

微生物学 进展

樊庆笙 陈华癸主编

农业出版社

微生物学进展

樊庆笙 陈华癸 主编

农业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 兰州新华印刷厂印刷

850×1168毫米32开本 14.5印张 1插页 372千字

1984年7月第1版 1984年7月甘肃第1次印刷

印数 1—6,800册

统一书号 16144·2570 定价 2.75元

前 言

一九八〇年六月农业部委托南京农学院举办全国高等农业院校微生物学讲习班，邀请高等院校和微生物学科研单位教授和专家二十余人讲授微生物学基础理论和研究技术的近代成就。基础理论部分系统地包括了微生物形态、分类、生理、代谢、生态、遗传等专题，并另列了化能无机营养，氮素循环和生物固氮三个专题。研究技术方面包括血清学反应，电子显微镜技术，气相色谱法和 ^{15}N 示踪技术等专题。使参加讲习班的各院校教师得以深入学习，系统地掌握现代微生物学的基础知识和基本技术，在各院校微生物学课程的教学实践中，能充实统编教材《微生物学》（农业出版社1979年12月出版）的内容，提高教学质量，发挥教学效果。为了使这些专题讲授内容能供微生物学工作者的同行，兹将其中十六个专题的内容，汇编成《微生物学进展》一书，由农业出版社作为统编教材《微生物学》的主要参考书出版。可供各大专院校微生物学教师、微生物学科研工作者和微生物学专业学生的参考。汇编内容有错误或遗漏之处，以及编排上的重复和不妥，请读者指正。

编 者

1981年3月

目 录

一、细胞结构和功能	陈华癸 (华中农学院) (1)
(一) 细胞膜	(2)
(二) 细胞器	(6)
(三) 原核细胞构造	(11)
1. 核区	(11)
2. 质膜和中间体	(12)
3. 原核细胞的壁和革兰氏染色反应	(13)
4. 质周间隙和质周酶	(18)
5. 细菌的运动器官	(19)
6. 荚膜和粘液层	(21)
二、细菌分类	王大帮 (中国科学院微生物研究所) (23)
(一) 原核生物界	(24)
(二) 真细菌亚界	(24)
1. 薄壁菌门	(24)
2. 厚壁菌门	(38)
3. 柔膜体门	(41)
(三) 古细菌亚界	(42)
三、放线菌	阮继生 (中国科学院微生物研究所) (46)
(一) 放线菌的形态	(47)
(二) 放线菌的分类地位和分类原则	(51)
(三) 放线菌属和种的鉴定方法	(53)
(四) 放线菌主要科属	(61)
(五) 有关抗菌素的筛选	(74)
四、病毒	田 波 (中国科学院微生物研究所) (81)
(一) 病毒的概念	(81)
(二) 病毒的形态结构	(84)
(三) 病毒的化学结构	(88)

(四) 病毒的增殖	(97)
(五) 病毒的感染和防治	(105)
五、真菌的形态和分类	
..... 余永年 (中国科学院微生物研究所)	(110)
(一) 真菌的形态	(111)
(二) 真菌的分类	(134)
1. 真菌分类依据	(134)
2. 真菌在生物界的地位	(141)
3. 真菌的分类系统	(145)
4. 真菌的起源和演化	(151)
附录 安斯沃思 (Ainsworth 1973) 分类系统 (到目)	(153)
六、原生动物	童远瑞 (南京大学) (158)
(一) 原生动物的形态学	(158)
(二) 原生动物的生态学	(164)
(三) 原生动物的生殖及孢囊的形成	(165)
(四) 代表动物	(166)
(五) 土壤中常见的原生动物	(175)
七、微生物代谢	焦瑞身 (中国科学院上海植物生理研究所) (179)
(一) 糖代谢主要途径	(179)
1. 糖解途径	(179)
2. 糖代谢途径中的调节	(187)
(二) 异养细菌糖代谢的比较	(190)
1. 只具有E·D途径的假单胞菌属等	(190)
2. 肠道菌科	(193)
3. 好氧芽孢杆菌属	(195)
4. 芽孢梭菌属	(195)
5. 乳酸细菌群	(201)
6. 丙酸菌	(203)
(三) 代谢调节	(205)
1. 代谢调节控制在工业发酵上的应用	(205)
2. 抗菌素发酵中的调节控制问题	(211)

3. 反馈抑制和变构作用	(214)
4. 结束语	(221)
八、微生物遗传	范云六 (中国科学院微生物研究所) (225)
(一) 遗传的物质基础	(225)
(二) 基因表达	(229)
(三) DNA的突变	(232)
(四) 基因重组 (Gene recombination)	(240)
(五) 基因的调节控制	(247)
九、微生物生态学进展概况	
.....王大珍 谢淑敏 王修垣 (中国科学院微生物研究所) (250)	
(一) 污染环境微生物生态	(252)
(二) 水处理微生物生态	(255)
(三) 异常极端环境微生物生态	(258)
(四) 微生物的地球化学作用	(268)
(五) 研究微生物生态的方法	(273)
(六) 宇宙微生物生态	(274)
十、化能无机营养菌	王祖农 (山东大学微生物研究所) (281)
(一) 什么叫做化能无机营养菌	(281)
(二) 甲基营养菌能不能算是化能无机营养菌?	(283)
(三) 主要化能无机营养菌	(284)
(四) 研究化能无机营养菌的意义	(289)
(五) 有机质与化能无机营养菌的关系	(291)
(六) 二氧化碳的固定	(295)
(七) 无机基质氧化与能量偶联	(299)
十一、氮素循环	
.....E.G. Mulder (荷兰魏琴宁金农业大学土壤微生物系) (304)	
(一) 氮素循环	(304)
(二) 固氮作用	(306)
(三) 硝化作用	(317)
(四) 反硝化作用	(321)
十二、生物固氮	樊庆笙 (南京农学院) (329)

(一) 固氮微生物	(330)
(二) 生物固氮作用的机理	(333)
(三) 共生固氮	(345)
(四) 联合固氮	(350)
(五) 固氮基因转移	(351)
(六) 展望	(352)
十三、血清学反应	杜念兴 (南京农学院) (355)
(一) 概述	(355)
(二) 凝集反应 Agglutination	(360)
(三) 沉淀反应 (Precipitation reaction)	(371)
(四) 荧光抗体技术 (Fluorescent Antibody Technique)	(381)
十四、电子显微镜技术	
..... 顾新运 (中国科学院南京土壤研究所)	(389)
(一) 概述	(389)
(二) 电子显微镜的原理及其构造	(390)
(三) 土壤及生物样品的制备方法	(395)
(四) 扫描电子显微镜、电子探针的原理及其应用	(397)
(五) 扫描电子显微镜和电子探针的应用	(400)
十五、气相色谱法	徐瑞薇 (中国科学院南京土壤研究所) (403)
(一) 概述	(403)
(二) 气相色谱柱	(406)
(三) 检测器	(410)
(四) 气相色谱操作条件的选择	(415)
(五) 气相色谱的定性和定量分析	(422)
(六) 应用实例	(427)
十六、 ^{15}N 示踪技术	
..... 邢光熹 (中国科学院南京土壤研究所)	(432)
(一) 富集 ^{15}N , 贫化 ^{15}N 和 $\delta^{15}\text{N}$ 的应用	(432)
(二) ^{15}N 的测定方法	(436)
(三) 应用 ^{15}N 研究土壤氮素转化的若干示踪技术	(442)

一、细胞结构和功能

陈 华 癸

(华中农学院)

细胞是生命活动的基本单位，进行着有秩序的生命活动，包括①按照一定的遗传信息合成多种蛋白质（许多蛋白质具有专一的酶促作用，称为酶）；②在多种酶促作用下有秩序地合成全部细胞成分；③细胞成分以一定形式组织起来形成细胞构造；④细胞构造提供了细胞进行各种代谢活动的空间形式，空间形式提供了复杂的代谢活动需要的空间分隔和联系；⑤细胞在不断的代谢活动中生长和繁殖。

这里只简略地介绍细胞的构造和与特定构造相联系的功能（代谢活动）。

原核细胞和真核细胞不是截然不同的两类细胞，而是生物进化过程的两个阶段。真核细胞比原核细胞更发展，构造分化程度高，因而也比较容易认识。原核细胞处于更原始的发展阶段，分化程度低，和真核细胞的构造比较着认识，比单独探讨更清晰些。

动物细胞的最简单的模型是：细胞膜包裹着细胞浆，细胞浆内含有几种细胞器，最大的细胞器是细胞核。各种细胞器（包括细胞核）也都为了一层膜包裹着。而且，包裹整个细胞和包裹各种细胞器的膜的成分和构造基本上是一样的。这种膜的特定构造称为单位膜（unit membrane）。

(一) 细胞膜

1. 单位膜

光学显微镜下看不见膜层，电子显微镜下可以看见。用锇酸固定，在电镜下观察，单位膜体现为三层，外面两层是致密层，中间是一层透明层。三层的总厚度为7.5—10nm，中间透明层的厚度为2.5—3nm（图1—1）。

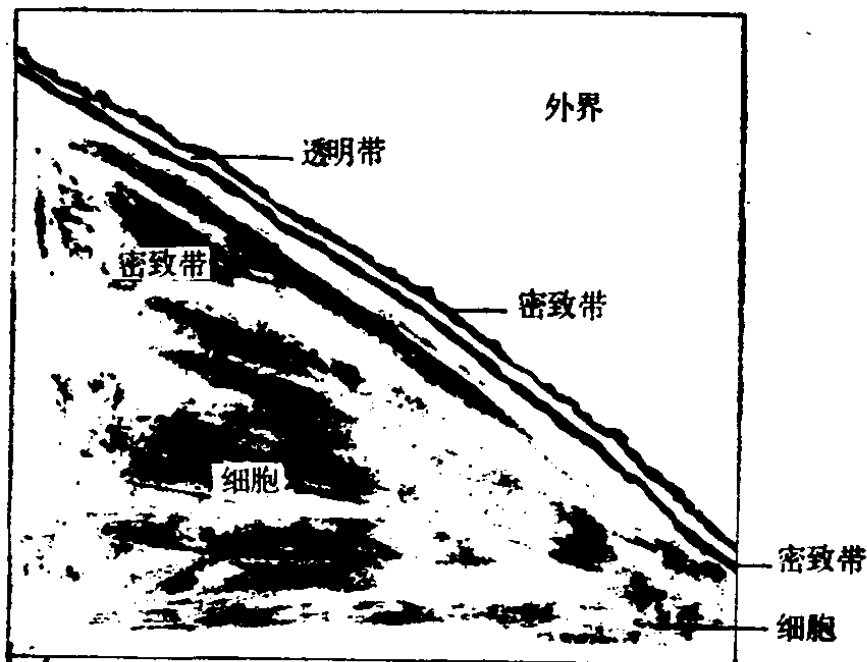


图1—1 细胞质膜

关于单位膜的成分构造，在电子显微镜应用之前，就取得了一些研究成果，早在1895年Overton研究未受精的卵细胞的透性，发现脂溶性物质很容易穿透细胞膜，不溶于油脂的物质穿透很缓慢。以后的研究发现，细胞的浆液的电导度很高，而完整的细胞电导度很低。这些研究表明细胞膜含有类脂。

红血球的内部构造简单，内部没有明显的细胞器，因此可以认为它只含有一层包在细胞外面的膜。Gorter和Grande(1925)将红血球的类脂全部抽取出来，并将它在空气、水的界面上铺开成单分子层，发现每个红血球的类脂的单分子层的面积相当于红

血球面积的两倍，因此，认为膜质是由双层类脂构成的。

研究细胞的表面张力，Harvey和Cole（1931）发现大约只有6.2 dyne/mm，但是一般油水界面的表面张力要大几十倍，因此，细胞膜类脂成分可能不是直接暴露在外面的。

Danielli（1938）提出的细胞膜的构造模型，认为是由类脂和蛋白质构成的三层膜，中间一层是双分子层的类脂，外面各有一层蛋白质，类脂的烃键与表面垂直，极性基团朝外（图1—2）。

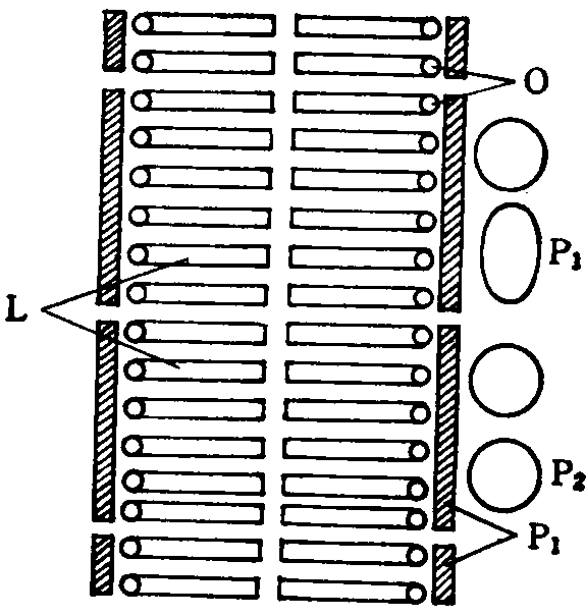
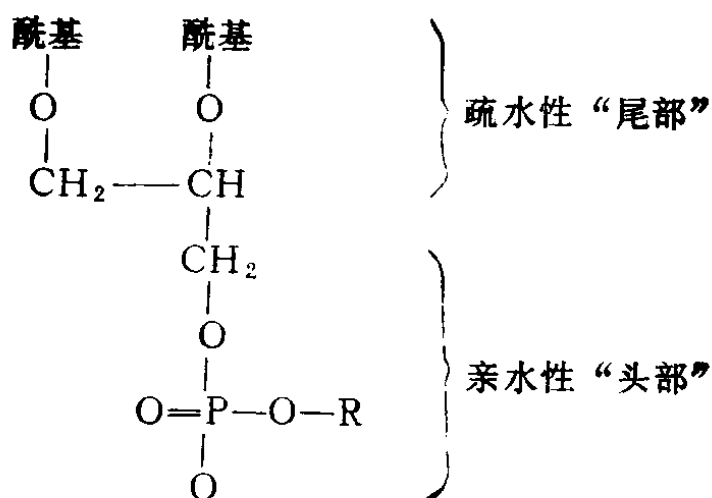


图1—2 细胞质膜构造模型

Storckenius（1949）制备了蛋白质、脂肪、水的混合物中形成的“膜”，用钨酸固定，在电镜下观察到由外面两层致密带和中间一层透明带构成的三层膜，中间一层2—2.5nm，外面两层各为2.5—5nm，很象电镜下观察到的细胞膜的形状。

单位膜中类脂的化学成分包括多种磷脂、胆固醇和其它类脂。

1972年Singer和Nicholson提出的单位膜的双分子层类脂的构造模型：整齐排列的磷脂的亲水性（极性）“头部”朝外，疏水性（非极性）“尾部”朝内：



在双分子类的脂层中掺合着穿透或不穿透的蛋白质（图 1 — 3）。

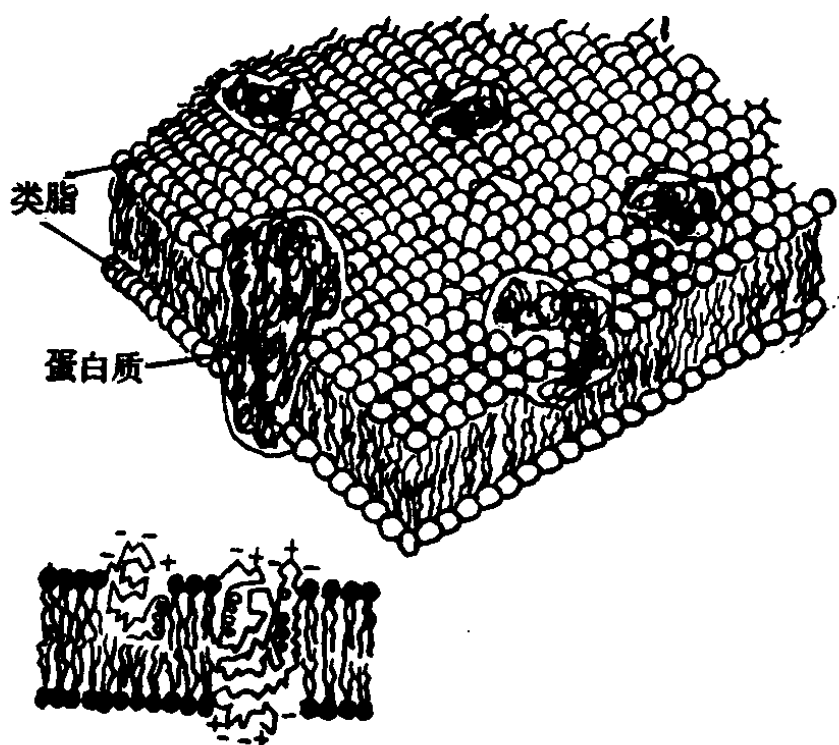


图 1 — 3 单位膜构造模型

2. 以单位膜为细胞边界的功能

以单位膜为细胞边界的构造，既起着与外界隔离的作用，又起着与外界联系的作用，小分子物质通过膜进出细胞，这种作用称为膜运输（membrane transport）。

物质进出细胞通过膜，不同的物质的通过机制是不同的。

(1) 被动扩散（Passive diffusion）：水是依靠被动运输

进出细胞的，运动的方向决定于两边的渗透压，水从低渗透压一面向高渗透压一面，同时，没有酶促作用参与。

(2)促进的扩散 (Facilitated diffusion)：运动的方向同样决定于两边的渗透压，高压向低压运动，但有酶促作用参与，在膜上有通称为透过酶的蛋白质与运输活动，表现为①专性，②运动动力学服从正常的酶动力学 (Michaelis-Menten) 曲线，溶质浓度达到一定高度后，再增加并不加快，③过程速率比根据一般被动运输计算的快，肠道杆菌吸收甘油是原核细胞的透过酶的促进的被动运输的一个例子。

(3)主动运输 (Active transport)：在主动运输中溶质逆浓度向细胞内输送，因此必需有能源消耗。无机电介质的主动运输在植物生理学里是基础知识，不讨论了。细胞吸收有机质养料，也有主动运输；这种主动运输，除消耗能外，还有特定的透酶参与，而且是专性的酶促作用。

在细菌代谢中研究得最多的是 β -半乳糖苷透酶，它是由 Lac^r 基因决定的，Lac^r-突变体缺乏这种专性透酶，就丧失吸收乳糖的属性。

乳糖和 β -半乳糖苷透酶有很强的亲和性。在细胞膜外表面，乳糖与 β -半乳糖苷透酶结合，结合后运输进细胞膜内表面，在里面利用 ATP $\rightarrow$ ADP。释放出的能消除两者的亲和性，使乳糖从 β -半乳糖透酶上释放出来。

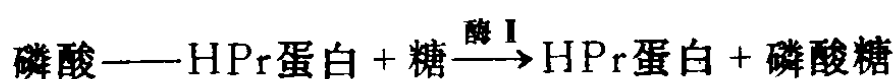
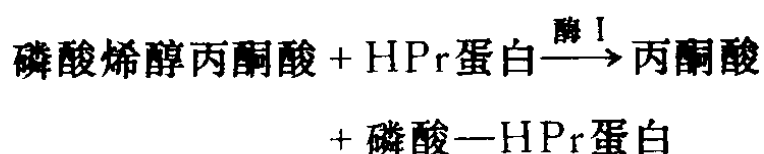
在 β -半乳糖苷透酶催化的主动运输中，如果缺乏 ATP，就变为被动运输，即细胞里的乳酸浓度不会高于细胞外的乳酸浓度。

不论是主动的还是被动的都需要与透酶起作用的运输过程，透酶究竟如何将底物从膜的外表面转到内表面的？现在并不清楚，透酶是不是就是嵌在双层类脂层中的蛋白质？看来只能是的，因为如果只是和类脂层外面的蛋白质结合，如果蛋白质本身不穿过类脂层、那么结合的物质是怎样也送不进去的。

(4)基团移位运输 (Group translocation)：这种膜运输

方法是一系列酶的作用推动的，至少包括三种蛋白：酶 I 和酶 II 以及一种称为HPr的抗热性蛋白。

“酶 I”的作用：



酶 I 和HPr蛋白是可溶性蛋白，它们对许多种糖都一样起作用。酶 I 基因的突变使*Salmonella typhimurium*丧失了吸收许多种糖的能力。酶 II 是在膜上的蛋白，它对各种糖是专性的，一个突变只改变对某种糖的吸收能力。酶 II 同时起着透酶和磷酸转移酶的作用。

在细胞内合成的有些蛋白质和酶可以通过细胞膜分泌体外。在转化作用中，DNA的片段能进入一个细胞。食菌体且能将完整的DNA键注入寄主细胞。这些大分子化合物是怎样进出细胞膜的，现在还不清楚。

(二) 细胞器

1. 核

最大的细胞器是核，核被核膜包围。核膜是由双层单位膜构成的，二层之间有一定空腔，空腔的宽窄，不同细胞差别很大。核膜上有一些孔洞，核膜除将膜内的核质与膜外的细胞浆质分开之外，还起什么作用，不知道。孔洞的作用可能是起让RNA穿过的作用。RNA由核内的DNA模板转录形成，一部分RNA在核内翻译，一部分RNA在核外翻译，因此需要有穿过核膜的孔洞（图1—4）。

核膜只是在分裂期间才是完整的。在分裂期，核膜碎裂成为许多小泡囊分散在细胞中，等到二个子细胞的核形成时再包围起

来成为子细胞核的核膜。单位膜可以分裂为成许多小泡囊，又可聚合成为一个大泡囊的性能似乎是普遍的，不只是核膜的性能。

核内有一个或几个核仁，核仁外面没有膜，核仁由RNA和蛋白质构成（1：4上下），核仁是RNA聚集的场所，但是RNA必然还要输送到核外去。核蛋白体是在核仁处合成然后再输送到核外，还是在核外合成的，还不清楚。

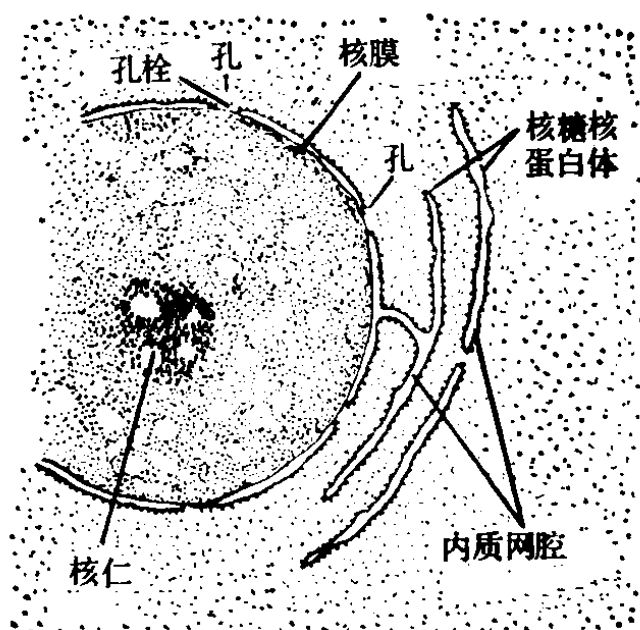


图 1—4 真核细胞核膜图解

真核细胞在分裂期形成染色体，在分裂间期是染色质，似乎分散在整个核范围内。不论染色体或染色质，DNA都和称为碱性蛋白的组蛋白（histone）结合着并也有少量酸性蛋白，结合的方式可能是组蛋白的碱性基团与DNA的酸性磷酸基团连接，酸性蛋白质与碱基连接。

关于DNA链的构造、复制和翻译现已有多处介绍，这里就不提了。据说，与DNA结合的碱性和酸性蛋白起着特异性的“掩蔽”作用，控制DNA的转录和以后的表现。这只是根据很不足的猜测。

2. 内质网和高尔基器

最先在光学显微镜下就看到了高尔基器（Golgi apparatus）。在电子显微镜下也看到与高尔基器连接的内质网（endoplasmic reticulum）。还不清楚高尔基器和内质网的关系，可能高尔基器只是内质网的伸延部分或脱离部分，起着相同的功能。

内质网是由单位膜构成的空腔。空腔中也有许多连续的膜

质，形成许多腔室。内质网的里外表面上附着许多核蛋白体。核蛋白体是合成蛋白质的场所。合成的蛋白质一部分保留在内质网外面的浆质中，在细胞内部构成细胞成分和催化酶促作用，一部分转移到内质网腔内，包括需分泌到细胞外的酶和其它蛋白质（如抗体蛋白），以及溶酶体中的各种消化酶（图 1—5）。

在内质网中贮存的要分泌到体外的蛋白质，由内质网的膜质包围起来，形成泡囊。泡囊移动到细胞边缘，然后通过胞排现象（exocytosis），排出体外。

由内质网的膜质包围消化酶而形成的泡囊称为溶酶体(Lysosome)，溶酶体和胞饮现象相结合，执行吞食细胞和消化食物的功能。

大分子，大颗粒的养料不能通过细胞膜吸收，可以通过胞饮现象吸收到体内。细胞膜内陷，将吞食的食物包起来，然后脱离细胞膜形成由单位膜包围的吞食小体。吞食小体与溶酶体都是由单位膜包围的泡囊。两泡囊融合成一个泡囊，称为消化泡。溶酶体中的消化酶消化吞食的食物，将可消化部分转化为小分子物质，透过单位膜被吸收。不能吸收的残渣再通过胞排现象排出细胞外。胞排现象是胞饮现象的翻转过程。

显然，包围消化酶的单位膜起着保护细胞本身的作用，如果没有单位膜隔离，溶酶体中的消化酶直接与细胞内的许多大分子成分接触，将要消化掉自己。

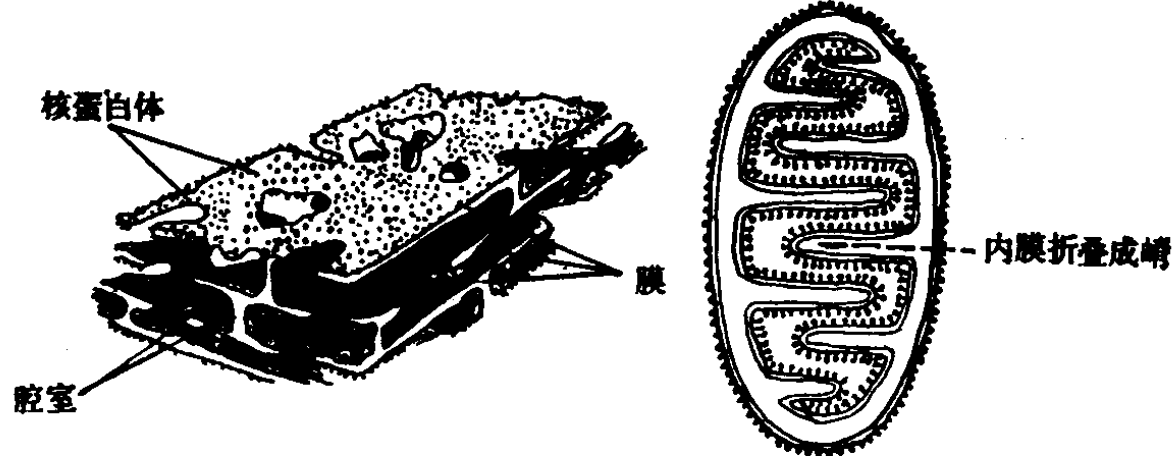


图 1—5 内质网图解

图 1—6 线粒体构造模式图

3. 线粒体

在光学显微镜下可以看见线粒体 (mitochondria)。因此, 这个名称在十九世纪就提出了 (Benda, 1898)。但只是在二十世纪四十年代以后, 对呼吸作用的生物化学有了较完全的知识, 电镜技术和亚细胞构造分离技术有了发展之后, 才对线粒体的构造和功能进行了较深入的研究。

线粒体是由双层单位膜构成的小体, 两层膜之间有空腔, 内层膜有许多脊, 脊是内层膜折叠成的, 中间也有空腔并且与内外两层膜的空腔连通 (图 1—6)。

外膜的外表面有大量颗粒, 直径约为10nm。内膜上也有大量颗粒, 这些颗粒长在柄上, 柄和内膜连接。

线粒体是进行呼吸作用的细胞器, 关于线粒体的构造和功能的知识先要从呼吸作用讨论起。

一分子葡萄糖通过呼吸作用放出的能量蓄积在38个ATP里, 应用于需能的各种生命活动(需能的生化反应和机械运动等等)。在呼吸作用中, ATP是通过糖酵解, 三羧酸循环和呼吸链生成的。这个过程许多环节需要在不同的氧化还原电位下进行, 特别是产生还原性 NADH^+ 或 NADPH^+ 。 NADH^+ 和琥珀酸都需要在较低的Eh值做起点, 经过呼吸链的逐步氧化步骤, 将能量转化贮存在生成的ATP中。如果没有适宜的空间分隔, 分为不同的Eh环境, 产生的还原性物质、将被直接氧化, 而不能逐渐转化, 将能量蓄积在生成的ATP中。

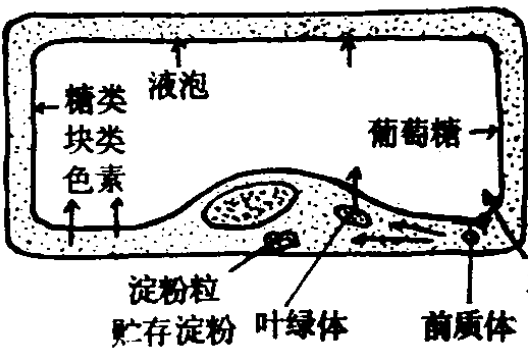
线粒体的两层膜之间的空腔是Eh值很低的空间环境。糖酵解在线粒体外的细胞浆中进行。在线粒体外表面的颗粒体是进行三羧酸循环的酶群, 产生还原产物 NADH^+ 。还原产物转运到线粒体的夹层空腔里, 再转运给里层的有柄颗粒。有柄颗粒是呼吸链的酶群。在呼吸链的逐级电子传递中, 进行 $\text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$ 的生成反应, 将能量蓄积在ATP内。ATP转移到细胞各处, 提供需能的生化反应和机械运动的能量。以上是关于在呼吸作用中线粒

体的构造和功能现在的学说。

线粒体里含有DNA，能自身复制，含有一定的遗传信息，包括线粒体内层的酶系的合成（细胞色素a.b和某些脱氢酶）。

4. 植物细胞的液胞

植物细胞和动物细胞具有共同的基本的细胞器如核、线粒



体、内质网和高尔基器等，植物细胞还有独特的细胞器液泡。液泡的周膜也是单位膜。

在幼年的植物里只有许多光学显微镜下看不见的小液泡，以后融合形成大液泡，可以占细胞总容积的90%（图1—7）。

图1—7 植物细胞

这样，植物细胞就为一个里外两层的夹层箱子，细胞浆质和各种细胞器都在夹层中，外层的外面是外界，内层的里面是液胞液（sap），含有水分、盐类、糖类和其它成分。

5. 植物细胞的叶绿体

植物细胞的叶绿体是多层的细胞器，由类脂、蛋白质和叶绿素三种成分构成，分层的叶绿体由大量基粒构成，基粒是片状体，许多基粒叠在一起，基粒被单位膜包围，中间是叶绿素，在高倍电子显微镜下观察，发现基粒中含有许多小颗粒，现在被认为并称为量子换能体，是光合作用的基本单位（图1—8）。

显然，光合磷酸化的作用过程和在线粒体中进行的氧化磷酸化的作用过程一样，需要一定的空间分隔的环境条件才能进行，而由单位膜构成的空间分隔正好起这样的作用。试验证明，分离的线粒体和叶绿体都能独立进行作用，但是必需有单位膜中的类脂存在，除去类脂就失去作用，重新给以类脂，能恢复功能。

和线粒体一样，叶绿体里也有DNA，上面携带着一些遗传信息。