



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

环境微生物学

HUAN JING WEI SHENG WU XUE

殷士学 ○ 主编



机械工业出版社
CHINA MACHINE PRESS

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
21世纪高等教育环境工程系列规划教材

环境微生物学

主 编 殷士学
副主编 林 海 陈超猛
参 编 罗亚平 朴 哲 梅丽娟 胡 健
主 审 吴晓磊



机械工业出版社

本书系统介绍环境微生物学原理、方法和应用。全书共 10 章, 环境微生物学原理主要阐述微生物的形态和结构、代谢、生长、繁殖、遗传、分子微生物学原理、微生物降解污染物机理和微生物生态; 应用方面主要介绍微生物在污水、固体有机废弃物处理中的应用。鉴于分子微生物生态学的迅速发展和广泛使用, 第 10 章介绍分子微生物生态学研究方法。本书重点突出、结构紧凑、内容系统新颖, 反映现代环境微生物学发展水平。

本书为高等学校环境科学、环境工程、给水排水、农业资源和环境专业本科生教材, 也可作为相关专业研究生的参考书, 还可供与微生物学有关的科技人员、管理人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

环境微生物学/殷士学主编. —北京: 机械工业出版社, 2006. 8

(普通高等教育“十一五”国家级规划教材)

(21 世纪高等教育环境工程系列规划教材)

ISBN 7-111-19578-7

I. 环... II. 殷... III. 环境科学: 微生物学—高等学校: 技术学校—教材 IV. X172

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 078319 号

机械工业出版社 (北京市百万庄大街 22 号 邮政编码 100037)

责任编辑: 马军平 版式设计: 冉晓华 责任校对: 申春香

封面设计: 王伟光 责任印制: 李 妍

北京中兴印刷有限公司印刷

2006 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

184mm×260mm · 14.25 印张 · 348 千字

定价: 23.00 元

凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页, 由本社发行部调换

本社购书热线电话(010)68326294

编辑热线电话(010)88379711

封面无防伪标均为盗版

前 言

环境微生物学是环境科学、环境工程、给水排水、农业资源与环境本科专业的主要课程之一，其课程名称因专业或学校不同而异，但是规范的教学内容大同小异。本书按照稍多于2学分课堂教学内容编写，教师可以根据具体专业的教学要求、学时数和自己的兴趣作适当取舍。

微生物学包括四个部分基本内容：形态学、生理学、遗传学和生态学。环境微生物学本质上依然是微生物学，只是侧重关心污染物降解、转化和消除。几乎每一种天然化合物都有相应的微生物能够降解它，但是仅仅靠微生物的自然分布往往不能满足高效处理污染物的目的，常常需要借助于工程设施来强化微生物的作用。在实现这一目的过程中，涉及到工程设施的设计和建造、工艺流程的设计、调试及运行管理等许多方面，做好每一个方面的工作都需要微生物学基本知识。此外，利用微生物来处理污染物，可能遇到各种不同的污染物，往往需要分别使用不同的工艺加以处理，但是不管什么污染物和工艺，只要用微生物来处理，其原理是相同的。因此，本书强调微生物学一般原理。

分子微生物生态学是环境微生物学领域中发展最为迅猛的一个方向，这是客观存在的现状。水处理技术领域一些知名国际性杂志如 *Water Research*, *Water Science and Technology*, *Environmental Science and Technology* 等近年常有关于分子微生物学方面的研究报道，更不用说环境微生物学方面的杂志了（如 *Environmental Microbiology*, *Applied and Environmental Microbiology*, *Microbial Ecology*, *FEMS Microbiology Ecology* 等）。作为一本教材，应该反映这一现状。此外，微生物学在污水处理工程中的作用已广为人知。早在污水生物处理技术发展初期，人们就用光学显微镜来观察污泥中微生物的形态，建立了环境条件-基质特征-微生物类群之间相互关系，从而形成了“指示生物”的概念，并在工艺的选择、设施的设计、运行和管理方面发挥了指导性作用，特别是对以去除 COD 为主要目的的污水处理系统。今天，用分子微生物生态学手段所能得到的信息已经远远超过光学显微镜的能力，前者已经能够更清晰地了解和跟踪微生物群落组成及其时空变化、微生物的原位功能、特定微生物类群的数量和活性等，也有用于诊断工程设施运行状况的成功实例。相信在微生物学家与环境工程学家共同努力下，分子微生物生态学信息将在污染物处理技术包

括污水处理技术中发挥越来越重要的作用。因此，本书强调分子微生物生态学方面的内容。

全书由殷士学统稿。第1章由殷士学编写，第2章由罗亚平编写，第3、4章由陈超猛编写，第5、6章由梅丽娟编写，第7、8章由林海编写，第9章由朴哲编写，第10章由罗亚平、殷士学、胡健编写。清华大学吴晓磊教授审阅了全书，并提出很多宝贵建议，在此深表感谢。单君、何芳、施林林校对全书，特此致谢。

限于作者的学术水平和编写时间，书内的编写缺陷在所难免，恳请同行和读者批评指正。

编 者

目 录

前言	
第 1 章 绪论	1
1.1 微生物、微生物学	1
1.2 环境微生物学	2
1.3 微生物的基本特点	3
1.4 微生物学发展简史	4
第 2 章 微生物形态和结构	6
2.1 原核微生物	6
2.2 真核微生物	17
2.3 非细胞形态生物——病毒	28
第 3 章 微生物的营养与生长	31
3.1 微生物细胞的化学组成	31
3.2 微生物的营养物质和营养类型	32
3.3 微生物的培养基	38
3.4 营养物质进入微生物细胞的方式	42
3.5 微生物的生长	46
第 4 章 微生物的代谢	61
4.1 微生物的酶	61
4.2 微生物的产能途径	70
4.3 微生物的合成代谢	86
4.4 微生物代谢的调控	91
第 5 章 微生物的分子生物学原理	94
5.1 核酸的结构	94
5.2 DNA 复制	97
5.3 DNA 转录	99
5.4 翻译	101
5.5 基因调控	103
第 6 章 微生物遗传及其技术	106
6.1 突变和重组	106
6.2 体内遗传学技术	112
6.3 体外遗传学技术	119
第 7 章 微生物生态	126
7.1 微生物在自然环境中的分布	126
7.2 微生物与微生物及其他生物之间的 相互关系	132
7.3 微生物在自然界物质循环中的作用	137
第 8 章 微生物对污染物的降解和 转化机制	148
8.1 有机化合物的微生物降解和 转化机制	148
8.2 微生物对重金属的转化机制	154
8.3 微生物降解动力学	159
第 9 章 环境工程中的微生物应用	166
9.1 有机废弃物处理的基本微生物学 过程	167
9.2 微生物技术在污水处理中的应用	168
9.3 固体废弃物的生物处理与处置 技术	180
9.4 微生物技术在废气治理中的应用	184
9.5 生物修复技术	186
9.6 水和空气的微生物检测与控制	189
第 10 章 微生物生态学研究方法	194
10.1 基于生物化学的微生物生态学 研究方法	194
10.2 基于染色的微生物生态学研究 方法	199
10.3 基于核酸的微生物生态学研究 方法	201
10.4 稳定性同位素探针	216
参考文献	219

第 1 章

绪 论

1.1 微生物、微生物学

微生物 (Microorganism) 指肉眼看不见的、必须借助于显微镜才能看到的微小生物。微生物通常是单细胞生物, 一个细胞就是一个完整生命体, 能够独立完成生长、繁殖、能量代谢等生命过程。有时微生物以细胞簇 (Cell clusters) 状态存在, 但是每一个细胞依然是一个独立、完整生命体, 这与多细胞的植物、动物不同。

根据上述定义, 微生物只是因为微小而被称为微生物, 因此“微生物”一词不具分类学意义。大型多细胞动物和单细胞动物在分类学上都属于动物 (Animals), 但是前者是动物学研究对象, 后者是微生物学研究对象; 高等植物和单细胞藻类都能进行光合作用, 但是前者是植物学研究对象, 后者是微生物学研究对象。

微生物可能是地球上最早出现的生命, 最古老的微生物化石发现于距今 38.6 亿年的地层中。经过长时间的演化, 形成今天丰富多彩的生物世界。现在, 人们根据生物的进化时钟 (Evolutionary chronometer) (如核糖体、核糖核酸、rRNA 等) 中携带的信息可以比较生物进化的相对次序; 按照进化的相对次序将生物进行排列, 得到图 1-1 所示的生物系统发育树 (Phylogenetic tree)。在生物系统发育树中, 地球上除病毒外的所有细胞生物归为真细菌 (Eubacteria, 亦称为细菌 Bacteria)、古细菌 (Archaea) 和真核生物 (Eukarya) 三个原界 (Erkingdom) 或三个“域” (Domains)。其中全部的细菌和古细菌和一部分的真核生物属于微生物, 其余分别属于动物学和植物学研究范围。真核生物中属于微生物的包括真菌、酵母、霉菌、单细胞藻类和原生动物。关于原核生物和真核生物的定义及其区别将在后面叙述。

病毒和亚病毒 (类病毒、拟病毒、朊病毒) 不具细胞结构, 不能独立完成生命过程, 必须借助于宿主细胞才能完成生命过程, 因为个体微小也包括在微生物中, 但是在图 1-1 所示的三域系统中暂时没有合适的位置。最近 Khayat 等 (2005) 研究了喜酸嗜热细菌 *Sulfolobus solfataricus* (古菌, 最适 pH= 2~4, 最适生长温度 70~80°C) 病毒的衣壳蛋白结构, 表明至少有一个世系的病毒起源于生命分枝成三域之前。

微生物的基本单位是细胞。所有的细胞都含有蛋白质、核酸、脂和多糖四种成分, 这些成分统称为“大分子”, 这些大分子在细胞的代谢、繁殖、分化和信息交流等生命的基本过程中起关键性作用。生命过程是通过细胞与环境之间物质、能量、信息交流来实现的。微生

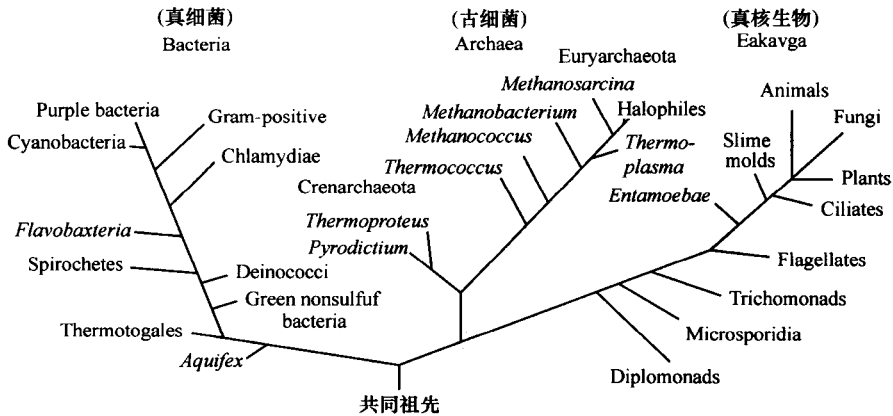


图 1-1 生物系统发育树 (布氏微生物生物学, 2002)

物学研究微生物的生命活动规律,其基本内容是:①微生物细胞的结构和功能,研究细胞的构建及其能量、物质、信息的运转;②微生物的进化和多样性,研究微生物的种类、它们之间的相似性和区别,以及微生物的起源;③生态学规律,研究不同微生物之间以及它们同环境之间的相互作用,研究微生物在地球元素循环中的作用;④微生物同人类的关系。

微生物学包含基础和应用两个方面。在基础方面,现在人们对生命的化学和物理过程的理解很大程度上得益于对微生物的研究,因此微生物学是探知生命过程的重要工具。在应用方面,微生物与医学、农业和工业中许多实际问题直接相关。

1.2 环境微生物学

广义地讲,环境微生物学是“研究微生物如何影响地球生态系统和大气科学”。微生物虽然很小,但是它们通过环境中的微生物学过程、微生物群落、微生物之间的相互作用、微生物与生活环境之间的相互作用对地球生态系统产生巨大影响。环境微生物学与主要研究病原菌的“医学微生物学”和主要研究微生物发酵生产生物产品的“工业微生物学”有明显区别。环境微生物学主要研究生活于地球生态系统(土壤、沉积物、海洋、湖泊、河流、湿地、特殊环境、极端环境)中的微生物对环境质量、农业、全球气候变化等所产生的影响。环境微生物学研究驱动自然生态系统的微生物学机理,进而提高人们管理这些生态系统的能力。

狭义地讲,环境微生物学是“研究与污染物降解有关的微生物学”,主要目的是如何利用微生物来消除有害物质或污染物质,或者将其转化成无害物质。污染物的种类很多,成分及其化学结构复杂,微生物多样性使降解这些污染物成为可能,几乎每一种天然化合物都有相应的微生物能够降解它。但是,污染物的产生速度往往高出自然环境中微生物的降解能力,仅仅靠微生物的自然分布往往不能满足高效处理污染物的目的。因此利用微生物来处理这些污染物时常常借助于工程设施来强化微生物的作用,达到及时清除污染物的目的。

反过来,一座工程设施的设计和建成并不意味着一定能够降解目标化合物,而取决于能否在工程设施中建立起稳定的、具有降解目标化合物的微生物群落。如果不能建立起这样的群

落, 工程设施不可能达到预期效果。有些工程设施建成后多年不能正常处理污染物, 除了其他人为因素以外, 主要是微生物群落没有构建成功。一种有效的处理工艺一般是以最大限度地发挥微生物的作用为原则进行设计的, 所以设计这些工艺需要微生物学背景知识, 需要了解降解目标污染物的微生物有什么特点、需要什么生活条件等, 现有的很多处理工艺都是以充分的微生物学为背景设计出来的。SHARON (Single reactor system for High activity Ammonia Removal Over Nitrite) -Anammox 工艺和 CANON (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) 工艺的发明就是典型事例。1995 年荷兰 Delft University of Technology 一个课题组在反硝化流化床中首次发现铵厌氧氧化过程 (Anammox), 随后证实这是一个微生物学过程。基于对微生物学过程的认识, 课题组于 1997 年获得 SHARON-Anammox 工艺的专利, 2001 年投入实际运行(参考 <http://www.anammox.com/research.html>), 于 1999 年获得 CANON 工艺专利 (尚不能投入实际运行)。如果不了解铵厌氧氧化的微生物过程, 不可能产生 SHARON-Anammox 和 CANON 原创工艺。因此, 就污染物的微生物处理技术而言, 环境微生物学与环境工程学是彼此依赖、密不可分的。这也是为什么将环境微生物学设置为环境科学、环境工程、给水排水等本科专业主要课程的原因。当然, 有些工程设施或辅助设施是为物理或化学方法处理污染物而设计的, 不在本课程的研究范围内。

鉴于微生物学与工程学的关系, 环境微生物学的主要内容依然是微生物学, 只是侧重点和应用目的不同而已。就侧重点而言, 环境微生物学强调微生物群落的作用而不是某一个微生物种的作用; 强调环境条件与群落演变和形成之间的关系; 强调微生物之间、微生物与其他生物之间的相互作用和系统功能。就应用目的而言, 环境微生物学重点研究微生物在环境污染治理方面的作用及其产品开发, 有害微生物或代谢产物的清除和防治等。

1.3 微生物的基本特点

微生物具有如下特点: ①个体细胞小, 一般以 μm 和 nm 计量 (见图 1-2)。但也有例外, 例如生活于红海中的热带鱼肠道内的细菌 *Epulopiscium fishelsoni* 为 $600\mu\text{m} \times 80\mu\text{m}$ (见图 1-3); 许多真菌的子实体、蘑菇等都为肉眼可见, 某些藻类能生长几米长。②繁殖快, 在实验室培养条件下细菌几十分钟至几小时就可以繁殖一代, 但是在自然环境中远没有这么快。③代谢类型多、活性强。④极具多样性, 包括营养类型多样性、呼吸类型多样性、代谢产物多样性、遗传多样性等。⑤适应性强, 分布广, 几乎遍布于所有能够支撑生命的环境中 (包括一些如高盐、高压、低温、高温、高 pH 值、低 pH 值等极端环境)。

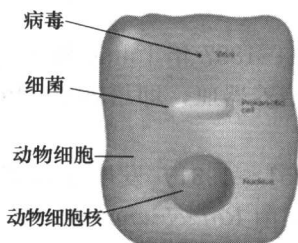


图 1-2 不同生物类型细胞大小的比较

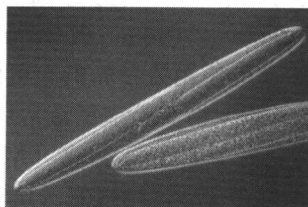


图 1-3 细菌 *E. fishelsoni* (引自 Angert 等, 1993)

1.4 微生物学发展简史

微生物学成为一个学科，首先依赖于研究工具的发明和研究方法的发展，微生物学的发展时刻都与人类生活密切相关。简要回顾一下微生物学发展历史可以帮助我们把握微生物学发展的脉络，了解微生物学的全貌。

人类利用微生物的历史可以追溯到数千年之前，但是没有显微镜的发明这些活动只能是现象的观察、重复和经验的积累。

1676年，荷兰商人列文虎克（Antoni van Leeuwenhoek）用自制的简单显微镜（见图1-4）来观察牙垢、雨水、井水和植物浸液后，发现其中有许多运动着的“微小动物”，并用文字和图画记载了人类最早看见的“微小动物”——细菌的不同形态（球状、杆状和螺旋状等），从此人们有了可以观察过去从未见过的另一个生物世界的工具。但是在显微镜发明以后约150年时间里，人们虽然能够“看到”微生物，但是知识积累的很慢，远远不能成为一门科学。

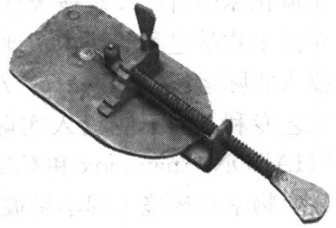


图1-4 列文虎克自制的显微镜

19世纪下半叶，德国植物学家 Ferdinand Cohn（1828~1898）利用当时最好的显微镜研究单细胞生物，发现耐热的细菌——芽孢杆菌，从而解释为什么煮沸并不总能避免细菌生长的现象。进一步研究芽孢杆菌的分类，从而奠定了细菌分类学基础。用棉塞塞住试管以避免污染的简单方法也是 Ferdinand Cohn 发明的。

同时期，法国化学家巴斯德（Louis Pasteur，1822~1895）用著名的鹅颈瓶实验推翻了之前盛行的“自然发生说”，指出食物的腐败是由微生物引起的。鹅颈瓶实验导致有效的灭菌方法和罐藏食品方法的形成。巴斯德证明了乳酸发酵是由微生物完成的，揭示了酒精发酵与氧气之间的关系，从而奠定了微生物生理学基础。他还发明了防治炭疽病、鸡霍乱、狂犬病的疫苗，成为病理学奠基人之一。

科赫（Robert Koch，1843~1910）是疾病种质学说的创始人，科赫法则（Koch's postulation）是他最为著名的成就之一，至今依然被医学界奉为经典，其主要内容是：致病菌存在于感病生物（动物或人）体内但不存在于健康生物体内；必须得到致病菌的纯培养；致病菌的纯培养一旦接种到感病生物体内能够出现典型病症；从感病生物体内能重新分离到与原始致病菌相同的纯培养。科赫用固体培养基获得细菌的纯培养。科赫对结核病、结核杆菌的研究是他对医学的另一重大贡献。

1884年 Hans Christian J. Gram 发明了革兰氏染色法；1887年 Julius Richard Petri 在 Koch 的实验室里使用一种新的、可使用半固体培养基的培养器皿，即培养皿（Petri dish）。这些都是今天微生物实验室里最常用的方法和器皿。

荷兰微生物学家贝耶林克（Martinus Beijerinck，1851~1931）发明了富集培养方法（Enrichment culture），用缺氮的培养基富集培养获得根瘤菌 *Rhizobium* 纯培养。用选择性过滤方法发现烟草花叶病不是由细菌引起的，因此被认为是病毒学的奠基人。

俄罗斯微生物学家维诺格拉德斯基（Sergei Winogradsky，1856~1953）被认为是微生物生态学的创始人。他首先使用土柱富集微生物并分离到自生固氮菌、硝化细菌、硫化细菌

菌、厌氧梭菌等，该富集装置后来被命名为“维氏土柱”，至今仍是微生物生态学课程中必讲的内容。他研究并证明 *Beggiatoa* 能利用 H_2S 为能源、 CO_2 为碳源，并提出化能自养 (Chemolithotrophy) 概念。

至 19 世纪后期，微生物学中一些基本研究方法和技术诸如灭菌方法、加压灭菌器 (Chamberland, 1884)、纯培养技术、革兰氏染色法、培养皿和琼脂作凝固剂等已经完成。

20 世纪是分子微生物学时代。1953 年 Francis H. C. Crick 和 James D. Watson 提出 DNA 双螺旋结构，开启了整个生物学新世纪的大门，根本性地改变了微生物学面貌和发展方向。4 年以后，Crick 在一篇名为“On Protein Synthesis”的文章中指出 DNA 在合成蛋白方面的重要性，并提出“序列”的概念和“中心法则”，奠定了分子生物学的框架；接着 Crick 及其合作者于 1960 年发现 mRNA 及其在蛋白合成方面的作用，解答了遗传信息从 DNA 准确地翻译成蛋白的细节。他们和 Wilkins 三人共同获得 1962 生理和医学诺贝尔奖。1961 年 Marshall Nirenberg 发现遗传密码，在随后的 5 年中编码所有氨基酸的密码全部被解译出来，Nirenberg、Khorana 和 Robert W. Holley 共同分享 1968 年生理和医学诺贝尔奖。同年，François Jacob 和 Jacques Monod (也是 Francis H. C. Crick 的合作者) 提出遗传调节机理。1969 年 Jonathan Beckwith 首次分离出细菌基因。1970 年 Howard Temin 和 David Baltimore 各自独立地发现反转录酶 (Reverse transcriptase)；同年 Hamilton O. Smith 首次发现内切酶，为人们对 DNA 进行操作、分析提供了工具，获得 1978 诺贝尔医学奖。1972 年 Paul Berg 首次构建了重组 DNA，与 Walter Gilbert 和 Frederick Sanger 分享 1980 年度诺贝尔化学奖。1973 年 Herbert Boyer 和 Stanley N. Cohen 建立了 DNA 重组技术。1977 年 Frederick Sanger 发明了 DNA 测序方法，他及他的同事 Paul Berg 和 Walter Gilbert 因此共同获得 1980 年化学诺贝尔奖。1977 年 Carl Woese 基于对 RNA 序列的多年研究提出微生物系统发育结构，提出除病毒以外的生物分类系统 (见图 1-1)。1983 年 Kary B. Mullis 发明了 DNA 体外扩增 (PCR) 技术，因此获得 1993 年化学诺贝尔奖。在此之前，人们主要依靠内切酶和寡核苷酸探针来研究 DNA。至此，分子微生物学理论和方法基本建立，分子微生物学和分子微生物生态学成为一门专门的学科。20 世纪 80 年代以后，人们主要致力于应用这些理论和方法来解决人们关心的问题。

对于分子微生物生态学而言，Carl Woese 的三域系统建立是一项划时代的成就。今天，我们利用微生物系统演化方面的信息，建立了免培养方法并用来解析环境中有哪些微生物及其所起的作用。没有系统演化信息，不可能有今天的分子微生物生态学。

第 2 章

微生物形态和结构

微生物的形态和结构是认识微生物生命过程的基础。微生物的生命过程包含各种必须的生化反应，这些生化反应要在一个细胞中完成，这就要求细胞具有一定的结构来保证各种反应在恰当的地点以适当的反应程度有秩序地进行，同时保证完成这些生化反应所需要的信息能够准确地保存和传递。此外，在生命过程中细胞需要不断地、有序地与其周围环境之间进行物质、能量、信息交流，这同样要求细胞具备一定的结构，以既保证交流的有序性又保证细胞的完整性。

微生物的形态和结构具有一定的稳定性，因此也是识别和辨别微生物的依据之一。但是，与高等植物和动物相比，微生物的形态和结构相对简单，仅仅凭借形态结构方面的差别不足以区分众多的微生物。很多属于完全不同类型的微生物的形态和结构可能非常相似，甚至相同。如果要区分形态结构相似的不同微生物，需要进一步测定生物化学指标和系统发育信息。因此，微生物的鉴定、分类比高等植物和动物来得复杂。

微生物根据其是否具有细胞形态可分为细胞型和非细胞型两类。病毒是不具细胞结构的微生物。凡具有细胞结构的微生物称为细胞型微生物，按照系统发育进一步分为真细菌（细菌）、古菌和真核生物，其中真细菌、古菌虽然在系统发育上是两种完全不同的微生物类群，但它们均不具备完整的细胞核，仅含有裸露的 DNA 形成的“核区”，在细胞形态和结构上基本一致，因此称为原核生物。原核微生物包括细菌、放线菌、蓝细菌、支原体、立克次氏体、衣原体和古生菌等。具完整细胞核的真核微生物包括真菌、藻类和原生动物。

2.1 原核微生物

2.1.1 细菌

细菌在自然界中分布广泛，与人类关系十分密切。

1. 细菌的形态和大小

细菌是单细胞的微生物，一个细胞就是一个完整生命体。细菌个体微小，须借助光学或电子显微镜才能观察。不同细菌的形态千差万别，但就单个细胞而言，细菌的基本形态可分为球状、杆状、螺旋状三种，分别称为球菌、杆菌、螺旋菌（见图 2-1）。

(1) 球菌 (Coccus) 球菌呈圆球形或近似球形，直径一般为 $0.5\sim 1\mu\text{m}$ 。细菌可因分裂平面不同以及分裂后菌体间相互粘连程度不同形成不同的堆叠方式，如双球菌 (*Diplococcus*)、

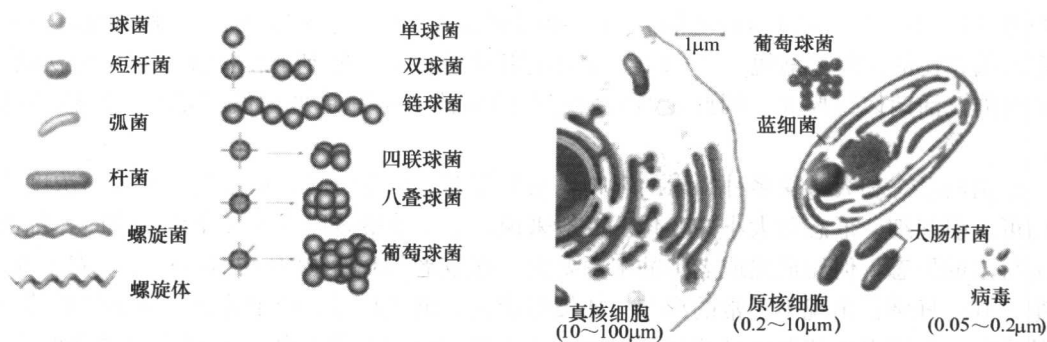


图 2-1 细菌的形态和大小

链球菌 (*Streptococcus*)、四联球菌 (*Tetrad*)、八叠球菌 (*Sarcina*)、葡萄球菌 (*Staphylococcus*)。

(2) 杆菌 (*Bacillus*) 杆菌细胞多呈直杆状，也有的稍弯曲，分散存在或呈链状排列。各种杆菌的长度与直径比例差异很大，大小一般分为三种类型：小型杆菌($(0.2\sim0.4)\times(0.7\sim1.5)\mu\text{m}$)；中型杆菌($(0.5\sim1)\times(2\sim3)\mu\text{m}$)；大型杆菌($(1\sim1.25)\times(3\sim8)\mu\text{m}$)。杆状菌是细菌中种类最多的，工农业生产中所用的细菌大多是杆菌。

(3) 螺旋菌 (*Spirilla*) 螺旋菌细胞呈弯曲杆状，细胞壁坚韧较硬，常以单细胞分散存在。根据其弯曲情况可分为弧菌、螺旋菌。前者只有一个弯曲，大小与杆菌相似；后者有2~6个弯曲，大小为 $(0.3\sim1)\times(1\sim50)\mu\text{m}$ 。若菌体弯曲螺旋圈数大于6个，则通称为螺旋体。

除了以上三种基本形态以外，还有其他形态的细菌。如柄杆菌属 (*Caulobacter*)，细胞呈杆状或梭状，并具有一根特征性的细柄，可附着于基质上 (见图 2-2)。又如球衣菌 (*Sphaerotilus*) 能形成衣鞘，杆状的细胞在衣鞘内呈链状排列而成为丝状 (见图 2-3)。

支原体 (*Mycoplasma*) 无细胞壁，因此细胞具有高度的多形性，即使在同一培养基中也常可出现不同大小的球状、环状及不规则的多边形态。支原体在琼脂平板上呈典型的“煎鸡蛋”菌落特征 (见图 2-4)。放线菌的细胞形态因生长阶段不同而有所差异 (详见 2.1.2 节)。

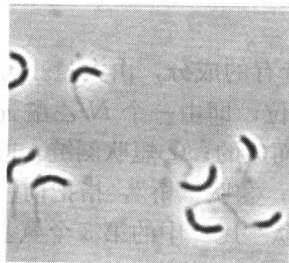


图 2-2 柄杆菌

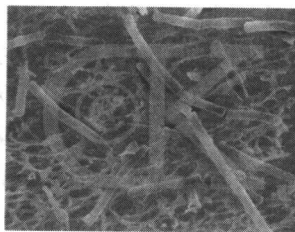


图 2-3 球衣菌

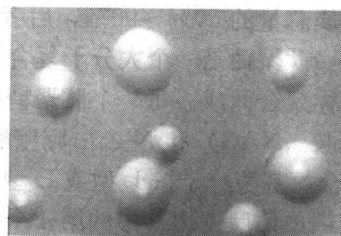


图 2-4 支原体在平板上的菌落特征

细菌的形态和大小随种类不同差别很大，有的与最大的病毒粒子相近，显微镜下仅勉强

可见,有的细菌长度可达 $600\mu\text{m}$ (0.6mm),肉眼可见(一般肉眼分辨率为 0.5mm),但大多数细菌 $(1\sim 2)\times(10\sim 20)\mu\text{m}$ 之间。同一种细菌的大小同样会有差异。一般来说,经干燥固定的菌体比活菌体要缩短 $1/3\sim 1/4$;采用衬托染色法时观察到的菌体比普通染色法的大,甚至可能比活菌体还要大。因此,通常所记载的菌体大小都是平均值或是有代表性菌株的值。

细菌的形态和大小受多种因素的影响,培养温度、培养时间、培养基的组成与浓度的改变均可能引起细菌形态和大小的变化。一般来说,处于幼龄阶段或生长条件适宜时,细菌表现出特定的形态,但比成熟或老龄的细菌要大。在较老的培养物中或不适宜的培养条件下,细胞尤其是杆菌常出现不正常的形态,如细胞膨大、出现梨形、产生分支、菌体伸长等不规则的形态。若将老的培养物转移到新鲜培养基中或适宜的培养条件下又可恢复原来的形态。培养基中渗透压的增加也会导致细胞变小。

2. 细菌细胞的结构

原核细胞的结构包括基本结构和特殊结构,前者包括细胞壁、细胞膜、核质体、核糖体、易染颗粒等,为多数原核细胞所共有;后者如鞭毛、纤毛、荚膜、芽孢等,仅为部分细菌或一般细菌在特殊环境下才有。典型细菌细胞具有如下结构(见图 2-5)。

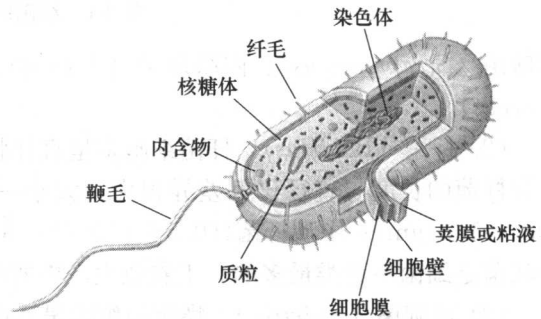


图 2-5 细菌细胞模式结构

(1) 细胞壁 (Cell wall) 细胞壁是位于细胞表面,内侧紧贴细胞质膜的一层具有一定硬度和韧性,略具弹性的外被结构,约占细胞干重的 $10\%\sim 25\%$ 。

细菌细胞壁的主要功能有:①维持细胞形状,保护原生质体免受渗透压等外力引起破裂;②阻挡大分子物质如酶蛋白或某些抗生素进入细胞,使细胞免受伤害;③为细胞生长、分裂和鞭毛运动所必需;④赋予细胞特定的抗原性、致病性及对抗生素和噬菌体的敏感性。

原核生物的细胞壁除了具有以上的共性以外,不同细菌的细胞壁的化学组成和结构有所不同。通过革兰氏染色法 (Gram staining) 可将细菌分为革兰氏阳性 (G^+) 和革兰氏阴性 (G^-) 两大类。

1) G^+ 细胞壁。 G^+ 细胞壁以肽聚糖 (Peptidoglycan) 和磷壁酸为主,前者可占细胞壁物质总量的 $50\%\sim 90\%$,后者的含量一般小于 50% (见图 2-6a)。

肽聚糖是一个大分子复合物 (见图 2-7),是原核微生物所特有的成分,由大量小分子单体聚合而成。每一个肽聚糖单体含有三个组成部分:①双糖单位,即由一个 N -乙酰葡萄糖胺 (NAG) 和 N -乙酰胞壁酸 (NAM) 通过 β -1,4-糖苷键连接而成的;②短肽侧链,即由 4 个氨基酸分子按 L 型或 D 型交替连接在 NAM 上而形成的短肽;③肽“桥”,指把前一肽聚糖单体肽“尾”中的第 4 个氨基酸 L-Ala 与后一个肽聚糖单体肽“尾”中的第 3 个氨基酸 L-Lys 通过肽键连接起来的短肽。

磷壁酸 (Teichoic acid) 又名垣酸,是由多个核糖醇 (核糖醇型) 或甘油 (甘油型) 以磷酸二酯键连接而成的一种酸性多糖,为大多数 G^+ 菌所特有。磷壁酸主要有两类:壁磷壁酸和膜磷壁酸。前者与肽聚糖分子间发生共价结合,其含量与培养基的成分有关,可用稀

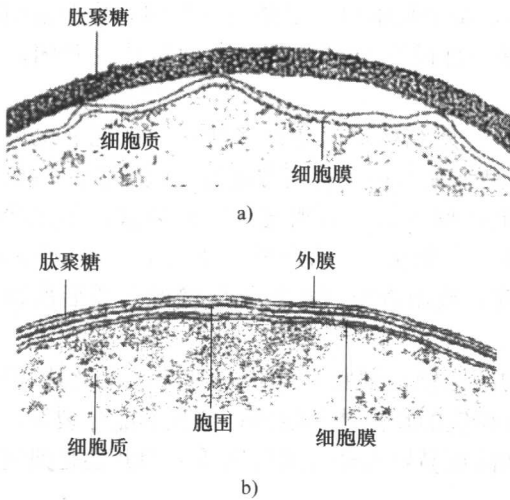


图 2-6 革兰氏阴性和阳性细菌细胞壁结构
a) 阴性细菌细胞壁 b) 阳性细菌细胞壁

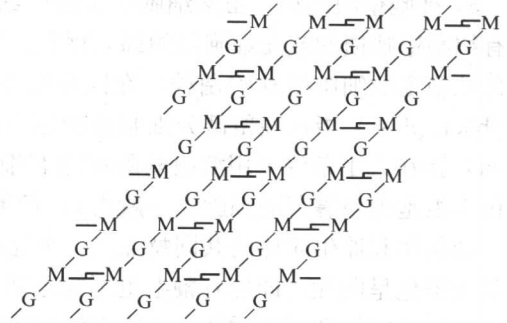


图 2-7 肽聚糖结构示意图
M—N-乙酰胞壁酸 G—N-乙酰葡萄糖胺

酸、碱提取；后者与细胞膜上的磷脂共价结合，可用 45% 热酚水提取。

磷壁酸的作用：① 与环境中的 Mg^{2+} 等阳离子结合，提高这些离子在细胞表面的浓度，以保证细胞膜上一些合成酶的活性需要；② 保证革兰氏阳性致病菌与宿主细胞的粘连；③ 赋予革兰氏阳性菌以特异的表面抗原；④ 提供某些噬菌体以特异的吸附受体；⑤ 调节细胞内细胞自溶素的活力，防止细胞因自溶而死亡。

2) G^- 细胞壁。 G^- 细胞壁的组成和结构比 G^+ 复杂（见图 2-6b）。其主要成分为：脂多糖（LPS）、磷脂、脂蛋白、肽聚糖。

G^- 的肽聚糖含量很少，仅占细胞壁干质量[⊖]的 5%~10%。肽聚糖单体结构与 G^+ 相同，但短肽尾中的 3 号位上 L-Lys 往往被其他二氨基酸取代，如 *E. coli* 的肽聚糖中的二氨基庚二酸（DAP）取代了 L-Lys，并与相邻短肽尾 4 号位上的 D-Ala 直接连接。 G^- 细菌中只有 30% 的肽聚糖亚单位彼此交织连接，网状结构比较疏松，不如 G^+ 细菌的坚固。

脂多糖（LPS）是 G^- 细胞壁的特有和主要成分，位于 G^- 细菌细胞壁的最外层，由 O-侧链、核心多糖和类脂 A 三个部分组成。其主要功能有：① 一些致病菌内毒素的物质基础；② 与磷壁酸相似可与环境中的 Mg^{2+} 等阳离子结合，提高这些离子在细胞表面的浓度；③ 是许多噬菌体的吸附位点；④ 具有控制某些物质进出的部分选择性功能，对细胞起保护作用；⑤ 决定了 G^- 细菌表面抗原的多样性。

LPS 分子结构十分复杂，分子量在 10000D 以上，其化学组成因种而有一定的差别。类脂 A 的种类较少（约 7~8 种），在核心多糖区和 O-侧链中具有一些独特的多糖，如 2-酮-3-脱氧辛糖酸。O-侧链种类极多，不同种或类型的细菌的 O-侧链组成和结构均有变化，构成了各自的特异抗原，称 O-抗原。O-抗原的差异在免疫学和临床诊断中具有重要价值。

在 G^- 细菌的脂多糖和磷脂层外膜上还嵌合有多种蛋白，称外膜蛋白。多数外膜蛋白的

⊖ 细胞干质量是指采用高温（105℃）烘干或低温真空干燥或红外线快速烘干等方法将细胞干燥至恒重后的质量。

功能还不清楚，其中研究得较为清楚的有孔蛋白。每个孔蛋白分子是由三个相对分子量相同的蛋白亚基组成的一种三聚体跨膜蛋白，中间有一直径约 1nm 的孔道，通过孔的开闭，可阻止某些物质进入细胞。

3) 细胞壁缺陷型。虽然细胞壁是细菌细胞的一般结构，但在某些特殊的情况下也可发现有细胞壁缺损的或无细胞壁的细菌存在。①L 型细菌指在实验室中通过自发突变而形成的遗传性稳定的细胞壁缺陷菌株，在固体培养基上就形成呈“煎鸡蛋状”微菌落；②球状体 (Sphaeroplast) 指还残留部分细胞壁的原生质体，一般由 G^- 菌形成；③原生质体 (Protoplast) 指在人工条件下用溶菌酶除原有细胞壁，或用青霉素抑制细胞壁的合成后所留下的仅由细胞膜包裹着的细胞，一般由 G^+ 菌形成。

球状体和原生质体的共同特点是：无完整的细胞壁；细胞呈球状；对渗透压极其敏感；革兰氏染色呈阴性；即使有鞭毛也不能运动；对相应的噬菌体不敏感；细胞不能分裂等。此外，由于球状体和原生质体比正常有细胞壁的细菌更易导入外源遗传物质，因此还是研究遗传规律和进行原生质体育种的良好材料。

(2) 细胞质膜 (Cytoplasmic membrane) 和间体 (Mesosome)

1) 细胞质膜。细胞质膜又称质膜 (Plasma membrane)、内膜 (Inner membrane) 或细胞膜 (Cell membrane)，是紧贴在细胞壁内侧、包围着细胞质的一层柔软而富有弹性的半透性薄膜 (见图 2-8)，约占干重的 10% 左右。其主要成分为磷脂 (20%~30%) 和蛋白质 (50%~70%)。

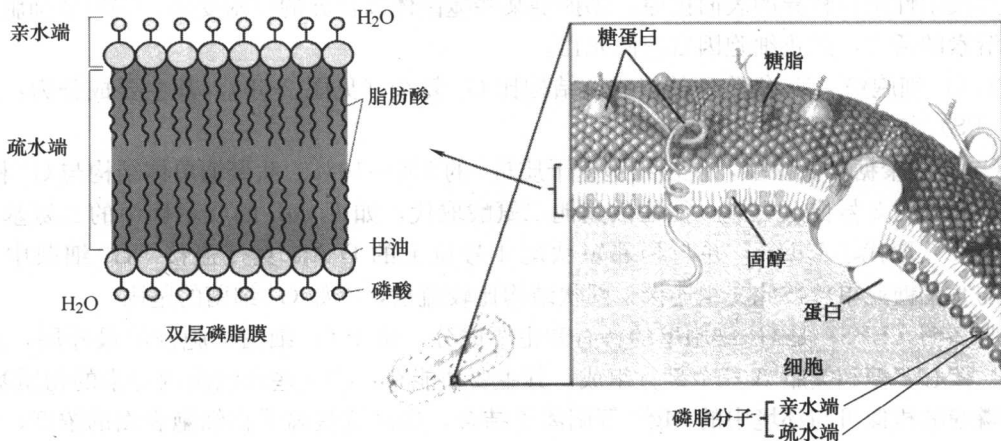


图 2-8 细胞膜结构

细胞膜厚约 7~8nm，由双层磷脂构成骨架，磷脂的亲水端向外，疏水端向内。脂质骨架中嵌埋有许多具有不同功能的蛋白。由于磷脂具有极性，镶嵌于膜上的蛋白在膜内外常常是不对称的。蛋白和磷脂都具有一定的运动性 (流动性)，以便执行其相应的生理功能。生物细胞膜的结构具有很高的相似性。细胞膜因这些特点被归纳为“流动镶嵌模型”。

细胞膜的主要功能概括为：①控制细胞内外物质的运送、交换；②维持细胞内正常渗透压；③能量代谢、合成代谢的场所；④鞭毛的着生点和提供其运动所需的能量。

2) 间体。间体是由细胞膜内褶形成的一种管状、层状或囊状结构。每个细胞一个或少数几个。其功能主要是促进细胞间隔的形成，并与 DNA 的复制及其相互分离有关。间体多

见于 G⁺ 菌中, 如枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)、粪链球菌 (*Streptococcus faecalis*)。

(3) 细胞质及其内含物 细胞质是细胞膜内除核质体以外的物质。其主要成分为核糖体、贮藏物、酶类、中间代谢物、无机盐等(见表 2-1)。

表 2-1 细菌细胞质中的内含物

内含物	存在于	组成	功能	
非单位膜被包裹的	聚 β-羟基丁酸	许多细菌	主要是 PHB	贮备碳源和能源
	硫滴	H ₂ S 氧化细菌和紫硫光合细菌	液状硫	能源
	气泡	许多水生细菌	罗纹蛋白膜	浮力
	羧基化体	自养细菌	CO ₂ 固定酶	固定 CO ₂ 的部位
	绿色体	绿色光合细菌	类脂、蛋白、菌绿素	捕光中心
	碳氢内含物	许多利用碳氢化合物的细菌	包裹在蛋白质壳中内含物	能源
	磁石体	许多水生细菌	磁铁颗粒	趋磁性
无膜包裹的	多聚葡萄糖苷	许多细菌	高分子葡萄糖聚合物	碳源和能源
	多聚磷酸盐	许多细菌	高分子磷酸盐聚合物	磷酸盐贮藏物
	藻青素 (Cyanophycin)	许多蓝细菌	精氨酸和天冬氨酸的多肽	氮源
	藻胆蛋白体	许多蓝细菌	捕光色素和蛋白质	捕捉光能

1) 核糖体 (Ribosome)。核糖体是细胞质中的一种核糖核蛋白的颗粒状物质, 由核糖核酸 (60%) 和蛋白质 (40%) 组成, 常以游离状态或多聚核糖状态分布于细胞质中。原核生物核糖体的沉降系数为 70S (S 为沉降系数, 是表示蛋白分子大小的单位)。70S 核糖体可进一步解离为 30S 和 50S 两个不同组分的亚基。较大 50S 亚基又可解离为一个 23S RNA 和一个 5S RNA 及 50 个特殊蛋白质; 较小的 30S 亚基, 它由一个 16S RNA 分子和约 20 个特殊的核糖体的蛋白质所组成。核糖体是蛋白质的合成场所, 其数量多少与蛋白质合成直接相关, 往往随菌体生长速率而变, 快速繁殖时核糖体含量高, 反之则低。

2) 气泡 (Gas vacuoles)。气泡是某些光合细菌和无鞭毛运动水生细菌中充满气体的泡囊状内含物, 大小为 (0.2~0.1) × 75nm, 内由数排柱形小空泡组成, 外有一层约 2nm 厚的蛋白质膜包裹。其功能是调节细胞比重, 使细胞漂浮在合适水层中以获取光能、O₂ 和营养物质。

3) 羧酶体 (Carboxysome)。羧酶体又称羧基化体, 存在于部分化能自养细菌内的多角形细胞内含物, 其大小约为 10nm, 内含 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶, 在自养细菌的 CO₂ 固定中起关键的作用。在一些光合细菌, 如蓝细菌 (*Synechococcus lividus*) 及化能自养菌, 如硝化杆菌科 (*Nitrobacteraceae*) 等细胞中均可找到羧酶体。

4) 贮藏物 (Reserve materials)。贮藏物是一类由不同化学成分累积而成的不溶性沉淀颗粒, 其功能是贮藏细胞的营养物或代谢物。其成分可为糖类、脂类、含氮化合物及无机物等。①聚羟基丁酸, 存在于许多细菌细胞质内的类脂性碳源类贮藏物, 不溶于水, 可溶于氯仿, 可用尼罗蓝或苏丹黑染色, 具有贮藏能量、碳源和降低细胞内渗透压的作用。②异染颗粒, 最早在迂回螺菌 (*Spirillum volutans*) 中发现, 又称迂回体。可用美蓝或甲苯胺蓝染成