

**NO₃-水準이 Oxidative Pentose Phosphate Pathway와
窒酸同化作用 酵素 「Nitrate Reductase, Nitrite Reductase,
Glutamine Synthetase₁」 및 암모늄再同化作用 主要酵素
「Glutamine Synthetase₂」 活性度の 相互關係에 미치는 影響***

孫尚穆**. 마이클 제임스 임스***

**Interactions between Oxidative Pentose Phosphate Pathway
and Enzymes of Nitrate Assimilation 「Nitrate Reductase,
Nitrite Reductase, Glutamine Synthetase₁」 and Ammonium
Reassimilation 「Glutamine Synthetase₂」 as affected
by NO₃- Concentration.***

Sang Mok Sohn**. Michael James Emes***

ABSTRACT : In order to understand more clearly the integration between N-assimilation and C-metabolism in relation to N fertilization, a pot experiment with 5 different level of N fertilization(0, 5, 10, 25, 50 mM NO₃⁻) was conducted in Manchester, U.K. The peas (*Pisum sativum* L., cv. Early Onward) were sown in vermiculate (5 cm depth) and cultivated for 6 days under temperature controlled dark room conditions (25°C). The plants received frequent irrigation with a nutrient solution ; it was fertilized every 2 days, 3 times a day at 10h, 13h, 16h respectively.

Elevated NO₃⁻ concentration, the activity levels of NR, NiR, total GS(crude extract), GS₂(plastid) in both root and shoot were increased and reached the peak in 5~25 mM, except NiR specific activity which increased its activity continually until 50 mM NO₃⁻ treatment. Total activities of GS(crude extract) in both root and shoot became higher than those of GS₂(Plastid), and the activity ratios of total GS in the crude extract and GS₂ in the plastids were 3.0 to 4.3 in root, but 3.2 to 10.6 in shoot. It was concluded that the reductants and ATP from OPPP itself should be enough to achieve the high rate of NR, NiR, GS₁, GS₂ in plant root and shoot for reduction or assimilation of nitrogen, but these enzyme activities might be inhibited by an excess of NO₃⁻ influx over the reduction capacity.

* 본 研究는 1991-1992 韓國科學財團 海外Post-Doc支援에 의하여 遂行된 것임.

** 檀國大學校 農科大學(Coll. of Agriculture, Dan Kook University, 330-714 Cheon An, Korea)

*** 맨체스터大學校 生物科學大學(School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester M13 9PL, U.K.)<접수일자 92. 11. 6>

고등식물의 NO_3^- 同化와 C-metabolism과의 相互關係에 대한 연구는 작물의 수량을 증대시키는 것과 직접 관련되어 있는 식물대사와 식물영양생장과의 관계를 밝히려는 것이기에 대한히 중요한 분야이다.

NO_3^- 同化는 NH_4^+ 와 N-assimilation의 end product인 아미노산 등에 의해 feedback되며, 특히 NO_3^- 환원 결과 생기는 NH_4^+ 의 동화산물인 glutamine은 N-assimilation과 C-assimilation의 integration 및 coordination의 역할을 담당하여 전체 작물생육을 制御하는 것으로 알려져 있다.^{8,12,13)}

NO_3^- 는 carrier protein에 의해 토양에서 뿌리 내로 吸收되며 이후 vacuole내에 貯藏되거나 아미노산 또는 기타 화합물로 還元된다. Nitrate reductase(NR: EC 1.6.6.1)는 흡수된 NO_3^- 를 NO_2^- 로, Nitrite reductase(NiR: EC 1.7.7.1.)는 NO_2^- 를 다시 NH_4^+ 로 還元하며, Glutamine synthetase₁ (GS₁: EC 6.3.1.2.)는 NH_4^+ 를 glutamine으로 合成하고 있다.^{1,8)}

N-assimilation에 필요한 reductants와 energy를 光條件下的 잎에서는 광화학반응에 의해서 생겨나는 것으로 곧바로 이용할 수 있으나, 뿌리의 경우와 암조건하의 발아종자의 경우 광합성작용이 수행되는 chloplast가 없으므로 광화학반응에 의한 reductants와 energy가 공급될 수가 없을 것으로 보았으나 Emes³⁾는 non-photosynthetic plastids내에도 NiR, GS 등이 존재하고 있을 뿐만 아니라 이들 酵素의 活性도가 상당히 높다고 하였으며, 이들 酵素作用에 필요한 reductants와 energy가 cytoplasm으로부터 供給되거나 carbohydrate oxidation과정에서 生成되어 供給된다고 보고하였다.

Glucose-6-phosphate는 glycolysis 또는 oxidative pentose phosphate pathway(OPPP)를 거쳐 산화되며 이후 TCA회로를 거쳐 代謝가 이루어 진다. 모든 식물체는 glycolysis가 hexoses의 주요한 catabolic route임에도 불구하고 이와는 별도의 alternative pathway인 OPPP를 갖고 있으며, OPPP는 식물체내에서 첫째, NADPH를 生成시켜 NADPH가 생성되지않는

상황에서의 biosynthetic過程의 reductants로 使用케하며, 둘째, ribose-5-phosphate(R5P)를 生成시켜 nucleotides와 核酸의 biosynthesis에 充足케 하는 등의 중요한 機能을 갖고 있다.^{2,4)}

최근 이 분야에서는 N-과 C-assimilation과의 상호관계를 구명하는 첫단계로서 어느 정도까지의 NO_3^- 를 turnover시킬 수 있는 전자와 ATP를 OPPP만을 통해서 식물체가 공급할 수 있는 capacity를 갖고 있으나, 그리고 貯藏蛋白質의 분해 이동과정의 NH_4^+ -reassimilation에 관여하는 Glutamine synthetase₂ (GS₂: EC 6.3.1.2.)와 N-assimilation의 GS₁는 각각 C-metabolism 중의 OPPP와 어떤 상호관계에 있는가 등에 관심을 갖고 있으나 아직 미해결의 과제로 남아 있다.

본 研究는 암조건하의 OPPP를 통한 reductants와 energy 공급시의 窒酸同化作用에 관여하는 酸素 NR, NiR, GS₁ 및 암모늄제동화작용에 관여하는 주요효소, GS₂의 活性度 차이를 NO_3^- 施肥水準別로 추적함으로써 N-assimilation과 C-metabolism과의 integration mechanism 일부를 究明키 위한 基礎資料를 提供코자 實施되었다.

材料 및 方法

Asmer, Leicester(U.K.)로부터 분양받은 완두 (*Pisum sativum* L., c.v. Early Onward)를 5cm 높이의 vermiculite로 채운 사각 pot에 2cm 깊이로 播種하여 6일간 25°C의 暗黑狀態에서 生育시킨 후 shoot와 root을 분리 채취한 후 試料로 사용하였다. 窒素는 KNO_3 의 형태로 0, 5, 10, 25, 50 mM의 5처리 水準을 두었다. 0 mM 處理區의 경우 2차 蒸溜水로서 灌水하였으며 施肥 및 灌水는 播種當日과 播種後 매 2일 간격으로 실시하되 施肥(灌水)당일 10h, 13h, 16h에 각각 처리하였다.

NR은 Chymostatin을 사용하는 Long와 Oaks의 방법⁷⁾에 따라 NiR은 Bowsher 등의 방법²⁾에 준하여 분석하였으며 GS는 孫^{12,14)}에 준하여 hydroxylamine dependent synthetase reaction에 의한 γ -glutamylhydroxamate를 測定하여 specific activity를 測定하였다. Plastids는

Kleppinger-Sparace 등⁶⁾과 Emes와 England³⁾ 방법을 약간 수정하여 다음과 같이 분리하였다. 생체 1g 당 약 2ml의 Buffer A(+0.1% bovine serum albumin(BSA))를 넣고 15초간 믹서에서 homogenization 시킨 후 머슬린 6겹봉대로 filtering 시킨 후 살짝 짜낸 다음 200g에서 1분간 원심분리하였다. 1차 원심분리상층액(crude extract)은 모아 4000g, 4°C에서 4분간 원심분리한 후 상층액을 버린 후 Buffer A(-BSA)를 2ml 넣어준 다음 유리스포이드를 이용하여 부드럽게 resuspension시켰다. 여기에 Buffer B + Percoll(10%)를 10ml 넣어준 후 4000g, 4°C에서 5분간 원심분리 후 다시 Buffer A(-BSA)를 2ml 넣고 resuspend하여 분리한 Plastids를 酵素分析에 사용하였다.

酵素分析에 사용된 모든 試藥은 BDH(U.K.), Boehringer Mannheim(Germany), Sigma(U.K.)에서 AR급이 공급되는 경우 모두 이를 사용하였으며 Plastid 분리에 사용된 Percoll은 Pharmacia(U.K.)로 부터 구입하였다.

結果 및 考察

NO_3^- 處理水準別 NR의 活性度는 그림 1에서 볼 수 있는바과 같이 생체 1g 당 活性도와 蛋白質 1mg 당 活性도가 root와 shoot부위 공히 거의 비슷한 반응을 나타냈다. 즉, 뿌리의 경우 생체 1g 당 NR 활성도와 단백질 1mg 당 NR 활성도가 무처리구에서 0.92 n mol/g FW , $14 \text{ U}^{10^{-4}}/\text{Protein}$ 였다가 NO_3^- 처리농도가 증가할수록 급격히 증가하여 생체 1g당 NR 활성도는 5mM에서 그 최고인 1.45 n mol/g FW , 단백질 1mg당 NR활성도는 10mM에서 그 최고치인 $35 \text{ U}^{10^{-4}}/\text{Protein}$ 에 각각 到達하였다가, 이후 NO_3^- 처리수준이 50mM까지 증가되어도 활성도는 거의 비슷하거나 완만한 증가를 보여 NO_3^- 처리수준별 差異가 크지 않았다. Shoot의 경우 생체 1g당 NR 활성도와 단백질 1mg 당 NR 활성도가 무처리구에서 0.15 n mol/g FW , $3 \text{ U}^{10^{-4}}/\text{Prot}$ 였다가 NO_3^- 처리수준이 증가함에 따라 계속 서서히 增加하는 傾向을 나타냈

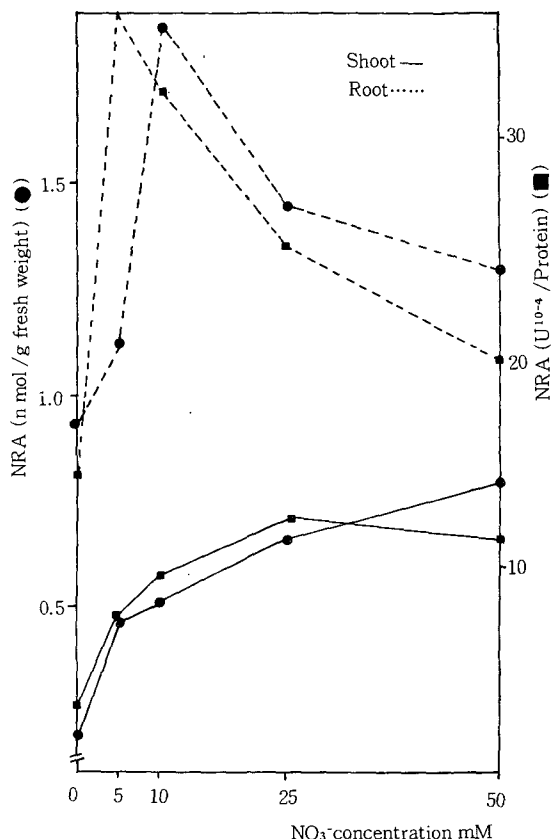


Fig. 1. The effects of NO_3^- concentration on the activity of NR in crude extract by *Pisum sativum* L. grown under dark condition.

다. 이는 Reddy와 Menary⁹⁾ 및 Sarjala¹¹⁾의 결과들과 일치하는 것으로 NO_3^- 가 vacuole에 가득차 cytoplasm에 貯藏되기 시작하여 그 濃度가 上昇하면 cytoplasm에 있는 NR 활성도가 저하되기 시작하여 식물체가 遺傳적으로 가지고 있는 NO_3^- 還元能力(NR 活性度)을 超過하는 지나친 NO_3^- 吸收시 이를 억제된 낮은 NR 活性度만으로 모두 還元시키지 못하여 細胞內的 NO_3^- 過多 集積 내지 toxic accumulation으로 이어지는 것으로 볼 수 있다. Root의 경우 shoot에 비해 NR의 活性도가 NO_3^- 處理濃度에 극히 예민하게 反應하여, 생체 1g당 활성도는 이미 5mM에서 무처리구에 비해 1.57배, 단백질 1mg당 활성도는 10mM에서 무처리구에 비해 2.5배까지 上昇하였다.

Shoot는 root에 비해 NR의 活性도가 NO_3^- 처리 수준의 증가에 다소 덜 예민하게 반응하였지만 생체 1g당 활성도는 50mM에서 무처리구에 비해 8배, 단백질 1mg당 활성도는 25mM 처리구에서 무처리구에 비해 5.0배까지 상승한 最高値를 각각 나타냈다.

한편 NiR 活性도의 NO_3^- 처리수준별 반응은 NR 활성도의 그것과 전혀 다른 양상을 나타냈다. 그림 2에서 보는 바와 같이 생체 1g당 NR 활성도는 root의 경우 무처리 695 n mol /g FW였다가 5mM 처리수준에서 1006 n mol /g FW에까지上昇하였다가 이후 NO_3^- 처리농도가 높아짐에 따라 서서히 낮아져 50mM 처리구에서는 무처리구

에서와 거의 비슷한 703n mol /g FW까지 낮아졌다. shoot 역시 root의 그것과 아주 유사한 NiR 活性度 反應을 나타냈다. 단백질 1mg 당 NiR 활성도는 NO_3^- 처리농도가 높아짐에 따라 root, shoot 모두 계속上昇하여 最高値를 보인 50mM 처리구에서 25.6U /Protein, 29.2 /Protein를 나타내 무처리구에 비해 2.5배, 3.1배나 높았다. OPPP에 관여하는 酵素는 cytosol과 plastids에 모두 存在한다고 알려져 있고 식물의 暗條件下的 NO_3^- 同化는 細胞內的 glucose-6-phosphate (G6P)와 6-phosphogluconate dehydrogenase의 活性度 增加에 따라 점점 induction된다고 한다.^(2,4) 理論적으로는 3分子의 G6P가 酸化할 경우 6分子의 NADPH를 生成하므로 2分子의 NO_3^- 가 NH_4^+ 로 되는데 필요한 還元에는 充分한 것으로 되어 있으나 이경우 membrane을 통해 pyridine nucleotide가 외부로 공급되는 要求가 전혀 排除되어야만 하고 plastids와 cytosol에 위치한 OPPP가 완전히 獨自的으로 運營되어야만 한다는 것이 문제점이었다.⁴⁾ 또한 1分子의 NO_3^- 가 amino acid로 되는데는 10개의 電子와 1分子의 ATP가 필요한데 暗黑狀態인 種子 發芽中の 植物體의 경우 이러한 電子와 ATP가 OPPP를 통하여 충분히 供給되느냐와 어느 정도까지의 NO_3^- 를 turnover시킬 수 있는 capacity를 植物體가 갖고 있는지가 아직도 未解決 課題로 되어 있었으나^{2,4)} 본 實驗의 결과에서 알 수 있는바와 같이 NiR의 specific 活性도가 OPPP를 통한 전자와 ATP만으로 50mM처리농도까지도 계속 증가하는 것으로 보아 作物재배시 뿌리의 N-assimilation에는 光合成課程으로부터 由來하는 追加的인 電子와 에너지의 供給 이 필요 불가결한 것은 아니라고 判斷 된다.

한편 外部로부터의 窒素源 供給濃度條件이 相異할 때 NH_4^+ -reassimilation에 關與하는 GS_2 와 N-assimilation의 GS_1 는 각각 어떻게 反應하는가를 알아보기 위해 純粹分離한 plastids와 Crude extract의 두 fraction의 GS 活性도를 각각 측정하였다. Crude extract의 총 GS 活性度 (GS_1 과 GS_2)는 그림 3에서 볼 수 있는바와 같이 root의 경우 생체 1g당 활성도와 단백질 1mg당 활

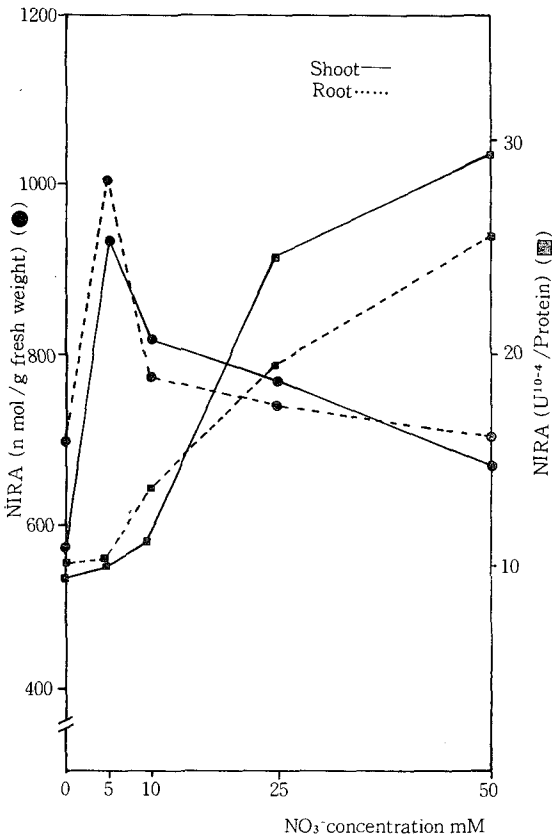


Fig. 2. The effects of NO_3^- concentration on the activity of NiR in crude extract by *Pisum sativum* L. grown under dark condition.

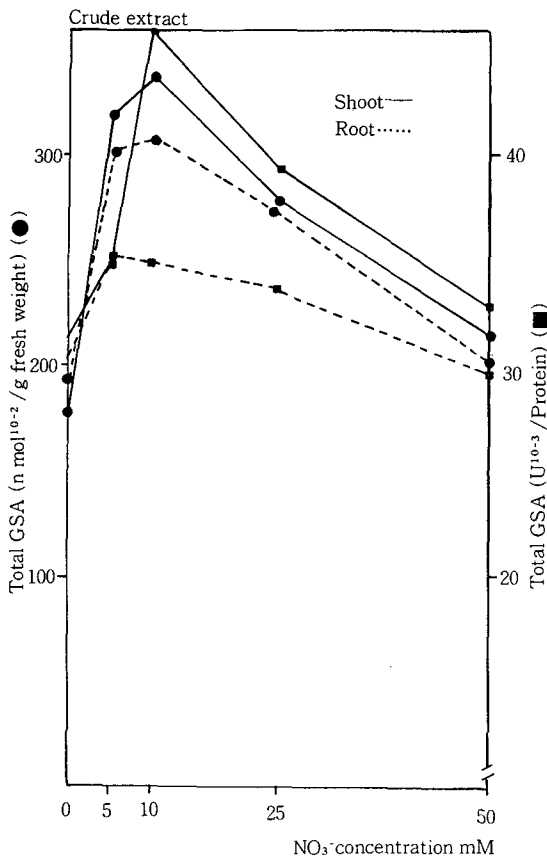


Fig. 3. The effects of NO_3^- concentration on the activity of Total GS in crude extract by *Pisum sativum* L. grown under dark condition.

성도가 거의 비슷한 경향을 나타내 무처리구에서 $193 \text{ n mol}^{10^{-2}}/\text{g FW}$, $30.2 \text{ U}^{10^{-3}}/\text{prot}$ 였다가 NO_3^- 처리농도가 5내지 10mM였을때 最高值인 $308 \text{ n mol}^{10^{-2}}/\text{g FW}$, $35.3 \text{ U}^{10^{-3}}/\text{prot}$ 에 到達한후 이후 NO_3^- 처리농도가 높아짐에 따라 서서히 下落하였으나, shoot의 경우 무처리구의 $178 \text{ n mol}^{10^{-2}}/\text{g FW}$, $31.3 \text{ U}^{10^{-3}}/\text{prot}$ 였던 두 활성도치 모두 NO_3^- 처리농도가 10mM일 때까지 root에 비해 급격히 上昇하여 $338 \text{ n mol}^{10^{-2}}/\text{g FW}$, $45.9 \text{ U}^{10^{-3}}/\text{prot}$ 에 까지 이르렀다가 이후 NO_3^- 처리농도가 높아짐에 따라 下落하는 傾向을 나타냈으나 root에 비해 높은 활성도를 維持하였다. 즉 shoot의 활성도가 root의 활성도보다 더욱 예민하게 NO_3^- 처리에 反應함을 알수 있었다. GS

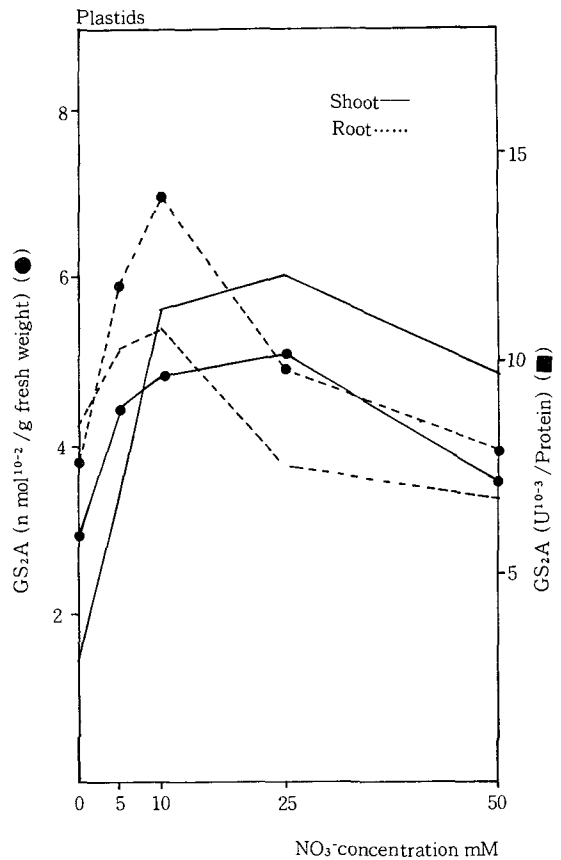


Fig. 4. The effects of NO_3^- concentration on the activity of GS₂ in plastids by *Pisum sativum* L. grown under dark condition.

활성도의 시비수준에 따른 이 같은 induction과 inhibition은 Sohn¹²⁾ 및 손과 Przemek¹³⁾의 결과와 일치하는 것이다. 한편 plastids를 純粹分離하여 測定한 shoot의 GS₂ 活性도는 그림 4에서 보는바와 같이 생체 1g당 활성도와 단백질 1mg당 활성도가 무처리의 $2.9 \text{ n mol}^{10^{-2}}/\text{g FW}$, $2.9 \text{ n mol}^{10^{-3}}/\text{prot}$ 에서 각각 NO_3^- 처리농도가 10mM 일때까지 급격히 增加하다가 25mM에서 $4.1 \text{ n mol}^{10^{-2}}/\text{g FW}$, $12.0 \text{ U}^{10^{-3}}/\text{prot}$ 로 모두 그 最高值에 到達하였으며, root 역시 crude extract의 총 GS 활성도와 비슷한 傾向의 反應曲線을 나타냈다. Crude extract의 총 GS specific 活性度對 plastids의 GS₂ specific 活性度の 比率은 뿌리의 3.0~4.3에 비해 shoot는 3.2~10.6으로 그 比率의

Table 1. The ratios of activity of total GS in crude extract and GS₂ in plastids by *Pisum sativum* L. grown under dark condition.

NO ₃ ⁻ Treatment /Plant part		Total GSA in crude extract (U ¹⁰⁻³ /Protein)	GS ₂ A in plastids (U ¹⁰⁻³ /Protein)	Ratios of GS ₁ /GS ₂
0	Shoot	215	20.3	10.6
	Root	203	56.4	3.6
5	Shoot	248	49.6	5.0
	Root	252	74.1	3.4
10	Shoot	359	87.6	4.1
	Root	246	82.0	3.0
25	Shoot	294	91.9	3.2
	Root	237	52.7	4.5
50	Shoot	227	69.7	3.4
	Root	195	45.3	4.3

幅이 shoot에서 NO₃⁻ 處理 濃度에 따라 상당한 差異를 나타냈다.(표1 참조). 이는 C₃ 作物의 GS 中 GS₂의 비율이 70~90%라는 McNally와 Hirel⁸⁾의 보고와는 상당히 差異가 있는 것으로서 暗黑狀態에서의 glutamine 合成過程에서 생성되는 NH₄⁺의 reassimilation에 作用하는 GS₁^{1,5)}의 活性度가 상대적으로 높았기 때문에 사료된다.

한편 그림5에서 알수 있는바와 같이 KNO₃ 處

理區의 경우 植物體當 生體重과 草長이 무처리보다 12.5 mM 處理區에서 무겁거나 컸을 뿐 이후 처리수준이 상승할수록 급격히 下落하였으나, KCl 處理區의 경우 50mM 처리구에서 까지 거의 같거나 비슷한 植物體當 生體重과 草長을 나타내, NO₃⁻ 처리농도를 50mM까지 높혀줄 경우, 監濃度가 너무 높아 植物體가 水分을 잘 흡수하지 못하는데서 질소동화작용에 關여하는 NR, NiR,

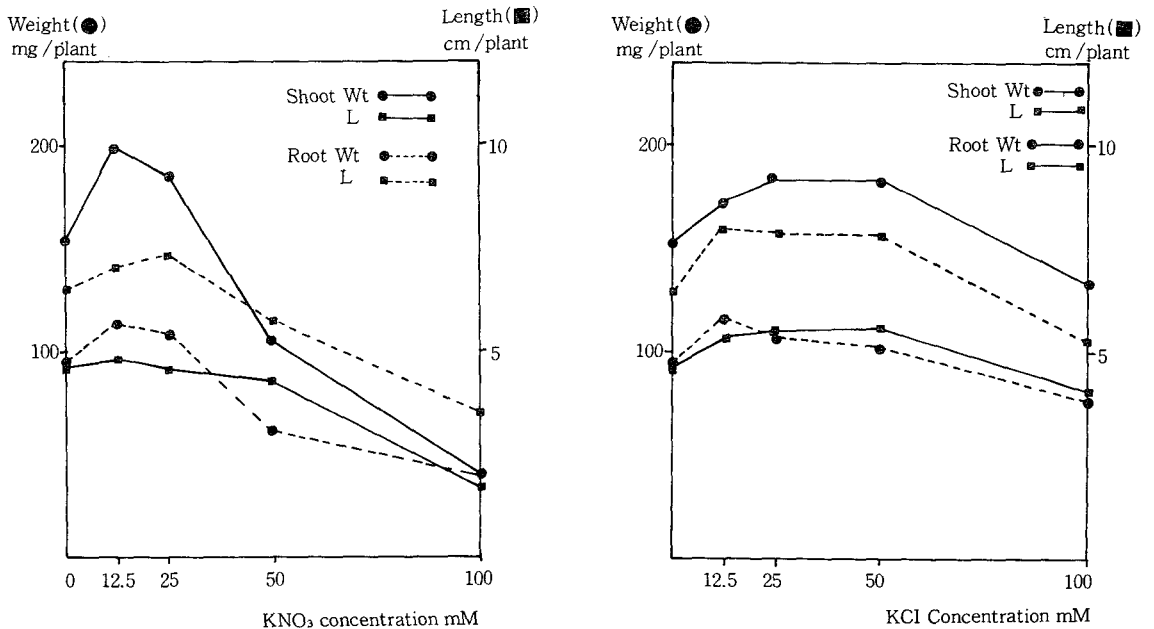


Fig. 5. The growth of shoot and root in the dark grown *Pisum sativum* L. under different source concentration (KNO₃, KCl).

GS₁, GS₂ 등의 효소활성도가 떨어진 것이 아니겠느냐는 해석은 일단 배제할 수 있다고 본다. 따라서 고수준의 NO₃⁻ 처리구에서 NR, NiR, GS₁, GS₂가 억제된 것은 NO₃⁻還元潛在能力을超過하는 과도한 NO₃⁻ influx에 의한 것으로 볼 수 있으며, 이는 end products에 의한 feedback inhibition과는 별개의 억제 기작으로 보여진다.

본實驗의 결과, OPPP만을 통해서도 식물체내의 NO₃⁻의還元이나同化를 위한 NR, NiR, GS₁, GS₂活性度の 발현에 필요한還元劑와 ATP가 충분히供給될 수 있음을 알 수 있었으며 질소동화작용에 관여하는 이들酵素가高水準의 NO₃⁻處理區에서 억제된 것은植物體가 가지고 있는 NO₃⁻還元潛在能力을超過하는 과도한 NO₃⁻ influx에 의한 것으로 보여진다.

摘 要

질소시비수준이 Oxidative Pentose Phosphate Pathway (OPPP)와 Nitrate Reductase (NR), Nitrite Reductase (NiR), Glutamine Synthetase₁ (GS₁) 및 Glutamine Synthetase₂ (GS₂) 活性度の 相互關係에 미치는 영향을 구명하기 위해 암조건하에서 6일간 생육시킨 완두의 부위별 또는 crude extract와 순수분리한 plastid 별 효소 활성도를 분석 검토한 결과,

1. NR의 root부위의 생체 1g當 活性도와蛋白質 1mg當 活性度, NiR의 root 및 shoot부위의 생체 1g 당 활성도는 거의 비슷한 반응을 나타내 NO₃⁻처리농도가 증가할수록 급격히 증가하여 생체 1g당 NR 활성도, NiR의 root 및 shoot 부위의 생체 1g당 활성도는 5mM에서, NR의 단백질 1mg 당 NR 활성도는 10mM에서 각각 그 최고치에 각각 到達하였다가, 이후 시비수준이 증가할수록 저하하여 50mM 처리구에서는 무처리구와 비슷한 수준을 나타냈다.

2. NR의 shoot부위의 생체 1g 當 活性도와 단백질 1mg 당 활성도, NiR의 root 및 shoot부위의 단백질 1mg 당 활성도는 시비수준이 증가할수록

그 활성도가 induction되었으며, NR의 생체 1g당 활성도는 50mM에서 무처리구에 비해 4.8배, 단백질 1mg 당 활성도는 25mM 처리구에서 무처리구에 비해 5.0배까지 상승하였다.

3. Crude extract의 총 GS specific activity가 plastids의 GS₂ specific activity에 비해 월등히 많았으며, crude extract의 총 GS specific activity 對 plastids의 GS₂ specific activity의 比率은 뿌리의 3.0-4.3에 비해 shoot는 3.2-10.6으로 shoot에서 NO₃⁻處理濃度에 따라 활성도비율의 差異가 더 컸다.

4. 高水準의 NO₃⁻處理區에서 과도한 NO₃⁻ influx에 의한 NR, NiR, GS₁, GS₂ 등의 酵素活性도가 억제되었다.

5. OPPP만을 통해서도 식물체내의 NO₃⁻의還元이나同化를 위한 NR, NiR, GS₁, GS₂ 活性度の 발현에 필요한還元劑와 ATP 충분히供給될 수 있었다.

引用文獻

1. Beudeker, R. F. and Tabita, F. R. (1985) : Characterization of glutamine synthetase isoforms from *Chlorella*. Plant Physiol. 77:791-794
2. Bowscher, C. G., Emes, M. J., Cammack, R. and Hucklesby, D. P. (1988) : Purification and properties of nitrite reductase from roots of pea (*Pisum sativum* cv. Meteor). Planta 175:334-340
3. Emes, M. J. and England, S. (1986) : Nitrogen metabolism in plastids of pea roots. In "Fundamental, Ecological and Agricultural Aspects of Nitrogen Metabolism in Higher Plants". eds. Lambers, H., Netteson, J. J. and Stulen, I. (Developments in Plant and Soil Sciences, Vol.19, PP 173-176
4. Emes, M. J. and Bowscher, C. G. (1990) : Integration and compartmentation of car-

- bon and nitrogen metabolism in roots. In "Compartmentation of plant metabolism in non-photosynthetic tissues" ed. Emes, M.J. Cambridge University Press, PP 147-165
5. Keys, A. J.(1980) : Synthesis and inter-conversion of glycine and serine. In : The biochemistry of plants, Vol. 5:359-374. ed. Mifflin, B. J. Academic Press, New York. USA
 6. Kleppinger-Sparace, K. F., Stahl, R. J. and Sparace, S. A.(1992) : Energy Requirements for Fatty Acid and Glycerolipid Biosynthesis from Acetate by Isolated Pea Root Plastids. *Plant Physiology* 98:723-727
 7. Long, D. M. and Oaks, A.(1990) : Stabilization of Nitrate Reductase in Maize Roots by Chymostatin. *Plant Physiol.* 93:846-850
 8. McNally, S. and Hirel, B.(1983) : Glutamine synthetase isoforms in higher plants. *Physiol. Veg.* 21:761-774
 9. Reddy, K. S. and Menary, R. C.(1990) : Nitrate reductase and nitrate accumulation in relation to nitrate toxicity in *Boronia megastigma*. *Physiologia Plantarum* 78: 430-434
 10. Russell, E. W.(1973) : Soil Conditions and Plant Growth. London. Longman
 11. Sarjala, T.(1991) : Effect of mycorrhiza and nitrate nutrition on nitrate reductase activity in Scots pine seedlings. *Physiologia Plantarum* 81:89-94
 12. Sohn, S. M.(1986) : Uber die Aktivitat der Glutaminsynthetase in den Blättern von Weizen in Vegetationsverlauf und in Abhängigkeit von der N-Erhährung. Dissertation. University of Göttingen. Germany.
 13. 손상목, Przemecck, E.(1991₁) : 밀의 Glutamine Synthetase 활성도와 질소함량 및 수량과의 관계. *한국작물학회지* 36:545-553
 14. Sohn, S. M.(1991₂) : Bestimmung der Glutaminsynthetase-Aktivitat. PP 8-12. In "Biochemisches und Ernährungsphysiologisches Praktikum" ed. E. Przemecck, Institut für Agrikulturchemie der Georg-August-Universität, Göttingen/Germany