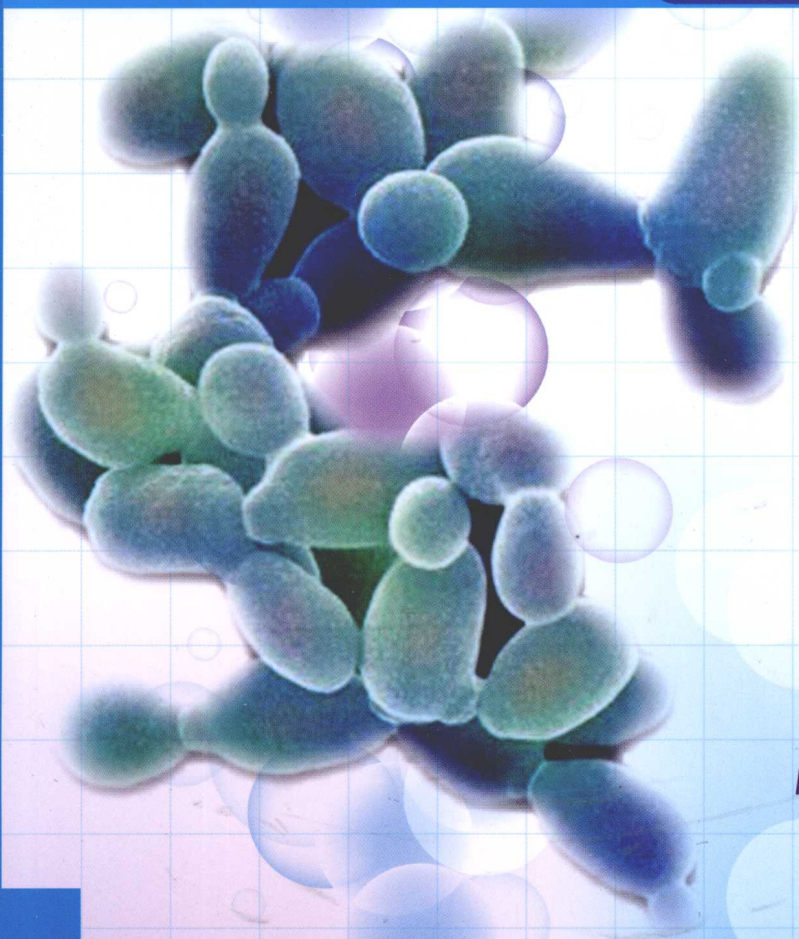


国家级精品课程配套教材

# 微生物技术

潘春梅 张晓静 主编



化学工业出版社

国家级精品课程配套教材

# 微生物技术

潘春梅 张晓静 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

本书全面系统地阐述了微生物技术的基本理论、基础知识和基本实践操作方法。全书共十单元,包括微生物技术的基本要求,微生物形态观察技术、培养技术、生长测定技术、分离纯化及鉴定技术、选育技术、菌种保藏技术,环境微生物及其检测技术,病毒学技术和免疫学技术。各单元附有相关的技能训练、阅读材料和复习参考题。本书的编写注重了理论与技能的兼容,具有较强的启发性和实用性。

本书可作为高等职业院校生物技术类专业课程教材,也可供食品科学、质量检验、饲料等其他专业师生和从事生物技术工作的科技人员参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

微生物技术/潘春梅,张晓静主编. —北京:化学工业出版社, 2010.8  
国家级精品课程配套教材  
ISBN 978-7-122-08990-8

I. 微… II. ①潘…②张… III. 微生物-生物技术-高等学校-教材 IV. ①Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 124517 号

---

责任编辑:李植峰  
责任校对:周梦华

文字编辑:丁建华  
装帧设计:杨 北

---

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)  
印 刷:化学工业出版社印刷厂  
装 订:三河市前程装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张16½ 字数425千字 2010年9月北京第1版第1次印刷

---

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

---

定 价:29.00 元

版权所有 违者必究

## 《微生物技术》编审人员

主 编 潘春梅 张晓静

副 主 编 王慧杰 宁豫昌 张东林

参编人员 (按姓名汉语拼音排列)

白 静 (郑州牧业工程高等专科学校)

刘 畅 (郑州牧业工程高等专科学校)

宁豫昌 (郑州牧业工程高等专科学校)

潘春梅 (郑州牧业工程高等专科学校)

任 敏 (郑州牧业工程高等专科学校)

舒黛廉 (郑州牧业工程高等专科学校)

孙西玉 (郑州牧业工程高等专科学校)

王慧杰 (郑州牧业工程高等专科学校)

杨联芝 (中州大学)

杨向科 (郑州牧业工程高等专科学校)

张东林 (南阳师范学院)

张晓峰 (郑州牧业工程高等专科学校)

张晓静 (郑州牧业工程高等专科学校)

赵志军 (郑州牧业工程高等专科学校)

主 审 边传周 (郑州牧业工程高等专科学校)

# 前 言

微生物技术是高等职业院校生物技术类专业的一门核心专业基础课，其内容广泛，发展迅速。通过本课程的学习，应使学生对微生物学有较全面的了解，掌握本学科的基本理论、基础知识和基本实践操作技能，培养分析和解决相关问题的能力，能更好地快速胜任有关微生物技术方面的多个岗位的工作。本书适用于生物技术类专业的教学，也可供食品科学、质量检验、饲料等其他专业师生和从事生物技术工作的科技人员参考使用。

本书是以郑州牧业工程高等专科学校的微生物学国家级精品课程建设项目为依托，编写人员具有较丰富的课改、教材建设经验。在编写过程中，严格按照教育部颁布的教育改革文件精神，把以能力为本位作为教育教学的指导思想，贯穿“教、学、做合一”的理念，以岗位需求为导向，重点培养学生的职业能力、实践能力和创新精神。教材在内容设计上，坚持“必需”、“够用”的原则，基于工作任务为载体构建教学内容，以完成工作任务为行动导向和学习目标，设计了十个教学情境，即十个单元，分别介绍微生物技术的基本要求，微生物形态观察技术、培养技术、生长测定技术、分离纯化及鉴定技术、选育技术、菌种保藏技术，环境微生物及其检测技术，病毒学技术和免疫学技术。在结构体系上，每一单元都包含了该微生物技术所要求掌握的理论知识和多项技能训练内容，注重理论的实用性和技能的可操作性。本书注重了理论与技能的兼容，具有较强的启发性和实用性。

本书由潘春梅、张晓静主编，王慧杰、宁豫昌、张东林副主编。内容分工如下：第一单元（张晓静、孙西玉），第二单元（张晓静、张晓峰）、第三单元（张东林、潘春梅）、第四单元（刘畅、王慧杰、任敏）、第五单元（赵志军、杨向科）、第六单元（潘春梅）、第七单元（杨向科、赵志军）、第八单元（宁豫昌）、第九单元（舒黛廉、宁豫昌）和第十单元（舒黛廉、白静）。潘春梅、张晓静、杨联芝对全部书稿进行了整理和统稿。

在此，对悉心审阅本书并给予中肯指导的边传周教授表示衷心的感谢！另外，在编写过程中参考了一些同仁的著作和论文，在此深表谢意！

限于编者的知识水平和能力，书中难免会存在不足之处，欢迎同行和广大读者批评指正。

编者  
2010年5月

# 目 录

|                              |    |
|------------------------------|----|
| <b>第一单元 微生物技术的基本要求</b> ..... | 1  |
| <b>模块一 认识微生物</b> .....       | 1  |
| 一、微生物的定义.....                | 1  |
| 二、微生物的主要类群.....              | 1  |
| 三、微生物的主要特点.....              | 1  |
| 四、微生物的分类单位和命名.....           | 2  |
| 五、微生物的应用.....                | 3  |
| <b>模块二 微生物技术的基本要求</b> .....  | 4  |
| 一、无菌操作.....                  | 4  |
| 二、微生物技术的安全要求.....            | 4  |
| 三、微生物实验室要求及建设.....           | 5  |
| 四、微生物技术常用设备及器材.....          | 6  |
| <b>阅读材料 微生物学发展简史</b> .....   | 12 |
| <b>复习参考题</b> .....           | 15 |
| <b>第二单元 微生物形态观察技术</b> .....  | 16 |
| <b>模块一 显微镜的种类及结构</b> .....   | 16 |
| 一、普通光学显微镜的基本构造 .....         | 16 |
| 二、普通光学显微镜的光学原理 .....         | 17 |
| 三、几种特殊的光学显微镜 .....           | 19 |
| <b>模块二 显微镜操作技术</b> .....     | 23 |
| 一、准备工作及观察要求 .....            | 23 |
| 二、光源的调节 .....                | 23 |
| 三、低倍镜的使用方法 .....             | 23 |
| 四、高倍镜的使用方法 .....             | 24 |
| 五、油镜的使用方法 .....              | 24 |
| 六、显微镜使用后的处理 .....            | 24 |
| 七、显微镜的维护和保养 .....            | 24 |
| <b>模块三 细菌形态观察技术</b> .....    | 25 |
| 一、细菌的形态和大小 .....             | 25 |
| 二、细菌细胞的构造 .....              | 27 |
| 三、细菌的生长繁殖 .....              | 39 |
| 四、细菌的群体特征 .....              | 39 |
| 五、常用常见的细菌 .....              | 41 |
| <b>技能训练 1 细菌简单染色技术</b> ..... | 44 |
| <b>技能训练 2 革兰染色技术</b> .....   | 45 |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 模块四 放线菌形态观察技术 .....         | 47 |
| 一、放线菌的形态和构造 .....           | 47 |
| 二、放线菌的生长繁殖 .....            | 48 |
| 三、放线菌的群体特征 .....            | 49 |
| 四、常用常见的放线菌 .....            | 49 |
| 技能训练 3 放线菌的形态观察 .....       | 50 |
| 模块五 酵母菌形态观察技术 .....         | 51 |
| 一、酵母菌的形态和构造 .....           | 52 |
| 二、酵母菌的生长繁殖 .....            | 53 |
| 三、酵母菌的菌落特征 .....            | 54 |
| 四、常用常见的酵母菌 .....            | 54 |
| 技能训练 4 酵母菌的形态观察 .....       | 55 |
| 模块六 霉菌形态观察技术 .....          | 56 |
| 一、霉菌的形态和构造 .....            | 57 |
| 二、霉菌的生长繁殖 .....             | 58 |
| 三、霉菌的菌落特征 .....             | 60 |
| 四、常用常见的霉菌 .....             | 60 |
| 技能训练 5 霉菌的形态观察 .....        | 63 |
| 模块七 蕈菌 .....                | 65 |
| 复习参考题 .....                 | 66 |
| 第三单元 微生物培养技术 .....          | 69 |
| 模块一 微生物的营养 .....            | 69 |
| 一、微生物的化学组成 .....            | 69 |
| 二、微生物的营养要素 .....            | 69 |
| 三、微生物的营养类型 .....            | 73 |
| 四、营养物质进入微生物细胞的方式 .....      | 74 |
| 模块二 培养基制备技术 .....           | 77 |
| 一、培养基的配制原则 .....            | 77 |
| 二、培养基的种类 .....              | 78 |
| 技能训练 6 培养基制备技术 .....        | 80 |
| 模块三 微生物控制技术 .....           | 82 |
| 一、控制微生物生长的物理方法 .....        | 82 |
| 二、控制微生物生长的化学方法 .....        | 85 |
| 技能训练 7 干热灭菌 .....           | 88 |
| 技能训练 8 高压蒸汽灭菌 .....         | 89 |
| 技能训练 9 紫外线杀菌实验 .....        | 91 |
| 技能训练 10 化学药剂对微生物生长的影响 ..... | 92 |
| 模块四 微生物的生长 .....            | 93 |
| 一、接种技术 .....                | 93 |
| 二、影响微生物生长的主要因素 .....        | 94 |
| 三、微生物的生长规律 .....            | 96 |

|                                |            |
|--------------------------------|------------|
| 技能训练 11 微生物的接种技术 .....         | 99         |
| 模块五 微生物的代谢 .....               | 102        |
| 一、微生物的新陈代谢 .....               | 102        |
| 二、微生物的产能代谢 .....               | 102        |
| 三、微生物的代谢调节 .....               | 110        |
| 模块六 微生物的培养方法 .....             | 113        |
| 一、实验室的微生物培养法 .....             | 114        |
| 二、生产实践中的微生物培养法 .....           | 115        |
| 复习参考题 .....                    | 116        |
| <b>第四单元 微生物生长测定技术 .....</b>    | <b>117</b> |
| 模块一 微生物细胞数目的测定技术 .....         | 117        |
| 一、显微镜直接计数法 .....               | 117        |
| 二、平板菌落计数法 .....                | 117        |
| 三、最大可能数计数法 .....               | 118        |
| 四、光电比浊计数法 .....                | 118        |
| 五、薄膜计数法 .....                  | 119        |
| 技能训练 12 显微镜直接计数法 .....         | 119        |
| 技能训练 13 平板菌落计数法 .....          | 121        |
| 技能训练 14 比浊法测定大肠杆菌的生长曲线 .....   | 123        |
| 模块二 微生物生长量的测定技术 .....          | 124        |
| 一、测体积法 .....                   | 124        |
| 二、重量法 .....                    | 124        |
| 三、生理指标法 .....                  | 124        |
| 四、丝状微生物菌丝长度的测定 .....           | 125        |
| 复习参考题 .....                    | 125        |
| <b>第五单元 微生物分离纯化及鉴定技术 .....</b> | <b>126</b> |
| 模块一 微生物纯培养的分离方法 .....          | 126        |
| 一、划线法 .....                    | 126        |
| 二、稀释平板法 .....                  | 126        |
| 三、单细胞挑取法 .....                 | 126        |
| 四、选择培养基分离法 .....               | 127        |
| 五、小滴分离法 .....                  | 127        |
| 技能训练 15 微生物的分离纯化 .....         | 127        |
| 模块二 微生物的鉴定技术 .....             | 130        |
| 一、微生物的经典分类鉴定方法 .....           | 131        |
| 二、微生物的现代分类鉴定方法 .....           | 132        |
| 三、微生物快速鉴定和自动化分析方法 .....        | 134        |
| 技能训练 16 大分子物质的水解试验 .....       | 139        |
| 技能训练 17 糖发酵试验 .....            | 140        |
| 技能训练 18 甲基红(M. R.)试验 .....     | 141        |
| 技能训练 19 乙酰甲基甲醇(V. P.)试验 .....  | 142        |



|                                        |     |
|----------------------------------------|-----|
| 技能训练 20 吡啶试验 .....                     | 143 |
| 技能训练 21 利用 Biolog 系统进行微生物的分类鉴定 .....   | 144 |
| 复习参考题 .....                            | 146 |
| <b>第六单元 微生物选育技术</b> .....              | 147 |
| 模块一 微生物的遗传变异 .....                     | 147 |
| 一、微生物遗传变异的基本概念 .....                   | 147 |
| 二、遗传变异的物质基础 .....                      | 147 |
| 模块二 微生物的育种技术 .....                     | 151 |
| 一、基因突变 .....                           | 151 |
| 二、基因重组 .....                           | 155 |
| 三、微生物的菌种选育 .....                       | 158 |
| 技能训练 22 从自然界筛选 $\alpha$ -淀粉酶生产菌种 ..... | 164 |
| 技能训练 23 蛋白酶高产菌株的选育 .....               | 166 |
| 复习参考题 .....                            | 168 |
| <b>第七单元 微生物菌种保藏技术</b> .....            | 169 |
| 模块一 菌种的衰退和复壮 .....                     | 169 |
| 一、菌种的衰退 .....                          | 169 |
| 二、菌种的复壮 .....                          | 171 |
| 模块二 菌种的保藏 .....                        | 171 |
| 一、菌种保藏的目的和原理 .....                     | 171 |
| 二、菌种保藏的方法 .....                        | 172 |
| 三、菌种保藏的分工和机构 .....                     | 173 |
| 技能训练 24 菌种保藏 .....                     | 174 |
| 复习参考题 .....                            | 181 |
| <b>第八单元 环境微生物及其检测技术</b> .....          | 182 |
| 模块一 微生物在自然界中的分布 .....                  | 182 |
| 一、土壤中的微生物 .....                        | 182 |
| 二、水体中的微生物 .....                        | 182 |
| 三、空气中的微生物 .....                        | 183 |
| 四、工农业产品中的微生物 .....                     | 183 |
| 五、正常人体及动物体上的微生物 .....                  | 184 |
| 六、极端环境中的微生物 .....                      | 184 |
| 模块二 微生物与生物环境间的关系 .....                 | 186 |
| 一、互生 .....                             | 186 |
| 二、共生 .....                             | 186 |
| 三、寄生 .....                             | 186 |
| 四、拮抗 .....                             | 187 |
| 五、捕食 .....                             | 187 |
| 模块三 微生物与环境保护 .....                     | 187 |
| 一、微生物对污染物的降解与转化 .....                  | 187 |
| 二、重金属的转化 .....                         | 188 |

|                                               |     |
|-----------------------------------------------|-----|
| 三、污染介质的微生物处理·····                             | 188 |
| 四、污染环境的生物修复·····                              | 191 |
| 五、环境污染的微生物监测·····                             | 191 |
| 技能训练 25 水中细菌总数的测定·····                        | 192 |
| 技能训练 26 多管发酵法测定水中大肠菌群数·····                   | 194 |
| 阅读材料 GB/T 4789.3—2008 大肠菌群计数——食品卫生微生物学检验····· | 197 |
| 复习参考题·····                                    | 201 |
| <b>第九单元 病毒学技术</b> ·····                       | 202 |
| 模块一 病毒的形态结构和化学组成·····                         | 202 |
| 一、病毒的大小及形态·····                               | 202 |
| 二、病毒的结构、化学成分及其功能·····                         | 203 |
| 三、病毒结构的对称性·····                               | 204 |
| 四、病毒的群体形态·····                                | 205 |
| 五、噬菌体·····                                    | 205 |
| 模块二 病毒的增殖·····                                | 206 |
| 一、病毒增殖的一般过程·····                              | 206 |
| 二、一步生长曲线·····                                 | 208 |
| 三、温和噬菌体与溶源菌·····                              | 209 |
| 四、理化因素对病毒的作用·····                             | 210 |
| 模块三 病毒的一般诊断程序·····                            | 211 |
| 一、标本的采集和处理·····                               | 211 |
| 二、病毒的分离培养·····                                | 212 |
| 三、病毒的鉴定·····                                  | 212 |
| 四、病毒的分类与命名·····                               | 214 |
| 阅读材料 亚病毒·····                                 | 214 |
| 模块四 常见的动物病毒·····                              | 215 |
| 一、猪瘟病毒·····                                   | 215 |
| 二、猪繁殖与呼吸综合征病毒·····                            | 216 |
| 三、禽流行性感胃病毒·····                               | 216 |
| 四、鸡新城疫病毒·····                                 | 216 |
| 五、鸡传染性法氏囊病病毒·····                             | 217 |
| 技能训练 27 抗噬菌体菌株的选育·····                        | 217 |
| 技能训练 28 病毒的鸡胚培养·····                          | 219 |
| 技能训练 29 病毒的血凝及血凝抑制试验·····                     | 223 |
| 复习参考题·····                                    | 225 |
| <b>第十单元 免疫学技术</b> ·····                       | 226 |
| 模块一 免疫的概念、功能和类型·····                          | 226 |
| 一、免疫的概念·····                                  | 226 |
| 二、免疫的基本功能·····                                | 226 |
| 三、免疫的类型·····                                  | 226 |
| 模块二 非特异性免疫·····                               | 227 |

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 一、非特异性免疫的构成·····         | 227 |
| 二、影响非特异性免疫的因素·····       | 229 |
| 三、非特异性免疫的增强剂·····        | 229 |
| 模块三 特异性免疫·····           | 229 |
| 一、免疫系统·····              | 230 |
| 二、抗原·····                | 232 |
| 三、抗体·····                | 233 |
| 四、机体的免疫应答·····           | 235 |
| 技能训练 30 琼脂双向免疫扩散试验 ····· | 237 |
| 技能训练 31 凝集试验 ·····       | 238 |
| 技能训练 32 酶联免疫吸附试验 ·····   | 240 |
| 复习参考题·····               | 241 |
| 附录 I 微生物学实验技能综合测试·····   | 242 |
| 技能测试题一 细菌形态的观察·····      | 242 |
| 技能测试题二 培养基的制备·····       | 242 |
| 技能测试题三 细菌的分离纯化·····      | 242 |
| 附录 II 染色液的配制·····        | 246 |
| 附录 III 常用培养基配方·····      | 247 |
| 附录 IV 试剂和溶液的配制·····      | 250 |
| 附录 V 常用的微生物学名·····       | 251 |
| 附录 VI 洗涤液的配制与使用·····     | 252 |
| 参考文献·····                | 253 |

# 第一单元 微生物技术的基本要求

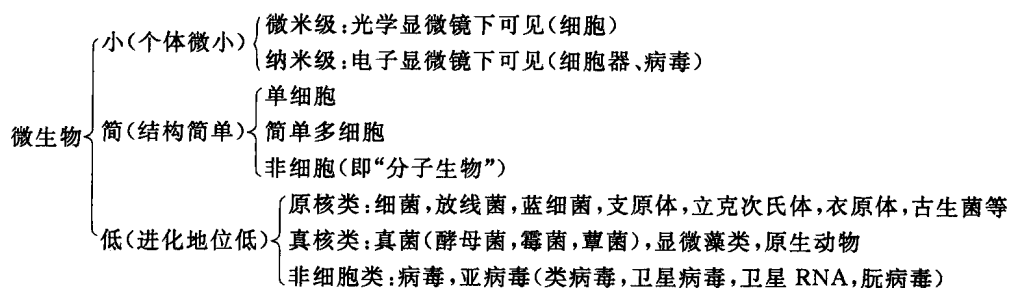
## 模块一 认识微生物

### 一、微生物的定义

微生物 (microorganism, microbe) 并非生物分类学上的名词, 而是存在于自然界的一群个体微小 (一般 $<0.1\text{mm}$ )、结构简单、肉眼看不见或看不清楚, 必须借助光学或电子显微镜放大数百倍、数千倍甚至数万倍才能观察到的低等生物的总称。它们大多为单细胞, 少数为多细胞, 还包括一些无细胞结构的生物。因其生活习性、繁殖方式、分类地位及分布范围相近, 研究技术也颇为相同, 故把它们归入“微生物技术”的研究范围。

### 二、微生物的主要类群

微生物的类群十分庞杂, 它们形态各异, 大小不同, 生物特性差异极大。根据其是否具有细胞结构可分为两大类: 一大类是具有细胞结构的, 包括原核类的细菌、放线菌、蓝细菌、支原体、立克次氏体、衣原体、古生菌等和真核类的真菌 (酵母菌、霉菌和蕈菌)、显微藻类及原生动物; 第二大类是无细胞结构的病毒、亚病毒 (类病毒、卫星病毒、卫星 RNA 和朊病毒)。



### 三、微生物的主要特点

微生物具有生物的共同特点: 基本组成单位是细胞 (非细胞类例外); 主要化学成分相同, 都含有蛋白质、核酸、多糖、脂类等; 新陈代谢等生理活动相似; 受基因控制的遗传机制相同; 有繁殖能力。微生物还具有与动植物不同的特点, 可以归纳如下。

#### 1. 体积小, 比表面积大

把一定体积的物体分割得越小, 它们的总表面积就越大, 物体的表面积和体积之比称为比表面积。如果把人的比表面积值定为 1, 则大肠杆菌 (*E. coli*) 的比表面积可高达 30 万! 一个如此突出的小体积特大表面积的系统, 正是微生物与一切大型生物相区别的关键所在。

#### 2. 代谢能力强, 代谢类型多

微生物的代谢能力比动植物强得多。它们个体小, 比表面大, 一个或几个细胞就是一个独立的个体, 能迅速与周围环境进行物质交换, 因而具有很强的合成与分解能力。有资料表明, 大肠杆菌每小时可分解自重 1000~10000 倍的乳糖, 乳酸细菌每小时可产生自重 1000 倍的乳酸, 产朊假丝酵母 (*Candida utilis*) 合成蛋白质的能力是大豆的 100 倍, 是肉用公牛的 10 万倍。微生物高效率地吸收转化能力具有极大的应用价值。

微生物代谢类型之多是动植物所不及的。它们几乎能分解地球上的一切有机物，也能合成各种有机物。微生物的代谢产物极多，仅抗生素已发现 9000 多种。微生物有多种产能方式，有的利用分解有机物放出的能量；有的从无机物的氧化中获得能量；有的能利用光能，进行光合作用。有的能进行有氧呼吸；有的能进行无氧呼吸。有的能固定分子态氮；有的能利用复杂有机氮化物。有的微生物具有抗热、冷、酸、碱、高渗、高压、高辐射剂量等极端环境的特殊能力。

### 3. 生长繁殖快，容易培养

微生物的繁殖速度是动植物无法比拟的。有些细菌在适宜条件下每 20min 就繁殖一代，24h 就是 72 代。微生物的快速繁殖能力应用在工业发酵上可以大大提高生产率，运用于科学研究中可以大大缩短科研周期。当然，必须防止病原微生物和腐败微生物的危害。

微生物培养容易，能在常温常压下利用简单的营养物质，甚至工农业废弃物生长繁殖，积累代谢产物。利用微生物发酵法生产食品、医药、化工原料等具有许多优点：设备简单，不需要高温、高压设备；原料广泛，可用廉价的甘薯粉、米糠、麸皮、玉米粉及废糖蜜、酒糟等工农业副产品；不需要催化剂；产品一般无毒。工艺独特，成本低廉，可因地制宜，就地取材。

### 4. 适应能力强，易发生变异

微生物具有极灵活的适应性，这也是动植物无法比拟的。为了适应多变的环境条件，微生物在长期进化中产生了许多灵活的代谢调控机制，并有很多种诱导酶。微生物对环境条件尤其是恶劣的“极端环境”具有惊人的适应能力。例如，海洋深处的某些硫细菌可在 100℃ 以上的高温下正常生长，一些嗜盐细菌能在 32% 的盐水中正常活动。

微生物个体微小，易受环境条件影响，加之繁殖快，数量多，容易产生大量变异的后代。利用这一特性选育优良菌种比较方便。例如，青霉素生产菌产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*) 1943 年每毫升发酵液只含约 20 单位的青霉素。经过多年的选育，变异逐渐积累，该菌目前每毫升发酵液青霉素含量已接近 10 万单位。当然，事物总是一分为二的。微生物容易发生变异的特性在某些方面对人类也有害，如致病菌对青霉素等抗生素的抗药性，几十年来由于变异的不断积累，使抗生素的治疗效果不断下降。这一特性还常导致菌种衰退。

### 5. 分布广泛，种类繁多

微生物在自然界分布极为广泛。土壤、空气、河流、海洋、盐湖、高山、沙漠、冰川、油井、地层下以及动物体内外、植物体表面等各处都有大量的微生物在活动。例如，在人体肠道中经常聚居着 100~400 种不同种类的微生物，个体总数超过 100 万亿个；1974 年 4 月和 1977 年 2 月，科学家们发现东太平洋深达 1 万多米的海底温泉中存在既耐高温 (100℃) 又耐高压 ( $1.15 \times 10^8$  Pa)、在厌氧条件营自养生活的硫细菌；20 世纪 70 年代末，人们用地球物理火箭从 74km 的高空采集到微生物，后来又在 85km 的高空找到了微生物；有人在南极洲深 128m 和 427m 的沉积岩中找到了活细菌。由此可见，微生物的分布比高等生物广泛得多。

微生物的种类繁多。据统计，目前已发现的微生物有约 15 万种。更大量的微生物资源还有待发掘。随着分离、培养方法的改进和研究工作的深入，微生物的新种、新属、新科，甚至新目、新纲不断发现。有人估计已发现的微生物种类至多也不超过自然界中微生物总数的 10%。可以相信，随着人类认识和研究工作的发展，总有一天微生物的总数会超过动植物的总和。

## 四、微生物的分类单位和命名

分类是人类认识微生物，进而利用和改造微生物的一种手段，微生物技术工作者只有在

掌握了分类学知识的基础上，才能对纷繁的微生物类群有一清晰的轮廓，了解其亲缘关系与演化关系，为人类开发利用微生物资源提供依据。

微生物分类是指按微生物的亲缘关系把它们安排成条理清楚的各种分类单元或分类群 (taxon)。在此，命名是指按照国际命名法规给有机体一个科学名称。

### 1. 微生物的分类单位

微生物的主要分类单位，依次为界 (kingdom)、门 (phylum 或 division)、纲 (class)、目 (order)、科 (family)、属 (genus)、种 (species)。其中种是最基本的分类单位，它是一大群表型特征高度相似，亲缘关系极其相近，与同属内其他种有着明显差异的菌株的总称。另外，每个分类单位都有亚级，即在两个主要分类单位之间，可添加“亚门”、“亚纲”、“亚目”、“亚科”等次要分类单位。在种以下还可以分为亚种、变种、型、菌株等。

在种内，有些菌株如果在遗传特性上关系密切，而在表型上存在较小的某些差异，一个种可分为两个或两个以上小的分类单位，称为亚种 (subspecies)。亚种以下的分类等级，通常表示能用某些特殊的特征加以区别的菌株类群。例如，在细菌分类中，以生物变型 (bio-var) 表示特殊的生化或生理特征，血清变型 (serovar) 表示抗原结构不同，致病变型 (pathovar) 表示某些寄主的专一致病性，噬菌变型 (phagovar) 表示对噬菌体的特异性反应，形态变型 (morphovar) 表示特殊的形态特征。

### 2. 微生物的命名

微生物的命名和其他生物一样，都按国际命名法命名，即采用林奈氏 (Linnaeus) 所创立的“双名法”。每一种微生物的学名都隶属于种而命名，由两个拉丁字或希腊字或拉丁化的其他文字组成，印刷斜体表示。属名在前，规定用拉丁字名词表示，字首字母要大写，由微生物的构造、形状，或由著名的科学家名字而来，用以描述微生物的主要特征。种名在后，用拉丁字形容词表示，字首字母小写，为微生物的色素、形状、来源、病名或著名的科学家姓名等，用以描述微生物的次要特征。例如，*Pseudomonas aeruginosa* (铜绿假单胞菌)，*Pseudomonas* 是属名 (假单胞菌)，*aeruginosa* 是种名加词，是拉丁语形容词，原意为“铜绿色的”。此外，由于自然界的生物种类太多了，大家都在命名，为了更明确，避免误解，故在正式的拉丁名称后面附着命名者的姓。例如。金黄色葡萄球菌的学名为：*Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884，依次代表属名、种名、命名人的姓和命名年份。当泛指某一属细菌而不特指该属中任何一个种 (或未定种名) 时，可在属名后加 sp. 或 spp.，例如 *Mycobacterium* sp.。

## 五、微生物的应用

我国劳动人民很早就已经认识到微生物的存在，并在生产中应用它们，积累了丰富的经验。据考古学推测，我国在 8000 年以前已经出现了曲蘖酿酒了，4000 多年前我国酿酒已十分普遍。2500 年前我国人民已利用微生物制酱、酿醋，知道用曲治疗消化道疾病。公元 6 世纪 (北魏时期)，我国贾思勰的巨著《齐民要术》详细地记载了制曲、酿酒、制酱和酿醋等工艺，并记述了不同的轮作方式，强调豆类和谷类作物的轮作制。公元 9 世纪到 10 世纪我国已发明用鼻苗法种痘，用细菌浸出法开采铜。

到了现代，微生物的应用范围已相当广泛，传统上微生物在酒类酿造、食品发酵和污水处理等方面都扮演着重要角色；随着科技发展的脚步，许多由微生物生产的产品也被一一开发。

微生物产品一般依据其用途来区分，例如：①医药品，包括抗生素、激素、疫苗、免疫调节剂、血液蛋白质等；②农业用品，包括家畜用药、微生物肥料、微生物杀虫剂、微生物除草剂等；③特殊用品和食品添加剂，包括氨基酸、维生素、有机酸、核苷酸等；④大宗化

学品和能源产品，包括酒精、甘油、甲烷等；⑤环保产品，包括垃圾处理或分解环境污染物的微生物等；⑥其他产品，包括有助于金属滤取的微生物、遗传工程蜘蛛丝蛋白质等。

另外，也可以将微生物产品依据生产的来源进行分类，例如：①微生物菌体，包括烘焙酵母、菇类、藻类、乳酸发酵用的种菌、冬虫夏草、益生菌、改善环境的各种微生物制剂等；②微生物酵素，包括淀粉酶、纤维素酶、蛋白酶、微生物凝乳酶、脂肪酶、葡萄糖异构酶、胆固醇氧化酶等；③微生物代谢物，包括发酵产物如酒精、乳酸、丁醇与丙酮等，生长因子如氨基酸、维生素、柠檬酸等，二级代谢产物如抗生素、生物碱等；④遗传工程蛋白质，包括人类激素如胰岛素、生长激素；免疫调节剂如干扰素；血液蛋白质如凝血因子、血清白蛋白、基因重组疫苗如 B 型肝炎疫苗等。

## 模块二 微生物技术的基本要求

### 一、无菌操作

微生物技术的操作对象基本上都是用肉眼无法观察到的微小有机体，例如细菌、病毒、霉菌的孢子，而这些不同类别的微生物充斥着我们的环境，空气中、水中、手上、衣服上、桌面上、各种的实验器皿和器械表面……因此，在进行微生物技术操作的同时，要注意尽量避免作业系统受到环境微生物的污染，此外，还要防止作业系统内的微生物污染环境，尤其要避免有害微生物或者携带某些特殊基因的微生物进入环境中。所以，在进行微生物技术操作时，必须做到无菌操作。

所谓无菌操作，是指在操作过程中人为地排除一切微生物或一切不需要的微生物。它是一项最基本的微生物操作技术。无菌操作的要点是：①杀死规定作业系统（如试管、三角瓶和培养皿）中的一切微生物，使作业系统变成无菌，例如在进行器皿和器械的准备时，应当用报纸、牛皮纸等包扎器皿和器械，并进行湿热或者干热灭菌；在进行微生物的接种、取样之前，要把接种环放在火焰上灼烧（图 1-1）；②在作业系统与外界的联系之间隔绝一切微生物穿过（如用火焰封闭三角瓶和试管等的开口，用棉花过滤空气、用滤器过滤水等），例如常用棉塞封住试管管口或三角瓶瓶口，要在酒精灯火焰上方打开试管口、三角瓶瓶口或者培养皿盖等，打开的同时注意不要将试管塞或者瓶塞随意放置（图 1-2、图 1-3）；③在无菌室、超净操作台或空气流动较小的清洁环境中，进行接种或其他不可避免的敞开作业时，防止不需要的微生物侵入作业系统；④要避免操作系统内的微生物进入环境，造成不必要的污染，例如实验操作结束后，应当把一些使用完毕的菌种、培养物等放置在高压蒸汽灭菌锅内进行彻底灭菌。

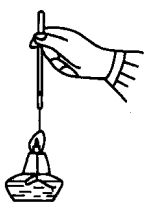


图 1-1 灼烧

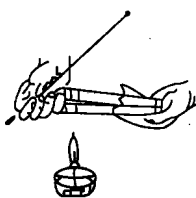


图 1-2 在火焰上  
方打开试管塞

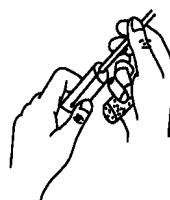


图 1-3 试管塞打开  
后正确的放置方法

### 二、微生物技术的安全要求

微生物技术人员在工作的时候，要接触各种微生物、试验样品及检验过程中的物品，这些物质中有些对人体有毒害作用，有些还具有易燃易爆性质；同时，各种仪器、电器、机械

等设备，在使用中也可能存在危险性。因此，在进行微生物技术操作的时候，要牢记以下安全要求：①必须熟悉仪器、设备性能和使用方法，按规定要求进行操作；②实验室内应保持通风良好，避免不必要的污染；③凡接触微生物的实验，工作人员应小心使用，确保安全，使用后必须用酒精消毒手和台面，有条件的必须在无菌室超净工作台操作；④在无菌室操作时，必须穿工作服、戴工作帽及口罩，使用前必须经紫外线照射或其他方法消毒，才可使用，操作必须严格无菌操作，以免污染；⑤不使用无标签（或标志）容器盛放的试剂、试样；⑥实验中产生的废液、废物应集中处理，不得任意排放；所用的培养物、被污染的玻璃器皿及阳性的检验标本，都必须用消毒水浸泡过夜或煮沸或高压蒸汽灭菌等方法处理后再清洗；⑦在实验室中使用高压蒸汽灭菌锅时，必须熟悉操作过程，操作时不得离开，时刻注意压力表，不得超过额定范围，以免发生危险；⑧严格遵守安全用电规程，不使用绝缘损坏或接地不良的电器设备，不准擅自拆修电器；⑨实验完毕，实验人员必须洗手及消毒后方可进食，不准把食物、食具带进实验室，实验室内禁止吸烟；⑩实验室应配备消防器材，实验人员要熟悉其使用方法并掌握有关的灭火知识；⑪实验结束，人员离室前要检查水、电、燃气和门窗，确保安全。

### 三、微生物实验室要求及建设

微生物实验室所处的位置非常重要，一般位于建筑物的一端，有利于隔离和处理，房间坐北朝南。大体可划分三个区：第一区设办公室、会议室及仓库等，培养基室或试剂室亦可设置在此区内；第二区设有样品收集室、刷洗室、一般实验室；第三区设无菌室。实验室以整齐、清洁、光线充足的单独房间为宜。室内酌情设置橱柜桌凳、水池、超净台等，以辅助日常工作的开展。地面用水磨石或瓷砖、塑料贴面，便于清理消毒处理。

#### 1. 微生物实验室建设所需要的基本设备和器具

##### (1) 必须配置的设备

- ① 恒温箱、水浴箱、CO<sub>2</sub> 培养箱、厌氧培养设备，用于微生物培养。
- ② 高压蒸汽灭菌锅和电热干燥箱，用于物品灭菌。
- ③ 显微镜（附有油浸物镜头），用于观察微生物形态等。
- ④ 超净工作台，无菌操作作用。
- ⑤ 冰箱和冷藏柜，用于贮存培养基、血清、抗生素及菌种等。
- ⑥ pH 计，制备培养基用。
- ⑦ 接种针、接种环和酒精灯等，用于挑取标本、灭菌接种器具。

(2) 辅助设备 超速离心机、电子天平、荧光显微镜、酶标仪、平皿等玻璃器皿、温度计、试管及试管架、漏斗、乳钵、标本缸、载玻片、吸管、注射器、各种容量的烧瓶等，可根据需要购置其他仪器及用具。

#### 2. 无菌室的建设要求

微生物无菌室是进行微生物无菌操作的工作场所，实验样品的接种、分离、鉴定等操作都要在此完成。无菌室的建设应符合如下条件：无菌室应设有缓冲间和无菌操作间。无菌室应矮小、平整，面积不宜过大，约 4~5m<sup>2</sup> 即可，高 2.5m 左右，可以用板材和玻璃建造。室内采光面积大，从室外应能看到室内情况。无菌室内不得使用易燃材料装修，内部装修应平整、光滑，无凹凸不平或棱角等，四壁及屋顶应用不透水之材质，便于擦洗及杀菌。无菌室与缓冲间进出口应设拉门，门与窗平齐，门缝要封紧，两门应错开，以免空气对流造成污染。

无菌操作间和缓冲间都必须密闭，要安装合乎要求的空调及空气过滤设备，所有进入无菌室的空气都要经过过滤处理，无菌操作间洁净度至少应达到 10000 级，如能达到千级或百



级更好，超净台洁净度应达到 100 级。室内温度保持在 20~24℃，湿度保持在 45%~60%。无菌操作间和缓冲间均设有日光灯及供消毒空气用紫外灯，杀菌紫外灯离工作台以 1m 为宜，照明灯、紫光灯、空气过滤设备和空调开关都要安装在室外。

### 3. 无菌室的使用与管理

无菌室应保持清洁整齐，室内仅存放必须的用具如酒精灯、酒精棉、火柴、镊子、接种针、接种环、玻璃铅笔。严禁堆放杂物，以防污染。严防一切灭菌器材和培养基污染，已污染者应停止使用。无菌室应备有工作浓度的消毒液，如 5% 的甲酚溶液，70% 的酒精，0.1% 的新洁尔灭溶液等。无菌室应定期用适宜的消毒液灭菌清洁，以保证无菌室的洁净度符合要求。工作人员进入无菌室前，必须用肥皂或消毒液洗手消毒，然后在缓冲间更换专用工作服、鞋、帽子、口罩和手套（或用 70% 的乙醇再次擦拭双手），方可进入无菌操作间进行操作。

无菌室使用前应将所有物品置于操作之部位（待检物除外），打开无菌室内的紫外灯辐照灭菌 30min 以上。进行操作时，关闭紫外灯，同时打开超净台进行吹风。操作完毕，应及时清理无菌室，再用紫外灯辐照灭菌 20min。

操作应严格按照无菌操作规定进行，操作中少说话，不喧哗，以保持环境的无菌状态。吸取菌液时，必须用吸耳球吸取，切勿直接用口接触吸管。接种针（环）每次使用前后，必须通过火焰灼烧灭菌，待冷却后，方可接种培养物。带有菌液的吸管、试管、培养皿等器皿应浸泡在盛有 5% 来苏尔溶液的消毒桶内消毒，24h 后取出冲洗。如有菌液洒在桌上或地上，应立即用 5% 石炭酸溶液或 3% 来苏尔溶液倾覆在被污染处至少 30min，再做处理。工作衣帽等受到菌液污染时，应立即脱去，高压蒸汽灭菌后洗涤。凡带有活菌的物品，必须经消毒后，才能在水龙头下冲洗，严禁污染下水道。

无菌室应每月检查菌落数。在超净工作台开启的状态下，取内径 90mm 的无菌培养皿若干，无菌操作分别注入融化并冷却至约 45℃ 的营养琼脂培养基约 15mL，放至凝固后，倒置于 30~35℃ 培养箱培养 48h，证明无菌后，取平板 3~5 个，分别放置工作位置的左中右等处，开盖暴露 30min 后，倒置于 30~35℃ 培养箱培养 48h，取出检查。100 级洁净区平板杂菌数平均不得超过 1 个菌落，10000 级洁净室平均不得超过 3 个菌落。如超过限度，应对无菌室进行彻底消毒，直至重复检查合乎要求为止。

## 四、微生物技术常用设备及器材

### （一）常用仪器的管理与使用

（1）恒温箱 有隔水和非隔水式两种类型，温度可以调节，使用控温仪进行温度控制，其目的是可以避免由于温度偶然升高导致微生物死亡或生长受影响，也可以避免发生火灾。

一般培养细菌温度为 37℃，附带的温度计可指示每时每刻的温度。培养箱在初次使用时，要每天观察温度变化，可以在箱门外面贴一张记录表，随手将温度记录在表中，此表为质控图，记录每天的温箱温度，一旦发现温度升高或降低，应及时调整。温箱温度正常的波动幅度应为所设定温度  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。温箱内可放置一水盘或湿布，并经常更换以保持箱内一定的湿度，防止干燥。

（2）显微镜 显微镜油镜头是用来观察细菌菌体形态及标本的，应注意保护。使用结束后，应用擦镜纸擦去油镜头上的香柏油，再用擦镜纸蘸上二甲苯（或乙醇-乙醚混合液）擦拭。但要注意二甲苯不应久存于镜头上，以免镜头上胶质被溶化而导致镜片移位。旋转转换器，使各物镜呈八字形，放回原箱。避免阳光曝晒，不能用强酸、强碱、氯仿、乙醚或酒精擦拭。

（3）冰箱 冰箱是微生物实验室用于贮存制备好的培养基、菌种、菌液、药物、血清及