

普通微生物

(农业微生物专业用)

北京农业大学植保系

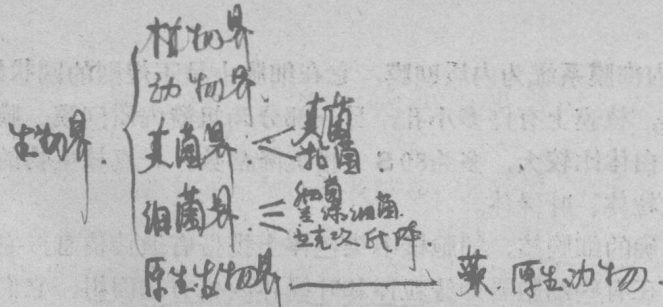
普通微生物教研组编

一九七九

目 录

第一章 微生物的一般特性.....	1
第一节 微生物界.....	1
第二节 原核生物和真核生物.....	1
第三节 微生物的主要类群.....	3
第二章 细菌.....	5
第一节 细菌的形态与结构.....	5
第二节 细菌的分类.....	13
第三章 放线菌.....	18
第一节 放线菌的形态.....	18
第二节 放线菌的分类.....	19
第三节 放线菌所产生的抗菌素.....	20
第四章 真菌.....	21
第一节 真菌的形态.....	21
第二节 真菌的分类.....	25
第五章 病毒.....	34
第一节 病毒特性.....	34
第二节 病毒分类.....	36
第三节 细菌病毒(噬菌体).....	37
第四节 真菌病毒.....	40
第六章 微生物的营养.....	41
第一节 微生物细胞的化学组分.....	41
第二节 微生物的营养要求.....	42
第三节 微生物的营养类型.....	43
第四节 营养物质的吸收.....	43
第七章 微生物的代谢——营养物质的分解.....	45
第一节 能量的生成.....	45
第二节 碳水化合物的分解.....	46
第三节 含氮化合物的分解.....	53
第四节 脂肪和脂肪酸的分解.....	55
第八章 微生物的代谢——生物合成.....	56
第一节 单体化合物的合成.....	56
第二节 多聚化合物的合成.....	59

第三节	微生物的代谢产物	61
第四节	代谢的调节	62
第九章	微生物的生长	64
第一节	生长的概念	64
第二节	细菌的生长阶段	65
第三节	微生物生长的测量	67
第四节	微生物的生长条件	67
第十章	微生物的遗传	70
第一节	原核微生物的基因重组	70
第二节	真核微生物的重组	72
第三节	遗传的物质基础	73
第十一章	微生物的变异性	76
第一节	变异现象和突变	76
第二节	诱变育种	77
第三节	微生物的适应和进化	78
第十二章	微生物与自然环境的关系	80
第一节	微生物的分布	80
第二节	微生物与其他生物的关系	81
第三节	微生物和自然界物质循环	83
第十三章	显微镜	86
第一节	显微镜的原理	86
第二节	显微镜的构造	89
第三节	显微镜的使用方法和保管	92
第四节	显微计数与测量	93
第五节	几种特殊用途的显微镜	95
第十四章	微生物的染色技术	98
第十五章	微生物培养技术	104
第一节	无菌概念和无菌操作	104
第二节	微生物的分离方法	105
第三节	微生物的培养	109
第四节	培养基及其制备	111
第五节	菌种的保存	115
第六节	电热恒温箱的原理及使用	116
第七节	电冰箱的原理及使用	118
第十六章	消毒与灭菌	123
第一节	化学方法	122
第二节	物理方法	123
第三节	高压灭菌锅和烘箱的构造及使用方法	125



第一章 微生物的一般特性

第一节 微生物界

整个生物界虽然类型很多，但归纳起来看，它们有共同的特点，首先，它们个体的基本组成单位为细胞，细胞较小在显微镜下才可见。其次，细胞有机体都具有共同的化学组成，最重要的为三种大分子化合物，即蛋白质，去氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)。第三，都具有共同的化学活性，通常称为代谢作用。

生物的分类研究常常是为了找出这些多种多样的生物之间的亲缘关系和进化系统，以及更符合客观发展地认识它们。最早，约在二百多年前人们将生物界分为动物界和植物界，二者在概念上是明确的。然而，随着显微镜的发明，发现了以前用肉眼不能看到的微生物界，而在划分这些类型时总是习惯于把它们分别归于动物界和植物界。但是，由于研究方法的不断改进和提高，发现这种划分有许多不妥之处，以后提出了原生生物界，包括通常所谓的微生物在内。当人们对微生物界，更加认识和了解之后，有人提出了生物五界说，除了动物界和植物界外，还包括原生生物界，真菌界和细菌界。原生生物界包括某些低等藻和原生动物如眼虫、前毛菌等，真菌界包括真菌和粘菌；细菌界包括细菌，蓝绿细菌和立克次氏体等。病毒由于与这些微生物都有所不同，所以有人建议将病毒列为第六界，而称为病毒界。五界（或六界）说目前已被大多数人所接受。

第二节 原核生物 (Prokaryota) 和真核生物 (Eukaryota)

大约从五十年代开始，应用电子显微镜及超薄切片技术可以看到细胞的微细结构。在检查各类微生物细胞结构的基础上发现生物界存在两种不同的细胞结构。动物、植物、原生动物以及真菌等其细胞结构比较完善和复杂，称为真核生物细胞。细菌和蓝绿细菌的细胞比较简单和不甚完善，称为原核生物细胞。属于前一种的生物称真核生物，属于后一种的生物称原核生物。与此同及，由于分子生物学的发展，对这两类细胞的功能也进行了大量的研究。在微生物中如原生动物，低等藻类、真菌和粘菌属于真核生物，细菌、蓝绿细菌、放线菌和菌质体属于原核生物。

真核生物细胞的特点：真核生物细胞的主要特点是它有多样的单位膜系统，这些膜系统具有各自的功能。在细胞的外部包围有细胞质膜，细胞质膜为三层结构，宽约8毫微米

(nm)。最复杂的内部膜系统为内质网膜，它在细胞中呈不规则的网状结构，其一部分围绕细胞核发展成核膜，核膜上有许多小孔，另一部分为粗糙内质网膜。膜的表面有核蛋白体。真核生物的核蛋白体比较大，多为80S（指沉降常数）。真核生物的另外一些膜细胞器包括有高尔基体、线粒体、叶绿体。

真核生物具有明确的细胞核。细胞核中染色体上携带有遗传信息，它可藉有丝分裂传递下去。除细胞核外，在有些细胞器如线粒体和叶绿体内也有基因组，它们也和细胞核内的基因组一样能够通过复制，转录和翻译传递其遗传特性。在叶绿体和线粒体内DNA为双螺旋分子结构，环状。它们这些特点与原核生物很相似。

原核生物细胞的特点：原核生物细胞一个明显与真核生物细胞不同的特点就是它的单位膜系统比较简单。细胞是唯一的单位膜系统。没有核膜及其他细胞器。至某些细菌中细胞质膜可能简单地陷入到细胞质内。原核生物细胞内有两部分明确的结构：细胞质和核质。在形态上核质可以与细胞质区别开，但二者之间并没有膜隔开。它的染色体只含有DNA，为环状。DNA复制后基因组的分离也比较简单。原核生物细胞的核蛋白体不像真核生物细胞那样位于内质网膜上或细胞器内，而是分散在细胞质中，较小，多为70S。

下面列表区分原核生物与真核生物的细胞结构。

细胞质结构上的区分	真核生物	原核生物
内质网膜	+	-
高尔基体	+	-
溶酶体	+	-
线粒体	+	-
叶绿体	+ 或 -	-
核蛋白体	80S (细胞质) 70S (细胞器)	70S
微管系统	+	-
无单位膜包围的细胞器	-	+ 或 -
细胞壁含有肽聚糖	-	+ 或 -
遗传组织上的区分		
核质有膜	+	-
染色体数	> 1	1 ^a (表示片段)
染色体含组蛋白	+	-
核仁	+	-
核分裂为有丝分裂	+	-
细胞器中也有DNA	+	-
遗传重组		
配子结合	+	-
DNA单向转移形成双倍体	-	+

第三节 微生物的主要类群

微生物分为真核微生物和原核微生物，以及病毒。真核微生物主要包括原生动物，低等藻类及真菌。它们在微生物之中是比较大的，如原生动物在显微镜下放大90倍就可以清楚地看到，原核微生物主要包括细菌，放线菌、蓝绿细菌（过去称蓝绿藻）、菌质体及立克次氏体等。它们在微生物中是比较小的，需要放大数千倍以至几万倍才可以清楚地看到。从其重要性来看，目前认为真菌、细菌、放线菌和病毒与人类的生产活动及生活关系较密切，研究得也比较多和深入。我们将重点讨论。原生动物和藻类在土壤中为土壤微生物区系的组成部分，时常可碰到它们。

原生动物 这是一群单细胞的，非光合作用的原生物。它们的体积大小差异很大，自几个微米到4—5厘米。大多数需在显微镜下观察。它也常常被包括在动物界内。原生动物细胞没有细胞壁只包围一层细胞质膜。可以藉鞭毛，纤毛或伪足运动。它的营养方式主要为异养式，能利用各种复杂的物质为食物，可以将食物直接吞入自己的细胞内，或者利用内渗方式吸取溶解在周围环境中的营养物质。也有自养型的原生动物，它们含有色素能进行光合作用。繁殖为裂殖，可为横裂或纵裂。在环境不利的情况下可以形成厚壁的休眠体。有些原生动物可以进行有性繁殖，两个相似的细胞（配子）相结合形成合子。

原生动物分布很广，河湖海洋中都有，也生存于污水坑和土壤中。还有些为人类的病原菌。常见的类型有草履虫，变形虫等。

低等藻类 藻类的形态差别很大，有单细胞的，或许多细胞集聚成群落。群落有一定的形状和相当复杂的结构。藻类都含有叶绿素，利用光合作用可以自己制造食物。有的藻也能在黑暗中利用葡萄糖生活一定时期。藻的繁殖有无性和有性两种方式。无性繁殖靠裂殖或在孢子囊内产生能游动的游动孢子或不能游动的静孢子。有性繁殖为同型或异型的配子相结合形成合子。

大多数藻为水生，它们习居于淡水中或海水中，土壤里也有，还有些可与动物或真菌共生。包括在微生物中的藻类有绿藻，裸藻，甲藻，金藻等。

真菌 这是一类没有根、茎、叶分化的和不含叶绿素的微生物。其中包括的种类很多。形态结构多样，菌体包括由简单的单细胞到复杂的多细胞。分布也非常广泛，几乎在自然界到处都有它们的存在。其中包括很多重要菌种，将在第四章详细叙述。

细菌 见第二章

放线菌 见第三章

蓝绿细菌 (Cyanobacteria) 过去称为蓝绿藻，因为它含有叶绿素和藻蓝素能进行光合作用，所以认为它是藻类的一种。以后的研究证明了它的原核特点。它的细胞结构以及形态都和细菌很相似，因而把它放在原核微生物内更为合适，蓝绿细菌为单细胞或许多单细胞连成丝状。它们所含有的光合色素不存在于载体内，而是分散在细胞质中。大多数可行动，但不是靠任何游动器官，而是靠整个个体在固体基物上缓慢爬行。这种行动的特点也与细菌中的贝氏硫细菌及粘细菌的行动方式相似。繁殖方式主要为裂殖。蓝绿细菌分布很广。在水中、土中、石块上和树木上都能生长。其中有些种类能固定空气中的氮素，可提高土壤肥力。

菌质体 (Mycoplasmas) 菌质体是一类分布很广的原核微生物。过去称这类微生物为类胸膜肺炎体，简称PPLO。它的主要特点是没有细胞壁，在细胞外只有细胞质膜，因此其细胞的可塑性较大，形态多变，此外，它是化能异养型的微生物需要复杂的营养物质，所以不易人工培养。菌质体除寄生在人或其他脊椎动物体内外，在植物维管束内也发现过它们，并证明它们可造成许多种植物病害。还有一些腐生的类型。

菌质体的细胞为球形，梨形或长成细丝状。分枝或不分枝。据报导有一种植物上的菌质体为螺旋丝状，还可以运动。其他菌质体都是不能运动的。它的细胞极小，球形细胞的直径约为0.3—0.9毫微米。小的细胞甚至可通过细菌过滤器。格兰氏染色阴性。通常不易染上颜色。在固体培养基上可长成煎蛋形的菌落，中央深黄色，周缘透明。菌质体繁殖方式为裂殖。

有许多种细菌中，在特殊条件下，如在含青霉素的培养基中培养时，可以产生无细胞壁的个体称为L-型细菌，L-型细菌是突变体，它失去了合成细胞壁成分糖肽的能力。L-型细菌是渗透敏感的，它们只能生长在高渗培养基中。虽然L-型细菌与菌质体有许多相似之处，但这种相似是表面的，迄今未发现二者之间有什么进化上的关系。

病毒 病毒既不属于原核生物，也不属于真核微生物，因为它是一类非细胞形的微生物。它在结构、化学组成及生长方式上都与细胞生物不同。

病毒是一种绝对寄生物，它只能在特定的寄主细胞内才能发育。它们或寄生于动物，或寄生于植物，并且在真菌和细菌的细胞内均有寄生者。病毒的基本单位称为病毒粒子。每一种病毒的病毒粒子都有固定的形态和大小，它由两部分组成，中心部位由核酸组成，外部包有蛋白质的外壳。有些侵染动物的病毒还被包在一个脂蛋白的膜内。

病毒粒子中心的核酸可为脱氧核酸(DNA)，或核糖核酸(RNA)。病毒的遗传信息就携带在这里。当病毒粒子侵入寄主时蛋白质外壳并不进入寄生细胞。而是由核酸部分在寄生细胞内复制并重新合成自己特有的蛋白质外壳，并增殖许多新的病毒粒子，保持它的特性。由此可见，病毒具有生物的主要特性如生长、繁殖和遗传变异等。目前都把它看成是一类最简单的有机体。病毒与人们的生活有密切的关系，它造成人、畜和植物病害；造成发酵产品的瓦解，在实践上有其重要意义。此外，通过对病毒的研究，在理论上使我们更进一步了解了生命的基本本质。所以对病毒的研究发展得很迅速。对它的认识越来越深入。病毒学已发展成为一门独立的学科。

第二章 细菌(Bacteria)

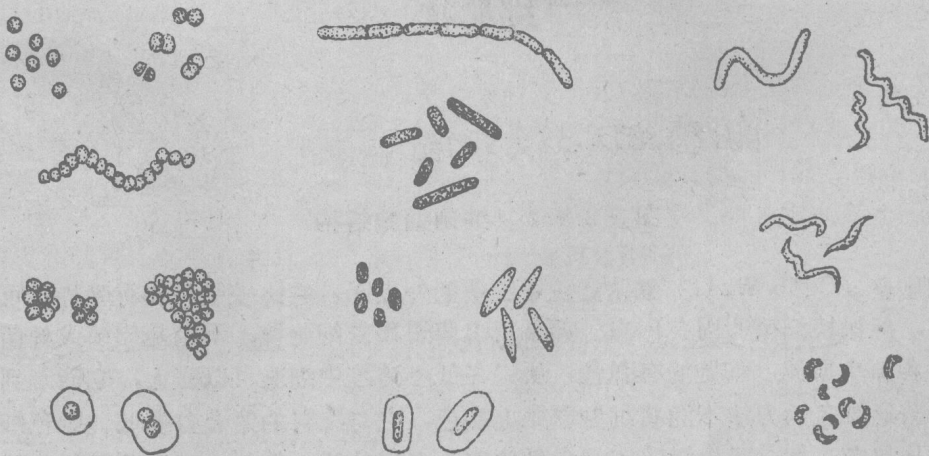
第一节 细菌的形态与结构

形态 细菌的形态比较简单，主要可分为三种形态：园球状、杆状和螺旋状或弧状。

球状菌的个体呈园球形或扁园形。根据其分裂的方法可排列成各种样式。球菌分裂后单个存在的为单球菌。两个细胞联在一起成双存在的为双球菌。许多细胞联成串的为链球菌。四个细胞排列成田字形的为四联球菌。如同两个四联球菌叠在一起的为八叠球菌。还有许多球菌堆积在一起如葡萄串样的为葡萄球菌。球菌如何排列是菌种的特性，在一般情况下是固定的。

杆状菌的个体呈各种不同长短的杆状。有的杆菌很长呈园柱形为长杆菌。有些短小的为短杆菌。杆菌两端也因不同菌种而有形状上的差异。有的两端钝园，有的半截，有的略尖。杆菌可为单生，对生和连成长或短链。

螺旋状菌的个体呈螺状弯曲。不同菌种螺纹的疏密，数目均不同。弧菌的个体呈弓形或逗号形。各型细菌见图 2—1。



球菌的各种形态

各种杆菌形态

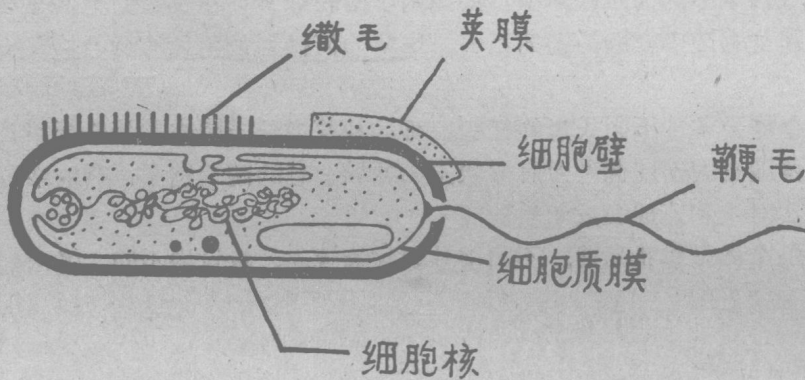
螺旋菌和弧菌形态

图 2—1 细菌的各种形态

测量细菌的大小必需在显微镜下进行。通常用显微测微尺测量。测量细菌的单位为微米(u)，1微米=1/1000毫米。测量更小的微生物还可用毫微米(mu)，1毫微米=1/1000微米。球菌的直径一般为0.2—1.25微米，大型杆菌为1—1.25×3—8微米；中型杆菌为0.5—1×2—3微米；小型杆菌为0.2—0.4×0.7—1.5微米。螺旋菌的长度通常以其弯曲的总长度表示，而非其真正的长度。细菌个体小，无色透明，所以在显微镜下观察时必须经染色或其他处理。染色后的细菌与其菌体真正大小略有差异。

细菌细胞在固体基质上大量繁殖时可集聚形成一个肉眼可见的群体叫做菌落。菌落的形态特征是多种多样的，大多数为园形，不规则形，也有扩散成为各种图案花纹的。菌落还表现出各种不同颜色，如黄、白、红等色，或有蓝色萤光。细菌菌落的特征也是细菌种的特征，常用于鉴别细菌的种类。但是，环境条件的改变能引起菌落发生变化。

细菌细胞的结构 细菌细胞包括细胞壁、原生质体、细胞质膜、细胞质及其内含物、细胞核和中体(图2—2)。有些细菌还具有特殊的构造，如鞭毛和纤毛、荚膜和粘液层、芽孢和孢束。



细菌细胞模式图

图 2 - 2 细菌细胞结构

一、细胞壁 (Cell Wall) 细胞壁位于细菌的外表面。它比较坚韧和有弹性，可以说是细菌的骨架，能保持细菌的固有形态。如果用溶菌酶移去细胞壁，无论是球菌或杆菌都成为园球状体，称原生质体。细胞壁有弹性，所以在低渗溶液中细胞可以膨大，它能起到保护菌体的作用。普通染色的方法不能将细胞壁染上颜色，它与染料的亲合力很低。染色细菌时常常为原生质体着色。在电子显微镜下观察细胞壁是多层结构。例如，红螺菌的细胞壁由内外两层组成，外层光滑，内层为球形大分子结构。其厚度因各菌种而不同，平均厚度范围为10—20毫微米。细胞壁的重量平均占细胞干重的20%。

细菌细胞壁主要成分是糖肽 (Peptidoglycans)，它的组成有一个多糖主链，这个链是由N-乙酰氨基葡萄糖基和N-乙酰氨基酸基的交替连接而组成。在N-乙酰胞壁酸基上连接一个四肽的侧链。构造如图2—3。糖肽这种成分在格兰氏阳性细菌中占95%，而在格兰

阴性格兰氏染色红色，阳性格兰氏染色蓝色。

氏阴性菌中占5—10%。格兰氏阴性菌的细胞壁成分较格兰氏阳性菌的复杂，它除糖肽外还含有蛋白，类脂和多糖。有的格兰氏阳性菌的细胞壁中尚含有壁酸，壁酸是由多聚磷酸核醇等物质所组成。细胞壁的生物合成受到某些抗菌素的抑制，如磷霉素、草莓素、青霉素和杆菌肽等。

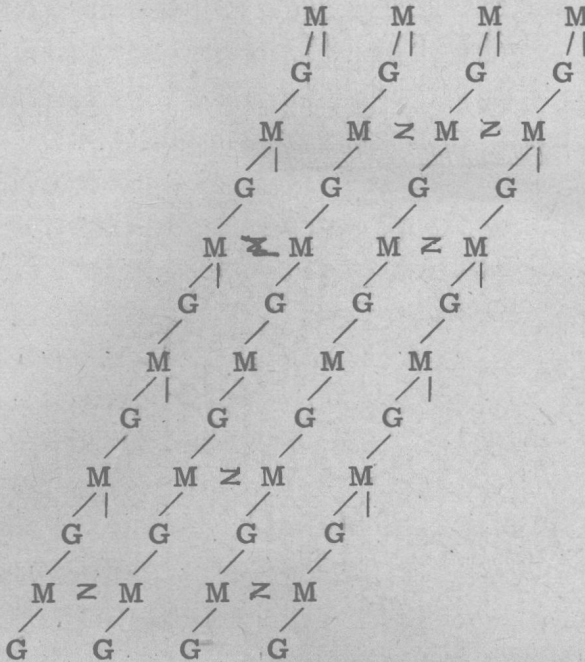


图2—3 图示大肠杆菌细胞壁糖肽的组成，G代表N-乙酰氨基葡萄糖基；M代表N-乙酰胞壁酸，垂直线代表连接在胞壁酸上的游离肽链，②代表两条四肽链交连在一起。（自J.M.Ghuysen）。

二、原生质体 (Protoplasts) 用溶菌酶消化掉细胞壁后菌体缩成一个园球形体称为原生质体。原生质体包括除细胞壁外细菌的全部结构，所以它仍保持完整细胞的重要生理功能，如合成蛋白质和核酸，呼吸作用。有芽孢的菌仍可形成芽孢。有鞭毛的菌虽然仍有鞭毛，但不能起运动的作用。在去除溶菌酶后即或有保证良好生长的基质也不能再合成细胞壁，但可增大和繁殖。然而在特殊的培养条件下可诱发再生细胞壁。

三、细胞质膜 (Cytoplasmic membrane) 细胞质膜是在细胞壁内紧贴细胞质的一层薄膜，也就是原生质体的最外面的一层膜，这层膜的厚度为5—8毫微米。占细胞总干重的10%。它的主要成分为蛋白质、类脂和糖类，其中蛋白质占50—65%。结构见图2—4。细胞质膜是细菌结构中重要的一部分，细菌没有了细胞壁还可以存活，若细胞质膜受到破坏则细菌不能生存。细胞质膜是具有选择性吸收能力的半透膜，它可使溶质从周围环境中进入到细胞内，并可调节菌体内与环境间的平衡。有些低分子量的物质如尿素、甘油、谷氨酸很容易进入细胞质，而电解质如氯化钠和较大分子的有机化合物葡萄糖等则透过细胞质比较慢或不容易。在细胞质膜上有许多种酶，尤其是负责生物氧化作用的酶。此外它还是某些细菌结构物质的生物合成部位，如细胞壁和荚膜的合成。格兰氏阴性细菌的质膜比格兰氏阳性菌的复杂。一般格兰氏阳性细菌的细胞质膜比较容易与细胞壁分开，阴性菌的则不容易得

到较完全的质膜，常分离到它的碎片。

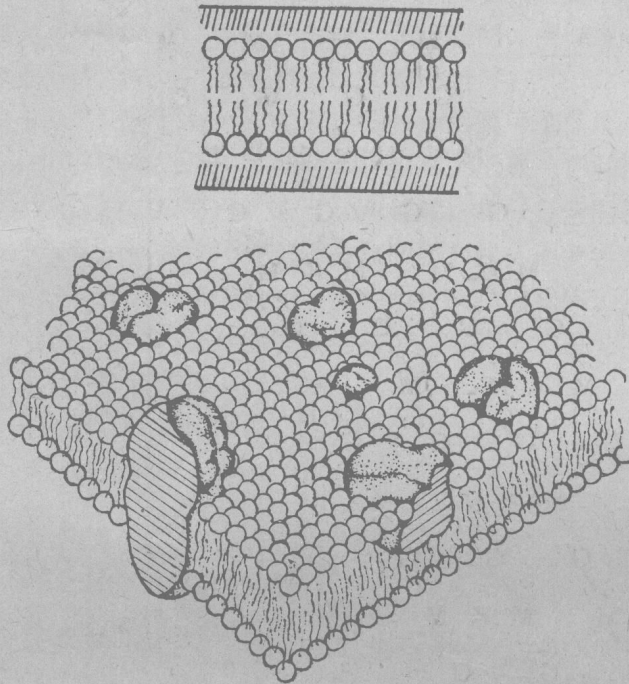


图 2—4 生物膜的设想结构。上图单位膜的三层结构；下图细菌膜的模式结构，图示球形蛋白质包埋在磷脂层中。

四、中体 (mesosomes) 在大多数格兰氏阳性菌和少数格兰氏阴性菌中可发生细胞质膜的简单折叠，内陷伸进细胞质中。这种结构叫做中体。在细菌中见到两种类型的中体，一种为薄层状，如胚芽乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)；另一种为小胞状好似一个囊，如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。中体的功能尚不清楚，不过超薄切片上常发现中体位于靠近形成横隔的地方，也许与细胞壁的组分合成有关。

五、细胞核 (Nucleus) 用普通的染色方法和在光学显微镜下都不能看出细菌的细胞核。用染真核生物细胞的碱性染料染色细菌时，整个细胞呈现为浓密的匀质。细菌细胞的这种嗜碱特性是因为细胞中有大量的核蛋白体存在，所以造成细胞质中核酸的浓度较高。为了给细胞核染上颜色，首先要用核糖核酸酶或稀盐酸处理细菌细胞，使 RNA 水解，然后再用碱性染料染细胞核。细菌细胞核位于细胞中部，边缘不规则，可呈球形，椭圆形，杆状或哑铃状等。在生长旺盛的细胞中可能有 2—4 个这样的核。细菌细胞核没有核膜、染色体和核仁。它只有染色质体，实际上染色质体为一团由 DNA 链缠绕组成的组织。在电子显微镜下可以清楚地看到细菌染色质体。细胞的染色质体 DNA 是一条较长的链，少数呈环状。细胞

内这些 DNA 链平均长度可达 2 微米，最长可达 1 毫米。当细胞分裂时细胞核也进行分裂，但它不是有丝分裂，只是简单的复制成两条链。它的染色质体也可以复制。

细菌细胞核是主要负责遗传的器官，其 DNA 上携带有该菌的遗传信息，可传递遗传特性。

六、细胞质及其内含物 (Cytoplasm and inclusions) 在细胞质膜内除细胞核外就是细胞质及其中的内含物。细胞质是无色透明的液胶态物质，由蛋白质、糖、类脂、无机盐和水组成。细胞质中包含许多颗粒状物质，如核蛋白体，载色体，异染粒及贮存营养物质等。

(1) 核蛋白体 (Ribosomes, 又称核糖体) 在细菌细胞中约有 10000 个核蛋白体，这个数目与细菌的生长速度有关，生长速度大时核蛋白体的含量就高。核蛋白体为球形结构，其组成中 30—50% 为蛋白质，50—70% 为 RNA。根据核蛋白体大小区分为 30S、50S、70S 等，这是用它在超速离心下的沉降常数来表示的，数值小的表示核蛋白体颗粒小，如 30S 的与 50S 的核蛋白体聚集形成 70S 的核蛋白体。核蛋白体是蛋白质生物合成的重要场所。它不是单个起作用，而是几个核蛋白体组合在一起称为多聚核蛋白体而起作用的。

(2) 异染粒 (Volutin) 在细胞旺盛生长的后期，在其细胞内出现一种颗粒，这种颗粒用蓝色染料如苯胺兰染色时可染成红色或淡紫色，故称为异染粒。异染粒的主要化学成分为多聚偏磷酸盐。它是一种贮存颗粒。

(3) 液泡 (Vacuoles) 它是细胞质中含有液体的囊状泡，其中含有可溶性的贮存物质。液泡有膜包围，它可以调节渗透压。

(4) 脂肪粒 (Lipides) 细菌除在某些结构中含有脂类化合物外，在细胞质中亦可出现游离的脂肪颗粒，显然它是一种含碳的贮存物质。在细菌培养时间较长后开始出现脂肪粒，达 48 小时则大量出现，而在年幼生长旺盛的细胞中不常见到。用苏丹 III 可将脂肪粒染成桔红色。

(5) 肝糖 (glycogen) 肝糖的合成与细菌的生长速度相反。当基质中供氮不足，生长速度减慢时，在细胞质中积累肝糖。肝糖呈颗粒状，大小可达 50—100 毫微米。当供给细胞以氮源时肝糖颗粒迅速降解。这说明肝糖是一种贮存食物的来源，在细菌不活跃时产生，在生长环境有利时它被细胞所利用。

此外，在个别细菌种中含有某些特殊的细胞质内含物。如硫细菌体内沉积有硫的颗粒，嗜盐细菌含有气泡供给氧气等。

七、鞭毛和纤毛 (flagella and fimbriae) 鞭毛是某些细菌的运动器官，它是极细的波状细丝，可由几根细丝做螺旋状缠绕而组成。鞭毛的长度可超过菌体几倍，而直径非常小，一般为 12—18 毫微米。由于鞭毛这个宽度低于最短的可见光的波长，所以直径在普通光学显微镜下不易视见。通常为了观察细菌的鞭毛，在染色时需要用媒染剂。媒染剂积累在鞭毛表面，使鞭毛加粗到超过最短的可见光波长，再用染色剂染色才可以看见。但是通过这一系列的操作过程常常易使鞭毛脱落。在电子显微镜下可以清楚地看到鞭毛的真实形态。

鞭毛的组成主要是蛋白质，含有少量的碳水化合物和脂类。有些菌鞭毛外面围有鞘，鞘的成分不详。鞭毛经热、酸或其他化学剂处理后水解成单个的蛋白分子叫做鞭毛蛋白 (flagellins)，其分子量为 15000—40000。鞭毛自细胞质生出，它的基部呈钩状(图 2—5, 图 2—6)。钩状基部上有两对环，上边一对环分别嵌在细胞壁的内外部，下边一对环分别嵌

在细胞质膜的内外。格兰氏阳性细菌只有下边一对环，这说明下面一对环对鞭毛的功能来说是主要的。鞭毛脱落时只细丝部分脱离细胞。鞭毛有再生能力。

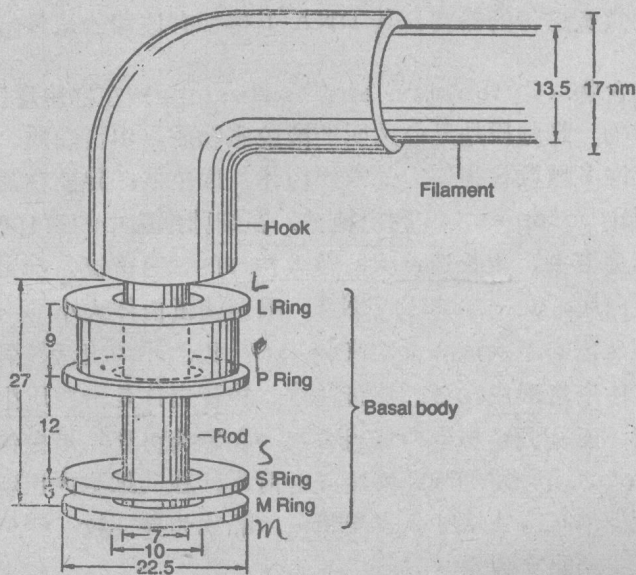


图 2—5 大肠杆菌鞭毛基部模式图。Filament 丝；Hook 钩；L Ring L 环；Rod 轴，Basal body 基体。

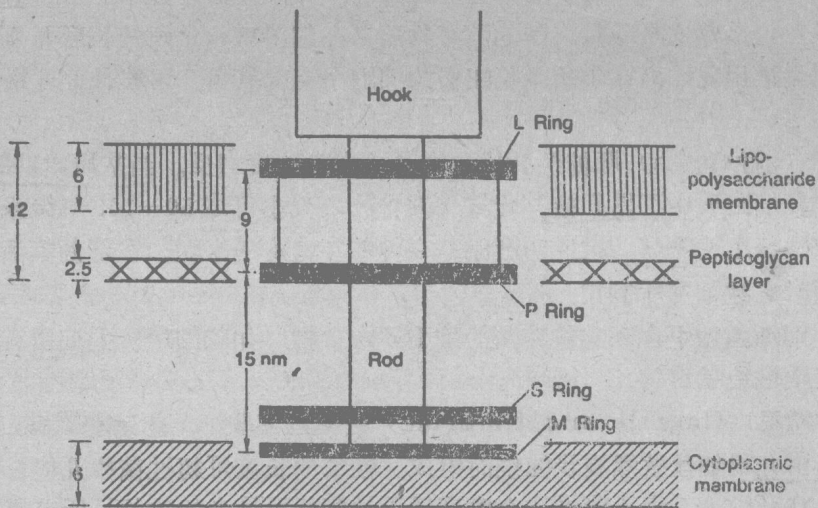


图 2—6 图解鞭毛结构与细胞壁的关系，Lipo polysaccharide membrane 脂多糖膜，peptidoglycan layer 糖肽层；Cytoplasmic membrane 细胞质膜。

细菌鞭毛的排列和数目是不同细菌种的特性。有的只有一根鞭毛，有的有两根，几根或许多鞭毛，鞭毛可位于细胞的一端两端或周身（图 2—7）。有时某些细菌在一种环境条件下有鞭毛，而在另一环境条件下则不生鞭毛。

在某些细菌的表面有纤毛，它也是一种细丝状的结构，但是比鞭毛短和较硬。它不是运

动器官。例如大肠杆菌除有鞭毛外还有纤毛，纤毛宽0.01微米，长0.3—1.0微米。纤毛在长短、数目、分布、粘性（贴着在器官上的功能）和遗传性控制等方面有不同类型。

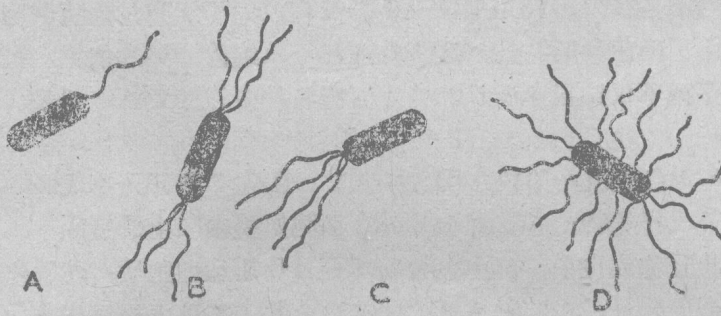


图 2—7 各型细菌鞭毛

八、荚膜和粘液层 (Capsule and slime layer) 有些细菌在细胞的外部可以形成一层疏松透明的粘液状物质。这种物质可以牢固地依附在每个细胞的外面，也可以脱离细胞而存在，前者称为荚膜，后者称为粘液层。因为它们是无色透明，所以不易染色，通常用负染色方法进行观察。

荚膜和粘液层从形状上和生化上都是不同的。^①荚膜是细胞的一部分，而粘液层是细胞的分泌物。^②荚膜有一定的形状，一定的密度和一定的界限，而粘液层是无定形的，可以堆积在细胞的近旁，当离开细菌一定距离后其密度就减小了。^③荚膜的结构并非均一的物质，从物理上和化学上都是异质的结构。荚膜可以表现为①围绕细胞的连续的一层；②夹杂有纤维状物质③多糖和多肽夹杂组成；④荚膜表面不平滑。粘液层的成分单纯为多糖，水解后成为单糖，而且仅为一种单糖，如葡萄糖或乳糖。荚膜是细菌种的特征，它的形成与环境条件有关，如肠膜明串珠菌在碳水化合物丰富而含氮化合物缺乏时适合于形成荚膜。炭疽杆菌则是在它所侵染的动物体内才形成荚膜，在体外不能形成。形成荚膜的细菌也不是在整个生长期内都有荚膜。如肺炎双球菌在生长缓慢时才形成荚膜。通常产生荚膜的细菌所形成的菌落为光滑透明的，称为光滑型 (S-型) 菌落，不产生荚膜的细菌菌落表面粗糙，称为粗糙型 (R-型) 菌落。当荚膜菌失去荚膜时，其菌落亦由光滑型变为粗糙型。

从荚膜的功用来看，有些病原菌有荚膜的类型致病力强，并能抵抗白血球的吞噬作用，如肺炎双球菌。此外，在营养缺乏时荚膜物质可被细菌利用。还有许多荚膜菌由于它利用糖而产生荚膜，所以在发酵工业中，尤其是制糖工业中，如果污染了这类细菌后，则影响发酵产品的质量，或使整个糖液变为无用之物。

九、芽孢和孢囊 (Spores and cysts) 在格兰氏阳性细菌中有些种类在其生活的一定阶段可以在营养细胞内形成一个内生孢子，叫做芽孢。在普通光学显微镜下就能看到芽孢。它壁厚和有折光性，不易染色。

能形成芽孢的细菌主要包括在两个属内，一为芽孢杆菌属 (Bacillus)，一为梭状芽孢杆菌属 (Clostridium)。

芽孢的形状有园球形，椭圆形或短园筒形。它们在营养细胞内的位置各菌种是一定的。它可位于细胞的顶端，中央或偏菌体的一端。成熟的芽孢的大小也各不相同，有的芽孢直径

小于细胞，生成后细胞仍保持原来形状。有的芽孢直径大于细胞，生成后则造成细胞变形。例如，枯草芽孢杆菌的芽孢直径比细胞小，而丁酸梭状芽孢杆菌的芽孢位于菌体中央且大于细胞，所以可以使细胞呈梭状。若芽孢位于顶端且直径大于细胞时则使细胞呈鼓槌状。芽孢的形状，位置和大小是细菌种的特征，这些特征都用做细菌分类的依据。最近根据电镜和扫描电镜观察芽孢，芽孢不仅壁很厚而且其外表面有各种各样的纹饰、棱线、脊或小疣等，就好像雕刻有花纹。

芽孢形成的过程需经过几个阶段（图2—8）。①在芽孢开始形成时一个细胞内有两个核体；②核物质缩合成杆状物；③在细胞的一端细胞质膜内陷生成横隔；④形成孢子壁与营养细胞区分开，此时称先孢子，其中包含一部分核物质和细胞质；⑤围绕先孢子外生出新的壁；⑥芽孢壁完全发育好；⑦芽孢成熟；⑧芽孢由营养细胞中释放出来。成熟的芽孢有三层壁包围，最内层为孢子壁，中层为髓部，最外层为孢子衣。通常一个细胞内只形成一个芽孢，芽孢形成后原来的营养细胞破裂消失，所以说它是个体休眠体。

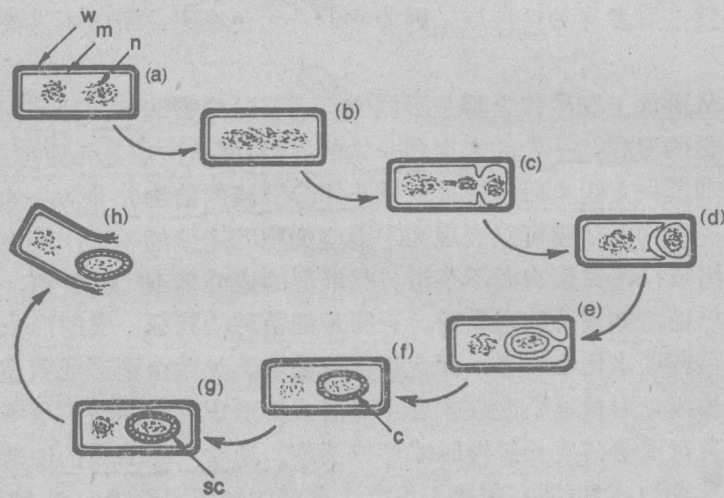


图2—8 芽孢形成过程

成熟的芽孢的特点是壁厚，细胞质浓，含水量少，含有两个或数个核和有某些酶存在。芽孢内含有大量的吡啶-2,6-二羧酸(DPA)的钙盐。这个物质在营养细胞内是没有的，而在芽孢内其含量可高达芽孢干重的10—15%。芽孢中Ca/DPA与芽孢的抗热性有关，通常这个比例增加，抗热性就增加。芽孢萌发时DPA释放出来，芽孢的抗热性也就降低了。

在外界条件适合时芽孢开始萌发，如合适的温度、湿度、营养和氧浓度等。萌发的过程很快，首先表现出失去折光性；失去对热和有毒物质的抵抗力；开始进行代谢活动和提高呼吸作用；释放出DPA和其他可溶性物质。芽孢萌发之前体积略涨大或涨大到原体积的二、三倍。然后孢子衣破裂或吸收，自孢子中长出营养细胞。芽孢可自顶端发芽或从腰部或斜上方发芽。一个芽孢萌发仍长出一个营养细胞。

能否形成芽孢是某些细菌种的特性，它是受这些菌的遗传性所决定的。有许多人研究了

① 枯草芽孢杆菌的遗传问题，确定了在它的染色质体上与孢子形成有关的基因的位置，并指出大约在五段染色质体片段上。在细胞营养生长阶段这些基因通常不表现作用。芽孢的形成也与环境条件有关系。一般当细胞连续生长一个时期以后营养物质已经消耗尽了，此时开始形成芽孢。有利于孢子形成的条件包括培养基中加入某些金属离子如铜、铁、锰、钙等；加入谷氨酸和适当的温度、 O_2 等。

芽孢的作用主要在于抵抗不良的环境条件。由于它结构上的特点，所以对于干热、寒冷和药物均有抗性。成熟的芽孢在不适合萌发的条件下可保存几年或几十年而不丧失生活力。枯草芽孢杆菌的芽孢在 $100^{\circ}C$ 沸水内一小时仍可存活，而肉毒梭状芽孢杆菌的芽孢在 $180^{\circ}C$ 下尚可存活10分钟之久。此外，芽孢可在50%的石碳酸溶液中维持15日。

伴孢晶体 (Parasporal body) 有些芽孢杆菌在形成芽孢的过程中可以在同一细胞内同时形成一个规则的双锥形的结晶体，称为伴孢晶体，其成分为蛋白质。当芽孢被释放时一起被释放出来。伴孢晶体是一种对昆虫有毒的物质。现在已被用作防治害虫的生物农药。

孢囊：孢囊也是一种休眠细胞。如好氧的固氮菌属在形成孢囊时细胞缩短，变成球形，表面形成厚壁。一个营养细胞也只能形成一个孢囊。

第二节 细菌的分类

早期细菌分类主要根据形态学上的特征，所以非常简单。形态特征包括有有机体的大小，形状；细胞的排列；²有无荚膜；³有无芽孢；芽孢的大小，形状和在细胞中的位置；⁴有无鞭毛，鞭毛的数目和位置；⁵格兰氏染色反应；培养特性及菌落特点等。但是只根据形态特点来区分细菌的种是不够的，所以在细菌分类中还采用了细菌的生理特点，⁶包括对各种碳水化合物的利用；⁷温度关系；⁸对生长培养基的不同反应，特殊化合物的产生，色素的产生和与氧的关系等。有些造成动植物病害的细菌可用动植物体的接种反应确定。近年来，由于分子遗传学突飞猛进，⁹开始利用遗传学技术来分析细菌间的亲缘关系。如分析DNA分子中G+C（鸟嘌呤+胞嘧啶）的克分子百分数和DNA-DNA杂合的方法。一般G+C克分子百分比数值相同的不一定是相同或近似的细菌种属，但数值差异较大的肯定在亲缘关系上是不相近的。DNA-DNA体外杂合的方法是分析两种细菌的DNA核苷酸排列顺序的相似程度来确定它们之间的亲缘关系。

细菌内包括的种类很多，分类的方法也各有不同之处。我们这里只介绍真细菌纲内真细菌目和假单胞杆菌目中的一些常见和常用的菌种及其所属的科、属。

真细菌目 (Eubacteriales) 大多数细菌的种都包括在这个目内。它们为球菌或杆菌。格兰氏染色阳性或阴性。有鞭毛可运动或无鞭毛。其中有一科能产生芽孢。产生色素的菌种所产生的色素为水溶性或类似胡萝卜素。这个目中包括许多重要的工业用菌种、与土壤肥力有关的菌种、寄生于动植物体的病原菌等。它们在自然界分布得很广泛。

一、固氮菌科 (Azotobacteraceae) 细胞较大，杆状或卵圆形，似酵母菌。细胞常成对生长。可藉周生鞭毛或极生鞭毛运动，或不运动。有荚膜。格兰氏染色阴性，但有时可变。不产生芽孢，有些种可以形成孢囊。固氮菌是严格的好氧菌，但在氧压低时也能生长。在有有机碳源的条件下能利用空气中分子态的氮生活，所以称为固氮菌。通常固氮菌消耗一

克碳水化合物可以固定10毫克大气氮。这些菌广泛分布在土壤中，对提高土壤肥力起很大作用。在水中和叶面上亦有分布。由于固氮菌这种能固定大气中氮的特性，所以可将它们人工培养后做成固氮菌肥料，于田间施用。

目前，各国科学工作者对固氮菌的固氮机制给予了很大的注意，进行了大量研究工作，并取得了显著的成绩。因为这项工作将给人们提供利用大气中分子态氮的途径。使这些不能为一般生物所利用的氮气，成为有用的东西，为氮肥开辟一个取之不尽的源泉。

这科内常见的属为固氮菌属 (*Azotobacter*)，常见的菌种有园褐固氮菌 (*A. chroococcum*)，维氏 (或棕色) 固氮菌 (*A. Vinelandii*)，贝氏固氮菌 (*A. beijerinckii*) 等。

二、根瘤菌科 (*Rhizobiaceae*) 杆菌。不生芽孢。能运动，鞭毛生于菌体一端或两端，单根或2—6根，或周身生。格兰氏染色阴性。好氧。可利用很多种碳水化合物，在含碳水化合物的培养基上长成粘菌落。

这科内包括两个重要的属，一个是与豆科植物共生的属称根瘤菌属 (*Rhizobium*)，另一个是造成植物病害的土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)。根瘤菌属的菌种生长在豆科植物的根内并形成根瘤 (图2-9)。根瘤菌可利用空气中的氮素，合成含氮化合物，供给植物应用，植物供给根瘤菌含炭化合物，所以称二者为共生。根瘤菌与豆科植物共生是有专化性的。生长在大豆，苜蓿，菜豆及花生上的根瘤菌，多不能互相接种。根瘤菌在培养后期菌体可呈球状、瓶状、分枝或其他不规则状，称为类菌体。类菌体着色不均匀。根瘤菌属的种在增加土壤肥力和使作物增产上有重要作用，也常常做成根瘤菌剂使用。以根瘤菌为材料也进行了大量理论研究。

土壤杆菌属中的大多数菌种是植物病原菌。在植物茎、叶或根上寄生，形成肿瘤、瘿或毛状根，破坏植物的正常生长。

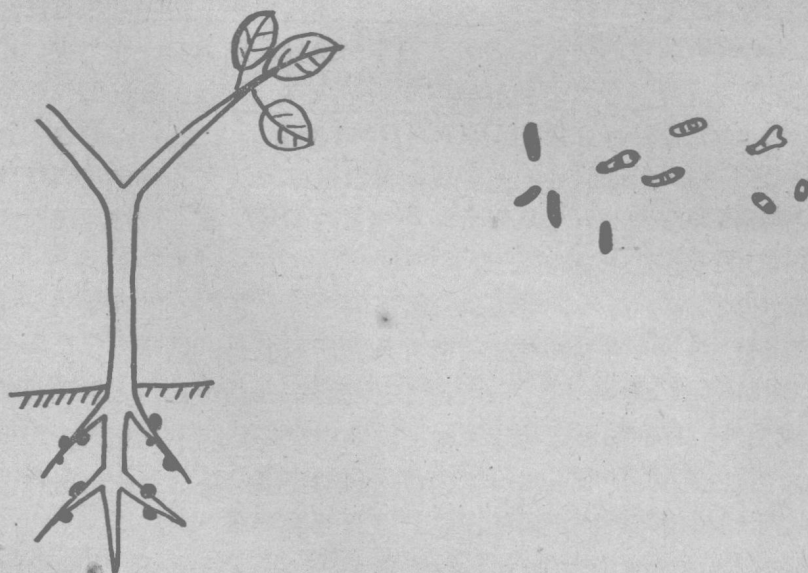


图2—9 根瘤菌和植物根瘤。左：根瘤；右：根瘤菌

三、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 短而直的杆菌。藉周身鞭毛运动或不能运动。有荚膜或无。不产生芽孢。格兰氏染色阴性。好氧或兼性厌氧。利用葡萄糖产酸或产酸和