



全国普通高等院校生物工程规划精品教材

微生物学

车振明 主编

Microbiology

华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

全国普通高等院校生物工程规划精品教材

微生物学

主 编:	车振明	西华大学
副主编:	宋宏新	陕西科技大学
	胡 征	湖北工业大学
	张永勤	青岛科技大学
编 委:	孟庆雄	昆明理工大学
	张 玲	西南科技大学
	侯敬轩	陕西科技大学
	李玉锋	西华大学
	焦士蓉	西华大学
	缪礼鸿	武汉工业学院
	祖国仁	大连工业大学
	黄 丹	四川理工学院
	李光辉	四川理工学院
	张 强	四川理工学院

华中科技大学出版社
中国·武汉

图书在版编目(CIP)数据

微生物学/车振明 主编. —武汉:华中科技大学出版社,2008年6月
ISBN 978-7-5609-4183-7

I. 微… II. 车… III. 微生物学-高等学校-教材 IV. Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 134831 号

微生物学

车振明 主编

责任编辑:李 琼 陈 鹏

封面设计:潘 群

责任校对:代晓莺

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)87557437

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:湖北恒泰印务有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:19.75

字数:484 000

版次:2008年6月第1版

印次:2008年6月第1次印刷

定价:32.00元

ISBN 978-7-5609-4183-7/Q·25

(本书若有印装质量问题,请向出版社发行部调换)

内 容 提 要

本书是为适应以院(系)招生,按学科大类构建共同的学科基础知识和能力平台,实施通识教育基础上的宽口径专业教育和多种学科复合的特色人才培养模式而编写的,突出了微生物学在工程领域的应用。内容包括绪论、原核微生物、真核微生物、病毒、微生物的营养、微生物的代谢、微生物的生长、微生物的遗传变异与育种、微生物生态与环境生物技术、免疫与免疫技术。本书可作为生物工程、食品科学与工程、制药工程、环境工程、生物医学工程等本科专业的通用教材,也可供相关专业的研究生和科研人员参考。

前 言

本教材是在西华大学微生物学省级精品课程建设的基础上,联合湖北工业大学、青岛科技大学等开展工科微生物学精品课程建设的高校课程负责人和长期从事微生物学教学的老师集体编写而成的。

随着教育改革的深入,培养“厚基础、宽口径、复合型”的高素质人才作为本科教育的培养目标,已在全社会达成共识。许多学校试行了以院(系)招生,按学科大类构建共同的学科基础知识和能力平台,实施通识教育基础上的宽口径专业教育和多种学科复合的特色人才培养模式。但是,相应的教材建设却不能满足教学改革的需要。就微生物学教材而言,目前发行较多的一类是适用于综合大学理科专业的普通微生物学,另一类是适用于某一具体专业的应用微生物学,如食品微生物学、环境工程微生物学等。对于生物工程、食品科学与工程、制药工程、环境工程、生物医学工程等以生物化学、微生物学作为基础学科平台的专业来讲,缺乏构建公共学科基础和能力平台的微生物学教材。本教材就是为满足上述需要而编写的。

本教材编写考虑了以下几个方面。

第一,以传统微生物学的基本知识体系为主线,保证了微生物学基本概念、基本技术原理等基础知识的介绍,突出了“厚基础”的要求。

第二,在介绍基础知识的过程中,重点介绍了工程实践中微生物技术的基本原理和相关的应用实例,力争做到理论与生产实际相结合,以培养学生运用所学知识分析和解决实际问题的能力。

第三,以工程类专业学生为对象,既兼顾到各专业的需要,又尽量满足“宽口径”的要求,以扩大学生的知识面,拓宽学生就业、升学途径为宗旨。

第四,内容上突出“新”字,尽量把学科前沿知识和新成果、新技术介绍给学生。

第五,在编写形式上力求通俗易懂,便于自学,每章结尾附有小结和精选的思考题,有利于学生巩固知识、举一反三、活学活用。

本书由车振明总体策划、制定大纲并编写第一章;宋宏新编写第八章(部分)、第十章;胡征编写第六章;张永勤编写第五章,其他章节分别由祖国仁、黄丹、缪礼鸿、李玉锋、侯敬轩、孟庆雄、张玲、焦士蓉、张强、李光辉编写。全书由车振明、李玉锋负责统稿。西华大学研究生唐洁参与了部分插图的绘制工作。

华中科技大学出版社组织专家对本书进行了审阅并为本书及其系列教材的出版做了大量卓有成效的工作,在此表示衷心的感谢。同时也对西华大学及上述参编老师所在学校各级领导的大力支持表示谢意。

本书可作为生物工程、食品科学与工程、制药工程、环境工程、生物医学工程等本科专业的基础微生物学教材,也可供其他相近专业学生选用,同时可供相关专业的研究生和科研人员参考。

由于编者水平有限,加之时间仓促,缺点和错误在所难免,敬请广大读者和同行专家提出宝贵意见。

编 者

2008年2月于西华大学

目 录

第 1 章 绪论	(1)
1.1 微生物的概念与特点	(1)
1.1.1 微生物的概念	(1)
1.1.2 微生物的特点	(1)
1.2 微生物的分类、鉴定与命名	(3)
1.2.1 微生物在生物分类中的地位	(3)
1.2.2 微生物的分类单位	(4)
1.2.3 微生物的分类鉴定	(5)
1.2.4 微生物的命名原则	(7)
1.3 微生物学的形成与发展	(8)
1.3.1 形态学时期	(8)
1.3.2 生理学时期	(8)
1.3.3 现代微生物学时期	(10)
1.3.4 我国微生物学的发展	(12)
1.4 微生物学的分支学科及本课程的主要内容	(12)
1.4.1 微生物学的分支学科	(12)
1.4.2 本课程的主要内容	(13)
本章小结	(13)
复习思考题	(14)
第 2 章 原核微生物	(15)
2.1 细菌	(15)
2.1.1 细菌的形态和大小	(15)
2.1.2 细菌的细胞结构	(19)
2.1.3 细菌的繁殖	(31)
2.1.4 细菌的群体形态	(32)
2.1.5 工业上常见的细菌	(34)
2.2 放线菌	(37)
2.2.1 放线菌的形态与结构	(37)
2.2.2 放线菌的繁殖	(39)
2.2.3 放线菌的菌落特征	(39)
2.2.4 工业上有重要用途的主要放线菌	(40)
2.3 其他原核微生物	(41)
2.3.1 古细菌	(41)
2.3.2 蓝细菌	(44)
2.3.3 立克次氏体、衣原体和支原体	(45)
本章小结	(48)
复习思考题	(48)

第3章 真核微生物	(49)
3.1 酵母菌	(49)
3.1.1 酵母菌的形态与结构	(50)
3.1.2 酵母菌的繁殖与生活史	(54)
3.1.3 发酵工业上常见的酵母菌	(57)
3.2 霉菌	(58)
3.2.1 霉菌的形态与结构	(59)
3.2.2 霉菌的繁殖和生活史	(66)
3.2.3 工业上常见的霉菌	(73)
3.3 藻类	(76)
3.3.1 藻类的形态与结构	(76)
3.3.2 藻类的生理特征	(77)
3.3.3 藻类的分类	(77)
本章小结	(81)
复习思考题	(81)
第4章 病毒	(82)
4.1 病毒的形态、结构与功能	(82)
4.1.1 病毒的形态	(82)
4.1.2 病毒的大小	(84)
4.1.3 病毒的化学组成	(84)
4.1.4 病毒的结构	(87)
4.2 病毒的分类	(89)
4.2.1 病毒的类型	(89)
4.2.2 病毒的分类和命名	(90)
4.3 病毒的增殖	(91)
4.3.1 病毒的复制周期	(91)
4.3.2 病毒的一步生长曲线	(93)
4.4 噬菌体	(94)
4.4.1 噬菌体的形态结构	(94)
4.4.2 噬菌体的增殖	(96)
4.4.3 噬菌体的应用及防治	(98)
4.5 亚病毒	(99)
4.5.1 类病毒	(99)
4.5.2 卫星病毒和卫星核酸	(100)
4.5.3 朊病毒	(101)
本章小结	(101)
复习思考题	(101)
第5章 微生物的营养	(102)
5.1 微生物的营养要求	(102)
5.1.1 微生物细胞的化学组成	(102)
5.1.2 营养物质及其生理功能	(104)
5.2 微生物的营养类型	(110)

5.2.1	光能无机营养型	(110)
5.2.2	光能有机营养型	(112)
5.2.3	化能无机营养型	(112)
5.2.4	化能有机营养型	(112)
5.3	微生物对营养物质的吸收	(113)
5.3.1	单纯扩散	(114)
5.3.2	促进扩散	(114)
5.3.3	主动运输	(114)
5.3.4	基团转位	(116)
5.4	微生物的培养基	(116)
5.4.1	选用和设计培养基的原则和方法	(117)
5.4.2	培养基的种类	(120)
	本章小结	(125)
	复习思考题	(125)
第6章	微生物的代谢	(126)
6.1	代谢概论	(126)
6.2	微生物的产能代谢	(128)
6.2.1	异养型微生物的生物氧化	(128)
6.2.2	自养型微生物的生物氧化	(139)
6.2.3	能量转换	(140)
6.3	微生物的耗能代谢	(142)
6.3.1	合成耗能	(142)
6.3.2	其他耗能	(150)
6.4	微生物的次级代谢	(151)
6.4.1	次级代谢与次级代谢产物的概念	(151)
6.4.2	抗生素	(152)
6.4.3	毒素	(154)
6.4.4	激素与色素	(155)
6.5	微生物的代谢调节与应用	(156)
6.5.1	酶合成调节	(156)
6.5.2	酶活性调节	(159)
6.5.3	细胞膜透性调节	(162)
6.5.4	微生物次级代谢的调节	(163)
6.5.5	代谢调控的应用	(163)
	本章小结	(165)
	复习思考题	(166)
第7章	微生物的生长	(167)
7.1	微生物的分离和纯培养	(167)
7.1.1	无菌技术	(167)
7.1.2	纯培养物的分离方法	(168)
7.2	微生物的生长与繁殖	(173)
7.2.1	微生物生长的测定	(174)

7.2.2 微生物的生长规律	(179)
7.2.3 微生物的同步培养	(183)
7.2.4 连续培养	(185)
7.2.5 厌氧培养	(187)
7.3 微生物生长的环境条件	(188)
7.3.1 温度	(189)
7.3.2 水分和渗透压(osmotic pressure)	(190)
7.3.3 pH 值	(191)
7.3.4 氧气	(192)
7.4 微生物的控制	(194)
7.4.1 控制微生物的物理因素	(194)
7.4.2 控制微生物的化学因素	(200)
7.4.3 微生物的抗药性	(207)
本章小结	(207)
复习思考题	(208)
第 8 章 微生物的遗传变异与育种	(209)
8.1 遗传变异的物质基础	(209)
8.1.1 证明核酸是遗传变异物质基础的三个经典实验	(209)
8.1.2 遗传物质在微生物细胞中的存在形式	(212)
8.1.3 质粒	(213)
8.2 基因突变与重组	(215)
8.2.1 基因突变	(215)
8.2.2 基因重组	(219)
8.3 微生物菌种的选育	(224)
8.3.1 从自然界中分离筛选菌种	(225)
8.3.2 诱变育种	(227)
8.3.3 体内基因重组育种	(229)
8.3.4 基因工程育种	(232)
8.4 菌种退化与菌种保藏	(235)
8.4.1 菌种的退化及其防止	(235)
8.4.2 菌种的复壮	(236)
8.4.3 菌种的保藏	(236)
本章小结	(238)
复习思考题	(238)
第 9 章 微生物生态与环境生物技术	(240)
9.1 微生物在自然界中的分布	(240)
9.1.1 土壤中的微生物	(240)
9.1.2 水体中的微生物	(241)
9.1.3 空气中的微生物	(242)
9.1.4 极端环境中的微生物	(242)
9.2 微生物在自然生态系统中的作用	(243)
9.2.1 微生物在生态系统中的地位	(243)

9.2.2	微生物与生物地球化学循环	(243)
9.3	微生物生态系统中生物种群的生态学关系	(247)
9.3.1	同种微生物群体中不同个体之间的相互作用	(247)
9.3.2	不同微生物群体之间的相互作用	(247)
9.3.3	微生物与植物之间的相互关系	(249)
9.3.4	微生物与动物之间的相互关系	(250)
9.4	污染环境中微生物的降解作用与生物修复	(251)
9.4.1	微生物对天然有机污染物的转化和降解	(251)
9.4.2	微生物与生物外源性物质的相互作用	(252)
9.4.3	微生物与重金属的相互作用	(254)
9.4.4	污染环境的微生物修复	(254)
9.5	废水的微生物处理	(256)
9.5.1	好氧生物处理	(256)
9.5.2	厌氧生物处理	(260)
本章小结		(261)
复习思考题		(262)
第10章	免疫与免疫技术	(263)
10.1	微生物的致病性与感染	(263)
10.1.1	微生物的致病性	(263)
10.1.2	感染的途径与方式	(266)
10.1.3	感染的结果	(267)
10.2	免疫的概念与非特异性免疫	(267)
10.2.1	免疫的概念	(267)
10.2.2	非特异性免疫	(268)
10.3	特异性免疫	(271)
10.3.1	特异性免疫的概念与免疫系统	(271)
10.3.2	抗原、抗体	(273)
10.3.3	免疫应答	(277)
10.3.4	免疫预防	(279)
10.4	免疫技术基础	(281)
10.4.1	抗原制备与应用	(282)
10.4.2	抗体的制备及应用	(284)
10.4.3	抗体的应用	(287)
10.4.4	抗原抗体反应基础	(289)
10.5	凝集与沉淀反应	(291)
10.5.1	凝集反应	(291)
10.5.2	沉淀反应	(292)
10.6	免疫标记技术	(296)
10.6.1	免疫标记技术概述	(296)
10.6.2	酶免疫标记技术	(297)
本章小结		(302)
复习思考题		(303)
参考文献		(304)

第 1 章 绪 论

1.1 微生物的概念与特点

1.1.1 微生物的概念

微生物(microorganism, microbe)一词并非生物分类学上的专门名词,而是一类个体微小、结构简单、肉眼不可见或看不清楚的微小生物统称。微生物通常包括病毒、细菌、真菌、原生动物和某些藻类,它们的大小和细胞特征见表 1-1。

表 1-1 微生物的大小和细胞特征

微生物	大小近似值	细胞特征
病毒	0.01~0.25 μm	非细胞生物
细菌	0.1~10 μm	原核生物
真菌	2~10 μm	真核生物
原生动物	2~1 000 μm	真核生物
藻类	1 μm ~几米	真核生物

微生物的个体非常微小,但是也有一些例外,如许多真菌子实体、蘑菇等肉眼可见。相同的,某些藻类能生长至几米长。一般来说,微生物可以认为是结构相当简单的生物,大多数的细菌、原生动物、某些藻类和真菌是单细胞的微生物,即使为多细胞的微生物,其细胞类型也较少。病毒甚至没有细胞结构,只有蛋白质外壳和蛋白质外壳包裹着的遗传物质,且不能独立生活。

1.1.2 微生物的特点

微生物虽然个体微小、结构简单,但它们具有与高等生物相同的基本生物学特性。微生物种类多、数量大、分布广、繁殖快、代谢能力强,是自然界中其他任何生物不可比拟的,而且这些特性归根结底是与微生物体积小、结构简单有关。

1.1.2.1 代谢能力强

我们知道,物体的体积越小,其比面值(surface to volume ratio) K (K =表面积/体积)就越大。例如鸡蛋、豌豆和原生动物(直径 150 μm)的比面值 K 分别约为 1.5、6 和 400。由于微生物的个体极其微小,因而其比面值极大。例如一个直径为 1 μm 的球菌,其比面值 K 竟达到 60 000。因而,微生物能与环境之间迅速进行物质交换,吸收营养和排泄废物,而且有最大的代谢速率。从单位质量来看,微生物的代谢强度比高等生物大几千倍到几万倍,例如:发酵乳糖的细菌在 1 h 内可分解其自重 1 000~10 000 倍的乳糖;产阮假丝酵母(*Candida utilis*)合成蛋白质的能力比大豆强 100 倍,比食用公牛强 10 万倍;1 kg 的酵母菌在 1 d 之内可使几吨糖全部转化为乙醇和二氧化碳;一接种环的谷氨酸生产菌,经 2 d 的扩大培养和发酵就能将 8×10^3 kg 糖和 2×10^3 kg 尿素转化为 3×10^3 kg 菌体和 4×10^3 kg 谷氨酸。可见,微生物细胞确实是一个生产效率极高的“活的化工厂”。

微生物的这个特性为它们的高速生长、繁殖和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础,从而使微生物有可能更好地发挥“活的化工厂”的作用。人类主要利用微生物的生物化学转化能力。

1.1.2.2 繁殖快

微生物繁殖速度快,易培养,是其他生物不能比拟的。如大肠杆菌(*Escherichia coli*),其细胞在合适的生存条件下,每分裂1次的时间是12.5~20.0 min。如按20 min分裂1次计,则每小时分裂3次,每昼夜可分裂72次,后代数为4 722 366 500 万亿个(重约 $4\,722\times 10^3$ kg),48 h为 2.2×10^{43} 个(约等于4 000个地球之重)。事实上,由于种种客观条件的限制,细菌的指数分裂速度只能维持数小时,因而在液体培养中,细菌的浓度一般仅能达到 $10^8\sim 10^9$ 个/mL左右。

微生物的这一特性在发酵工业上具有重要的实践意义,主要体现在它的生产效率高、发酵周期短上,而且大多数微生物能在常温常压下,利用简单的营养物质生长,并在生长过程中积累代谢产物,不受季节限制,可因地制宜、就地取材,这就为开发微生物资源提供了有利的条件。如生产用做发面鲜酵母的酿酒酵母(*Saccharmyces cerevisiae*),其繁殖速度不算太高(2 h分裂1次),但在单罐发酵时,几乎每12 h即可收获1次,每年可“收获”数百次。这是其他任何农作物所不能达到的“复种指数”,对缓和人类面临的人口增长与食物供应之间的矛盾也有着重大意义。另外,微生物繁殖速度快的生物学特性为生物学基本理论的研究也带来了极大的优势,它使科学研究周期大大缩短、经费减少、效率提高。当然,对于危害人、畜和植物等的病原微生物或使物品发生霉腐的霉腐微生物来说,它们的这个特性就会给人类带来极大的麻烦甚至严重的危害,因而需要认真对待。

1.1.2.3 种类多、分布广

微生物在自然界是一个十分庞杂的生物类群。到目前为止,人们已经发现并认识的微生物种类大约有20万种,其中绝大多数为较容易观察和培养的真菌、藻类和原生动物等大型微生物。但是,正如一位前苏联微生物学家所说的,“目前我们所了解的微生物种类,最多也不超过生活在自然界中的微生物总数的10%”。据粗略估计,微生物的种类约为几百万种。人类已经开发利用的微生物仅占已发现微生物种的1%左右,都是与人类的生活、生产关系最密切的那些种类。此外,在现有环境中还存在着大量的“不可培养的”(unculturable)微生物。它们具有不同的生活方式和营养类型,其中大多数是以有机物为营养物质,还有些是寄生类型。微生物的生理代谢类型之多,是动植物所不及的。分解地球上储量最丰富的初级有机物——天然气、石油、纤维素、木质素的能力,属微生物专有。微生物有着多种产能方式,如细菌光合作用、嗜盐菌紫膜的光合作用、自养细菌的化能合成作用、各种厌氧产能途径;生物固氮作用;合成各种复杂有机物——次生代谢产物的能力;对复杂有机物分子的生物转化能力;分解氰、酚、多氯联苯等有毒物质的能力;抵抗热、冷、酸、碱、高渗、高压、高辐射等极端环境的能力,以及独特的繁殖方式——病毒的复制增殖等。不同微生物可以有不同的代谢产物,如抗生素、酶类、氨基酸及有机酸等,还可以通过微生物的活动防止公害。自然界的物质循环是由各种微生物参与才得以完成的。

微生物在自然界的分布极为广泛,土壤、水域、大气,几乎到处都有微生物的存在,特别是土壤,任意取一把土或一粒土,就是一个微生物世界。可以这样说,凡是有高等生物存在的地方,就有微生物存在,即使在极端的环境条件,如高山、深海、冰川、沙漠等高等生物不能存在的地方,也有微生物存在。例如:前苏联科学家在南极进行钻探时,发现深度达300 m的岩心中也有活细菌存在;美国科学家在东太平洋深度达10 000 m的海底温泉中,发现大量耐高温高压的硫细菌;人们用火箭曾从80 000 m的高空中采集到微生物。由此可见,微生物是在地球

上占有最多领土、领海和领空的一群生物。

从微生物种类多、分布广这一特性可以看出,微生物的资源是极其丰富的。据估计,目前人类仅开发利用了已发现微生物种类的 1% 左右。因此,在生产实践和生物学基本理论问题的研究中,利用微生物的前景是十分广阔的。

1.1.2.4 适应性强、易变异

微生物有极其灵活的适应性,这是高等动植物所无法比拟的。其原因主要是因为其体积小和面积大,即比面值大。为了适应多变的环境条件,微生物在其长期的进化过程中就产生了许多灵活的代谢调控机制,并有种类很多的诱导酶(可占细胞蛋白质含量的 10%)。

微生物的个体一般都是单细胞、简单多细胞或非细胞的。它们通常都是单倍体,加之它们具有繁殖快、数量多和与外界直接接触等原因,即使其变异频率十分低(一般为 $10^{-5} \sim 10^{-10}$),也可以在短时间内产生大量变异后代。最常见的变异形式是基因突变,它可以涉及任何性状,诸如形态构造、代谢途径、生理类型以及代谢产物的质或量的变异等。

很显然,微生物容易变异的特性对人类而言既有益又有害。一方面,人们不仅利用微生物易变异的特点进行菌种选育,可以在短时间内获得优良菌种,提高产品质量,还可以采用各种物理的、化学的诱变因素对微生物群体进行诱变处理,然后再用适当的方法筛选出正突变菌株,从而提高或增加菌株的某种性能。而这种诱变育种过程往往可在短时间内进行和实现,如用于生产青霉素的产黄青霉菌,开始筛选获得时,每毫升发酵液仅含约 20 单位的青霉素,但经过多次诱变选育后,每毫升已超过 5 万单位了。另一方面,工业生产中应用的优良生产菌种,如果使用或保存不妥,也很容易发生负突变,使产量大大降低甚至不再积累某种产物,更为严重的是病原微生物对人类医疗上使用的某些抗生素产生了耐药性变异,使抑菌的用药浓度不断提高。例如,20 世纪 40 年代初至今,成人患者的青霉素注射剂量,已由每天 10 万单位提高到 100 万单位甚至上千万单位。有的青霉素耐药变异菌株,其耐药性竟比原始菌株提高了 1 万倍,这使原本已得到控制的相应传染病变得无药可治。

以上微生物的四个方面的特性是所有微生物的共性,对人类来说是既有利又有弊的,我们学习微生物学的目的就在于兴利除弊。对于大部分有益的微生物,我们要利用这些特性为人类造福,但对于腐败微生物或少数病原微生物,则要设法控制这些特性,以减少它们的破坏性和危害性。同时,由于微生物既具有生物的一般特性,又具有其他生物所没有的特点,因而微生物也成为许多生物学基本问题研究最理想的实验材料。

1.2 微生物的分类、鉴定与命名

1.2.1 微生物在生物分类中的地位

根据形态和生理特征把地球上的生物分为动物界和植物界的理论,统治了生物学 100 多年。1957 年 Copeland 提出四界分类系统,即原核生物界(procaryotae)(细菌、蓝细菌等)、原生生物界(protista)(原生动物、真菌、黏菌和藻类等)、动物界(animalia)、植物界(plantae)。1969 年 Whittaker 提出把真菌单独列为一界,即形成了生物五界分类系统,将生物分为原核生物界、真核原生生物界(protistae)、真菌界(fungi)、动物界、植物界。随着对病毒研究的深入,我国微生物学家于 1977 年提出把病毒列为一界,即病毒界(vira),因此在五界分类系统的基础上形成了六界分类系统。根据微生物的定义,可以看出,在生物六界分类系统中,微生物包括四界(图 1-1)。

20 世纪 70 年代以后,随着“第三型生物”——古细菌(archaeobacteria)的发现,R. H.

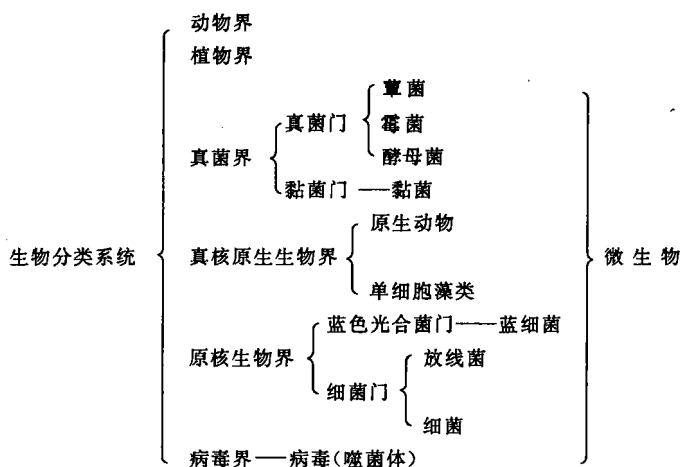


图 1-1 生物六界分类系统

Whittaker 和 L. Margulis 于 1978 年提出了三原界(kingdom)(后改称三个域)分类系统,认为在生物进化的早期,存在一类各生物的共同祖先,然后分成三条进化路线,形成了三个界,并构建了三界(域)生物的系统树(图 1-2)。他们没有将非细胞形态的病毒包括在内,也许是因为病毒系统地位不明之故。

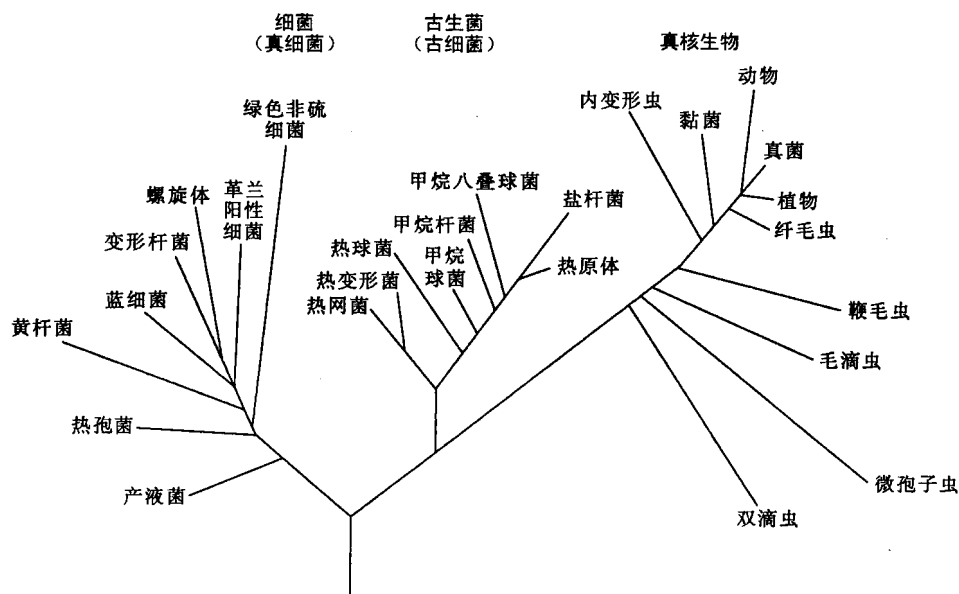


图 1-2 全生命系统树(Olsen 和 Woese,1993)

古细菌原界包括产甲烷细菌、极端嗜盐细菌、嗜热嗜酸细菌。真细菌(eubacteria)原界包括除古细菌以外的其他原核生物。真核生物原界包括原生动物、真菌、动物和植物。

1.2.2 微生物的分类单位

除病毒以外,微生物的分类和其他生物一样,分为七个基本的分类等级(rank 或 category)或分类阶元,由上而下依次是:界、门、纲、目、科、属、种。在分类中,若这些分类单元的等级不足以反映某些分类单元之间的差异时也可以增加亚等级,即亚界、亚门……亚种。

以酿酒酵母为例,它在分类系统中的归属情况如下。

门:真菌门(Eumycophyta)

纲:子囊菌纲(Ascomycetes)

亚纲:原子囊菌亚纲(Protoascomycetes)

目:内孢霉目(Endomycetales)

科:内孢霉科(Endomycetaceae)

亚科:酵母亚科(Sacchromycetoideae)

属:酵母属(*Sacchromyces*)

种:酿酒酵母(*S. cerevisiae* Hansen)

在上述分类单位中,种(species)是最基本的分类单位。作为分类单元的等级,微生物的种可以看做是具有高度特征相似性的菌株群,这个菌株群与其他类群的菌株有很明显的区别。正是由于微生物种的划分缺乏统一的客观的标准,分类学上描述的种有着潜在的不稳定性,有的种可能会随着认识的深入、分种依据的变化而进行必要的调整。

亚种(subspecies),当某一个种内的不同菌株存在少数明显而稳定的变异特征或遗传性而又不不足以区分成新种时,可以将这些菌株细分成两个或更多的小的分类单元——亚种。亚种是正式分类单元中地位最低的分类等级。

型(form 或 type),常指亚种以下的细分,当同种或同亚种不同菌株之间的性状差异不足以分为新的亚种时,可以细分为不同的型。例如,按抗原特征的差异分为不同的血清型;按对噬菌体裂解反应的不同分为不同的噬菌型,等等。

菌株(strain),从自然界分离得到的任何一种微生物的纯培养物都可以称为微生物的一个菌株;用实验方法(如通过诱变)所获得的某一菌株的变异型,也可以称为一个新的菌株,以便与原来的菌株相区别。菌株是微生物研究 and 应用中最基本的操作实体。一般地讲,自然界中的“种”应该是有限的,但菌株是无限的。菌株的表示方法是在种名后面加编号、字母或其他符号以示区别。

1.2.3 微生物的分类鉴定

1.2.3.1 微生物的分类鉴定依据

微生物的分类是以它们的形态结构、生理生化反应和遗传性等特征的异同为依据,根据生物进化的规律,将微生物进行分门别类,并根据相似性或相关性水平编排成系统。微生物分类鉴定的主要依据包括以下几种。

1. 经典的分类鉴定依据

(1) 微生物的形态特征 包括个体形态(细胞形态、大小、排列、运动性、特殊构造、染色反应等)和群体形态(菌苔形态、菌落形态、在半固体及液体培养基中群体的生长状态等)。

(2) 微生物的生理生化特性 包括对能源、碳源、氮源及生长因子等营养的要求,对生长温度、溶氧、pH 值、渗透压等环境条件的要求,代谢产物的种类、产量、颜色和显色反应,产酶的种类和酶反应特性,对药物的敏感性等。

(3) 微生物的生态特性 包括在自然界的分布情况,与其他生物是否有寄生或共生关系,宿主种类及与宿主的关系,有性生殖情况,生活史等。

(4) 血清学反应 常借助特异性的血清学反应来确定未知菌种、亚种或菌株。

2. 现代的分类鉴定依据

(1) 细胞壁的化学成分 根据不同细菌和放线菌的细胞壁组成成分和结构具有明显特殊性,通过细胞壁的化学成分分析,可作为分类的依据,对菌种鉴定有一定的作用。

(2) 细胞的其他化学成分 分析某些原核生物的全细胞水解液糖型、磷酸类脂成分、枝菌

酸、醌类等成分,在菌种分类鉴定上有一定的价值。

(3) DNA 碱基比例(GC 比) 各类微生物 GC 比的范围不同:亲缘关系相近的种,其基因组的碱基序列相近,GC 比也接近;亲缘关系较远的种,GC 比差距也较大。可以此作为鉴定微生物新种的重要指标。

(4) DNA 杂交率 亲缘关系越接近的微生物,其 DNA 碱基序列也越接近。将不同微生物来源的 DNA 热变性为单链,再进行重新配对杂合,通过测定其杂交率,可判定微生物的亲缘关系,从而作出更精确的分类。它是比上述 GC 比更精确的遗传性状指标,对有争议的种的界定和新种的确定有重要作用。

(5) rRNA 寡核苷酸序列同源性 选用细胞中最稳定的 16S rRNA 或 18S rRNA,用 RNA 酶水解使之产生一系列寡核苷酸片段。若两种微生物的亲缘关系越近,则其所产生的寡核苷酸片段的序列也越接近。通过分析寡核苷酸序列同源性程度,可确定不同微生物间的亲缘关系和进化谱系。

(6) 微生物全基因组序列 DNA 是除少数 RNA 病毒以外的一切微生物的遗传信息载体。各种微生物都有其自身独特而稳定的基因组 DNA 序列,不同菌种间基因组序列的差异程度代表着它们之间亲缘关系的疏密。因此,对那些与人类健康、生活和生产关系重大的微生物进行全基因组 DNA 序列测定,是当前生物科学领域中掌握某微生物全部遗传信息的最佳途径,也是微生物现代分类鉴定中更细致和更精确的遗传性状指标。

应该指出的是,对不同种类微生物应采用不同的重点鉴定指标。例如,鉴定丝状真菌和大型真菌时,常以其形态特征为主要指标,在鉴定酵母菌和放线菌时,形态特征与生理特征两项指标往往同时并用。细菌因其形态特征简单,在鉴定时,则须同时应用较多的生理生化和遗传学指标。

1.2.3.2 微生物的分类鉴定方法和技术

现代的微生物分类鉴定法,已从原有的按微生物表型进行分类鉴定的经典分类学,发展到按它们的亲缘关系和进化规律进行分类鉴定的微生物系统学阶段。微生物的分类鉴定方法和技术可归纳为以下五种。

1. 经典分类鉴定法

根据微生物的形态结构、特征和生理生化特性等分类鉴定指标,用经典和常规的研究方法,观察和测定微生物的形态特征、运动性、酶反应、营养要求、生长条件、代谢特性、致病性、抗原性和生态学特性等一系列必要的鉴定指标,然后对照查找权威性的菌种鉴定手册以确定其学名。

2. 自动化鉴定技术

为解决常规鉴定方法工作量大、技术要求高和精确度低等难题,人们进行了种种改革传统鉴定技术的尝试,现已有商品化的鉴定系统出售。如法国生产的“API”细菌数值鉴定系统、美国 Roche 公司生产的“Enterotube”细菌鉴定系统(又称肠管系统)、美国安普科技中心(ATC)生产的“Biolog”手动和全自动细菌鉴定系统等。这些商品提供了系列化、标准化的鉴定技术,具有小型、简便、快速或自动化的优点。

3. 细胞化学成分分析鉴定法

根据不同细菌和放线菌细胞壁的肽聚糖分子结构和成分的差异,采用细胞壁成分分析法,对菌种分类鉴定有一定的作用。放线菌全细胞水解液可分为四类主要糖型,故采用全细胞水解液糖型分析法可进行初步分类鉴定。位于细菌、放线菌细胞膜上的磷酸类脂成分,在不同属中有所不同,可用于分类鉴别。诺卡菌与放线菌所含枝菌酸的碳链长度有明显差别,故对枝菌酸的分析可用于属的分类。此外,气相色谱技术可分析厌氧微生物细胞和代谢产物中的酸类和醇类等成分,对菌种鉴定很有用。

4. 数值分类鉴定法

数值分类鉴定法又称统计分类法或电子计算机分类法,通常以拟分类微生物的生理生化特征、对环境条件的反应和耐受性,以及生态特性等大量表型性状的相似性程度为依据,按照数值分析的原理,借助现代计算机技术进行统计,计算出菌株间的总类似值,再进行比较和归类。

5. 遗传分类鉴定法

遗传分类鉴定法是以 GC 含量和不同来源 DNA 之间的碱基顺序的类似程度及同源性为依据,从遗传学的角度在分子水平上评估微生物间的亲缘关系,从而进行分群归类。遗传分类鉴定的方法很多,例如:常用解链温度法测定 DNA 中的碱基比例 (GC 比),具有操作简便、重复性好等优点;常用固相杂交法(直接法)进行 DNA-DNA 核酸分子杂交;采用 16S rRNA 或 18S rRNA 寡核苷酸编目分析法,可定量地得知各被测菌株间的亲缘关系;应用全自动 DNA 序列仪测定微生物全基因组 DNA 序列,对微生物的精确分类和鉴定工作非常有效。

1.2.4 微生物的命名原则

同一种微生物在不同的国家或地区常有不同的名称,这就是俗名(vernacular name)。俗名在局部地区可以使用,但不便于交流,容易引起混乱。为在世界范围内交流和开展工作,要求给每一种微生物取上一个大家所公认的科学名称,这就是学名(scientific name)。

微生物的命名同样采用生物学中一贯沿用的林奈(Linnaeus)的“双名法”(binomial nomenclature)命名。这种国际命名法的一般规则如下。

- (1) 每一种具有显著特征的微生物,称为“种”。

(2) 每个种给一个名字,其学名通常由两个拉丁词组成。例如,大肠杆菌的学名是 *Escherichia coli*。

(3) 第一个词是属名,属名的第一个字母要大写。属名是由拉丁词或希腊词或拉丁化了的其他文字所构成。它是一个名次,以表示该属的主要特征。如 *Mycobacterium tuberculosis* (结核分枝杆菌),其中 *Mycobacterium* 是属名(分枝杆菌属),系希腊词源的复合词。

属名在下文重复出现时,可以缩写。如大肠细菌(*E. coli*)。

(4) 学名的第二个词为种名,是拉丁语中的形容词,表示微生物的次要特征。种名的首字母不大写。如 *Pseudomonas aeruginosa* (铜绿色假单胞菌), *Pseudomonas* 是属名(假单胞菌属), *aeruginosa* 是种名,是拉丁语形容词,原意为“铜绿色的”。

学名在印刷时要用斜体字表示,或者在正体字下面加一横线表示。如 *Pseudomonas aeruginosa* 或 Pseudomonas aeruginosa。值得注意的是,在属以上的名称,如门、纲、目、科等,其名称的第一个字母要大写,而且不印成斜体字。

(5) 通常在种名的后面跟命名人的姓以及命名的时间。这是由于自然界的种实在太多了,大家都在命名,容易混淆误解。例如, *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884, 这表明该菌(金黄色葡萄球菌)是由 Rosenbach 于 1884 年命名的。如果对以前的命名进行改动,要保留最初命名人,并加上改名人和改名时间。

学名 = 属名 + 种名 + (最初定名人) + 后来定名人 + 改名时间

主要部分 次要部分 (一般可省略)

(6) 亚种名为三元式组合,即由属名、种名和亚种名构成。例如, *Alcaligenes denitrificans subsp* (反硝化产碱杆菌氧化木糖亚种)。