

目 录

第一章 绪论	(1)
--------------	-----

第一部分 细菌学

第二章 细菌的形态与结构	(13)
第一节 细菌大小与形态	(13)
第二节 细菌的结构	(14)
第三节 细菌形态检查法	(23)
第三章 细菌的生理	(25)
第一节 细菌的生长繁殖	(25)
第二节 营养物质进入细胞	(33)
第三节 细菌的人工培养	(37)
第四节 细菌的新陈代谢	(44)
第五节 细菌的分类和命名	(46)
第四章 细菌的分布与消毒灭菌	(47)
第一节 细菌的分布	(47)
第二节 消毒与灭菌	(49)
第五章 细菌的遗传与变异	(54)
第一节 细菌的变异现象	(54)
第二节 细菌遗传变异的物质基础	(55)
第三节 噬菌体	(60)
第四节 细菌变异的发生机制	(62)
第五节 细菌变异的实际应用	(65)
第六章 细菌的感染和免疫	(67)
第一节 细菌的致病性	(67)
第二节 机体的抗菌免疫	(70)
第三节 感染的种类与类型	(73)
第四节 感染的途径与方式	(76)
第七章 细菌感染的检查方法与防治原则	(78)
第一节 细菌感染的诊断	(78)
第二节 细菌感染的特异性预防	(82)
第三节 细菌感染的治疗	(85)
第八章 球菌	(86)



第一节	葡萄球菌属	(86)
第二节	链球菌属	(91)
第三节	肺炎链球菌	(95)
第四节	奈瑟菌属	(97)
第九章	肠道杆菌	(103)
第一节	概述	(103)
第二节	埃希菌属	(104)
第三节	志贺菌属	(108)
第四节	沙门菌属	(111)
第五节	其它肠道杆菌	(115)
第十章	弧菌属与弯曲菌属	(117)
第一节	弧菌属	(117)
第二节	弯曲菌属	(120)
第十一章	厌氧性细菌	(124)
第一节	厌氧芽胞梭菌属	(124)
第二节	无芽胞厌氧菌	(130)
第十二章	分枝杆菌属与放线菌	(133)
第一节	结核分枝杆菌	(133)
第二节	麻风分枝杆菌	(138)
第三节	放线菌属	(139)
第十三章	动物源性细菌	(141)
第一节	布鲁菌属	(141)
第二节	耶尔森菌属	(143)
第三节	炭疽芽胞杆菌	(146)
第十四章	其它致病菌	(149)
第一节	白喉棒状杆菌	(149)
第二节	流感嗜血杆菌	(151)
第三节	百日咳鲍特菌	(153)
第四节	铜绿假单胞菌	(154)
第五节	嗜肺军团菌	(155)
第十五章	支原体、立克次体、衣原体	(157)
第一节	支原体	(157)
第二节	立克次体	(160)
第三节	衣原体	(163)
第十六章	螺旋体	(167)
第一节	钩端螺旋体	(167)
第二节	梅毒螺旋体	(170)
第三节	伯氏疏螺旋体	(173)
第四节	回归热螺旋体与奋森螺旋体	(174)



第二部分 病毒学

第十七章 病毒的生物学特性	(176)
第一节 病毒的形态与结构	(176)
第二节 病毒的增殖	(178)
第三节 理化因素对病毒的影响	(181)
第四节 病毒的变异	(182)
第五节 病毒的分类	(184)
第十八章 病毒的感染与免疫	(187)
第一节 病毒的感染方式	(187)
第二节 病毒的致病机理	(188)
第三节 病毒感染的类型	(190)
第四节 抗病毒免疫	(191)
第十九章 病毒感染的检查方法及防治原则	(196)
第一节 病毒感染的检查方法	(196)
第二节 病毒感染的防治原则	(198)
第二十章 呼吸道病毒	(201)
第一节 流行性感冒病毒	(201)
第二节 麻疹病毒	(204)
第三节 冠状病毒科	(206)
第四节 腮腺炎病毒	(207)
第五节 风疹病毒	(208)
第六节 呼吸道合胞病毒	(209)
第二十一章 肠道病毒	(210)
第一节 脊髓灰质炎病毒	(210)
第二节 柯萨奇病毒与埃可病毒	(212)
第三节 轮状病毒	(213)
第二十二章 肝炎病毒	(215)
第一节 甲型肝炎病毒	(215)
第二节 乙型肝炎病毒	(217)
第三节 丙型肝炎病毒	(225)
第四节 其它肝炎病毒	(226)
第二十三章 逆转录病毒	(230)
第一节 人类免疫缺陷病毒	(230)
第二节 人类嗜 T 淋巴细胞病毒	(236)
第二十四章 虫媒病毒	(239)
第一节 流行性乙型脑炎病毒	(239)
第二节 登革病毒	(241)



第三节	汉坦病毒	(242)
第四节	新疆出血热病毒	(244)
第二十五章	疱疹病毒	(246)
第一节	单纯疱疹病毒	(246)
第二节	EB 病毒	(249)
第三节	水痘一带状疱疹病毒	(251)
第四节	巨细胞病毒	(252)
第二十六章	其他病毒及朊粒	(255)
第一节	狂犬病病毒	(255)
第二节	人乳头瘤病毒	(256)
第三节	朊粒	(257)

第三部分 真菌学

第二十七章	真菌	(259)
第一节	生物学特性	(259)
第二节	致病性与免疫性	(263)
第三节	常见病原性真菌	(265)
第四节	实验室检查及防治原则	(272)

第四部分 医院感染的微生物学

第二十八章	医院感染的概述	(276)
第一节	医院感染的定义	(276)
第二节	医院感染发生的内在因素	(276)
第三节	医院感染发生的主要部位	(278)
第二十九章	医院感染中常见的微生物	(281)
第一节	医院感染中微生物的特点	(281)
第二节	医院感染常见的细菌、病毒和真菌	(282)
第三节	医院感染的传染源和传播途径	(286)
第三十章	医院感染中微生物学检测与控制	(289)
第一节	医院感染中微生物学监控	(289)
第二节	医院感染中微生物学控制	(290)
参考文献	(295)



第一章 绪 论

一、微生物和人类的关系

当你清晨起床后,深深吸一口清新的空气,喝一杯可口的酸奶,品尝着美味的面包或馒头的时候,你就已经开始享受到了微生物给你带来的恩惠;当你因患感冒或其他某些疾病而躺在医院的病床上,经受病痛的折磨时,那便是有害的微生物侵蚀了你的身体;但当白衣护士给你服用(或注射)抗生素类药物,使你很快恢复了健康时,你得感谢微生物给你带来的福音,因为抗生素是微生物的“奉献”。然而,如果高剂量的某种抗生素注入到你的体内后,效果甚微或者甚至毫无效果,你可曾想到这也是微生物的恶作剧—病原微生物(pathogenic microorganism)对药物产生了抗性。这时医生只好尝试用其他药物,这些药物又有待于微生物学家和其他科学家去研究、开发。可以说,微生物与人类关系的重要性,你怎么强调都不过分,微生物是一把十分锋利的双刃剑,它们在给人类带来巨大利益的同时也带来“残忍”的破坏。它给人类带来的利益不仅是享受,而且实际上涉及到人类的生存。在本书中你们将读到微生物在许多重要产品中所起的不可替代的作用,例如面包、奶酪、啤酒、抗生素、疫苗(vaccine)、维生素、酶等重要产品的生产,同时也是人类生存环境中必不可少的成员,有了它们才使得地球上的物质进行循环,否则地球上的所有生命将无法繁衍下去。此外,以基因工程为代表的现代生物技术的发展及其美妙的前景也是微生物对人类作出的又一重大贡献。

然而,这把双刃剑的另一面—微生物的“残忍”给人类带来的灾难有时甚至是毁灭性的,1347年的一场由鼠疫耶森氏菌(*Yersinia pestis*)引起的瘟疫几乎摧毁了整个欧洲,有1/3的人(约2500万人)死于这场灾难,在此后的80年间,这种疾病一再肆虐,实际上消灭了大约75%的欧洲人口,一些历史学家认为这场灾难甚至改变了欧洲文化。我国在解放前也曾多次流行鼠疫,死亡率极高。今天,一种新的瘟疫—艾滋病(AIDS)也正在全球蔓延;癌症也正威胁着人类的健康和生命;许多已被征服的传染病(如肺结核、疟疾、霍乱等)也有“卷土重来”之势。据1999年8月世界卫生组织的统计,目前全世界有18.6亿人(相当于全球人口的32%)患结核病。随着环境的污染日趋严重,一些以前从未见过的新的疾病(如军团病、埃博拉病毒病、霍乱0139新菌型、大肠杆菌0157新菌型以及疯牛病等)又给人类带来了新的威胁。因此,你一未来的医学家任重道远,正确地使用微生物这把双刃剑,造福于人类是我们学习和应用微生物学的目的,也是每一个微生物学工作者义不容辞的责任。

二、微生物学

1. 研究对象及分类地位

微生物研究作为一门科学—微生物学,比动物学、植物学要晚得多,至今不过100多年的历史。因为微生物太小,需借助显微镜(microscope)才能看清它们,因此微生物学(Microbiology)



一般定义为研究肉眼难以看清的称之为微生物的生命活动的科学。这些微小生物包括:无细胞结构不能独立生活的病毒、亚病毒(类病毒、拟病毒、朊病毒)、具原核细胞结构的真细菌(Eubacteria)、古生菌以及具真核细胞结构的真菌(酵母、霉菌、蕈菌等)、单细胞藻类、原生动物(Protozoa)等。但其中也有少数成员是肉眼可见的,例如近年来发现有的细菌是肉眼可见的:1993年正式确定为细菌的 *Epulopiscium fishelsoni* 以及1998年报道的 *nitotargarira namibiensis*, 均为肉眼可见的细菌。所以上述微生物学的定义是指一般的概念,是历史的沿革,也仍为今天所适用。但也有的微生物学家提出不同的看法,例如著名的微生物学家 Roger Stanier 提出,确定微生物学领域不应只是根据其大小,还应该根据有别于动、植物的研究技术。微生物学家通常要首先从群体中分离出特殊的微生物纯种,然后还要进行培养,因此研究微生物要使用特殊的技术,例如消毒灭菌和培养基的应用等,这对成功地分离和生长微生物是必须的,也是有别于动、植物的。

由于微生物的极其多样性以及独特的生物学特性(个体小、繁殖快、分布广等),使其在整个生命科学中占据着举足轻重的地位。无论是1969年 Whittaker 提出的五界系统,还是1977年 Woese 提出的三域(domain)系统,微生物都占据了绝大多数的“席位”,分别为 3/5 和 2/3 强。这是微生物在整个生物界的分类地位。

2. 研究内容及分科

那么微生物学具体的研究内容是什么呢?总的来说,微生物学是研究微生物在一定条件下的形态结构、生理生化、遗传变异以及微生物的进化、分类、生态等生命活动规律及其应用的一门学科。随着微生物学的不断发展,已形成了基础微生物学和应用微生物学,又可分为许多不同的分支学科,并还在不断地形成新的学科和研究领域。其主要的分科见表 1-1。

表 1-1 微生物学的主要分支学科

微生物学	基础微生物学	按微生物种类分	微生物分类学、细菌学、真菌学、病毒学、菌物学、原生动物学、藻类学
		按过程或功能分	微生物生理学、微生物遗传学、微生物生态学、分子微生物学、细胞微生物学、微生物基因组学
		按与疾病的关系分	免疫学、医学微生物学、流行病学
	应用微生物学	按生态环境分	土壤微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、水微生物学、宇宙微生物学
		按技术与工艺分	分析微生物学、微生物技术学、发酵微生物学、遗传工程
		按应用范围分	工业微生物学、农业微生物学、医学微生物学、药学微生物学、兽医微生物学、食品微生物学、预防微生物学

在分子水平上研究微生物生命活动规律的“分子微生物学”,重点研究微生物与寄主细胞相互关系的新型学科领域—细胞微生物学(Cellular microbiology),以及伴随人类基因组计划兴起的微生物基因组学等分支学科和新型领域的兴起,标志着微生物学的发展又迈上了一个新的台阶,正以新的姿态迈入 21 世纪。



三、微生物的发现和微生物学的发展

(一) 微生物的发现

在人们真正看到微生物之前,实际上已经猜想或感觉到它们的存在,甚至人们已经在不知不觉中应用它们。我国劳动人民已很早就认识到微生物的存在和作用,也是最早应用微生物的少数国家之一。据考古学推测,我国在 8000 年以前已经出现了曲蘖酿酒了,4000 多年前我国酿酒已十分普遍,而且当时的埃及人也已学会烘制面包和酿制果酒,2500 年前我国人民已发明酿酱、醋,知道用曲治疗消化道疾病。公元 6 世纪(北魏时期),我国贾思勰的巨著《齐民要术》详细地记载了制曲、酿酒、制酱和酿醋等工艺。公元 9 世纪到 10 世纪我国已发明用鼻苗法种痘,用细菌浸出法开采铜。到了 16 世纪,古罗巴医生 G. Fracastoro 才明确提出疾病是由肉眼看不见的生物(living creatures)引起的。我国明末(1641 年)医生吴又可也提出“戾气”学说,认为传染病的病因是一种看不见的“戾气”,其传播途径以口、鼻为主。

但是真正看见并描述微生物的第一个人是荷兰商人安东·列文虎克(Antony van Leeuwenhoek 1632—1723),但他的最大贡献不是在商界而是他利用自制的显微镜发现了微生物世界(当时被称之为微小动物),他的显微镜放大倍数为 50~300 倍,构造很简单,仅有一个透镜安装在两片金属薄片的中间,在透镜前面有一根金属短棒,在棒的尖端搁上需要观察的样品,通过调焦螺旋调节焦距。利用这种显微镜,列文虎克清楚地看见了细菌和原生动物,首次揭示了一个崭新的生物世界—微生物界。由于他的划时代贡献,1680 年被选为英国皇家学会会员。

(二) 微生物学发展过程中的重大事件

由列文虎克揭示的多姿多彩的微生物世界吸引着各国学者去研究、探索,推动着微生物学的建立和发展,表 1-2 列出了发展过程中的重大事件。



图 1-1 Antonie van Leeuwenhoek (1632—1723)

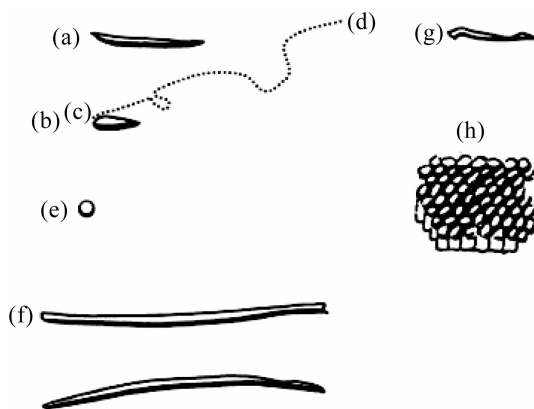


图 1-2 列文虎克用他的显微镜观察细菌的记录原件

注:其中 a,b,f 表示细菌,c,d 表示移动,e,h 表示球菌,g 表示螺旋菌(spirochaete)

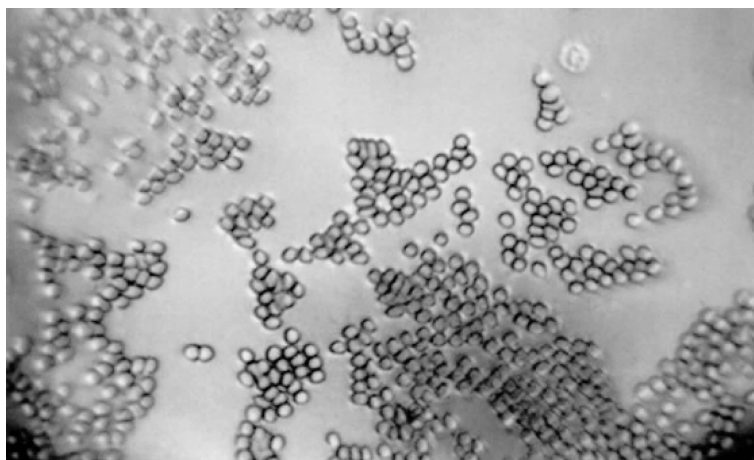


图 1-3 用列文虎克制作的显微镜观察到的人血图片

表 1-2 微生物学发展中的大事件

时间	重大事件
1857	巴斯德证明乳酸发酵是由微生物引起的
1861	巴斯德用曲颈瓶实验证明微生物非自然发生,推翻了争论已久的“自生说”
1864	巴斯德建立巴氏消毒法
1867	Lister 创立了消毒外科,并首次成功地进行了石炭酸消毒试验
1867—1877	柯赫证明炭疽病由炭疽杆菌引起
1881	柯赫等首创用明胶固体培养基分离细菌,巴斯德制备了炭疽菌苗
1882	柯赫* 发现结核杆菌
1884	Koch' 氏法则首次发表; Metchnikoff 阐述吞噬作用; 建立高压蒸汽灭菌和革兰氏染色法
1885	巴斯德研究狂犬疫苗成功,开创了免疫学



时间	重大事件
1887	Richard Petri 发明了双层培养皿
1888	Beijerinck 首次分离根瘤菌
1890	von Behring * 制备抗毒素治疗白喉和破伤风
1891	Stemberg 与巴斯德同时发现了肺炎球菌
1892	Ivanowsky 提供烟草花叶病是由病毒引起的证据; Winogradsky 发现硫循环
1897	Buchner 用无细胞存在的酵母菌抽提液对葡萄糖进行酒精发酵成功
1899	Ross 证实疟疾病原菌由蚊子传播
1909—1910	Ricketts 发现立克次氏体; Ehrlich * 首次合成了治疗梅毒的化学治疗剂
1928	Griffith 发现细菌转化
1929	Fleming * 发现青霉素
1935	Stanley * 首次提纯了烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV), 并获得了它的“蛋白质结晶”
1943	Luria * 和 Delbruck * 用波动试验证明细菌噬菌体的抗性是基因自发突变所致; Chain * 和 Florey * 形成青霉素工业化生产的工艺
1944	Avery 等证实转化过程中 DNA 是遗传信息的载体; Waksman * 发现链霉素
1946—1947	Lederberg * 和 Tatum 发现细菌的接合现象、基因连锁现象
1949	Enders * 、Robbins * 和 Weller * 在非神经的组织培养中, 培养脊髓灰质炎病毒成功
1952	Hershey * 和 Chase 发现噬菌体将 DNA 注入宿主细胞; Lederberg * 发明了影印培养法; Zinder 和 Lederberg 发现普遍性转导
1953	Watson * 和 Crick * 提出 DNA 双螺旋结构
1956	Umbarger 发现反馈阻遏现象
1961	Jacob * 和 Monod * 提出基因调节的操纵子模型
1961—1966	Holley * 、Khorana * 、Nirenberg * 等阐明遗传密码
1969	Edelman * 测定了抗体蛋白分子的一级结构
1970—1972	Arber * 、Nathans * 和 Smith * 发现并提纯了限制性内切酶; Temin * 和 Baltimore * 发现反转录酶
1973	Ames 建立细菌测定法检测致癌物; Cohen 等首次将重组质粒转入大肠杆菌成功
1975	Kohler 和 Milstein * 建立生产单克隆抗体技术
1977	Woese 提出古生菌是不同于细菌和真核生物(Eukarya)的特殊类群; Sanger * 首次对 Φ X174 噬菌体 DNA 进行了全序列分析



时间	重大事件
1982—1983	Cech * 和 Altman * 发现具催化活性的 RNA(Ribozyme); Mc Clintock * 发现的转座因子获得公认; Prusiner * 发现朊病毒(prion)
1983—1984	Gallo 和 Montagnier 分离和鉴定人免疫缺陷病毒; Mullis * 建立 PCR 技术
1988	Deisenhofer 等发现并研究细菌的光合色素
1989	Bishop * 和 Varmus * 发现癌基因
1995	第一个独立生活的生物(流感嗜血杆菌)全基因组序列测定完成
1996	第一个自养生活的古生菌基因组测定完成
1997	第一个真核生物(啤酒酵母)基因组测序完成

* 为诺贝尔生理学和医学奖获得者。

从表 1-2 列出的重大事件中,其发现或发明人就有 30 位获得诺贝尔奖,据有关统计表明,20 世纪末诺贝尔生理学和医学奖获得者中,从事微生物问题研究的就占了 1/3,这从另一个侧面看到了微生物学举足轻重的地位,也可见微生物学的发展对整个科学技术和社会经济的重大作用和贡献。

(三)微生物学发展的奠基者

继列文虎克发现微生物世界以后的 200 年间,微生物学的研究基本上停留在形态描述和分门别类的阶段。直到 19 世纪中期,以法国的巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)和德国的柯赫(Robert Koch, 1843—1910)为代表的科学家才将微生物的研究从形态描述推进到生理学研究阶段,揭露了微生物是造成腐败发酵和人畜疾病的原因,并建立了分离、培养、接种和灭菌等一系列独特的微生物技术,从而奠定了微生物学的基础,同时开辟了医学和工业微生物等分支学科。巴斯德和柯赫是微生物学的奠基人。



图 1-4 巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)

1. 巴斯德

巴斯德(图 1-4)原是化学家,曾在化学上作出过重要的贡献,后来转向微生物学研究领域,为微生物学的建立和发展作出了卓越的贡献。主要集中在下列三方面。

(1)彻底否定了“自然发生”学说

“自生说”是一个古老的学说,认为一切生物是自然发生的。到了 17 世纪,虽然由于研究植物和动物的

生长发育和生活循环,使“自生说”逐渐削弱,但是由于技术问题,如何证实微生物不是自然发生



的仍然是一个难题,这不仅是“自生说”的一个顽固阵地,同时也是人们正确认识微生物生命活动的一大屏障。巴斯德在前人工作的基础上,进行了许多实验,其中著名的曲颈瓶试验无可辩驳地证实,空气内确实含有微生物,它们引起有机质的腐败。巴斯德曲颈瓶实验(如图 1-5):将营养液(如肉汤)装入带有弯曲细管的瓶中,弯管是开口的。巴斯德将瓶中液体煮沸,使肉汤中的微生物全被杀死,然后放冷静置,结果瓶中不发生微生物。空气可无阻地进入瓶中,而空气中的微生物则被阻而沉积于弯管底部,不能进入瓶中。此时如将曲颈管倾斜或者打断曲颈,则外界空气不经“沉淀处理”而直接进入营养液中,不久营养液中就出现微生物了。巴斯德的实验彻底否定了“自生说”,并从此建立了病原学说,推动了微生物学的发展。

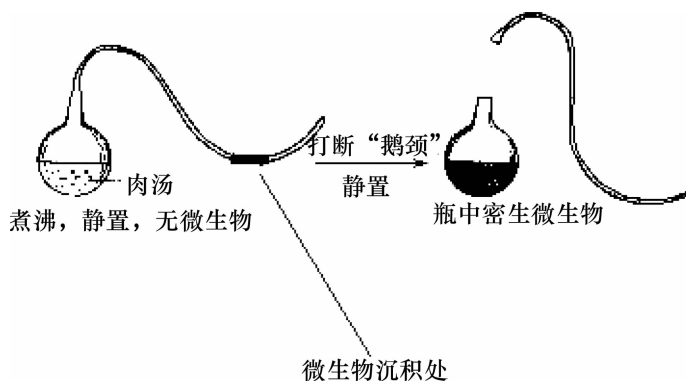


图 1-5 巴斯德曲颈瓶实验

(2) 免疫学—预防接种

Jenner 虽然早在 1798 年发明了种痘法可预防天花,但却不了解这个免疫过程的基本机制,因此,这个发现未能获得继续发展。1877 年,巴斯德研究了鸡霍乱,发现将病原菌减毒可诱发免疫性,以预防鸡霍乱病。其后他又研究了牛、羊炭疽病和狂犬病,并首次制成狂犬疫苗,证实其免疫学说,为人类防病、治病作出了重大贡献。

(3) 证实发酵是由微生物引起的

酒精发酵是一个由微生物引起的生物过程还是一个纯粹的化学反应过程,曾是化学家和微生物学家激烈争论的问题。巴斯德在否定“自生说”的基础上,认为一切发酵作用都可能和微生物的生长繁殖有关。经不断地努力,巴斯德终于分离到了许多引起发酵的微生物,并证实酒精发酵是由酵母菌引起的。此外,巴斯德还发现乳酸发酵、醋酸发酵和丁酸发酵都是不同细菌所引起的,为进一步研究微生物的生理生化奠定了基础。

(4) 其他贡献

一直沿用至今天的巴斯德消毒法(Pasteurization, 60~65℃作短时间加热处理,杀死有害微生物的一种消毒法)和家蚕软化病问题的解决也是巴斯德的重要贡献,他不仅在实践上解决了当时法国酒变质和家蚕软化病的实际问题,而且也推动了微生物病原学说发展,并深刻影响医学的发展。

2. 柯赫

柯赫(图 1-6)是著名的细菌学家,由于他曾经是一名医生,因此对病原细菌的研究作出了突出的贡献:①具体证实了炭疽病菌是炭疽病的病原菌;②发现了肺结核病的病原菌,这是当时死



亡率极高的传染性疾病,因此柯赫获得了诺贝尔奖;③提出了证明某种微生物是否为某种疾病病原体(pathogen)的基本原则—柯赫原则,即包括:在每一病例中都出现这种微生物;要从寄主分离出这样的微生物并在培养基中培养出来;用这种微生物的纯培养接种健康而敏感的寄主,同样的疾病会重复发生;从试验发病的寄主中能再度分离培养出这种微生物来。由于柯赫在病原菌研究方面的开创性工作,自19世纪70年代至20世纪20年代成了发现病原菌的黄金时代,所发现的各种病原微生物不下百余种,其中还包括植物病原细菌。

柯赫除了在病原菌研究方面的伟大成就外,在微生物基本操作技术方面的贡献更是为微生物学的发展奠定了技术基础,这些技术包括:①用固体培养基分离纯化微生物的技术,这是进行微生物学研究的基本前体,这项技术一直沿用至今;②配制培养基,也是当今微生物学研究的基本技术之一。这两项技术不仅是具有微生物学研究特色的重要技术,而且也为当今动植物细胞的培养作出了十分重要的贡献。

巴斯德和柯赫的杰出工作,使微生物学作为一门独立的学科开始形成,并出现以他们为代表而建立的各分支学科,例如细菌学(巴斯德、柯赫等)、消毒外科技术(J. Lister),免疫学(巴斯德、Metchnikoff、Behring、Ehrlich等)、土壤微生物学(Beijerinck Winogradsky等)、病毒学(IVanowsky、Behring、Ehrlich等)、植物病理学和真菌学(Bary、Berkeley等)、酿造学(Hensen、Jorgensen等)以及化学治疗法(Ehrlich等)等。微生物学的研究内容日趋丰富,使微生物学发展更加迅速。



图 1-6 柯赫(Robert Koch, 1843—1910)

四、20 世纪的微生物学

19世纪中期到20世纪初,微生物研究作为一门独立的学科已经形成,并进行着自身的发展。但在20世纪早期还未与生物学的主流相汇合。当时大多数生物学家的研究兴趣是有关高等动植物细胞的结构和功能、生态学、繁殖和发育、遗传以及进化等;而微生物学家更关心的是感染疾病的因子、免疫、寻找新的化学治疗药物以及微生物代谢等。到了20世纪40年代,随着生物学的发展,许多生物学难以解决的理论和技术问题十分突出,特别是遗传学上的争论问题,使得微生物这样一种简单而又具完整生命活动的小生物成了生物学研究的“明星”,微生物学很快与生物学主流汇合,并被推到了整个生命科学发展的前沿,获得了迅速的发展,在生命科学的发展中作出了巨大的贡献。

1. 多学科交叉促进微生物学全面发展

微生物学走出了独自发展,以应用为主的狭窄研究范围,与生物学发展的主流汇合、交叉,获得全面、深入的发展。而首先与之汇合的是遗传学、生物化学。1941年Beadle和Tatum用粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)分离出一系列生化突变株,将遗传学和生物化学紧密结合起来,不仅促进微生物学本身向纵深发展,形成了新的基础研究学科—微生物遗传学和微生物生理学,而且也推动了分子遗传学的形成。与此同时,微生物的其他分支学科也得到迅速发展,如



细菌学、真菌学、病毒学、微生物分类学、工业微生物学、土壤微生物学、植物病理学、医学微生物学及免疫学等。还有 60 年代发展起来的微生物生态学、环境微生物学等,这些都是原来独立的学科相互交叉、渗透而形成的。微生物的一系列生命活动规律,包括遗传变异、细胞结构和功能、微生物的酶及生理生化等的研究逐渐发展起来,到了 20 世纪 50 年代微生物学全面进入分子研究水平,并进一步与迅速发展起来的分子生物学理论和技术以及其他学科汇合,使微生物学发展成为生命科学领域内一门发展最快,影响最大、体现生命科学发展主流的前沿科学。

微生物学应用性广泛,进入 20 世纪,特别是 40 年代后,微生物的应用也获得重大进展。抗生素的生产已成为现代化的大企业;微生物酶制剂已广泛用于农、工、医各方面;微生物的其他产物,如有机酸、氨基酸、维生素、核苷酸等,都利用微生物进行大量生产。微生物的利用已形成一项新兴的发酵工业,并逐步朝着人为有效控制的方面发展。80 年代初,在基因工程的带动下,传统的微生物发酵工业已从多方面发生了质的变化,成为现代生物技术的重要组成部分。

2. 微生物学推动生命科学的发展

(1) 促进许多重大理论问题的突破

生命科学由整体或细胞研究水平进入分子水平,取决于许多重大理论问题的突破,其中微生物学起了重要甚至关键的作用,特别是对分子遗传学和分子生物学的影响最大。我们知道“突变”是遗传学研究的重要手段,但是只有在 1941 年 Beadle 和 Tatum 用粗糙脉孢菌进行的突变实验,才使基因和酶的关系得以阐明,提出了“一个基因一个酶”的假说。有关突变的性质和来源(自发突变)也是由于 S. Luria 和 M. Delbruck(1943)利用细菌进行的突变所证实。长期争论而不能得到解决的“遗传物质的基础是什么?”的重大理论问题,只有在以微生物为材料进行研究所获得的结果才无可辩驳地证实:核酸是遗传信息的携带者,是遗传物质的基础。这一重大突破也为 1953 年 Watson—Crick DNA 双螺旋结构的提出起了战略性的决定作用,从而奠定了分子遗传学的基础。此外,基因的概念—遗传学发展的核心,也与微生物学的研究息息相关,例如:著名的“断裂基因”(split gene)的发现来源于对病毒的研究;所谓“跳跃基因”(可转座因子)(jumping gene)的发现虽然首先来源于 Mc Clintock 对玉米的研究,但最终得到证实和公认是由于对大肠杆菌的研究。基因结构的精细分析、重叠基因的发现,最先完成的基因组测序等都与微生物学发展密不可分。

以研究生命物质的物理、化学结构及其功能为己任的分子生物学,如果没有遗传密码的阐明,不知道基因表达调控的机制,那将是“无源之水,无本之木”,正是微生物学的研究和发为之奠定了基础。60 年代 Nirenberg 等人通过研究大肠杆菌无细胞蛋白质合成体系及多聚尿苷酶,发现了苯丙氨酸的遗传密码,继而完成了全部密码的破译,为人类从分子水平上研究生命现象开辟了新的途径。Jacob 等人通过研究大肠杆菌诱导酶的形成机制而提出的操纵子(operon)学说,阐明了基因表达调控的机制,为分子生物学的形成奠定了基础。此外,DNA、RNA、蛋白质的合成机制以及遗传信息传递的“中心法则”的提出等都涉及到微生物学家所作出的卓越贡献。

(2) 对生命科学研究技术的贡献

微生物学的建立虽然比高等动、植物学晚,但发展却十分迅速。动、植物由于结构的复杂性及技术方法的限制而相对发展缓慢,特别是人类遗传学的限制更大。20 世纪中后期由于微生



物学的消毒灭菌,分离培养等技术的渗透和应用的拓宽及发展,动、植物细胞也可以像微生物一样在平板或三角瓶中培养,可以在显微镜下进行分离,甚至可以像微生物的工业发酵一样,在发酵罐中进行生产。今天的转基因动物、转基因植物的转化技术也源于微生物转化的理论和技术。

70年代,由于微生物学的许多重大发现,包括质粒载体,限制性内切酶,连接酶,反转录酶等,80年代发展起来的微生物生态学、环境微生物学等,这些都是原来独立的学科相互交叉、渗透而形成的。微生物的一系列生命活动规律,包括遗传变异、细胞结构和功能、微生物的酶及生理生化等的研究逐渐发展起来,到了20世纪50年代微生物学全面进入分子研究水平,并进一步与迅速发展起来的分子生物学理论和技术以及其他学科汇合,使微生物学发展成为生命科学领域内一门发展最快,影响最大、体现生命科学发展主流的前沿科学。

70年代,由于微生物学的许多重大发现,包括质粒载体,限制性内切酶,连接酶,反转录酶等,才导致了DNA重组技术和遗传工程的出现,使整个生命科学翻开了新的一页,使人类定向改变生物、根治疾病、美化环境的梦想将成为现实。

(3)微生物与“人类基因组计划”

“人类基因组计划”的全称为“人类基因组作图和测序计划”。这是一项当今世界耗资巨大(30亿美元),其深远意义堪与阿波罗登月计划媲美的最大的科学工程。要完成如此浩大的工程,除了需要多学科(数、理、化、信息、计算机等)的交叉外,模式生物的先行至关重要,因为模式生物一般背景清楚,基因组小,便于测定和分析,可从中获取经验改进技术方法。而这些模式生物除极少数(如果蝇、线虫、拟南芥等)为非微生物外,绝大部分为细菌和酵母。

测序工作只是“计划”的一部分,紧接着是更巨大的工程——后基因组研究,其主要任务是认识基因与基因组的功能。目前微生物基因组序列分析表明,在某些微生物中存在一些与人类某些遗传疾病相类似的基因,因此可以利用这些细菌的模型来研究这些基因的功能,为认识庞大的人类基因组及其功能提供简便的模式。

总之,20世纪的微生物学一方面在与其他学科的交叉和相互促进中,获得令人瞩目的发展,另一方面也为整个生命科学的发展作出了巨大的贡献,并在生命科学的发展中占有重要的地位。

(4)我国微生物学的发展

我国是具有5000年文明史的古国,我国劳动人民对微生物的认识和利用是最早的几个国家之一。特别是在制酒、酱油、醋等微生物产品以及用种痘、麦曲等进行防病治疗等方面具有卓越的贡献。但微生物作为一门科学进行研究,我国起步较晚。中国学者开始从事微生物学研究在20世纪之初。那时一批到西方留学的中国科学家开始较系统地介绍微生物学知识,从事微生物学研究。1910—1921年间伍连德用近代微生物学知识对鼠疫和霍乱病原的探索和防治,在中国最早建立起卫生防疫机构,培养了第一支预防鼠疫的专业队伍,在当时这项工作居于国际先进地位。20—30年代,我国学者开始对医学微生物学有了较多的实验研究,其中汤飞凡等在医学细菌学、病毒学和免疫学等方面的某些领域做出过较高水平的成绩,例如沙眼病原体的分离和确证是具有国际领先水平的开创性工作。30年代开始在高等学校设立酿造科目和农产制造系,以酿造为主要课程,创建了一批与应用微生物学有关的研究机构。魏岩寿等在工业微



生物方面做出了开拓性工作,戴芳澜和俞大绂等是我国真菌学和植物病理学的奠基人,陈华癸和张宪武等对根瘤菌固氮作用的研究开创了我国农业微生物学,高尚荫创建了我国病毒学的基础理论研究和第一个微生物学专业。但总的说来,在新中国成立之前,我国微生物学的力量较弱且分散,未形成我国自己的队伍和研究体系,也没有我国自己的现代微生物工业。

新中国成立以后,微生物学在我国有了划时代的发展,一批主要进行微生物学研究的单位建立起来了,一些重点大学创设了微生物学专业,培养了一大批微生物学人才。现代化的发酵工业、抗生素工业、生物农药和菌肥工作已经形成一定规模,特别是改革开放以来,我国微生物学无论在应用和基础理论研究方面都取得了重要的成果,例如我国抗生素的总产量已跃居世界首位,我国的两步法生产维生素 C 的技术居世界先进水平。近年来,我国学者瞄准世界微生物学科发展前沿,进行微生物基因组学的研究,现已完成痘苗病毒天坛株的全基因组测序,最近又对我国的辛德毕斯毒株(变异株)进行了全基因组测序。1999 年又启动了从我国云南省腾冲地区热海沸泉中分离得到的泉生热袍菌全基因组测序,目前取得可喜进展。我国微生物学进入了一个全面发展的新时期。但从总体来说,我国的微生物学发展水平除个别领域或研究课题达到国际先进水平,为国外同行承认外,绝大多数领域与国外先进水平相比,尚有相当大的差距。因此如何发挥我国传统应用微生物技术的优势,紧跟国际发展前沿,赶超世界先进水平,还需作出艰苦的努力。

五、21 世纪微生物学展望

20 世纪的微生物学走过了辉煌的历程,面对新的 21 世纪展望她的未来,将是一幅更加绚丽多彩的立体画卷,在这画卷上也可能会出现我们目前预想不到的闪光点。因此,我们在这里只能勾勒一下 21 世纪微生物学发展的趋势。

1. 微生物基因组学研究将全面展开

所谓“基因组学”是 1986 年由 Thomas Roderick 首创。至今已发展为一专门的学科领域,包括全基因组的序列分析、功能分析和比较分析,是结构、功能和进化基因组学交织的学科。如果说 20 世纪刚刚兴起的微生物基因组研究是给“长跑”中的“人类基因组计划”助一臂之力的话,那么 21 世纪微生物基因组学将在继续作为“人类基因组计划”的主要模式生物,在后基因组研究(认识基因与基因组功能)中发挥不可取代的作用外,会进一步扩大到其他微生物,特别是与工农业及与环境、资源、疾病有关的重要微生物。目前已经完成基因组测序的微生物主要是模式微生物、特殊微生物及医用微生物。而随着基因组作图测序方法的不断进步与完善,基因组研究将成为一种常规的研究方法,为从本质上认识微生物自身以及利用和改造微生物将产生质的飞跃,并将带动分子微生物学等基础研究学科的发展。

2. 以了解微生物之间、微生物与其他生物、微生物与环境的相互作用为研究内容的微生物生态学、环境微生物学、细胞微生物学等,将在基因组信息的基础上获得长足发展,为人类的生存和健康发挥积极的作用。

3. 微生物生命现象的特性和共性将更加受到重视

微生物生命现象的特性和共性可概括为:①微生物具有其他生物不具备的生物学特性,例如可在其他生物无法生存的极端环境下生存和繁殖,具有其他生物不具备的代谢途径和功能,



如化能营养、厌氧生活、生物固氮和不释放氧的光合作用等,反映了微生物极其丰富的多样性;②微生物具有其他生物共有的基本生物学特性:生长、繁殖、代谢、共用一套遗传密码等,甚至其基因组上含有与高等生物同源的基因,充分反映了生物高度的统一性;③微生物个体小、结构简单、生长周期短,易大量培养,易变异,重复性强等优势,十分易于操作。微生物具备生命现象的特性和共性,将是 21 世纪进一步解决生物学重大理论问题,如生命起源与进化、物质运动的基本规律等,和实际应用问题,如新的微生物资源的开发利用,能源、粮食等的最理想的材料。

4. 与其他学科实现更广泛的交叉,获得新的发展

20 世纪微生物学、生物化学和遗传学的交叉形成了分子生物学;而迈向 21 世纪的微生物基因组学则是数、理、化、信息、计算机等多种学科交叉的结果;随着各学科的迅速发展和人类社会的交际需要,各学科之间的交叉和渗透将是必然的发展趋势。21 世纪的微生物学将进一步向地质、海洋、大气、太空渗透,使更多的边缘学科得到发展,如微生物地球化学、海洋微生物学、大气微生物学、太空(或宇宙)微生物学以及极端环境微生物学等。微生物与能源、信息、材料、计算机的结合也将开辟新的研究和应用领域。此外,微生物学的研究技术和方法也将会在吸收其他学科的先进技术的基础上,向自动化、定向化和定量化发展。

5. 微生物产业将呈现全新的局面

微生物从发现到现在的短短的 300 年间,特别是 20 世纪中期以后,已在人类的生活和生产实践中得到广泛的应用,并形成了继动、植物两大生物产业后的第三大产业。这是以微生物的代谢产物和菌体本身为生产对象的生物产业,所用的微生物主要是从自然界筛选或选育的自然菌种。21 世纪,微生物产业除了更广泛地利用和挖掘不同生境(包括极端环境)的自然资源微生物外,基因工程菌将形成一批强大的工业生产菌,生产外源基因表达的产物,特别是药物的生产将出现前所未有的新局面,结合基因组学在药物设计上的新策略,将出现以核酸(DNA、RNA)为目标的药物(如反义寡核苷酸、肽核酸、DNA 疫苗等)的大量生产,人类将完全征服癌症、艾滋病以及其他疾病。此外,微生物工业将生产各种各样的新产品,例如降解性塑料、DNA 芯片、生物能源等,在 21 世纪将出现一批崭新的微生物工业,为全世界的经济和社会发展作出更大贡献。



思考题

1. 用具体事例说明人类与微生物的关系。
2. 为什么微生物学比动、植物学起步晚,但却发展迅速? 并成为生命科学研究的“明星”?
3. 简述微生物学在生命科学发展中的地位,并描绘其前景。
4. 为什么说巴斯德和柯赫是微生物学的奠基人?



第一部分 细菌学

第二章 细菌的形态与结构

细菌(bacterium)是一类具有细胞壁和核质的单细胞微生物,在分类上属于原核生物(Prokaryote)界中的原核细胞型微生物。细菌有相对恒定的形态与结构,可用光学显微镜或电子显微镜观察与识别。了解细菌的形态和结构,对研究细菌的生理活动、致病性、免疫性,以及鉴别细菌,诊断和防治细菌性感染具有重要的意义。

第一节 细菌大小与形态

一、细菌的大小

细菌个体微小,常以微米(μm)为测量单位。观察细菌须用显微镜放大数百倍至数千倍才能看到。不同种类的细菌大小不一,同一种细菌也可因菌龄和环境因素的影响而有差异。

二、细菌的形态

细菌按其外形,分为球菌、杆菌和螺形菌三大类

(一)球菌

多数球菌(coccus)直径为 $1\mu\text{m}$ 左右,呈球形或近似球形(豆形、肾形、矛头型等)。根据球菌繁殖时分裂平面不同和分裂后菌体间相互粘附程度及排列方式不同,可分为:①双球菌(diplococcus):在一个平面上分裂后两个菌体成双排列,如脑膜炎奈瑟菌、肺炎球菌;②链球菌(streptococcus):在一个平面上分裂后多个菌体粘连成链状,如溶血性链球菌;③葡萄球菌(staphylococcus):在多个不规则的平面上分裂,分裂后菌体粘附在一起呈葡萄串状,如金黄色葡萄球菌;④四联球菌(tetrad):在两个相互垂直的平面上分裂为四个菌体排列成正方形,如四联加夫基球菌。⑤八叠球菌(sarcina):在三个相互垂直平面上分裂,成八个菌体排列在一起,如藤黄八叠球菌。在显微镜下观察细菌,除上述典型的排列特征外,还可有分散、单个的菌体存在。

(二)杆菌

杆菌(bacillus)呈杆状。各种杆菌的大小、长短和粗细差异较大,大杆菌如炭疽芽胞杆菌长 $3\sim 10\mu\text{m}$,宽 $1.0\sim 1.5\mu\text{m}$;中等大小杆菌如大肠埃希菌长 $2\sim 3\mu\text{m}$,宽 $0.5\sim 0.7\mu\text{m}$;小杆菌如布鲁菌长仅 $0.6\sim 1.5\mu\text{m}$,宽 $0.5\sim 0.7\mu\text{m}$;根据杆菌形态上差异,可把杆菌分为:①棒状杆菌,因其末端膨大成棒状;②球杆菌,菌体很短,近于椭圆形;③分枝杆菌,菌体呈分枝生长趋势。多数



杆菌分散存在,有的呈链状排列,称为链杆菌。杆菌菌体两端多呈钝圆形,少数两端平齐(如炭疽芽胞杆菌)或两端尖细(如梭杆菌)。

(三)螺形菌

螺形菌(spiral bacterium)菌体弯曲,可分为三类:一是弧菌(vibrio),菌体长 $2\sim 3\mu\text{m}$,只有一个弯曲,呈弧形或逗点状,如霍乱弧菌。二是螺菌(spirillum),菌体较长, $3\sim 6\mu\text{m}$,有数个弯曲,较僵硬,如鼠咬热螺菌。三是螺杆菌(helicobacterium),菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形,如幽门螺杆菌。

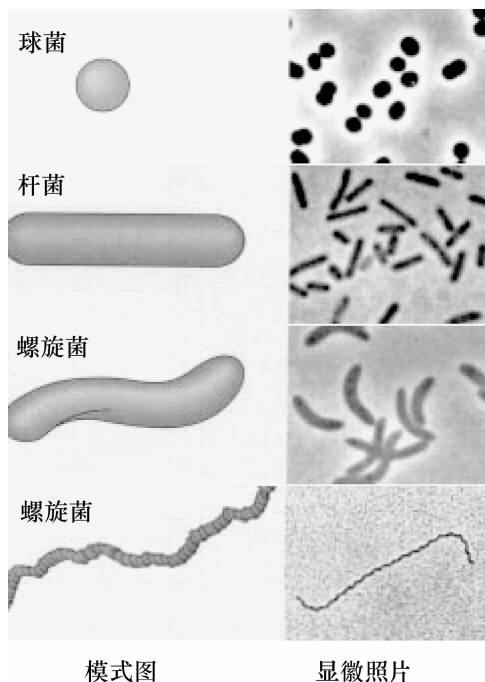


图 2-1 细菌的形态

细菌的形态易受温度、pH、培养基成分和培养时间等环境因素影响。只有在适宜的生长条件下细菌形态才比较典型。在不利环境下,如培养温度、酸碱度有改变,气体条件不适宜,或生存环境中含有药物、抗生素等,常出现不规则的多形性(polymorphism),称为衰退型(involution form),临床实验室诊断应慎重。

第二节 细菌的结构

细菌的结构分为基本结构和特殊结构。基本结构是所有细菌都具有的结构,如细胞壁、细胞膜、细胞质、核质、核蛋白体、质粒等;特殊结构仅某些细菌具有,如荚膜、鞭毛、菌毛、芽胞等。



一、细菌的基本结构

(一) 细胞壁

细胞壁(cell wall)位于细菌细胞最外层,紧贴在细胞膜外,是一种无色透明,坚韧而有弹性的膜状结构,因其折光性强在普通显微镜下看不见。细胞壁厚度因菌种不同而异,平均为 15~30nm,占菌体干重的 10%~25%。

1. 细胞壁的功能 细胞壁的主要功能是维持细菌固有形态,并保护细菌抵抗低渗环境。细胞壁能使细菌承受胞内强大的渗透压(506625~2533125Pa,相当于 5~25 个大气压)而不致破裂和变形,并在低渗环境中也能生存。细胞壁上有许多微孔,水和直径小于 1nm 的可溶性分子能自由通过,与细胞膜共同参与菌体内外物质交换。细胞壁上带有多种抗原决定基,决定菌体的抗原性。

2. 主要成分 细胞壁化学组成较复杂,用革兰染色法可将细菌分为革兰阳性菌和革兰阴性菌两大类,其细胞壁组成有较大差异。

(1) 革兰阳性菌细胞壁 是由肽聚糖和穿插于其内的磷壁酸组成。

革兰阳性菌肽聚糖(peptidoglycan)—聚糖骨架、
四肽侧链、五肽交联桥(三维立体结构)

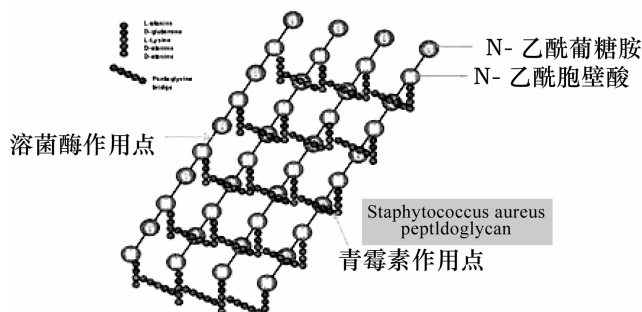


图 2-2 金黄色葡萄球菌(G^+)的细胞壁的肽聚糖

肽聚糖(peptidoglycan)又名粘肽、糖肽或胞壁质(murein),为原核细胞特有,也是革兰阳性菌和革兰阴性菌共有的成分。革兰阳性菌的肽聚糖由三部分组成:聚糖骨架、四肽侧链、五肽交联桥。①聚糖骨架:各种细菌细胞壁的聚糖骨架基本相同,由一个 N-乙酰葡萄糖胺通过 β -1,4-糖苷键与另一个 N-乙酰胞壁酸交替间隔相连,后者为原核生物所特有的己糖。这一双糖单位中的 β -1,4-糖苷键很容易被一种广泛分布于卵清、人的泪液和鼻涕以及部分细菌和噬菌体中的溶菌酶(lysozyme)所水解(水解位点在 N-乙酰胞壁酸的 1 碳和 N-乙酰葡萄糖胺的 4 碳间),从而引起细菌因肽聚糖细胞壁的“散架”而死亡。②四肽尾或四肽侧链(tetrapeptide side chain):四肽侧链的氨基酸组成和联结方式随菌不同而异,是由四个氨基酸分子按 L 型与 D 型交替方式连接而成。在金黄色葡萄球菌中,接在 N-乙酰胞壁酸上的四肽尾为 L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala,其中两种 D 型氨基酸在细菌细胞壁之外很少出现。③五肽交联桥或肽间桥(peptide interbridge):在金黄色葡萄球菌中,肽桥为甘氨酸五肽,四肽侧链连接在聚糖骨架胞壁酸上,第三位的 L-赖氨酸通过一个由五个甘氨酸组成的交联桥连接到相邻聚糖骨架



四肽侧链第 4 位的 D-丙氨酸上。它起着连接前后两个四肽尾分子的“桥梁”作用。目前所知的肽聚糖已超过 100 种,在这一“肽聚糖的多样性”中,主要的变化发生在肽桥上。三部分相连,共同构成革兰阳性菌细胞壁机械强度十分坚韧的三维立体框架结构。革兰阳性菌细胞壁肽聚糖可多达 50 层。

磷壁酸(teichoic acid) 是革兰阳性菌细胞壁特有成分,穿插于肽聚糖层中。按其结合部位分为壁磷壁酸和膜磷壁酸。壁磷壁酸的一端与细胞壁中肽聚糖的胞壁酸结合,另一端游离于细胞壁外;膜磷壁酸又称脂磷壁酸(LTA),一端与细胞膜外层糖脂结合,另一端向外穿透肽聚糖层也游离于细胞壁外。磷壁酸具有粘附宿主细胞的功能,与细菌的致病性有关。磷壁酸抗原性很强,是革兰阳性菌重要的表面抗原。磷壁酸的主要生理功能为:①其磷酸分子上较多的负电

革兰阳性菌细胞壁特殊组分——磷壁酸 (teichoic acid)

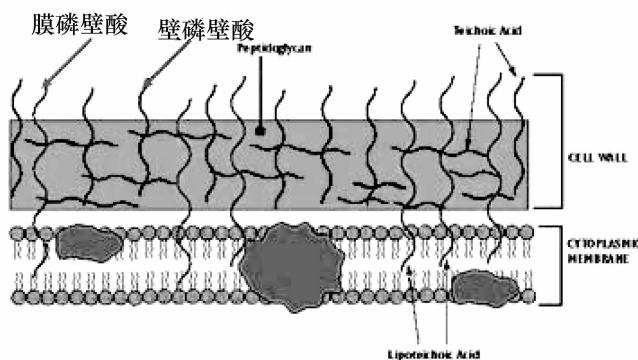


图 2-3 金黄色葡萄球菌(G⁺)的细胞壁的磷壁酸
革兰阴性菌肽聚糖 (peptidoglycan) ——聚糖骨架、四肽侧链 (二维平面结构)

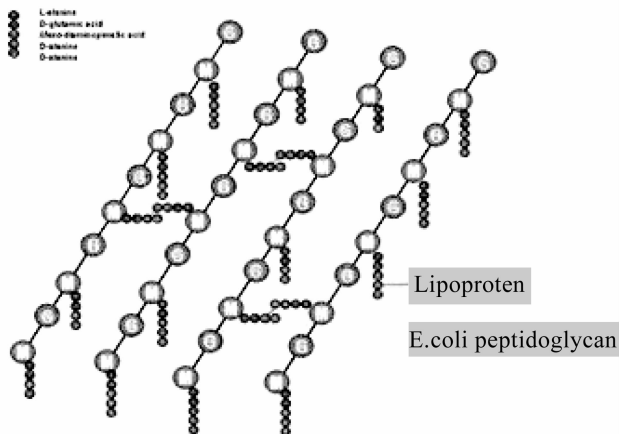


图 2-4 大肠杆菌(G⁻)的细胞壁

荷可提高细胞周围 Mg²⁺ 的浓度,进入细胞后就可保证细胞膜上一些需 Mg²⁺ 的合成酶提高活性;②贮藏磷元素;③增强某些致病菌如 A 族链球菌 (Streptococcus) 对宿主细胞的粘连、避免被白细胞吞噬以及抗补体的作用;④赋予革兰氏阳性细菌以特异的表面抗原;⑤可作为噬菌体的特异性吸附受体;⑥能调节细胞内自溶素 (autolysin) 的活力,借以防止细胞因自溶而死亡,因



为在细胞正常分裂时,自溶素可使旧壁适度水解并促使新壁不断插入,而当其活力过强时,则细菌会因细胞壁迅速水解而死亡。

其他成分 某些革兰阳性菌细胞壁表面有一些特殊的表面蛋白,如 A 群链球菌的 M 蛋白,金黄色葡萄球菌的 A 蛋白等与致病性和抗原性相关。

(2)革兰阴性菌细胞壁 结构较复杂,由肽聚糖和外膜组成,外膜是革兰阴性菌特有成分。

肽聚糖 革兰阴性菌含有 1~2 层的肽聚糖结构,肽聚糖仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成。如大肠埃希菌的聚糖骨架组成同其他细菌,但四肽侧链中,第三位氨基酸是二氨基庚二酸(DAP),DAP 直接与相邻四肽侧链第 4 位的 D-丙氨酸相连,没有五肽交联桥连接,因而只形成二维结构,为单层平面较疏松的网络;故对机械强度的抵抗力较革兰氏阳性菌弱。其结构单体与上述革兰氏阳性菌基本相同,差别仅在于:①四肽尾的第 3 个氨基酸不是 L-Lys,而是被一种只有在原核微生物细胞壁上才有的内消旋二氨基庚二酸(m-DAP)所代替;②没有特殊的肽桥,其前后两个单体间的连接仅通过甲四肽尾的第 4 个氨基酸-D-Ala 的羧基与乙四肽尾的第 3 个氨基酸-m-DAP 的氨基直接相连,因而只形成较为疏稀、机械强度较差的肽聚糖网套。

外膜 位于细胞壁肽聚糖层的外侧,包括脂蛋白(lipoprotein)、脂质双层和脂多糖三部分。脂蛋白中脂质部分与外膜的脂质双层连结,蛋白部分连结在肽聚糖的四肽侧链上。脂质双层的结构类似细胞膜,中间镶嵌有一些特殊蛋白质,有其重要功能,如允许水溶性分子通过,参与特殊物质的扩散过程,做为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。由脂质双层向细胞外表伸出的是脂多糖(lipopolysaccharide,LPS),是细菌内毒素的主要成分。脂多糖由三部分组成:一是脂质 A,是内毒素的毒性部分,无种属特异性,不同种属细菌的脂质 A 骨架基本一致,因此由不同细菌产生的内毒素引起的毒性作用均相似;二是核心多糖,位于脂质 A 外侧,具有属的特异性,同一属细菌的核心多糖相同;三是特异多糖,在脂多糖最外层,由若干个寡糖重复单位构成的多糖链,是革兰阴性菌的菌体抗原(O 抗原),具有种特异性。

革兰阴性菌细胞壁特殊组分——外膜(outer membrane)

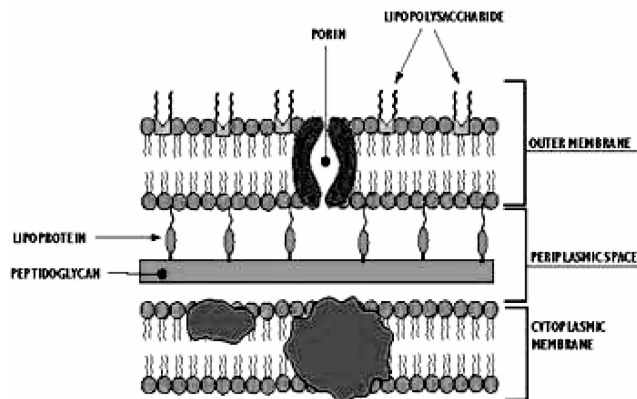


图 2-5 革兰阴性细菌(G^-)的外膜

革兰阳性菌和革兰阴性菌细胞壁结构的主要区别见(表 2-1)。



表 2-1 革兰阳性菌和革兰阴性菌细胞壁结构比较

细胞壁	革兰阳性菌	革兰阴性菌
坚韧度	较坚韧	较疏松
厚度	20~80nm	10~15nm
肽聚糖层数	可多达 50 层	1~2 层
肽聚糖含量(50%~80%	占胞壁干重 5%~20%
糖类含量	约 45%	15%~20%
磷壁酸	有	无
外膜	无	有
脂类含量	1%~4%	11%~22%

了解细菌细胞壁结构有其重要意义:肽聚糖是细胞壁的主要成分,医学上可选择相应的药物破坏肽聚糖的结构或抑制其合成,通过损伤细胞壁而杀伤细菌。如溶菌酶能切断肽聚糖中 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸间的 β -1,4-糖苷键连结,破坏聚糖骨架,引起细菌裂解。青霉素可通过干扰四肽侧链上 D-丙氨酸与五肽桥之间的连结,使细菌不能合成完整的肽聚糖,而杀伤细菌。革兰阴性菌由于肽聚糖含量少,且有外膜保护作用,溶菌酶和青霉素对其作用甚微;革兰阳性菌由于肽聚糖含量多,对溶菌酶和青霉素作用敏感。人与动物的细胞无细胞壁故这些药物或酶对其无影响。虽然细胞壁是原核生物的最基本构造,但在自然界长期进化和在实验室菌种的自发突变中都会产生缺细胞壁的种类;此外,在实验室中,还可用人为的方法抑制新生细胞壁的合成或对现成细胞壁进行酶解而获得缺壁细菌。现把四类缺壁细菌归纳如下:

① L 型细菌

当细菌细胞壁受到某种理化因素或药物作用时,使细胞壁损伤而成为细胞壁缺陷的细菌,细胞壁缺陷的细菌能够生长和分裂者称为 L 型细菌。1935 年,在英国李斯德预防研究所中发现一种由自发突变而形成的细胞壁缺损细菌—念珠状链杆菌,它的细胞膨大,对渗透敏感,在固体培养基上形成“油煎蛋”似的小菌落。由于李斯德(Lister)研究所的第一字母是“L”,故称 L 型细菌。L 型细菌常在使用作用于细胞壁的抗菌药物(如青霉素、头孢霉素等)治疗过程中发生,L 型细菌有许多重要特征(见细菌变异)。

② 原生质体

原生质体(protoplast)是指在人为条件下,用溶菌酶除尽原有细胞壁或用青霉素抑制新生细胞壁合成后,所得到的仅有一层细胞膜包裹着的圆球状渗透敏感细胞,一般由革兰氏阳性细菌形成。

③ 球状体

球状体(sphaeroplast)又称原生质球,指还残留着部分细胞壁,尤其是革兰氏阴性细菌外膜的原生质体。

上述原生质体和球状体的共同特点是:无完整的细胞壁,细胞呈球状,对渗透压极其敏感。革兰氏染色阴性,即使有鞭毛也无法运动,对相应噬菌体不敏感,细胞不能分裂,等等。当然,如在形成原生质体或球状体以前已有噬菌体侵入,则它仍能正常复制、增殖和裂解;同样,如在形



成原生质体前正在形成芽孢,则该芽孢也仍能正常形成。原生质体或球状体比正常有细胞壁的细菌更易导入外源遗传物质,故是研究遗传规律和进行原生质体育种的良好实验材料。

④支原体

支原体(Mycoplasma)是在长期进化过程中形成的、适应自然生活条件的无细胞壁的原核生物。因它的细胞膜中含有一般原核生物所没有的甾醇,所以即使缺乏细胞壁,其细胞膜仍有较高的机械强度。

(二)细胞膜

细胞膜(cell membrane)是位于细胞壁内侧,紧包在细胞质外面的一层柔软有弹性、具有半渗透性的生物膜。其基本结构是脂质双层中间镶嵌有多种蛋白质,这些蛋白质多为具有特殊作用的酶和载体蛋白。膜不含胆固醇是与真核细胞的区别点。

细胞膜的主要功能:①选择性渗透和物质转运作用。与细胞壁共同完成菌体内外的物质交换;②生物合成作用。细胞膜上有多种物质合成酶,参与生物合成,如肽聚糖、磷壁酸、磷脂、脂多糖等均在细胞膜上合成;③呼吸作用。细胞膜上有多种呼吸酶,可进行转运电子及氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)作用,参与细胞的呼吸过程,与能量产生、储存和利用有关。④形成中介体。细胞膜向胞浆内陷折叠成囊状物,称为中介体(mesosome),其功能类似真核细胞的线粒体(mitochondri,单数 mitochondrion),参与细菌呼吸、生物合成及分裂繁殖,多见于革兰阳性菌。

(三)细胞质

细胞质(cytoplasm)是无色透明胶状物,基本成分是水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖和无机盐。细胞质中的核酸主要是RNA,易被碱性染料着色。细胞质内含有多种酶,故为新陈代谢的主要场所。细胞质中尚有质粒、核蛋白体、胞质颗粒等超微结构。

(1)质粒(plasmid) 是染色体外的遗传物质,为闭合环状的双链DNA分子。质粒并非细菌生长所必须,但控制细菌某些特定的遗传性状,如菌毛、细菌素、毒素和耐药性的产生等。质粒具有自我复制、传给子代、丢失及在细菌之间转移等特性,与细菌的遗传变异有关(见细菌变异)。

(2)核糖体(ribosome) 是游离于细胞质中的微小颗粒,数量可达数万个。化学成分为RNA和蛋白质。当mRNA将核糖体串成多聚核糖体时,即成为合成蛋白质的场所。细菌核糖体沉降系数为70s,由50s和30s两个亚基组成;真核细胞的核糖体为80s,由60s和40s两个亚基组成。链霉素能与细菌核糖体上的30s小亚基结合,红霉素能与50s大亚基结合,从而干扰蛋白质的合成而导致细菌的死亡,但对人体细胞则无影响。

(3)胞质颗粒(cytoplasmic granules) 多数是细菌储存的营养物质,包括多糖、脂类和磷酸盐等。胞质颗粒并非细菌恒定结构,常随菌种、菌龄及环境而变化。由RNA和多偏磷酸盐为主要成分的胞质颗粒,嗜碱性强,用美兰染色时着色较深呈紫色,用特殊染色法可染成与菌体颜色不同的颗粒,称为异染颗粒(metachromatic granules)。常见白喉棒状杆菌,可作为细菌鉴别依据。

(4)核质(nuclear material) 细菌的遗传物质称为核质、拟核或核区,没有核膜、核仁和有



丝分裂器。核质是由一条双链环状的 DNA 分子反复回旋盘绕成松散的网状结构,每个菌体中有 1~2 团,呈球形、棒状或哑铃形。核质具有与细胞核相同的功能,控制细菌的生命活动,是细菌遗传变异的物质基础。

二、细菌的特殊结构

(一)荚膜

某些细菌细胞壁外包绕一层粘液性物质,当厚度 $>0.2\mu\text{m}$,边界明显,普通光学显微镜下可见时称为荚膜(capsule)。当厚度 $<0.2\mu\text{m}$,光镜下不能直接看到,称为微荚膜,其作用和荚膜相似。当粘液性多聚物形成一层纤维状松散的网格,延伸出细菌外表面,则称糖萼,易从细胞上整个分开。荚膜对碱性染料亲和力低,用普通染色法不易着色,显微镜下仅能看到在菌体周围有一狭窄未着色的透明圈,若用特殊染色法或用墨汁作负染色,可清楚看到与周围界限分明的荚膜。

荚膜与糖萼的形成与细菌所处的环境条件有关,一般在动物体内或营养丰富的(含有血清或糖)培养基中容易形成,在普通培养基上则易消失。荚膜的化学成分随细菌种类不同而有差异,多数细菌的荚膜为多糖,如肺炎链球菌;少数细菌的荚膜为多肽,如炭疽芽胞杆菌,个别细菌的荚膜为透明质酸。

荚膜是构成细菌致病力的重要因素之一。它能保护细菌抵抗吞噬细胞的吞噬及消化作用,抗机体有害物质(溶菌酶、补体、抗菌抗体及抗菌药物等)对菌体的损伤,增强细菌的侵袭力。如有荚膜的肺炎链球菌只需几个菌即可杀死 1 只小鼠,当失去荚膜后则需几亿个菌才能杀死 1 只小鼠。



图 2-6 肺炎链球菌荚膜(透射电镜 $\times 42\ 000$)

荚膜和糖萼可粘附于组织细胞或无生命物体表面,形成生物膜,是引起感染的重要因素。荚膜菌株可在各种医疗导管中粘附定植,是医院内感染发生的重要因素。变异链球菌靠糖萼吸附在牙釉质上,利用口腔中的蔗糖产生大量的乳酸,集聚在附着部位,导致牙釉质的破坏,引起龋齿。另外荚膜具有抗原性,不同的细菌荚膜组成不同,抗原性也不同,对细菌的鉴别和分型有重要作用。

(二)鞭毛

某些细菌菌体表面附着有细长呈波状弯曲的丝状物称为鞭毛(flagellum)。鞭毛很细,须用



电子显微镜观察。若用特殊染色法使鞭毛增粗并着色,在普通显微镜下亦能观察到。

根据鞭毛的数目和位置,将鞭毛菌分为:①单毛菌:菌体一端有1根鞭毛,如霍乱弧菌;②双毛菌:菌体两端各有1根鞭毛,如空肠弯曲菌;③丛毛菌:菌体一端或两端有1丛鞭毛,如铜绿假单胞菌;④周毛菌:菌体周身有许多鞭毛,如伤寒沙门菌。

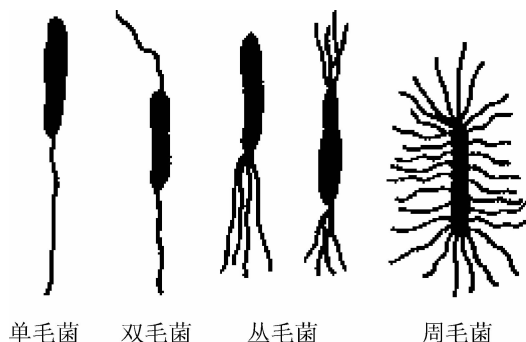


图 2-7 鞭毛

鞭毛的化学成分主要是蛋白质,有很强的抗原性,通常称为 H 抗原,对细菌的分类和鉴定具有一定意义。鞭毛是细菌的运动器官,根据细菌有无鞭毛运动,可作为鉴定细菌的依据。如伤寒沙门菌与志贺菌在形态上无法区别,但伤寒沙门菌具有鞭毛,可以运动,志贺菌不具有鞭毛,无动力。常用悬滴法直接观察活菌的位移运动,也可用培养法检查鞭毛在半固体培养基中的动力。有些细菌(霍乱弧菌、空肠弯曲菌)的鞭毛与细菌的粘附有关,是细菌致病的重要因素。

(三)菌毛

某些细菌菌体表面遍布着比鞭毛更细、更短而直的丝状物,称为菌毛(pilus)。菌毛必须用电子显微镜才能看到。菌毛与细菌运动无关。化学成分主要是蛋白质,具有抗原性。菌毛根据功能不同分两种:

1. 普通菌毛(common pili) 数目可达数百根,遍布细菌的表面。普通菌毛具有粘附性,细菌借此可与呼吸道、消化道或泌尿道粘膜细胞表面的特异性受体结合并在该处定植,进而侵入细胞内。无菌毛的细菌则易随粘膜的纤毛运动、肠蠕动或尿液冲洗而被排出体外。因此普通菌毛与细菌致病力有关,丧失菌毛,致病力亦随之消失。

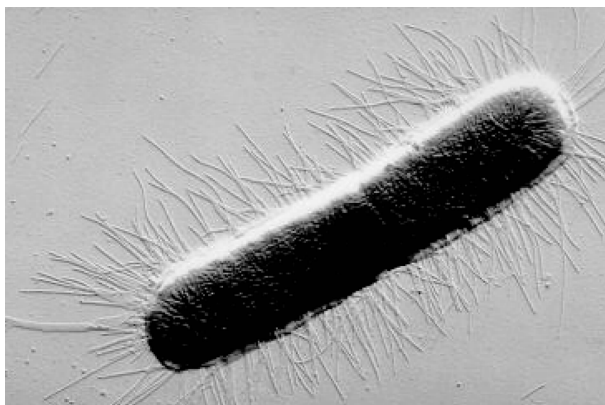


图 2-8 菌毛

2. 性菌毛(sex pili) 比普通菌毛长而粗,仅有1~4根,中空呈管状。性菌毛由一种称为致育因子的质粒(F质粒)编码,故又称F菌毛。

有性菌毛的细菌称为 F^+ 菌或雄性菌,无性菌毛的细菌称为 F^- 菌或雌性菌。雄性菌与雌性菌配对接合时,雄性菌能通过性菌毛将质粒传递给雌性菌,从而使后者获



得雄性菌的某些遗传特性。细菌的耐药性、毒力等均可通过此种方式传递。

(四)芽胞

某些细菌在一定环境条件下,细胞质脱水浓缩,在菌体内形成多层膜状结构的圆形或椭圆形的小体,称为芽胞(spore)。芽胞折光性强,壁厚,通透性低,普通染色法不易着色,只能在光镜下观察到菌体内有无色透明的芽胞体,须用特殊染色法才能着染。细菌形成芽胞的能力取决于菌体内是否存在有芽胞基因,而形成芽胞也需要一定的条件,并随菌种而不同。一般在细菌体外形成,并均为革兰阳性菌。芽胞带有完整的核质与酶系统等,保持细菌的全部生命活性。芽胞形成后,菌体成为空壳,有些芽胞脱落游离出来,如遇适宜环境,芽胞可吸水膨大,发育成新的菌体。一般认为芽胞是细菌的休眠形式,代谢过程减慢,对营养物质需求降低,分裂停止。一个芽胞只能形成一个菌体,一个菌体只能形成一个芽胞,所以芽胞不是细菌的繁殖方式,而菌体能进行分裂繁殖,故无芽胞的菌体可称为繁殖体。

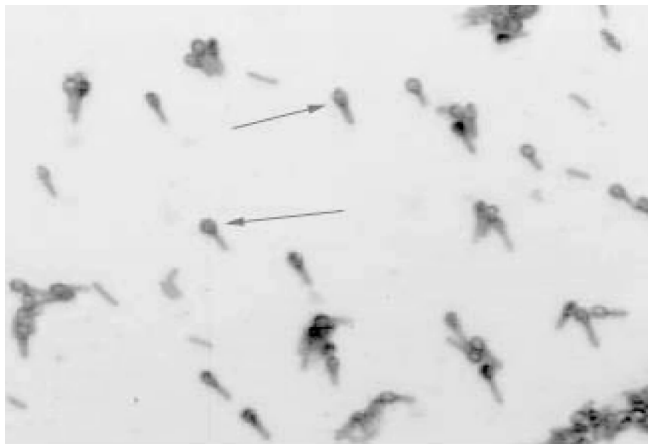


图 2-9 破伤风梭菌的芽胞

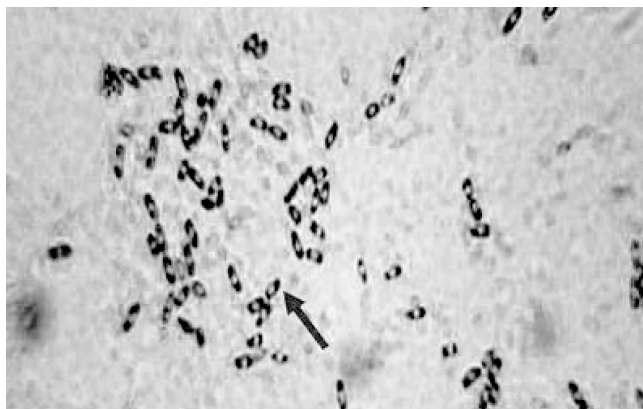


图 2-10 肉毒梭菌的芽胞

芽胞的大小、形态和位置随细菌种类而异,有助于细菌的鉴别。如破伤风梭菌的芽胞呈正圆形,位于菌体顶端且比菌体宽,炭疽芽胞杆菌的芽胞比菌体小,位于菌体内,为卵圆形。芽胞

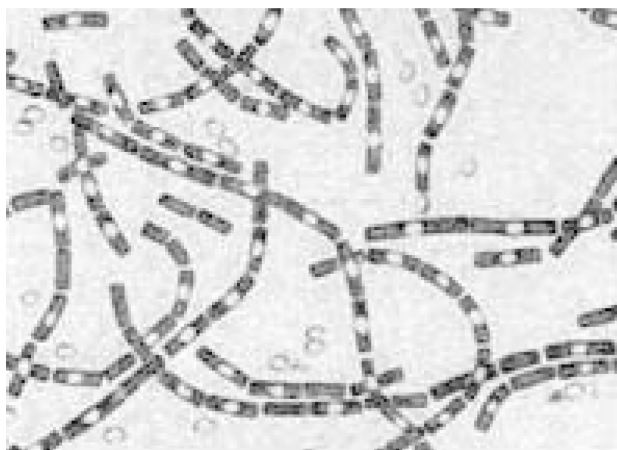


图 2-11 炭疽杆菌的芽孢

对热、干燥、化学消毒剂以及辐射等均有强大抵抗力,与其结构及组成成分有关。有的芽孢在自然界中可存活几年至几十年,有的芽孢能耐煮沸数小时。细菌芽孢并不直接引起疾病,而是当条件适宜发芽成为繁殖体后,大量繁殖才导致疾病。如土壤中常有破伤风梭菌和产气荚膜梭菌芽孢,一旦由于外伤,芽孢随泥土进入创口内,在适宜条件下,芽孢可发芽成为繁殖体,继而产生毒素引起疾病。因此要严防芽孢污染伤口和医疗器具。此外医院内手术器械、敷料等用具的消毒灭菌效果,应以是否杀灭芽孢为灭菌的指标,常用高压蒸气灭菌。

第三节 细菌形态检查法

一、不染色标本检查法

细菌标本不经染色直接镜检可观察到活菌的形态及其运动情况。常用悬滴法或压滴法,置普通光学显微镜或暗视野(dark-field)显微镜下观察。而使用相差显微镜(phase contrast microscope)能相对较清晰地看到标本内细菌的运动及细胞内某些结构,弥补了上述两种镜检法不足。因细菌体小半透明,要想更清楚地观察其大小和形态,需经染色。

二、染色标本检查法

细菌的等电点在 $\text{pH}2\sim5$ 之间,在近于中性($\text{pH}7.2\sim7.6$)的环境中细菌多带负电荷,易与带正电荷的碱性染料结合,故多用碱性染料染色,如美兰、碱性复红和龙胆紫等。

常用的细菌染色法有两种:

(一)单染法

只用一种染料染色,如美兰,可观察细菌的大小、形态和排列,但不能鉴别细菌。

(二)复染法

用两种以上的染料染色,可将细菌染成不同颜色,除可观察细菌的形态外还能鉴别细菌,故



也称鉴别染色法。常用的有革兰染色法和抗酸染色法。

1. 革兰染色法(Gram stain) 是细菌学中最经典的染色法。具体方法是:标本固定后,先用结晶紫初染,再加碘液媒染,使之生成结晶紫-碘复合物;此时不同细菌均被染成深紫色。然后用95%乙醇脱色,有些细菌被脱色,有些不能。最后用稀释复红或沙黄复染。此法可将细菌分成两大类:不被乙醇脱色仍保留紫色者为革兰阳性菌,被乙醇脱色后复染成红色者为革兰阴性菌。革兰染色法的实际意义有:①鉴别细菌。通过染色可将所有细菌分成两大类;②选择抗菌药物。大多革兰阳性菌对青霉素、红霉素和头孢霉素等敏感,而革兰阴性菌对链霉素和卡那霉素等敏感;③与细菌致病性有关。大多革兰阳性菌以外毒素致病,而革兰阴性菌以内毒素为主要致病物质。

2. 抗酸染色法(acid fast stain) 可鉴别抗酸性杆菌和非抗酸性杆菌。方法是将固定的标本先经石炭酸复红加温染色,再用盐酸酒精脱色,最后用美兰复染。结核分枝杆菌和麻风分枝杆菌等抗酸性杆菌染成红色,经脱色被复染成蓝色者为非抗酸性杆菌。

3. 特殊染色法 细菌的结构如荚膜、芽胞、鞭毛以及细胞壁、异染颗粒等的染色,用上述染色法不易着色,必须用特殊染色法才能着色。这些染色法不仅能使特殊结构着色,还可使它染成与菌体不同的颜色,利于观察和鉴别细菌。其中负染色法是用酸性染料(如苯胺黑等)或墨汁衬底,再用碱性染料染色,可使背景和菌体着色而荚膜不显色,包绕在菌体周围形成一透明空圈。此法通常用于细菌荚膜的观察。

思考题

1. 试比较 G^+ 和 G^- 细胞壁的同异点及其意义。
2. 试述青霉素与溶菌酶的抗菌机理。
3. 细菌有哪些特殊结构?
4. 试述芽胞和荚膜形成的意义。
5. 鞭毛有何功能? 依据鞭毛的数量和位置,可将鞭毛菌分为哪些种类?
6. 菌毛的存在有何生理意义?
7. 名词解释:中介体 芽胞 荚膜



第三章 细菌的生理

细菌与其他生物细胞一样,不断从外界环境中摄取营养物质,合成自身细胞成分并获得能量,同时不断排出废物,完成新陈代谢,得以生长繁殖。细菌的生长繁殖与环境条件密切相关,条件适宜时,细菌的生长繁殖及代谢旺盛,改变条件可使细菌生命活动受到抑制或使细菌死亡。了解细菌生长繁殖的条件、规律及代谢产物,有助于对细菌进行人工培养、分离鉴定以及判断病原菌的致病性。同时对细菌性疾病的诊断、治疗及预防均有重要意义。



第一节 细菌的生长繁殖

一、细菌的化学组成和物理性状

(一)细菌的化学组成

细菌和其他生物细胞相似,含有多种化学成分、包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂类与核酸等。水是细菌的重要组成部分,占菌体重量的80%左右,固体成分仅占15%~20%,多以复合蛋白组成结构蛋白与功能蛋白,如核蛋白、糖蛋白和脂蛋白;此外糖类占10%~30%;脂类占1%~7%;无机盐占3%~10%;核酸包括DNA与RNA两种。细菌也含有与其他生物细胞不同的成分,如肽聚糖、磷壁酸、D型氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等。

(二)细菌的物理性状

1. 带电现象 细菌蛋白由许多氨基酸组成,在溶液中可电离成带正电荷的氨基(NH_4^+)和带负电荷的羧基(COO^-)。氨基酸的电离与细菌所处环境的pH有关。当pH高时,细菌带负电荷,pH低时细菌带正电荷。革兰阳性菌的等电点为pH2~3,革兰阴性菌的等电点为pH4~5,一般在中性培养基中,环境中pH均比细菌的等电点高,故细菌均带负电荷,由于革兰阳性菌等电点较阴性菌低,故带更多的负电荷。细菌的带电现象与细菌的革兰染色性、菌体凝集试验、抑菌和杀菌作用等都有密切关系。

2. 表面积 细菌体积虽小,但其单位体积的细胞表面积总和却比其他生物体大,如葡萄球菌直径约 $1\mu\text{m}$, 1cm^3 体积细菌的表面积可达 60000cm^2 ;直径为 1cm 的其他生物组织块,每 cm^3 体积的表面积仅 6cm^2 ,两者差1万倍。细菌表面积大,有利于同外界物质交换,故细菌的代谢旺盛、繁殖迅速。

3. 半透性 细菌的细胞壁和细胞膜均具半透膜性质,只允许水分子和小分子物质通过,细菌吸收营养物质和排除代谢产物,均有赖于选择性通透作用。

4. 渗透压 细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐,一般革兰阳性菌的渗透压高达20~25个大气压,革兰阴性菌为5~6个大气压。细菌所处一般环境相对低渗,但有坚韧细胞壁



的保护不至崩裂。若处于比菌体内渗透压更高的环境中,菌体内水分逸出,胞质浓缩,细菌就不能生长繁殖。

二、细菌的营养物质

(一)微生物的营养

微生物的营养(nutrition)是微生物生理学的重要研究领域,主要研究内容是阐明营养物质在微生物生命活动过程中的生理功能,以及微生物细胞从外界环境摄取营养物质的具体机制。为了生存,微生物必须从环境中吸收营养物质,通过新陈代谢将其转化成自身新的细胞物质或代谢物,并从中获取生命活动必需的能量,同时将代谢活动产生的废物排出体外。那些能够满足微生物机体生长、繁殖和完成各种生理活动所需的物质称为营养物质(nutrient),而微生物获得和利用营养物质的过程称为营养。营养物质是微生物生存的物质基础,而营养是微生物维持和延续其生命形式的一种生理过程。

微生物细胞的化学组成

1. 化学元素

构成微生物细胞的物质基础是各种化学元素。根据微生物对各类化学元素需要量的大小,可将它们分为主要元素(macro element)和微量元素(trace element),主要元素包括碳、氢、氧、氮、磷、硫、钾、镁、钙、铁等,碳、氢、氧、氮、磷、硫这六种主要元素可占细菌细胞干重的97%。微量元素包括锌、锰、钠、氯、钼、硒、钴、铜、钨、镍等。

组成微生物细胞的各类化学元素的比例常因微生物种类的不同而各异,例如细菌、酵母菌和真菌的碳、氢、氧、氮、磷、硫六种元素的含量就有差别,而硫细菌(sulfur bacteria)、铁细菌(iron bacteria)和海洋细菌(marine bacteria)相对于其他细菌则含有较多的硫、铁和钠、氯等元素,硅藻(Diatom)需要硅酸来构建富含(SiO₂)的细胞壁。不仅如此,微生物细胞的化学元素组成也常随菌龄及培养条件的不同而在一定范围内发生变化,幼龄的比老龄的含氮量高,在氮源(source of nitrogen)丰富的培养基(medium)上生长的细胞比在氮源相对贫乏的培养基上生长的细胞含氮量高。

表 3-1 微生物细胞中几种主要元素的含量(干重%)

元素	细菌	酵母菌	真菌
碳	~50	~50	~48
氮	~15	~12	~5
氢	~8	~7	~7
氧	~20	~31	~40
磷	~3	—	—
硫	~1	—	—

2. 化学成分及其分析

各种化学元素主要以有机物、无机物和水的形式存在于细胞中。有机物主要包括蛋白质、



糖、脂、核酸、维生素以及它们的降解产物和一些代谢产物等物质。对细胞有机物成分的分析通常采取两种方式：一是用化学方法直接抽提细胞内的各种有机成分，然后加以定性和定量分析；另一种是先将细胞破碎，然后获得不同的亚显微结构，再分析这些结构的化学成分。无机物是指与有机物相结合或单独存在于细胞中的无机盐(inorganic salt)等物质。分析细胞无机成分时一般将干细胞在高温炉(550℃)中焚烧成灰，所得到的灰分物质是各种无机元素的氧化物，称为灰分(ash constituent)。采用无机化学常规分析法可定性定量分析出灰分中各种无机元素的含量。

水是细胞维持正常生命活动所必不可少的，一般可占细胞重量的70%~90%。细胞湿重(wet weight)与干重(dry weight)之差为细胞含水量。常以百分率表示： $(\text{湿重} - \text{干重}) / \text{湿重} \times 100\%$ 。将细胞表面所吸附的水分除去后称量所得重量即为湿重，一般以单位培养液中所含细胞重量表示(g/L或mg/ml)，但在具体称量过程中，常由于细胞表面吸附水分除去程度的不同而导致测量结果有误差，聚集在一起的单细胞微生物表面吸附的水分难以除去，这些吸附的水分可占湿重的10%。采用高温(105℃)烘干、低温真空干燥和红外线快速烘干等方法将细胞干燥至恒重即为干重。值得注意的是，采用高温烘干法会导致细胞物质分解，而利用后两种方法所得结果较为可靠。

(二)营养物质及其生理功能

微生物需要从外界获得营养物质，而这些营养物质主要以有机和无机化合物的形式为微生物所利用，也有小部分以分子态的气体形式被微生物利用。根据营养物质在机体中生理功能的不同，可将它们分为水分、碳源、氮源、无机盐类和生长因子五大类

1. 碳源

碳源(source of carbon)是在微生物生长过程中为微生物提供碳素来源的物质。碳源物质在细胞内经过一系列复杂的化学变化后成为微生物自身的细胞物质(如糖类、脂、蛋白质等)和代谢产物，碳可占一般细菌细胞干重的一半。同时，绝大部分碳源物质在细胞内生化反应过程中还能为机体提供维持生命活动所需的能源，因此碳源物质通常也是能源物质。但是有些以CO₂作为唯一或主要碳源的微生物生长所需的能源则并非来自碳源物质。

微生物利用碳源物质具有选择性，糖类是一般微生物较容易利用的良好碳源和能源物质，但微生物对不同糖类物质的利用也有差别，例如在以葡萄糖和半乳糖为碳源的培养基中，大肠杆菌(*Escherichia coli*)首先利用葡萄糖，然后利用半乳糖，前者称为大肠杆菌的速效碳源，后者称为迟效碳源。目前在微生物工业发酵中所利用的碳源物质主要是单糖、饴糖、糖蜜(制糖工业副产品)、淀粉(玉米粉、山芋粉、野生植物淀粉)、麸皮、米糠等。为了节约粮食，人们已经开展了代粮发酵的科学研究，以自然界中广泛存在的纤维素作为碳源和能源物质来培养微生物。

不同种类微生物利用碳源物质的能力也有差别。有的微生物能广泛利用各种类型的碳源物质，而有些微生物可利用的碳源物质则比较少，例如假单胞菌属(*Pseudomonas*)中的某些种可以利用多达90种以上的碳源物质，而一些甲基营养型(methylotrophs)微生物只能利用甲醇或甲烷等一碳化合物作为碳源物质。微生物利用的碳源物质主要有糖类、有机酸、醇、脂类、烃、CO₂及碳酸盐等(表3-2)。



表 3-2 微生物利用的碳源物质

种类	碳源物质	备注
糖	葡萄糖、果糖、麦芽糖、蔗糖、淀粉、半乳糖、乳糖、甘露糖、纤维二糖、纤维素、半纤维素、甲壳素、木质素等	单糖优于双糖,己糖优于戊糖,淀粉优于纤维素,纯多糖优于杂多糖
有机酸	糖酸、乳酸、柠檬酸、延胡索酸、低级脂肪酸、高级脂肪酸、氨基酸等	与糖类比效果较差,有机酸较难进入细胞,进入细胞后会导致 pH 下降。当环境中缺乏碳源物质时,氨基酸可被微生物作为碳源利用
醇	乙醇	在低浓度条件下被某些酵母菌和醋酸菌利用
脂	脂肪、磷脂	主要利用脂肪,在特定条件下将磷脂分解为甘油和脂肪酸而加以利用
烃	天然气、石油、石油馏分、石蜡油等	利用烃的微生物细胞表面有一种由糖脂组成的特殊吸收系统,可将难溶的烃充分乳化后吸收利用
碳酸盐	NaHCO ₃ 、CaCO ₃ 、白垩等	为自养微生物所利用
CO ₂	CO ₂	为自养微生物所利用
其他	芳香族化合物、氰化物、蛋白质、肽、核酸等	利用这些物质的微生物在环境保护方面有重要作用当环境缺乏碳源物质时,可被微生物作为碳源而降解利用

2. 氮源

氮源(source of nitrogen)物质为微生物提供氮素来源,这类物质主要用来合成细胞中的含氮物质,一般不作为能源,只有少数自养微生物能利用铵盐、硝酸盐同时作为氮源与能源。在碳源物质缺乏的情况下,某些厌氧微生物在厌氧条件下可以利用某些氨基酸作为能源物质。能够被微生物利用的氮源物质包括蛋白质及其不同程度的降解产物(胨、肽、氨基酸等)、铵盐、硝酸盐、分子氮、嘌呤、嘧啶、脲、胺、酰胺、氰化物等(表 3-3)。

常用的蛋白质类氮源包括蛋白胨(peptone)、鱼粉、蚕蛹粉、黄豆饼粉、花生饼粉、玉米浆、牛肉浸膏(beef extract)、酵母浸膏(yeast extract)等。微生物对这类氮源的利用具有选择性。例如,土霉素产生菌利用玉米浆比利用黄豆饼粉和花生饼粉的速度快,这是因为玉米浆中的氮源物质主要以较易吸收的蛋白质降解产物形式存在,而降解产物特别是氨基酸可以通过转氨作用直接被机体利用,而黄豆饼粉和花生饼粉中的氮主要以大分子蛋白质形式存在,需进一步降解成小分子的肽和氨基酸后才能被微生物吸收利用,因而对其利用的速度较慢。因此玉米浆为速效氮源,有利于菌体生长;黄豆饼粉和花生饼粉作为迟效氮源,有利于代谢产物的形成。在发酵生产土霉素的过程中,往往将两者按一定比例制成混合氮源,以控制菌体生长期与代谢产物形成时期的协调,达到提高土霉素产量的目的。



表 3-3 微生物利用氮源物质

种类	氮源物资	备注
蛋白质	蛋白质及其不同程度降解产物	大分子蛋白质难进入细胞,一些真菌和少数细菌能分泌胞外蛋白酶,将大分子蛋白质降解利用,而多数细菌只能利用相对分子质量较小的降解产物。
氨及铵盐	NH_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	容易被微生物吸收利用
硝酸盐	KNO_3	容易被微生物吸收利用
分子氮	N_2	固氮微生物可利用,但当环境中化合态氮源时,固氮微生物就失去固氮能力
其他	嘌呤、嘧啶、胺、酰胺、氰化物	大肠杆菌不能以嘧啶作为唯一的氮源,在氮量限量的葡萄糖培养基上生长时,可通过诱导作用先合成分解嘧啶的酶,然后再分解并利用嘧啶可不同程度地被微生物作为氮源加以利用。

微生物吸收利用铵盐和硝酸盐的能力较强, NH_4^+ 被细胞吸收后可直接被利用,因而 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 等铵盐一般被称为速效氮源,而 NO_3^- 被吸收后需进一步还原成N后再被微生物利用。许多野生型(wild type)细菌、肠道菌、动植物致病菌等可利用铵盐或硝酸盐作为氮源,例如大肠杆菌、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等均可利用硫酸铵和硝酸铵作为氮源,放线菌可以利用硝酸钾作为氮源,霉菌可以利用硝酸钠作为氮源。以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 等铵盐为氮源培养微生物时,由于 NO_3^- 被吸收,会导致培养基pH下降,因而将其称为生理酸性盐;以硝酸盐(KNO_3)为氮源培养微生物时,由于N被吸收,会导致培养基pH升高,因而将其称为生理碱性盐。为避免培养基pH变化对微生物生长造成不利影响,需要在培养基中加入缓冲物质。

3. 无机盐

无机盐(inorganic salt)是微生物生长必不可少的一类营养物质,它们在机体中的生理功能主要是作为酶活性中心的组成部分、维持生物大分子和细胞结构的稳定性、调节并维持细胞的渗透压平衡、控制细胞的氧化还原电位(redox potential)和作为某些微生物生长的能源物质等(表4-4)。微生物生长所需的无机盐一般有磷酸盐、硫酸盐、氯化物以及含有钠、钾、钙、镁、铁等金属元素的化合物。

在微生物的生长过程中还需要一些微量元素,微量元素是指那些在微生物生长过程中起重要作用,而机体对这些元素的需要量极其微小的元素,通常需要量在 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ mol/L/L(培养基中含量)。微量元素一般参与酶的组成或使酶活化(表4-5)。

如果微生物在生长过程中缺乏微量元素,会导致细胞生理活性降低甚至停止生长。由于不同微生物对营养物质的需求不尽相同,微量元素这个概念也是相对的。微量元素通常混杂在天然有机营养物质、无机化学试剂、自来水、蒸馏水、普通玻璃器皿中,如果没有特殊原因,在配制培养基时没必要另外加入微量元素。值得注意的是,许多微量元素是重金属,如果它们过量,就会对机体产生毒害作用,而且单独一种微量元素过量产生的毒害作用更大,因此有必要将培养基



中微量元素的量控制在正常范围内,并注意各种微量元素之间保持恰当比例。

表 3-4 无机盐及其生理功能

元素	化合物形式	生理功能
磷	KH_2PO_4 、 K_2HPO_4	核酸、核蛋白、磷脂、辅酶及 ATP 等高分子的成分,作为缓冲系统调节培养基 pH
硫	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 MgSO_4	含硫氨基酸(半胱氨酸、甲硫氨酸等)、维生素的成分,谷胱甘肽可调节胞内氧化还原单位
镁	MgSO_4	己糖磷酸化酶、异柠檬酸脱氢酶、核酸聚合酶等活性中心组分,绿叶素和细菌叶绿素成分
钙	CaCl_2 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	某些酶的辅因子,维持酶(如蛋白酶)的稳定性,芽孢和某些孢子形成所需要,建立细菌感受态所需
钾	KH_2PO_4 、 K_2HPO_4	某些酶的辅因子,维持细胞渗透压,某些嗜盐细菌核糖体的稳定因子
铁	FeSO_4	细胞色素及某些酶的组分,某些铁细菌的能源物质,合成叶绿素、白喉毒素所需
钠	NaCl	细胞运输系统组分,维持细胞渗透压维持某些酶的稳定性

表 3-5 微量元素与生理功能

元素	生理功能
锌	存在于乙醇脱氢酶、乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶、醛缩酶、RNA 与 DNA 聚合酶中
锰	存在于过氧化物歧化酶、柠檬酸合成酶中
铝	存在于硝酸盐还原酶、固氮酶、甲酸脱氢酶中
硒	存在于甘氨酸还原酶、甲酸脱氢酶中
钴	存在于谷氨酸变位酶中
铜	存在于细胞色素氧化酶中
钨	存在于甲酸脱氢酶中
镍	存在于脲酶中,为氢细菌生长所必需

4. 生长因子

生长因子(growth factor)通常指那些微生物生长所必需而且需要量很小,但微生物自身不能合成或合成量不足以满足机体生长需要的有机化合物。各种微生物需求的生长因子的种类和数量是不同的。

自养微生物和某些异养微生物(如大肠杆菌)不需外源生长因子也能生长。不仅如此,同种微生物对生长因子的需求也会随着环境条件的变化而改变,例如鲁氏毛霉(*Mucor rouxii*)在厌氧条件下生长时需要维生素 B1 与生物素,而在好氧条件下生长时自身能合成这两种物质,不需外加这两种生长因子。有时对某些微生物生长所需生长因子的本质还不了解,通常在培养时培