

柜生 2

矿质营养、常绿营养元素

(南开大学生物系植物生理教研室)

汤兆达 赵素娥



中国植物生理学会全国学术讨论会

一九七九年八月 河北保定

第一章 硝酸盐代谢

引 言

土壤中的N素主要有有机态的，无机N则可以分为固定态的氮，可交换的氮，硝酸盐和亚硝酸盐。固定态的氮是粘土矿物膨大的晶格中内层的阳离子 Ca^{++} 、 Mg^{++} 被氮取代而生成的，它大概不能被植物利用，而大多数土壤中亚硝酸盐含量又很少，可以略而不计，因此可交换态氮和硝酸盐是植物营养中主要的N源，在许多土壤中硝酸盐的含量高于氮，但在某些大藓属硬木和松柏科植物构成的森林中，氨态N似乎是可利用无机N的主要形态，Rice 和 Puncholy (1972) 认为生长在这种环境下的某些草类和树种，对硝化过程有抑制作用，所以正常的氨态氮转变为硝酸盐的过程受到阻碍。

植物可以利用多种形式的N源如硝态、氨态、亚硝态及氨基酸等，但通常硝酸盐常优于其他N源，或至少和其他N源一样。

关于硝酸盐和氨态究竟哪一种对植物生长要好一些，经过长时间的反复试验积累了大量资料，用土壤进行试验，因为土壤微生物很容易将供给的N源转变为别的形态，所以得到的结果往往难以解释。用溶液培养进行的试验则因植物吸收硝酸盐或氨态离子后，常使培养液PH发生变化，植物吸收硝酸盐后，可使培养液变碱，而生长在氨态N的溶液中的则使溶液趋于酸性，这主要是因为植物对阳离子和阴离子吸收不同的结果，在存在钾离子时，植物首先吸收阴离子，反之在含硝酸盐的溶液中的则优先吸收阳离子，因此植物生长在两种不同N源下，如果长势有差

异，也很难以确定这种差异是由于N源利用性不同呢？还是由于对PH变化的忍耐力不同的结果，分析大量文献后可以认为植物对两种N都能吸收利用。

除此之外植物对硝态N和氨态N的吸收，还因体内酶的水平，植物的种类，和植物的年龄而异。

植物根系吸收的硝酸盐在参加体内含N化合物的合成代谢前，首先必须被还原成氨，在某些植物中，即使根际周围的外质中存在硝酸盐离子，但切除地上部分，在木质部的筛流液中却不存在 NO_3^- ，而且一些离体培养的根，以 NO_3^- 作为唯一N源，仍能维持生长，因此证明 NO_3^- 的还原能在根中进行，在以适当的 NO_3^- 盐作为N肥时通常可以在植物的叶中检测出 NO_3^- ，而且叶中参与硝酸代谢的酶类水平往往高于根中，表明在许多情况下叶儿可能是硝酸还原的主要场所。硝酸还原过程分为两步进行，即由 NO_3^- 还原到 NO_2^- ，再由 NO_2^- 还原到 NH_3 ，硝酸还原酶参加了第一步，亚硝酸还原酶参加了第二步。

硝 酸 还 原 酶

硝酸盐首先在硝酸盐还原酶(NR)的作用下被还原为亚硝酸盐。研究硝酸还原酶的工作开始都是用微生物作材料的。

Greer, Shickland Jass (1934)证明大肠杆菌、经过洗修的细胞或无细胞提取物，当有氧化-还原染料存在时，能将硝酸盐还原成亚硝酸盐，还原所需要的氢或电子来自脱氢酶系统，如乳酸-丙酮酸，反应中所需要的染料是作为脱氢酶系统，和硝酸盐还原酶之间的H或电子载体。

Erans Nason Nicholas (1953)首先从红色链孢霉(*Neurospora crassa*)中获得NR，以后证明在多种植物中都有此酶，为了使硝酸盐还原，必需要有电子载体，很多高

等植物的NR都专一的需要 NADH^+ 作为电子供体,但也有少数情况下,可以由 NADPH^+ 作电子供体, (Wells (1974)证明这可能是一种核苷酸磷酸酯酶 (Nucleoside phosphatase) 的作用,使 NADPH^+ 脱去P转变为 NADH^+ 的缘故,除 NADH^+ 外,还原的黄素如 FMNH_2 或 FADH_2 ,在硝酸盐还原过程中,也可以做为电子供体,植物的粗提取液用 NADH^+ 使 NO_3^- 还原时,常因加入FMN或FAD而做促进,虽然高等植物的NR尚未提纯,但目前一般认为NR为一种黄素蛋白,钼(Mo)也是NR组成的必需因子。

Steinberg (1937)首先认为Mo和 NO_3^- 代谢有关,他预计在*Aspergillus niger* 黑曲霉中存在一种依赖于Mo的NR,当用 NH_4^+ 代替 NO_3^- 时,Asp的生长就不需要Mo, Arnon 和 Stout (1939)证明了Mo是高等植物的必需元素。

Hewitt & Jones (1947)证明蕃茄、洋白芽缺Mo后体内积累大量硝酸盐,硝酸盐的积累与NR还原能力的降低和酶浓度减少有关。

第一个用试验证明在NR组成中存在金属钼的是 Nicholuz d Nasoil (1954, 55) 他们证明在NR含量很低的缺Mo的黑孢子菌 *Neurospora* 中,当加入Mo后经过12小时NR的含量即达到正常的水平, NR比活的增加与Mo含量之间有相关性,当把黑孢子菌 *Neurospora* 的NR在氰化物进行透析,并在无Mo的磷酸缓冲液中透析以除去 CN^- NR即失去活性,但加入Mo (1-10 μM) 后可恢复活性,而加入其它金属钼、钨都无效。Nelson & Hewitt (1971) 在藻类 *Apicococcus Cardenas* 和小球藻中分别证明放射性 Mo^{99} 掺入具有NR活性的蛋白质组分中,故进一步证明了Mo是NR的组成成分。

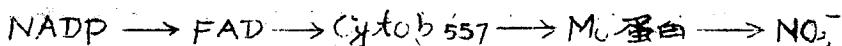
用连五硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_7$) 还原的 Mo 可以取代 NADPH 或 FMNH 作为 NR 的电子供体, 这表明 Mo 的作用是在氧化态的变换上, Nicholas & Stevens (1955) 证明在此反应中生成五价的 Mo, 故认为反应是由 $\text{Mo}^{6+} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Mo}^{5+}$ 。

无 Mo 的 NR 用 NADH 虽然不能使硝酸盐还原, 但可使 FAD 还原, 据此可以认为, 在还原的顺序中, FAD 的位置在 Mo 和硝酸盐之前。

硝酸盐还原反应的第一阶段受与 -SH 基结合的汞试剂 (如 1-氯-2,4-二硝ro苯甲酸) 的强烈抑制, 抑制作用可被半胱氨酸或谷胱甘肽逆转, 表明 -SH 基参入此反应, 因此 NR 的作用可以图示如下:



Fe 也是某些 NR 的组成成分, 从 *Neurospora crassa* 红色链孢霉的 NR 中已证明存在于 557 nm 有最大吸收带的细胞色素 b (Gossett & Moser 1967 69) 小球藻的 NR 中包括 2 个 Cytob 557 2 个 FAD 和 2 个 Mo 原子, (Satomori 1975) Cytob 557 位于 FAD 和钼金属之间。



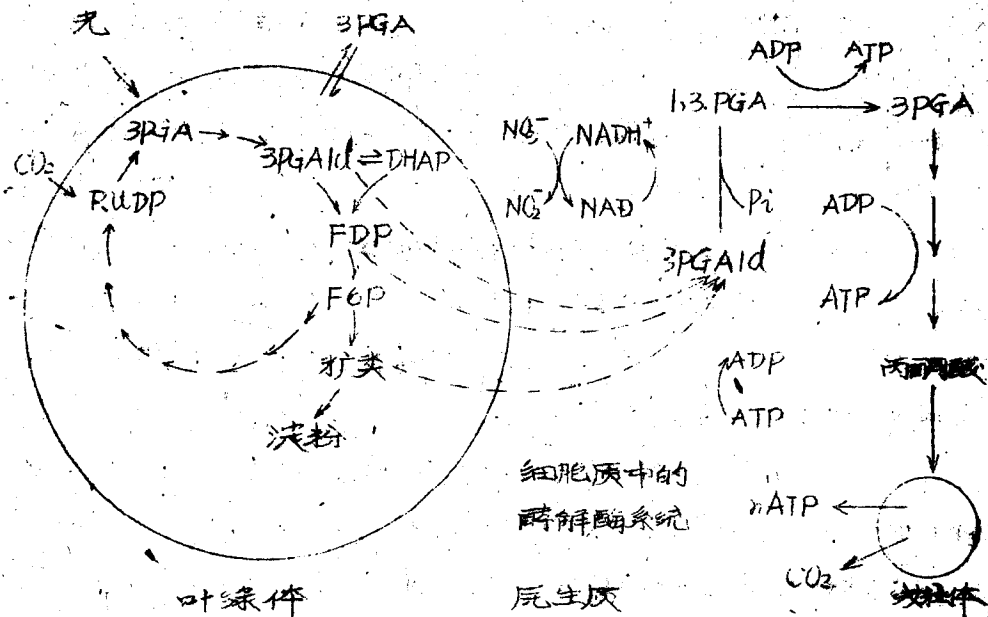
硝酸盐还原酶的组成结构一般都很复杂, 不仅不同植物有所不同, 即使同一属植物不同种间也可能有所差异, 目前一般认为此酶是由两个亚基组成的, 一个亚基将电子从还原的吡啶核苷酸传递给含有黄素的亚基, 另一个亚基则将电子从黄素通过 Mo 传递给硝酸盐, 从高等植物中分离出这两个亚基的企图至今未取得成功。

硝酸盐还原过程中电子供体的产生

植物在根中和叶内都能还原硝酸盐，还原所需的电子供体 NADH^+ 在绿色和非绿色组织中究竟是怎样产生的曾有过各种推测，在体光强下高等植物的叶内积累硝酸盐，最初曾认为硝酸盐的这种累积是由于无作用中生成的还原的吡啶核苷酸减小所致，但硝酸盐还原需要的是 NADH^+ ，而无光作用中主要生成的是 NADPH^+ 并且 NADPH^+ 产生在叶绿体内，它不容易通过叶绿体膜，而硝酸盐还原酶则是存在于细胞质中的，因此排除了无光作用中生成的 NADPH^+ 直接参入 NO_3^- 的还原。(Rittenour et al 1966) 也可以认为是否由于核苷酸磷酸脂酶的作用使 NADPH^+ 转变为 NADH^+ 而参入还原，但 Gargali & Krcgman (1966) 证明照光的叶比，将叶绿体内的 NAD 转化为 NADP 故 NADPH^+ 显著增加而 NADH^+ 含量并无变化。

Klepper (1969) 将水、丙酮酸、磷酸甘油酸 (PGA) 3-磷酸甘油醛 (3-DGAld) G-6-P, FDP (二磷酸果糖) 真空渗入存在硝酸盐的玉米和牵牛花叶片中，然后在暗中温育，测定生成亚硝酸盐的速率，结果发现对照、渗入 PGA 和丙酮酸的叶片生成的亚硝酸盐的速率相等，而渗入三种磷酸酯的叶片比对照生成的亚硝酸盐多二倍。 NO_2^- 形成的速率与介质中加入的磷酸酯有关，取叶片与浆的上清液 (3000g 15分钟) 当供给 PGA, ATP, NADPH 和 NAD 时，可以将相当速率的 NO_3^- 还原为 NO_2^- 但以上四者中缺少任何一种即无 NO_2^- 生成，当供给 3PGAld 及 NAD 时还原生成的 NO_2^- 最多。与单独供给 NADH 一样多，但单独供给 NADPH^+ 则无效。根据上述结果，Klepper & Hagman (1971) 认为光合作用中 CO_2 被固定，还原后在叶绿体中生成磷酸三碳糖，六碳糖和淀粉，这些中间产物穿过叶绿体膜进入细

胞质，在细胞质中通过发酵而被代谢，酵解产生的3-PGAld（或叶绿体中由光合生成的3-PGAld被释出进入细胞质）被3-PGAld脱氢酶（PGD）氧化成1,3-PGA，同时NAD被还原为NADH⁺，因此3-PGAld和PGD是光和暗下（绿色或非绿色组织中）NR的电子生成系统，如下图所示：



这个图解是很吸引人的因为它很好地说明了硝酸盐代谢和光合作用之间的密切关系，也能把呼吸作用和NO₃⁻还原联系起来。

引自：Beavers: Nitrogen Metabolism in plants. p. 23.

硝酸盐还原酶的生理意义

硝酸盐还原酶，除了能还原硝酸盐或亚硝酸外，还有另一种活性，即脱氢酶的活性。在某些生物中NO₃⁻并不作为生长所需的N源而起作用。例如反硝化细菌，将硝酸盐还原后不继续

一步利用还原产物，而是将 NO_3^- 盐作为不需氧呼吸的末端氧化剂或受体以代替氧；某些兼性的厌氧细菌如大肠杆菌也是这样，当硝酸盐的还原与呼吸作用相偶联时就会引起额外的额外分解以提供还原所需的能量，并且会产生额外的 CO_2 而并不相应地伴随着 O_2 消耗的增加；这是久已知道的现象，Hamner (1935) 发现玉米幼苗种子的缺N植物；当供给硝酸盐时，在暗处 CO_2 的生成增加而呼吸作用减少，在叶内暂时形成亚硝酸盐，Hamner & Meyers (1948) 证明生长在以葡萄糖为基质的产小球藻在暗处还原 NO_3^- 时 R.Q. (CO_2/O_2) 从1.2 增加到1.6 R.Q. 的增加是 CO_2 产生增多的结果。

Neurospora 下分提纯的NR 既表现 NO_3^- 盐还原酶的活性又呈现脱氢酶活性能使氧化还原性染料（如DCPIP = 二氯酚、吲哚酚）或黄素（FMN）还原。在 CN^- 中透析后，NR 的活性丧失但并不影响去H酶的活性，现已证明除了细菌之外小球藻、黑曲霉、双歧、蚕豆等的NR 都具有去H酶的活性。

NR 之所以具有双重的活性，一种解释认为可能以两种状态存在，一种是可溶态或液相的，当它表现 NO_3^- 还原酶的活性时常呈此种状态。另一种呈成膜相结合成颗粒状，并与细胞色素系统紧密结合，*Micrococcus* (产球菌属) *denitrificans* (脱N细菌) *E. coli* (大肠杆菌) *Pseudomonas* (假单胞菌属) *Aeruginosa* (铜绿色假单胞菌) 的NR 系统当表现去H酶活性进行硝酸盐呼吸时常呈这种与膜结合的状态，但是根据 *Aerobacter* (产气杆菌) *Aerobacter*, *Neurospora crassa* 和 *E. coli* (大肠杆菌) 的研究也有人认为具有 NO_3^- 还原或脱氢的NR 只有一种类型，其功能的不同可能是由于处于不同的生理状态（条件）之下，因为血清学的试验不能证明在

不同吸收条件下具有二种不同的蛋白质，他们认为同一种蛋白质与不同的变基体相结合（可溶性的或颗粒状的）因此具有不同的活性。

硝酸还原酶在植物细胞和器官中的分布：一般在植物的各个部分都可以检出硝酸还原酶的活性， NO_3^- 盐的同化或NR在许多植物的高体根或附着根中都可进行，不仅在细菌、真菌、绿藻中存在，而且在高等植物的胚，大麦的糊粉层细胞中，发芽的幼苗，玉米的盾片，子叶、根瘤……都存在有此酶，酚类化合物对此酶有抑制作用，故在提出此酶时要特别注意（T. et al 1972）。至于在细胞中的分布，至今有很多争议，在一般较简单的提取过程中，该酶大部分是存在于可溶性蛋白质部分。

Losada (1965)认为此酶处于叶绿体中，其根据是：叶绿体系统为该酶提供了电子供体和还原的黄素蛋白，Wilkin (1968, 70)指出NR和亚硝酸还原酶存在于大麦、蚕豆根的颗粒状部分。

Mellin & Tergumna (1971)研究了三个 C_4 植物（玉米、向日葵、苏丹草）中NR和亚硝酸还原酶在肉细胞中的分布指出，在维管束鞘外边的叶肉细胞中NR的活性是维管束鞘细胞的2-9倍，硝酸盐在叶肉细胞中积累了一20倍。在玉米白化（ C_3 ）叶中没有NR，有亚硝酸还原酶，但量大减了，在前质中有在分化的叶绿体中无。

硝酸盐还原酶的诱导

一、 NO_3^- 盐还原可受到多种方式的调节

1. NR 合成的诱导，阻遏和去阻遏

硝酸盐诱导 NR 的合成是一个相当普遍的现象，早在 1948 年 pollock 和 Wams Wright (1954) 发现 *Neurospora* 及 *Aspergillus* (帚状菌) 生长在以 NH_4^+ 或以丙氨酸作为唯一 N 流的培养基中没有 RN 活性但在 NO_3^- 或 NO_2^- 中的菌丝提取物表现强烈的 NR 活性，在高等植物中第一个证明 NO_3^- 诱导 NR 的是 Hewitt 等 (1956) 汤佩松、吴相钰 (1957) 发表在 *Nature* 杂志上关于水稻幼苗中 NR 的诱导形成的文章从发表的时间上虽略晚于 Hewitt 但实际工作却远早于此。

对红链孢霉、苜蓿、烟草愈伤组织，水稻幼苗、大麦等 NO_3^- 似于对于诱导 NR 和 NO_2^- 一样有效。

NR 合成的诱导是蛋白质重新 (de novo) 合成的同义语，因此诱导 NR 生成的结果也必需以蛋白质合成的标准来仔细衡量，在花椰菜、水萝卜、菠菜、玉米、烟草愈伤组织中已经证明能满足蛋白质合成的大多数标准，Zielke 及 Gilmer (1971) 用 ^{14}C 、 ^3H 、 ^{15}N 三重标记和薄层密度试验巧妙地证明在烟草愈伤组织中，确实有 NR 的重新合成，同时也进行着 NR 的分解 (NR 极不稳定半寿命期只有几个小时)。

Mo 也可以诱导 NR 的合成 Afendi Candela、Hewitt 分别证明生长在含有 NO_3^- 的缺 Mo 植物，Mo 可以作为 NR 的诱导物。由于在缺 Mo 植物的无细胞提取液中，加入 Mo 不能增加酶的活性，故认为 Mo 参与 NR 的诱导过程，而不仅仅活化原来存在的酶蛋白，而且 Mo 对 NR 的诱导和蛋白质对蛋白质合成抑制剂的敏感性相同，进一步证明上述看法。

在大多数情况下 NH_3 对高等植物叶内 NR 的形成无阻遏作用，但也有人报导在大麦和豌豆的根中浮萍，烟草的组织培养中 NH_3 对 NR 的形成有阻遏作用， NH_3 和氨基酸对 NR 的阻遏在酵母、真菌和绿藻中更为普遍。E. coli, *Aerobacter aerogenes* 的与膜结合的 NR 系统受 O_2 的阻遏，但 NH_3 无作用，反之 *Aerobacter* 中可溶性 NR 都受 NH_3 的阻遏，而 O_2 则无作用，英国 *Scopolariopsis brevicaulis* 的 NR 则兼受 NH_3 和 O_2 的阻遏。

氨基酸对 NR 的专一性很强，有些氨基酸如谷氨酸可以解除 *Cyanidium Caldanum* NR 的阻遏作用，外流的蔗糖据报导也可以解除浮萍中， NADPH-NR 的阻遏。

二、透性酶的活性

有证据表明硝酸盐的进入细胞或运送到酶系统合成的下位是受透性酶和运转系统控制的，透性酶和运转系统大概对光线和专一的代谢物很敏感，在培养的烟草 XD 细胞中发现有一用硝酸盐诱导的透性酶系统，在这种细胞中苏氨酸抑制对硝酸盐的吸收，但是此烟草 XD 细胞有一耐苏氨酸体系，它对硝酸盐的吸收不受苏氨酸的抑制，在无硝酸盐的 XD 细胞中把细胞放入含有硝酸盐的培养基中在细胞中硝酸盐浓度很低时，就可以很快地诱导形成 NR，但是当除去培养液中的硝酸盐后，尽管细胞内硝酸盐的浓度很高 NR 的活性就迅速下降，似乎原先吸收的硝酸不能诱导酶的形成。

三、可逆的失活与激活

硝酸盐可以改变某些生物无功能的 NR 活化，这不同于诱导 NR 的合成，因为酶复合体的大部分实际上已经存在于无硝酸盐的细胞中，处于潜在状态，硝酸盐的作用只是使酶活化而已。

当细胞在硝酸盐和放线菌酮(蛋白质合成抑制剂)同时存在的条件下进行培养,仍能使NR活化,进一步证明活化过程与蛋白质的合成无关系。

小球藻 *C. pyrenoidosa* 和水藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 均以 NAD(P)H 作电子供体时加入 NO_2^- 延长时间即可使潜在的或失活的NR激活,加入高铁氧化物则立刻可以使NR激活, *Cyanidium*, *Caldococcus* 以 FMN (FAD) H 作电子供体的潜在NR在 50°C 加热20分钟即可使酶激活,如加热到 60°C , 立即使酶激活,但以 NAD(P)H 作电子供体的NR, 或H酶活性在这样的条件下就受到破坏。

植物体内NR的失活所知不如激活清楚,现 NH_3 可以使NR失活,氧化物由于和低价 Mo 的强烈结合也可使NR失活,但加入高铁氧化物即可使失活逆转。

除上述三种调节方式以外,植物激素、许多环境因素也都能调节硝酸盐的还原。

亚硝酸盐还原酶

亚硝酸盐是NR作用下 NO_2^- 的还原产物,在形成有机N化合物之前 NO_2^- 必需先被专一的亚硝酸盐还原酶还原, NO_2^- 和 NO_3^- 不同它很快在植物体内积累,所以在植物生长的正常有氧条件下它在细胞内的浓度很低,这也反应了亚硝酸盐对植物组织的毒性,它可以和血红蛋白结合而使前者失去功能,幼儿甚至年龄较大的人在食用含硝酸盐很高的食物如菠菜豆角后,由于硝酸盐在肝中被还原成亚硝酸盐,生成的 NO_2^- 与血红蛋白结合可以引起高铁血红蛋白症 (methemoglobinemia) 而中毒,植物体内 NO_2^- 还原酶的含氧量比NR高得多,在体外底物浓度很低的情况下它的活性仍旧很高。

1. 亚硝酸盐还原酶的组分和电子供体:

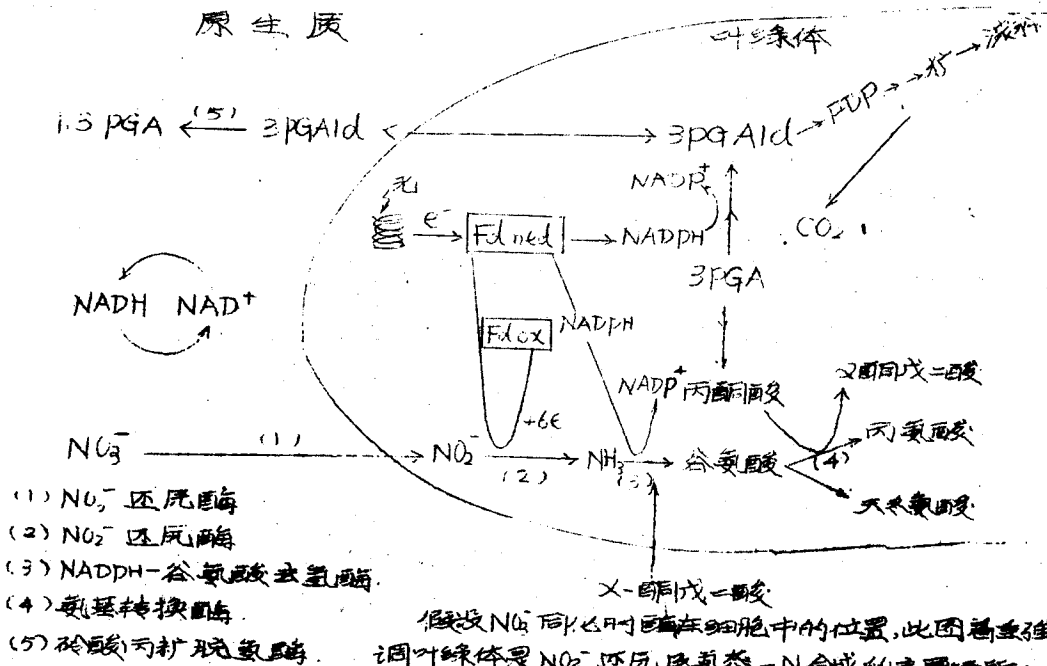
1954年 NaSan 等人从红链孢霉、大豆叶胞, Spencer (1957) 等人 *Agrobacterium cylindrica* 细菌中获得了催化亚硝酸还原的酶, 由于迄今未提得很纯, 因此研究技术对它的了解还不及 NR。

从菠菜、葫芦科蔬菜和小球藻中提到的 NO_2^- 还原酶分子量为约 600,000 - 700,000, 每个分子中含有二个原子 Fe, 高等植物和藻类的 NO_2^- 还原酶都是红棕色的具有相似的吸收光谱, 氧化型酶的最大吸收高峰为 380 和 570 nm (菠菜) 和 384 nm (葫芦科) 根据它的光谱特性最初认为酶中不含铁卟啉辅基, 但 Murphy 等 (1974) 证明它含有一种名为 Siroheme 的带有亚铁卟啉辅基, 它在肽链末端有一个末端带 (Sweet-kord) - 光谱呈紫区的强吸收带, 早期研究中报导 Mn^{2+} 参与 NO_2^- 还原酶系统, 迄今还不能确定, 小球藻和菠菜 NO_2^- 还原酶在 450 nm 区域中无吸收带, 进一步证实了早期认为它不含类素辅基的结论, 小球藻 NO_2^- 还原酶中含有 7 个半胱氨酸残基, 其中一些残基有可能参与和 Fe 原子的结合, 多种植物的 NO_2^- 还原酶能被对一氯高汞苯甲酸盐抑制, 抑制作用可被巯基逆转, 表明酶中含有巯基 (-SH)

非光合生物可能以还原的吡啶核昔酸作为亚硝酸还原酶的电子供体如 *E. coli* 对 NADH^+ 有专一性, *ASP nidularis*, 小球藻等细菌, *Candida utilis* 念珠菌对 NADPH^+ 有专一性, *Neurospora crassa* 及 *Agrobacterium cylindrica* 既利用 NADH^+ 也能用 NADPH^+ 作为电子供体, 但高等植物的 NO_2^- 还原酶用 NADH^+ 或 NADPH^+ 作电子供体时, 活性很低, 1960 初在几个实验室中都发现氧化型比 $\text{NAD(P)}\text{H}^+$ 低的其他供体 RV, MV 可以作为高等植物 NO_2^- 还原酶的有效电子供体, Losada 等 (1963) 发现铁氧还蛋白 (Fd) 可以作为高等植物 NO_2^- 还原酶的电子供体, Botlie (1969) 发现另一个天然产物藻黄素 (phycoerythrin) 可以作为高等植物 NO_2^- 还原酶的电子供体, 藻黄素已从藻类中提出, 但尚未在高等植物中发现

酮基非环式无合称酸化中可以无化学还原，也可以自存在有 Fd-NADP 还原酶时被 NADPH^+ 还原。发现 Fd 是 NC_2 还原酶的电子供体可以很好解释。经常观察到现象——光线可以加速叶中亚硝酸盐的利用。

Magalhães & Neyra (1974) 用菠菜分級离心分离的亚细胞分，表明 NO_2^- 还原酶存在于叶绿体中，用烟草、小麦的实验证明 NO_2^- 还原酶处于叶绿体的类囊体中，并证明 NO_2^- 盐的同化必需有光，加光 NO_2^- 消失很快，或加 NO_2^- 同化成后再加光， NO_2^- 的消失又加快，说明光对 NO_2^- 的还原是绝对必需的，作者研究了 NO_2^- 还原及氨基酸形成之间的关系，提出如下图解，所以 NO_2^- 还原到 NH_4^+ 是在原生质中通过 3-PGAld 去氢酶产生的 NADH 与 NR 偶联，在原生质中游离的 NO_2^- 很少，NIR 和亚硝酸还原酶是并列的，但由叶绿体将其分开并与蛋白质结合， NO_2^- 穿过一段短距离到达还原地点，由 Fd 供给电子而被还原，所生成的 NH_4^+ 与 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 谷



假设 NO_2 在光照时在细胞中的位置, 此图着重强调叶绿体是 NO_2 还原成氨态-N合成的主要场所: 引自 A.C. Magalhães. 等 1974. plant physiol 53: 411 - 415

氨基酸脱氢酶紧密偶联而生成谷氨酸，然后通过转氨基酶将氨基转接给 α -酮酸或草酰乙酸而生成其他氨基酸，而穿一个在整个细胞中。

虽然此一过程很容易被接受，但还存在一些未解决的问题。 NO_2^- 很容易被根代谢，而根中无叶绿体，並迄今认为根中无Fd，根中 NO_2^- 还原酶是与质体相结合的，质体中复合HMP途径的酶类。通过G-6-P脱H酶和6-P葡萄糖酸脱H酶可以生成 NADPH^+ 但 NADPH^+ 不能直接作为 NO_2^- 还原酶的电子供体，而从根中迄今尚未分离出可能从 NADPH^+ 传递电子给 NO_2^- 还原酶的中间组分，这些问题都得进一步深入研究，也有人认为植物的非绿色组织中可能有一种性质与Fd相类似的电子供体。

2 NO_2^- 盐的还原

NH_3 是许多 NO_2^- 还原酶的产物，现已证明此一过程不包括有自由中间产物的形成： $\text{NO}_2^- + 6\text{e}^- + (\text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^-)$ 此反应有6个电子的传递，很早的Meyer和Schulze (1894) 提出从 NO_2^- 还原到 NH_3 有4个连续的阶段每个阶段有2个电子的传递 即 $\text{NO}_2^- \xrightarrow{+2\text{e}^-} \text{NO}_2^{\cdot-} \xrightarrow{+2\text{e}^-} \text{N}_2\text{O}_2^{\cdot-} \xrightarrow{+2\text{e}^-} \text{N}_2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{+2\text{e}^-} \text{N}_2\text{H}_4$ 近年来对此学说提出了异议，从高等植物提取 NO_2^- 还原酶证明植物组织一般不存在羟胺和次亚硝酸，而且在分离的 NO_2^- 还原系统中，也没有检出有 $\text{N}_2\text{O}_2^{\cdot-}$ ，和 $\text{N}_2\text{H}_2\text{O}_2$ 的存在，给予 $\text{N}_2\text{O}_2^{\cdot-}$ 也不能被酶还原，同时还发现 NO_2^- 能严重抑制 $\text{N}_2\text{H}_2\text{O}_2$ 的还原，并且也不能证明存在独立的亚硝酸盐，次亚硝酸盐，或羟胺还原酶的结构基因 (pateman 等 1967)。

近年来用 $\text{N}^{15}\text{O}_2^-$ 供给植物也没有看到 ^{15}N 标记的 $\text{N}_2\text{H}_2\text{O}_2$ ，所以目前认为 NO_2^- 的还原是存在于叶绿体中的 NO_2^- 还原酶所催化；其中6个电子是来自还原的铁氧还蛋白，此还原型铁氧还蛋白是光合作中非环式光反应中产生的，它一方面在光合作中还原 NADP^+ 为 NADPH (同化力) 另一方面也可以还原亚硝酸盐为 NH_3 (如上表所示)。

铁氧还蛋白并不只存在于非绿色组织 (根下) 的亚硝酸盐还原，在这些非绿色组织中可能有一种性质与铁氧还蛋白类似的电子供体 (尚未鉴定出来)，根下的 NO_2^- 还原的电子供体来自呼吸代谢。

第二章 硫酸盐代谢

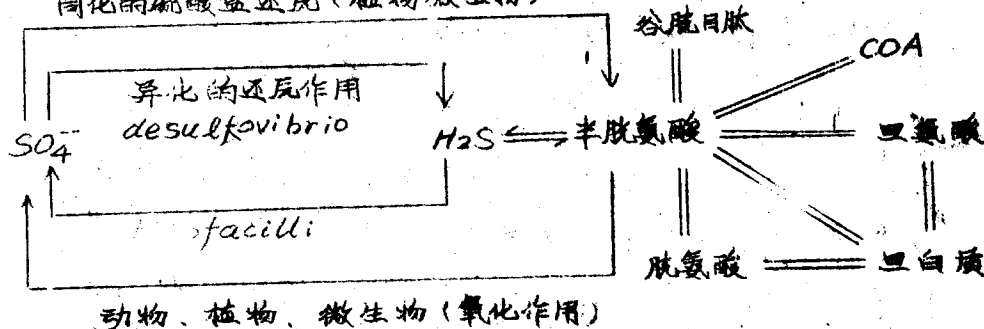
引 言

有关动植物体内代谢的研究，远落后于对碳、氢和磷代谢的研究。到目前为止，其中的很多基本知识尚不清楚，这一方面是由于硫不像氮那样重要，存在的那样普遍，如硝酸还原在植物界广泛存在，另一方面硫化合物是非常不稳定的，硫的化合价可从正六价到负二价，它与其他元素结合成含硫化合物如 $ROSO_3H$ 、 $R-S-S-R$ 、 SH 、 $R-SO_3H$ ……和氧结合成 SO_4^{2-} 、 SO_3^{2-} 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 SO_2 等，硫的这些不同化合态很容易相互转化，形成各种各样的化合物，这就对研究硫化合物在植物体内的代谢带来一定困难。尽管如此，近 1-20 年来对硫代谢的研究取得了很大进步，尤其利用细菌、真菌、藻类等低等生物作为研究对象，有很多有利条件，如它们当中有的是完全异养（酵母）有的对硫有专一的代谢，如 *Desulfotribrio*（脱硫弧菌属）*thiofacilli*（排硫细菌），等。

利用人工诱变的方法，诱导不同的突变类，缺陷型（即营养学研究中的基因反顺子），来分级进行研究其某一物质的代谢过程，是非常有效的方法，另外用 S^{35} 同位素示踪法研究其代谢途径，用分级离心、电泳、饲喂、酶学等相结合的方法取得了很多肯定的结果：

1. 硫在生物体界的循环

从无机硫酸盐完全还原成含硫的化合物，在绿色植物和微生物有其共同的特征，即硫酸盐还原到 $-SH$ 水平，而参入到氨基酸、肽、和动植物体内的蛋白质，在这里半胱氨酸是转化的中心。



引自 Jerome A. Schiff. Ann. per. plat. physik.
(1973) 24: 381-414.

SH 巯基除是蛋白质的结构物质外，还有一个很重要的作用是在细胞的有级分裂中 γ -SH 基起必要作用，它是某些酶的活化基和辅助因子。

图中, *D. Desulfuricans* (脱硫弧菌) 是一个绝对厌氧的细菌, 在这里硫酸盐只做为呼吸末端的电子受体, 因此硫酸盐的还原是同这些有机体的呼吸作用相联系的, 它并不利用还原的 S^{2-} 来合成体内含硫有机化合物故称异化硫酸盐还原。

而 *Thiofailli* 是自养细菌，它所需要的能量是从将还原的硫化物氧化到硫酸盐中获得，因此它只将 S^- 氧化到 SO_4^- 。

另外在大多数高等植物和真菌藻类中，所进行的硫酸盐还原是，属于同化式的硫酸还原，它们将 SO_4^{2-} 还原到 S^{2-} ，而且利用所还原的产物来合成含硫有机化合物，如半胱氨酸、胱氨酸、蛋氨酸和蛋白质等。即： $SO_4^{2-} \rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow S^{2-}$ 半胱氨酸，半胱氨酸 $\rightarrow$ 胱氨酸，
蛋氨酸 $\rightarrow$ 蛋白质。

2. 硫在植物体内的转化

用同位素 S^{35} 证明半胱氨酸中的硫键是来源于硫酸。用古普格特 (Thomas 1958) 证明, 根瘤中无机 S^{35} 很快进