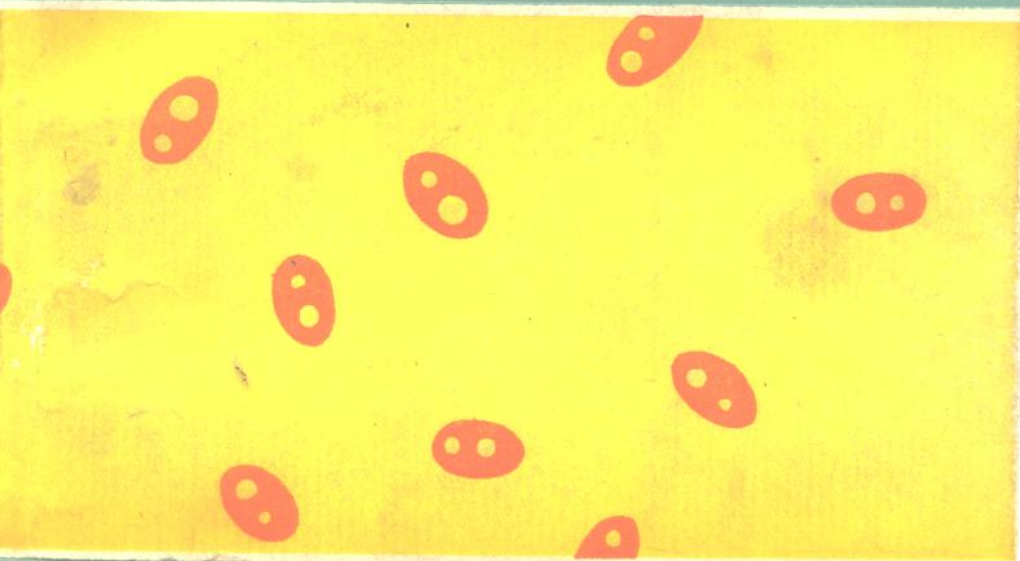


光合细菌的研究 及其应用

朱章玉 俞吉安 林志新 李堃宝等 编著



上海交通大学出版社

50.67/
225

光合细菌的研究及其应用

朱章玉 俞吉安

林志新 李埏宝

等 编 著

≡k603/16

上海交通大学出版社



内 容 简 介

本书介绍了目前已进行的光合细菌基础研究及各种具体应用。全书共分六章，作者在书中叙述了光合细菌的生态及其进化、生长和生理特征、化谢方式、电子传递系统、光合器官的成分与构造，它在农业、禽畜、水产养殖业上的应用，并叙述了其净化有机废水、光合产氢、提取天然色素的机理和技术。是国内首次出版的一本有关光合细菌的专著，可作为高等院校生物学、农业、环保、畜牧、水产、医学等有关专业的教材和参考书，也可供从事上述领域工作的科技人员阅读。

光合细菌的研究及其应用

出 版：上海交通大学出版社
(淮海中路1984弄19号)

发 行：新华书店上海发行所

印 刷：上海交通大学印刷厂

开 本：850×1168(毫米)1/32

印 张：9.375 插页1

字 数：249000

版 次：1991年2月 第一版

印 次：1991年3月 第一次

印 数：1—1000

科 目：234—293

ISBN7—313—00747—7/TK·6

定价：2.80元

前 言

微生物和动植物一样,被列为地球上生物的三大组成之一。微生物界是一个丰富多彩而又引人入胜的世界,它和人类的生活有着密切关系,在自然界它是地球生态,物质循环的重要组成部分,而我们的祖先早在 4000 年前龙山文化时期,就知道利用微生物来酿酒、制酱和醋等,随着科学的发展,今天微生物已在医学、农业、工业、轻工业、环境卫生等各个领域广泛地得到应用,给人类带来了新的物质和文明;另一方面,微生物也会给人和动植物带来病害和致使各种物品霉变、腐烂甚至造成灾害。因此,对微生物的研究和应用已成为当今世界的一个重要领域。然而,人类至今对微生物的理解还是很不够的。本书编著的目的之一就是想通过对典型的微生物光合细菌的有关研究及其应用的论述,使有兴趣的读者进一步加深这方面的了解。

光合细菌是利用太阳能生长繁殖的细菌,它是地球上古老的细菌之一,广泛分布在海洋、湖泊、江河、水田、污泥、土壤等各个角落,在不同的自然环境下,具有多种不同的功能(固氮、脱氮、固碳、硫化物氧化),在自然界的碳、氮、硫循环中起着重要作用。利用光合细菌的生理和生态的特点,许多国家建立了光合细菌废水处理系统,取得了良好的效果。菌体本身富含蛋白质、维生素及多种生理活性物质,也正逐渐被人们认识和得到广泛的应用。另一方面,由于光合细菌具有光合成、有氧呼吸、发酵等多种获得能量的系统及固氮、固碳、放氢等生理功能,一直作为研究光合成机理、能量转换系统及固氧、放氢等机理的极好实验材料,而获得有价值的信息与知识。

目前,国内外对光合细菌的特殊性质和应用感兴趣的人越来越

越多，在各种杂志上也发表了不少有关光合细菌的学术论文，特别是经过认真筹备、精心组织后，1987年11月在中国上海成功地召开了“第一届中日光合细菌国际学术会议”，大大推动了光合细菌的研究和应用的发展。作者正是在这样的一个背景下，综合了各方面所进行的工作，从基础到应用，从理论到实践对光合细菌进行了比较系统的介绍，以弥补目前的空白，同时也想借此来吸引更多的科技人员投入到这个领域并促进其发展而共同努力。

本书由朱章玉、俞吉安、林志新为主要编著者，李堃宝、周智爱、陆义群也参加了编写工作。编著本书的主要素材是取自上海交通大学生物技术研究所以近几年的研究成果，特别是光合细菌在各个领域中的应用。同时从国内外许多学者、专家的以往工作中汲取了不少有益的东西，尤其是日本光合细菌专家小林正泰先生和北村博教授的一些著作和论文。国家教委、商业部、环保总局、农业部、自然科学基金委员会、中国人与生物圈委员会以及许多兄弟单位以往对我们开展光合细菌研究给予了很大的支持，对我们编著、出版本书也十分关注。为此、我们对多年来一直从事光合细菌研究和应用的同志们，对所有与我们进行过这方面合作，给予我们以任何方式帮助的各方面人士表示衷心感谢，对沈俭先生为本书进行的仔细校正以及在出版工作上提供很大方便的上海交通大学出版社施福升社长深表谢意。由于本书涉及的内容比较广泛，加上作者水平有限，书中难免有错误和不当之处，殷切期望读者批评指正。

作 者

1989年8月

目 录

第一章 光合细菌的生态及其进化	1
第一节 光合细菌的生态特征.....	1
第二节 光合细菌的分离、培养及鉴定法.....	14
第三节 光合细菌的细胞色素及铁氧化-还原蛋白 的分子进化.....	29
第二章 光合细菌的生长繁殖与生理	40
第一节 光合细菌的生长和碳源利用.....	40
第二节 色素及脂质的生物合成与环境适应.....	52
第三节 δ -氢基酮戊酸 (ALA) 合成酶的活化机制	72
第四节 以有效电子当量为标准对光合细菌增值特性 的评价.....	78
第五节 光合细菌的趋光性.....	83
第六节 光合细菌的光吸收.....	89
第七节 光合细菌的磷酸吸收.....	98
第三章 光合细菌的代谢	108
第一节 光合成碳代谢及氧对碳代谢的影响.....	108
第二节 硫化物的氧化.....	122
第三节 光合细菌的氮代谢.....	127
第四节 光合细菌的脱氮作用.....	137
第五节 氢代谢.....	142
第六节 光合细菌固氮酶的产氢反应.....	153
第七节 海洋产红色硫黄光合细菌的光合产氢.....	161
第四章 光合细菌的电子传递系统	174
第一节 短暂强光照光合细菌引起电子传递系统的变化	

	及其分析	174
第二节	细胞色素	183
第三节	膜电位	189
第四节	内膜颗粒产生的光电流	197
第五节	内膜颗粒的稳定性和 ATP 生成	202
第五章	光合器官的成分与构造	209
第一节	色素与脂质	209
第二节	光合成膜和色素蛋白复合体	220
第三节	光合成单位的构造	233
第六章	光合细菌的应用	242
第一节	利用光合细菌净化有机污水	242
第二节	光合细菌菌体蛋白及其利用	258
第三节	光合细菌在自然界的生态地位及在农业上 的应用	274
第四节	光合细菌中天然色素的应用研究	285
第五节	光合细菌的产氢研究和利用	287

第一章 光合细菌的生态及其进化

光合细菌是水圈微生物的一种，分布于水的厌气层中，在那里进行不产氧的光合作用而生育。正因为如此，这类细菌不同于藻类和其他细菌。

光合细菌的生态学研究开始于 19 世纪中叶，至今已取得了许多成果。本章中我们将概括地加以介绍。

第一节 光合细菌的生态特征

1. 光合细菌的生理及生态学特征

光合细菌由下述四个科组成。它们的生理生态学特征彼此不同。

Rhodospirillaceae 科: Purple nonsulfur bacteria
(红色非硫黄细菌)

Chromatiaceae 科: Purple sulfur bacteria
(红色硫黄细菌)

Chlorobiaceae 科: Green sulfur bacteria
(绿色硫黄细菌)

Chloroflexaceae 科: Girdling filamentous green sulfur bacteria (滑行丝状绿色硫黄细菌)

1.1 红色非硫黄细菌

所以把这些细菌叫做红色非硫黄细菌，是因为有人曾经认为它们不能利用硫化物，但最近的研究证明，它们是能利用低浓度硫化物的。

这个科的细菌利用各种有机物作为光合反应的氢供体，以此

进行光合异养生长(photoheterotrophic growth)。因而, 它们生长在含有大量有机物的厌气水层中。但是, 在真正着色程度很深的水层中, 也很少见到这种细菌的大量增殖。因为在这样的水层中还有硫酸还原细菌生长。硫酸还原细菌生长产生的高浓度的 H_2S 使这种细菌的生长受到阻碍。不过, 有一部分红色非硫黄细菌也能在含氧水层中依靠呼吸进行生长, 因此, 它们是兼性光养微生物。

1.2 红色及绿色硫黄细菌

这两个科的细菌表现出极相似的营养要求, 即都利用 CO_2 作为碳源, H_2S 作为光合反应的氢供体, 以此进行光合自养生长(photoautotrophic growth)。它们常常生长在含有 CO_2 和 H_2S 的厌气水层中, 因这类细菌大量繁殖时, 这种水层常呈现红色或绿色。这两个科的细菌能如此大量繁殖, 是因为 H_2S 对别的生物有很强的毒害作用, 只有极少数的细菌能在厌气环境下利用 H_2S 作为营养源。同样要指出的是, 很多红色硫黄细菌也能进行光合异养生长。

1.3 滑行丝状绿色硫黄细菌

这个科的细菌能利用各种有机物作为碳源和光合成反应的氢供体, 它们也能利用 CO_2 和 H_2S 而生长。这个科的细菌在1971年才由B. Pierson和K. Gastenholtz发现, 其生态学的研究比较晚。这个科的细菌是一种含有滑行丝状细胞的高温菌, 它们密集地附在含有 H_2S 的碱性温泉水($45\sim 60^\circ C$)流经的岩石表面。这个科的细菌能营光能异养和兼性化能异养生长。

2. 光合细菌在自然界的分布

光合细菌一般生长在富营养化的水体中。因为在这种水体中容易形成适宜光合细菌生长的环境, 即含有某种营养源(H_2S 等)的光线能到达的厌气层。

2.1 湖

“不混湖”(meromictic lake)是最适宜光合细菌生长发育的湖。在这种湖下层水中常年含有 H_2S 的厌气停滞层。所以在这些停滞层里一年四季生长着红色硫黄细菌、绿色硫黄细菌。所谓不混湖，意即湖的上下不对流，上下水层不相混合，由于这种湖底的水的密度(一般含盐分)较高，因此能基本上永久地分层。另一种是循环湖(holomictic lake)，湖水全部是循环着的，难以形成水中的厌气层，不利于光合细菌生长。但是，在夏季由于温度的关系，湖泊深处出现缺氧，湖泊发生分层(温暖而密度较小的表层和冷而密度较大的底层分开)，两种水质不相混合，结果湖水下层形成含有 H_2S 的厌气停滞层，这层水中繁殖有大量的红色或绿色硫黄细菌。图 1.1 表示处于夏天停滞期的循环湖和湖中光合细菌及各种环境因子垂直分布情况。在湖泊的上层形成了好气层，内含从大气中溶入的 O_2 和绿藻、蓝藻等生成的 O_2 ；下层形成了厌气层，内含由硫酸还原菌、发酵细菌生成的 H_2S 和 CO_2 ；厌气水层通常在水面下 10m 左右，因各种湖的情况不同而有所差异。从水温的垂直分布来看，厌气层在变水层(thermocline)稍下，厌气层上部的水温为 $5 \sim 15^\circ\text{C}$ ，透过水面到达这个水层的光强度是照射到水面光的 $0.1 \sim 5.0\%$ ，换算成照度为几十至几百个 lx。光合细菌在这个水层几十厘米的水中生长密度达 $10^5 \sim 10^6 \text{ cells/ml}$ 。当红色硫黄细菌占优势时，水层变红，而当绿色硫黄细菌占优势时，水层变绿或褐色。光合细菌一旦大量繁殖就会形成这样的色层，因此透过表层的光几乎都在这里被吸收了。而在这个色层以下，透过光线很少，也就没有光合细菌生长繁殖了。

在厌气层中生长的光合细菌的种类与水中 H_2S 的浓度、盐浓度、温度、pH 值、氧化还原电位有关。特别是受 H_2S 浓度和光的影响。下面则重点从光的角度来分析这一问题。

图 1.2 是照射在水面的太阳光透过水深程度的示意图。如图所示，光在水中的穿透度随其波长而变化， $450 \sim 550 \text{ nm}$ 波长的

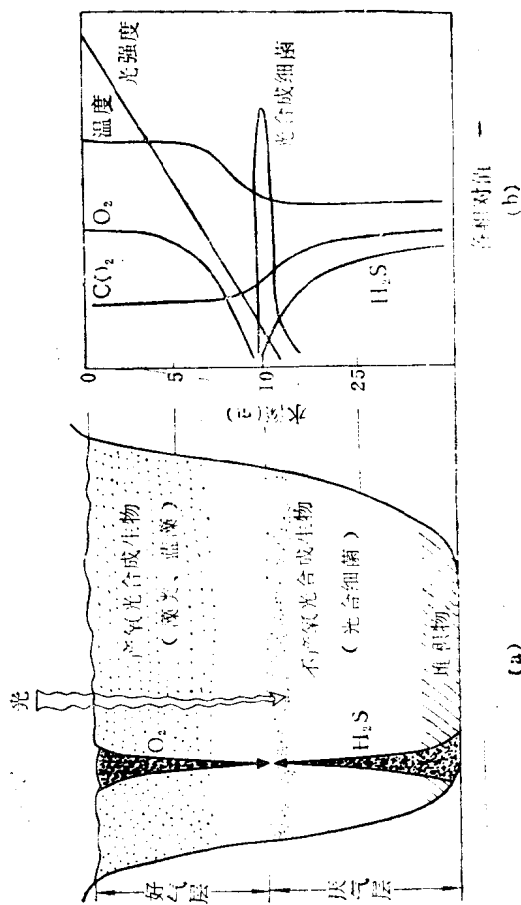


图 1.1 处于夏季停滞期的微环湖

(a) 湖的断面图;

(b) 湖中光合细菌和环境因子的垂直分布

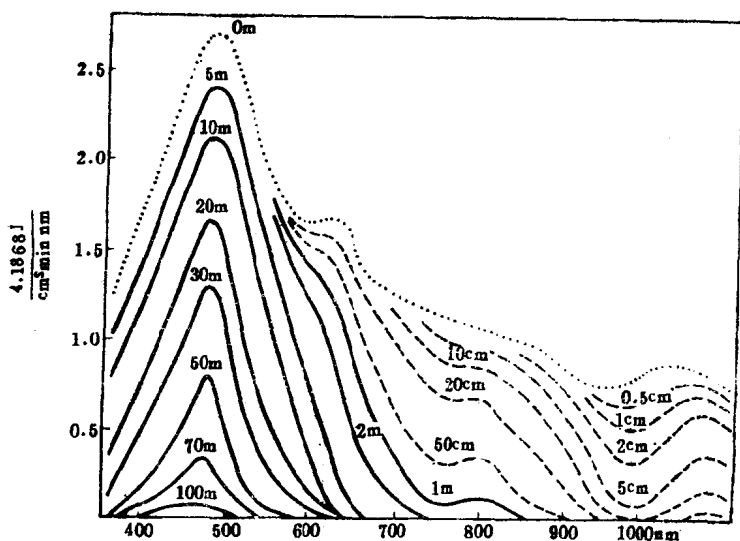


图 1.2 在 Sangasso 湖各水层中测定的太阳光强度分布

光能很好地透过 10~20m 水深, 700~1000nm 波长的光只能透过几十厘米至 2m 左右。水中若有悬浮微粒子、绿藻等, 或含有溶解丹宁、腐殖酸等有色化合物时, 特定波长的光穿透度就更小。为了吸收光能, 光合细菌具有相应光合色素菌叶绿素 Bchl 和类胡萝卜素。图 1.3 表示一旦在湖水深 2m 处形成厌气层, 透过水面到达这个水层的光, 其波长在 720nm 以下, 在这个水层中更有利于含 Bchld 的菌种的生长, 因为 Bchl_a 的吸收波长为 870nm 左右, 而 Bchld 的吸收波长为 715~720nm。倘若在水深 10m 处形成厌气层, 透过水面到达这层的光只是 450~550nm 的青绿色光, 因此, 在深的水层里能优势生长的光合细菌是那些含有较多类胡萝卜素的菌种。这些细菌能把由类胡萝卜素吸收的光能高效地传递给细菌叶绿素(不同的菌种传递率为 30~90%)。种种事实表明, 在深水中生长的菌种, 类胡萝卜素的含量高, 而在弱的绿光下的碳酸固定能相对较高, 这些菌种即使在 450~550nm 的弱光下也能适应, 繁殖迅速。

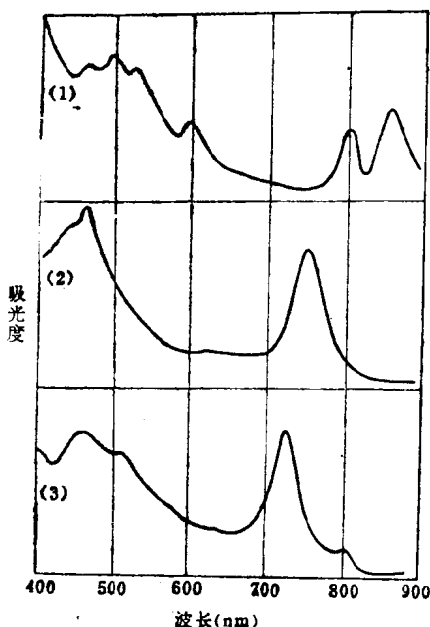


图 1.3 各种光合细菌的吸收光谱
(菌体分散在 60%蔗糖溶液中测定)
(1) *Chromatium Sp.* (含 Bchl a)
(2) *Chlosobium Sp.* (含 Bchl c)
(3) *Chlorobium Sp.* (含 Bchl d)

以 H_2S 作为营养源而生长的光合细菌，白天由于吸收太阳光能消耗了 H_2S ，夜里不再有 H_2S 供给，故一部分菌种转移到暗处反而生成 H_2S 。另外像硫酸还原菌等细菌昼夜不断地生成 H_2S ，结果使含有 H_2S 的厌气水层的位置白天下移，夜里上升。某些运动性的红色硫黄细菌随厌气层的上下变动而在水中上下移动，*Chromatium okenic* 移动距离达 2m。而绿色硫黄细菌因无运动性，不能随 H_2S 浓度变化而作上下移动，因此这种细菌生长在红色硫黄细

菌生长层稍下点的 H_2S 浓度较高的厌气层中。例如在以色列的 Solar 湖中，红色硫黄细菌 *chromatium* 生长在湖的厌气层上部（水深 2m 处），绿色硫黄细菌 *prosthecochloris* 则生长在厌气层下部（水深 4m 处）。不同种类的光合细菌的分布情况并不都是各水层中 H_2S 浓度不同而造成的，而是由于 *prosthecochloris* 比 *chromatium* 能在更弱的光下（5~10lx）生长。在有些光合细菌菌种的细胞内会形成气泡，能在水中作垂直移动。

2.2 氧化塘

氧化塘(lagoon)是一种生物处理废水的系统，其处理的水仅

表面暴露于空气，造成以有机物为营养的微生物大量繁殖，溶解氧被大量消耗，其水域全部变成厌气状态，结果在水域中因硫酸还原菌等生长而产生 H_2S ，在这种厌气氧化塘中大量繁殖有红色硫黄细菌 *chromatium* 和 *thiocapsa*，使处理水全部变成红色。

2.3 活性污泥槽

活性污泥法(activated sludge method)也是一种生物处理废水系统。这种系统因大量曝气缘故，其中生长着很多好气性营养细菌。最近几年的研究发现，在处理城市下水的活性污泥中，红色非硫黄细菌(*Rhodopseudomonas*)生长密度为 10^5 cells/ml。在处理冻豆腐的活性污泥中红色非硫黄细菌生长密度也达到 10^6 cells/ml。红色非硫黄细菌能在富含有机物的溶解氧较高的水中大量生长是由于这种菌是兼性细菌厌氧的。也就是说，这种菌不仅能在厌气、明亮的条件下进行光合异养生长，而且能在好氧，黑暗的条件下进行化能异养生长。

2.4 下水道

在下水道的浅水中，通常很少有光合细菌。但是，极少数种类的光合细菌也能在下水道中大量繁殖，光合细菌生长在下水道的避阳的沉淀物中（水深 1~2cm），而在日光直射的沉淀物中，绿藻会大量繁殖。在下水道中优势生长的光合细菌种类随季节而不同，夏天 *Rhodospirillum* 占优势，下水道底层呈橙色；冬天 *Chromatium* 占优势，下水道底层呈红褐色。

2.5 海

海岸、海水湖的厌气层中生长着各种各样光合细菌，有时，由于这些细菌的大量繁殖，致使海水呈红色、绿色。但是，对于在海水里生长的光合细菌，目前仅仅知道一些耐盐性的菌种，如生长在盐田等地方的 *Ectothiorhodospira halophila* 菌是嗜盐性菌种，生长时需要 15~20% 的 NaCl。

一些研究者发现从淡水中分离到的各种红色非硫黄细菌也具有耐盐性，很多的菌种能在含 1% NaCl 的培养基中生长(除

Rp. Sphaeroides 外), 但都不能在含 3%NaCl 的培养基中生长。即使是同一种的细菌, 也会因为它们是从海水还是从淡水中分离出来的, 在生理特性上多少有些差别。

2.6 其他

光合细菌除了生长在上述的水体中外, 还能在池、沼泽、硫黄泉、水田或灌水的土壤中生长。

光合细菌不仅能进行光合作用, 也能进行呼吸、发酵或脱氮。光合细菌能适应环境条件的变化而改变其获得能量的方式。正因为具有如此多样化的生长能力, 光合细菌不仅能在有光透过的自然水域的厌气层中生长, 而且能生长在更广泛的其他自然环境中。

3. 光合细菌在自然界物质循环中的作用

3.1 碳

红色非硫黄细菌以低级脂肪酸、醇类、碳水化合物和氨基等作为碳源进行光合作用。一般认为在这个过程中是没有 CO_2 产生的。这类细菌能捕获光能, 利用发酵细菌所产生的低分子有机化合物来合成高分子有机物。在 2 米深的底泥中发现有类胡萝卜素, 这是因为光合细菌的菌体大量沉积所致。

此外, 红色硫黄细菌、绿色硫黄细菌能利用水中厌气层下部的 CO_2 作为碳源。即这些细菌在厌气层进行了一次物质生产, 其一日的一次生长量, Solar 湖是全天 $7249\text{mg}/\text{cm}^2$, 这相当于每天全生长量 $8015\text{mg}/\text{cm}^2$ 的 91%。Mirror 湖(美国)全天生长量为 $59\text{mg}/\text{cm}^2$, 相当于每天全生长量 $1570\text{mg}/\text{cm}^2$ 的 3.8%。其次, 如从一年的一次生产量来看, Fayetteville Greek 湖(美国)是每年 $239\text{g}/\text{cm}^2$, 这相当于年全生产量 $290\text{g}/\text{cm}^2$ 的 83%。榛名湖(日本)年生产量为 $3.6\text{g}/\text{cm}^2$, 这相当于年全生产量 $85\text{g}/\text{cm}^2$ 的 4%。光合细菌全年一次生产量前者高, 这是因为 Fayetteville Greek 湖是一个不混湖, 全年都生长着光合细菌。而后的全年一次生产量低, 这是因为榛名湖是一个循环湖, 除了

夏天的停滞期外，不生长合成细菌。整个湖光合细菌的全年一次生产量，Fayetteville Greek 湖为 60000kg，Medicine 湖(美)为 3750kg。

红色硫黄细菌和绿色硫黄细菌都是在 H_2S 存在的条件下同化 CO_2 的，但是两者的同化途径和同化后得到的有机物的处理方法各不相同。红色硫黄细菌利用羧酸循环来同化 CO_2 ，这个科的 *Ch. Vinosum* 在光照条件下，把同化 CO_2 获得的有机物部分贮藏于细胞内，在暗条件下，再把它分解。而绿色硫黄细菌主要利用还原羧酸来同化 CO_2 ，这个科的 *Chlorobium* 把同化 CO_2 所获得的一部分有机物分泌到细胞外。据对波兰 Wadolek 湖测试 *C. limicola* 分泌的有机物数量约达其同化 CO_2 获得的有机物总量的 30%。

红色硫黄细菌不仅能以 CO_2 为单一碳源而生长，而且也能以醋酸等有机化合物为单一碳源而生长。绿色硫黄细菌虽能以 CO_2 为单一碳源生长，但不能以有机化合物为单一碳源而生长。在 CO_2 和 H_2S 共同存在的情况下，绿色硫黄细菌能利用醋酸等有机化合物作为某种细胞成分的合成材料。由此可以推断，红色或绿色硫黄细菌在含有 H_2S 和 CO_2 以及多种有机化合物(发酵代谢产物等)作为碳源而生长。在这些地方 CO_2 的固定量也不是很多的。

3.2 硫黄

红色硫黄细菌和绿色硫黄细菌能把水层下生成的 H_2S 氧化成 SO_4^{2-} 。在意大利 Faro 湖，上述细菌一日内能氧化 $300mg/m^2$ H_2S ，这时，硫酸还原菌每日能把 SO_4^{2-} 还原成 $500mg/m^2$ H_2S 。据计算，红色及绿色硫黄细菌一年内氧化的 H_2S 量，Fayetteville Greek 湖为 84000kg，Medicine 湖为 5250kg。

红色硫黄细菌在进行 $H_2S \rightarrow S^0$ 反应的同时，平行进行着 $S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$ 反应。后者的反应较慢，反应期间生成的硫黄颗粒积蓄在细胞内，而绿色硫黄细菌在 H_2S 存在时，只进行 $H_2S \rightarrow S^0$ 反应，不发生 $S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$ 反应，反应期间生成的硫黄颗粒不稳定

地积蓄在细胞外侧。生长在 H_2S 含量充足的厌气层中的绿色硫黄细菌则在细胞表面不断地积蓄硫黄颗粒，这些硫黄颗粒再被共存的硫黄还原菌还原成 H_2S 。总之，被光合细菌氧化的 H_2S 不是立刻变成 SO_4^{2-} ，一部分以硫黄颗粒的形式存在，并以某种比例堆积在水底。目前还没有有关堆积量的实际测定例子，但可从光合细菌与湖底硫黄床形成相关的事实来证明这一点。

自然水域中 H_2S 的氧化反应，不论在厌气层还是在好气层都能发生。在厌气层，白天有光能供给，不仅光合细菌，而且蓝藻也能发生 H_2S 的氧化反应。好气层中不分昼夜发生的硫黄细菌 (*Thiobacilli* 等) 的呼吸反应，溶解氧的氧化反应都能引起 H_2S 氧化。光合细菌、蓝藻及硫黄细菌引起的 H_2S 氧化反应还和生成硫黄的反应、 CO_2 固定反应有关系，所以在这三者共存的水域中很难测定它们各自单一反应的绝对量。在对自然水域中光合细菌发生 H_2S 氧化量、硫黄生成量以及 CO_2 固定量进行定量分析时务必注意这一点。

3.3 氮

除了以铵盐为氮源外，光合细菌也能利用 N_2 。对于海洋性菌种的固氮能力虽还有疑问，但从海岸分离到的红色非硫黄细菌都具有固氮酶，所以认为这种能力是光合细菌所共有。

测定光合细菌固氮量的实例很少。一般认为生长在铵盐丰富的富营养化的厌气水层中，多数光合细菌固氮作用很弱。厌气条件能诱导固氮酶的合成，但是一旦有铵盐存在时其合成立即被抑制。在水田中红色硫黄细菌具有相当高的潜在固氮能力。如果使固氮菌和红色非硫黄细菌共存时，那么要比各自单独生长时固定氮的量更多。因此认为，红色非硫细菌和固氮菌的共存关系可能对增加自然界中固氮量有直接或间接的影响。

光合细菌中有些菌种具有同化型或异化型硝酸还原能力。后者的某些反应，能把 $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O}$ ，最终还原成 N_2 。这就是说某些光合细菌具有脱氮的作用。但是直到现在，对光合细菌在