

温度与微生物

施 邑 屏

(中国科学院上海有机化学研究所,上海)

温度对微生物的影响是广泛的,改变温度必然会影响微生物体内所进行的多种生物化学反应。适宜的温度能刺激生长,不适的温度会改变微生物的形态、代谢、毒力等,甚至导致死亡。

一般来说,温度能影响微生物的地理分布,而对种类分布影响并不明显。例如,高温细菌一般可从热带土壤、温泉、酸败的食品罐头中分离到,但也可从非热带土壤中分离到。

由于温度对微生物有重要影响,所以微生物分类学上常用“最适生长温度”、“最高生长温度”、“最低生长温度”及温度存活试验作为鉴定菌种的一项生理特征,配合其它形态与生理特性,以区别不同温度范围的种、属。

生物体完成其生命机能的温度区,称为生物动力区 (Biokinetic zone)。在进一步讨论生

物动力区之内的温度对微生物的影响前,首先谈一下动力区之外的温度对微生物的影响。

一、高温对微生物的影响

微生物在高于生物动力区的温度,即高于 100°C 会被杀死,实际上,就大多数微生物来讲,在温度高于大约 50°C 条件下即引起死亡。大家知道,有机体的生命活动主要是由酶催化的,酶又是由易发生热变性的蛋白质构成的,所以,微生物的热致死多是因细胞酶的热钝化所引起的。已知呼吸酶,特别是在催化三羧酸循环反应中的那些酶是特别对热变性敏感的,这些呼吸酶的变性能导致生物体的死亡。另外,微生物在高温下死亡也很可能起因于部分 RNA 热钝化以及损坏原生质膜所引起^[1-3]。

表 1 列出了破坏芽孢杆菌某些呼吸酶的最低温度是和该菌的最高生长温度趋向一致的。

由此说明当温度升高到破坏呼吸酶的程度时,细菌即不能生长。

表1 芽胞杆菌最高生长温度和某些酶失活的最低温度比较^[4]

菌 株	最高生长温度(°C)	最低酶失活温度(°C)		
		细胞色素氧化酶	过氧化氢酶	琥珀酸脱氢酶
芽状芽胞杆菌 <i>Bacillus mycoides</i>	40	41	41	40
<i>B. prausnitzii</i>	40	44	40	40
蜡状芽胞杆菌 <i>B. cereus</i>	45	48	46	50
巨大芽胞杆菌 <i>B. megatherium</i>	46	48	50	47
枯草杆菌 <i>B. subtilis</i>	54	60	56	51
<i>B. vulgatus</i>	55	56	56	50
嗜热菌	76	65	67	59

二、低温对微生物的影响

低温会减少或停止微生物的代谢作用。温度低于冰点时,可以使原生质内的水分结冰,导致细胞死亡。冻死与热死一样,其生物化学根据也未完全了解。一般认为冻死是由于细胞内水分结冰形成冰晶扰乱了原生质胶体状态和对原生质膜与细胞壁的结构产生机械破坏所致。另一方面,由对细菌和酵母的研究看出,当微生物的悬液被冰冻时,尽管悬液中形成冰,而细胞内的水分仍保持过冷的液体状态,悬液中结冰后,细胞外溶液浓度上升,细胞内水分外渗而使细胞内溶质浓度增加,以致于质壁分离,造成死亡。

那么,真空冷冻干燥保藏菌种时,为什么菌体不会死亡呢?这是因为真空冷冻干燥时,由于冷冻迅速,菌体溶液中水分不形成结晶,而呈不定形玻璃状,当被迅速融化时,玻璃状水分也不形成结晶,这就是冷冻干燥保藏菌种的依据。

三、生物动力区温度

微生物对其生物动力区温度内的反应差异很大。在南极州、北冰洋都可以找到酵母和细菌,在近沸腾的温泉中也有细菌生存。微生物对温度的适应能力不仅表现于不同菌种之间,而且也表现于某些微生物自身,它们可以适应

常温,也能适应高温。由此可见微生物对温度的适应,既与进化有关,也与代谢调节相关联。

一般讲,嗜热细菌的最适生长温度为45—60°C,中温细菌最适生长温度为25—40°C,嗜冷细菌为0—20°C^[6,7]。

嗜冷微生物又分为兼性嗜冷微生物和专性嗜冷微生物,能够在20°C以上生长的嗜冷微生物称为兼性嗜冷微生物,不能在20°C以上温度生长的嗜冷微生物称为专性嗜冷微生物^[8]。有关微生物在低温生长的生态及机制可参考Baross及Inniss等的专著^[9]。

嗜热细菌也可分为专性的、兼性的及耐热的三种类型。最适生长温度为65—70°C,而在40—42°C以下不生长的为专性嗜热细菌。最高生长温度在50—65°C,而在30°C也能生长的为兼性嗜热细菌。最高生长温度在45—50°C,并在30°C以下也能生长的称为耐热细菌。在Williams提出的分类系统中,又出现了高度嗜热细菌之称,它的最高生长温度在70°C以上,最适生长温度高于65°C,最低生长温度高于40°C^[10]。

关于放线菌与真菌的嗜热菌,在Rose的专著^[5]中作了报道。从表2列出的一些酵母的生长范围看,真核生物的温度极限远低于细菌类原核生物,这可能与真核生物具有较复杂的膜结构有关。

表2 酵母菌的生长温度范围^[11]

酵母菌	生长温度范围(°C)	温度类型
冬孢属酵母 <i>Leucosporidium frigidum</i> <i>L. nivale</i>	-2—20	嗜冷酵母
解脂假丝酵母 <i>Candida lipolytica</i>	5—35	中温酵母
近平滑假丝酵母 <i>C. parapsilosis</i> 地生酵母 <i>Saccharomyces telluris</i>	8—42	耐热酵母
牛球拟酵母 <i>Torulopsis bovina</i> 斯卢费假丝酵母 <i>Candida slooffii</i>	25—45 28—45	嗜热酵母

微生物的最适生长温度可能是由温度对生

物体内无数个酶反应的综合作用决定的。微生物在最适生长温度以上生长速率下降,又可能是一些限速酶或其它酶的变性导致的。例如大肠杆菌的生长温度由 37℃ 提高为 45℃ 时,其生长速率下降到最适温度时的 20%。与此同时,甲硫氨酸合成途径上的第一个酶即高丝氨酸琥珀酰转移酶活性减少^[1]。有关嗜热性机制的进一步报道可参考文献^[3,12]。

四、测定微生物生长温度界限的影响因素

对生长温度界限的测定分为两个研究类型,一是比较温度范围差异较大的微生物的性质,二是分析温度敏感突变体的性质。温度敏感突变体有二种类型,即是降低了最高生长温度的热敏感突变体,和升高了最低生长温度的冷敏感突变体。

许多研究证实了能够在高温下生长的嗜热细菌含有耐热的蛋白质^[13,14]。嗜热细菌的酶和某些细胞结构中的蛋白质对热的稳定性比中温细菌要稳定得多。表 3 是无细胞提取物中可溶性蛋白质的热稳定性的测定结果,由此看出典型中温菌的蛋白质大多数能在 60℃ 热处理 8 分钟被沉淀下来,而典型嗜热菌在同样条件下却沉淀很小的百分数。这说明不能在高温生长的细菌有较少的耐热蛋白质。

表 3 嗜热细菌和中温细菌的细胞蛋白质在 60℃ 时的热稳定性^[14]

菌 株	嗜温类型	处理 8 分钟变性蛋白(%)
<i>Proteus vulgaris</i>	中温细菌	55
<i>Escherichia coli</i>	中温细菌	55
<i>Bacillus megaterium</i>	中温细菌	58
<i>B. stearothermophilus</i>	嗜热细菌	3
<i>Bacillus sp.</i> (Purdue CD)	嗜热细菌	0
<i>Bacillus sp.</i> (Texas 11330)	嗜热细菌	4

虽然为实现嗜热细菌的进化适应,必须增加其蛋白质热稳定性的突变,但是某种蛋白质一级结构的突变往往会减少这种蛋白质的热稳定性。即使这种突变对它的催化性能影响很小或者没有影响,然而若不以对热的要求进行反

复选择时,任何微生物的最高生长温度都应该是逐渐下降的。从南极的水中分离的嗜冷细菌含有大量的热不稳定的蛋白质这一事实对这个论断给予了支持。

在低温下所有蛋白质的构象变化,可归因于三级结构中起重要作用的疏水键的削弱。相反,蛋白质中所有其它类型的键,当温度下降时却变得更加稳定。精确的构象对变构蛋白质功能的重要性以及对核糖体蛋白质自组装的重要性,使这两种蛋白质对冷钝化特别的敏感,因此通常认为增加最低生长温度的突变是发生在编码这些蛋白质的基因上^[8]。

五、生长温度对微生物脂质组成的影响

几乎所有的微生物,包括原核生物^[15],和真核生物^[16]的脂质组成都随生长温度的变化而改变。大量的研究表明,外界温度下降时,微生物细胞脂质不饱和脂肪酸的含量增加。

表 4 生长温度对大肠杆菌主要脂肪酸含量的影响^[17]

脂肪酸名称	细胞中总脂肪酸含量(%)	
	10℃	43℃
饱和脂肪酸		
十四烷酸	3.9	7.7
十六烷酸	18.2	48.0
不饱和脂肪酸		
十六烯酸	26.0	9.2
十八烯酸	37.9	12.2

已知脂质的熔点与其饱和脂肪酸的含量相关,因而在特定的温度下,膜脂质中脂肪酸的饱和度决定细胞膜的流动性程度和膜的功能。

对于专性嗜热微生物来说,因其膜脂质的脂肪酸饱和度比中温菌的膜脂质要大,所以嗜热菌的凝固温度较高。这可能是嗜热菌最低生长温度较高的原因。此外,嗜热细菌脂质的脂肪酸碳链长度也不同于中温细菌,中温细菌的脂肪酸大多是 15 碳的,嗜热细菌大多数是 16—17 碳的,高度嗜热细菌碳链还要长。另外普通脂肪酸与支链脂肪酸的比率也随着温度的改变而明显改变^[18]。高度嗜热细菌的复合类脂构造与中温菌的类脂构造也有不同,大都为结合有糖的类脂质。而且,嗜热细菌一般具有异型脂肪

酸、稳定型脂肪酸和环己烷型脂肪酸,而不存在不饱和脂肪酸^[15]。

六、温度对微生物的其它影响

除了对生长和脂质的影响外,温度还能影响微生物的其它性能。首先一些微生物的毒力是受到温度的左右的。例如,炭疽杆菌在42℃培养数代后,失去生成芽孢的能力,并变为永久性的无毒株。单核细胞增生利斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*) NCTC5214,在小鸡胚胎中于低温生长时比在高温生长时毒性更大。根癌土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*),当接种温度在31.5至37℃时,会丧失其诱导蕃茄生瘤的毒力。其次一些微生物色素的产生也受温度影响,粘质赛氏杆菌(*Serratia marcescens*) 在20—25℃生长时比在37℃能产生更大量的红色灵杆菌素。此外,微生物的其它代谢活动也为温度所影响,许多微生物合成多糖的能力在低温区比在高温区要强^[1]。生长温度的下降还可引起细菌和酵母菌核糖核酸/蛋白质比率的增加,反之亦然^[19]。

参 考 文 献

- [1] Rose, A. H.: Effect of Temperature on Microorganisms, in *Chemical Microbiology, An Introduction to Microbial Physiology*, Third Edition, Butterworths, London, Boston, 1976, pp. 129—135.
- [2] Litchfield, J. H.: *Food Microbiology*, in Industrial Microbiology (ed. by Miller, B. M. and W. Litsky), McGraw-Hill, New York, St. Louis, San Francisco, 1976, pp. 261—263.
- [3] Christophersen, J. and J. L. Ingraham: *Microorganisms, in Temperature and Life* (ed. by Precht, H., J. Christophersen and H. Hensel et al.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New

- York, 1973, pp. 3—85.
- [4] Porter, J. R.: *Bacterial Chemistry and Physiology*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1946, pp. 172—195.
- [5] Farrell, J. and A. H. Rose: Temperature Effects on Microorganisms, in *Thermobiology* (ed. by Rose, A. H.), Academic Press, London, New York, 1967, pp. 146—218.
- [6] Edmonds, P.: *Microbiology, An Environmental Perspective*, Macmillan, New York, 1978, pp. 99—101.
- [7] Moat, A. G.: *Microbial Physiology*, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 1979, pp. 459—462, 471—476.
- [8] Stanier, R. Y., E. A. Adelberg and J. L. Ingraham: Effect of Temperature on Microbial Growth, in *The Microbial World, Fourth Edition*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1976, pp. 305—309.
- [9] Baross, J. A., R. Y. Morita, W. E. Inniss et al.: Microbial Life at Low Temperatures, in *Microbial Life in Extreme Environments*, (ed. by Kushner, D. J.), Academic Press, London, New York, San Francisco, 1978, pp. 9—104.
- [10] Williams, R. A. D.: *Sci. Prog. (Oxford)*, 62: 373—393, 1975.
- [11] Arther, H. and K. Watson: *J. Bacteriol.*, 128: 56—68, 1976.
- [12] Amelunxen, R. E. and A. L. Murdock: *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, 6(4): 343—394, 1978.
- [13] Ljungdahl, L. G. and Sherod, D.: *Proteins from Thermophilic Microorganisms*, in *Extreme Environments; Mechanisms of Microbial Adaptation* (ed. by Heinrich, M. R.), Academic Press, New York, 1976, pp. 147—187.
- [14] Koffler, H. and G. O. Gale: *Arch. Biochem. Biophys.*, 67: 249—251, 1957.
- [15] 大岛美惠子: 现代化学, 87: 18—25, 1978.
- [16] Watson, K. and H. Arther: *J. Gen. Microbiol.*, 97: 11—18, 1976.
- [17] Marr, A. G. and J. L. Ingraham: *J. Bacteriol.*, 84: 1260—1267, 1962.
- [18] Daron, H. H.: *J. Bacteriol.*, 101: 145—151, 1970.
- [19] Alrog, Y. and S. R. Tannenbaum: *Biotech. Bioeng.*, 15: 239—256, 1973.