

微生物学

(第二版)

俞大绂 李季伦 编

科学出版社

微生物学

(第二版)

俞大绂 李季伦 编

科学出版社

1985

第二版前言

本书第一版出版(1965年)距今近二十年。在这一段时间中,微生物学的各个方面,如形态和分类、生理和生化、遗传和变异以及生态均发展迅速,尤以分子遗传学发展更为迅速,日新月异,以致第一版的许多内容已觉陈旧,有重订的必要,因此第二版绝大部分内容几乎是完全重写的。书中内容编排仍按第一版,分别概括为形态和分类、生理和生化、遗传和变异以及生态四个部分。本书以介绍普通微生物学的基础知识为主,应用方面从略。

普通微生物学的范围广阔,涉及许多门学科,参考资料浩如烟海,编者的知识有限,因而内容和观点,均难免不够全面和不正确或甚有错误,欢迎读者指正。

谨向校内外审阅原稿和提供资料的同志,协助绘图的颜耀祖和董元同志以及科学出版社编辑同志致深切的谢意。

俞大绂 李季伦

北京农业大学植保系微生物专业

1978年4月于北京

第一版前言

地球上的一切生物可分别归纳成三大类：动物、植物和原生生物。原生生物即普通所指的微生物，包括裂殖菌、蓝藻、真菌、藻、粘菌、原生动物以及病毒和立克次氏体。

微生物的体积大多非常微小，需在显微镜下才能视见。因此在发明显微镜以前，人类并不知道这类微小生物的存在。然而，它们却是很早就存在于人类四周的！地球上几乎到处都有微生物生存和活动，甚至在动物体内也不例外。

人类和微生物之间有着密切的利害关系。自古以来人们就不得不和微生物打交道，即便在还没有认识它们的时候，人们就自发地利用了有益的微生物；并向有害的微生物进行不断的斗争。

当人们观察到水果或其他物质的自然发酵时，就发明了酿酒技术。在我国古书内有许多关于酿酒、制醋、制酱、腌菜等记录。为了防止食物变质和腐烂，人们采用了盐渍、糖腌、烟熏、干燥、酸化等措施以杀死或抑制有害微生物的生存和生长。人们凭观察和经验曾体会到某些疾病有传染性，因而采用了隔离病人以防止传染的措施。此外，人们采用豆科植物进行轮作以提高土壤肥力的方法也是利用了微生物的活动。所有这一切知其然而不知其所以然的自然现象，直到发明了显微镜，确实看到微生物之后，才逐渐得到阐明。

自从在显微镜下看到微生物以后的一百年间，人们仅是观察和描述微生物，很少把微生物和它们的活动联系起来。这个时期，实际上还谈不到微生物学。直到 200 多年后，巴斯德（Louis Pasteur, 1822—1895）和柯赫（Robert Koch, 1853—1910）才科学地指出微生物的生理活动及其重要性，为微生物学奠定了基础。随后，贝格林克（M. W. Beijerinck, 1851—1931）和维诺格拉德斯基（С. Н. Виноградский, 1856—1953）进一步扩大了微生物学的领域，发现了自养型的微生物，并在微生物的生态和生物化学方面开展了广泛的研究。因此，开始建立了普通微生物学。

从巴斯德和柯赫到贝格林克和维诺格拉德斯基的年代被誉为微生物学的黄金时代。从这个时代起，全世界各国的微生物学家，犹如风起云涌般地进行艰苦的钻研工作，发现了各型各式的微生物，研究了它们的形态、分类和生理活动。以后的研究越来越深入和广泛。在应用微生物学方面建立了医学微生物学、农业微生物学、工业微生物学、食品微生物学、海洋微生物学等学科。在理论微生物方面建立了真菌学、细菌学、病毒学、藻类学、微生物生理学、微生物遗传学和免疫学等学科。总之，以微生物的本质及其活动为中心，已发展成许多比较独立的微生物学科。

虽然微生物的类型差异很大，但它们的基本生理、生态和遗传机制却有共同的规律。在微生物学的各个专门学科之间仍然彼此相互联系。分析这些学科之间的统一性和进一步提高微生物的应用和理论水平，必然趋向普通微生物学的综合途径。这是发展普通微生物学的一个主流。

普通微生物学发展的另一个主流是生物化学。当十七到十八世纪时生物化学曾向两个方向发展。十七世纪开始研究药物化学。十八世纪开始从新的观点研究有机化合物，

不仅研究其药效,而且研究有机物质在生物体内的变化过程。1789年拉瓦锡(Lavosier)研究在酒精发酵中糖转变成乙醇和 CO_2 的过程,标志着生物化学研究的一个转折点。自十九世纪开始,生物化学已建立成为一个相当完整的学科,阐明了各种有机物质在生物体内分解和合成的代谢过程;酶的结构和功能,生物能量转变等基本生物化学过程的机制;并进一步发展了比较生理和生物化学。在这些工作中有绝大部分是利用微生物作为研究对象所获得的结果。由于这些研究工作,将有机化学的一部分开始转变为有机物质代谢过程的化学,即微生物生理学,而最后演变成生物化学。这两个学科之间的相互联系愈来愈密切,几乎无法分开。近代生物化学发展异常迅速,使得对微生物生命活动机制的了解也愈来愈深入。这就是扩大了普通微生物学的范围和丰富了它的内容。

微生物遗传学是普通微生物学的另一个主流。研究高等动植物的遗传机制很难达到细胞水平和分子水平。因此,经典遗传学发展到一定阶段将受到必然的限制。自从采用微生物作为研究遗传学的对象后,在短短的二十年内已将遗传学推到了分子水平,其进展的迅速和成果的辉煌均超过其他生物科学部门。微生物遗传学在整个生物科学中有着重要的地位。

从表面现象来看,微生物学是由广博趋向专门化,而实际上,愈趋专化,相互间的联系也愈显得密切。当前无论应用微生物学或理论微生物学的工作者,都必须有微生物形态、分类、生理、生态和遗传变异的基本知识,即普通微生物学的基本知识。时至今日,微生物的应用范围越来越广,理论研究越来越深入。所以,在学习微生物学入门的第一课程,即普通微生物学的过程中,应该首先获得微生物学的基本知识。

为了达到上述目的,在这本书内主要是尽量介绍普通微生物学的基本知识,至于有关应用方面的问题,将由土壤微生物学、发酵微生物学和抗菌素等专业学科作详细的介绍。本书仅在讨论某种微生物时附带指出其有益或有害的作用。

全书包括四个主要部分:形态分类、营养生理、遗传变异和生态。形态分类和营养生理两部分大都是介绍基本知识,而遗传变异和生态两部分虽然主要也是介绍基本知识,同时也介绍一部分需要较多推测性的问题,以锻炼学生的独立思考能力。此外,书内还附有研究微生物的基本技术和微生物学简史。期望在学习完这门课程后,能获得微生物学广泛的基础知识,并了解微生物以往的发展过程以及最近进展的趋势,因而能对普通微生物学有一个整体的概念。书中难免没有遗漏和错误,希望读者随时指正,以便日后不断作修改和订正。

全书内容表格和插图均系自各种专刊、杂志和课本中引用。兹不复开列其来源。

本书的真菌部分承余永年和林传光两位先生,病毒部分承周家炽和裘维蕃两位先生,原生动物部分承熊大仕先生,放线菌部分承宋大康先生,生理部分承阎龙飞先生,遗传学部分承李竞雄先生,免疫学部分承罗仲愚先生阅读并提出宝贵意见。又本书的部分内容承北京农业大学微生物专业的吴继林先生、姜隆后先生和陈文新先生阅读。著者向他们致以深切谢意。著者并感谢董元先生绘制若干图表以及其他同志协助缮写和校对工作。

最后,著者深切感谢科学出版社编辑同志的大力协助,特别是代为征集许多插图的图版。

俞大维 李季伦 徐孝华

1964年6月于北京

• x •

目 录

第二版前言	vi
第一版前言	ix
第一编 仪器设备和染色技术	1
第1章 显微镜和离心机	1
普通光学显微镜(1);暗视野显微镜(5);相差显微镜(5);荧光显微镜(6);电子显微镜(7);扫描电子显微镜(8);超速离心机(9)。	
第2章 染色剂和染色	11
染色剂(11);染色的机制(16);染色方法(17);指示剂(19)。	
第二编 微生物的形态和分类	21
第3章 微生物在生物中的地位	21
微生物的分类原则(21);微生物的命名法(25);生物分类系统(26);非细胞微生物(生物性物体)(27)。	
第4章 病毒	29
病毒的结构(30);病毒的化学组分(31);病毒分类(31):痘病毒(33),疱疹病毒(34),腺病毒(35),多角体病毒和颗粒体病毒(35),弹状病毒或杆状病毒(37),细小RNA病毒(39),细小DNA病毒:乳多空病毒(40),粘病毒(41),节肢介体病毒(41),烟草脆裂病病毒类群(42),马铃薯梭块茎病毒(42),肿瘤病毒(43),裸子植物、蕨类和真菌病毒(45);病毒的传播(47);病毒复制机制(47);病毒的培养(48);内含体(48);干扰素(49);病毒的遗传机制(49);病毒的起源(49)。	
第5章 噬菌体	51
噬菌体的结构和形态(51);噬菌体的化学成分(54);噬菌体的侵染循环(烈性和温和性噬菌体)(54);噬菌体的抗原性(57);噬菌体的分布(57);噬菌体的寄主范围(57);噬菌体的经济重要性(58);噬菌体的起源(58)。	
第6章 细菌素	60
细菌素的类型(60);细菌素的化学本质(62);细菌素的吸附作用(62);细菌素的杀菌作用和效应(63);细菌细胞产生细菌素的能力(63);细菌素与噬菌体的关系(64)。	
原核原生生物界	65
第7章 真细菌	66
真细菌的形态(66);鞭毛和伞毛(68);细胞壁和表面层(70);荚膜和微荚膜(70);胶合和细胞结集层(72);细胞的外衣和胞壁(73);细胞壁的结构和化学成分(74);革兰氏染色反应的机制(76);细胞质膜(78);细胞质和细胞器(78):线粒体(78),核蛋白体(79),细胞核(79),芽孢和孢囊(80),液泡(83),气泡(83),细胞质内贮存的化学物质——内含体(83);真细菌的分类(84):固氮菌科(87),根瘤菌科(88),假单胞杆菌科(91),无色细菌科(93),肠杆菌科(94),弧菌科(95),布鲁氏杆菌科(96),拟杆菌科(97),奈氏球菌科(98),小球菌科(98),链球菌科(99),消化球菌科(100),乳酸杆菌科(101),芽孢菌科(102)。	

第8章 化能自养细菌.....	107
硝化细菌科(107);硫化细菌科(108);产甲烷细菌和氢细菌(110)。	
第9章 粘细菌.....	113
粘细菌目(113);纤维粘细菌目(117)。	
第10章 柄细菌(出芽和/或附属物细菌).....	119
I. 芽殖,无附属物细菌类群(119); II. 有附属物,非芽殖细菌类群(120); III. 有附属物,芽殖细菌类群(121); IV. 非细胞型附属物细菌类群(122)。	
第11章 鞘细菌	125
鞘杆菌科(125);显核细菌科(127);贝氏细菌科(128)。	
第12章 放线菌 (Actinomycetes)	130
放线菌的分布(130);放线菌的形态(131);放线菌的分类(134): 棒状杆菌科(136), 分枝杆菌科(137), 诺卡氏菌科(137), 放线菌科(138), 弗兰克氏菌科(138), 游动放线菌科(138), 嗜皮菌科(139), 链霉菌科(139), 小单孢菌科(139);放线菌的系统发育(141);放线菌的生理(142);放线菌产生的抗生素(142);放线菌的经济价值(143)。	
第13章 螺旋体 (Spirochetes)	145
螺旋体的形态特征和行动(145);螺旋体的分类(146);螺旋体的生理、化学组分和营养(146);分布(147)。	
第14章 立克次体 (Rickettsiae).....	149
立克次体的形态(149);立克次体的分类(150);立克次体病害(153)。	
第15章 衣原体 (Chlamydiae)	154
衣原体的特性(154);衣原体的分类(155)。	
第16章 菌形体 (Mycoplasmas).....	157
菌形体的形态(157);菌形体的超微结构(158);菌形体的化学成分(158);菌落形状(158);菌形体的繁殖方式(159);菌形体的生长环境(160);菌形体的代谢作用(160);菌形体的致病性和免疫性(160);诱发植物病害的类菌形体(类软皮体)(161);菌形体的分类(162);菌形体的系统发育关系(163);细菌的L-型体(164)。	
第17章 光能细菌	167
光能细菌的分类(167): 红螺细菌科(169), 着色菌科(172), 绿硫细菌科(175);光能细菌的起源(177)。	
第18章 蓝细菌	178
蓝细菌的形态(178);蓝细菌的行动(181);蓝细菌的生殖(182);蓝细菌的生态(182);色素的适应性(183);蓝细菌的分类(183);固氮的蓝细菌(185);蓝细菌的进化(187);原核原生生物的起源和系统发育(188)。	
真核原生生物界.....	191
第19章 原生动物	192
原生动物的形态和生理性状(192);原生动物的生殖(192);原生动物的分类(193);原生动物的演化(197)。	
第20章 粘菌 (Myxomycetes).....	198
粘菌的形态及其生活史(198);营养和人工培养(202);粘菌的分类(202);粘菌的系统发育(208)。	
第21章 藻门	211

一般特性(211); 藻门分类(211): 褐藻亚门(212), 红藻亚门(214), 绿藻亚门(215), 裸藻亚门(226); 藻类的系统发育(238); 藻类的分布(239); 藻类的经济价值(239)。	
真菌界.....	241
真菌的分类系统(241); 真菌的形态(244); 有性繁殖的几种结合类型(249); 真菌在自然界中所起的作用和经济价值(250)。	
第 22 章 鞭毛菌门 (Mastigomycophyta).....	252
低等鞭毛菌(252): 壶菌纲 (Chytridiomycetes) (253), 丝壶菌纲 (Hyphochytridiomycetes) (259); 高等鞭毛菌(259): 卵菌纲 (Oomycetes) (260); 鞭毛菌的起源和亲缘关系(269)。	
第 23 章 接合菌门 (Zygomycota)	270
接合菌纲 (Zygomycetes) (270); 毛菌纲 (Trichomycetes) (282)。	
第 24 章 子囊菌门 Ascomycophyta: 半子囊菌纲和不整囊菌纲.....	285
子囊菌的形态特征(285); 子囊菌的分类(286): 半子囊菌纲 (Hemiascomycetes) (287); 不整囊菌纲 (Plectomycetes) (293)。	
第 25 章 子囊菌: 核菌纲、腔囊菌纲和虫囊菌纲.....	299
核菌纲 (Pyrenomycetes) (299); 腔囊菌纲 (Loculoascomycetes) (308); 虫囊菌纲 (Laboulbeniomycetes) (310)。	
第 26 章 子囊菌: 盘菌纲 (Discomycetes).....	316
第 27 章 担子菌门 (Basidiomycophyta): 冬孢子菌纲	325
担子菌形态特征(326); 冬孢菌纲(327)。	
第 28 章 担子菌门: 层菌纲 (Hymenomycetes)	340
有隔担子菌亚纲 (Phragmobasidiomycetidae) (340)。	
第 29 章 担子菌门: 层菌纲(续)	344
无隔担子菌亚纲(344)。	
第 30 章 担子菌门: 腹菌纲 (Gasteromycetes).....	357
腹菌纲特征(357); 腹菌纲分类(358)。	
第 31 章 半知菌门 (Deuteromycophyta).....	365
半知菌子实体类型(365); 半知菌的分类(370); 真菌的进化(377)。	
微生物的起源和演化.....	380
第三编 微生物的生理.....	383
第 32 章 微生物的化学成分	384
研究方法: 细胞化学成分的分析(384), 胞外产物的分析(387); 细胞的化学组成: 水和无机元素(387), 有机化合物; 胞外产物: 代谢副产物和中间产物(428), 次生代谢产物(430), 其他次生代谢产物(457)。	
第 33 章 微生物的营养	459
营养类型(459); 营养物质(460); 营养物质的吸收(473); 营养物质跨膜运输的机制(474); 培养基(477)。	
第 34 章 代谢概论	483
代谢的基本概念(483); 研究代谢的战略(484)。	
第 35 章 微生物的酶	487
酶的一般性质(487); 酶的结构(487): 酶蛋白(488), 活性中心(488), 活性基(489), 调节中心(499); 酶的命名与分类(500); 酶反应的性质(502); 影响酶反应速度的因素	

(504);酶在微生物细胞中的分布(509);酶的生成和阻抑(510);微生物酶制剂(510)。

第 36 章 能量的生成和利用 513

微生物的能量来源(513); 微生物能量转移的中心站(514); ATP 的生成(515); 光合磷酸化作用(516),氧化磷酸化作用(518); ATP 的利用(529)。

第 37 章 营养物质的分解 531

碳水化合物: 多糖的胞外水解(531), 双糖的分解(534), 单糖的降解(535), 丙酮酸代谢(551), 醇类的不完全氧化(566); 蛋白质和氨基酸: 蛋白质的水解(568), 氨基酸的降解(569); 核酸和核苷酸: RNA 的分解——RNA 酶(574), DNA 的分解——DNA 酶(575), 核苷酸和核苷的分解(576), 嘌呤和嘧啶的降解(576); 脂肪和脂肪酸: 脂肪的水解(577), 脂肪酸的降解(578); 其他有机化合物: 烃类物质的氧化(579), 芳香族化合物的氧化(581), 二碳化合物的氧化(583), 一碳化合物的氧化(585), 内源代谢(585); 无机化合物的氧化(586): 氮的氧化——硝化作用(587), 氢的氧化(589), 铁的氧化(589), 硫化物的氧化(590)。

第 38 章 细胞物质的合成 592

无机氮同化: 生物固氮(592), 硝酸还原(596); 氨基酸的生物合成(596): 初生氨基酸的生成(597), 以初生氨基酸作前体合成次生氨基酸(599), 其它氨基酸的合成途径(604); 核酸的生物合成: 核苷酸的生成(611), DNA 的合成(618), RNA 的合成(619); 蛋白质的生物合成: 氨基酸活化(621), 生成氨基酰~tRNA(622), 以 mRNA 为模板在核蛋白体上组成肽链(623), 多聚核蛋白体(626), 多顺反子 mRNA(626), 抑制蛋白质生物合成的抗生素(627); 肽类的合成(628); CO₂ 的固定: 自养型 CO₂ 固定(628), 异养型 CO₂ 固定(632); 二碳化合物的同化: 乙醛酸环(633), 甘油酸途径(635); 糖类的生物合成: 己糖的合成和相互转化(636), 寡糖和多糖的合成(637), 细菌细胞壁多糖的生物合成(638); 类脂的生物合成: 脂肪酸的合成(641), 脂肪和磷脂的合成(644), 多聚 β -羟基丁酸的合成(646); B 族维生素的生物合成(646); 四环吡咯及其有关化合物的合成(648); 萜烯及其有关化合物的合成(649); 次生代谢物质的生物合成(651)。

第 39 章 代谢的调节 653

酶生成的调节: 诱导生成(653), 酶生成的阻抑(655), 酶生成调节的机制(656); 酶功能的调节: 反馈抑制(660), 反馈抑制的机制(665); 酶活性的共价修饰调节(665); 代谢调节理论的应用: 初生代谢产物的大量积累(666), 次生代谢产物的大量合成(670), 酶的大量生成(673)。

第 40 章 微生物的生长 677

单细胞微生物的生长: 个体生长——染色体的复制(677), 核蛋白体的生物建成(678), 线粒体的生物建成(679), 叶绿体的生物建成(680), 细胞壁的生物建成(680), 细胞生长(681); 群体生长——测量方法(682), 一次培养: 生长曲线(682), 连续培养(686), 同步分裂培养(688); 多细胞微生物的生长: 测量方法(689), 丝状真菌的生长曲线(689), 影响生长的物理因子(690)。

第 41 章 抑菌、灭菌和化学治疗 696

抑菌和灭菌的物化因子: 物理因子(696), 化学因子(702); 化学治疗: 606 和 914(706), 磺胺药剂(707), 抗生素(708), 抗生素的作用机制(713), 病原微生物的抗药性(715)。

第四编 微生物的遗传和变异 717

第 42 章 经典遗传学	718
门德尔遗传定律(718);染色体遗传学说(721);染色体有丝分裂(721),染色体减数分裂(722);染色体的基因连锁和交换(723);基因连锁(723),染色体的交换(723),染色体畸变(725)。	
第 43 章 遗传的物质基础	726
核酸的结构(726);核酸的复制机制: DNA 的复制(727),DNA 复制的滚环模型(733),RNA 的复制和生物合成(734)。	
第 44 章 突变	737
自发突变(737);彷徨测验(737),重散布试验(738),影印培养法(740),青霉素筛选法(740);细菌的突变类型(742): 突变率(742),回复突变(744),基因突变或点突变(745),DNA 分子的突变、互变异构现象(747),顺反子、功能单位(748),条件致死突变型(750),极性突变(750),抑制基因突变(751);诱导突变: 辐射诱变(752),化学诱变(756);诱变剂的专一性(760);核酸的修补(763)。	
第 45 章 遗传密码	765
研究遗传密码的途径(765);遗传密码的特性(766);采用多核苷酸指定密码子碱基顺序(767);终止密码子和起始密码子(772);遗传信息解读错误的一些原因(773)。	
第 46 章 蛋白质合成的遗传学	775
蛋白质合成的设备(776);信使 RNA (779);转移 RNA (tRNA) 的结构(782);核蛋白体 RNA (rRNA) (783);氨基酸激活作用(783);酶(蛋白质)合成的调节(784)。	
第 47 章 噬菌体遗传	787
噬菌体突变(787);噬菌体基因重组(788);噬菌体基因互补(790);噬菌体转导(791): 普遍性转导(792),限制性转导(794),流产转导(795);噬菌体基因转变(797);噬菌体转染(797)。	
第 48 章 细菌遗传	799
细菌转化(799);细菌接合和重组(804);质粒和附加体(810);移位因子(815);遗传工程(816)。	
第 49 章 真菌遗传	819
酵母菌遗传(819);链孢霉杂交重组(822);链孢霉的生化遗传(824);链孢霉的母体遗传(826);担子菌的遗传(827);异核现象和准性生殖(829)。	
第 50 章 其它微生物——链霉菌、衣绿藻和原生动物的遗传	836
链霉菌的遗传(836): 链霉菌重组(836),混合培养法(836),异无性繁殖系的分析(838),合胞体重组(839);衣绿藻的遗传(840);原生动物的遗传(842): 双小核草履虫的交配(842),双小核草履虫的放毒性及其遗传机制(844),草履虫抗原型遗传(846)。	
第 51 章 微生物的变异、适应和进化	847
暂时变异性(847);永久变异性(849);突变型的表现(850);自然选择学说(851): 周期选择(852),绝对选择(853),相对选择(853);适应性(854);诱导酶(856)。	
第五编 微生物的生态	864
导论(864)。	
第 52 章 微生物的物理和化学环境因子	867
化学环境因子(867);物理环境因子(870);极端环境因子(874)。	
第 53 章 微生物的分布	877

微生物在土壤内的分布(877);微生物在水中的分布(879);微生物在大气中的分布(880);微生物在动物和植物中的分布(881)。	
第 54 章 微生物的传播	883
微生物的传播方式(883);微生物的存活力(884)。	
第 55 章 微生物与微生物以及与其他生物之间的相互关系	886
中性同生现象(886);同住现象(886);互惠同生现象(887);共生现象(888);根围微生物(897);竞争现象(898);拮抗现象(899);寄生现象(900);抗原和抗体(903);毒素和抗毒素(905);抗体与抗原的相互作用(906);捕捉现象(910)。	
第 56 章 微生物的群体	914
微生物群体的生态活动(914);微生物的生长(914);群体合作作用(916)。	
第 57 章 微生物生态系统	918
导论(918);稳定性(919);适应性(921);物质转化和能量流动(921);土壤内的微生物生态系统(923);水内的微生物生态系统(926)。	
第 58 章 微生物和物质循环	931
碳素循环(932);氮素循环(933);硫素循环(935);磷素循环(937)。	
附录:	939
第 59 章 微生物学简史	939
参考文献	954
中文索引	976
西文索引	1010

第一编 仪器设备和染色技术

第1章 显微镜和离心机

微生物的体积极为微小,必须借助显微镜将它们放大才能视见。以往最简单的显微镜仅由几块透镜组成,而当前所使用的显微镜则由一套透镜组成。显微镜通常能将物象放大到约 2,000 倍。除了我们常用的普通显微镜外,还有相差显微镜、暗示野显微镜、荧光显微镜、电子显微镜和扫描电子显微镜。前四种显微镜都是利用光源的光学显微镜。电子显微镜则是利用电子波检视物体。电子显微镜可将物体放大 10,000—30,000 倍或更高的倍数,通过照像装置最终可放大 200,000 倍以上,因而能识别细胞较微细的结构。在近代生物科学的进展中起着很大的促进作用。

普通光学显微镜

(一) 显微镜的构造

普通光学显微镜的构造可分为两大部分:一为机械装置;一为光学系统。这两部分要很好地配合才能发挥显微镜的作用。

机械装置

镜座: 镜座为稳定整个显微镜用,具有一定的形状,如蹄形、椭圆形、三角形等。

镜臂: 直立于镜座后侧,用以支持镜筒、镜台和照明装置。镜臂上并装有调焦装置。在镜臂下端通常装有能活动的倾斜关节,以调节倾斜角度而便于观察。

镜台: 镜台供放置镜检物体用,有圆形和方形。表面平滑,中央有镜台孔,可使光线通过。镜台有固定式和移动式两种。在镜台上有固定标本用的弹簧夹子及标本移动器。在标本移动器和移动镜台上有标尺。

镜筒及附件: 镜筒是连接目镜和物镜的圆筒。由被检物体入射的光线在镜筒内造成物象。镜筒上下口径的大小都按国际标准而定。镜筒长度也是固定的。有的镜筒带抽筒可以调节筒长。镜筒下端连接物镜转换器。转换器上通常装有三到四个放大倍数不同的

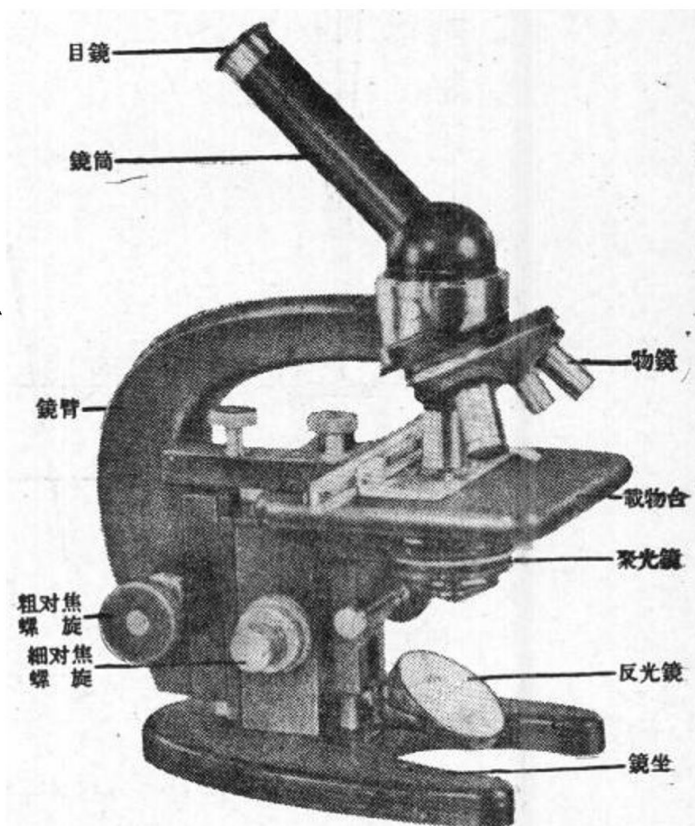


图 1-1 显微镜结构图

物镜,可以转换使用,但不能随意取下转换器以免影响光轴失去中心。此外,在镜筒上附有调焦装置,即粗对焦螺旋和细对焦螺旋。转动粗对焦螺旋可以找到物象,但不够清楚。细对焦螺旋可精确地对准焦点,看到清晰的物象。调焦装置是显微镜上的一个重要部分,因为对不准焦点就不能看清被检视的物体(图 1-1, 1-2)。

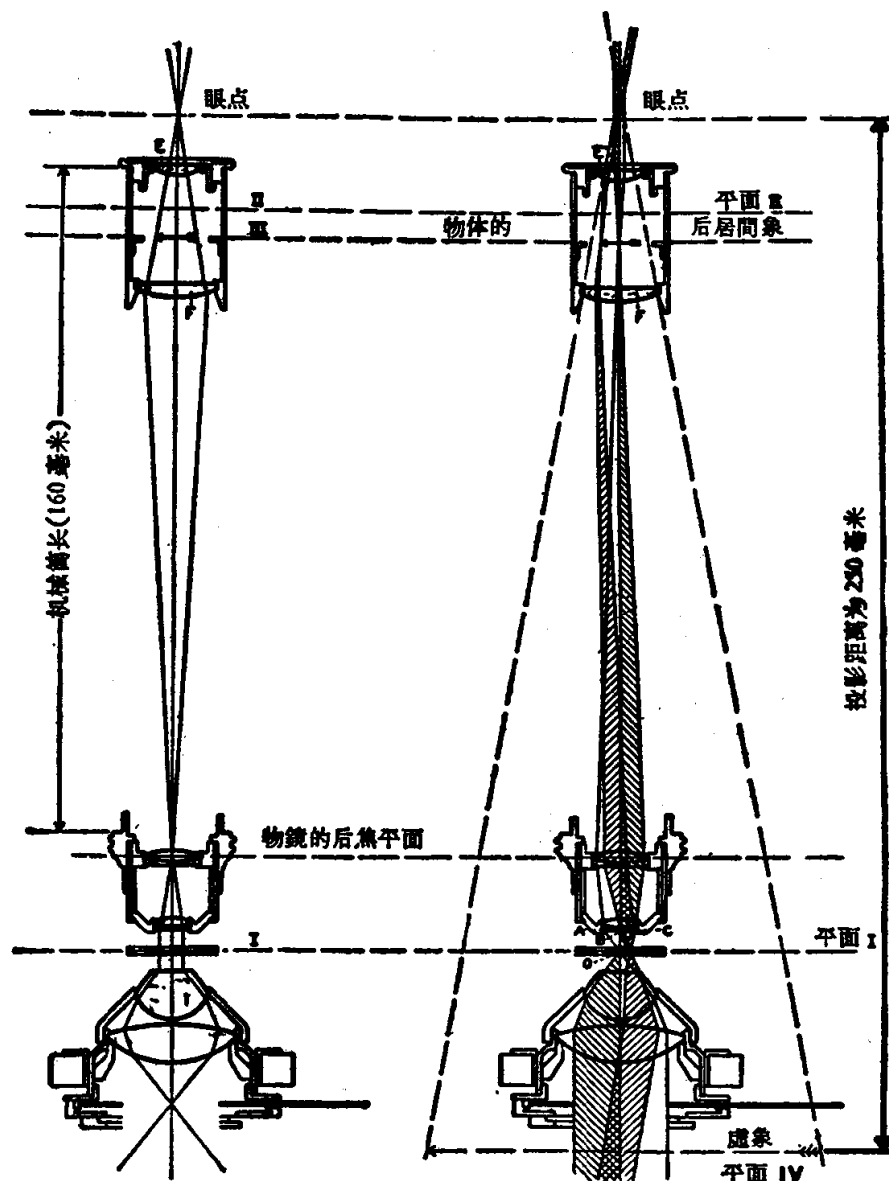


图 1-2 光线通过显微镜时的途径

光学系统

目镜: 目镜位于镜筒顶端,由两块透镜组成。上面一块叫接目透镜,下面一块叫会聚透镜。目镜能放大物镜所造成的象。放大的倍数刻在目镜上,以 $5\times$, $10\times$ 等字样表示。上下透镜之间有一个光阑,光阑的边缘即为视野境界。通常使用的目镜为惠更斯目镜和补偿目镜。惠更斯目镜的两块透镜都为平凸单透镜,凸面向下(图 1-3A) 补偿目镜为三块透镜组成,上面为一块平凹透镜和一块双凸透镜合在一起,下面为一块平凸透镜,凸面向下(图 1-3B), 补偿目镜要和复消色差物镜配合使用,可抵销物镜造成的色差和象差,使物象清晰。

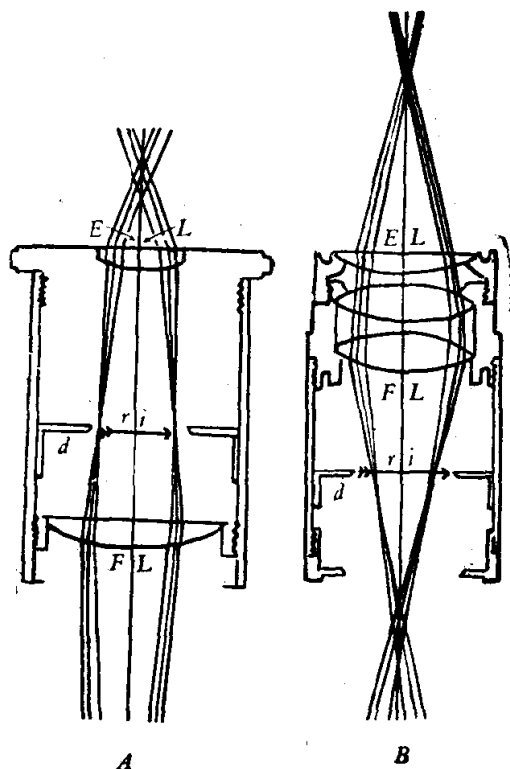


图 1-3 图示惠更斯目镜(A)及补偿目镜(B)
EL. 接目透镜; FL. 视野透镜 d. 光阑; ri. 实象。

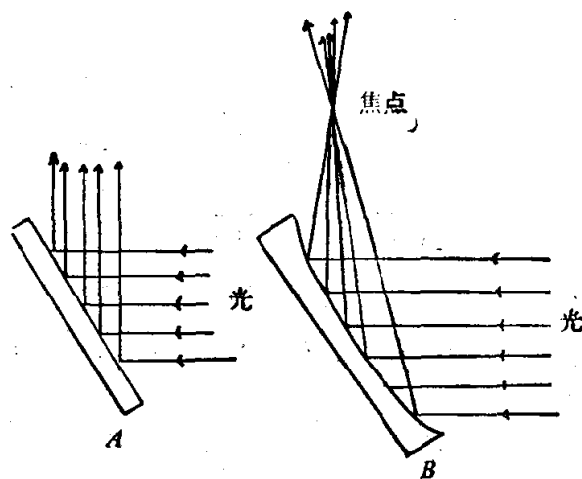


图 1-4 反光镜的反光样式
A. 平面反光镜; B. 凹面反光镜。

物镜: 物镜是显微镜上最重要的部分。它的功用为聚集来自标本任何一点的光线和利用入射光对被检物体做第一次造象。物镜由几组透镜组成, 每组中又包括几块透镜。因为光线经过透镜时, 通过中轴的象和通过边缘的象不在同一平面上, 而使造象不清楚, 称为象差。此外, 各色光的折射率不同也引起造象不清楚, 称为色差。利用几种球面和光学特性不同的玻璃制成的透镜来组成接物镜就可以消除象差和色差。物镜具有一定放大率, 其放大率和透镜焦距成反比。透镜的弯曲愈大, 焦距愈短, 放大率就愈大。通常显微镜上装有四个放大率不同的物镜, 其放大倍数刻在物镜上。根据物镜用法的不同, 可分为干燥系物镜和油浸系物镜。采用干燥系物镜是光线自标本射出后, 经过空气发生折射, 然后进入物镜。使用油浸系物镜是在标本与物镜间加入一种和玻璃折射率相同的介质, 可以避免光线由一个介质进入另一个介质所发生的散光现象。通常以香柏油作为油浸镜的介质, 香柏油的折射率为 1.51。干燥系物镜不能做为油浸系物镜使用。

反光镜: 反光镜是一个双面镜子。一面为平面, 另一面为凹面。它位于显微镜的下方, 起接受外来光线并将光线送至聚光镜的作用。反光镜可向任意方向转动以对准光源。通常都用平面镜 (图 1-4)。

聚光镜: 聚光镜是由几块透镜组成。它可以聚集由反光镜射来的光, 并可矫正色差。聚光镜安装在镜台下方的聚光镜支架上。靠螺旋装置可使它上下移动, 以调节光的明暗。在聚光镜下装有虹彩圈, 可以调节入射光束的大小。

(二) 显微镜的性能

显微镜分辨能力的高低决定于光学系统的各种条件。被观察的物体象必须放大率

高,而且清晰。物体经放大后,能否呈现清晰的微细结构,首先取决于物镜的性能,其次为目镜和聚光镜的性能。

数值口径

物镜和聚光镜都有一定的数值口径。数值口径的大小和显微镜的分辨能力有关。通常以下式表示数值口径:

$$N. A. = n \sin \frac{\alpha}{2}$$

式中, $N. A.$ 代表数值口径, n 代表物体和物镜间介质的折光率, α 代表光线投到物镜上的最大角度。由公式可见,介质的折射率愈大,数值口径也愈大。数值口径大,显微镜的分辨能力强。例如,用干燥系物镜时,空气的折射率为 1, 而用油浸系物镜时,香柏油的折射率为 1.51。 $\sin \frac{\alpha}{2}$ 的值经常小于 1, 因而油浸系物镜的数值口径比干燥系物镜大。当 α 为 180° 时, $\sin \frac{\alpha}{2}$ 的值最大,即 $\sin \frac{\alpha}{2} = 1$ 。然而镜口角为 180° , 即表明物镜与标本相接触,实际已不能观察。所以一般油浸镜的数值口径为 0.85—1.4, 干燥系物镜的数值口径为 0.05—0.75。使用某一物镜时,应配合一定数值口径的聚光镜,一般聚光镜的数值口径大于或等于物镜的数值口径为合宜,否则物镜性能受到影响。

分辨力

分辨力是指分辨物体细微结构的能力。分辨力与能够分辨出的物体两点间的最短距离 (D) 有关。而 D 又和二分之一波长 (λ) 和物镜的数值口径有关。因为光波只能对比其波长较长的物体造象,若某个物体小于 $1/2$ 波长,光线可绕过该物体,不能造象。 D 可用下式表示:

$$D = \lambda / 2N. A.$$

可见光的波长为 0.4—0.8 微米,平均波长为 0.55 微米。若用数值口径为 0.65 的物镜,则 $D = 0.55 \text{ 微米} / 2 \times 0.65 = 0.44 \text{ 微米}$ 。这表示被检物体或其上某结构在 0.44 微米以上时可被观察到,若小于 0.44,就不能视见。如果使用数值口径为 1.25 的物镜,则 $D = 0.22 \text{ 微米}$ 。凡被检物体长度大于这个数值,均能视见。由此可见, D 值愈小,分辨力愈高,物象愈清楚。根据上式可通过: (1) 减低波长; (2) 增大折射率和 (3) 加大镜口角来提高分辨力。紫外光显微镜和电子显微镜就是利用短波光和电子波来提高分辨力以检视较小的物体的。物镜分辨力的高低与造象是否清楚有密切的关系。目镜没有这种性能。目镜只起放大物镜所造的象的作用。

放大率

显微镜放大物体,首先经过物镜第一次放大造象,目镜在明视距离造成第二次放大象。放大率就是最后的象和原物体两者体积大小之比例。因此,显微镜的放大率 (V) 等于物镜放大率 (V_1) 和目镜放大率 (V_2) 的乘积,即:

$$V = V_1 \times V_2$$

物体通过物镜的放大倍数为 $V_1 = \frac{T}{F_1}$, T 为光学筒长, F_1 为物镜焦距。目镜的放大倍数

为 $V_2 = 250 \text{ 毫米}/F_2$, 因目镜在明视距离处 (250 毫米) 第二次造象, F_2 为目镜焦距。

由此可见, 用显微镜观察物体时, 要得到清晰的放大物象, 首先是依靠物镜的分辨力。分辨力高, 所视见的物象才清楚, 并非物象愈放得大就愈清楚。

焦深

在显微镜下观察一个标本时, 对焦在某一象面, 物象最清晰, 这个象面为目的面。在视野内除目的面外, 还能在目的面的上面和下面看见物象, 这两个面之间的距离称为焦深。物镜的焦深和数值口径及放大率成反比例, 即数值口径和放大率愈大, 焦深愈小。因此调节高倍物镜要比调节低倍物镜更加仔细, 否则容易使物象滑过而找不到。

暗视野显微镜

根据光线的方向, 将显微镜的照明分为透射照明和落射照明。落射照明是借助于物体表面反射光以观察不透明的物体。通常生物显微镜都是利用透射照明。透射照明除造成明视野外, 若利用斜射光照射物体, 使光线不能直接进入物镜, 只有物体经斜射照明后, 发生反射光可进入物镜, 这样在显微镜中可见到黑暗视野中明亮的物象。利用暗视野显微镜可以观察到某些微细的部分, 或细菌鞭毛的运动。

暗视野显微镜和一般的明视野显微镜只在于二者的聚光镜不同, 暗视野聚光镜可阻止光线直接照射标本, 而是使光线斜射在标本上。普通常用的暗视野聚光镜有抛物面型和心型两种 (图 1-5)。抛物面聚光镜的上部平滑, 在底部中央有一片遮光板可以挡住光柱中部的光线, 只有四周筒状的光线可以射达抛物面而改为斜射途径。这一束筒状光线穿过聚光镜上部并聚集在其焦点处。这个焦点恰与标本在同一平面上。结果造成直射光不能进入物镜, 只标本的反射光可进入物镜。心型聚光器的反射部分呈心型, 也有底部遮光板。

在使用暗视野显微镜时, 须要调节聚光镜的焦点与被检物在同一平面上, 并且须要选用较薄的载物片, 否则不易看见被检物。

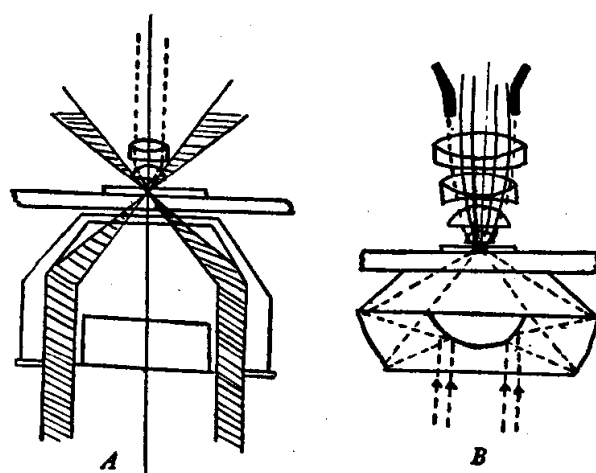


图 1-5 暗视野聚光镜

A. 抛物面型聚光镜; B. 心型聚光镜。

相差显微镜

利用普通光学显微镜观察活细胞时, 由于物体透明, 不易看清其内部结构和组织。如用相差显微镜观察活细胞, 不需染色就可以分辨出其不同组织结构。我们知道, 光波遇到物体后, 其波长 (颜色) 和振幅 (亮度) 发生变化时, 才能看到被检物体。然而当光波通过透明的物体时, 虽然物体各部结构有光学差异, 即厚度差异和折射率不同, 但由于波长和振幅

都不曾发生改变,而形成相差。相差不表现明暗和颜色上的差异。若将相差变为振幅差,使透明的异质结构表现出明暗的不同,就能看清这些部分。相差显微镜就是利用光线的干涉现象,把相差改变为振幅差,以便利观察活细胞的细微结构。

相差显微镜的装置与普通显微镜不同。它包括三个部分,即:(1)相差物镜;(2)相差环或相差聚光器;(3)合轴调整望远镜。

相差物镜是在物镜的后焦点处加一环状相板。相板是由光学玻璃制成的,具有改变相位的作用。放大倍数不同的物镜中相板不一样。德国蔡斯厂的相差显微镜上的相差环是一环状光阑,放在光源路上,使光线只能由环状部分通过。其环状光路的大小要与物镜中相板的暗环相重合(图 1-6)。环状光的大小可由聚光镜的数值口径来调节。有的显微镜上环状光阑和相差聚光器装在一起,其环状光阑的大小由不同大小的环状孔控制。使用不同相差物镜时,可转换相差聚光器,使二者配合。环状光必须和相板的暗环完全重合,否则难以改变相位。通常利用合轴调节望远镜,观察环状光阑和相板的象,调节使二者重合,如此,可使外来的光通过标本后必须经过相板而发生相位的改变,以造成明暗之差。

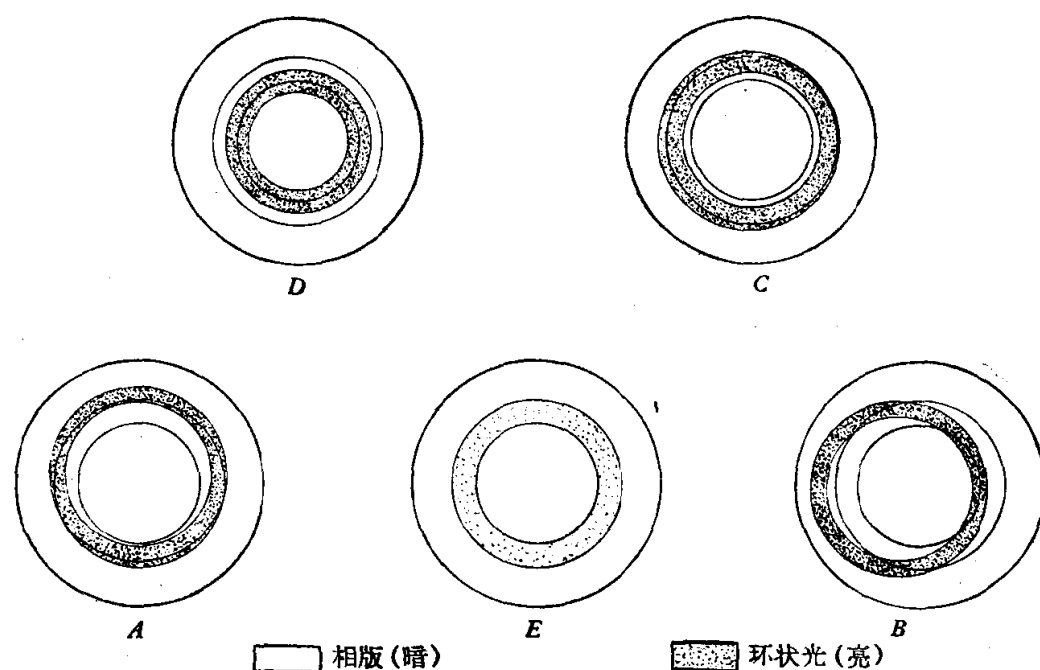


图 1-6 相差显微镜合轴调整

A, B. 光轴中心不合; C. 亮环大于暗环; D. 暗环大于亮环 E. 调整好二环重合。

荧光显微镜

微生物的细胞和细胞内的某些物质能自发地或经荧光染色剂染色后发生荧光。发生荧光是由于紫外线激发所呈现的现象。因此检查微生物的细胞或细胞内原生质组分,可采用荧光显微技术。

荧光显微镜与普通显微镜的结构主要差别在于:(1)光源为紫外线;(2)采用互补滤光镜片,包括一张激光镜片(初级镜片)和一张势垒镜片(次级镜片)(图 1-7)。

光源有两型,水银弧光灯为紫外线荧光用和白炽丝光灯为蓝色荧光用。通常采用的水银弧光灯为 10,000 或更大亮度单位(烛光/平方厘米)可见亮度的超高强度烛光型。