

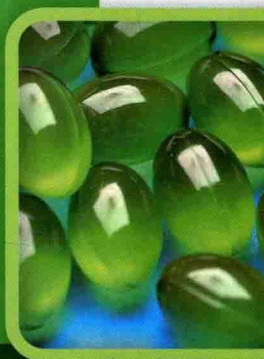


“十二五”职业教育国家规划教材
经全国职业教育教材审定委员会审定

工业微生物及育种技术

第二版

- 孙祎敏 主编
- 谢 辉 范继业 郭会灿 副主编



化学工业出版社



“十二五”职业教育国家规划教材
经全国职业教育教材审定委员会审定

工业微生物及育种技术

第二版

孙祎敏 主编

谢 辉 范继业 郭会灿 副主编



化学工业出版社

· 北京 ·

本书内容共包括绪论和9个教学项目,分别是微生物形态结构观察、培养基制备、消毒与灭菌技术、工业微生物接种技术、工业微生物培养与检测技术、工业微生物代谢与发酵技术、免疫技术、工业微生物菌种选育、微生物菌种保藏技术。各教学项目的实施都以与企业工作岗位相适应的工作任务为载体,在学生完成工作任务的过程中达到规定的知识学习目标和能力目标。各项目都提供了完成项目任务必需的基础知识和技能训练,以保证学生能在教师的辅导下完成项目任务。

本书可作为高职高专制药技术类专业及相关专业学生的教学用书,也可作为从事相关领域的工作人员参考阅读。

图书在版编目(CIP)数据

工业微生物及育种技术/孙祎敏主编. —2版. —北京:
化学工业出版社, 2015. 2
“十二五”职业教育国家规划教材
ISBN 978-7-122-22582-5

I. ①工… II. ①孙… III. ①工业微生物学-菌种-遗传育种
IV. ①Q939. 97

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第298211号

责任编辑:蔡洪伟 于 卉 陈有华
责任校对:边 涛

装帧设计:关 飞

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 装:大厂聚鑫印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张18 字数447千字 2015年3月北京第2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: 35.00 元

版权所有 违者必究

高职高专制药技术类专业教学改革系列教材 编审委员会

主任委员 程桂花

副主任委员 杨永杰 张健泓 乔德阳 于文国 鞠加学

委 员 (按姓名汉语拼音排列)

陈文华	陈学棣	程桂花	崔文彬	崔一强
丁敬敏	冯 利	关荐伊	韩忠霄	郝艳霞
黄一石	鞠加学	雷和稳	冷士良	李 莉
李丽娟	李晓华	厉明蓉	刘 兵	刘 军
刘 崧	陆 敏	乔德阳	任丽静	申玉双
苏建智	孙安荣	孙乃有	孙祎敏	孙玉泉
王炳强	王玉亭	韦平和	魏怀生	温志刚
吴晓明	吴英绵	辛述元	薛叙明	闫志谦
杨瑞虹	杨永杰	叶昌伦	于淑萍	于文国
张宏丽	张健泓	张素萍	张文雯	张雪荣
张正兢	张志华	赵 靖	周长丽	邹玉繁

前 言

2011年11月,在全国化工高职教学指导委员会制药专业委员会的指导下,结合教育部[2006]16号文精神,以全面提高高等职业教育教学质量为目的,适应高等技术应用性人才培养的需要,我们编写出版了《工业微生物及育种技术》教材。本书的编写充分考虑学生就业岗位对微生物相关知识和技能的需求,注重教材内容与企业岗位工作一致,构建新的课程教学内容体系。同时,在教材体例和内容组织上,通过教学项目和任务的精心设计,实现学生职业能力的培养,充分满足了高职教育的需要。该教材是河北省工业微生物及育种技术精品课程及河北化工医药职业技术学院国家骨干院校制药技术重点建设专业建设成果,得到了各高职院校的广泛使用,受到普遍的好评。本书配套的电子资源可登录 www.cipedu.com.cn 免费下载。

在教材的使用过程中,各使用院校也给出了宝贵的意见和建议,在此基础上,我们对教材进行了修订。在修订过程中,我们大量走访了一线生产技术人员,根据生产实际对教材设计的教学项目和任务进一步优化,理论知识和技能训练有机融合,从而更好地满足教学的需要。

修订后的第二版内容共包括绪论、微生物形态结构观察、培养基制备、消毒与灭菌技术、工业微生物接种技术、工业微生物培养与检测技术、工业微生物代谢与发酵技术、免疫技术、工业微生物菌种选育、微生物菌种保藏技术等内容。各教学项目的实施以项目任务为载体,适合于教、学、做一体化的情境化教学的实施。

本教材绪论、项目一由河北化工医药职业技术学院孙祎敏编写;项目二和项目六由承德石油高等专科学校谢辉编写;项目三~项目五由河北化工医药职业技术学院范继业编写;项目七~项目九由承德石油高等专科学校王冠蕾编写;项目八由河北化工医药职业技术学院冀营光编写;附录由承德石油高等专科学校谢辉、石家庄职业技术学院郭会灿编写。全书由孙祎敏统稿,石药集团技术员朱科工程师审稿。

由于编者水平有限,书中疏漏之处在所难免,恳请各位专家、读者提出宝贵意见。

编者

2014年10月

第一版前言

本教材是在全国化工高职教学指导委员会制药专业委员会的指导下完成的。教材在编写过程中严格按照高职教育改革文件精神,适应高等技术应用型人才培养的需要,以学生职业能力培养为主线,构建新的课程体系,最大可能地实现学习与岗位工作的“对接”。

教材的编写体现了以学生为本的思想,从企业微生物相关职业岗位(群)工作出发,以培养从事职业岗位工作所需的职业能力为主线,在全面、细致、深入地分析职业技术领域各岗位(群)工作任务的基础上,以完成相应工作任务所需的知识、技能、素质为要素组织教材内容,设计了来源于实际工作过程的项目任务。本书将工业微生物及育种技术课程设计为9个教学项目。

本书内容共包括绪论和9个教学项目(微生物形态结构观察、培养基制备、消毒与灭菌技术、工业微生物接种技术、工业微生物培养与检测技术、工业微生物代谢与发酵技术、免疫技术、工业微生物菌种选育、微生物菌种保藏技术)。各教学项目的实施都以与企业工作岗位相适应的工作任务为载体,在学生完成工作任务的过程中达到规定的知识学习目标和能力目标。各项目都提供了完成项目任务必需的基础知识和技能训练,以保证学生能在教师的辅导下完成项目任务。本教材绪论由河北化工医药职业技术学院孙祎敏编写;项目一由河北化工医药职业技术学院孙祎敏、梁艳编写;项目二、项目六由承德石油高等专科学校谢辉编写;项目三、项目四、项目五由河北化工医药职业技术学院范继业编写;项目七、项目九由承德石油高等专科学校王冠蕾编写;项目八由河北化工医药职业技术学院冀营光编写;附录由承德石油高等专科学校谢辉、河北化工医药职业技术学院梁艳编写。全书由孙祎敏统稿。本书由石药集团技术员朱科工程师审稿。

由于编者水平有限,书中存在疏漏之处在所难免,恳请各位专家、读者提出宝贵意见。

编者

2011年6月

目 录

绪论	1
【学习目标】	1
【任务描述】	1
【基础知识】	1
一、微生物概述	1
二、微生物学及其发展	6
三、工业微生物应用	8
【思考题】	8
项目一 微生物形态结构观察	9
【学习目标】	9
【任务描述】	9
【基础知识】	9
一、细菌	9
二、放线菌	22
三、酵母菌	28
四、霉菌	36
五、噬菌体	46
【项目实训】	54
一、普通光学显微镜的使用	54
二、细菌的染色和形态结构观察	55
三、放线菌的形态观察	59
四、酵母菌的形态观察及死活细胞的鉴别	60
五、酵母菌子囊孢子的培养与观察	61
六、霉菌的形态观察	61
【知识拓展】 蓝细菌	62
【企业案例】	62
【思考题】	64

项目二 培养基制备 65

【学习目标】 65

【任务描述】 65

【基础知识】 65

一、工业微生物的营养要求 65

二、培养基 72

三、营养物质进入细胞的方式 78

【项目实训】 82

一、牛肉膏蛋白胨培养基制备 82

二、高氏 I 号培养基制备 83

三、马铃薯蔗糖培养基制备 84

【知识拓展】青霉素生产的培养基 85

【企业案例】 85

【思考题】 86

项目三 消毒与灭菌技术 87

【学习目标】 87

【任务描述】 87

【基础知识】 87

一、几个基本概念 88

二、控制微生物的物理方法 89

三、控制微生物的化学方法 93

【项目实训】 97

一、高压蒸汽灭菌法 97

二、干热灭菌法 98

三、过滤除菌法 99

【知识拓展】抗生素的来源及分类 101

【企业案例】 101

【思考题】 102

项目四 工业微生物接种技术 103

【学习目标】 103

【任务描述】 103

【基础知识】 103

一、工业微生物的纯培养 103

二、工业微生物的培养方法 107

【项目实训】 113

一、工业微生物接种技术 113

二、工业微生物的纯培养技术 119

【知识拓展】	123
一、无菌室的准备	123
二、接种工具的准备	124
三、稀释摇管法	125
【思考题】	125
项目五 工业微生物培养与检测技术	127
【学习目标】	127
【任务描述】	127
【基础知识】	127
一、微生物生长的测定	128
二、微生物的生长规律	137
三、工业生产中常用的微生物培养方式	142
【项目实训】	145
一、酵母菌大小测定	145
二、酵母数量的测定	148
三、培养条件对微生物生长的影响	152
【知识拓展】	155
一、超氧化物歧化酶——SOD	155
二、细胞生长量测定法	155
三、工业生产中微生物的其他培养方式	156
【思考题】	157
项目六 工业微生物代谢与发酵技术	158
【学习目标】	158
【任务描述】	158
【基础知识】	158
一、微生物的代谢概述	158
二、微生物的产能代谢	159
三、微生物的耗能代谢	170
四、微生物的代谢调控与发酵生产	178
五、微生物的初级代谢与次级代谢	182
【项目实训】	183
一、细菌的生理生化反应	183
二、酵母菌的乙醇发酵	184
三、枯草芽孢杆菌的 α -淀粉酶发酵	188
【知识拓展】 营养缺陷型育种和结构类似物育种	189
【思考题】	189
项目七 免疫技术	191
【学习目标】	191

【任务描述】	191
【基础知识】	191
一、传染	191
二、免疫	194
【项目实训】	206
一、免疫血清的制备	206
二、ABO 血型的鉴定	207
【知识拓展】 生物制品及其应用	208
一、人工自动免疫生物制剂	208
二、人工被动免疫用制剂	209
【思考题】	209
项目八 工业微生物菌种选育	211
【学习目标】	211
【任务描述】	211
【基础知识】	211
一、筛选工业微生物菌种	211
二、工业微生物育种	217
【项目实训】	235
一、利用紫外线诱变筛选淀粉酶高产菌株	235
二、利用亚硝酸诱变选育酵母营养缺陷型突变体	237
【知识拓展】	238
一、营养缺陷型的鉴定及应用	238
二、原生质体融合育种实例	239
【企业案例】	239
【思考题】	240
项目九 微生物菌种保藏技术	241
【学习目标】	241
【任务描述】	241
【基础知识】	241
一、菌种的衰退和复壮	241
二、菌种保藏	243
【项目实训】	245
一、斜面传代保藏	245
二、穿刺保藏	246
三、液体石蜡保藏	246
四、甘油管保藏	247
五、沙土管保藏	247
六、液氮冷冻保藏	248

七、冷冻干燥保藏	249
【知识拓展】 菌种保藏机构	251
【思考题】	252
附录	253
一、常用消毒剂及其配制方法	253
二、常用的洗涤剂及其配制	253
三、常用试剂及其配制	254
四、常用染色液及其配制	255
五、常用培养基及其配制	257
六、常用仪器设备	264
七、玻璃管、棒的小加工	271
参考文献	273

绪论

【学习目标】▶▶

1. 知识目标

了解微生物的类型及特点，了解微生物学的发展历史以及工业微生物的应用。

2. 能力目标

能够将微生物与实际生活、生产联系起来。

【任务描述】▶▶

设计一个实验方案，证明在我们日常生活的环境中，到处有微生物存在。

【基础知识】▶▶

一、微生物概述

微生物是指人类用肉眼无法观察，必须借助借助光学显微镜或电子显微镜才能观察到的微小生物的总称，它包括形体微小的单细胞低等生物、个体结构简单的多细胞低等生物、没有细胞结构的低等生物等。微生物必须用微米甚至纳米作为计量大小的单位。

微生物虽然个体微小，但在自然界生态平衡和物质循环中起着重要的作用，在解决人类的粮食、能源、健康、资源和环境保护等问题中正显露出越来越重要且不可替代的独特作用。如利用微生物可降解自然界中的废弃物，为人们提供美味的发酵食品、治疗疾病的药品，为化学工业提供原料。微生物种类繁多，迄今为止已经发现的微生物仅占其总数的10%左右，大部分微生物还有待于发掘利用。

（一）微生物的三大类型

在微生物的分类系统中，按其细胞结构将微生物划分为原核微生物、真核微生物和非细胞结构微生物。

1. 原核微生物

原核微生物是指一类没有核膜，无细胞核，仅含一个由裸露的DNA分子构成的原始核

区的单细胞微生物。原核生物细胞核的分化程度低，缺乏完整的细胞器，只有单个染色体(图 0-1)。原核微生物包括真细菌和古生菌两大类群，细菌、放线菌、蓝细菌、支原体、立克次体和衣原体等都属于真细菌。

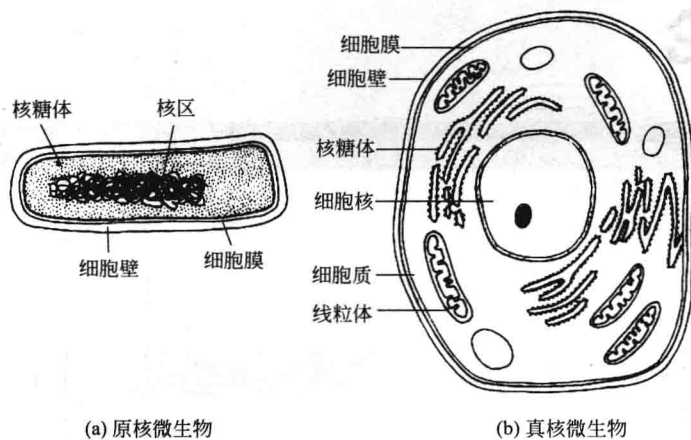


图 0-1 微生物细胞的结构

(1) 细菌 细菌是一类形状细短，结构简单，多以二分裂方式进行繁殖的单细胞原核生物，是在自然界分布最广、个体数量最多的有机体，是大自然物质循环的主要参与者。如用于生产味精的北京棒杆菌、人体肠道内的大肠杆菌、用来酿醋的醋酸杆菌等。

(2) 放线菌 放线菌是原核生物的一个类群。大多数有发达的分枝菌丝，单细胞，以孢子繁殖为主，是抗生素的主要生产菌。如产链霉素的灰色链霉菌、产红霉素的红色链霉菌、产四环素的生金链霉菌。

(3) 蓝细菌 蓝藻又叫蓝绿藻、蓝细菌，大多数蓝藻的细胞壁外面有胶质衣，因此又叫黏藻。蓝藻是单细胞大型原核生物，没有细胞核，但细胞中央含有核物质，通常呈颗粒状或网状，染色质和色素均匀地分布在细胞质中。有的含有蓝藻叶黄素，有的含有胡萝卜素，有的含有蓝藻藻蓝素，也有的含有蓝藻藻红素。它能进行产氧光合作用。如螺旋藻、发菜念珠蓝细菌等。

(4) 支原体 支原体是目前发现的一类不具细胞壁的最小型、最简单的原核生物，大小为 $0.2\sim 0.3\mu\text{m}$ ，介于细菌和病毒之间，可通过滤菌器。营养要求比一般细菌高，大多数兼性厌氧，繁殖方式多样，主要为二分裂繁殖，还有断裂、分枝、出芽等方式。许多支原体是致病菌。如肺炎支原体、人型支原体、解脲支原体和生殖器支原体等。

(5) 立克次体 立克次体是一类专性寄生于真核细胞内的 G^- 原核生物，是介于细菌与病毒之间，而接近于细菌的一类原核生物。一般呈球状或杆状，是专性细胞内寄生物，主要寄生于节肢动物，有的会通过蚤、虱、蜱、螨传入人体，如斑疹伤寒、战壕热。

(6) 衣原体 衣原体是一类能通过细菌滤器，严格细胞内寄生，有独特发育周期的原核细胞性微生物。衣原体广泛寄生于人类、鸟类及哺乳动物，能引起人类疾病的有沙眼衣原体、肺炎衣原体、鹦鹉热衣原体。

2. 真核微生物

真核微生物大多由多细胞组成，细胞核有核膜、核仁和染色体，有线粒体、叶绿体等细胞器，能进行有丝分裂。真核微生物包括真菌、单细胞藻类和原生动物，真菌包括酵母菌、

霉菌和蕈菌。

(1) 酵母菌 酵母菌是一类低等的单细胞真核生物，营专性或兼性好氧生活，酵母菌是人类文明史中被应用得最早的微生物。目前已知有 1000 多种酵母，如面包酵母、酿酒酵母等。

(2) 霉菌 霉菌是丝状真菌的俗称，意即“发霉的真菌”，是单细胞或多细胞的丝状真核微生物。如生产青霉素的青霉菌、酿制米酒的米根霉、制造豆腐乳的毛霉菌等。

(3) 蕈菌 蕈菌又称伞菌或担子菌，是能形成大型子实体或菌核组织的高等真菌类的总称。如蘑菇、木耳、灵芝、猴头等。

3. 非细胞结构微生物

非细胞结构微生物包括真病毒和亚病毒。

(1) 真病毒 病毒是一类超显微、没有细胞结构、专性活细胞内寄生的大分子微生物(图 0-2)，它们在体外具有生物大分子的特征，只有在宿主体内才表现出生命特征。病毒只含有蛋白质和核酸两种成分。



图 0-2 各种形态的病毒

病毒具有以下特征：①个体极小，多数病毒粒子的直径在 100nm 以下，能通过细菌滤器，需借助电子显微镜观察；②专性寄生，没有独立的代谢功能，只能在特定的宿主细胞内繁殖；③没有细胞结构，大多数病毒只是蛋白质和核酸组成的大分子，且只含单种核酸(DNA 或 RNA)；④繁殖方式是依靠宿主的代谢体系进行“复制”；⑤它对一般的抗生素不敏感，但对于干扰素敏感。

病毒的结构包括衣壳、衣壳粒、核衣壳、被膜、包涵体等。

噬菌体的蛋白质外壳称为衣壳。衣壳包围着核酸，对基因组起到保护作用，使其免受外界环境的影响。衣壳的基本单位是衣壳粒。衣壳粒是噬菌体的最小形态单位。由一种或几种多肽链折叠而成的蛋白质亚单位，以对称的方式有规律地排列，构成噬菌体的衣壳。根据衣

壳粒的排列组合方式，分为螺旋对称型衣壳（图 0-3）、二十面体对称型衣壳（图 0-4）、复合对称型衣壳（图 0-5）。

衣壳中包含噬菌体的核酸。

核髓和衣壳合称核衣壳。有的噬菌体的核衣壳裸露；有的噬菌体的核衣壳外有一层松散的被膜，被膜主要由蛋白质（常为糖蛋白）和脂类组成。

包含体是宿主细胞受噬菌体感染后形成的一种光学显微镜下可见的小体；其形态呈圆形、卵圆形或不定形。在细胞内包含体的大小和数量不等。

(2) 亚病毒 亚病毒是目前所知的最简单的生命形式，是仅含核酸或者蛋白质一种生物分子的分子病原体，包括类病毒（只含 RNA，专性活细胞内寄生）、拟病毒（仅由裸露的核酸组成，包裹于真病毒粒中）、朊病毒（不含核酸的传染性蛋白质粒子）等。

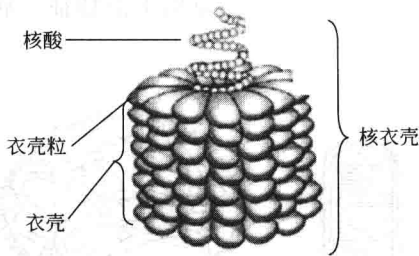


图 0-3 螺旋对称型衣壳（烟草花叶病毒）

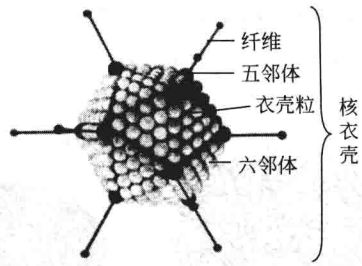


图 0-4 二十面体对称型衣壳（腺病毒）

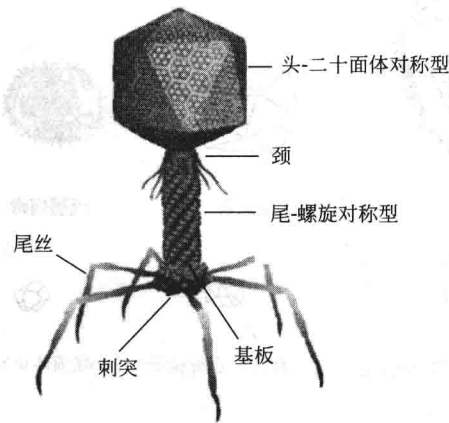


图 0-5 复合对称型衣壳（T偶数噬菌体）

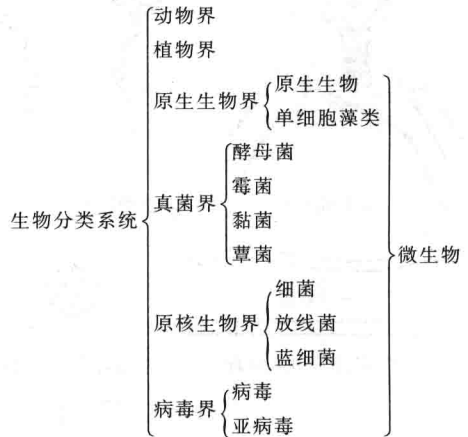


图 0-6 六界生物分类系统

(二) 微生物的分类和命名

1. 微生物在生物分类系统中的地位

微生物在六界生物分类系统中的地位如图 0-6。

2. 微生物的分类单位

微生物的主要分类单位依次为界、门、纲、目、科、属、种，在两个分类单位之间可增设亚门、亚纲、亚目等次级分类单位，在科和属之间可加“族”。“种”是微生物最关键的分类单位，在“种”以下有时还设立亚种、菌株等常用分类单位。

(1) 种 种是微生物分类的基本单位。它是一大群表型特征高度相似、亲缘关系极其接近、与同属内其他种有着明显差异的菌株的总称。《伯杰系统细菌学手册》对细菌“种”的定义为：典型培养菌及所有与它密切相关的其他培养菌一起称为细菌的一个“种”。这个典型培养菌就是该种的模式种。

(2) 亚种(变种) 从自然界分离到的纯种，有某一特征与典型菌种不相同，其余特征则都相同，而且这一特征又是稳定的，通常称这一纯种为典型种的亚种。亚种是正式分类单位中最低的等级，有时也将实验室获得的变异型称亚种或小种。

(3) 菌株(品系) 任何由一个独立分离的单细胞(或病毒粒子)繁殖而成的纯种群体及其一切后代称为一个菌株。菌株是生物技术中最基本、最常用的操作实体。

(4) 属 属是微生物的基本分类单位，是指具有某些共同特征或密切相关的一群微生物的总称。属和属之间的差异比较明显。

3. 命名

微生物的命名采用林奈在 1735 年建立的双名法。一个种的学名通常由一个属名加一个种名构成。第一个词为属名，字首大写，通常是拉丁文的名词，用来描述微生物的主要特征，如形态、生理等；第二个词为种名，字首小写，往往是拉丁文的形容词，用来描述微生物的次要特征，如颜色、形状和用途等。学名在出版物中应排成斜体字。根据双名法的法规，出现在分类学文献中的学名，后面往往还应该加上首次定名人、现名定名人和现名定名年份。

学名：属名+种名+(首次定名人) + 现名定名人+定名年份
斜体 正体

例如：啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* Hansen，酵母将糖转化为乙醇，酵母又是真菌，所以用表示糖的拉丁文“Saccharo”和表示真菌的希腊文“myces”组合成它的属名，“cerevisiae”是拉丁文酿酒人的意思，作为其种名；Hansen 是命名人的姓。

有时可将属名用首位 1~3 个字母缩写并加一句号表示。如 *Saccharomyces* 可缩写成“S.”或“Sar.”。

(三) 微生物的特点

1. 体积小

微生物个体都极其微小，以微米甚至纳米为测量单位，需要借助光学显微镜甚至电子显微镜才能观察到。

2. 繁殖快

微生物体积小，比表面积大，吸收营养快，生长繁殖快。如大肠杆菌在适宜的生长条件下，仅 17min 即繁殖一代。

3. 代谢类型多

不同类型的微生物具有不同的代谢途径，它们能利用各种各样营养物质合成不同类型的代谢产物，为人们提供了食品、药品、生物制品、有机化学品等各种产物。

4. 易变异，适应性强

微生物个体一般都是单细胞，它们具有繁殖快、数量多，外界环境直接接触，可在短时间内出现大量的变异后代。微生物的变异性使其具有极强的适应能力，诸如抗热性、抗寒性、抗盐性、抗干燥性、抗酸性、抗缺氧、抗高压、抗辐射及抗毒性等能力。

5. 种类多、分布广

微生物种类繁多，分布广泛，从生物圈、土壤圈、水圈直至大气圈、岩石圈，到处都有微生物生存。目前已确定的微生物种数为 20 万种左右，还有大量的微生物资源有待开发

利用。

二、微生物学及其发展

(一) 微生物学

微生物学是研究微生物及其生命活动规律和应用的一门基础学科。它研究微生物的形态结构、营养代谢、生长繁殖、生理生化、遗传变异、分类鉴定、生态分布、与人类和动植物关系、微生物的应用等各个方面。

(二) 微生物学的发展历程

1. 人类自发利用微生物时期

人类对微生物的利用可以追溯到距今 8000 年前，虽然人类还没有认识微生物个体，但在生产和生活的很多方面已经开始利用微生物。

我国在距今 4000 多年前已经开始利用微生物进行谷物酿酒，及制作醋、酱等；在商代已经开始使用堆肥，提倡土地轮作，应用根瘤菌的作用为农业生产服务。并且对疾病的病原及传染问题已接近正确的推论，对防治疾病有着丰富的经验。如我国古代采用种痘以防天花的方法，是世界医学史上的一大创造。

2. 人类发现并描述微生物时期

1684 年，荷兰商人列文·虎克用自制的显微镜观察河水、雨水、牙垢等，将观察到的杆状、球状、螺旋状的细菌和运动的短杆菌等的图像画下来，寄给英国皇家协会。当时，他将发现的微生物称为“微动物”。列文·虎克是第一个详细描述微生物形态的人。

从此之后的 200 年内，更多的微生物被发现并进行了分类。

3. 微生物学的奠基时期

19 世纪微生物基本技术的建立，特别是灭菌技术和微生物纯培养技术的建立，为微生物学成为一门新兴而独立的学科奠定了基础。这一期间的代表人物有巴斯德、科赫等，他们的工作为微生物学的建立和发展作出了巨大的贡献。

(1) “微生物之父”——巴斯德

① 曲颈瓶实验否定了微生物自生说。曲颈瓶实验（图 0-7）证明了食物腐败是由空气中存在的微生物引起的，否定了微生物自生说。

② 建立了巴斯德消毒法，在 60~65℃ 短时间加热处理，可杀死有害微生物。至今巴斯德消毒法仍广泛用于酒、醋、酱油、牛奶和果汁等食品的消毒。

③ 发现了免疫作用，发明了减毒狂犬病疫苗和炭疽杆菌的免疫方法。

④ 通过酒类发酵试验，发现酵母和细菌能引起基质的化学变化，酵母可以使葡萄汁发酵产生葡萄酒，而细菌使之产生酸味，解决了酒类变酸的问题。

(2) 科赫 科赫是另一位伟大的微生物学创始人，在病原微生物的研究和微生物学实验研究方法的建立等方面作出了重要的贡献。

① 第一个发现传染病是由病原细菌感染造成的，证明炭疽杆菌是炭疽病的病原菌，结核杆菌是结核病的病原菌。

② 提出鉴定病原菌的科赫定理：在患病的动物体内总能发现特定微生物，而健康的动物体内则没有；在动物体外可以纯培养此微生物；将该培养物接种到易感动物体内会引起同样的疾病；从实验动物及实验室培养物中重新分离得到的微生物应该是同种微生物。