



细菌的芽孢

闵航 冯孝善

(浙江农业大学微生物教研组)

细菌的芽孢对不良环境因素(热、干燥、射线、化学药剂等)具有高度的抗性,这与人类的生活、生产有一定的利害关系。

细菌的芽孢是细菌营养细胞的休眠体,并且具有回复到营养体阶段的性能^[1]。芽孢不是通过细胞核物质结合形成,因而不是细菌的繁殖方式^[2-4]。芽孢的形成是一个新的结构的积极合成,是产芽孢细菌生活循环中的一个阶段,而不是对不利环境的一种简单的消极反应^[2]。因为产芽孢的细菌在不利条件下不一定能形成芽孢,而且芽孢形成的最适条件与其营养细胞的生长条件也相类似^[5]。当然,不利因子可能起作用,但在实际上并无一定规律。

迄今所知,产生芽孢的细菌主要为芽孢杆菌(*Bacillus*)和梭状芽孢杆菌(*Clostridium*),其次为芽孢八叠球菌(*Sporosarcina*),芽孢乳杆菌(*Sporolactobacillus*),脱硫肠杆菌(*Desulfotomaculum*)和芽孢弧菌(*Sporovibrio*)。某些其它属的细菌也有芽孢生成,但证据不足,难以肯定^[1]。产芽孢的细菌包括好气性、兼厌气性和厌气性;杆状和球形;革兰氏阳性和阴性;能进行碳水化合物发酵,引起氨化作用,固氮,还原硝酸盐和硫酸盐等大量生理反应的一些原核微生物^[1]。

每种细菌的芽孢都有一定的形状、大小、表面结构和在细胞中的位置,这些特征可以作为鉴定菌种的依据。

一、细菌芽孢的化学组成、抗性及其机理

尽管芽孢只是原营养细胞的一部分,如巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)的芽孢仅为原菌体大小的十分之一,但含有营养细胞所具有的大部分固形物质^[1]。芽孢还含有与营养细胞无

多大区别的细胞核物质。芽孢原生质中含有蛋白质、DNA和RNA、脂类、类脂类、少量糖和盐类。其中脂类和类脂质含量要比营养体高。芽孢含有营养体中代谢碳水化合物、蛋白质、核酸和脂类的各种酶,但其含量较低^[6]。芽孢皮层主要为肽聚糖成分,但不含有通常存在于营养细胞的附属多聚糖磷壁酸。不同种细菌以及同种细菌在不同条件下所形成芽孢的化学成分和某些活性物质的含量各不相同^[7]。

在所有芽孢中都存在所有营养细胞中不存在也不能合成的吡啶二羧酸(DPA)和大量的钙,DPA含量可高达芽孢干重的15%。除钙外还有镁、锰等二价金属离子和-S-S-化合物^[1]。

芽孢对不良环境因素具有高度的抗性。一般芽孢能耐受80℃高温达十几分钟^[2]。而肉毒梭菌(*C. botulinum*)的芽孢甚至能在180℃下存活十分钟^[8]。尚未发现任何一种细胞能像芽孢这样抗如此高的温度。有人指出,代谢惰性的芽孢对辐射的抗性比营养细胞要高10—1000倍以上,对次氯酸的抗性高1000倍,紫外线杀死芽孢需要两倍于杀死营养细胞的剂量^[1]。这就大大提高了产芽孢细菌在不利环境中的存活率。

对于细菌芽孢抗性的机理,至今还没有得到令人满意的解释。长期以来认为吡啶二羧酸在抗热性方面起作用,但近来分离到的无吡啶二羧酸突变体仍具有抗热性^[1]。有的研究者提出了渗透调节膨胀皮层的理论来解释芽孢抗热性,认为抗热的芽孢外壳对于多价阳离子是不渗透的,高含水量的皮层含有带负电荷的肽聚糖,并产生高渗透压的迁移性平衡离子,使被皮层包裹的低含水量的原生质体引起渗透性脱

水,因而具有抗热性。而热敏感的芽孢则是由于有一个易泄漏多价阳离子、已变化了的外壳,致使中性化的皮层崩解,失去平衡离子,产生了低渗透压,原生质只部分脱水,因而对热敏感^[1]。此外,芽孢中酶的分子量较营养细胞中相应的酶小,分子量较小的蛋白质由于分子内键的作用而更稳定,因而具有更大的抗热性^[2]。芽孢的含水量仅为60%左右,且多为束缚水,这可能也是芽孢抗热和抗辐射的原因之一^[6]。据认为,芽孢与营养细胞的DNA结构不同可能与水化水平有关^[1]。芽孢蛋白质富含-S-S-键对于抗X射线有作用。而对某些药剂的高抗性可能与芽孢中DPA、Ca²⁺、Mn²⁺、半胱氨酸含量较高有关^[1,3]。

二、细菌芽孢的形成

细菌形成芽孢一般在对数生长后期或稳定生长前期开始。全过程可分为①轴丝形成;②隔膜形成;③前芽孢发育;④皮层形成;⑤外壳合成;⑥芽孢成熟;⑦芽孢释放等七个不同阶段,历时约8—10小时^[9-11]。形成芽孢的开始时间和速率,低菌种和环境不同而有差异。

芽孢形成过程中发生一系列的生物化学变化。依照酶与芽孢形成之间的关系,可以把芽孢酶分为四种类型:①营养细胞的酶的合成和功能在芽孢形成期间继续保持,如参与能量代谢、氨基酸合成和大分子化合物生物合成的酶。②在芽孢形成期间出现或提高活性的酶,但这类酶对芽孢形成不起作用,如精氨酸酶和淀粉酶等。③也是在芽孢形成期间出现或增加活性的酶,但其活性对于芽孢形成是必需的,然而并不是芽孢所独有的,如参与三羧酸循环的各种酶。④这类酶只在芽孢形成期间出现,且是必不可少的,并为芽孢形成所独有。如形成DPA、皮层肽聚糖、芽孢外壳蛋白所需的酶^[12]。可见原来营养细胞中的酶有些失活消失,有些保留下来,有些则经修饰成为芽孢形成中特异化的酶。除了酶的活性有改变外,还有催化同一反应的酶蛋白特性和数量也不同于营养细胞,如形成芽孢的三个关键性酶:谷氨酰胺合成酶、依赖DNA的RNA聚合酶和丙酮酸激

酶,随着芽孢形成过程中Mg²⁺与Mn²⁺浓度比率降低而改变它们的动力学性质^[1,3]。形成芽孢的细菌在对数生长后期可分泌活性很高的胞外蛋白酶,它和碱性磷酸酯酶、葡萄糖脱氢酶等一样,在芽孢形成的不同阶段参与外围的代谢变化。同时也合成胞内蛋白酶,它使蛋白质以每小时7—22%的速度更新,并对原营养细胞的蛋白质进行修饰^[10]。

细菌芽孢的形成有一套需要有特殊信息的控制机制,这些在细胞内部各个层次起作用的控制机制都是由细胞外的环境因子刺激引发的^[10]。目前已知在芽孢形成过程中涉及有40—50个操纵子,受分散在染色体上大量非链状基因(可能达200个之多)所控制。每一个生化变化都由特定的基因点或操纵子似的一群基因组所决定和调节。至于基因组阅读的起始方式和它的调节还不很清楚^[1]。还有证据表明,有70—80%的营养期基因在芽孢形成期继续表达,可见情况并不是营养生长的基因“关闭”而芽孢形成的基因即“开动”那样简单。在芽孢形成之前,菌体在对数生长期之末,与停止合成细胞壁和开始合成隔膜之前有一种时序上的控制机制,这包括:所转录的mRNA的数量和稳定性,芽孢酶合成的阻遏,这些酶活性的反馈抑制,某些特异性芽孢酶的分解代谢等控制机制^[10]。

细菌芽孢的形成需要比较严格的条件,并随菌种而有差异。因此外界条件对芽孢的形成有较大的影响,如形成芽孢的最适pH6.6—6.8,超过最适范围则芽孢生成量下降甚至无芽孢生成。环境中的许多物质可以抑制或促进芽孢的形成^[1,3],如加入葡萄糖可抑制芽孢形成,而活性炭、可溶性淀粉等可以去除培养基中的抑制物质而促进芽孢生成^[4,8]。某些无机离子也为芽孢形成所必需,如钾、镁离子是巨大芽孢杆菌形成芽孢最重要的因子^[7]。

三、细菌芽孢的萌发

萌发即在适宜的条件下不可逆地打破芽孢的高度休眠状态,失去抗性,出芽成为营养体。芽孢的萌发有三种方式:①赤道式萌发;②

向极式萌发；③逗点形扩大^[2,4,5]。对肉毒梭菌芽孢萌发的动力学研究表明，芽孢萌发的进行和一个单分子反应一样。即如果在萌发开始(t_0)时有 I 个芽孢，在时间 t 时有 G 个芽孢萌发，则 $K = \frac{1}{t - t_0} \ln \frac{I}{I - G}$ 或 $0.434K = \frac{1}{t - t_0} \log \frac{I}{R}$ ，R 为 I - G 残存的芽孢数^[11]。

细菌芽孢萌发时，由代谢率极低的休眠状态恢复到代谢活性高度活跃的营养体状态，经历一系列复杂的生物化学变化。炭疽芽孢杆菌 (*B. anthracis*) 的芽孢在 37℃ 下接入肉汁培养基中，5 分钟后即开始消耗氧，并开始营养生长所需的代谢反应^[2]。随着芽孢颜色的变深、膨大、外壳破裂，渗出了约占其干重 30% 的固形物质。巨大芽孢杆菌的渗出物包括各种氨基酸、肽类、肽聚糖、氨基葡萄糖等，还有约占渗出物一半的 DPA 钙盐^[1,2]。DPA 钙盐渗出后即丧失抗热性。芽孢萌发的百分率和速率或热处理的必要性均与芽孢的 DPA 含量无关，也与 DPA:Ca²⁺ 的比率无关。但对于打破休眠必须有一个 DPA 临界值，这个值决定于细菌种类和萌发时的环境条件^[3]。

在适宜条件下，蜡质芽孢杆菌 (*B. cereus*) 芽孢在加入萌发诱发剂后 2 分钟就开始萌发，2.5—3 分钟开始合成 RNA，4 分钟开始合成蛋白质，5 分钟萌发完成。核糖体和细胞壁合成开始较早，DNA 合成在细胞刚分化后即开始^[9]。在细胞分化结束与营养生长恢复之间的出芽期，所合成的 mRNA 半生命期和碱基组

成与营养细胞中的 mRNA 相同，但与芽孢形成期间合成的 mRNA 不同。萌发时基因表达的控制与芽孢形成时的控制，在时序、层次和机制上都是相同的^[9,10]。

环境因子对芽孢萌发的影响因菌种和其它条件不同而有差异。芽孢萌发前加热活化，可大大提高萌发速率，处理温度随菌种而异，一般为 85℃，8—10 分钟^[4,6,8]。各菌种的芽孢萌发时对环境中的养分也有各不相同的要求^[8,11]。

参 考 文 献

- [1] Slepecky, R.: In "Essays in Microbiology", ed. by Norris, J. R. and M. N. Richmond, John Wiley and sons, Chichester, 1978.
- [2] Kenneth, V. Thimani: The Live of Bacteria-Their Growth, Metabolism and Relationships, The Macmillan company, New York, 1955.
- [3] Rose, A. H.: Chemical Microbiology (An Introduction to Microbiol Physiology), Third edition, Butterworths, London, Boston, 1976.
- [4] Salle, A. J.: Fundamental Principles of Bacteriology, McGraw-Hill Book Company, Inc. Seventh edition, 1973.
- [5] Lamanna, C.: *J. Bacteriol.*, **40**: 347, 1940.
- [6] Edmonds, P.: Microbiology (An Environmental Perspective), Macmillan publishing co., Inc. New York, 1978.
- [7] Grelet, N.: *J. Appl. Bacteriol.*, **20**: 315, 1957.
- [8] Bareker, A. N. et al.: Spore Research, Academic Press London, New York, 1974.
- [9] Halvolrson, H. and J. Szulmajster: In "Biochemistry of Bacterial Growth", ed. by Mandelstam, J. and K. McQuillen, second edition, Blackwell Scientific Publications, 1973.
- [10] Szulmajster, J.: *Trends in Biochemical Sciences*, **1**: 18—32, 1979.
- [11] Wynne, E. S. and J. W. Foster: *J. Bacteriol.*, **55**: 69—73, 1948.
- [12] Hanson, R. S. et al.: *Ann. Rev. Microbiol.*, **24**: