

# 微生物技术

## 理论与应用研究

龚明福 王红 编著



中国水利水电出版社  
[www.waterpub.com.cn](http://www.waterpub.com.cn)



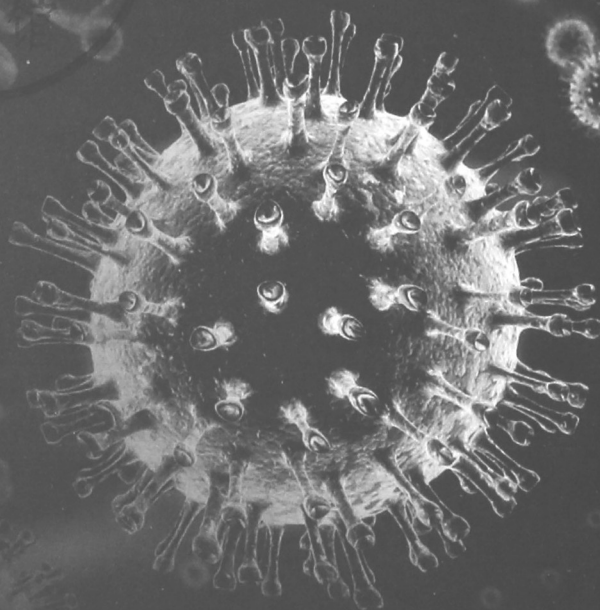
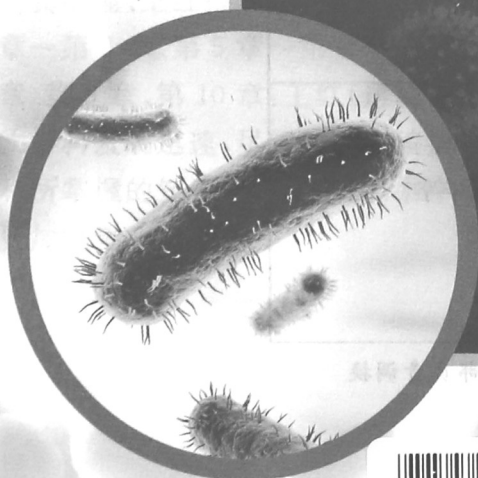
014040832

Q93  
33

# 微生物技术

## 理论与应用研究

龚明福 王红 编著



北航

C1728093



中国水利水电出版社  
www.waterpub.com.cn

Q93  
33

内 容 提 要

本书较为全面地论述了微生物在其生命活动过程中的基本规律,其主要内容包括微生物的鲜明特点、形态构成、营养要求、生长繁殖、新陈代谢、遗传变异、基因重组、传染免疫和分类鉴定,微生物与食品生产、食品腐败变质以及食品贮藏技术、食品微生物检验技术,并对微生物在各个领域(医药、微生物农药、生物降解材料、开发新型能源)中的应用进行了阐述。本书内容丰富、取材鲜活,文字表述简单扼要,是一本比较适合微生物学爱好者的实用性强的学术著作类图书,对相关领域的研究人员来说也是一本颇为有益的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

微生物技术理论与应用研究/龚明福,王红编著

.—北京:中国水利水电出版社,2014.1

ISBN 978-7-5170-1742-4

I. ①微… II. ①龚…②王… III. ①微生物学—技  
术 IV. ①Q93—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 024098 号

策划编辑:杨庆川 责任编辑:杨元泓 封面设计:马静静

|      |                                                                                                                             |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 书 名  | 微生物技术理论与应用研究                                                                                                                |
| 作 者  | 龚明福 王 红 编著                                                                                                                  |
| 出版发行 | 中国水利水电出版社<br>(北京市海淀区玉渊潭南路 1 号 D 座 100038)<br>网址:www.waterpub.com.cn<br>E-mail:mchannel@263.net(万水)<br>sales@waterpub.com.cn |
| 经 售  | 电话:(010)68367658(发行部)、82562819(万水)<br>北京科水图书销售中心(零售)<br>电话:(010)88383994、63202643、68545874<br>全国各地新华书店和相关出版物销售网点            |
| 排 版  | 北京鑫海胜蓝数码科技有限公司                                                                                                              |
| 印 刷  | 三河市天润建兴印务有限公司                                                                                                               |
| 规 格  | 184mm×260mm 16 开本 16.5 印张 401 千字                                                                                            |
| 版 次  | 2014 年 4 月第 1 版 2014 年 4 月第 1 次印刷                                                                                           |
| 印 数  | 0001—3000 册                                                                                                                 |
| 定 价  | 58.00 元                                                                                                                     |

凡购买我社图书,如有缺页、倒页、脱页的,本社发行部负责调换

版权所有·侵权必究

# 前 言

微生物学是 21 世纪生命科学领域中最活跃学科之一,也是生命科学中极为重要的基础学科,它涉及工、农、医药、环境、能源等领域,与人类的健康、食品、医药、能源和环境等热点问题密切相关。特别是近几年来,甲型 H1N1 流感、SARS、禽流感、疯牛病等传染性疾病的大面积流行,严重影响了我们的生产和生活,使得我们更加体会到了微生物的巨大威力。当前,我们正处于一个微生物学知识爆炸的时代,了解、认识、利用、控制微生物是我们当前迫切需要解决的问题。

许多专家进行了大量的研究工作,积累了丰富的经验,取得了重要成果,并认真进行了总结,于是大批论文、专著相继发表问世,这对推动微生物学科的发展起到了积极的作用。随着时代的发展,微生物学的发展更加迅速多样,新理论、新技术、新方法和新成果层出不穷。这些成果大大丰富了微生物学的内容。本书在内容的取舍和编排上尽量做到重点突出,要求每一位参与者结合自己的教学科研成果,尽量将学科前沿知识体现到书中。

全书共有 10 章,较为全面地论述了微生物在其生命活动过程中的基本规律,其主要内容包括微生物的鲜明特点、形态构成、营养要求、生长繁殖、新陈代谢、遗传变异、生态技术、基因重组、传染免疫和分类鉴定等。当前全球食品安全事件中大约有 70% 是由于微生物引起的,如日本的雪印酸奶发生金黄色葡萄球菌中毒,美国的花生酱类食品发生沙门氏杆菌中毒等给人类健康造成了重要威胁,可以说微生物已经成为了世界性的公共卫生问题,因此,本书特安排一章(第 9 章)内容对微生物与食品生产、食品腐败变质,以及食品贮藏技术、食品微生物检验技术等加以阐述。另外,在最后一章(第 10 章)中,对微生物在各个领域(医药、微生物农药、生物降解材料、开发新型能源)中的应用也进行了阐述。相信随着科技的进步,微生物学的内容也会不断得到更新和充实。

本书由龚明福、王红撰写,具体分工如下:

第 1 章~第 3 章、第 5 章~第 8 章:龚明福(乐山师范学院);

第 4 章、第 9 章、第 10 章:王红(运城学院)。

微生物学科发展迅速,尽管我们在编撰过程中力求尽最大努力追赶其前进的步伐,但由于作者水平和所掌握的知识内容的限制,书中难免存在一些漏洞,敬请广大专家、学者批评指正,以使本书更加完善。谢谢!

作者

2013 年 12 月



# 目 录

|                  |     |
|------------------|-----|
| 第 1 章 绪论         | 1   |
| 1.1 微生物与微生物学     | 1   |
| 1.2 微生物多样性       | 3   |
| 1.3 微生物学的发展史     | 7   |
| 第 2 章 微生物种类      | 14  |
| 2.1 原核微生物        | 14  |
| 2.2 真核微生物        | 25  |
| 2.3 病毒和亚病毒       | 41  |
| 第 3 章 微生物营养与代谢   | 49  |
| 3.1 微生物的营养       | 49  |
| 3.2 微生物的能量代谢     | 60  |
| 3.3 微生物的物质代谢     | 63  |
| 3.4 微生物的次级代谢     | 70  |
| 第 4 章 微生物生长与控制   | 73  |
| 4.1 细菌的生长与繁殖     | 73  |
| 4.2 真菌的生长与繁殖     | 83  |
| 4.3 环境对微生物生长的影响  | 91  |
| 4.4 微生物生长的测定     | 102 |
| 4.5 微生物生长繁殖的控制   | 108 |
| 4.6 微生物细胞的分化     | 114 |
| 第 5 章 微生物遗传与变异   | 117 |
| 5.1 微生物遗传        | 117 |
| 5.2 微生物变异        | 124 |
| 5.3 微生物基因重组      | 132 |
| 第 6 章 微生物生态学     | 143 |
| 6.1 微生物在自然界中的分布  | 143 |
| 6.2 微生物与生物环境间的关系 | 149 |

|                        |                    |     |
|------------------------|--------------------|-----|
| 6.3                    | 微生物与生物地球化学循环 ..... | 153 |
| 6.4                    | 微生物与环境保护 .....     | 157 |
| 第7章 微生物分类鉴定与保藏技术 ..... |                    | 165 |
| 7.1                    | 微生物的分类单元和命名 .....  | 165 |
| 7.2                    | 微生物在生物界的地位 .....   | 167 |
| 7.3                    | 微生物的分类系统 .....     | 171 |
| 7.4                    | 微生物的分类鉴定方法 .....   | 174 |
| 7.5                    | 微生物菌种的保藏技术 .....   | 181 |
| 第8章 微生物免疫技术 .....      |                    | 185 |
| 8.1                    | 传染 .....           | 185 |
| 8.2                    | 非特异性免疫与特异性免疫 ..... | 190 |
| 8.3                    | 免疫应答 .....         | 204 |
| 8.4                    | 凝集反应 .....         | 214 |
| 8.5                    | 酶联免疫吸附试验 .....     | 216 |
| 8.6                    | 免疫预防 .....         | 216 |
| 第9章 微生物与食品 .....       |                    | 220 |
| 9.1                    | 微生物与食品生产 .....     | 220 |
| 9.2                    | 微生物与食品腐败变质 .....   | 223 |
| 9.3                    | 食品保藏技术 .....       | 231 |
| 9.4                    | 食品微生物检验技术 .....    | 236 |
| 第10章 微生物技术的应用 .....    |                    | 243 |
| 10.1                   | 微生物技术在医药中的应用 ..... | 243 |
| 10.2                   | 生产微生物农药 .....      | 248 |
| 10.3                   | 生产生物降解材料 .....     | 252 |
| 10.4                   | 开发新型能源 .....       | 255 |
| 参考文献 .....             |                    | 258 |



# 第 1 章 绪论

微生物是自然界最具研究价值的一群生物,具有种类多、数量大、分布广等多种特性。微生物学发展主要经历了三个时期:形态学时期、生理学时期和现代微生物学时期。列文虎克、巴斯德、柯赫等为微生物学的创立和发展作出了巨大的贡献,谱写了人类利用改造微生物的新篇章,并由此诞生了细菌学、发酵学、免疫学、病毒学、酿造学、消毒外科学等众多新学科。

## 1.1 微生物与微生物学

### 1.1.1 微生物及其生物学特性

微生物(microorganism)是指一切肉眼看不见或看不清的微小生物的总称,需借助显微镜(图 1-1)才能观察到。它是一大群种类各异、独立生活的生物体。这些微小的生物包括:无细胞结构不能独立生活的病毒,亚病毒(类病毒、拟病毒、朊病毒),原核细胞结构的真细菌,古细菌和有真核细胞结构的真菌(酵母、霉菌、蕈菌等)。有的也把藻类、原生动物包括在其中。在以上这些微小生物群中,大多数是肉眼不可见的,像病毒,即使在普通光学显微镜下也不可能看到,必须借助电子显微镜(简称电镜)才能观察。有的微生物,尤其是真菌,如大型食用真菌,则显然属于微生物中的“大个子”。微生物的数量之多,达天文数字,种类繁多,形态各异,仅真菌就达 7 万多种。

微生物虽然个体小、结构简单,但它们具有与高等生物相同的基本生物学特性。遗传信息都是由 DNA 链上的基因所携带,除少数特例外;微生物的初级代谢途径如蛋白质、核酸、多糖、脂肪酸等大分子物质的合成途径基本相同;微生物的能量代谢都以 ATP 作为能量载体。微生物作为生物的一大类,除了与其他生物共有的特点外,还具有其本身的特点及其独特的生物多样性:种类多、数量大、分布广、繁殖快、代谢能力强等,这是自然界中其他任何生物不可能比拟的,而且这些特性归根结底是与微生物体积小、结构简单有关。

#### 1. 繁殖速度快

微生物繁殖速度快、易培养,是其他生物不能比拟的。如在适宜条件下,大肠杆菌 37℃ 时代时间为 18 min,每 24 h 可分裂 80 次,每 24 h 的增殖数为  $1.2 \times 10^{24}$  个。枯草芽孢杆菌 30℃ 时的世代时间为 31 min,每 24 h 可分裂 46 次,增殖数为  $7.0 \times 10^{13}$  个。

事实上,由于种种客观条件的限制,细菌的指数分裂速度只能维持数小时,因而在液体培

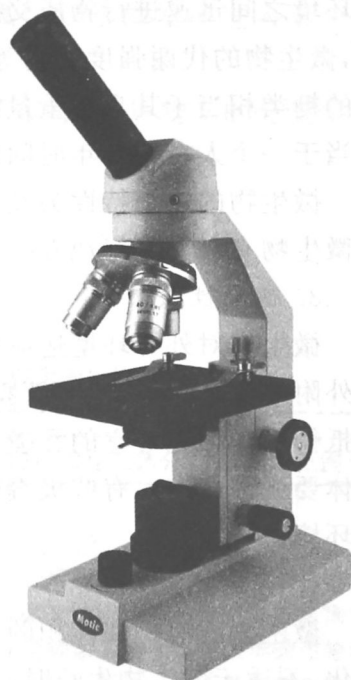


图 1-1 光学显微镜

养中,细菌的浓度一般仅能达到每毫升  $10^8 \sim 10^9$  个。

微生物的这一特性在发酵工业上具有重要的实践意义,主要体现在它的生产效率高、发酵周期短。而且大多数微生物都能在常温常压下利用简单的营养物质生长,并在生长过程中积累代谢产物,不受季节限制,可因地制宜、就地取材,这就为开发微生物资源提供了有利的条件。如生产发面鲜酵母的酿酒酵母,其繁殖速度不算太高(2 h 分裂 1 次),但在单罐发酵时,几乎每 12 h 即可收获 1 次,每年可“收获”数百次。这是其他任何农作物所不能达到的“复种指数”。这对缓和人类面临的人口增长与食物供应矛盾也有着重大意义。另外,微生物繁殖速度快的生物学特性对于生物学基本理论的研究也有极大的优越性——它使科学研究周期大大缩短、经费减少、效率提高。当然对于危害人、畜和植物等的病原微生物或使食品发生霉变的微生物来说,它们的这个特性却会给人类带来极大的麻烦甚至严重的祸害。因而需要认真对待,加以区别。

## 2. 代谢活力强

微生物体积虽小,但有极大的比表面积,如大肠杆菌的比表面积可达 30 万,因而微生物能与环境之间迅速进行物质交换,吸收营养和排泄废物,而且有最大的代谢速率。从单位重量来看,微生物的代谢强度比高等生物大几千倍到几万倍。如在适宜环境下,大肠杆菌每小时可消耗的糖类相当于其自身重量的 2 000 倍。以同等体积计算,一个细菌在 1 h 内所消耗的糖即可相当于一个人在 500 年时间内所消耗的粮食。

微生物的这个特性为其高速生长繁殖和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础,从而使微生物有可能更好地发挥“活的化工厂”的作用。

## 3. 适应性强

微生物对外界环境适应能力特强,这都是为了保存自己,是生物进化的结果。有些微生物体外附着一个保护层,如荚膜等,其作用之一是可以作为营养缺乏的细胞外贮藏养料;二是可以抵御吞噬细胞对它的吞噬。细菌的休眠芽孢、放线菌的分子孢子等对外界的抵抗力比其繁殖体要强许多倍。有些极端微生物都有相应特殊结构的蛋白质、酶和其他物质,使之能适应恶劣环境。

## 4. 易变异

微生物表面积和体积的比值大,与外界环境的接触面大,受环境影响也大。一旦环境条件变化,不适于微生物生长时,很多微生物会死亡,只有少数个体发生变异而存活下来。利用微生物易变异的特性,在微生物工业生产中进行诱变育种,获得高产优质的菌种,提高产品产量和质量。

## 5. 种类多

微生物在自然界是一个十分庞杂的生物类群。迄今为止,我们所知道的微生物近 10 万种,现在仍然以每年发现几百至上千个新种的趋势在增加。它们具有各种生活方式和营养类型,大多数是以有机物为营养物质,还有些是寄生类型。微生物的生理代谢类型之多是动物、植物所不及的。分解地球上贮量最丰富的初级有机物——天然气、石油、纤维素、木质素的能力,属微生物专有。微生物有着多种产能方式,如细菌光合作用、自养细菌的化能合成作用、各种厌氧产能途径;生物固氮作用;合成各种复杂有机物——次级代谢产物的能力;对复杂有机物分子的生物转化能力;抵抗热、冷、酸、碱、高渗、高压、高辐射剂量等极端环境能力;独特的繁

殖方式——病毒的复制增殖等。不同微生物可以产生不同的代谢产物，如抗生素、酶类、氨基酸及有机酸等，还可以通过微生物的活动防止公害。自然界的物质循环是在各种微生物参与下才得以完成的。

1.1.2 微生物学及其主要分支学科

微生物学(microbiology)是研究微生物及其生命活动规律的科学，即研究微生物在一定条件下的形态结构、生理生化、遗传变异和微生物的进化、分类、生态等生命活动规律及其与其他微生物、动植物、外界环境之间的相互关系，以及微生物在自然界各种元素的生物地球化学循环中的作用，微生物在工业、农业、医疗卫生、环境保护、食品生产等各个领域中的应用等，是一门既有独特的理论体系，又有很强实践性的学科。

随着微生物学的不断发展，已形成了基础微生物学和应用微生物学，又可根据研究的侧面和层次不同而分为许多不同的分支学科，并还在不断地形成新的学科和研究领域。如微生物分子生物学和微生物基因组学等在分子水平、基因水平和后基因组水平上研究微生物生命活动规律及其生命本质的分支学科和新型研究领域的出现，表明微生物学的发展进入了一个崭新的阶段。

按照微生物学的研究内容、研究技术、类群、生态关系和应用范围等，微生物学的分支学科如图 1-2 所示。

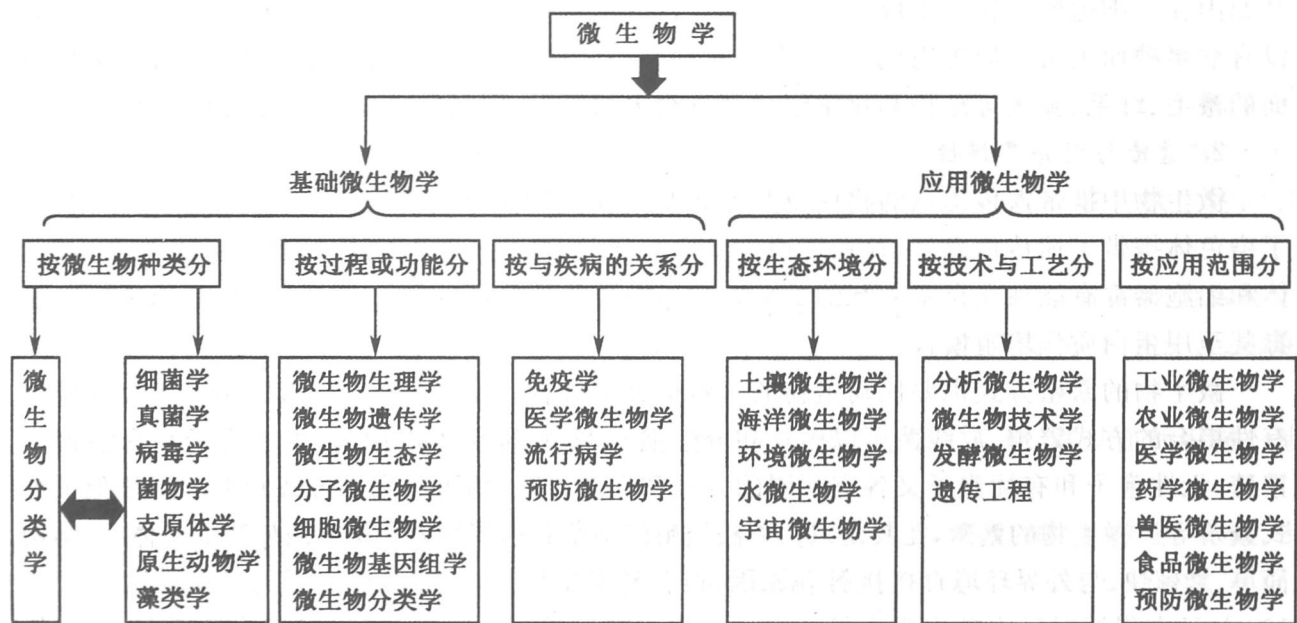


图 1-2 微生物学的分支学科

总之，微生物学已成为当今发展最为活跃、最为迅速、最为辉煌、影响最大的生命科学之一。

1.2 微生物多样性

国际保护自然和自然资源联合会对微生物多样性(biodiversity)的定义为“生物的所有生



命形式,生态系、生态过程,以及可以认识到的有关基因、类群和分子水平上的遗传特性”。微生物是我们地球上生物多样性最为丰富、最具技术革新潜力的生物资源。现代微生物学的知识和技术使人们能够全面检测未知的微生物类群,同时发现这些微生物的功能性状及基因多样性。

### 1.2.1 微生物的生物多样性

微生物作为生物的一个大类,除了与其他生物共有的特点外,还具有其本身的特点及其独特的生物多样性。

#### 1. 形态与结构多样性

由于微生物的个体极其微小,必须借助于光学显微镜或电子显微镜才能观察到它们,因此在测量和表示它们的大小时,通常用  $\mu\text{m}$  作细菌等的单位,  $\text{nm}$  作病毒等的单位。杆形细菌的宽度只有  $0.5\sim 2\ \mu\text{m}$ ,长度也只有 1 到几个  $\mu\text{m}$ ,每克细菌的个数可达  $10^{10}$ 。微生物本身具有极为巨大的比表面积,这对于微生物与环境的物质、能量和信息的交换极为有利。

尽管微生物的形态结构十分简单,大多由单细胞或简单的多细胞构成,甚至无细胞结构,但形态多样,不仅有球状、杆状、螺旋状或分枝丝状等,还有许多如方形、阿拉伯数字形、英文字母形、扁平形、立方形等特殊形状,放线菌和霉菌的形态有多种多样的分枝丝状。微生物细胞的显微结构更具有明显的多样性,如细菌经革兰氏染色后可分为革兰氏阳性细菌和阴性细菌,其原因在于细胞壁的化学组成和结构不同。古菌的细胞壁组成更是与细菌有着明显的区别,没有肽聚糖而由蛋白质等组成;真核微生物细胞壁结构又与古菌、细菌有很大的差异。菌体表面的鞭毛、纤毛、荚膜等结构和化学组成都有很大的不同,因而呈现出不同的免疫特性。

#### 2. 遗传与变异多样性

微生物中携带遗传信息的物质及其方式要比动植物更具有多样性。在原核微生物中,除了染色体携带了遗传信息外,存在于原生质中的质粒也携带了遗传信息;真核微生物中,染色体和细胞器都有能独立自主复制的 DNA;病毒携带的核酸可以是 DNA,也可以是 RNA,朊病毒甚至用蛋白质作增殖模板。

微生物的繁殖方式也要比动植物的繁殖更具多样性。细菌繁殖以二裂法为主,个别可以有性接合的方式繁殖;放线菌可以菌丝和分生孢子繁殖;霉菌可以菌丝、无性孢子和有性孢子繁殖,无性孢子和有性孢子又各有不同的方式和形态;酵母菌可以出芽方式和形成子囊孢子方式繁殖等。微生物的繁殖,尤其是以二裂法繁殖的细菌其速率惊人。由于微生物的个体小、结构简单、繁殖快、与外界环境直接接触等原因,很容易发生变异,一般自然变异的频率可达  $10^{-5}\sim 10^{-10}$ ,且在很短时间内就出现大量的变异后代。变异具有多样性,其表现可涉及所有性状,如形态构造、代谢途径、抗性、抗原性的形成与消失、代谢产物的种类和数量等。典型的例子是青霉素的发酵生产,最初发酵产物每毫升只含 20 单位左右,后来通过研究人员的努力,现在已有极大的增加,目前已接近 10 万单位。

#### 3. 种类多样性

已确定的微生物种数约有 10 万种,目前仍以每年发现几百至上千个新种的趋势在增加。微生物生态学家较一致地认为,目前已知的已分离培养的微生物种类可能还不足自然界存在的微生物总数的 1%。在自然界中存在着极为丰富的微生物资源。分子生物学技术和方法的

发展已经揭示了运用传统的微生物学研究技术和方法获得的微生物种类和种群数量仅仅占自然界存在总数的不到1%。已有报道,运用最新的分子生物学技术和方法获得了与目前所知微生物的基因完全不同的基因组。

实际上我们生活在一个充满着微生物的环境中。每克土壤中的细菌可达几亿个,放线菌孢子可达几千万个。人体肠道中菌体总数可达100万亿左右。每克新鲜叶子表面可附生100多万个微生物。全世界海洋中微生物的总重量估计达280亿吨。从这些数据资料可见微生物在自然界中的数量之巨。

微生物横跨了生物六界系统中无细胞结构生物病毒界和细胞结构生物中的原核生物界、原生生物界、菌物界。生物六界中除了动物界、植物界外,其余各界都是为微生物而设立的,范围极为宽广。根据C. Woese 1977年提出的生命三域的理论,微生物也占据了古菌、细菌和真核生物三域。

#### 4. 生态分布多样性

微生物在自然界中到处都有分布,上至几十千米外的高空,下至地表下几百米的深处,海洋上万米深的水底层,在土壤、水域、空气及动植物和人体内外,都分布有各种不同的微生物,可以说它们无处不在。即使是同一地点、同一环境,在不同的季节,如夏季和冬季,微生物的数量、种类、活性、生物链成员的组成等也会有明显的不同,这些都显示了微生物生态分布的多样性。

#### 5. 代谢多样性

微生物的代谢多样性是其他生物所不可比拟的,具体体现在:

①微生物能利用的基质十分广泛,是任何其他生物所望尘莫及的,从无机的 $\text{CO}_2$ 到有机的酸、醇、糖类、蛋白质、脂类等,从短链、长链到芳香烃类,以及各种多糖大分子聚合物(果胶质、纤维素等)和许多动、植物不能利用、甚至对其他生物有毒的物质,都可以成为微生物的良好碳源和能源。

②微生物的代谢方式多样,既可以 $\text{CO}_2$ 为碳源进行自养型生长,也可以有机物为碳源进行异养型生长;既可以光能为能源,也可以化学能为能源。既可在有 $\text{O}_2$ 条件下生长,又可在无 $\text{O}_2$ 条件下生长。

③微生物的代谢途径多种多样,不仅在利用不同基质时的途径不一样,就是在利用同一基质时也可有不同的代谢途径。

④代谢中间体和最终产物更是多种多样,有各种各样的酸、醇、氨基酸、蛋白质、单糖、多糖、核苷酸、核酸、脂肪、脂肪酸、抗生素、维生素、毒素、色素、生物碱、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{H}_2\text{S}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 等,都可以是微生物的代谢产物。

⑤各种微生物的代谢速率差异极大,大多数微生物具有任何其他生物所不能比拟的代谢速率,如在适宜环境下,大肠杆菌每小时可消耗的糖类相当于其自身重量的2000倍,但在高压环境、低温环境、营养缺乏和干燥环境下的微生物代谢速率很低。

#### 6. 抗性多样性

微生物具有极强的抗热性、抗寒性、抗盐性、抗干燥性、抗酸性、抗碱性、抗压性、抗缺氧、抗辐射和抗毒物等能力,显示出其抗性的多样性。含芽孢细菌一般能抵抗高温等逆境环境,一般细菌的营养细胞在 $70^\circ\text{C}\sim 80^\circ\text{C}$ 时10 min就死亡,而芽孢在 $120^\circ\text{C}\sim 140^\circ\text{C}$ 甚至 $150^\circ\text{C}$ 还能生存

几小时,营养细胞在5%苯酚溶液中很快就死亡,芽孢却能存活15d。芽孢的大多数酶处于不活动状态,代谢活力极低,芽孢是抵抗外界不良环境的休眠体。细菌芽孢具有高度抗热性,常给科研和发酵工业生产带来危害。也有许多细菌耐冷或嗜冷,有些在 $-12^{\circ}\text{C}$ 下仍可生活,造成贮藏于冰箱中的肉类、鱼类和蔬菜水果的腐败。人们常用冰箱( $+4^{\circ}\text{C}$ )、低温冰箱( $-20^{\circ}\text{C}$ )、干冰( $-70^{\circ}\text{C}$ )、液氮( $-196^{\circ}\text{C}$ )来保藏菌种,都具有良好的效果。

在不良条件下,微生物能够很容易进入休眠状态,某些种类甚至会形成特殊的休眠构造,如芽孢、分生孢子、孢囊等。有些芽孢在休眠了几百年甚至上千年之后仍有活力。

### 1.2.2 微生物多样性与天然产品筛选

新的天然产物通常是基于大量的筛选系统而筛选出的新的生物活性菌体(bioactive strain)。微生物分类系统的发展能够解决微生物技术中面临的很多挑战,如建立一个高质量的分类鉴定系统,指导筛选过程中对生物活性物质产生菌的正确识别;确定原核微生物多样性的范围,包括有应用价值的微生物的地域分布,能够对目的产物的筛选进行生态系研究;对生产专利菌种提供详细有效的描述等。

放线菌和真菌是极具代谢多样性潜力的微生物,传统的分离筛选放线菌的程序习惯于实用性而忽视了合理性,很少重视微生物的选择,结果是重复发现已知化合物,使得筛选的难度越来越大。因此,现代筛选程序应注意结合选择分离新的分类单位或稀有放线菌(rare actinomycetes)设计筛选程序。

新的微生物“种”可能产生新的生物活性物质,因此不断发展新的微生物选择分离和培养方法是发掘微生物资源的重要途径。目前一些学者使用“共培养技术”(cocultural technique)探讨VBNC类微生物中土壤浸提物(soil extract)需求株和微菌落(micro colony)的分离技术。土壤浸提物需求株是指某些在培养基中必须有土壤浸提物存在时才能生长的菌种;微菌落是指那些在固体培养基细胞或孢子分裂几代后即停止分裂,不足以形成可见菌落,但转接到液体培养基中培养后可检测到生长特性的菌种。虽然这些难培养微生物对生长条件要求苛刻,分离难度大,成功率也小,但一旦这类微生物被分离,其就有可能是新的菌种,也意味着可能产生新的活性物质。

利用共培养技术提高活性物质产量的典型案例有:将酿酒酵母(*saccharomyces cerevisiae*)或曲霉菌(*aspergillus*)与红曲霉菌(*monascus*)共培养,可使红曲霉菌发生形态变异,色素产量提高数十倍;将产生土腥素(geosmin)的链霉菌与产生抗寄生虫药物阿维霉素(avermectin)的除虫链霉菌(*streptomyces avermitilis*)C-18共培养,其产量显著提高。应用geosmin高产菌株与不同来源的微生物进行共培养来提高某一微量组分的含量,从而使得在筛选模型上被检出,这一技术已引起新药筛选者的注意。

随着功能基因组研究的深入和分子生物学、分子病理学及细胞生物学对新发现基因功能研究的不断深入,可作为药物筛选的靶标数量正以前所未有的速度递增。如何迅速地从大量的化合物中发现候选药物,如何在海量的基因、蛋白物质库中获得更好的目标产物,这些需求极大地促进了高通量筛选技术(high throughput screening, HTS)的发展和筛选平台的建立。其核心部分由体外分子或细胞水平的筛选模型、计算机控制的自动操作系统和灵敏的生物反应检测系统组成。它主要涉及三种基本技术:自动化(automation)技术,信息、数据读取处理、



储存、显示等计算机软件技术,以及生物评价法微量化(miniaturization)、敏感化(sensitization)并转换为可用多孔板、多通道法测定的技术。其实质是把过去由一个实验师每天完成的一个到几个实验样品的加样、反应、实验程序记录过程的操作高度自动化,实验用样量和生物评价的高度微量化,数据处理、储存、显示及共享的信息高度现代化,使得每天可同时操作或反应上(十)万个样品,并将数据自动化记录和网络化,大大提高效率,降低成本,减少人为误差。

2002年,天蓝色链霉菌(*S. coelicolor*)全基因序列公布,其基因组序列可能会对目前工业生产生物活性代谢产物菌株的遗传改造、构建生产高价值药物的超级菌,以及从微生物资源中寻找新的生物活性物质产生巨大影响。可以预见,在未来的几年中,其他放线菌基因组测序与*S. coelicolor*进行比较研究,以及进一步对功能基因的研究将从根本上理解和改进微生物制药工业化的过程。

### 1.2.3 微生物多样性的保护和管理

生物多样性是发展生物技术不可估量的资源,虽然现在评价微生物多样性正在消失的问题尚很困难但当考虑到微生物与动植物、环境所构成的生态系时,由于动植物物种消失是可以估计的,这就意味着微生物多样性的消失现象也在发生。热带森林生物多样性每年正以1.8%的速度消失,如果再加上那些无法估计的包括湿地、淡水、海洋和其他生态环境中生物多样性的消失,微生物多样性的消失就自然应该受到重视。

微生物多样性的保护有微观和宏观两种途径。宏观途径菌种保护只能保护基因多样性中的很少一部分,微观途径对微生物基因多样性的保护更有实际意义。Ganez(1989)在评价植物种质库(germplasm bank)时指出,基因库由于终止了生物进化过程,这种方法也显示了许多局限性。然而,对于微生物基因的保护应弄清哪种基因、哪个种或哪种生态环境需要优先得到保护。由于微生物生态研究的滞后,以及物种概念尚不确定,此问题的解决显然要比根据宏观生态学已经确定的优先实施的保护策略(濒危物种、保护区等)更为复杂。

近年来,世界各国和国际组织就如何制定微生物多样性利用和保护的行动计划做了许多努力,结果有可能促成一项微生物多样性行动计划的产生。这项计划包括:建立推动微生物多样性研究的国际组织;召开关于微生物“种”的概念和分类指征研讨会;提出已知种的名录;发展微生物分离、培养和保藏技术;发展微生物群落取样的标准;提出选择自然保护区和其他需要长期保护的生态系等诸多方面。我们相信随着微生物生态学、系统分子学的发展,已建立的菌种保藏库和基因库、质粒库及与其相关的数据库和存取系统的不断发展扩大,微生物基因库的保存和管理将更有利于人类对微生物多样性的需要。

## 1.3 微生物学的发展史

### 1.3.1 古代人类对微生物的利用

在人类未发现微生物之前,世界各国人民凭借自己的经验,在实践中利用有益微生物、防治有害微生物,积累了丰富的实践经验。谷物的烹调、酿造和食品的保藏可能在8000年前开始,因为这一时期出现了人类第一个煮壶,推测在这一时期的早期,就出现了食品腐败和食物中毒的问题,由于食品制作及不适当的保存方式引起食品腐败,并出现由食品导致的疾病。

公元前 3500 年已有葡萄酒的酿造。根据 Pederson 报告,最早酿造啤酒的证据是在古巴比伦时代。公元前 3000 年埃及人就食用牛奶、黄油和奶酪。

公元前 3000~前 1200 年,犹太人用死海中获得的盐来保存各种食物,中国人和希腊人开始用盐腌鱼保藏食品。公元前 1500 年中国人和古巴比伦人开始制作和消费香肠。在这一时期还发展了用橄榄油和芝麻油保存食品的方法。

约 3000 年前,埃及已开始发酵生产食醋,日本的酿造醋技术大约在 369~404 年从中国传入,而在 3000 年前,我国已最早开始了制酱和酱油。

约 1000 年前,罗马人使用雪来包裹虾和其他易腐食品。熏肉的制作作为一种贮藏方法可能也是从这一阶段开始的。尽管大量微生物学的知识和技术已用于食品制作、保存和防腐,但微生物究竟和食品有什么关系以及食品的保藏机理、食品传播的疾病及其所带来的危害还是个谜,无人知晓。

到了 13 世纪,虽然人们意识到肉食的质量特性,但毫无疑问还没有认识到肉的质量与微生物之间的因果关系。因为在此之前,即在中世纪,麦角中毒(由真菌麦角菌引起)造成了很多人死亡。仅在公元 943 年法国因为麦角中毒死亡 40 000 多人,当时并不知道这是由真菌引起的。

1658 年,A. Kircher 在研究腐烂的尸体、牛奶、肉以及其他物质时发现了称之为“虫”的生物体,但他的研究结果并没有被广泛接受。

1.3.2 微生物的发现和微生物学的发展

微生物学的发展史包括 5 个时期:史前期、初创期、奠基期、发展期和成熟期,如表 1-1 所示。

表 1-1 微生物学的发展简史

| 发展时期 | 经历时间               | 特点和标记                                                                                     | 代表人物                                              |
|------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 史前期  | 8000 年前<br>公元 1676 | 人类已经在应用微生物,如发酵、酿造等,但没有发现微生物的存在                                                            | 各国劳动人民                                            |
| 初创期  | 1676—<br>1861—     | 世界上第一次发现了微生物的存在                                                                           | 列文虎克                                              |
| 奠基期  | 1861—<br>1897—     | 开创了寻找病原微生物的“黄金时期”,并从形态描述进入生理学研究的水平                                                        | 巴斯德,科赫                                            |
| 发展期  | 1897—              | ①用无细胞酵母汁发酵酒精成功,开创了微生物生化研究的新时期                                                             | Edward Buchner                                    |
|      | 1953—              | ②“普通微生物学”作为一门学科开始形成                                                                       | M. Doudoroff                                      |
| 成熟期  | 1953 以后            | DNA 结构的双螺旋模型建立。微生物成为分子生物学中的重要研究对象。20 世纪 70 年代后微生物成为生物工程学科的主角。20 世纪 90 年代后微生物成为基因组学研究的开路先锋 | J. D. Watson 和 H. F. C. Crick<br>(DNA 双螺旋结构模型的创立) |

从微生物的发现到微生物学的创立,经历了近 3 个世纪。在微生物学的发展史上,有许多科学家为微生物学的建立、发展做出了巨大的贡献。

列文虎克(Antony van Leeuwenhoek,荷兰,1632—1723)自制了世界上第一台显微镜,其放大倍数为 50~300 倍,仅有一个透镜安装在两片金属薄片中间,在透镜前有一根金属短棒,在棒的尖端放上需要观察的样品,利用中部的调焦螺旋来调节焦距。1676 年他利用这种显微镜,观察到了一些细菌和原生动物,当时称为“微动体”,首次揭示了微生物世界。由于他的杰出贡献,1680 年他当选为英国皇家学会会员。

巴斯德(Louis Pasteur,法国,1822—1895)是微生物学的奠基人。他把微生物学的研究从形态描述推进到生理研究的水平,并开创了寻找病原微生物的兴盛时期,使微生物学开始以独立的学科形式形成。巴斯德的卓越贡献主要集中在以下 3 方面:①彻底否定了“自然发生”学说。1857 年他根据曲颈瓶实验证实,空气中确实含有微生物,它们可引起有机质的腐败。把培养基中的微生物加热杀死后,曲颈瓶弯曲的瓶颈挡住了空气中的微生物到达有机物浸液内,但如果将瓶颈打断,空气中的微生物即可进入瓶内,使有机质发生腐败。②证实了发酵是由微生物引起的。巴斯德发现酒精发酵是由酵母菌引起的,还发现乳酸发酵、醋酸发酵、丁酸发酵等都是由不同的细菌引起的。这都为研究微生物的生理生化奠定了基础。③将病原菌减毒,使其转变为疫苗。巴斯德发明了接种减毒病原菌以预防鸡霍乱病和牛、羊炭疽病,并制成狂犬病疫苗,为人类防病、治病做出了巨大的贡献。此外,他发明的巴斯德消毒法,一直沿用至今。他还解决了当时法国葡萄酒变质和家蚕软化病等实践问题,为造福人类做出了巨大的贡献。

科赫(Robert Koch,德国,1843—1910)作为细菌学的奠基人,在病原菌的研究及细菌的分离、培养等方面做出了杰出的贡献。①发明固体培养基,并建立通过固体培养分离纯化微生物的技术。②用自创的方法分离到许多病原菌,如炭疽芽孢杆菌(1877)、结核分枝杆菌(1882)、链球菌(1882)、霍乱弧菌(1883)等。③提出了科赫法则(Koch's postulates),即证明某种微生物为某种疾病病原体所必须具备的条件,这一法则至今仍指导着动、植物病原菌的鉴定。④创立了许多显微镜技术,如细菌鞭毛染色法、悬滴培养法、显微摄影技术等。

布赫纳(Edward Buchner,德国,1860—1917)于 1897 年用酵母菌无细胞压榨汁将葡萄糖进行酒精发酵获得成功,发现了微生物酶的重要作用,从此将微生物学推进到了生化研究的阶段。此后,微生物生理、生化等研究得到了迅速的发展。

### 1.3.3 工业微生物学的发展

微生物学在工业、农业、医药等方面均有广泛的发展。通过规模化培养微生物生产商业性产品即微生物工业。以发酵工业为例,可看出微生物学突飞猛进的发展(表 1-2)。

表 1-2 工业微生物学的发展

| 年或年代 | 发酵理论及应用技术的发展                                            | 重要微生物发酵及其产物              |
|------|---------------------------------------------------------|--------------------------|
| 1680 | 显微镜的发明,微生物发酵采用天然发酵                                      | 酿酒、制酱及酱油、制醋、干酪制作等传统工艺与产物 |
| 1857 | 用实验证明了发酵是微生物的作用,而酒精发酵、醋酸发酵等不同的发酵是因为发酵菌的不同,使传统的发酵工业产生了转机 |                          |



续表

| 年或年代           | 发酵理论及应用技术的发展                                                                                                    | 重要微生物发酵及其产物                                                                             |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1878—1881      | 开发了选择优良酵母菌的啤酒酿造法,为纯培养法在发酵工业上的应用开辟了道路                                                                            |                                                                                         |
| 1897           | 用不含细胞的酵母汁实现了发酵,证明发酵是酶的作用,此为近代酶学的基础,也是微生物工业水平提高的一个标志                                                             |                                                                                         |
| 1905           | 用固体培养基分离培养微生物,得到了细菌的纯种培养物,从而使纯培养技术在发酵工业上得到了应用                                                                   | 生产出酵母细胞、乙醇(酒精)、丙酮、丁醇、淀粉酶等                                                               |
| 1929           | 发现了世界上第一个抗生素——青霉素                                                                                               |                                                                                         |
| 20 世纪<br>40 年代 | 开发了青霉素的深层培养技术,从此有了抗生素工业                                                                                         | 抗生素、维生素、有机酸、酶制剂等                                                                        |
| 20 世纪<br>50 年代 | DNA 双螺旋结构的发现和生物化学的发展,使微生物发酵工业进入了发酵的代谢调节时代                                                                       | 氨基酸发酵、核苷酸发酵成了发酵工业的重要领域                                                                  |
| 20 世纪<br>60 年代 | 石油微生物的研究应用及发酵原料的变换                                                                                              | 石油蛋白及其利用(正烷烃和石油化工产品的发酵生产)                                                               |
| 20 世纪<br>70 年代 | 随着科学技术的发展而发现了微生物发酵的更广泛的应用范围                                                                                     | 污水处理,能源开发,单细胞蛋白生产,细菌浸矿等                                                                 |
| 20 世纪<br>80 年代 | 分子生物学及微生物遗传学的发展,基因工程及发酵工程的创立和发展,固定化细胞(酶)的发酵技术和生物传感器开始应用,利用原生质体融合及基因重组技术进行微生物选育构建新型菌种                            | 基因工程菌的产生和相应发酵工程产品的问世,如干扰素、人生长激素、胰岛素、基因工程疫苗等                                             |
| 20 世纪<br>90 年代 | 分子生物学的深入研究、蛋白质工程与新的代谢途径工程的发展,学科交叉与渗透,使微生物发酵进入计算机控制时代,连续发酵、高密度发酵技术的应用,使微生物发酵生产效率空前提高                             | 基因工程菌发酵规模的不断扩大,在氨基酸发酵、抗生素发酵等工业上计算机自控的应用等                                                |
| 21 世纪          | 基因组学、功能基因组学的研究和发展,各种新技术的飞速发展和应用,极大地推动了工业微生物学的发展。在未来二三十年内人类将面临各种资源的短缺及环境污染等一系列问题,如何发展无污染的新型工业技术亦是微生物工业可持续发展的当务之急 | 系统地改变菌种的基因结构,通过表型分析研究其功能和调控特性,对其转录过程及编译过程的系统监测,对细胞代谢各种中间和终产物的系统分析等,现已卓有成效地应用于工业微生物学的研究中 |

发酵工业包括的范围很广。现代的发酵工业,已从作坊式的混菌、厌氧、固体发酵走向纯种、大罐通气、液体深层发酵阶段。20 世纪 80 年代基因工程兴起,微生物发酵工程应运而生,通过构建微生物工程菌,借助发酵生产出来了大量遗传工程产品,如胰岛素、干扰素的发酵生产等为人类带来了极大的福音。进入 21 世纪,微生物基因组学、后基因组学的发展,发酵工业已进入了基因水平研究和新发展的新阶段。

此外,在农业、医学、药学等领域,微生物学也获得了广泛的应用。但据估计,至今开发的微生物仅为已发现微生物总数的 1%,还有大量的微生物仍深藏于大自然,等待着人类的开发和利用。

### 1.3.4 现代微生物学时期

20 世纪上半叶,微生物学沿着微生物学和基础微生物学两个方向发展。在应用方面,人类疾病和躯体防御机能方面的研究促进了医学微生物学和免疫学的发展。青霉素的发现(Fleming,1929)以及瓦克斯曼(Waksman)对土壤中放线菌的研究成果导致了抗生素科学的出现;环境微生物学在土壤微生物学研究的基础上发展起来;微生物在农业中的应用使农业微生物学和兽医微生物学等也成为重要的应用学科。在基础研究方面,20 世纪中叶,出现了细菌和其他微生物的分类系统;对细胞化学结构和酶及其功能的研究发展了微生物生理学和生物化学;微生物遗传和变异的研究导致了微生物遗传学的诞生;60 年代,微生物生态学也形成了一门独立的学科;80 年代以来,分子微生物学应运而生,如细菌染色体结构和全基因组测序、细菌细胞之间和细菌同动、植物之间的信号传递等。

现在微生物学是在分子水平上发展起来的,这一阶段的事件可以总结成表 1-3 所示。

表 1-3 现在微生物学的发展历程

| 年代   | 发现者                           | 主要贡献及意义                                          |
|------|-------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1928 | F. Griffith                   | 通过研究肺炎链球菌而发现了转化现象                                |
| 1929 | S. A Fleming                  | 发现青霉素,开创了抗生素的时代                                  |
| 1935 | W. Stanley                    | 获得烟草花叶病毒的结晶,为探索生命的本质和起源提供了线索                     |
| 1941 | G. Beadle 和 E. Tatum          | 提出了“一个基因一个酶”的假说,对基因的本质和作用有了进一步的了解                |
| 1943 | S. Luria 和 M. Delbrück        | 利用细菌的突变试验证实了突变的性质和来源                             |
| 1944 | O. Avery                      | 证明 DNA 是遗传物质,开创了分子生物学的新纪元                        |
| 1953 | J. D. Watson 和 H. F. C. Crick | 提出了 DNA 分子双螺旋结构模型及半保留复制假说,为分子生物学和分子遗传学奠定了坚实的理论基础 |
|      |                               |                                                  |
| 1958 | H. F. C. Crick                | 提出遗传信息传递的“中心法则”                                  |
| 1961 | Nirenberg                     | 通过研究 E. coli 无细胞蛋白质合成体系完成了遗传密码的破译                |
|      | F. Jacob 和 J. Monod           | 提出了操纵子学说,开始了基因表达调控的认识                            |
| 1970 | H. Smith                      | 从流感嗜血菌提纯了限制性内切酶,为基因重组奠定了基础                       |