

实验生物学专著选译

植物的氮代谢

[美] G. C. 韦勃斯特著

上海科学技术出版社

实验生物学专著选译

植物的氮代謝

[美] G. C. 韦勃斯特 著

王岳定 閔九康 译

孙 羲 校閱

上海科学技术出版社

內 容 提 要

本书着重介紹細胞內氮代謝的化学途径。第一章概述氮素营养,其余四章分別叙述氨基酸代謝、酰胺和肽的合成、蛋白质和核酸的代謝,以及完整植株中的氮代謝。所引用的例証包括高等植物、酵母和細菌。又扼要地綜合分析了蛋白质和核酸的生物合成以及它們之間的可能关系、植物氮代謝在各器官間的相互关系,以及細胞老化过程等重要問題,使讀者对于植物氮代謝的系統知識得到进一步的了解。

本书列为本社实验生物学丛书編輯委员会編选的《实验生物学专著选譯》之一。可作为生物化学、生理学和农业化学工作者以及高等学校有关师生的参考資料。

NITROGEN METABOLISM IN PLANTS

G. C. Webster

Row, Peterson & Co. 1959

实验生物学专著选譯

植物的氮代謝

王岳定 閔九康 譯 孙 羲 校閱

实验生物学丛书編輯委员会編选

上海科学技术出版社出版 (上海瑞金二路 450 号)

上海市书刊出版业营业許可証出 093 号

上海市印刷六厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本 850×1156 1/32 印张 4 20/32 排版字数 120,000

1965 年 6 月第 1 版 1965 年 6 月第 1 次印刷

印数 1—1,500

統一书号 13119·642 定价(科七) 0.80 元

序 言

最近生理学和生物化学的迅速发展,要求我們对这方面的知识作經常的評論,使能满足三方面的需要:(1)为这个領域以外的研究者提供当前研究进展的知識;(2)使新进入这一領域的研究者(如大学毕业生)得到教益;(3)对已在这領域内的工作者的观点重新加以驗證。本书討論植物中氮代謝的化学途径,但是要使其内容恰如其分而不超过专著集所要求的篇幅范围,我們必須严格地局限于討論細胞氮代謝化学途径的现有知識。为此只得舍弃許多有关的卓越工作,例如,关于土壤-氮之間的相互关系、含氮化合物的吸收和轉移、一般和特殊含氮化合物的化学,以及各种因素(如病毒感染)对氮代謝的影响。虽然这些知識已見諸于其他許多书刊中。

如果没有許多朋友的帮助,本书是不可能和大家见面的。为此,作者对于他們,特别是同事 J. E. Varner 在撰稿过程中所給予的鼓励和帮助表示感謝。

G. Webster

俄亥俄州 哥伦勃斯

1958.1.20

目 录

第一章 緒論——氮素营养	1
氮素营养	1
第二章 氨基酸的代謝	21
氨基酸的氨基代謝	24
氨基酸的生物合成和降解途径	27
第三章 酰胺和肽的生物合成	53
第四章 蛋白质和核酸代謝	65
蛋白质合成过程的特点	65
細胞碎片制剂中蛋白质合成的研究	75
蛋白质合成机制的研究	89
核酸的合成	97
蛋白质的降解	101
第五章 完整植株中的氮代謝	108
正在发育的幼苗的氮代謝	108
氮代謝的概况	115
衰老过程中的氮代謝	122
英中名詞索引	128

表 的 目 录

I. 植物对各种不同形态氮的利用	2
II. 氮和其他含氮物质对氮固定作用的影响	13
III. N^{15} 参入各种微生物中的各种含氮組成部分	15
IV. 植物中发现的各种非蛋白质氨基酸	22
V. 鏈孢霉和南瓜的氨基酸氧化酶的特异性	25
VI. 植物中的某些肽和有关物质	54
VII. 小麦胚芽提取物中有关 β -丙氨酸和 β -丙氨酰胺的變化反应	59
VIII. “非天然”氨基酸参入蛋白质	69
IX. 氯霉素对蛋白质和核酸合成的影响	73
X. 豌豆幼苗的核蛋白部分中淨蛋白质的合成	76
XI. 不同細胞碎片制剂的氨基酸参入体系的各种性质	79
XII. 一价阳离子对豌豆幼苗制剂中氨基酸参入的影响	80
XIII. 完整幼苗各細胞組成中的 C^{14} -谷氨酸的分配情况	85
XIV. 細胞核內各种蛋白质組成中 C^{14} -丙氨酸的分配情况	85
XV. 不同氨基酸活化酶制剂所形成的氨基酸氧肟酸	93
XVI. 不同氨基酸活化酶的提純	93
XVII. 硝酸銨、尿素和葡萄糖对貯藏蛋白质降解的影响	110
XVIII. 供給氯化銨的幼苗所产生的天門冬酰胺	114
XIX. 尿嘧啶、硫尿嘧啶和甲基色氨酸对完整 植株中蛋白质和核糖核酸合成的影响	117

第一章 緒論——氮素营养

經過互有联系的几个阶段的研究，我們对于氮代謝的知識有了发展。最初阶段包括植物中一般含氮化合物的发现以及对于它們特性的研究；而后，在不同的試驗条件下，对这些含氮化合物变化的方式进行广泛的測定。近年来，生物化学家和生物物理学家应用新工具，特别是应用同位素技术而获得了有关氮代謝的許多确实的化学途径。对某些场合來說，一种含氮化合物代謝的詳細化学步驟也有所了解，同时还对催化每一步驟的酶作了分离，叙述了它們的特性。然而，在极大多数的事例中，目前还只能画出代謝順序的一个大致輪廓。因此，在各种代謝途径尙未澄清以前，还需要进行很多有意义的研究。虽然到目前为止，許多研究已經表明，氮代謝的若干途径是极其复杂的。但是由于近代研究的迅速进展以及新研究技术的不断应用，使人們可以期望，在氮代謝的大部分过程中所涉及到的各个确实的步驟将会进一步得到闡明。

目前了解的植物氮代謝的化学途径可以粗略地分为四方面：(1)氮的同化作用；(2)氨基酸的形成及其相互轉变；(3)酰胺、肽与其他簡單含氮化合物的合成；(4)蛋白质与核酸的形成和降解。这些途径将在下面作綜合說明。

氮 素 营 养

在考虑氮的代謝作用时，首先要解决的問題是：(1)植物同化哪些氮素化合物和(2)同化过程所包括的途径怎样？植物能同化的氮素化合物可以分成四大类，即有机氮、氨态氮、硝态氮和分子态氮。少数植物（包括細菌和藻类）能同化所有这四类形态的氮素，但大部分植物只能利用硝酸盐、氨和不同形态的有机态氮（表1）；

有少数植物只能利用硝态氮或有机态氮, 更少数的几种植物只能利用某几种有机态氮(Robbins, 1937)。

表 1 植物对各种不同形态氮的利用*

組 別	生 物	有机氮	氨态氮	硝态氮	分子氮
I	某些真菌(<i>Endomyces</i> , <i>Phycomyces</i>); 某些細菌; 和 <i>Euglena</i> 的某些种	×			
II	某些真菌 (<i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i>); 某些細菌	×	×		
III	大部分細菌、真菌、藻和高等植物	×	×	×	
IV	某些細菌和藍綠藻	×	×	×	×

* 引自 Robbins (1937)。

有机氮化物的代謝 由于过去許多研究者沒有应用无菌培养技术, 因此以前认为植物可利用有机含氮化合物的可靠性是很小的。如果这种有机化合物在同化以前被微生物分解而成为硝酸盐或氨, 那末, 很显然是不能說明植物对这种完整的有机化合物有利用的能力。事实上, 在无菌条件下, 不論离体蕃茄根(White, 1937)和水芹根(Andrus 和 Quastel, 1947), 其生长都受到某些各不相同的氨基酸的抑制。就兰花胚芽來說, 只有精氨酸能促进它的生长, 而其他 18 种氨基酸中的任何一种都会抑制它的生长(Spoerl, 1948)。但是, Ghosh 和 Burris (1950)在广泛的研究中发现, 三叶草和蕃茄都能利用多种氨基酸。其中丙氨酸、精氨酸、天門冬酰胺、谷氨酸、甘氨酸、組氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、賴氨酸和苯丙氨酸与氨相比, 它們是三叶草的更好的氮源。丙氨酸、天門冬酰胺、谷氨酸、組氨酸以及苯丙氨酸都比氨或硝酸盐优越。对于蕃茄來說, 許多氨基酸較氨为更好的氮素来源, 而其中只有谷氨酸較硝酸盐易于利用。对于烟草, 硝酸盐和氨則优于所有被試驗过的有机含氮化合物。Ratner 等(1956)发现玉米和向日葵能以甘氨酸、天門冬氨酸、谷氨酸或精氨酸作为它們唯一的氮源而生长。但是, 它們

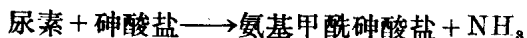
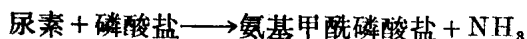
都不及无机氮那样有效,其中賴氨酸和丙氨酸是植物难于利用的,而苯丙氨酸和酪氨酸則能抑制生长。与此相反,当几种不同氨基酸同时存在时,有人曾观察到小球藻的生长較在氨或硝酸盐中更为迅速(Ghosh 和 Burris, 1950; Arnow 等, 1953)。由此可见,有些植物不仅能利用氨基酸作为氮源,而且有时候这些氨基酸比氨或硝酸盐更为有效。可以推测,在极大多数情况下,細胞对氨基酸的吸收就好象是以简单的飼喂方式进入到細胞的代謝途径中。Virtanen 和 Linkola (1946) 报导过豌豆和三叶草均能直接吸收和利用天門冬氨酸和谷氨酸作为氮源。Ratner 等(1956)发现完整的 C^{14} -酪氨酸分子能被玉米和向日葵根所吸收。同样,对大豆幼苗供給放射性谷氨酸时,完整的谷氨酸分子能进入細胞并能大量积累在細胞内(Webster, 1954)。很明显,由于谷氨酸終究存在于谷氨酰胺、谷胱甘肽和蛋白质中,所以細胞对谷氨酸的吸收較之它的代謝为快。当供給羽扇豆幼苗以放射性天門冬氨酸时,虽然大部分天門冬氨酸能轉变成天門冬酰胺,但在細胞中同样会有游离天門冬氨酸的累积(Webster 和 Varner, 1955a)。因此,在各种不同的合成和降解过程中,这些大量积累的游离谷氨酸和天門冬氨酸能不断地被利用。至少对某些植物来說,氨基酸能直接参入它們的代謝途径是毋庸置疑的(Webster, 1954; Webster 和 Varner, 1955a)。

用植物組織进行培养时情况略有不同,由于条件不同,个别氨基酸对植物的生长一般沒有促进作用。事实上,如前所述,它們常常会抑制生长(White, 1937; Andrus 和 Quastel, 1947; Riker 和 Gutsche, 1948)。但是以氨基酸的混合物来培养某些不同組織时,則可以看出它能促进生长(Paris 和 Duhamet, 1953; Straus 和 LaRue, 1954; Netien 和 Beauchesne, 1954)。氨基酸混合物的效果可能具有很大的意义。用个别氨基酸作为氮源时,只有具备下列两个因素,它才比无机氮有效:(1)吸收速率比无机氮源为快;(2)氨基轉移到其他酮酸比无机氮經同化后再轉移为快。因此,个别氨基酸往往不能象氨或硝酸盐那样有效地提供氮源是不足为

奇的。但是,在氨基酸混合物的情况下,假若全部氨基酸迅速地為細胞所吸收,那末,氨基轉移的必要性就不复存在。所以这些混合物能很好地作为有效的氮源。遺憾的是,混合氨基酸与单一氨基酸相比較的相对效果尚未得到广泛研究。同样,关于細胞对氨基酸和无机氮吸收的相对速率亦很少了解。

除用氨基酸研究外,对有机含氮化合物利用方面常用尿素来研究的,因为已知尿素是許多植物的氮源。豆科植物能吸收完整的尿素分子,它在代謝以前,可大量积累,在細胞內形成尿素的貯池(Webster 等, 1955b)。在某些高等植物中,尿素可水解成为二氧化碳和氨(Hinsvark 等, 1953)。用 C^{14} -尿素进行蚕豆的研究証明,放射性碳能参入到許多氨基酸和蛋白质中,同利用 C^{14} -二氧化碳所获得的結果相似(Webster 等, 1955b)。同样, N^{15} -尿素吸收后,其 N^{15} 参入到氨基酸和酰胺的方式与用氨所得的結果也相同(Boynton 等, 1953)。但是,不能忽視的是尿素中的氨基甲酸有可能直接被植物利用,对此已有某些間接証明(Walker, 1952; Steward 和 Pollard, 1956)。因此,对这种可能性还需要作进一步的研究。

与上述情况有关的是 Slocum (1958)新近关于脲酶活性的有意义的发现。过去了解磷酸盐能抑制脲酶对尿素的水解,而砷酸盐則能促进脲酶对尿素的水解。Slocum 加了带有标记 O^{18} 的砷酸盐或磷酸盐使脲酶对尿素发生作用。在这种条件下,由尿素所释放出的二氧化碳含有 O^{18} 。这些結果指出,脲酶可能具有催化下列反应的作用:



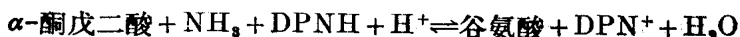
氨基甲酸磷酸盐可能比氨基甲酸砷酸盐要安定得多,所以砷酸盐就能够促进尿素的水解,而磷酸盐則抑制其水解。这些有意义的試驗表明,脲酶可以催化植物細胞中正常氮代謝的一部分,即氨基甲酰的轉移反应。脲酶的水解作用只是因为脲酶能使氨基甲酰轉移,这个作用与磷酸甘油醛脫氢酶有关的磷酸酶的活性非常相似,

也同谷氨酰胺合成酶具有催化谷氨基轉移的能力相似。

除氨基酸和尿素外,根据試驗結果,多数其他有机含氮化合物很难作为植物的氮源。因此,作为正常植物营养的有机含氮化合物的作用似乎在于随着它們的分解而形成氨或者是有效地参与到植物細胞的正常代謝循环中。

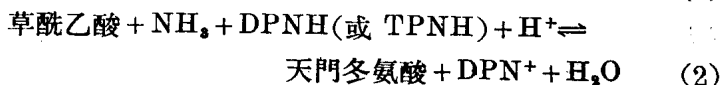
氮的代謝 应用同位素 $N^{15}H_3$, 对細胞中氮代謝途径的了解是有极大帮助的。Vickery 等(1940)証明 $N^{15}H_3$ 的氮能参与到烟草植物的酰胺、氨基酸和蛋白质中。Hevesy 等(1940)用向日葵作試驗也获得同样的結果。MacVicar 和 Burris(1948)进一步的試驗指出,由 $N^{15}H_3$ 能获得高度标记 N^{15} 的谷氨酸和天門冬氨酸。这些結果表明,谷氨酸和天門冬氨酸是植物同化氨的最初产物。Rautanen (1948)的发现也与这些結論相一致,即谷氨酸、天門冬氨酸和它們的酰胺以及丙氨酸均为吸收氨以后的主要产物。

目前对这些产物形成的詳細过程只有部分了解。由于谷氨酸的高度标记,似乎可以肯定它是通过 α -酮戊二酸的还原胺化作用的直接产物。催化該反应的酶(谷氨酸脫氢酶)已从許多植物中分离出来(Adler 等, 1938; Damodaran 和 Nair, 1938; Bulen, 1956)。其反应式如下所示:



Bulen (1956)从玉米叶子中約經 46 次提純而得到谷氨酸脫氢酶。这种酶只对輔酶 DPN 是专一的,它不象对 TPN 专一的酵母和細菌的脫氢酶,也不象动物中谷氨酸脫氢酶那样既能利用 DPN,也能利用 TPN 作輔酶。

关于氨参入天門冬氨酸的方式尚不十分清楚,但认为可能有三种途径:



Virtanen 和 Tarnanen (1932) 在綠色植物的叶子和幼苗中已經

发现天门冬氨酸酶,它能催化延胡索酸直接进行胺化作用。而草酰乙酸的还原胺化作用则尚未得到证实。但近年来, Zelitch(1957)发现植物中天门冬氨酸的脱氨基作用决定于 DPN,从而提出天门冬氨酸脱氢酶的存在,它和谷氨酸脱氢酶可能相似。关于氨基转移作用使谷氨酸的氨基转移到草酰乙酸,已完全得到证实(第二章)。因此,在植物体中就有可能存在着催化这三种作用的酶。就丙氨酸的形成而言,它是由丙酮酸的还原胺化作用还是由丙酮酸与谷氨酸起氨基转移作用而形成,同样也不能加以肯定。这些反应已在高等植物的无细胞提取物或在酵母的无细胞提取物中得到证实(第二章)。

这些反应对细胞中氮的同化作用的重要意义,目前还不能确切阐明。当 N^{15} -氮被细胞吸收时,它经常是很快地参入到谷氨酸,此后才参入天门冬氨酸和丙氨酸。这是由于 α -酮戊二酸具有强烈的胺化作用,而由草酰乙酸和丙酮酸同时进行的胺化作用却是微弱的。所以,氮的同化作用的主要途径将大部分,甚至完全是通过谷氨酸的形成,然后,经氨基转移作用而使氨基转移至其他物质上。极大多数的物质能与谷氨酸发生氨基转移作用(第二章),这与上述概念也相符合。然而,对于上述这些可能性尚难作确切证明。但是, Fincham (1950, 1951, 1954) 曾观察到粗糙链孢霉 (*Neurospora crassa*) 的两个变种,它们缺乏谷氨酸脱氢酶,因此在氮中生长就非常缓慢。虽然它们难于使氮形成一定数量的 α -氨基酸,然而它们确实具有正常氨基转移作用的活性。当以谷氨酸或少量其他氨基酸代替氮时,就表现出正常生长,不过在其他氨基酸中生长不及在谷氨酸中生长得那样好。这些材料指明,在链孢霉 (*Neurospora*) 中最初氮的同化几乎完全是通过谷氨酸脱氢酶的作用而形成谷氨酸。在其他植物中,如果也发生同样情况,那也是不足为奇的。

不论同化过程的重要意义如何,目前有充分的材料证明谷氨酸是由于胺化作用而形成的,同时,天门冬氨酸和丙氨酸亦是通过对胺化作用或氨基转移作用而形成的。它们都可作为氮参与植物细

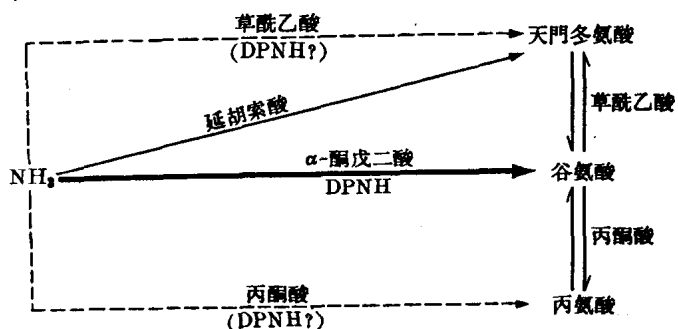


图1 氮同化作用的途径

胞代谢途径的主要方式(图1)。

硝酸盐的利用 通过许多研究已经证实植物能使硝酸盐还原成氨。例如 Warburg 和 Negelein (1920) 指出,把小球藻悬浮液温育在硝酸盐中,结果在其周围的培养基中硝酸盐消失,有氨积累起来。此后,用高等植物亦得到了同样的结果(Pearsall 和 Billimoria, 1937; Rautanen, 1948)。Delwiche (1951) 以及 Mendel 和 Visser (1951) 业已证明,各种植物都能把 N^{15} -硝酸盐中的氮迅速地转变为 N^{15} -氨。同时还证明,不问是供给 N^{15} -硝酸盐或 N^{15} -氨, N^{15} 在植物不同器官中均按照同样的方式分布。正如 Delwiche (1951) 所指出的,由于 N^{15} -氨不能转变成 N^{15} -硝酸盐,所以硝酸盐必须经过还原而形成氨。可是,长期以来,硝酸盐还原成氨的机制还没有完全搞清。Meyer 和 Schultze (1894) 最早认为这种还原过程可能是:

硝酸盐 → 亚硝酸盐 → 次亚硝酸盐 → 羟胺 → 氨

然而,直到最近,关于这个还原过程或任何设想的中間产物仍然未能证实。目前主要还停留在植物中可检查出有少量羟胺和亚硝酸盐的存在而已 (Lemoigne 等, 1936, 1937; Michlin, 1938; Virtanen 和 Ahrimo, 1939)。

硝酸还原酶 关于硝酸盐还原的确切机制,首先由 Evans 和 Nason (1952, 1953, 1954) 从高等植物和鏈孢霉中分离出一种

酶，它能按下列反应催化硝酸盐的还原作用：



在鏈孢霉中的这种酶只对 TPNH 起作用，而大豆中的这种酶却能同样地利用 TPNH 或 DPNH。这两种来源的还原酶已经过 60~70 次的提纯，并对分离出来的酶的性质作了广泛的研究。除大豆和鏈孢霉外，在其他 6 种植物的提取物中已发现有这种还原酶的活性。由于在大豆根瘤中找到了对 DPNH 专性的硝酸还原酶 (Evans, 1954)，因此，在植物体中似乎经常有吡啶核苷酸-硝酸还原酶的存在。

硝酸还原酶除了对植物细胞中硝酸盐还原成氨有重要意义外，它本身还有许多有意义的性质。据分析，该酶是一种具有黄素腺嘌呤二核苷酸作为辅基的黄素蛋白。这种还原酶的活性强烈地受到氰化物、叠氮化物、硫脲、对-二氮杂菲、8-羟基喹啉的抑制作用，因而认为在这种还原酶的作用中应含有一种金属。Nicholas, Nason 和 McElroy (1954) 证明，这种金属是钼。当植物感到钼不足时，在体内就有硝酸盐的积累 (Anderson 和 Spencer, 1950; Hewitt 和 Jones, 1947; Wilson 和 Waring, 1948; Mulder, 1948)，所以，这就表明硝酸还原酶的减少是必要的金属成分缺乏的直接反映。

在硝酸盐还原中，钼作用的方式已变得愈来愈清楚了。有人提出，钼的作用是在还原 FAD 和硝酸盐之间作为电子传递体 (McElroy 和 Nason, 1954)。其方式如下：

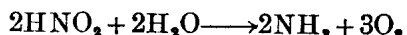


同时，Nicholas 和 Nason (1954) 已证实了这个结果。他们发现，不含钼的酶不可能催化 TPNH 或还原态 FAD 以使硝酸盐还原，只能通过 TPNH 而催化 FAD 的还原。加入钼则可恢复其已失去的能力。当 TPNH 或还原的 FAD 不存在时，还原态的钼在化学作用上乃是作为硝酸盐还原的一个电子传递体。由此表明，钼的作用是作为一个电子的受体。

在此还原酶的活性中，除有钼和 FAD 参加外，它还需要游离

硫氢基的存在。Nicholas 和 Nason (1954) 已经发现, 硫氢基的作用主要是通过 TPNH 参与 FAD 的还原作用。他们认为硫氢基的作用不是作为电子受体就是存在于与酶相结合的 TPNH 或 FAD 中。

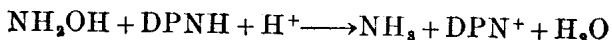
亚硝酸盐的还原作用 研究与硝酸还原酶有关的问题时, Evans 和 Nason (1953) 曾指出, 当 TPNH 存在时, 植物提取物能催化而使亚硝酸盐逐渐消失。但亚硝酸盐的消失受到 0.001 M 羟胺的抑制约达 80%。Vanecko 和 Varner (1955) 发现, 在光亮处和暗处, 完整的叶子均能使 N^{15} -亚硝酸盐还原成氨态氮。但在光亮处它的还原速率为暗处的 10~20 倍。他们的试验结果指出, 亚硝酸盐能还原到氨的水平, 且符合下列反应。



水的光解是为上述反应提供还原能力。

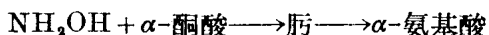
目前尚未能制得提纯的亚硝酸还原酶。但是, Nason, Abraham 和 Averbach (1954) 从链孢霉和大豆叶子中提取了一种酶系统, 它能使亚硝酸盐还原成氨。该酶系能利用 DPNH 或 TPNH, 并认为可能是一种黄素蛋白。当一分子亚硝酸盐被还原时, 就有三分子还原的吡啶核苷酸被氧化。Medina 和 Nicholas (1957) 曾报导过亚硝酸盐的还原需要铁和铜。同时, 次亚硝酸盐就是还原作用的产物。与此相符, Frear (1955) 观察到植物制剂能使 N^{15} -次亚硝酸盐还原到氨的水平。此后, Medina 和 Nicholas (1957) 发现, 当 DPNH 存在时, 在粗糙链孢霉中有一种能使次亚硝酸盐还原为羟胺的酶, 它的活性需要有铁和铜的存在, 但为金属螯合剂和硫氢基所抑制, 同时亦受到二硝基苯酚的抑制。

羟胺还原酶 Meyer 和 Schultze (1894) 提出, 在还原过程中的最后一个步骤是羟胺还原成氨。在链孢霉 (Zucker 和 Nason, 1955) 和高等植物 (Frear 和 Burrell, 1955) 中已发现催化该反应的酶。从链孢霉中已部分地提纯了这种还原酶, 并对它的活性研究得颇为详细。它所催化的反应是:

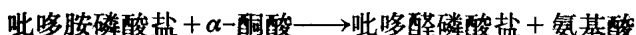
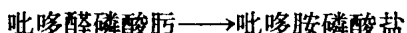
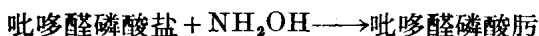


现有的証明指出，羧胺还原酶与硝酸还原酶都是一种金属黄素蛋白。Nicholas(1957)曾报导，它的活性决定于錳的存在。

上述关于硝酸盐、亚硝酸盐、次亚硝酸盐和羧胺的还原作用的研究全都支持这样的論点：即硝酸盐經過这些中間产物而还原为氨，同时每一过程在植物中都可能是硝酸盐还原的重要途径。然而，决不能忽视可能还存在着其他的途径。除了明显的无机途径外，还可能当硝酸盐开始还原成为某些中間产物后，其中氮可能与一个有机分子相結合，并还原到氨基的水平。例如，Virtanen 和 Ahrimo(1939)曾經提出，在羧胺还原途径中，不一定要通过形成游离氨的阶段，而可代之以下列假設的順序进行：



但是此途径尚无确切的証明。通过各种鏈孢霉变种进行硝酸盐还原的研究(Silver 和 McElroy, 1954; McElroy 和 Spencer, 1956)都支持这样的观点，即硝酸还原酶还原硝酸盐是按照正常的順序进行的。但游离的次亚硝酸盐和羧胺的形成可能不是亚硝酸盐还原的主要途径。然而，用鏈孢霉作的研究指出，羧胺还原作用还需要吡哆醛的参与，其反应过程如下：



在各种植物中，上述反应的全部或其中任一途径都可能发生。但是，这些过程还有待于用鏈孢霉的各种变种和專門的同位素技术的精确試驗来加以肯定。

各种因素对于硝酸盐和氨的同化作用的影响 关于各种环境条件对植物氮的同化作用的影响，过去几年中已积累了大量資料。有关土壤中各种氮源的有效性也进行了很多研究。Nightingale(1937, 1948)对这些問題曾作过很全面的評述，这里不重复討論。环境因素对氮的同化作用的影响的另一原因是由于影响呼吸作用。根系对硝酸盐和氨的吸收与累积也和对其他离子一样，主要决定于呼吸能量。因此可以这样說，凡是影响呼吸作用的任何因

素(氧压、温度、碳水化合物、呼吸抑制剂等)也就影响着硝酸盐和氨的代谢。

但是,硝酸盐和氨在某些环境条件下,却反映出显明的差别。例如,培养基的 pH 值对硝酸盐和氨的相对利用起着很大的影响。一般来说, pH 值低时,有利于硝酸盐的吸收,而 pH 值高时,则有利于氨的吸收(Arrington 和 Shive, 1935)。植物的年龄也影响着氮的同化作用。水稻在幼苗时能利用氨,而很难利用硝酸盐,然而当长大后,则有同化硝酸盐的能力(Bonner, 1946)。同样,小麦和燕麦苗对氨的同化能力优于硝酸盐,但在长大后则获得了同样能同化硝酸盐的能力(Theelin 和 Beaumont, 1934; Sessions 和 Shive, 1933)。

植物不论对氨或硝酸盐的吸收,较之对它们的同化,其速率主要决定于植物本身。例如,有人曾报导过莧科(*Amaranthus*)的总氮量的 56% 和芹菜的可溶性氮的 80% 呈硝酸盐状态,但氨则常呈有机酸的铵盐形态而贮藏在植物的酸性汁液中。在黑暗条件下,秋海棠属(*Begonia*)的叶子中有时铵盐积累可达总氮量的 30%,但这种情况无疑是例外的。

分子态氮的利用 正如前面所述,只有少数微生物有同化分子态氮的能力。这些微生物包括:(1)光合自养细菌;(2)自生固氮菌属、巴氏梭菌属、共生固氮菌属及其他属的细菌;(3)*Rhodotula* 属中至少有一种;(4)蓝绿藻属(*Nostocaceae*)中的几个种。这些微生物能将分子态氮转变为有机态氮,其过程是很有意义的。在过去曾引起了广泛的研究,并且获得了大量的文献资料。虽然氮素固定作用所包括的真正化学反应过程还不了解,但对其机制曾作过许多重要的研究。

氮素固定作用所需的条件 分子态氮的同化并不需要特殊的条件。根据对氮素固定作用最适条件的观察(Wilson, 1940; Burk 和 Burris, 1941),认为凡能强烈引起代谢作用的那些条件便是氮素固定作用的最适条件。供给代谢基质(碳水化合物或其他物质)以及氧的供应,对这些需氧的微生物的固氮作用是必需的。但到