

内 容 简 介

本书是高等轻工业院校工业发酵专业微生物学教科书，内容包括：(1) 绪论，(2) 微生物的形态及分类，(3) 微生物的营养及生长，(4) 微生物代谢及代谢调节，(5) 物理化学因素对微生物生长发育的影响，(6) 微生物的生态及环境保护，(7) 微生物的菌种选育，(8) 微生物学实验，(9) 附录。

本书除作为高等轻工业院校工业发酵专业的教材外，也可供有关科研和工厂技术人员、工人的学习参考用。

高等学校轻工专业试用教材

微 生 物 学

(适用于工业发酵专业)

无锡轻工业学院 华南工学院
天津轻工业学院 大连轻工业学院 合编

*

轻 工 业 出 版 社 出 版

(北京阜成路3号)

北 京 印 刷 二 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行

各 地 新 华 书 店 经 售

*

850×1168 毫米 1/32 印张：17 $\frac{24}{32}$ 插页：1 字数：446千字
1980年9月 第一版第一次印刷

印数：1—10,000 定价：2.20 元

统一书号：15042·1561

前 言

本教材系根据无锡轻工业学院、华南工学院、天津轻工业学院和大连轻工业学院共同制定的编写大纲联合编写的。由无锡轻工业学院主编，并轻轻工业部组织的工业发酵专业教材编审委员会审定出版。

编写分工如下：第一章由檀耀辉编写，第二章由夏淑兰编写，第三章由周婉冰编写，第四章由范力敏编写，第五章由吴怡莹编写，第六章由陈智新编写，第七章由诸葛健编写，第八章和附录部分由陈智新、诸葛健合编。

由檀耀辉主编并负责审阅全部书稿。

本教材作为工业发酵专业微生物课程教学用，也可供有关研究人员、工厂技术人员和高等院校有关师生参考。

在编写过程中，我们得到了轻工业各高等院校领导的关怀和支持，保证了编写工作的顺利进行。在审稿时，轻工业部食品发酵研究所、上海工业微生物研究所、天津工业微生物研究所、江苏省食品发酵研究所、上海化工学院抗菌素专业等单位对本稿提出了宝贵意见。谨此表示感谢！

由于我们的业务水平有限，书中难免存在缺点和错误，请读者批评指正。

编者

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 微生物学研究的对象和任务.....	(1)
第二节 微生物学的发展简史.....	(6)
第三节 我国工业微生物学的发展概况.....	(11)
第四节 微生物在生物界中的地位 and 分类、 命名法则.....	(16)
第二章 微生物的形态与分类	(20)
第一节 细菌.....	(20)
一、细菌的形态和大小.....	(20)
二、细菌细胞的结构.....	(26)
三、细菌的繁殖方式与菌落形态.....	(38)
四、细菌的分类.....	(41)
五、工业上常用的细菌.....	(44)
第二节 放线菌.....	(51)
一、放线菌的形态与构造.....	(52)
二、放线菌的繁殖.....	(54)
三、放线菌的分类.....	(55)
四、生产中常用的放线菌.....	(59)
第三节 酵母菌.....	(60)
一、酵母菌的形态大小.....	(60)
二、酵母菌的细胞结构.....	(61)
三、酵母菌的繁殖方式和生活史.....	(63)
四、酵母菌的分类.....	(69)
五、工业上常用的酵母菌.....	(73)

第四节 霉菌	(83)
一、霉菌的形态和构造	(83)
二、霉菌的繁殖和生活史	(84)
三、霉菌的分类	(92)
四、工业上常用的霉菌	(93)
第五节 噬菌体	(107)
一、形态、结构和化学成分	(108)
二、生长和繁殖	(110)
三、噬菌体与寄主的关系	(113)
四、分离检查与防治	(114)
第三章 微生物的营养及生长	(120)
第一节 微生物的营养	(120)
一、微生物细胞的化学组成	(120)
二、微生物的营养类型	(124)
三、营养物质及其功用	(128)
四、营养物质的吸收与代谢物质的分泌	(142)
第二节 微生物的生长	(150)
一、微生物生长的测定方法	(151)
二、微生物群体的生长规律	(153)
三、主要生长期的特点及影响因素	(156)
第三节 培养基	(160)
一、培养基的类型	(161)
二、培养基选择的依据	(166)
三、配制培养基的原则	(170)
第四章 微生物代谢	(175)
第一节 酶	(175)
一、酶的一般性质	(175)
二、酶的结构	(177)
三、影响酶反应速度的因素	(180)

第二节 微生物的呼吸作用	(186)
一、微生物的呼吸作用	(186)
二、微生物的呼吸传递链	(189)
三、ATP 的生成	(191)
第三节 微生物的分解代谢	(194)
一、纤维素的水解	(194)
二、淀粉的水解	(196)
三、己糖降解	(198)
四、戊糖降解	(220)
五、脂肪和脂肪酸的分解	(221)
六、烃类的分解	(222)
七、氨基酸的分解	(227)
第四节 微生物的合成代谢	(230)
一、生物固氮	(230)
二、氨基酸的合成	(235)
三、核苷酸的生物合成	(243)
四、DNA 的合成	(247)
五、RNA 的合成	(250)
第五节 微生物代谢的调节与控制	(252)
一、微生物代谢的主要调节机制	(252)
二、在工业发酵上的应用	(259)
第五章 理化因素对微生物生长发育的影响	(267)
第一节 物理因素对微生物的影响	(267)
一、温度	(267)
二、干燥	(273)
三、渗透压	(274)
四、辐射	(276)
五、通风	(281)
六、表面张力	(282)

第二节 化学因素对微生物的影响·····	(282)
一、氢离子浓度·····	(283)
二、氧化还原电势(rH_2 值)·····	(285)
三、盐、碱类和金属离子·····	(286)
第三节 灭菌和消毒·····	(287)
一、常用的灭菌方法·····	(288)
二、常用的消毒剂·····	(294)
三、影响灭菌与消毒的因素·····	(298)
第六章 微生物的生态·····	(302)
第一节 微生物在自然界的分布·····	(302)
一、土壤中的微生物·····	(302)
二、水中的微生物·····	(305)
三、空气中的微生物·····	(310)
第二节 微生物之间相互关系·····	(312)
一、互生·····	(312)
二、共生·····	(313)
三、寄生·····	(313)
四、拮抗·····	(314)
第三节 微生物与环境保护·····	(314)
一、水的污染及防治·····	(315)
二、土壤污染和防治·····	(324)
第七章 微生物菌种的选育·····	(328)
第一节 新种的分离与筛选·····	(328)
一、新种分离、筛选的原理·····	(328)
二、新种分离与筛选的步骤与方法·····	(329)
第二节 育种的基本原理·····	(340)
一、遗传性与变异性·····	(340)
二、遗传的物质基础·····	(342)
三、自然实变与生产育种·····	(350)

第三节 诱变育种.....	(351)
一、诱变剂的类型、诱变机制及其使用.....	(352)
二、育种的步骤和方法.....	(369)
三、营养缺陷型突变株的筛选.....	(387)
第四节 基因重组育种.....	(399)
一、基因重组育种的原理.....	(399)
二、杂交育种的步骤与方法.....	(400)
三、转化与转导.....	(411)
第五节 代谢调节和微生物育种.....	(418)
第六节 菌种的退化、复壮和保藏.....	(421)
一、菌种的退化.....	(421)
二、退化菌种的复壮.....	(427)
三、菌种的保藏.....	(427)
四、国外菌种保藏的部分情况简介.....	(433)
第八章 微生物学实验.....	(436)
附录.....	(531)

第一章 绪 论

第一节 微生物学研究的对象和任务

一、微生物学研究的对象

所谓微生物是指那些个体微小，构造简单，必须借显微镜的帮助才能看清它们外形的一群微小生物。大多数微生物都是单细胞(细菌、酵母等)，部分是多细胞(如霉菌等)。它们的个体都很小，一般要用微米(μ)作单位来测量，它们中有些没有细胞结构(如病毒、噬菌体)，需要用放大数万倍的电子显微镜才可看到。广义的微生物包括病毒、立克次氏体、细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、单细胞藻类、原生动物和枝原体等。在发酵工业中经常遇到的是细菌、放线菌、酵母菌、霉菌(又名丝状真菌)及危害细菌、放线菌生长的噬菌体等。这些微生物虽然形态不同，大小各异，但是它们的生活习性、繁殖方式、分类地位及分布范围又很相近似，尤其是它们的培养方法、研究技术基本相同，所以把它们归属于微生物界，作为一群生物来研究，是符合生物学科体系的。

二、微生物学的任务

在工科院校发酵专业的微生物学是一门基础课，其任务是要为工业发酵专业学生打下牢固的微生物学理论基础和熟练的操作技能，既要扼要地讨论各类主要微生物的形态、分类、生理、生态和遗传变异等生物科学的共同特性，同时还要介绍与发酵工业生产有关微生物的特殊生长规律和代谢机理。具体地说在形态上要求阐明结构与功能；生理上要求了解新陈代谢规律和生长繁殖

条件对发酵产品、产量和质量之间的关系；在生态上要探讨微生物在自然界中的分布情况，为寻找新菌种和防止杂菌污染提供依据；在遗传变异上要懂得微生物的遗传因子和环境条件之间的辩证关系，以便使学生掌握这一规律，为选种育种打下理论基础。近年来，由于生物化学、分子生物学、分子遗传学等学科的飞跃发展，对微生物遗传物质的物理化学性质作了深入的研究，并对控制遗传功能的遗传信息和遗传信息的传递、遗传密码的转录、反转录及遗传特性的表达等均有了较透彻的了解，在此基础上于七十年代中期发展了遗传工程学。

所谓遗传工程学，就是用人工的方法，把遗传物质在体外进行重组，从而改变生物的遗传性能，使生物按照人们预定的“工程图线”，产生新一代，培育出符合人们需要的新品种。对发酵工业来讲，就是利用遗传工程这个手段，来改造原有微生物在生产上的某些缺点（如发酵周期长、不耐高温、转化率低等）来改革工艺，提高劳动生产率，降低生产成本，为实现四个现代化服务。

微生物遗传现象的秘密，就是每种微生物都有各自的“遗传信息”，并且是代代相传，各不相涉，这种“遗传信息”就记载在核酸分子上。核酸传递“遗传信息”是用类似电报用的“密码”来表示的。核酸分子由四种不同的核苷酸组成，其中每三个编成一个“密码”，相当于一个字。由各种“密码”组合排列，能代表成千上万个的“遗传信息”。

人们知道在长长的核酸分子上，每个片段所起的作用不同，有的可以合成某种蛋白质或酶（人们提出一个基因一个酶），即结构基因；有的产生起调节作用的蛋白质，称为调节基因；有的仅起控制作用称为控制基因。遗传工程就是要从菌体中把脱氧核糖核酸提出来，然后识别分布在DNA分子上的基因图谱，再用具有专一性的内切酶，把载有某种遗传信息的片段裁剪下来，在体外用连接酶把它缝合到起载体作用的质粒上，借转化作用，引入

到接受菌体中去，使接受菌表现出新的遗传性状。有了这种手段，就可开辟一个全新领域，不仅可以定向改变遗传特性，而且可以跨越种属界限，人为地创造自然界还不存在的具有优良性能的新菌种。这是当代微生物学的一个重大研究的新课题。

此外，根据生产发展的需要，研究代粮、节粮问题也是工业微生物学家需要解决的任务。例如研究石油发酵、制造气体蛋白、发酵厂三废的综合利用等；抗癌、抗病毒、抗皮下深部真菌等抗菌素的研究；用半合成半发酵法生产新的生化药品和化工产品；在生物固氮、细菌冶金、环境保护等领域中还尚有许多微生物学问题需要继续研究解决。

三、微生物的特点

当前工农业生产上广泛使用微生物的原因，是因为微生物具有种类多、繁殖快、分布广、容易培养、代谢能力强、能很方便地被用来解决物质循环、工农业生产及医学中许多疑难问题。

1. 种类多

根据统计，目前已发现的微生物有十万种以上，而且不同种类的微生物具有不同的代谢方式，能分解各式各样的有机物质。因此，在自然界中虽然存在着千万种分解程度难易不同的物质，但亿万年来地面上并没有堆积起任何一种物质，这就是因为不同种类的微生物能分解不同的物质所致。当前国内外都喜欢利用微生物来防治公害，就是利用微生物各尽所能，各取所需，协同作用于三废中许多毒性强烈，结构复杂的物质。另一方面，不同的微生物能积累的代谢产物也不同，所以发酵工业上常利用各种微生物来生产各种发酵产品，如酒类、酒精、丙酮丁醇、抗菌素、酶制剂、有机酸、氨基酸、核酸、维生素、菌体蛋白、医药产品和化工产品等。

2. 繁殖快

在适宜条件下，大肠杆菌能在 20~30 分钟繁殖一代，24 小

时可繁殖 72 代,菌体数目可达 47×10^{22} 个,如果把这些细胞排列起来可将整个地球表面盖满。但是随着菌体数目的增加,营养物质迅速消耗,代谢产物逐渐积累, pH 值、温度、溶氧浓度均随之而改变,因此适宜环境是很难持久的,所以微生物的繁殖速度,永远达不到上述水平。但是比高等动植物的生长速度还是快千万倍。例如培养酵母生产蛋白质,每 8 小时就可收获一次,若种大豆生产蛋白,最短也要 100 天。又如用乳酸菌生产乳酸,每个细胞产生的乳酸为其体重的 10^3 至 10^4 倍。可见利用微生物生产发酵产品,其生产速度虽然赶不上化学合成,但比利用高等动植物要快得多,而且有许多生理活性物质,如蛋白质(酶)、绝大部分的抗菌素等用化学合成尚不能生产。

3. 分布广

在自然界中,上至天空下至深海,到处都有微生物存在。特别是土壤是各种微生物的大本营。据估计,一亩肥沃的土壤,在 150 厘米深的表土内就含有 300 公斤以上的真菌和裂殖菌。任意取一把土或一粒土,就是一个微生物世界,其中含有不同种类和不同数量的微生物。因此,我们可以就地取材,分离到所需要的菌种。当然在采土样时也要考虑微生物的生态特征,如分离酒类发酵的酵母,一般都从水果表皮或果园土壤中分离;分离石油发酵菌类,也容易从油田附近的土壤中获得。微生物除分布在空气、土壤、水中外,在谷粒、果蔬的表面和动物的内脏里都有微生物存在。

4. 容易培养

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。因此利用微生物发酵生产食品、医药、化工原料都比化学合成法具有许多优点:(1)不需要高温高压设备。有些发酵产品如酒、酱油、醋、乳酸在较简单的设备里就可以进行生产。(2)利用的原料比较粗放,不但生产白酒、酒精和柠檬酸等可以利用廉价的山芋干为原料,就是许多精细的

抗菌素也是利用豆饼粉和玉米粉为原料生产的。(3)不用特殊催化剂，一般产品是无毒性的。例如用微生物发酵方法，从醋酸可的松生产醋酸强的松，只用葡萄糖、玉米浆作原料，产品无毒性；用化学合成法生产，原料中有二氧化硒，有毒性。

5. 代谢能力强

由于微生物的个体很小，具有极大的表面积和容积的比值。因此，它们能够在有机体与外界环境之间迅速交换营养物质与废物。从单位重量来看，微生物代谢强度比高等动物的代谢强度大几千倍至几万倍。例如酒精酵母，一公斤菌体一天内可发酵几千公斤糖，生成酒精。从发酵工业的角度来看，代谢能力强、在短时间内能把大量基质转化为有用产品，这是极其有利的。从污水处理和制造堆肥的角度来看，能在短时间内把有害物质化为无害，把不能利用的物质分解为植物能吸收的肥料，这些都是极其有利的。只有霉腐微生物在代谢强度大了以后，破坏的物质就愈多。

6. 容易变异

由于大多数微生物是单细胞微生物，利用物理的或化学的诱变剂处理以后，容易使它们的遗传性质发生变异，从而可以改变微生物的代谢途径。例如谷氨酸棒杆菌经过变异后，它的高丝氨酸缺陷型就可产生赖氨酸；它的抗乙硫氨酸变异株就可产生蛋氨酸。总之许多氨基酸和核苷酸生产菌都是利用它们容易变异的特点，经过诱变处理，挑取营养缺陷型，调节代谢机制，解除反馈作用，就可生产氨基酸。又如许多抗菌素生产菌株，都是经过诱变处理提高产量的。例如青霉素生产菌，开始时每毫升发酵液只有几十个单位的青霉素，现经菌种诱变处理已提高到几万单位，其它抗菌素也是如此。又如柠檬酸发酵，最初在发酵液中必须添加黄血盐除掉铁离子，或添加甲醇作抑制剂才能大量积累柠檬酸，后经诱变处理，改变了菌种对铁的敏感性，直接利用废糖蜜就可进行发酵。我国利用甘薯干粉直接发酵生产柠檬酸的菌种，也是经过诱变处理的。总之，由于微生物具有容易变异的特性，

对提高菌种的生产能力是非常有利的。

四、微生物在自然界物质循环中的作用

微生物对自然界物质循环起着巨大的作用。例如绿色植物进行光合作用时所需的 CO_2 ，有 90% 是由细菌或真菌所提供的，如果土壤中没有微生物，则有机物质不能迅速分解，无机物质不能转化，绿色植物就得不到丰富的养料，农业收成就成问题，供给人类消耗的粮食就不能满足。更有甚者，在自然界中如果没有微生物活动，则遗留在地面上的动植物尸体不能迅速分解，整个地面被动植物尸体堆满，连人类的立足之地都没有。有人说没有微生物就没有世界，此言并非过分夸大。不仅碳素循环要靠微生物，就是氮素循环，也是微生物起着主导作用。例如地面每年固定的氮素约 1 亿吨，其中由根瘤菌固定的占 50%，由非共生固氮菌和蓝绿藻等所固定的占 40%，而人工化学合成的仅占 10%。其它如磷、硫、钾等元素的转化，也是离不开微生物的。由上所述，可见微生物对世界文明和人类生存所起的重要作用。当然事物总是一分为二的，微生物虽然起着许多有益的作用，但它们的活动多数对人类是有害的。如电讯器材、棉麻织物和粮食的发霉，使工农业生产每年都受到很大损失。许多流行病的传染更夺去了亿万人的生命。

第二节 微生物学的发展简史

一、我国古代劳动人民对微生物的利用和控制

远在四千多年以前，我国劳动人民就会利用微生物酿酒。古书曾记载：“仪狄作酒，禹饮而甘之。”又曰：“杜康造酒。”《商书》中也记载：“若作酒醴，尔维曲蘖；若作禾羹，尔维盐煤。”“曲”是用谷物培养霉菌等微生物制成；“蘖”是发芽的谷物，如作啤酒的麦芽；“煤”也是含有乳酸菌之类的菜卤。虽然当时做酒的人，

还不知道酒是糖经过酵母发酵而成，也不知道微生物的存在，但却利用微生物的作用制成酒、酱、醋、饴等发酵食品。到了公元五世纪，后魏贾思勰著的《齐民要术》中更详细地记载了制曲和酿酒的技术，此外在公元前五百多年间的《左传》，还记载着用麦曲治疗河鱼腹疾的事（即利用酵母菌治腹泻病）。在《齐民要术》中也记载：种豆科植物可使土壤肥沃，即利用根瘤菌积累氮肥。虽然当时还不知道根瘤菌和固氮作用。

关于微生物是许多疾病的病源，我国人民也知之甚早。远在公元前六世纪，我国名医扁鹊就主张防重于治，是世界上发展较早的医学思想。公元前五五六年已知驱逐狂犬，为预防传染病的有效方法。公元二世纪张仲景氏认为“伤寒病流行与环境季节有关，并提出禁食病死的兽肉和不清洁的食物。”名医华佗除首创麻醉技术和剖腹外科手术外，还主张割去腐肉以防传染。公元四世纪中葛洪著的《肘后方》一书中，除详细记载天花病状外，并注意到天花流行的方式。种牛痘防治天花的方法，在宋真宗时代已广泛应用，后来传到亚洲其它国家，一七一七年间经土耳其传到英国，继而传到欧洲和美洲各国。这不仅反映我国人民与天花疾病作斗争的成果，还在理论上与方法上均大大启示后人种痘的方法，而成为一切免疫方法的起源。

二、微生物的发现和微生物学的发展简史

人类对于微生物的利用，虽然起源甚早，但人类发现微生物的存在却在显微镜的发明之后。直到十六世纪荷兰人列文虎克才首先看到微生物。

1. 微生物学的启蒙时代——形态学期

十六世纪，列文虎克首次制成了放大200~300倍的显微镜。他利用自制的显微镜观察了不同的物质，包括雨水、污水、血液、体液、辣椒水、腐败物质、有机物质浸出液、酒、醋、黄油、牙垢等物质，并在其中看到各种微小生物，称为“微动物”。

列文虎克把他在显微镜下所观察到的“微动物”描绘成图。根据他所绘的图，可以断定他确实看到了原生动物、球菌、杆菌及螺旋菌等。并于一七一四年至一八九五年出版了《安东·列文虎克所发现的自然界的秘密》一书，为微生物的存在提供了有力的证据，他除了发现微生物外，还看到游动精子和红血球。磨制透镜的技术，当时除列文虎克外，还都不高，所以直到列文虎克发现“微动物”一百年以后，自然科学家才开始采用各型显微镜来观察列文虎克所发现的各种“微动物”。在这一时期，他们都集中精力寻找各种微生物，并进行微生物的鉴定工作。至于微生物活动引起的发酵作用和微生物能诱发疾病，是当时所不能理解的。在这段时间里，荷兰动物学家模勒对微生物进行了观察，并作了分类。他描述了许多类型的微生物，并将细菌和原生动物区分为不同的分类地位。艾伦伯格(Ehrenberg)给微生物作了详细的分类，并将细菌与许多微生物分开。此后许多学者继续记载了很多其它微生物，但是奠定微生物学基础的，还是在列文虎克以后大约二百年的巴斯德和柯赫等人。

2. 微生物学的奠基时代——生理学期

微生物学的建立和发展是十九世纪五十年代开始的。当时伟大的微生物学家巴斯德经过长期对微生物的研究，不仅在理论方面作出了贡献，而且在实用方面也造福于人类。巴斯德的工作，对微生物的研究奠定了理论基础，还为微生物的研究提供了实验方法。他对微生物学的贡献，正如基米里亚捷夫在纪念“路易·巴斯德”一文中所写的，“伟大的科学家，我们现在来追悼他，他的一生给人类生活带来了史无前列的影响……他的工作在人类最早的三门应用科学中都起了变革。”现将巴斯德在工、农、医三门应用科学中所作的贡献简述如下：

(1) 在工业方面 巴斯德解决了当时法国由于酒的变质给酿造业带来的重大损失问题。为了解决这一问题，他进行了一系列试验，结果证明：在含糖溶液中所发生的酒精发酵是由酵母菌引

起的，酒的变质(变苦、变酸、变粘)是杂菌污染的结果。同时把含杂菌的酒溶液经适当加温处理(60°C)，可杀死其中不耐热的微生物。这样的加温灭菌法，后来称为巴斯德灭菌法。直到现在这种灭菌法还广泛应用于酿造酒、醋、酱油、牛奶、果汁等食品的灭菌。除酒精发酵外，巴斯德还研究了牛奶变酸(乳酸发酵)，醋的制造(醋酸发酵)，丁酸发酵等。他认为不同的发酵是由不同的微生物引起的，没有微生物的存在，发酵是不能进行的。巴斯德的研究，无疑地把研究微生物形态的中心，转移到研究微生物生理的途径，从而奠定了微生物学的生理学基础。

(2) 在农业方面 巴斯德除解决了蚕的微粒病，挽救了法国当时养蚕业外，他的理论在俄国学者施列辛格、维诺格拉得斯基的著作中得到了发展。当然土壤微生物学的发展应归功于维诺格拉得斯基对硝化作用的研究，并揭示微生物中的新的营养类型——自养微生物。

(3) 在医学方面 巴斯德研究了几种对人和牲畜危害很大的疾病，如鸡霍乱、牛和羊的炭疽病、人的狂犬病。并发现引起这些病害的病原体。有一次他用室温下培养多天的鸡霍乱病原体，接种到健康的鸡体中，结果和一般的接种情况不同，被接种老病原体的鸡并没有生病。从此他认识到在培养较长的时间中，毒力较强的病原体其致病能力能丧失。用这种无毒的病原体接种，能引起寄主的免疫性。牛和羊的炭疽病也是当时流行的严重病害，他试用培养较长的老病原体像处理鸡霍乱一样做预防接种，结果没有成功。他后来发现在 $42\sim 43^{\circ}\text{C}$ 高温培养的炭疽病病原体丧失致病能力。他用这种丧失致病能力的病原体接种 25 头羊，另取 25 头羊不做预防接种，隔几星期后，同时用毒力强的病原体接种两组羊，结果预防接种的羊全部活着，而未经预防接种的羊全部死亡。他肯定了预防种痘法能防止炭疽病的作用，并加以推广，使一度是牛羊毁灭性的炭疽病几乎全部绝迹。当时危害人类生命很大的一种病是从狂犬传染的恐水病，又称狂犬病，巴斯德

知道这是一种传染性疾病，但是无法分得这个病原体（现在知道是一种病毒），他后来经过多次试验，终于发现了“固定毒疫苗”，利用这种疫苗治愈了被狂犬咬伤的病人，挽救了无数人的生命，并创造了免疫学原理和预防接种的方法。

继巴斯德之后，柯赫对病原的研究作出了卓越的贡献，其重大成果之一是发明分离和纯化细菌的方法，包括划线法和平面培养法。巴斯德虽然认识了病原体，但对病原菌的单细胞分离尚未进行，这使他对病原菌的形态和生理生化特征的研究都受限制。柯赫把细菌分离纯化后，就可进一步弄清疾病和病原菌之间的关系。第二是他开创了病害的病原菌学说。巴斯德虽然成功地防止了炭疽病，但具体证实炭疽病的病原为炭疽菌，和搞清这个细菌的生活史，以及其形态，生态和其它特征的工作，是由柯赫完成的。

3. 微生物学发展的新阶段——分子生物学阶段

自二十世纪以来，由于生物化学和化学分析技术等学科的发展，促进了微生物学从细胞水平、亚细胞水平进入分子水平。尤其是七十年代遗传工程学的发展，这将为人类控制自然，改造自然，创造新物种，提高工农业生产水平，打下了理论基础。

在维诺格拉得斯基、贝格林克等人发现硝化细菌的硝化作用，和固氮细菌的固氮作用后，微生物学和生物化学之间的联系愈来愈密切，这是科学发展的客观规律。从彪赫发现酒化酶，哈登一杨发现有有机辅酶及磷酸酯化酶后，又在微生物的代谢中发现脱氢的生物氧化作用，活化氧分子的生物氧化作用，电子传递的生物氧化作用，细胞色素体系在传递电子方面的作用，ATP在能量转移、辅酶A在酰基转移等方面的作用，这对研究微生物的代谢控制起了重要的推动作用。同样由于微生物培养基组成，培养条件，细胞结构与功能，以及微生物营养缺陷型的研究，也为生物化学研究代谢途径、代谢控制提供了物质基础。特别是艾威(Avery 1944)确定脱氧核糖核酸(DNA)是生物的遗传物质后，对分子生物学、