

第四章 微生物的营养和培养基

营养：是指生物体从外部环境中摄取对其生命活动必需的能量和物质，以满足正常生长和繁殖需要的一种最基本的生理功能。

营养物：具有营养功能的物质。

第一节 微生物的6类营养要素

元素水平：碳、氢、氧、氮、硫、磷

营养要素水平：碳源、氮源、能源、
生长因子、无机盐、水

微生物与动植物营养要素的比较

	动物 (异养)	微生物		绿色植物 (自养)
		异养	自养	
碳源	糖类、脂肪	糖、醇、有机酸等	二氧化碳、碳酸盐等	二氧化碳
氮源	蛋白质及其降解物	蛋白质及其降解物、有机氮化物、	无机氮化物、氮	无机氮化物
能源	与碳源同	与碳源同	氧化无机物或利用日光能	利用日光能
生长因子	维生素	有些需要维生素等生长因子	不需要	不需要
无机元素	无机盐	无机盐	无机盐	无机盐
水分	水	水	水	水

一、碳源：一切能满足微生物生长繁殖所需碳元素的营养物。

功能：

1、为微生物合成自身细胞物质（糖类、脂类、蛋白质）提供碳元素。

2、提供微生物代谢产物中的碳元素。

3、为微生物提供生命活动所需能量。

异养微生物：必须利用有机碳源的微生物。

自养微生物：以无机碳源作为碳源的微生物。

表 微生物的碳源谱

类型	元素水平	化合物水平	培养基原料水平
有机碳	C·H·O·N·X	复杂蛋白质、核酸等	牛肉膏、蛋白胨、花生饼粉等
	C·H·O·N	多数氨基酸、简单蛋白质等	一般氨基酸、明胶等
	C·H·O	糖、有机酸、醇、脂类等	葡萄糖、蔗糖、各种淀粉、糖蜜等
	C·H	烃类	天然气、石油及其不同馏份、石蜡油等
无机碳	C(?)	—	—
	C·O	CO ₂	CO ₂
	C·O·X	NaHCO ₃	NaHCO ₃ 、CaCO ₃ 、等

异养微生物最适碳源：

“C、H、O”

糖

单糖

己糖 > 戊糖

双糖

多糖

纯多糖 > 杂多糖

有机酸

醇类

脂类

二、氮源：凡能提供微生物生长繁殖所需氮元素的营养物质。

功能：1、为微生物合成自身细胞物质（蛋白质、核酸）提供氮元素。

2、提供微生物代谢产物中的氮元素。

表 微生物的氮源谱

类型	元素水平	化合物水平	培养基原料水平
有机氮	N·C·H·O·X	复杂蛋白质、核酸等	牛肉膏、酵母膏、饼粕粉、蚕蛹粉等
	N·C·H·O	尿素、一般氨基酸、简单蛋白质等	尿素、蛋白胨、明胶等
无机氮	N·H	NH ₃ 、铵盐等	(NH ₄) ₂ SO ₄ 等
	N·O	硝酸盐等	KNO ₃ 等
	N	N ₂	空气

三、能源：能为微生物生命活动提供最初能量来源的营养物或辐射能。

功能：为微生物代谢提供能量。

化能自养微生物（原核微生物）能源：

NH_4^+ 、 NO_2^- 、 S 、 H_2S 、 H_2 、 Fe^{2+}

四、生长因子：是一类调节微生物正常代谢所必须但不能用简单的碳、氮源自行合成的有机物。

功能：1、为微生物提供重要细胞化学物质（蛋白质、核酸、脂质、辅酶、辅基）中的组分。

2、参与代谢。

狭义生长因子：维生素

广义生长因子：维生素、碱基、卟啉及其衍生物
甾醇、胺类、 C_4-C_6 脂肪酸、氨基酸

五、无机盐：为微生物提供除碳、氮源以外的各种重要元素。

大量元素 (10^{-3} — 10^{-4} mol/L) : P、S、K、Mg、Na、

Fe

微量元素 (10^{-6} — 10^{-8} mol/L) :Cu、Zn、Mn、Mo、

Co、Ni、Sn、Se

无机盐的功能：

细胞内分子的成分（P、S、Co、Mo等）

调节渗透压（ Na^+ 、等）

酶的激活剂（ Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、等）

化能自养微生物的能源（ S^0 、 Fe^{2+} 、 NH_4^+ 、 NO_2^- ）

无氧呼吸时的氢受体（ NO_3^- 、 SO_4^{2-} ）

调节PH的稳定

制备培养基时：

大量元素— K_2HPO_4 、 $MgSO_4$

微量元素—其它天然成分、一般化学试剂、水、玻璃器皿中含有

六、水

- 功能：
- 1、优良溶剂，保证生物生化反应的进行。
 - 2、维持大分子结构稳定。
 - 3、参与生化反应。
 - 4、保证了细胞内的温度不会因新陈代谢过程中释放的能量骤然上升（高比热、高汽化热）
 - 5、少数微生物的营养物

第二节 微生物的营养类型

营养类型：是指根据微生物生长需要的主要营养要素即能源和碳源的不同，而划分的微生物类型。

微生物的营养类型

营养类型	氢供体	碳源	能源	举例
光能无机自养型 (光能自养型)	H ₂ 、H ₂ S、或H ₂ O	CO ₂	光能	着色细菌、蓝细菌、藻类
光能有机异养型 (光能异养型)	有机物	有机物	光能	红螺细菌
化能无机自养型 (化能自养型)	H ₂ 、H ₂ S、NH ₄ ⁺	CO ₂	化学能 (无机物氧化)	氢细菌、硫杆菌、亚硝化单胞菌属(Nitrosomonas)、甲烷杆菌属(Methanobacterium)、醋酸杆菌属(Acetobacter)
化能有机异养型 (化能异养型)	有机物	有机物	化学能 (有机物氧化)	假单胞菌属、芽孢杆菌属、乳酸菌属、真菌、原生动物

不同营养类型之间的界限并非绝对：

◆异养型微生物并非绝对不能利用CO₂；

◆自养型微生物也并非不能利用有机物进行生长；

◆有些微生物在不同生长条件下生长时,其营养类型也会发生改变

例如紫色非硫细菌(purple nonsulphur bacteria)：没有有机物时，同化CO₂，为自养型微生物；有机物存在时，利用有机物进行生长，为异养型微生物；光照和厌氧条件下，利用光能生长，为光能营养型微生物；黑暗与好氧条件下，依靠有机物氧化产生的化学能生长，为化能营养型微生物；

◆微生物营养类型的可变性无疑有利于提高其对环境条件变化的适应能力

第三节 营养物质进入细胞的方式

一、单纯扩散：指疏水性双分子层细胞膜在无载体蛋白参与下，单纯依靠物理扩散方式让许多小分子、非电离分子尤其是亲水分子被动通过的一种物质运送方式。

主要特点：无特异性载体

不需要能量消耗

溶质运送方向由浓至稀

运送前后溶质分子不变

二、促进扩散：指溶质在运送过程中，必须借助于细胞膜上的底物特异性载体的协助，但不消耗能量的一种扩散性运送方式。

主要特点：

- 1、有特异性载体**
- 2、不需要能量消耗**
- 3、溶质运送方向由浓至稀**
- 4、运送前后溶质分子不变**

三、主动运送：指一类须提供能量并通过细胞膜上特异载体蛋白构象的变化，而使膜外环境中低浓度的溶质运入膜内的一种运送方式。

- 主要特点：**
- 1、有特异性载体
 - 2、需要能量消耗
 - 3、溶质运送方向由稀至浓
 - 4、运送前后溶质分子不变

四、基团移位：指一类既需特异性载体蛋白的参与，又需耗能的一种物质运送方式，其特点是溶质在运送前后还会发生分子结构的变化，因此不同于一般的主动运送。

- 主要特点：**
- 1、有特异性载体**
 - 2、需要能量消耗**
 - 3、溶质运送方向由稀至浓**
 - 4、运送前后溶质分子改变**

以*E.coli*运送己糖为例(需磷酸转移酶系统)

热稳载体蛋白的激活(Hpr):



糖经磷酸化运进细胞内:



第四节 培养基

培养基：是指由人工配制的、适合微生物生长繁殖或产生代谢产物用的混合营养料。

用途：促使微生物生长；积累代谢产物；分离微生物菌种；鉴定微生物种类；微生物细胞计数；菌种保藏；制备微生物制品。

一、选用和设计培养基的原则和方法

(一)、4个原则

1、目的明确：拟培养何菌；获何产物；

一般研究，精密生理、生化遗传研究；

2、营养协调：通过对微生物细胞组成元素的调查

和分析 来设计各成分的比例。

各营养物含量比例恰当

$H_2O > \text{碳源} > \text{氮源} > P.S > K.Mg > \text{生长因子}$
 $\sim 10^{-1} \quad \sim 10^{-2} \quad \sim 10^{-3} \quad \sim 10^{-4} \quad \sim 10^{-5} \quad \sim 10^{-6}$

碳氮比适中

碳氮比 (C/N)：碳源与氮源含量之比，严格地讲，C/N应是指在微生物培养基中所含的碳源中的碳原子摩尔数与氮源中的氮原子摩尔数之比。

真菌C/N=10/1； 细菌C/N=5/1

3、理化适宜：

1)PH：细菌---7.0—8.0；放线菌---7.5—8.5；

酵母菌---3.8—6.0；霉菌---4.0—5.8；

PH的调节：内源调节---磷酸缓冲液；CaCO₃(产酸菌)

外源调节---HCl；NaOH

2)、渗透压：等渗(最适)；高渗(脱水)；低渗(膨胀)

水活度(a_w)：表示在天然或人为环境中，微生物可实际利用的自由水。

$$a_w = P(\text{溶液的蒸汽压})/P_0(\text{纯水的蒸汽压})$$

(0.998—0.60)

表 几类微生物生长最适 α_w

微生物	α_w
一般细菌	0.91
酵母菌	0.88
霉菌	0.80
嗜盐细菌	0.70
嗜盐真菌	0.65
嗜高渗酵母	0.60

3)、氧化还原势(Eh)：是量度某氧化还原系统中还原剂释放电子或氧化剂接受电子趋势的一种指标。

好氧微生物：Eh—0.3—0.4v

兼性厌氧微生物：Eh--- >0.1 v(好氧产能)； <0.1v(厌氧产能)

厌氧微生物：Eh--- < 0.1 v

(氧化还原指示剂：刃天青—无氧：无色；

有氧：中性—紫色；碱性—蓝色；酸性—红色)

4、经济节约：以粗代精；以简代繁；以廉代贵

(二)、4 种方法

- 1、生态模拟；
- 2、参阅文献；
- 3、精心设计；
- 4、试验比较

二、培养基的种类

(一)、按对培养基成分的了解作分类

1、天然培养基：指一类利用动、植物或微生物体包括其提取物制成的培养基。

优点：营养丰富；种类多样；

配制方便；价格低廉；

缺点：成分不清；不稳定；

2、组合培养基：是一类按微生物的营养要求精确设计后用多种高纯化学试剂配制成的培养基。

优点：成分精确；重演性高；

缺点：价格较贵；配制麻烦；生长一般；

3、半组合培养基：是一类主要以化学试剂配制，同时还加有某种或某些天然成分的培养基。

(二)、按培养基外观的物理状态分类：

1、液体培养基：呈液体状态的培养基。

2、固体培养基：呈固体状态的培养基。

(1.5~2%琼脂 5~12%明胶)

3、半固体培养基：指在液体培养基中加入少量的凝固剂而配制的半固体状态的培养基。

(0.5-0.9%琼脂)

(三)、按培养基对微生物的功能作分类：

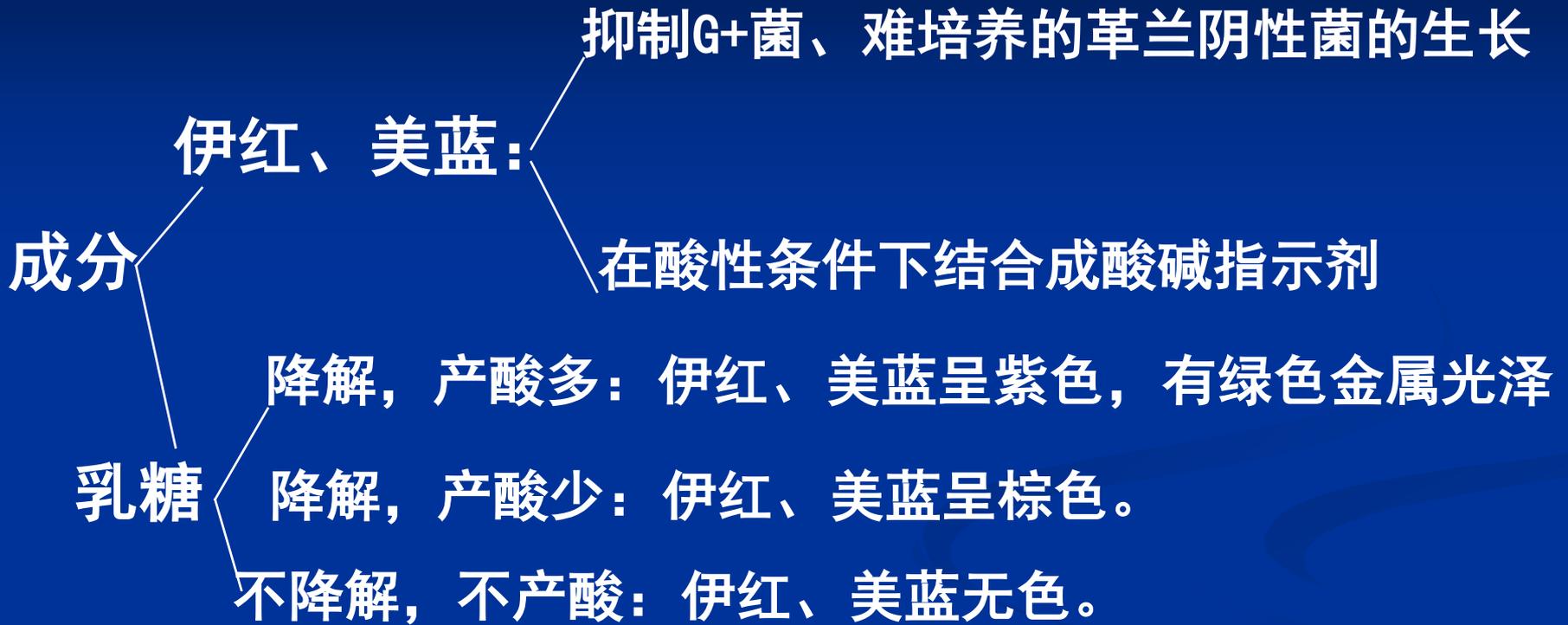
1、选择性培养基：一类根据某微生物的特殊营养要求或其对某化学、物理因素的抗性而设计的培养基，具有使混合菌样中的劣势菌变成优势菌的功能。

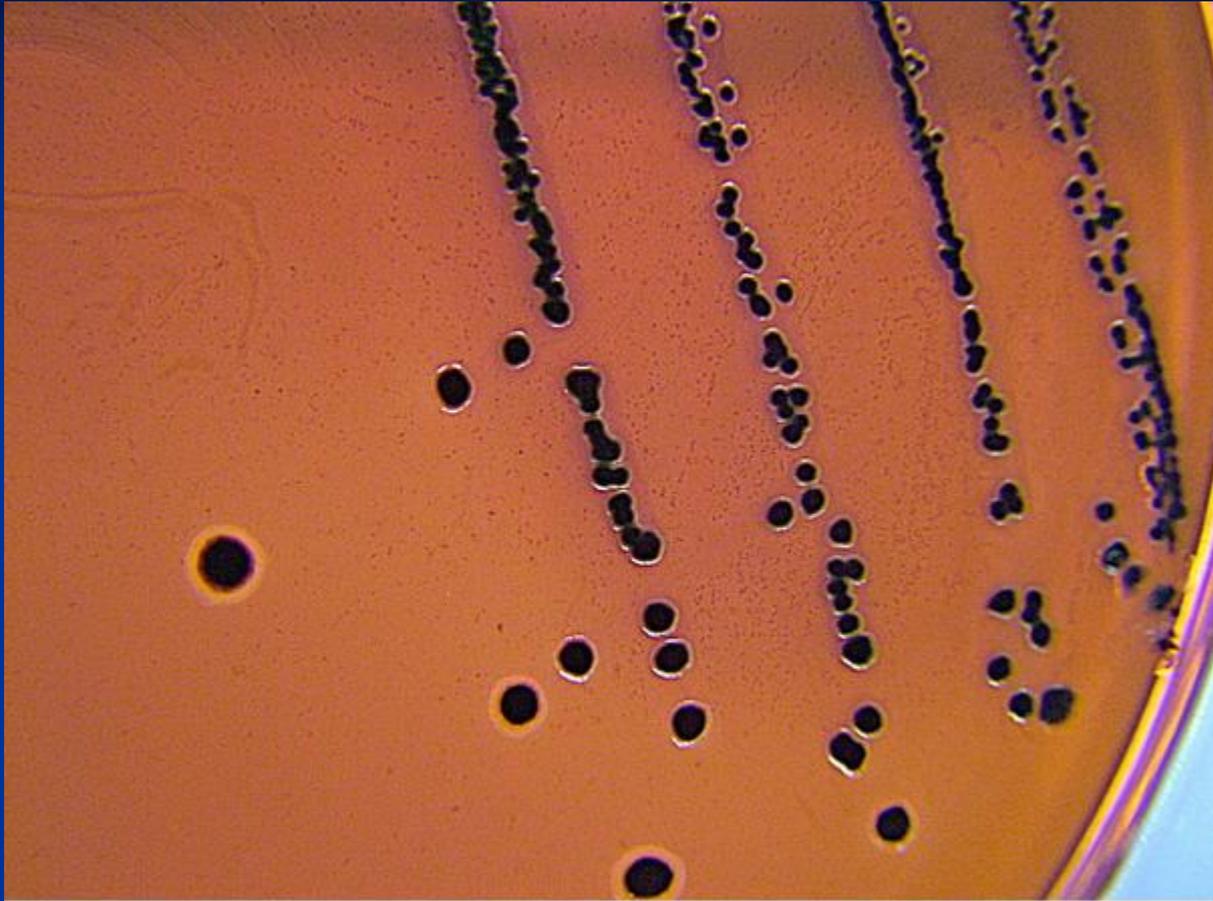
加富性选择培养基—富集纤维素分解菌用纤维素；富集酵母菌用浓糖液。

抑制性选择培养基—培养基中加链霉素和孟加拉红抑制细菌和放线菌，从而将真菌筛选出来。

2、鉴别培养基：一类在成分中加有能与目的菌的无色代谢产物发生显色反应的指示剂，从而达到只须用肉眼辨别颜色就能方便地从近似菌落中找出目的菌菌落的培养基。

以伊红、美蓝乳糖培养基 (EMB) (鉴别大肠菌群) 为例





Escherichia coli 大肠埃希氏菌 ATCC 25922

- 1、概念：碳源、氮源、培养基、天然培养基、选择培养基、固体培养基
- 2、简述微生物的四大营养类型。
- 3、什么是鉴别培养基？试以EMB培养基为例，分析其鉴别作用的原理。
- 4、微生物的主要营养物质及其功能。