

微生物新陈代谢生理学与 功能进化

B. H. 薩波什尼科夫

科学出版社

微生物新陳代謝生理學與功能進化

B. H. 薩波什尼科夫著

陶增鑫 王子芳 韓 儀譯

庄 增 輝 校

В. Н. ШАПОШНИКОВ
ФИЗИОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ
МИКРООРГАНИЗМОВ В СВЯЗИ С
ЭВОЛЮЦИЕЙ ФУНКЦИИ

Изд. АН СССР, 1960

內 容 簡 介

本书共分十五章。书中首先叙述了微生物的生理生化特征，然后着重论述二氧化碳的代谢和发酵的类型。最后几章还阐明微生物代谢的实践意义，及分子氧之参与代谢和生物氧化作用。可供微生物研究工作者及高等院校有关的专业师生参考。

微生物新陈代谢生理学与功能进化

[苏] В. Н. 薩波什尼科夫著

陶增鑫 王子芳 韓 仪譯

庄增輝 校

*

科学出版社出版

北京朝陽門內大街 117 号

北京市书刊出版业营业许可证出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店經售

*

1965 年 1 月第 一 版 开本: 850×1168 1/32

1965 年 1 月第一次印刷 印张: 5

印数: 0001—3,900 字数: 127,000

统一书号: 13031·2061

本社书号: 3160·13—9

定价: [科七] 0.85 元

作者的話

四十年来，作者有机会参加了苏联某些有关微生物生命活动的，并利用其独特化学活性的生产机构。

从这项工作的一开始起(1920)，指导作者及其同事們和学生們的思想就是：若要合理地組織以微生物生命活动为基础的生产过程，那就應該对被利用的微生物的新陈代谢的生理本性尽可能有較深刻的了解。我們从未怀疑过解决微生物学领域中当前問題的这种看法的正确性。因而同作者一道工作的全体人員的主要注意力都是集中在微生物新陈代谢的研究上。

这也就在很大程度上确定了这一著作的内容，也就是试图研究各种新陈代谢类型的发生学上的亲緣关系。

由于这些問題在世界文献中很少探討，因此作者主要是以实验資料为根据，这些資料是作者担任莫斯科大学微生物学教研室主任以及在其他机构中工作期間，由他的学生們及同事們所积累的。

目 录

作者的话	iv
第一章 論科学术语(代序)	1
第二章 微生物的生理生化特征	11
第三章 新陈代謝中的二氧化碳	25
第一节 光合作用	25
第二节 异养的光合同化作用	42
第三节 自养的化学合成	46
第四节 二氧化碳的异养化学同化作用	50
第四章 自养的和异养的生活方式	57
第五章 异养的生活方式	64
第六章 发酵学說发展史中的某些时期	69
第七章 同型乳酸发酵	75
第八章 发酵过程与結構代謝的相互关系	84
第九章 异型乳酸发酵	94
第十章 丁酸发酵	103
第十一章 发酵中的縮合反应	115
第十二章 微生物新陈代謝双阶段性的实践意义	118
第十三章 論分子氧参予新陈代謝	124
第十四章 生物氧化	129
第十五章 总结	138
参考文献	147

第一章 論科学術語（代序）

在任何科学的体系、学术討論中，術語的准确性是非常重要的，要求所使用的術語務必具有確切的含義，包含嚴格確定的現象、事實和對象。生物科學領域中的許多概念——因而還有表征這些概念的許多術語——是在只有關於生物的有限知識時形成的，同現代具有的方法比較起來，這些知識是用相當簡單的和不完善的方法獲得的。

隨着科學和研究方法的進展，當然，老的概念就被更完善的概念所替代。可是術語常常是極其保守和固定的。其結果術語遲早會落后於新的概念，於是勉強塞入變得狹小範圍的術語中的許多現象和術語之間就產生或大或小的脫節。

在某些情況下，老的術語甚至當它們的定義並不完全符合於新的概念時，還是作為歷史品而保留着，而沒有很大妨礙，因為它們的含義是有條件的。這可以用動植物細胞學中的“細胞”概念和工藝學中的許多術語作為例子。

在很多情況下，使用已經確立的，它們的應用和其中包含的現象及對象的範圍沒有確切界限的那些術語，就會引起很大的誤解，特別是由于不合理的概括，而將不同方面的現象只根據其中某些相似部分而硬塞到這個術語中，這時更容易產生誤解。

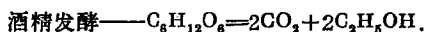
這與企圖合併（或相反，區別開）“呼吸”和“發酵”兩個概念的歷史最為有關。

“呼吸”這個概念是根據人和動物吸入和呼出空氣的動作而形成的。Лавуазье 指出，這裡重要的與其說是空氣，不如說是其中所含的氧氣。後來證明了，氧氣進入有機體不只是靠吸入空氣來實

現,而且氧氣也能從外界環境(水)通過鰓(魚)或軀體(植物)的不同部位擴散進來。在所有這些情況下,由於呼出和擴散,就增加了外界環境中二氧化碳的含量。因而將呼吸作用看作為(正如日常生活所證明的)為了維持動植物體的生命活動所必需的,同外界環境的特定的氣體交換。結果生命和呼吸在人們的概念中成為不可分割的了。1861年,路易·巴斯德(Louis Pasteur)證明了存在着這樣的有機體——丁酸發酵的媒介物,它們進行生命活動不僅不需要空氣中的氧氣,而且在巴斯德的實驗中氧氣對於這些微生物是致命的,這就給這一概念一個決定性的打擊。

巴斯德認為,對於這些有機體來說,呼吸作用為發酵作用所代替,他將發酵作用定義為“無氧的生活”。在這一定義中就透露出了對自然界秘密的不自覺的預見,而這些秘密在很久以後才被闡明。但是,巴斯德在作了闡明發酵作用的化學本質的努力之後,由於受當時化學水平的限制,他不能完滿地解釋這一現象。由於就沒有呼吸就不可能有生命這樣一種在當時占統治地位的信念,因此他寫道:嫌氣性生物“具有的呼吸是如此強烈,以致它們在沒有空氣進入時也能生活,這是由於它們能吸收各種化合物中的氧,結果這些化合物就被緩慢地分解”(路易·巴斯德“關於發酵的研究”,俄文版,116頁)。

的確,在巴斯德研究的某些嫌氣發酵(乳酸發酵和酒精發酵)中,被發酵的物質分解為:



但是,現在十分明顯的是,從葡萄糖分子奪走氧既不是用於形成乳酸,也不是去形成酒精和二氧化碳。因而從巴斯德關於發酵本質的定義中留下的只不過是,複雜的物質分解為較簡單的物質而已。就這一點它得到了微生物學家和生物化學家的擁護,並且由於具有進行術語概括的傾向,也就產生了合併“呼吸”和“發酵”兩個概念的企圖。

人們对发酵有不同的定义,“分解的呼吸”(В. Омелянский, 1913)、嫌气性的[或厌氧生物的(аноксибиотическое)]呼吸,基质生物氧化的一种形式(Werkman 等, 1951),以及作为能形成一定产物并严格属于一定微生物的,因而也就有一定分类学意义的(醋酸細菌, 丁酸細菌)一种特殊功能,甚至认为任何观察到的基质中各种物质的轉化(氨化作用;葡萄糖的发酵,檸檬酸发酵等)都是发酵。

不难看出,这样的定义不仅不能促进“呼吸”和“发酵”这两个不同概念的接近,而且也无助于对各种发酵过程本质的了解。因为它所依据的只是当研究碳水化合物在新陈代谢中的轉化,特别是已糖及其磷酸酯的轉化时所获得的資料。所以,順便提一下,Д. М. Михлин(1956)合併“糖酵解”(Гликолиз)和“发酵”(Брожение)(原著第5頁)这两个概念,并认为发酵是“物质的厌氧生物分解”。

但是,应当指出,由于 Михлин 把发酵定义为有机物质的分解,就完全有根据认为:“将糖酵解或发酵定义为嫌气性呼吸是不正确的”。不过应该指出,微生物发酵碳水化合物虽然是很普遍的,但对整个发酵来说也还只是一方面,因为在許多情况下不属于碳水化合物的很多物质也能被发酵。

因此提醒这一点是有意义的,即巴斯德主要是在发酵乳酸盐时研究丁酸发酵的。丙酸发酵既可借助于蔗糖来实现,也可借助于乳酸、丙酮酸和甘油的发酵来实现。众所周知,蚁酸杆菌(*Bacterium formicum*)是在嫌气条件下靠发酵蚁酸而生活的。

大家也知道,关于从术语学上綜合伴随不同生物生命活动而发生的,各种所謂能量过程(呼吸、发酵)的想法,是根据比較研究动植物組織、器官以及整个有机体在有氧和无氧情况下的气体交換的資料而产生的(Пфлюгер, Вортман, Пфефер, Палладин, Костычев)。

这些实验資料的特点可以从 В. Палладин(1904)的老著作

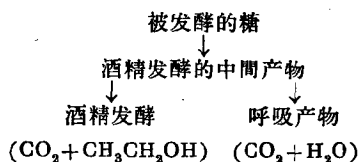
引文中明顯地看出來。

實驗是用單細胞藻類 *Chlorothecium saccharophilum* 培養物進行的。作者發現，藻類只有在通入氧氣時才生長。在氫氣中生長停止，但繼續排出二氧化碳，儘管不夠強烈。當重新通入空氣（氧氣）時，就極其強烈地排出二氧化碳，有時比在正常呼吸情況下高四倍，不過它很快地就會降低到正常的呼吸水平。根據這些資料，Палладин 對此現象作出了如下的描述：

“在空氣中進行的氧化過程隨着氧氣的排除而中斷，並進入具有發酵特征的複雜有機物質的分解過程。如果藻類重新獲得氧氣，則被形成的分解產物的氧化就開始提高了。”

因而，這些研究工作以及 Пфлюгер, Вортман 和其他學者們更早的研究工作都說明了這一論點，即作為有機體或個別組織以及細胞與外界環境的氣體交換的呼吸作用可能是由兩方面組成的：嫌氣性的——為氧化準備材料；好氣性的——實現這種氧化作用。後來查明某些真菌，即酵母的一些種（路易·巴斯德已明確地指出過）既能靠呼吸作用，也能靠嫌氣性過程——酒精發酵來實現其生命活動。對這些過程進一步的研究證明，碳水化合物轉化的頭幾個階段，對於呼吸和酒精發酵可能是共同的。

在這一基礎上就產生了 Костычев (1924) 的著名圖式：



一般來說，這一圖式看起來是適用於發酵型酵母的。但是將它推廣到所有的各種發酵時則是沒有任何根據的。然而至少它已在發酵中引伸了，儘管很難指出是誰這樣作的（見 Костычев, 1937）。

碳水化合物的發酵是同預先解碳鏈作用有關的，但這一情況

并不能証明所有发酵都必须有解碳鏈过程;在很多情况下,发酵产物的形成决不能看作是原始被发酵物质裂解的結果。

丙酸細菌发酵乳酸盐或丙酮酸盐而形成丙酸,甲酸嫌气发酵形成碳酸和甲烷,都可以作为例子。尤其是在很多发酵过程中我們看到肯定的合成作用。例如象 1938 年 Wood 和 Werkman 所証明的,丙酸細菌在有碳酸盐存在时发酵甘油形成琥珀酸;此时三碳鏈的甘油最終轉变为四碳鏈的琥珀酸。

众所周知,这些資料是建立二氧化碳异养同化作用的現代理論的出发点。

在形成丁酸时,特别是在乳酸的丁酸发酵时,我們看到类似的現象。在嫌气条件下,蚁酸杆菌 (*Bacterium formicum*) 发酵蚁酸形成醋酸时也出現同样的情况 (Мантейфель 及其同事們, 1949, Колесникова, 1957)。

因而,如果在一些情况下,例如当发酵己糖形成乳酸时,发生了糖酵解;那么在另一些发酵过程中則反应就具有了合成的特点。所以将发酵和糖酵解混为一談 (Михлин) 是不能使人同意的。

归根到底, Kluver (1930) 以及其他更晚近的学者們 (見 Михлин, 1956) 的看法是,发酵和呼吸的区别仅仅在于,在呼吸时氧化还原反应的最終受氢体是分子态氧,而在发酵时則是被发酵物质本身,也就是正如巴斯德的定义一样,又使好气性的和嫌气性的新陈代謝相对立起来了。

必須指出,如果把呼吸的化学机制和这一过程的酶学方面的专门文献除外,則使用“呼吸”概念时常常是不确切的 (特别是在微生物学中),例如细胞悬液或酶制剂对氧气的任何利用都被看成是呼吸。

对于高等生物,特别是植物,在呼吸中利用碳水化合物时,众所周知,呼吸作用的現代学說指的是原始材料的嫌气性准备 (磷酸的解碳鏈作用),以及接着碳鏈裂解产物被分子氧所氧化。

因而,对碳水化合物來說,呼吸(植物体)的定义就是氧化解

碳鏈作用(Окислительный десмолиз), 它的特征是呼吸商为 $\text{CO}_2/\text{O}_2=1$ 。

对于微生物来说, 这样的呼吸定义完全适合于酵母菌, 作为有相当高度结构的子囊菌的代表——酵母, 在发生学上它对真菌比对细菌更接近。这一呼吸定义可能也适合于某些细菌(固氮菌等)。至于对大多数细菌来说, 则还没有证明这一定义对它们适用的实际资料。

当细菌培养物, 在好气性生长情况下, 我们经常看到在原始被氧化物质没有预先解碳鏈时, 分子氧就参与新陈代谢, 这些原始被氧化的物质可能不是碳水化合物, 而常常是其它更简单的有机物和无机物。

大家知道, 很多细菌仅把葡萄糖氧化为葡萄糖酸或酮葡萄糖酸, 而且根本谈不上会有预先的解碳鏈分解 (Первозванский, 1939)。

众所周知, 醋酸细菌的好气性生长是当基质中有乙醇存在时可能只氧化到醋酸。醋酸氧化到二氧化碳也与预先解碳鏈作用的概念不相符合, 因为按照现代的概念, 醋酸的氧化是经过甲基的氧化并形成中间产物四碳鏈的二羧酸(酒石酸、延胡索酸)。

因而, 分子氧可以参与微生物的其中也包括属于发酵范畴的一些新陈代谢过程。正如下面将要说明的, 在发酵时分子氧的参与导致氧化性的和还原性的产物比例的改变, 甚至完全抑制还原性发酵产物的形成。

例如, 当蚁酸杆菌 (*Bact. formicum*) 进行好气性生长时转化蚁酸盐为碳酸盐。当醋酸细菌氧化乙醇为醋酸或氧化葡萄糖为葡萄糖酸时也是一样, 分子氧无疑是参与新陈代谢的。但是这些过程与其说是属于“呼吸”概念, 不如说是属于“直接氧化”概念, 因为按照前述定义, 呼吸的特征是必须要有为了直接的氧化准备材料的解碳鏈过程参与的 (В. Палладин)。

*

*

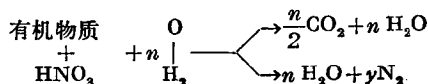
*

普遍存在于各群微生物中的嫌气性新陳代謝具有最重要的生物学意义。这种代謝的最大特点是：进行着无分子氧参与的氧化还原反应。

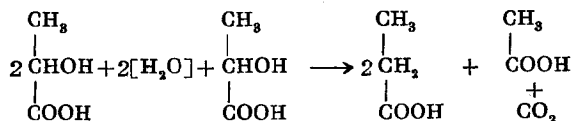
順便指出，植物呼吸的最終結果，即气体交換，可以看作是偶联氧化还原反应的結果，其中的最終於受氢体是分子态氧，分子态氧是在呼吸基质碳鏈分解的某一阶段上进入到反应中来的。

嫌气性能量过程(发酵)的特点是偶联氧化还原反应在基质之間进行，或者在同一(有机的)物质的原子基团之間进行¹⁾：

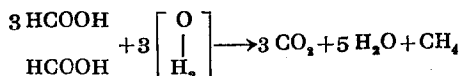
反硝化作用



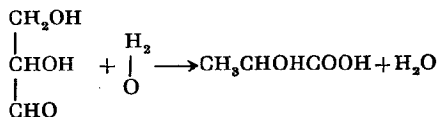
丙酸发酵



发酵甲酸



乳酸发酵



氧气参与嫌气过程能够在各方面影响有机体的生长和过程的本身，影响的程度决定于有机体的本性及其生长的条件。

如果分子态氧参与正常嫌气性过程达到破坏过程的程度，一

1) 但是应该指出，在生长着的培养物中，氧化还原反应的一些氢可能被用于结构代謝之中。

般地說培養物的生長就停止了。在丁酸發酵和丙酮丁醇發酵中就發生這種情況。在這種情況下要消除氧的有害影響，可以將降低氧化還原電位的物質（抗壞血酸，乙二硫醇鹽，硫化氫等）加到培養基中去，或者是採用大量接種的方法（Иерусалимский, 1934）。

在另外一些情況下，當氧氣的參與對細菌的生長沒有嚴重的影響時，可能引起氧化性和還原性發酵產物比例的改变，例如，異型乳酸發酵中同乙醇比較起來醋酸的產量就增加了（Шапошников 和 Семенова, 1949）。也有一些情況：能在嫌氣條件下進行發酵，而氧的參與却加強了生長。例如，在丙酮乙醇發酵中，Фатеева (1958) 觀察到大大地刺激了細菌的生長，並提高了丙酮的產量。

近來，在我們實驗室的工作中明確地證明，某些發酵對於分子態氧的需要在很大程度上決定於培養基的成分，特別是其中各種物質的組合。

Тарасова (1958 和 1959) 在其關於乳酸細菌新陳代謝的學位論文中陳述了下列有趣的事實。當將 *Lactobact. lindneri* 培養在有葡萄糖的麥芽汁中時，只有在接近於嫌氣的條件下（細長的量筒中）才生長，並強烈地發酵葡萄糖形成乳酸和醋酸。而在好氣條件下（置於每分鐘 120 轉的搖床上的三角瓶中），幾乎完全不生長。當以丙酮酸代替葡萄糖時生長仍舊很弱（少一倍半），但是在嫌氣條件下較之在好氣條件下好 4 倍。在兩種情況下，發酵產物都是不同量的乳酸和醋酸。

當在嫌氣條件下培養於葡萄糖和丙酮酸鹽的混合液中時，細菌數量較之培養於單一葡萄糖（20%）中要高一些；同時發酵的形式也有些不同，發酵產物中除乳酸和醋酸外還有乙醇。

有趣的是在這種情況下發酵也在好氣性條件下進行，而且抑制生長的程度也不大（16%）；同時由於減少了乙醇的產量和部分乳酸的產量，而大大提高了醋酸的產量。

因而當培養基中除葡萄糖外還有丙酮酸時，專性的嫌氣性細菌

菌就变为兼性的嫌气性細菌了。

Воробьева (1958) 用一种丙酸細菌 *Propionibact. jensenii* 所作的實驗中获得了大体上类似的資料。当将上述細菌培养在具有无机氮 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 和三种維生素(生物素、硫胺素和汎酸)的合成培养基上之后,細菌在乳酸盐和丙酮酸盐上由于发酵这些化合物而形成丙酸和醋酸,就成为兼性的嫌气性微生物;培养基中大量通入氧气在两种情况下都是不利的,并且降低产量。在嫌气条件下当用甘油或琥珀酸盐来代替上述的酸时就不能生长。

但是将延胡索酸盐或天门冬酸(在大量接种細菌时用酵母自溶物也一样)加到甘油培养基中,促使細菌强烈生长,并且利用甘油形成通常发酵产物——丙酮和醋酸。

Воробьева 推測,在甘油培养基中細菌不生长是由于結構代謝中不能直接地轉化甘油。

因而,細菌在一定条件下伴随着它們的生长而发生的那些新陈代謝过程也导致生命活动的各种代謝产物在基质中的累积或消失,这些代謝产物由于参与其中的氧气的程度和原始物质的化学結構及其在基质中的組合而极其多种多样。

这些生命活动产物的形成通常认为是进行了所謂能量过程的结果,根据能量过程的名称来称呼一定的細菌群;以某些生命活动的产物来定名(乳酸发酵),或者是以原始的基质定名(果胶发酵)。

但是应当指出,絕非在某些条件下伴随細菌生长的所有生命活动的产物,都能看成是进行能量过程的直接结果。例如当丙酸細菌发酵乳酸或丙酮酸时形成丙酸就决不能看作能量的来源,因为这一过程同还原有关。丁酸发酵时形成丁酸、丙酮丁醇发酵时形成丁醇也是这样(第十章)。

上述在“能量”过程中所利用物质及其轉化途径的多样性,以及分子态氧参与的程度的不同,将所有这些过程都归納在“发酵”概念中决不能认为是正确的,将其归納在“呼吸”概念中則更不正确了。这也是不符合于 Werkman 的下述概念的,“随着生命的开

始似乎就产生了一个基本的代謝机制，以后这一基本的代謝机制对个别种或个体來說发生了一些沒有实际意义的变化。因而，在各种各样的生物中为有机体提供的能量、以及細胞利用能量、能量的累积和細胞物质的合成，都应该有一个共同的图式。”

相反地，将微生物的极其多种多样的新陳代謝，看成是微生物对各种各样生态环境生命活动适应变异过程中功能进化发展的結果要更为正确一些。从这一观点出发，應該认为現在非常普遍的倾向于合併“发酵”和“呼吸”两个概念，是与功能进化的原則相矛盾的，而且只会妨碍科学的发展。

第二章 微生物的生理生化特征

由于大多数的細菌都很小，并且不可能确定足够数量的形态特征来对其进行鑑定和分类，因此許多微生物学家早已想利用微生物所特有的，它們与外界物质相互关系的特殊多样性来达到这种目的。在这 方面 Orla-Jensen, Н. Н. Худяков (1926) 和其他許多微生物学家曾企图創立各群微生物的所謂生理学分类法。然而，这种利用各代表种的新陈代谢多样性的尝试并没有得到广泛的承认(Курсанов, 1945; Красильников, 1949)。

其原因并不是因为新陈代谢型的分类法对細菌的鑑定和合理的分类没有帮助，而是因为所使用的是一些相当偶然的标志，而这些标志是当微生物培养在成分极不固定和极其复杂的培养基中所发现的，它并不能得出一个所进行过程的相当全面的图景。从下面的例子就可以看出，由于术语不确切将在这方面造成怎样的混乱。

美国的微生物学家坚决地主张下面一种以微生物所使用的能源为基础的新陈代谢的分型方法。

1. 光合营养型(фототрофность) 光化学反应为能量的来源。

(1) 无机光合营养型(фотолиотрофность) 生长是靠外生的无机授氢体。

(2) 有机光合营养型(фотоорганотрофность) 生长是靠有机的授氢体。

首先应该指出一种现已过时的概念：即硫化氢或有机物质是授氢体。现在一般认为，光合作用中碳酸的还原是由水中的氢来

完成的,而硫化氢、硫或某些有机物质则是光合过程氧化还原反应中氧的受体。由这种概念出发,必然会推断出碳酸是靠硫元素的氧化来实现光化还原的。然而,硫元素在轉化成硫酸的过程中不可能是授氢体。此外,紫色硫細菌在碳酸光化还原时,在硫化氢或某些有机物质的氧化之間并没有什么差別。

还应该談一談,确定术语时要尽可能符合它的意义,这个要求是合理的。因此,“有机营养型”这个术语应该用来表示“用有机物质来营养”(有机物质的同化),而不是它們的氧化。

其实“有机营养型”比表示某种有机体需要其他生物生命活动的一些产物的“异养型”这个旧的概念并不好多少。

美国微生物学家所建立的,第二部分的其他两种新陈代谢类型的情况亦并不好。

2. 化能营养型(хемотрофность) 能量是靠暗化反应取得的。

(1) 无机化能营养型(хемолитотрофность) 生长是靠外源无机物的氧化。

(2) 有机化能营养型(хемоорганотрофность) 生长是靠有机物的氧化或发酵¹⁾。

有机或无机基质的氧化对于确定“营养”的两种类型来说未必是充分的。把氧化与发酵和营养(trophy)混为一谈亦未必恰当。

为了避免造成这种概念上的混乱,就这四种类型可以用下列方式来加以说明:(1)光合自养型(фотоавтотрофность);(2)光合异养型(фотогетеротрофность);(3)化能自养型(хемоавтотрофность);(4)化能异养型(хемогетеротрофность)。

这些概念不应归之于細菌,而应认为是生命的方式。

美国微生物学家对微生物新陈代谢型的分类尝试虽然没有成功,但这种尝试仍含有微生物学家們普遍希望在分类学中利用所

1) 参阅 Autotrophic Microorganisms, 4 Symposium of Soc. for Gener. Microbiology. 剑桥,1954.