

上落下的种子，能在树下自然发芽，生长成苗。最近据国外报道，可拉也可进行无性繁殖。（以空中压条、扦插效果较好。）

上述情况表明：可拉的引种试种基本成功，为我国增添了又一种热带经济植物，并进一步说明我国南方有丰富的地理资源，适宜于多种热带性较强的植物的栽培。

043644 非豆科高等植物的固氮作用

G. BOND

这篇评述所用的简短的标题难免会发生误解，可能被认为高等植物本身能够固氮。就本评论者所知，那种非正统观念是不被最近任何资料所支持的。其实，在所有与高等植物固氮有关的经确定的例子中，都有某些微生物存在，且与高等植物形成共生。下面涉及的例子都属于这一范畴。

本篇评述所提到的背景材料大多是 Stewart 通论固氮时的内容。

具根瘤的非豆科被子植物

本节就讨论那些根部具有根瘤状结构的非豆科的被子植物，其固氮可能与一种共生的内生菌（endophyte）有关，而与自生的真菌无关。本文后面将提到，大家都认为存在于植物体中的内生菌是放线菌。因此，确切的标题可以效法 Schaeede 的大胆主张而得到。他在题为《放线菌—共生体》专著中论述了这类植物。虽然，这还是有待于确立的事实。

胶桤木（*Alnus glutinosa*）根瘤的存在，早在1829年的植物学文献中就有记载。至于这种植物根瘤能够固氮的证据于1896年才被 Hiltner 提出。但是，非豆科植物根瘤的研究直至二次大战结束以后才有较大的进展。最近，Mckee, Schaeede, Bond 以及 Allen 和 Allen 就这类工作进行过有关论述。

（一）具根瘤植物的分类与分布

据现有的资料，可以在此讨论的这类植物有13个属，均为双子叶木本植物，列于表 I。其中仙女木属（*Dryas*），熊果属（*Arctostaphylos*）是暂列在内的，因为这二属的阿拉斯加地区材料所观察的根瘤内部结构未加描述，它们可能是菌根结构。*Cercocarpus* 属根瘤内生菌也缺乏应有的形态描述。除此，可以看到这些属共包括310种植物。它们广布全球，几乎没有一个国家不具有它们中的一、二种。表 I 也表明，直到目前为

止, 已被记载的根瘤植物110种; 其中大多数名称和根瘤的初次记载都是由Allen和Allen所提供的。

关于结根瘤的前八个属较长以来就有记载; 似乎这些属的所有种都将被证实是结根瘤的, 然而把这种见解扩大到其它几个属还为时过早, 因为它们中的某些种根瘤的存在, 只是最近才被鉴定出来。这些属的系统地位 Bond 进行过讨论。它们中的某些是有密切亲缘的, 有一些就没有丝毫关系。很可能, 这些根瘤植物所共同的重要特性是没

表 I 具根瘤植物的属名及其分布地区

属名	属内的植物种数	结根瘤的种数	分布地区
Coriaria (马桑属)	15	12	地中海到日本, 新西兰, 智利到墨西哥
Alnus (桤木属)	35	25	欧洲, 西伯利亚, 北美洲, 日本, 安达斯山脉
Myrica (杨梅属)	35	11	许多热带, 亚热带和温带地区
Casuarina (木麻黄属)	45	14	澳洲, 热带亚洲, 太平洋诸岛
Elaeagnus (胡颓子属)	45	9	亚洲, 欧洲, 北美洲
Hippophaë (沙棘属)	1	1	亚洲, 欧洲, 从喜马拉雅山到北极圈
Shepherdia (水牛果属)	3	2	北美洲
Ceanothus (美洲茶属)	55	30	北美洲
Discaria	10	1	安达斯山脉, 巴西, 新西兰, 澳洲
Dryas (仙女木属)	4	1	北极和北温带山脉
Purshia	2	2	北美洲
Cercocarpus	20	1	北美洲
Arctostaphylos (熊果属)	40	1	西北美洲, 中美洲, 欧洲, 亚洲

有多少系统发育上的关系，它们在某种程度上似乎是平行发生的，且有可能，它们是某一地质年代的“残存者”，其当时条件非常有利向共生结合体的类型进化。

具根瘤的非豆科植物的更多资源有待进一步的发现，这需要国际生物学组织为此而进行组织协作。

(二) 根瘤的细胞学；内生菌的分离与鉴定

关于根瘤结构和细胞学借用光学显微镜所揭示的文章，除被 Bond 引用过的外，还有下列工作。Furaman 报导两种美洲茶属 (*Ceanothus*) 的根瘤，这一属迄今还很少引起注意。他发现的内生菌是丝状的，具小囊；假菌体不如在桤木属 (*Alnus*) 和杨梅属 (*Myrica*) 中所见到的旺盛。菌丝体表明与链霉菌很相似。Morrison 和 Harris 报导了 *Discaria* 根瘤含有一种能产生小囊的丝状内生菌。Wagle 和 Vlamis 简略地陈述了 *Purshia* 根瘤的内生菌是一种放线菌。Ziegler 也确认香蕨木 (*Comptonia peregrina* = *Myrica asplenifolia*) 的根瘤内生菌是放线菌。

现在，因电子显微镜技术的应用，使得对根瘤细胞和内生菌的结构更加瞭解。Silver 用电子显微镜技术证实具蜡杨梅 (*Myrica cerifera*) 内生菌的纤细丝状特征，与放线菌相似；假菌体尚未提到。Becking, De Boer 和 Houwink 在灭菌的试管培养中研究了胶桤木的根瘤，也发现有纤细的菌丝体，且对小囊和假菌体作了较详细的新描述。然而，作者认为还不能把此看作为这些结构的作用。Gardner 进一步用电子显微镜研究了取自田间的胶桤木根瘤，也支持了放线菌说。他解说这种小囊为孢子囊，会产生一种突起物，相当于萌发管，且插入邻近的寄主细胞。假菌体的微小结构给予了详细的说明。这二个研究之间的差异可能由于所研究的根瘤材料来源不同或因受季节的影响。

试图进一步分离非豆科植物根瘤内生菌的工作，除上面评论过的外，还有某些报导。Uemura 从桤木属和其它属所作的长期工作提出了进一步的说明。无论是细菌，放线菌和真菌在数百次的分离试验中，都不能引起所试验的植物根瘤的形成。从根瘤切片观察到它的内生菌很像放线菌后，于是放线菌就引起了极大的注意；其中有些要属于链霉菌属，而另一些则属于诺卡氏菌属。

Silver 也遇到分离具蜡杨梅根瘤内生菌的失败。与此相反，在 Fiuczek 和 Danilewicz 的文章中提到已成功地从桤木根瘤中分离得内生菌。后者包括再接种试验，但仍需要作进一步验证。作者因对文献资料的有限认识，好像没有发觉别的工作者在试验分离中碰到的困难。目前，一种丝状的能产生孢子的微生物体已从桤木根瘤中分离出来了。通过消毒种子使桤木幼苗获得再感染，而后把它们转移到缺氮的水培中。40株没有接种过的对照植物，仍然没有根瘤，在种子内部的氮素耗尽后的第一个生长季节时就死去了。其余的植株则用上述微生物的孢子悬浮液接种；照理，植物根瘤在接种后四个月可能会出现，但是，精确的根瘤数似乎直到第二季中期才得到肯定，当时20株接种植物有14株出现了根瘤。在这基础上，初次分离才宣告成功。虽然四个月是根瘤形成过程所需要的一个很长时期，但很遗憾，作者没有谈到是否更早一些就开始形成了根瘤。与此有关的一种错误的引述，就是提到 Ferguson 和 Bond 用压碎的根瘤接种桤木时形成根瘤所需要的时间是12个月，而实际上应是12天。

基于上述文章中的问题，我愿在此提出如下一种建议：（1）编者应该要求作者在提供这类题目文章时要对文献有适当的认识；（2）对于根瘤形成所需要的时间比之压碎根瘤接种时间（通常2—3周）还长得多应是大值得怀疑；如果需要，就应在整个试验周期中更换对照植物。（3）任何工作者，他认为已获接种成功，在发表以前，应该需要其他工作者进行田间实验来确立再接种试验。

在许多工作者经验中，根瘤分离虽相继失败，但正如Käppel和Wartenberg所认为的，再感染的试验却是有成果的。已观察到桤木根瘤生长在缺氮的培养液中总是含有假菌体，当供以少量结合氮时，这些植物就不会产生假菌体。他进一步发现从含有假菌体根瘤制备的悬浮液，在诱导试验植物根瘤的有效性方面要大五倍。因此作者得出结论，假菌体可能是桤木内生菌的感染阶段。假使他们能够证明这一结论，那是非常重要的。

基于试图分离根瘤内生菌的相继失败的可能性，在这研究工作中，继续应用压碎根瘤接种法，使获得某些进展之可能。一种情况表明是，不同种、属寄主植物之间的内生菌的统一性是缺乏的。除上述文献外，Moore提供了在胡颓子科植物种间交叉感染的成功证据。但Gardner和Bond报导了香杨梅（*Myrica gale*）内生菌和心叶杨梅（*M. coridifolia*）和具蜡杨梅之间并非全能交叉感染。Rodriguez-Barrueco发现当*Alnus jorullensis*植物被胶桤木接种后形成许多细小的根瘤且能固定小量的氮素，这展示了一种类似于研究豆科经验中的某些交叉感染。

（三）根瘤固氮的证明

首先应该考虑到的长期实验的结果是，具根瘤的和无根瘤的植物，当给以无结合氮的根培养基时，就能比较它们所显示的生长与累积氮素的能力。Bond列举的桤木属，杨梅属，胡颓子属，沙棘属，水牛果属，木麻黄属，马桑属和美洲茶属就是这类试验。在所有情况下，效果是很明显的而且是生动的。根瘤植物长得很好，甚至很茂盛，如生长得很快胶桤木，每株植物从种子生长到第一季时就累积了300毫克氮，这显然是被根瘤固定的氮。相反，无根瘤的植物在种子的氮素耗尽后，就停止了生长。

随后，Rodriguez-Barrueco观察到*Alnus jorullensis*有如以上所述结果，而对美洲茶属则更有进一步的结果；Vlamiš等人用全缘美洲茶（*Ceanothus integerrimus*）和白皮美洲茶（*C. leucodermis*）为材料，表明在低氮土壤中，具根瘤植物比没有根瘤的植物长得好。Wagle和Vlamiš报导了*Purshia*属的二种根瘤植物长得比用土壤氮所能解释的好得多。此外，对*Cercocarpus* sp.也观察到类似的结果。

应用 ^{15}N 获得固氮证据的资料是很多的。Ziegler和Hüser研究了香蕨木，发现当具根瘤的根样品暴露在富有的 ^{15}N 中数天时，含氮量增加了2.2%，这是被根瘤固定的氮；取根的土壤样品经暴露后固氮量为零。Sloger和Silver从田间取的具蜡杨梅的根瘤，当置于带标记的氮中，表现出有明显的固氮能力。Delwiche等人把取自田间的美洲茶属的几种植物根瘤暴露在标记的氮中1—5小时，获得固氮的明显证据，而根样品基本上是负结果。Rodriguez-Barrueco把*Alnus jorullensis*根瘤样品暴露在富有的 ^{15}N 中也得到根瘤固氮的很好证明，而根样品却完全没有。

有关这几种非豆科植物根瘤能够强烈固定大气氮素的事实已在实验室或

在温室条件下得到了证明。所有这些固氮证据都限于根瘤，并特别要强调指出所有这些固氮的证明都是在未灭菌条件下进行的；除内生菌外，其它微生物或者存在或者过去存在过。若把这些记录下来的固氮的强烈性和规律性不是归结于寄主植物和内生菌的共生系统，而是由于假想的只是与根瘤联结在一起的某些感染微生物，是无法令人信服的。例如，Quispel 指出如何使有根瘤的桤木在灭菌培养液下能培育长大，并把这种技术应用于其它属的植物，也仍然证实有固氮作用。他的实验就是这样做的。

根瘤上究竟是那些感染细胞起固氮作用的问题还有待将来解决。在桤木属中，不是所有其它属，有三种主要内生菌结构—菌丝，小囊和假菌体（‘bacteroids’）。Bond 等人证明根瘤匀浆能够保持某些固氮活性，这就可以用物理方法把根瘤分成各部分，仍能测定固氮活力。显微镜下观察根瘤固氮的无效性可能会启示我们结合以上方法搞清楚这个问题。Becking 指出有时桤木幼苗用根瘤愈合组织接种也能形成根瘤，但无小囊和假菌体，也不能固氮。

（四）关于根瘤和固氮的其它生理研究

Silver, Bendana 和 Powell 曾对根瘤中的生长素含量进行过研究，就他们所研究的杨梅属和山麻黄属的所有种，发现一个特殊现象，其根瘤丛的每个小突起能产生一种向上生长的根。以前认为这是一种对重力不正常的反应。后来，Silver 等人在这些属中发现其根瘤和根瘤根中含有微量的生长素，并认为这是由吡啶乙酸氧化酶的活动结果；在生长素含量很低时，根将出现负向地性。锯叶桤木（*Alnus serrulata*）根瘤的生长素含量比较高，但有些种不产生根瘤根，很有趣的是，Rodriguez 和 Barrueco 发现 *Alnus jorullensis* 根瘤能产生一种正常的向下生长的根，这与 Silver 等人的观察结果是一致的。

Bond 与 Hewitt 已证明桤木属，木麻黄属，杨梅属的根瘤固氮除需要钼外，钴也是需要的；缺钴导致植物明显的氮素缺乏症。非根瘤植物在给予结合氮后不需要钴。若把钴供给结瘤植物，其根瘤内的维生素 B₁₂ 同系物含量就很高，这无疑是被内生菌合成的。Bond, Adams 和 Kennedy 在用 *Euglena* 分析法作供钴的进一步比较试验时，发现各种非豆科植物根瘤内的维生素 B₁₂ 的含量是与豆科植物根瘤内的含量同处一级水平；通常根部内不含维生素 B₁₂。Kliwer 和 Evans 指出 *Alnus oregana* 的根瘤中含有 B₁₂ 辅酶。

本文作者曾对离体根瘤固氮活力进行过比较测定，用 ¹⁵N 法表明非豆科根瘤植物比豆科植物更易测得，其部分原因可能是前者根瘤总氮的百分含量低，所以使它的固氮量得到一个较大的平均增长值。Bond 曾对氧压，氢压和一氧化碳的存在对固氮的影响进行过研究。在后来的实验中，他发现氧和氢之间在固氮过程中存在一种竞争性关系。看来，非豆科根瘤在制备根瘤匀浆仍能固氮的优越性是存在的。

Moore 对桤木属，胡颓子属和水牛果属的根瘤血红蛋白（haemoglobin）的存在进行了检查，他认为这种色素，即便存在，也只是很微量的，因而不能确认 Davenport 在木麻黄属，桤木属和杨梅属中的发现。Moore 的简短说明是否对 Davenport 的工作持谨慎态度是不清楚的，他却错误地把杨梅属根瘤的早期鉴定归于后一作者。他亦报导了从非豆科植物根瘤中没有测得氢的释放，这是与以前从豆科植物根瘤所发现的不同。但是，他对实验结果也缺乏详尽的叙述，如从根瘤摘取到开始测定之间的时间都没有说明。

Stewart 指出杨梅属和木麻黄属植物，当给以低量氨态氮时，每株植物上的根瘤重量最大，当给以高量氨态氮时，根瘤重量就降低。

(五) 生态学方面与实际应用

现在，已有大量的资料表明这些非豆科根瘤植物的生态学重要性，依靠它们的先驱作用和丰富土壤氮肥的能力，从而有利于群落中其它植物或继之而来的各种植物的生长。

Lawrence, Corcker 和 Major 对最近解冻的阿拉斯加的植物演替和土壤形成进行了广泛的研究。Dryas drummondii 是一种明显的早期先驱者，加拿大水牛角 (*Shepherdia canadensis*) 亦同时出现。卷曲桤木 (*Alnus crispa*) 通常随后，并不久即成为优势种。这三种植物在寒冷而开始非常缺氮的贫瘠土地上表现出有特殊的生长力。通过对连续生长多年的桤木丛林土壤的分析，估计每年每公顷氮的累积量是62公斤，事实证明这主要是根瘤固氮的效果。在仙女木丛里所累积的氮量是很少的。继而针叶树便在桤木林中间出现，最终代替了桤木林，随后土壤氮素就减少。

根据以上观察，说明仙女木根上的根瘤结构可能会固氮。Schoenike 研究了生长在冰河湾的毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 新梢的强壮生长力和幼树叶片含氮量，它们有些生长在仙女木丛林中间，有些生长在别处。经观察所得到的事实证明生长在仙女木附近的有利于杨树生长，虽然，它远不如生长在桤木周围的好。

Dommergues 对种有木麻黄 (*Casuarina equisetifolia*) 的佛得角 (Cape Verde) 沙丘进行过研究。通过对一定年龄的森林区的植物和土壤的分析，并以没有栽种植物的沙丘作对照，在木麻黄的生态系统中，测得每年每公顷所累积的氮素约为58公斤。当作者没有观察到林区根瘤的丰富性时，便认为这是增多氮素的主要原因，虽然他也承认把非共生固氮也可能包括进去了的。

Stewart 和 Pearson 对英国海滨沙丘上的沙棘树的生长进行过有关研究。计算了根瘤的数量，并对连续多年生长植物的沙丘进行了植物与土壤分析，测量了氮素年累积量。他进一步把从植物取下带瘤的根，就在田间接触以标记的氮二小时。其结果表明根瘤固氮大约只有由生态系统所累积氮的半数。虽然，他也曾料想把根切断后会降低根瘤的固氮速率，而实际比例可能是高于此。

Schramm 对宾夕法尼亚 (Pennsylvania) 无烟煤采矿区荒芜地上的自然移来植物进行了研究，那里氮肥很缺，是阻碍一般植物生长的一种因素。香蕨木是这地区最成功的移来者之一，它的根瘤生长得很有规则。胶桤木也是一种成功的移来植物。

桤木属的许多种植物是沿着河川，湖泊边缘分布的典型，固定的氮显然会大量地进入水中。Goldman 在一篇很有趣味的文章中报导了加利福尼亚湖的氮源只是存在于生长有丰富根瘤的薄叶桤木 (*Alnus tenuifolia*) 附近的一边。观察到春水对自然湖泊浮游生物的生长和光合作用的影响等证据，并确认桤木是一种重要的湖泊氮源。同时也注意到在桤木凋落的叶片中氮的含量也相当高，这是已知的事。这里，还要提及 Allen 和 Allen 在一篇内容非常丰富的文章中论证了这些非豆科植物，特别是桤木可以用来改善土壤，为后来栽种其它林木做轮作，林木也可以与桤木间种。

(管康林译，未完待续)