

# 第 10 章 微生物的进化、系统发育、分类鉴定和多样性

何俊民

医学院大楼 1111 室

junmin-he@163.com

# 一、微生物的进化

20 世纪 70 年代以来新课题。8 类微生物

## 1. 进化指征的选择

- 生物大分子序列同源性，宏基因组
- 2. rRNA 作为进化的指征
- **16S rRNA** 是最适合的
- a. rRNA 具有重要且恒定的生理功能；
- b. 在 16S rRNA 分子中，既含有高度保守的序列区域，又有中度保守和高度变化的序列区域，因而它适用于进化距离不同的各类生物亲缘关系的研究
- c. 16S rRNA 分子量大小适中，便于序列分析
- d. rRNA 在细胞中含量大（约占细胞中 RNA 的 90%），也易于提取
- e. 16S rRNA 普遍存在于真核生物和原核生物中（真核生物中其同源分子是 **18S rRNA**）。因此它可以作为测量各类生物进化的工具



## 二、微生物的系统发育

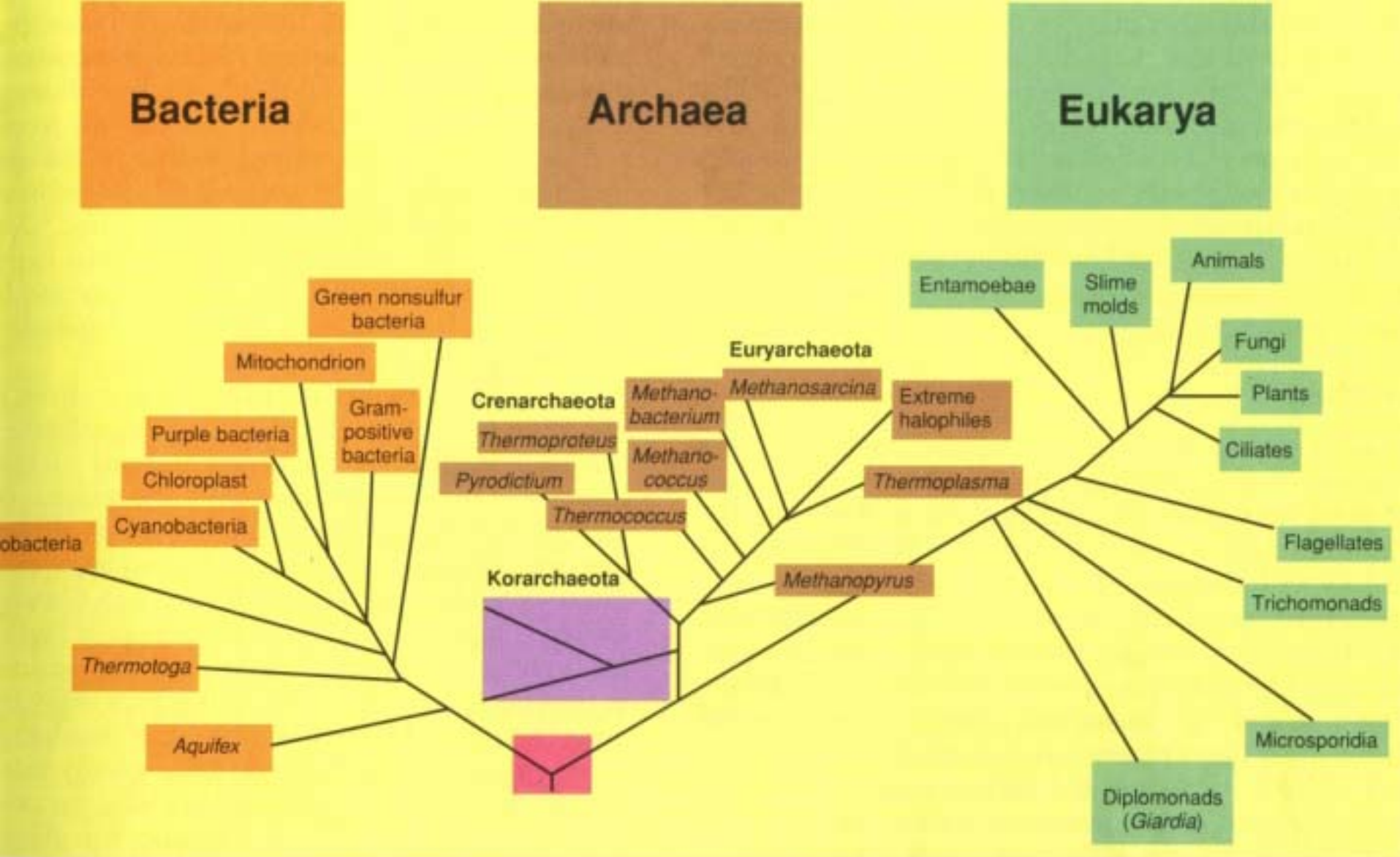
---

### 1. 系统发育树 (phylogenetic tree)

- 概括各种生物间亲缘关系的树状分枝图，分无根树和有根树

### 2. 微生物的系统树

- 细菌 (Bacteria)、古生菌 (Archaea)、真核生物 (Eukarya)



古生菌在进化谱系上与真细菌及真核生物相互并列，且与后者关系更近，而其细胞构造却与真细菌较为接近，同属于原核生物。



### 3. 三域生物的主要特征

概念由美国学者 Woese 提出。

- 古生菌（如甲烷球菌）与真核生物亲缘关系更接近

- 古生菌的特性：

- （1）与细菌相同部分

- 为原核生物，无核膜，核糖体为 70S，mRNA 无帽化和 poly A，能产生  $H_2S$ ，能固氮

- （2）与真菌相同部分

- 无胞壁酸，有多种 RNA 聚合酶

- （3）特殊特性

- 能产甲烷，无叶绿素光合作用

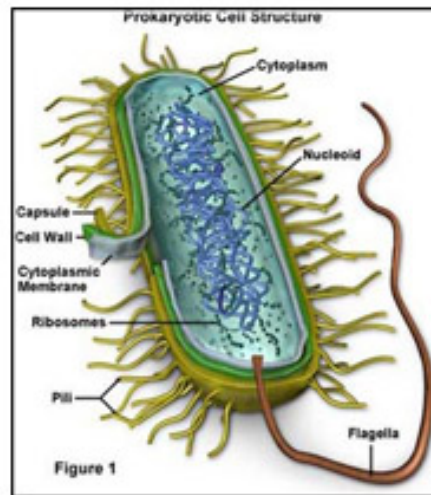
# 三、微生物的分类

细胞型：

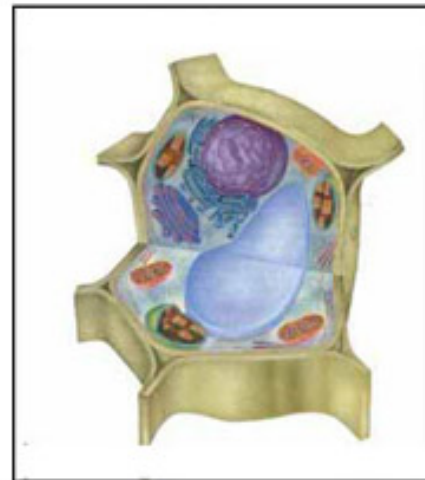
原核：真细菌、放线菌、支原体、螺旋体、  
立克次体、衣原体  
古生菌、蓝细菌等

真核：原生生物、藻类、真菌

非细胞型：病毒（类病毒、朊病毒）



原核细胞图



真核细胞图

# 1. 微生物的通用分类单元及其等级

- (1) 分类单元：指具体的分类群
- (2) 分类等级：界→种，共七级，下可有“亚等级”

## ■ 2. 分类单元的命名

- 属名（Genus）+种名（Species）→双名法，  
或
- 属名+种名+亚种名→三名法
- 例： *Bacillus thuringiensis subsp. Galleria*
- 苏云金芽孢杆菌蜡螟亚种

### 3. 伯杰氏手册

美国宾夕法尼亚大学 D.Bergey(1860~1937)于 1923 年首次出版，细菌、古生菌、蓝细菌、放线菌分类

- (1) 伯杰氏鉴定细菌学手册：至 1994 年已出第九版
- (2) 伯杰氏系统细菌学手册：1984~1989，出四卷；
- 2000-04 年第二版，出五卷
- 古生菌界：2门、5组、8纲、11目、17科、63属、208种
- 细菌界：16门、26组、27纲、62目、163科、814属、4727种
- 第 16 门、31 组为疣微菌门、疣微菌组
- 目前已知微生物有约 20 万种（真菌 9 万多种，藻类约 10 万种，病毒约 4000 种），如沙门氏菌就有 2000 多种。
- **模式菌株**：能较好反映该类菌特性的一种菌。
- **ATCC**：美国典型菌种保藏中心





## 4. Ainsworth 菌物词典

---

对真核生物的分类最广泛采用

- 1966 年第一版，1995 年第八版
- 真核生物域含原生动物界、假菌界（主要黏菌）、真菌界



## 四、微生物的分型

---

### 1. 形态学分型

■ 根据特殊的形态学特征分

■ (1) 细菌形态：形状、大小、排列

■ (2) 培养特征：菌落特征

■ (3) 特殊结构：鞭毛、芽孢、荚膜、孢子

■ (4) 染色反应：革兰、抗酸

■ (5) 内含物：异染颗粒、伴孢晶体

■ (6) 运动性：



## 2. 生理生化分型

### 根据特殊的生理生化性状分

- （1）生理：需氧性、温敏性、嗜盐性、与宿主的关系、生活史（有性生殖情况）等
- （2）生化：营养类型（自养/异养）、对碳源的利用能力、对氮源的利用能力、对生长因子的需要、对抗生素及抑菌剂的敏感性、代谢产物（酶、毒素等）、对 pH 的适应性等
- 肠杆菌科细菌的分类主要靠生理生化



### 3. 血清学分型

根据不同的抗原特征分

主要用于种内不同菌（毒）株的分类，肠杆菌科为主，流感病毒分亚型主要也是血清型

### 4. 噬菌体分型

根据对噬菌体溶解反应的特性分

### 5. 致病性分型

根据对宿主的致病性分

### 6. 分子生物学分型

根据核酸分（衣原体）



## 五、微生物的鉴定

---

- 1. 各种分型指标
- 2. 氨基酸顺序和蛋白质分析： 指纹图谱
- 3. 核酸的碱基组成和分子杂交：
  - G+C mol%（GC比）、16S rRNA、指纹图谱
- 4. 遗传重组： 并非绝对



## 六、微生物的快速鉴定和自动化分析

### ■ 1. 微量多项试验鉴定系统

- (1) **API 20 系统**：法国 Bio-梅里埃公司生产，有 20 种不同的生化反应，可鉴定 700 多种细菌，分不同系列，如 20A——厌氧菌，20E——肠道菌
- 简单的有 API 10S
- (2) **Micro ID 系统与 Enterotube 系统**：美国罗氏公司生产，有 15 种生化反应，后者专门鉴定肠道菌
- (3) **Biolog 系统**：美国安普公司生产，可自动化鉴定，可鉴定 1140 种细菌
- (4) **国产**：众多

## API 10S 的意义

代号	项目名称	—	+
• ONPG	β-半乳糖苷酶	无色	黄色
• GLU	葡萄糖产酸	蓝色	黄绿色
• ARA	阿拉伯糖产酸	蓝色	黄绿色
• LDC	赖氨酸脱羧	黄绿色	橘红色
• ODC	鸟氨酸脱羧	黄绿色	橘红色
• CIT	枸橼酸盐利用	黄绿色	绿蓝色
• H <sub>2</sub> S	产硫化氢	无色	黑色沉淀
• URE	尿素酶	黄色	红紫色
• TDA	色氨酸脱氨酶	黄色	红紫色
• IND	吲哚形成	黄绿色	红色

# 基本步骤

- 给予各种细菌的反应模式一组编码，并建立数据库或编码检索本
- 通过对未知细菌进行有关生化试验（10-30 个）并将生化反应结果转换成数字编码（3 个一组，**0-7**）
- 查阅检索本或数据库从而得到细菌名称
- 补充试验确定





# 微量生化反应系统

## Micro-ID系统

V P	硝酸盐还原	苯丙氨酸脱氨酶	硫化氢	吲哚	鸟氨酸	赖氨酸	丙二酸盐	尿素	七叶甘	ONPG	阿拉伯糖	侧金盏花醇	肌醇	三梨醇
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1

— + —

0 2 0

2

— + +

0 2 1

3

+ — —

4 0 0

4

— + +

0 2 1

3

+ — —

4 0 0

4

相加所得数字：23434 查出相应细菌为：大肠埃希菌



## 2. 快速、自动化微生物分析

---

- (1) 通用仪器：气相色谱仪及高压液相色谱仪（尤其适用于厌氧菌，分析脂肪酸和醇类）、质谱仪（幽门螺杆菌—— $^{13}\text{C}$  呼气试验）等
- (2) 专用仪器：药敏自动测定仪、生物发光测量仪、自动微生物检测仪、微生物菌落自动识别计数仪、微生物传感器等
- (3) 生物芯片：
- (4) 免疫学方法：



### 3. 数值分类法 (numerical taxonomy)

---

又称统计分类法，现通称计算机分类法  
(computer taxonomy)

- 依据数值分析的原理，借助电子计算机技术对拟分类的微生物对象按大量表型性状的相似度进行统计，最终给予分类的方法

# 细菌的分类

在人工培养基上生长

专性细胞内细菌

衣原体属  
312-313

立克次体属  
309

球菌

杆菌

支原体  
298-300

螺旋体

需氧的

厌氧的

需氧革  
兰染色

密螺  
旋体属  
302-304

疏螺旋  
体属  
302-304

钩端螺  
旋体属  
302-304

革兰染色

97

阴性

阳性

耐酸染色阳性

阴性

阳性

奈瑟菌  
脑膜炎奈瑟菌  
淋病奈瑟菌  
96

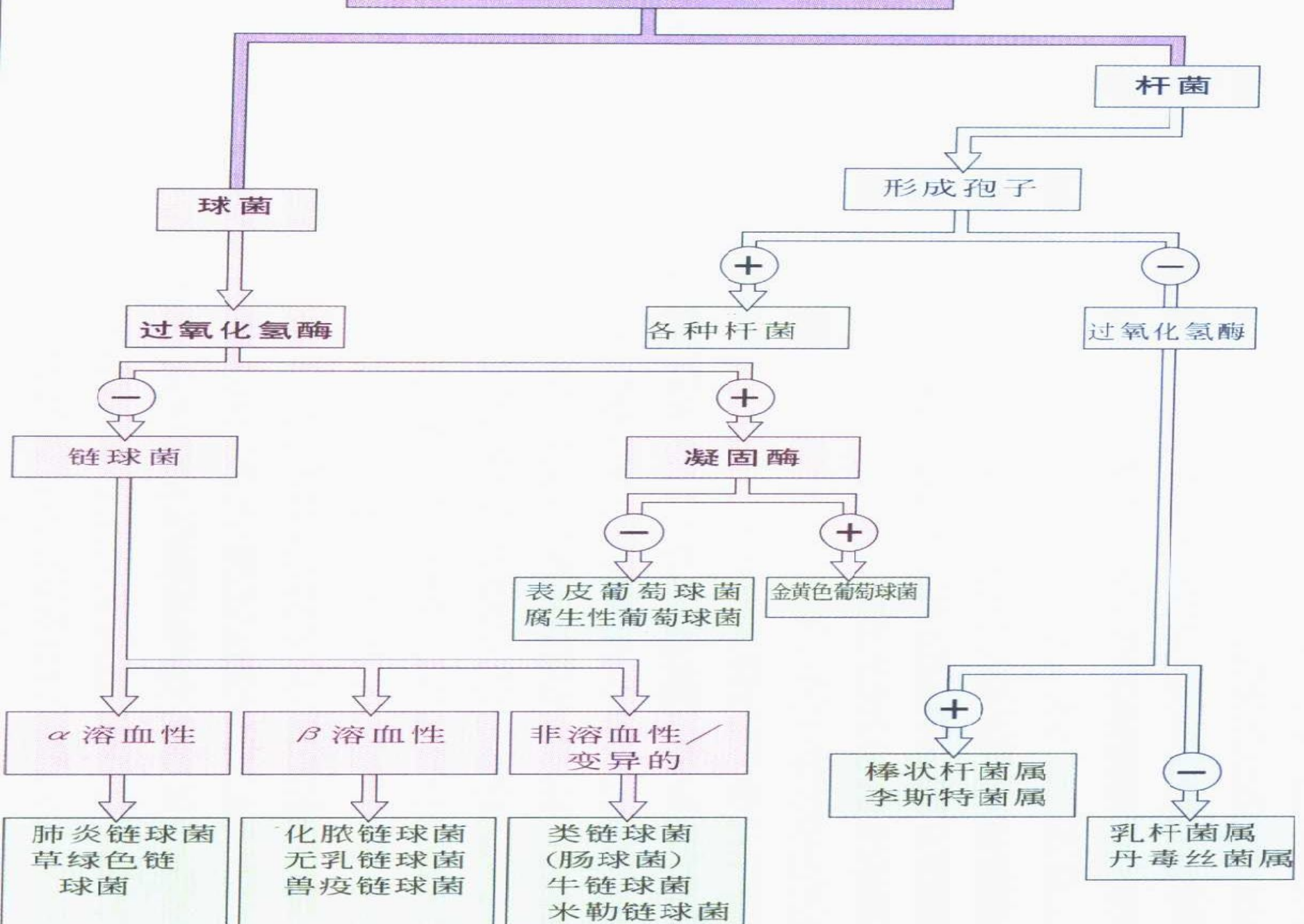
链球菌  
葡萄球菌  
95

肠杆菌属  
假单胞菌属  
弧菌属  
嗜血杆菌属  
博代杆菌属等  
96

芽胞杆菌属  
李斯特菌属  
棒状杆菌属  
丹毒丝菌属  
乳酸杆菌属  
95

分枝杆菌属  
282-284

# 需氧革兰阳性细菌





# 需氧革兰阴性细菌

球菌

球杆菌

杆菌

奈瑟菌属  
脑膜炎奈瑟菌  
淋病奈瑟菌

嗜血杆菌属  
布鲁菌属  
博代杆菌属  
巴斯德菌属  
不动杆菌属

其他杆菌

军团杆菌属  
加德纳菌属  
巴尔通体属  
等

氧化酶

-

+

肠杆菌科  
大肠埃希杆菌, 志贺  
杆菌属, 沙门菌属等

葡萄糖发酵

+

-

弧菌属  
气单胞菌属

假单胞菌属  
弯曲菌属  
莫拉菌属

# 厌氧细菌

杆菌

球菌

革兰阳性

革兰阴性

革兰阳性

革兰阴性

梭状芽胞杆菌属  
产气荚膜梭菌  
破伤风梭菌  
肉毒梭菌  
艰难梭菌  
丙酸杆菌属

拟杆菌属各种  
普氏菌属  
梭杆菌属各种

消化链球菌属

韦荣球菌属



## 六、微生物的物种多样性

微生物的物种多样性就是指微生物的分类

- 1. 真细菌的多样性

- 细菌（ $G^+$ 、 $G^-$ ）、光合细菌、化能无机营养细菌、放线菌

- 2. 古生菌的多样性

- 产甲烷菌、嗜热菌、嗜盐菌、热原体（无细胞壁）

- 3. 真核微生物的多样性

- 真菌、单细胞藻类、原生动物、黏菌

- \* 黏菌（黏质霉菌）和黏细菌是不同的





## 黏细菌（myxobacteria）

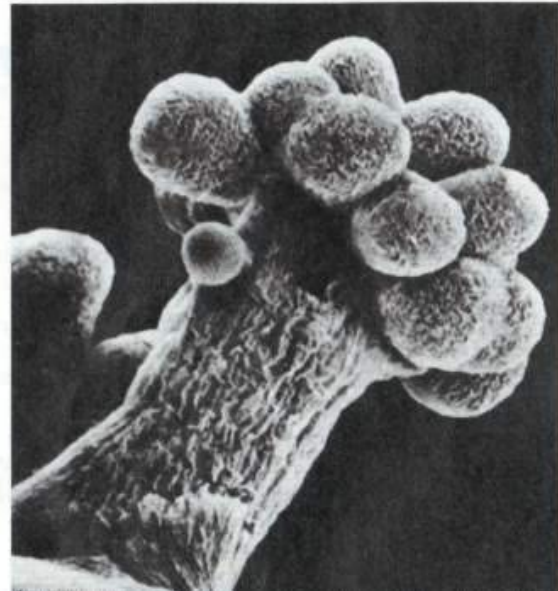
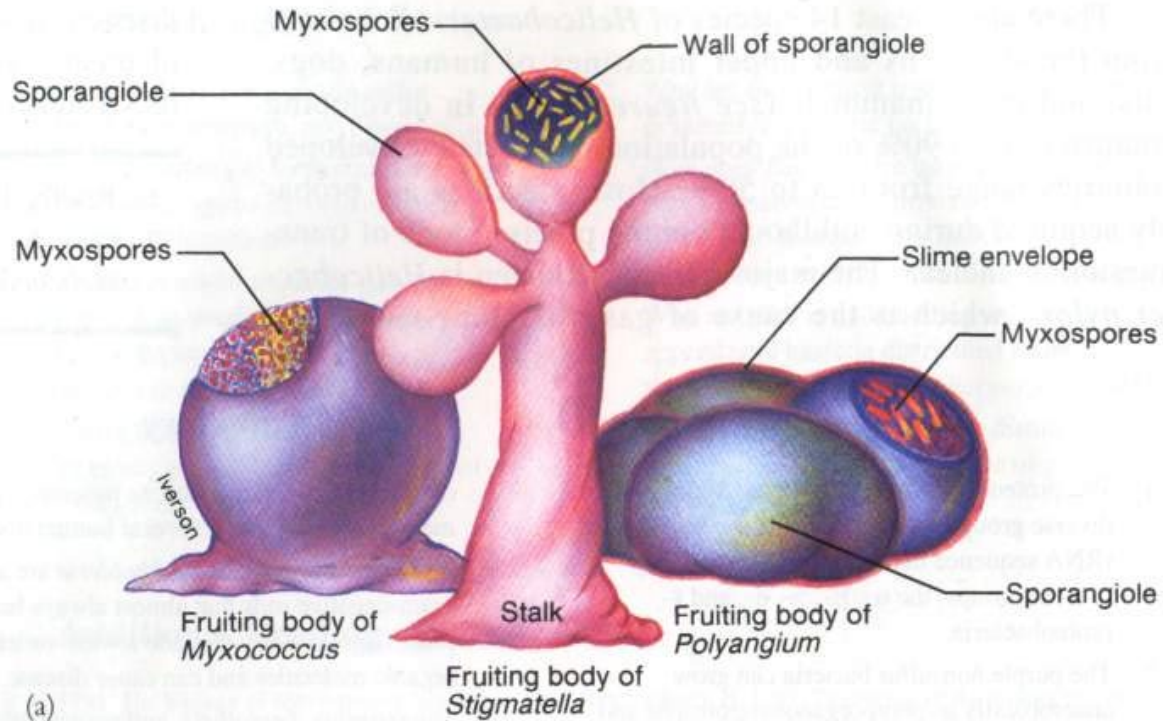
能形成子实体是黏细菌区别于其它原核微生物的最主要标志

**子实体（fruiting body）**：营养细胞发育到一定阶段，在适宜的条件下彼此向对方移动，在一定位置聚集成团，形成形态各异，肉眼可见的子实体。单个子实体中可能含有  $10^9$  个或更多由某些营养细胞转变而成的休眠结构，称为黏孢子（mycospore）。

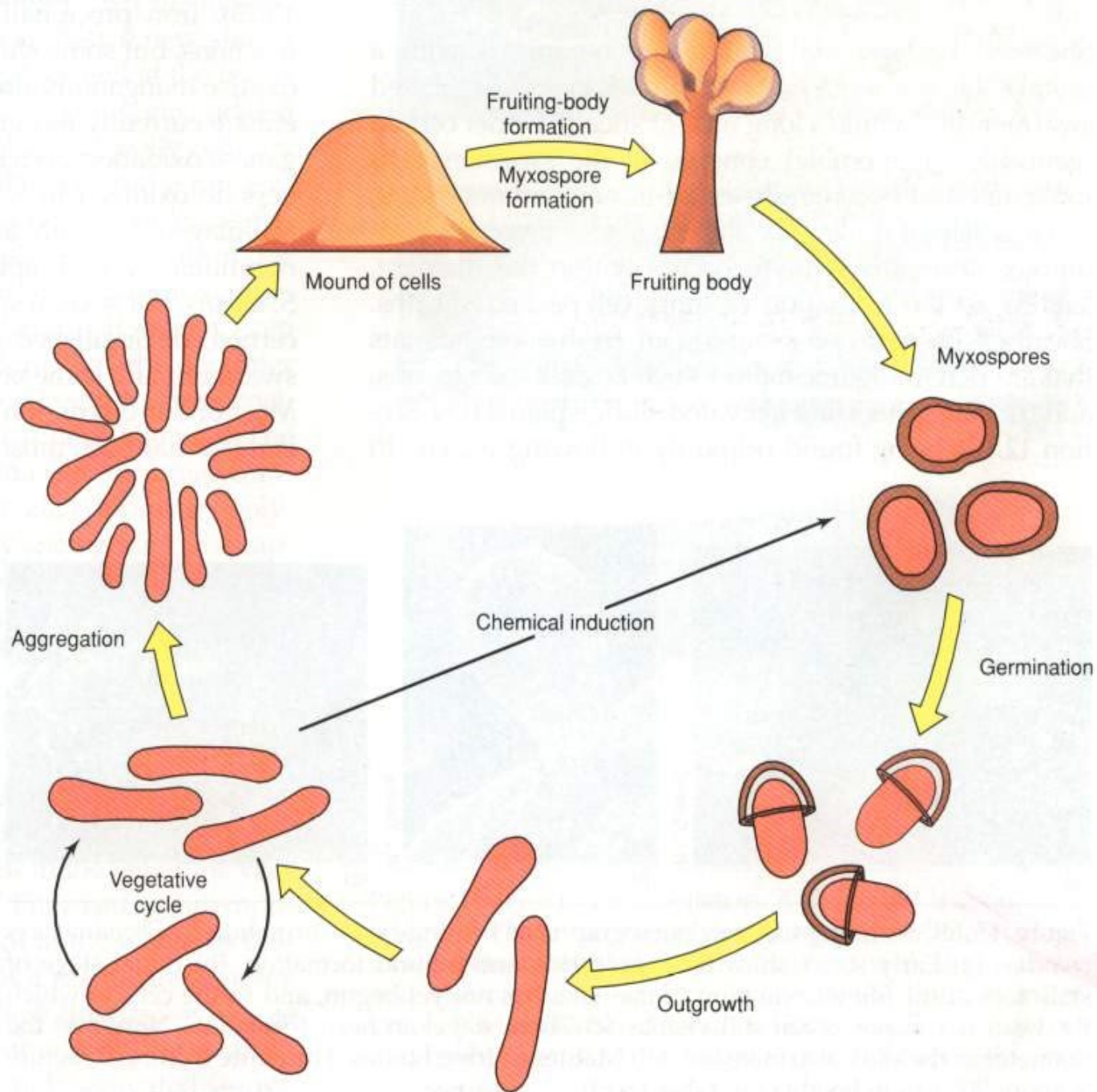
在营养生长阶段如果有足够的养料就不形成子实体

子实体干燥后，可借助风力、水力等到处传播，遇到适宜的环境又萌发成为营养细胞。

**Figure 22.35 Myxobacterial Fruiting Bodies**  
 (a) An illustration of typical fruiting body structure.  
 (b) *Myxococcus fulvus*. Fruiting bodies are about 150–400  $\mu\text{m}$  high.  
 (c) *Myxococcus stipitatus*. The stalk is as tall as 200  $\mu\text{m}$ .  
 (d) *Chondromyces crocatus* viewed with the SEM. The stalk may reach 700  $\mu\text{m}$  or more in height.




in each fruiting structure.



**Figure 16.61** Life cycle of *Myxococcus xanthus*. Aggregation serves to assemble vegetative cells for fruiting-body formation. Vegetative cells undergo morphogenesis to resting cells called myxospores. The latter germinate under favorable nutritional and physical conditions to yield vegetative cells. Vegetative cells can be converted directly to myxospores without fruiting-body formation by certain chemical inducers, notably high concentrations of glycerol. See photograph of *Myxococcus* fruiting bodies in Table 16.19.



## 4. 不可培养微生物（uncultured microorganisms）



（1）定义：采用从环境中直接分离并克隆 rRNA 并分析其序列和在分子进化树上的位置等方法发现的目前尚不能在人工条件下获得培养的微生物。

（2）研究方法：利用特异性 rRNA 探针进行荧光原位杂交（Fluorescence in situ hybridization, FISH），或进行原位 PCR（In Situ PCR）后再进行荧光原位杂交的技术对环境中的这些不可培养微生物进行定位、计数和进行形态观察。

（3）研究意义：

- a. 反映了生物多样性和系统发生的多样性（Biodiversity and Phylogenetic diversity）
- b. 对微生物生态学的研究提出新的要求
- c. 可从中寻找新的致病微生物
- d. 可从中寻找新的基因、新的蛋白



## 七、微生物资源的开发利用和保护

### 1. 微生物资源 (microbial resource)

- 对人类具有实际或潜在用途或价值的微生物

### 2. 微生物资源的特点

- 资源极丰富；认识极不充分；利用价值极大

### 3. 微生物资源的开发利用和保护

- 基础研究：分子生物学、转基因技术

- 应用研究：食品、农业、工业生产（药物及其它有机化工产品）、冶金与石油勘探

# 思考题

- 对临床上疑似伤寒患者如何做微生物学鉴定？
- 答：1. 对疑似患者进行血培养，细菌扩增  
.....
- 2. ....
- ....