

127746

中央人民政府高等教育部推薦

高等學校教材試用本

微生物學實驗

М. В. Фёдоров 著

張天伏 呂文清 等譯
張祖慶 徐承鍾

26•2

中華書局出版

465.59
11263

127746

~~21468~~

416
11126.2

中央人民政府高等教育部推薦

466

5/5526.2

高等學校教材試用本



微生物學實驗

M. B. 斐多羅夫著

張天伏 呂文清 等譯
張祖慶 徐承鍾

中華書局出版

本書係根據蘇聯國營農業出版社 (Государственное
Издательство Сельскохозяйственной Литературы)
出版的斐多羅夫 (М. В. Федоров) 著 “微生物學實驗”
(Руководство к Практическим Занятиям по Ми-
кробиологии) 1951年第二版(增訂版)譯出。原書經蘇聯高
等教育部審定為高等農業學校教學參考書。

* 版權所有 *

一 微生物學實驗 (全一冊)

◎定價人民幣一萬五千元

譯者：張天伏；呂文清
張祖慶；徐承鍾
出版者：中華書局股份有限公司
上海漢口路四七七號
印刷者：中華書局上海印刷廠
上海漢口路四七七號
總經售：中國圖書發行公司
北京絨線胡同六六號

編號：16200 (53, 滬型, 25開, 127頁, 182千字)
1953年9月初版 印數(滬)1—3,000

(上海市書刊出版業營業許可證出零二六號)

第二版序言

本書第一版問世以來已經十二年多了，這些年代是生物科學在理論探討與實際應用方面蓬勃發展的年代。爲我們偉大祖國的社會主義農業的實際需要而服務，並研究重要生物學理論問題的俄國生物科學獲得了尤其卓越的成就。獲得這些成就的先決條件，首先是因爲根據辯證唯物主義的原則，正確地對待了科學上的問題，並且廣泛地採用了最新的研究方法，使我們能够更詳細的研究活細胞原生質的複雜系統，能够全面地觀察細胞生命活動的各種表現。很多最新的研究方法不僅使我們能觀察到有機體生命活動的作用過程，而且能够改變生命活動的方向，使其便於觀察，以及提高有機體生活現象的強度。生物學家利用強有力的外界環境因素之後，目前不僅能够觀察有機體的生命活動，而且還能控制它們。

如果說在編寫第一版時關於電子顯微鏡技術、螢光顯微鏡技術與極光顯微鏡技術等生物學研究方法還是一無所知的話，那麼，現在這些新的研究方法，已經爲每一個設備比較完善的微生物學實驗室所掌握。此外，在實驗室條件下以及直接在土壤中觀察土壤微生物活躍的方法也更加詳細了。總之，在微生物學研究的各方面都有了巨大的進步。

這樣使得『微生物學實驗』一書完全有必要考慮微生物科學在研究方法上的一切最新成就以準備再版。準備再版的工作，在作者面前曾經是一個非常繁重的問題，因爲在這裏必須選擇既能產生完全可靠的結果，又能爲設備比較簡單的微生物學實驗室所採用的各種研究方法。爲了最合理地完成這一工作，作者曾盡了很大的努力，但是這一工作完成的程度如何，還有待採用本書的各高等農業學校教學實驗室與科學研究實驗室的實踐工作證明。這裏所列舉的各種微生物學研究方法，雖然

大部分在作者所領導的莫斯科季米里亞捷夫農學院微生物學實驗室經過了多年的試驗，但是作者仍然樂意接受對於各種方法以及對於全書結構方面的批評。

斐多羅夫教授

中央人民政府高等教育部推薦

高等學校教材試用本的說明

充分學習蘇聯的先進經驗，根據國家建設需要，設置專業，培養幹部，是全國高等學校院系調整後的一項重大工作。在我國高等學校裏，按照所設置的專業試用蘇聯教材，而不再使用以英美資產階級教育內容為基礎的教材，是進一步改革教學內容和提高教學質量的正確方向。

一九五二年九月二十四日人民日報社論已經指出：“蘇聯各種專業的教學計劃和教材，基本上對我們是適用的。它是真正科學的和密切聯系實際的。至於與中國實際結合的問題，則可在今後教學實踐中逐漸求得解決。”我們現在就是本着這種認識來組織人力，依照需要的緩急，有計劃地大量翻譯蘇聯高等學校的各科教材，並將陸續向全國推薦，作為現階段我國高等學校教材的試用本。

我們希望：使用這一試用本及今後由我們繼續推薦的每一種試用本的教師和同學們，特別是各有關教研組的同志們，在教學過程中，對譯本的內容和譯文廣泛地認真地提出修正意見，作為該書再版時的參考。我們並希望各有關教研組在此基礎上逐步加以改進，使能結合中國實際，最後能編出完全適合我國需要的新教材來。

中央人民政府高等教育部

目 錄

第一章 顯微鏡及其應用技術.....	1
1. 顯微鏡的構造.....	1
2. 顯微鏡的應用技術.....	22
3. 螢光顯微鏡技術.....	26
4. 相極光顯微鏡技術.....	29
5. 電子顯微鏡及其應用技術.....	32
第二章 製片及其染色.....	34
1. 製片.....	34
2. 標本的固定.....	35
3. 標本的染色.....	37
4. 細菌的格蘭氏染色法.....	39
第三章 微生物細胞的研究.....	41
1. 微生物細胞的形狀.....	41
2. 莢膜的染色.....	42
3. 芽胞的染色.....	42
4. 鞭毛的染色.....	44
5. 細菌細胞中發現的核質及核的染色.....	45
6. 酵母菌核器及酵母細胞結構特性的觀察.....	47
7. 細菌細胞原生質中胞含體的染色.....	49
8. 果膠物質、纖維素和木素的觀察.....	50
第四章 培養基及其滅菌.....	51
1. 培養基的製備.....	51
2. 培養基的滅菌.....	58
3. 巴斯德滅菌法及丁道氏滅菌法.....	63

第五章 把細菌分離成純粹培養的方法以及細菌數目的統計.....65

1. 分離細菌成純粹培養.....65
2. 土壤中細菌數目的統計.....71
3. 細菌生理羣數目的統計.....78
4. 顯微鏡下的細菌直接計算法.....78
5. 土壤中細菌類別的鑑定.....80
6. 水中微生物數目的統計.....81
7. 空氣中細菌數目的計算.....84
8. 各個別營養元素對微生物發育的作用.....86

第六章 微生物所引起的不含氮有機物的轉化.....89

1. 酒精發酵.....89
2. 乳酸發酵.....94
3. 丁酸發酵.....98
4. 果膠物質的發酵.....103
5. 纖維素發酵.....106
6. 好氣性微生物所引起的纖維素氧化作用.....110
7. 酒精氧化為醋酸的作用.....114
8. 黴菌培養的過程中檸檬酸與草酸的生成.....116
9. 微生物所引起的脂肪氧化作用.....118
10. 微生物所引起的碳氫化合物的氧化作用.....119

第七章 微生物所引起的含氮物質的轉化.....122

1. 蛋白質的氨化作用.....122
2. 尿素的氨化作用.....125
3. 硝化作用.....125
4. 反硝化作用.....129
5. 和高等植物共生的微生物所引起的大氣氮素同化作用.....131
6. 土壤中自由生活的細菌所引起的大氣氮素同化作用.....134

第八章 微生物引起的硫磷與鐵的轉化	137
1. 硫的轉化	137
2. 微生物引起的鐵的轉化	142
3. 有機態的有效化	144
4. 磷酸鹽的溶解	144
第九章 測定土壤內有效營養物質貯藏量的微生物學方法	146
1. 測定土壤內磷酸與鉀的有效貯藏量的微生物學方法	146
2. 利用好氣性非共生固氮細菌測定土壤對於石灰與磷肥的需用量	150
3. 利用 <i>Cunninghamella</i> 測定土壤中有效氮的貯藏量	152
第十章 在選擇培養的條件下土壤微生物類別的測定	153
1. 維諾格拉斯基的研究微生物類別的方法	153
第十一章 土壤微生物作用強度的測定	157
1. 根據二氧化碳的產量以測定土壤內微生物作用的活躍性	157
2. 土壤內纖維素分解活躍性的測定	158
3. 土壤中氨化作用活躍性的測定	162
4. 土壤浸出液中氨的測定	163
5. 土壤中硝化作用活躍性的測定	164
6. 土壤中固氮作用活躍性的測定	167
第十二章 農作物根際微生物的研究	171
1. 土壤中在植物根系附近發育的微生物的計算法	171
2. 根部微生物研究的方法	171
3. 將根上微生物徹底洗下的方法	172
4. 用摩擦根的方法以計算根際的細菌	173
5. 獲得不受損害的植物根系的方法	174
6. 培養根際細菌的培養基	174
第十三章 土壤微生物間的相互關係	179

第十四章 用以鑑別菌種的細菌特徵·····	183
1. 形態學上的特徵·····	183
2. 培養的特徵·····	184
3. 生理特徵·····	185
第十五章 培養微生物的特殊方法·····	191
1. 嫌氣性微生物的培養方法·····	191
2. Bact coli (大腸桿菌)計算法·····	194
3. 增加正鹽類、酸類及其他物質的微生物培養·····	197
4. 土壤微粒的微生物相對數量的測定·····	197
5. 粘液菌的培養方法·····	198
6. 細菌肥料中有生活力的細菌數目的測定·····	199
7. 高等植物的一種細菌培養(斐多羅夫)·····	199
第十六章 某些食品的微生物檢驗法·····	204
1. 牛乳的微生物檢驗·····	204
2. 酸菜與青貯飼料的微生物檢驗·····	206
3. 魚與肉的微生物檢驗·····	206
4. 罐頭的微在物檢驗·····	209
第十七章 普通研究的方法·····	213
1. 供細菌學研究的土壤中間樣本·····	213
2. 土壤含水量的測定·····	213
3. 培養基與土壤浸液真正酸度的測定·····	214
4. 生物學液體中氧化還原勢能的測定·····	218
5. 蛋白質及其水解產物的定性試驗·····	221
附錄·····	228

第一章 顯微鏡及其應用技術

顯微鏡的構造

在各種微生物學的研究中，必須對所研究的微生物的形態特徵具有明確的概念。但是除了用顯微鏡來研究這種微生物之外，我們不可能用其他的方法獲得微生物形態特徵的概念；因此，顯微鏡是實際研究微生物的重要工具；所以熟悉顯微鏡是關係微生物學研究成敗的先決條件。尤其是因為細菌學顯微鏡的結構極複雜，而與放大率很小的植物學顯微鏡有很大的區別，所以在研究顯微鏡技術之前，我們首先應該研究顯微鏡的構造。

自然，現代顯微鏡的複雜結構不是在短時間內創造成功的，而是經過很長的時期逐漸改進，最後才創造成今天這樣極複雜的顯微鏡。顯微鏡構造的發展史是值得注意的。雖然在古時已有人知道透鏡的琢磨技術（據普林尼[Caius Plinius]記載稱：羅馬的尼龍皇帝[Нерон]即曾用琢磨過的綠柱玉觀看武士在競技場上的格鬥），但是利用放大鏡來觀察微生物，却是十六世紀末葉和十七世紀初葉的事情。

最初許多學者們利用簡單的顯微鏡（放大鏡）進行研究工作都獲得了很大成就，安東·列文虎克便是其中的一個。他利用自己創造的極簡單的顯微鏡（圖1）發現了直到當時人類未曾發現的微生物界，由圖可以看出利用這種『顯微鏡』來研究微生物還是極不方便的；將進行微生物研究的液體吸入玻璃毛細管內後利用放大鏡在光下觀察微生物；這種顯微鏡只有一塊焦距很短的凸透鏡，固着在二片金屬板之間，在金屬板片上有圓的小孔以透入光線，該『顯微鏡』的主要特點是當目的物位

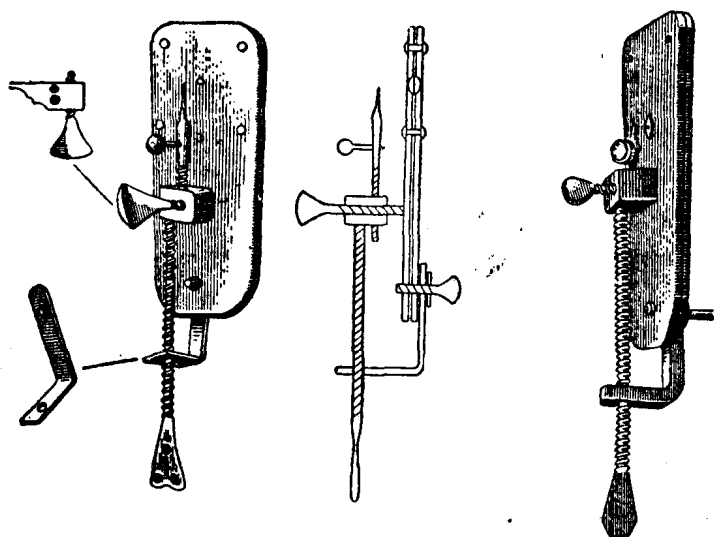


圖1. 列文虎克顯微鏡(原來大小),左——顯微鏡的模式圖,右——顯微鏡的複製圖(索保李)。

於焦點上時即可見到,尋找焦點是靠一個可以迴轉的、固定目的物的針和二根縱橫的螺旋來進行的。垂直的螺旋桿用活動的肘釘固定在金屬板上。頂上即為一個小台;而水平螺旋桿穿過小台直接插入金屬片內,可以調節小台與金屬板之間的距離,使焦點位於目的物上。因此,列文虎克的顯微鏡是最原始的發現。此外,列文虎克所用的透鏡不再是那些放大十倍的透鏡,而至少可以放大 100 倍和 100 倍以上了。這樣就大大地改善了觀察不可見的目的物的情況,並奠定了發現微生物界的基礎。

在當時比較複雜的顯微鏡是利用一束通過玻璃球和放大鏡的光線照射到目的物上(圖 2),反光鏡的發明還在很晚以後。現代顯微鏡是在十九世紀末葉出現的,它的問世是和羅蒙諾索夫(Ломоносов, М. В.)、歐拉(Euler)等的光學研究分不開的。此後,顯微鏡由於發明了照明器(阿培[Abbe]集光器)、特種接物鏡系(減色接物鏡)與其他重要附件

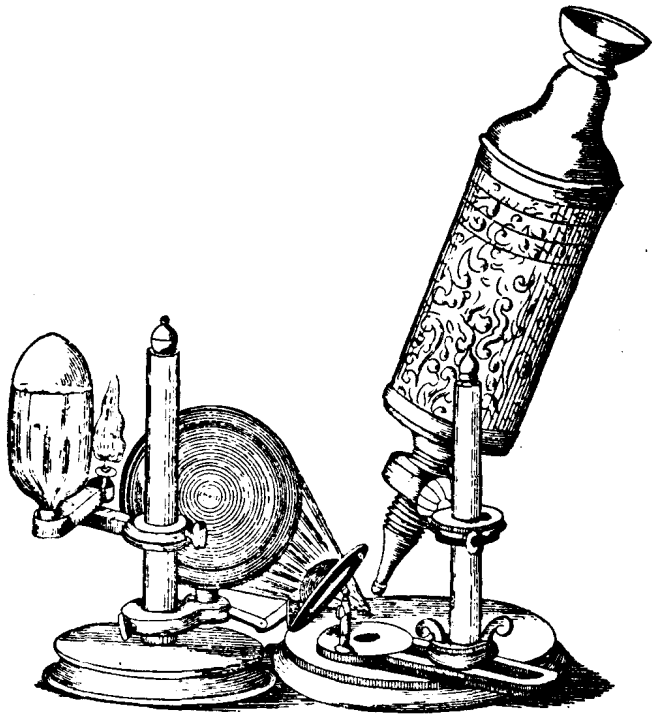


圖 3. 羅培爾德·顯克(Роберт гук)顯微鏡。

也因此繼續發展了。今天顯微鏡已大為改善，不單單具有照明器和細對光螺旋，而且還有十字動台以及很多其他的改進(圖 3)。

現代顯微鏡*的主要部分是鏡架及其光學部分(圖 4)。鏡架又包括兩個部分：(1)鏡臂 與(2)鏡座。鏡臂與鏡座用特殊的螺栓連結，鏡臂呈圓弧形，其中央部分凹入，因而形成便於攜帶與移動的把手。大約在把手下部的頂端，接近鏡臂的地方裝置載物台，載物台上可放鏡檢用的標本。由於連結鏡臂與鏡座的螺栓是一個鉸鏈，所以顯微鏡可以在水平

註* 關於現代顯微鏡的這一部分是根據顯微鏡構造手冊上的資料編寫的。

位置與垂直位置之間適當地傾斜，這樣使得鏡筒與載物台也自動傾斜，以保持標本與鏡軸垂直。顯然在傾斜狀態進行工作時，鉸鏈應緊緊地支住鏡臂，在利用各種顯微鏡附件（雙目鏡、攝影接目鏡等）時，這種穩固性尤其重要，因為顯微鏡附件的重力可能使鏡臂移位而妨礙觀察的進行。

顯微鏡載物台可能完全是用塗有漆的金屬製成的，也可能其中有一部分是用其他金屬製成的（上環）。在載物台上通常有一對彈簧鉗子，其作用在於鏡檢時將標本固定在一定的位置上；將彈簧鉗子自蓋玻片上取下時，標本便可在載物台上自由移動。

好的顯微鏡載物台通常可以旋轉，或在二個相互垂直方向之間移動，在後一種情況下，又稱為十字動台。

十字動台供標本作系統檢驗之用，同時在重複觀察時可以很快地找到原來的檢查部位，該載物台的活動部分可以用二個螺旋使其移動，通常螺旋裝在右面。

十字動台上裝有游標尺（圖 5），可以前後移動 50 毫米，左右移動 30 毫米。爲了將十字動台固定在顯微鏡上，在載物台上有三個孔，中間一個孔有螺旋紋，十字動台可用螺絲釘（圖 6）固定起來，其他二個孔則無螺旋紋，十字動台的二根樞軸即插入此二孔中以免其轉動。由於十字

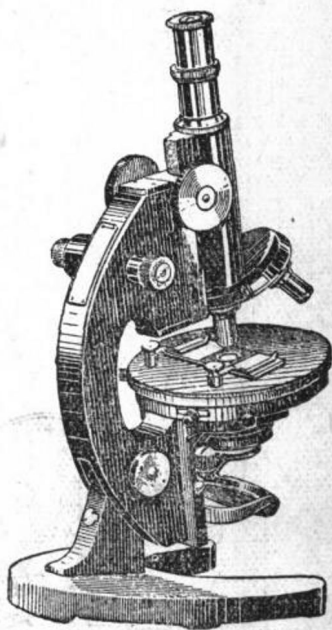


圖 3. 現代生物學顯微鏡(M9)。

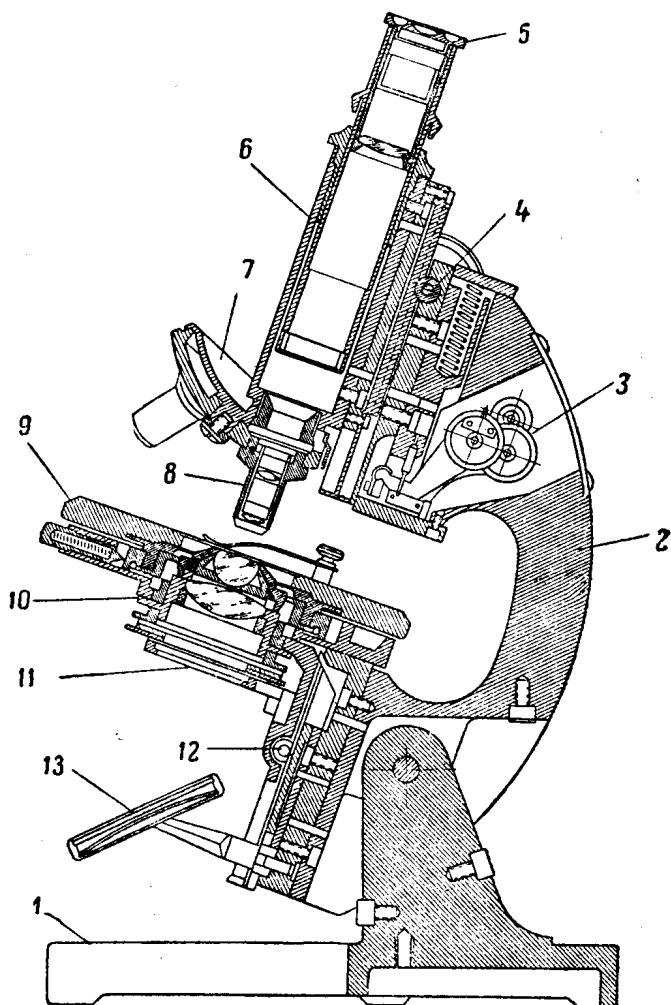


圖 4. 現代顯微鏡的剖面圖。

- 1.—鏡座。 2.—鏡臂。 3.—細對光螺旋機構。 4.—粗對光螺旋。 5.—接目鏡。
6.—鏡筒。 7.—轉換器。 8.—接物鏡。 9.—載物台。 10.—集光器。 11.—濾
光器。 12.集光器齒桿。 13.—反光鏡。

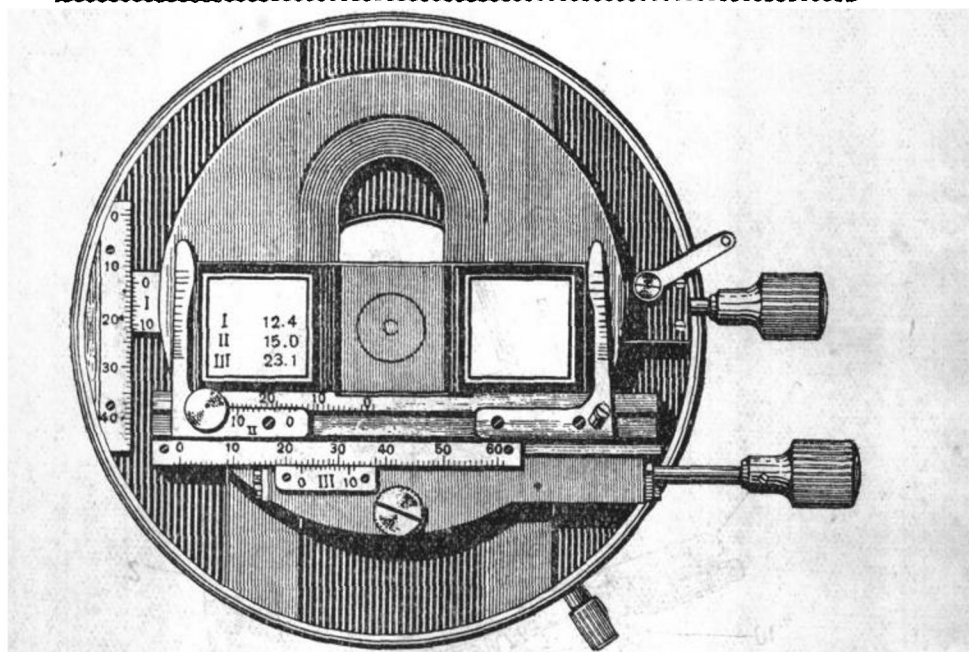


圖 5. 大型十字動台。

動台可向各方面自由移動，所以在系統觀察鏡片時，可先從上部或下部開始觀察。假如我們在十字動台的活動範圍內觀察了鏡片，那麼可以重新移動鏡片，并繼續向各方面移動。假如鏡片的某一部位須要重複觀察，那麼可以記下它在十字動台上的標尺數字，并在玻片末端做一個『右』和『左』的記號，在

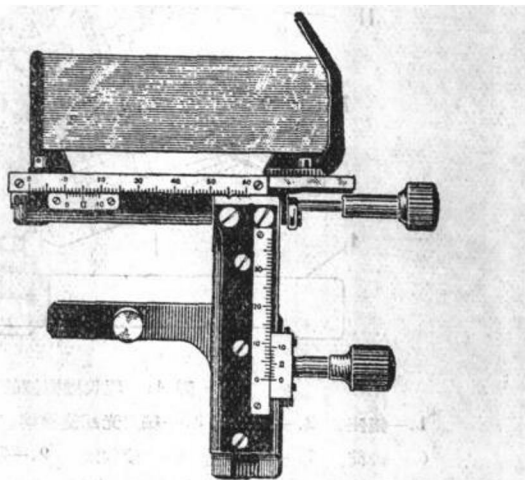


圖 6. 附加的十字推進器。

重複觀察時，可以依照記下的標尺數字而重新把鏡片轉移到原來的部位，這樣，在顯微鏡的視野內，又可看到我們所需要重新檢查的部分。

鏡筒的上下移動是利用兩種螺旋控制的，齒輪或兩側的粗對光螺旋可作粗轉移之用（圖 7）。粗對光螺旋反時針方向轉動時，鏡筒即上升，當鏡筒上升到齒條末端時，那末只須要輕輕一拉鏡筒，就可以由齒槽中取出，但是由於在處理不小心時，很容易損壞某些零件，所以要避免這種做法。在鏡筒重新插入齒槽時，要使齒條小心地向下滑動，直到它達到粗對光螺旋的齒輪時為止。轉動粗對光螺旋應該十分方便，否則，長時間的工作就會使手感到疲乏。

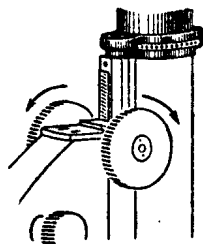


圖 7. 粗對光螺旋。

在應用顯微鏡附件（雙目鏡或攝影接目鏡）時，由於附件的重力可能使鏡筒逐漸下降，這種情況由鏡片中很容易看出。假如不移動鏡筒的位置，鏡片便模糊不清。這種情況在顯微鏡使用時間較長時也會發生。爲了恢復必要的穩固性，可以將螺絲釘 1、2（圖 8）順着時針方向旋緊，但其角度應相同（老式顯微鏡之構造），這時鏡筒就比較緊了。假如將螺絲釘反時針方向旋轉，那麼鏡筒就變鬆了。轉動這二個螺絲就可以調節鏡筒的鬆緊度。在沒有轉動螺絲的顯微鏡（新式的構造）上，鬆緊度更容易調節。假如用左手緊握左面的粗對光螺旋，而用右手順着時針方向轉動右面的粗對光螺旋（圖 7），那麼鏡筒就比較穩固；假如反時針方向轉動，那麼鏡筒就比較鬆。這種手續多次重複後，就必須將粗對光螺旋中央的小螺絲扭緊。

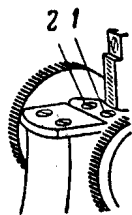


圖 8. 粗對光螺旋與其轉動螺絲。

雖然用粗對光螺旋調節鏡筒位置已經可以收到良好效果，但是很少能够把高倍接物鏡的焦點精確