, AGATA W I. The relationship between ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase activity and photosynthesis and photorespiration in rice leaves during the growth process[J]. *Acta Phytophysiological Sinica*), 1994, 20(3): 285–292.
- [21] PETERHANSEL C, HORST I, NIESSEN M, *et al.* Photorespiration[J]. *The Arabidopsis Book*, 2010, 8: e0130.
- [22] WILSON A T, CALVIN M. The photosynthetic cycle. CO<sub>2</sub> dependent transients[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1955, 77(22): 5948–5957.
- [23] SHEN B R, WANG L M, LIN X L, *et al.* Engineering a new chloroplastic photorespiratory bypass to increase photosynthetic efficiency and productivity in rice[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(2): 199–214.
- [24] HODGES M, DELLERO Y, KEECH O, *et al.* Perspectives for a better understanding of the metabolic integration of photorespiration within a complex plant primary metabolism network[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(10): 3015–3026.
- [25] FERRARIO-MÉRY S, SUZUKI A, KUNZ C, *et al.* Modulation of amino acid metabolism in transformed tobacco plants deficient in Fd-GOGAT[J]. *Plant and Soil*, 2000, 221(1): 67–79.
- [26] 刘聪, 董腊媛, 林建中, 等. 逆境胁迫下植物体内活性氧代谢及调控机理研究进展[J]. *生命科学研究*(LIU Cong, DONG Lai-ai, LIN Jian-zhong, *et al.* Advances in studies on reactive oxygen metabolism and its regulation mechanism in plants under stress[J]. *Life Science Research*), 2019, 23(3): 253–258.
- [27] LUTTS S, MAJERUS V, KINET J M. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings[J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, 105(3): 450–458.
- [28] THU HOAI N T, SHIM I S, KOBAYASHI K, *et al.* Accumulation of some nitrogen compounds in response to salt stress and their relationships with salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. *Plant Growth Regulation*, 2003, 41(2): 159–164.
- [29] GULATI A, JAIWAL P K. Effect of NaCl on nitrate reductase, glutamate dehydrogenase and glutamate synthase in *Vigna radiata* calli[J]. *Biologia Plantarum*, 1996, 38: 177.
- [30] MASCLAUX C, VALADIER M H, BRUGIÈRE N, *et al.* Characterization of the sink/source transition in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) shoots in relation to nitrogen management and leaf senescence[J]. *Planta*, 2000, 211(4): 510–518.
- [31] LOULAKAKIS K A, PRIMIKIRIOS N I, NIKOLANTONAKIS M A, *et al.* Immunocharacterization of *Vitis vinifera* L. ferredoxin-dependent glutamate synthase, and its spatial and temporal changes during leaf development[J]. *Planta*, 2002, 215(4): 630–638.
- [32] KUMAR R G, SHAH K, DUBEY R S. Salinity induced behavioural changes in malate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase activities in rice seedlings of differing salt tolerance[J]. *Plant Science*, 2000, 156(1): 23–34.
- [33] LASA B, FRECHILLA S, APARICIO-TEJO P M, *et al.* Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40(11): 969–976.
- [34] VALLIYODAN B, NGUYEN H T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9(2): 189–195.
- [35] YOSHIBA Y, KIYOSUE T, NAKASHIMA K, *et al.* Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1997, 38(10): 1095–1102.
- [36] TOYOTA M, SPENCER D, SAWAI-TOYOTA S, *et al.* Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling[J]. *Science*, 2018, 361(6407): 1112–1115.
- [37] ZHOU X, LIN J, ZHOU Y, *et al.* Overexpressing a fungal *CeGDH* gene improves nitrogen utilization and growth in rice[J]. *Crop Science*, 2015, 55(2): 811–820.
- [38] OAKS A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1994, 72(6): 739–750.
- [39] LIGHTFOOT D A, LONG L M, VIDAL LIGHTFOOT M E. Plants containing a bacterial *gdhA* gene and methods of use thereof: United States Patent 5,998,700[P]. 1999–12–7.
- [40] 王芳, 田波. 中间脉孢霉谷氨酸脱氢酶基因的克隆及在大肠杆菌和烟草中的表达[J]. *科学通报*(WANG Fang, TIAN Bo. Cloning of *Neurospora intermedia* *gdh* and expression in *E. coli* and tobacco[J]. *Chinese Science Bulletin*), 2001, 46(2): 137–140.
- [41] 黄国存, 孟颂东, 王荣, 等. 小球藻 NADP-谷氨酸脱氢酶的 cDNA 克隆及转基因烟草分析[J]. *植物学报*(HUANG Guo-cun, MENG Song-dong, WANG Rong, *et al.* Cloning of glutamate dehydrogenase cDNA from *Chlorella sorokiniana* and analysis of transgenic tobacco plants[J]. *Acta Botanica Sinica*), 2002, 44(3): 318–324.
- [42] EGAMI T, WAKAYAMA M, AOKI N, *et al.* The effects of introduction of a fungal glutamate dehydrogenase gene (*gdhA*) on the photosynthetic rates, biomass, carbon and nitrogen contents in transgenic potato[J]. *Plant Biotechnology*, 2012, 29(1): 57–64.
- [43] ABIKO T, WAKAYAMA M, KAWAKAMI A, *et al.* Changes in nitrogen assimilation, metabolism, and growth in transgenic rice plants expressing a fungal NADP(H)-dependent glutamate dehydrogenase (*gdhA*)[J]. *Planta*, 2010, 232(2): 299–311.
- [44] TANG D, PENG Y, LIN J, *et al.* Ectopic expression of fungal *EcGDH* improves nitrogen assimilation and grain yield in rice[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60(2): 85–88.
- [45] DU C Q, LIN J Z, DONG L A, *et al.* Overexpression of an NADP(H)-dependent glutamate dehydrogenase gene, *TrGDH*, from *Trichurus* improves nitrogen assimilation, growth status and grain weight per plant in rice[J]. *Breeding Science*, 2019, 69(3): 429–438.
- [46] NOLTE S A, YOUNG B G, MUNGUR R, *et al.* The glutamate dehydrogenase gene *gdhA* increased the resistance of tobacco to glufosinate[J]. *Weed Research*, 2004, 44(4): 335–339.
- [47] LIGHTFOOT D A, MUNGUR R, AMEZIANE R, *et al.* Improved drought tolerance of transgenic *Zea mays* plants that express the glutamate dehydrogenase gene (*gdhA*) of *E. coli*[J]. *Euphytica*, 2007, 156(1–2): 103–116.
- [48] KISAKA H, KIDA T. Transgenic tomato plant carrying a gene for NADP-dependent glutamate dehydrogenase (*gdhA*) from *Aspergillus nidulans*[J]. *Plant Science*, 2003, 164(1): 35–42.
- [49] ZHANG H, LIANG C, AOKI N, *et al.* Introduction of a fungal NADP(H)-dependent glutamate dehydrogenase (*gdhA*) improves growth, grain weight and salt resistance by enhancing the nitrogen uptake efficiency in forage rice[J]. *Plant Production Science*, 2016, 19(2): 267–278.