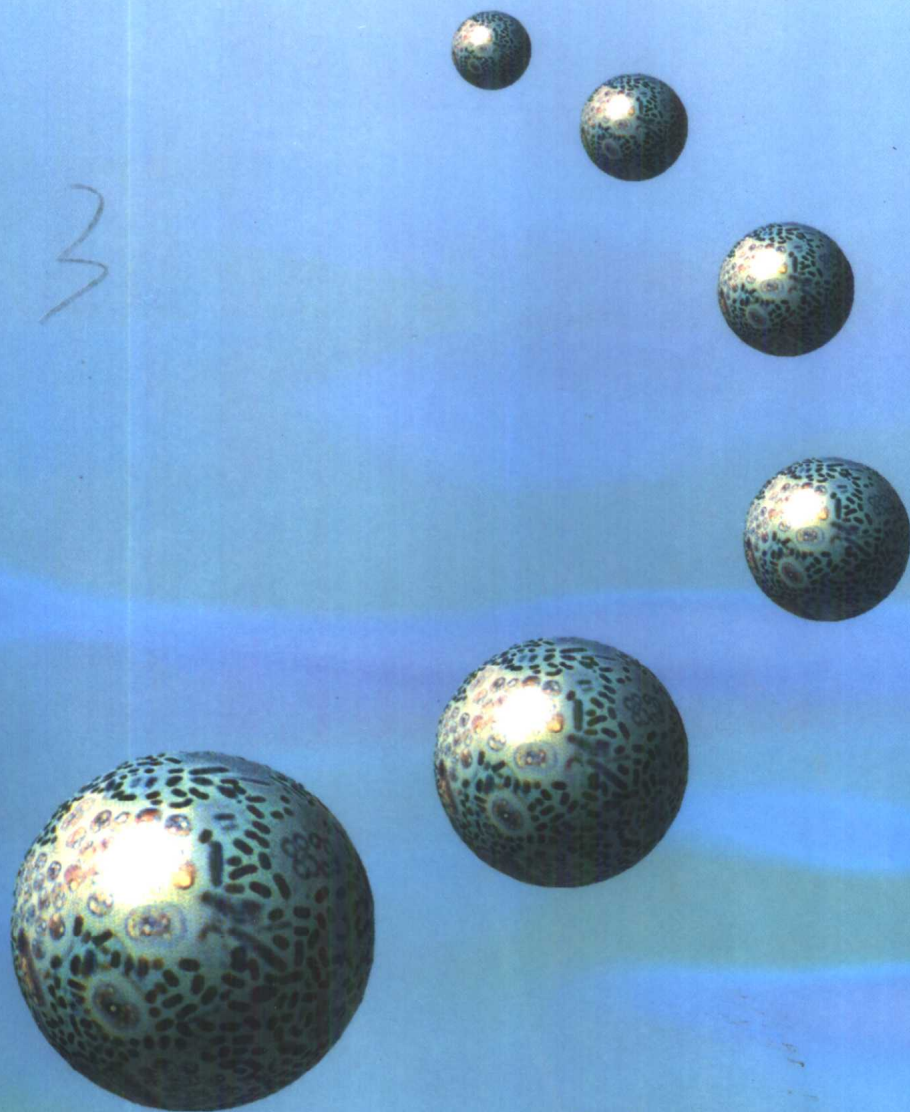


生物科学与工程系列教材



现代工业微生物学

杨汝德 主编



华南理工大学出版社

现代工业微生物学

0939.97

生物科学与工程系列教材

现代工业微生物学

主 编 杨汝德

编 者 许喜林 罗立新 吴 晖

华南理工大学出版社

·广州·

图书在版编目(CIP)数据

现代工业微生物学/杨汝德主编. —广州:华南理工大学出版社, 2001. 2

生物科学与工程系列教材

ISBN 7-5623-1641-4

- I. 现…
- II. 杨…
- III. 工业-微生物学-高等学校-教材
- IV. Q939.97

华南理工大学出版社出版发行

(广州五山 邮编 510640)

责任编辑 胡元

各地新华书店经销

江门日报印刷厂印装

*

2001年2月第1版 2001年2月第1次印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 29 字数: 743千

印数: 1—3000册

定价: 38.50元

前 言

现代工业微生物学是从 20 世纪 40 年代发展起来的新兴学科。自从青霉素正式投入工业规模的发酵生产以来,该学科有了很大的发展,并且与组成现代生物技术的四大技术体系——发酵工程、细胞工程、酶工程和基因工程的发展密切相关,新菌种、新技术、新工艺和新产品层出不穷,不断以崭新的面貌呈现在世人面前,成为现代生物技术的一个缩影。

编写本书之目的,一方面要使学生能从中获得工业微生物学的完整的基本知识,包括微生物的形态构造、生理代谢、遗传变异、生态分布等;另一方面又要向学生和读者展示现代工业微生物在食品工业、发酵工业、制药工业 and 环境保护等方面的应用现状和研究进展,使所学理论更好结合生产实际,也使读者更感学有所用,并有助于扩大知识面。

现代工业微生物学是一门实践性很强的应用生物科学。掌握微生物实验技术对于每一位学生来说,其重要性决不亚于理论课程。因此,在学习理论课的同时,务必注重微生物学实验操作技能的训练。本书因篇幅所限,未将实验内容编入,可与我们原已编写的《微生物学实验》协同使用。本书的内容较多,超出 50 多学时的规定教学时数要求,各有关专业在使用时,可根据实际情况加以取舍,有些内容可放手让学生自学。

本书适用于理工科院校的生物工程专业、食品工程专业、制药工程专业和环境工程专业的本科生和大专生作为微生物学的教科书,也可供从事工业微生物发酵生产和研究工作的人员作为参考书使用。

《现代工业微生物学》由杨汝德主编。全书共分十章,其中第一章、第二章和第八章由杨汝德编写,第三章、第六章和第十章由许喜林编写,第四章和第七章由罗立新编写,第五章和第九章由吴晖编写。限于编者的学识和水平,书中不当之处,殷切希望广大学生、读者和同行给予批评指正。

本书在编写过程中,得到了陶顺、杨穗红、张丽君和吴彩云等在插图制作和文字打印等方面的帮助,在此一并致谢。

编 者
2000.9

目 录

第一章 微生物与现代工业微生物学	(1)
第一节 微生物概论	(1)
一、微生物的发现及其定义.....	(1)
二、微生物的特性.....	(2)
三、微生物的分类和命名.....	(4)
第二节 工业微生物学发展简史	(6)
一、利用微生物的自然发酵酿造传统食品.....	(6)
二、微生物形态与发酵生理学的开创性研究.....	(6)
三、现代微生物发酵工业的兴起.....	(7)
四、现代工业微生物学的新发展.....	(7)
第二章 重要的工业微生物	(9)
第一节 原核微生物	(9)
一、细菌(bacteria).....	(9)
二、放线菌(actinomycetes).....	(28)
三、蓝细菌(cyanobacteria).....	(34)
第二节 真核微生物	(36)
一、酵母菌(yeast).....	(36)
二、霉菌(mold).....	(43)
三、担子菌(basidimycetes).....	(56)
第三节 非细胞型微生物	(58)
一、病毒的主要特性.....	(58)
二、噬菌体的形态结构.....	(58)
三、噬菌体的生长繁殖方式.....	(59)
四、噬菌体与工业微生物发酵生产.....	(66)
五、噬菌体在基因工程中的应用.....	(67)
第三章 微生物的生长繁殖及其控制	(72)
第一节 微生物的生长繁殖	(72)
一、微生物生长繁殖的测定方法.....	(72)
二、微生物的生长规律.....	(74)
第二节 微生物生长繁殖的必需物质	(79)
一、微生物的营养类型.....	(79)
二、微生物的营养元素.....	(81)
三、微生物吸收营养物质的方式.....	(85)
四、培养基和工业微生物培养基质.....	(88)

第三节	环境条件对微生物生长繁殖的影响	(93)
一、	物理条件对微生物生长繁殖的影响	(93)
二、	化学因子对微生物生长的影响	(102)
三、	常用杀灭微生物的理化方法	(105)
第四节	微生物的培养法	(114)
一、	实验室培养法	(114)
二、	工业上常用的微生物培养装置	(116)
第五节	食品生产中微生物的污染与控制	(119)
一、	食品中的微生物污染	(119)
二、	食品生产中微生物污染的控制	(120)
第四章	微生物的代谢调控	(122)
第一节	微生物初级代谢产物的代谢调节	(123)
一、	诱导酶的产生与反馈阻遏	(124)
二、	分解代谢产物阻遏	(127)
三、	酶活性的反馈抑制	(128)
四、	微生物代谢调节的特性	(130)
五、	代谢调节的人工控制	(131)
第二节	微生物次级代谢产物的代谢调节	(135)
一、	次级代谢产物的特征	(136)
二、	次级代谢的主要调节机制	(137)
第三节	微生物产物发酵的代谢调控	(145)
一、	氨基酸类物质发酵的代谢调控	(145)
二、	核苷酸类物质发酵的代谢调控	(148)
三、	β -内酰胺类抗生素发酵的代谢调控	(153)
第五章	微生物的遗传变异与菌种选育	(157)
第一节	微生物的分离和筛选	(157)
一、	微生物的自然分布	(157)
二、	产生抗生素菌株的来源	(158)
三、	工业微生物的常规分离	(161)
四、	工业微生物的筛选分离	(166)
五、	富集培养分离法	(168)
六、	有用微生物的筛选	(172)
七、	抗生素的初筛模型与试验菌	(175)
八、	复筛	(178)
九、	发酵代谢产物的检测和鉴别	(181)
十、	筛选其他生理活性物质的方法和途径	(186)
十一、	氨基酸生产菌株的分离筛选	(190)
十二、	抗癌药物的筛选(体外筛选系统)	(193)
十三、	以诱发霉菌形态异常为指标筛选抗霉菌剂	(195)
第二节	微生物的遗传和变异	(198)

一、微生物的遗传本质	(198)
二、遗传的物质基础	(200)
三、基因突变和诱发突变	(206)
第三节 工业微生物的育种方法	(207)
一、微生物诱变育种的原理与方法	(207)
二、基因重组和杂交育种	(212)
第四节 微生物的保藏	(217)
一、传代培养保藏法	(217)
二、石蜡油封保藏法	(219)
三、载体保藏法	(220)
四、悬浮液保藏法	(223)
五、冷冻冻结保藏法	(223)
六、冷冻干燥保藏法的应用范围	(226)
七、其他干燥保藏方法	(226)
八、放线菌保藏方法	(229)
九、霉菌保藏法	(231)
十、细菌保藏法	(232)
十一、菌株的分让与微生物保藏生物保藏机构	(233)
第六章 微生物在现代食品工业中的应用	(236)
第一节 食品中微生物的来源	(236)
一、来自土壤的微生物	(236)
二、来自水中的微生物	(237)
三、来自空气中的微生物	(239)
四、来自生物中的微生物	(240)
五、其他来源的微生物	(244)
第二节 食品变质与微生物	(248)
一、食品的特性	(248)
二、微生物	(249)
三、环境因素	(250)
第三节 微生物与动物性食品腐败变质	(253)
一、肉类	(253)
二、鱼类	(256)
三、乳与乳制品	(259)
四、禽蛋	(265)
第四节 微生物与植物性食品变质	(266)
一、粮食及其制品	(266)
二、糖果	(267)
三、水果与水果产品	(267)
四、蔬菜及其产品	(269)
五、豆类、坚果和油料种子	(271)

第五节 罐藏食品的腐败变质·····	(271)
一、罐藏食品按照酸碱度的分类·····	(272)
二、罐藏食品常见的腐败变质现象及其原因·····	(272)
三、罐藏食品的生物腐败类型·····	(273)
四、腐败变质罐藏食品的微生物学分析·····	(276)
第六节 微生物与食品卫生·····	(278)
一、微生物与公众健康·····	(278)
二、食品卫生·····	(280)
三、食品中微生物的检验·····	(282)
第七节 微生物与食品加工·····	(285)
一、传统发酵食品·····	(285)
二、现代发酵食品·····	(288)
第七章 微生物在现代发酵工业中的应用·····	(292)
第一节 概述·····	(292)
一、工业微生物及育种方法·····	(292)
二、发酵工业的产品类型·····	(294)
三、发酵工业的应用范围·····	(294)
第二节 微生物发酵生产酒精和酒类·····	(295)
一、发酵法酒精生产的传统技术·····	(295)
二、发酵法酒精生产的新技术·····	(296)
第三节 微生物发酵生产有机溶剂·····	(301)
一、甘油的发酵生产·····	(301)
二、丙酮丁醇的发酵生产·····	(303)
三、2,3-丁二醇的发酵生产·····	(304)
四、1,3-丙二醇的发酵生产·····	(305)
第四节 微生物发酵生产有机酸·····	(305)
一、柠檬酸的发酵生产·····	(305)
二、衣康酸的发酵生产·····	(309)
三、苹果酸的发酵生产·····	(312)
四、乳酸的发酵生产·····	(313)
五、葡萄糖酸的发酵生产·····	(314)
六、己酸的发酵生产·····	(315)
第五节 微生物发酵生产氨基酸·····	(315)
一、谷氨酸的发酵生产·····	(316)
二、赖氨酸的发酵生产·····	(318)
三、苏氨酸的发酵生产·····	(319)
四、芳香族氨基酸的发酵生产·····	(320)
第六节 微生物发酵生产核苷酸·····	(324)
一、肌苷及肌苷酸的发酵生产·····	(325)
二、鸟苷及鸟苷酸的发酵生产·····	(330)

第七节 微生物发酵生产酶制剂	(332)
一、 α -淀粉酶的发酵生产	(332)
二、糖化酶的发酵生产	(333)
三、 β -淀粉酶的发酵生产	(333)
四、蛋白酶的发酵生产	(334)
五、其他酶制剂的发酵生产	(335)
六、酶制剂工业的发展趋势	(335)
第八节 微生物发酵生产单细胞蛋白	(337)
一、概述	(337)
二、生产单细胞蛋白的菌种	(337)
三、单细胞蛋白的发酵基质	(337)
四、各种类型单细胞蛋白的生产	(338)
五、单细胞蛋白的开发利用趋势	(338)
第八章 微生物在现代生物制药工业中的应用	(341)
第一节 微生物制药研究进展概述	(341)
第二节 微生物来源抗生素的研究与生产	(342)
一、微生物发酵法生产天然抗生素	(343)
二、半合成抗生素的酶促生产	(354)
第三节 应用微生物生产各类生物药物	(360)
一、微生物生产氨基酸和核酸类药物	(360)
二、微生物生产维生素及辅酶类药物	(366)
三、微生物生产药用酶	(371)
四、微生物转化生产甾体类药物	(375)
五、微生物制备生物制品	(377)
第四节 新微生物药物的研究开发	(380)
一、微生物产生的酶抑制剂	(380)
二、微生物产生的免疫调节剂	(386)
三、微生物产生的受体拮抗剂	(387)
第五节 以微生物为表达系统的基因工程药物	(388)
一、基因工程药物概述	(388)
二、基因工程药物无性繁殖系的组建	(390)
三、基因工程药物的生产	(394)
第九章 微生物生态与环境保护	(397)
第一节 微生物生态系统	(397)
一、生态系统	(397)
二、土壤微生物生态	(399)
三、空气微生物生态	(400)
四、水体微生物生态	(402)
五、人工生态系统	(407)
第二节 微生物在环境工程中的应用	(410)

一、环境污染与环境治理	(410)
二、微生物在环境污染治理中的应用	(411)
三、有氧环境中的有机物降解	(411)
四、无氧环境中的有机物降解	(411)
五、废水的生物处理	(412)
六、城市垃圾的生物处理	(413)
第三节 空气和水的微生物检验与控制	(414)
一、空气的微生物检验	(415)
二、空气和生物洁净室的消毒	(416)
三、水的细菌检验	(416)
四、水的病毒检验	(419)
五、水的消毒	(419)
六、浮游生物的检验与控制	(421)
七、活性污泥法中丝状菌增殖的控制	(422)
第十章 传染与免疫	(424)
第一节 传染	(424)
一、传染与传染病	(424)
二、决定传染结局的因素	(425)
三、传染的结局	(430)
第二节 特异性免疫和非特异性免疫	(431)
一、机体对传染的非特异性免疫	(431)
二、机体对传染的特异性免疫	(433)
第三节 抗原	(436)
一、抗原的基本概念	(436)
二、抗原的性质	(438)
三、抗原决定簇	(438)
四、细菌的抗原	(439)
第四节 抗体	(439)
一、抗体的分子结构	(440)
二、抗体的种类及功能	(440)
三、抗体的形成规律	(441)
第五节 免疫学的应用	(442)
一、人工自动免疫	(442)
二、人工被动免疫	(444)
第六节 血清学反应	(445)
一、抗原抗体反应的一般规律	(445)
二、抗原抗体反应的种类	(446)
参考文献	(450)

第一章 微生物与现代工业微生物学

第一节 微生物概论

一、微生物的发现及其定义

当人们在非洲南部发现了杆菌的化石之后,才知道在大约迄今 30 亿年以前,微生物就已经出现在地球上了。那时,整个地球还是微生物独霸的一统天下,可见微生物的“资历”在所有生物中是最古老的。

人类在地球上已经和微生物相处了几百万年。但是,由于人类对微生物世界缺乏认识,长期处于一种无知和愚昧的状态,对始终团团包围在人体内外的微生物“视而不见,触而不觉”,甚至于深受其害而不知其可恨,广得其益而不感其可亲。

人类第一次真正认识到微生物的存在还只是距今 300 多年前的事。那是在 1676 年,荷兰一位名叫吕文虎克(Leeuwenhoek)的业余博物学家将磨好的玻璃制成镜片,叠夹在两块金属板中间,制成放大率为 200~270 倍的各种简单显微镜,用它来观察并描述了啤酒、污水、牙垢、唾液和食醋中的“微动物”,为微生物的存在提供了有力的证据,因而成为世界上第一位最先看到微生物个体形态的微生物学先驱者。

到了 19 世纪,微生物的存在进一步被人们的实验研究结果所证实。如 1837 年,德国生物学家 Schwann 用显微镜观察了正在发酵的葡萄汁,见到增殖的圆形酵母,并发现葡萄汁中产生了 CO_2 ; 1838 年,法国 Tour 报道他使用 300~400 倍显微镜和测微尺测出了啤酒酵母的直径在 $10\mu\text{m}$ 以下,并观察到酵母通过发芽产生子细胞,总细胞数可增加 7 倍; 1861 年,法国科学家 Louis Pasteur 使大量空气通过特制棉层,再把阻留在棉层上的附着物移到玻片上用显微镜观察,结果发现空气中也存在着大量的游离微生物。他又在长颈烧瓶实验中证明了发酵和腐败都是由微生物引起的,并能在发酵工厂现场用显微镜分辨出发酵菌和杂菌。

微生物一词不是生物分类学上的专用名词,而是对所有用肉眼看不见或看不清的微小生物的总称。微生物的个体非常微小,小到必须用微米(μm)级甚至要用纳米(nm)级来作计量单位。如空气、水和土壤中就存在着大量的各式各样的微生物,由于我们这双肉眼眼力不够,无法直接看到它们的存在,必须借助于显微镜把它们放大几百、几千甚至几万倍才能看清其真面目。

细胞是组成生命有机体基本的结构单位和功能单位,高等生物的个体是由许许多多的细胞所组成的。如人体约由 1800 万亿个细胞组成。微生物的个体结构却非常简单,大多数微生物是单细胞生物,即一个细胞就是一个可以独立生活的微生物个体。少数微生物是多细胞,还有一些微生物甚至连一个细胞都不是,只是由蛋白质和核酸组成的大分子生物。显然,它们是一群生活在地球上最低等的生物。

综上所述,如果要给微生物下一个比较确切的定义,则可以表述为:微生物是指所有形体

微小,具有单细胞或简单的多细胞结构,或没有细胞结构的一群最低等的生物。

整个微生物家族的成员主要包括:

病毒——没有细胞结构的专性寄生大分子生物。如流感病毒、肝炎病毒(人体病毒),鸡瘟病毒、口蹄疫病毒(动物病毒),烟草花叶病毒、番茄丛矮病毒(植物病毒),噬菌体(细菌和放线菌病毒)等。

细菌——单细胞原核生物,一般要在普通光学显微镜(油镜)下放大一千倍以上并染色才能清楚看见其个体。如人体肠道内的大肠杆菌、粪链球菌,用于酿醋的醋酸杆菌,使牛奶变酸的乳酸杆菌,生产味精的谷氨酸短杆菌,生产淀粉酶的枯草杆菌等。

放线菌——原核生物,营养菌丝呈单细胞状态,一般要采用油镜观察其菌丝。如生产链霉素的灰色链霉菌、生产红霉素的红色链霉菌、生产庆大霉素的小单胞菌等。

酵母菌——单细胞真菌,最低等的真核生物。一般用高倍镜(400~600倍)观察其个体细胞形态。如面包酵母、酿酒酵母、红酵母等。

霉菌——真核生物,单细胞或多细胞丝状真菌,可用低倍或高倍镜观察其个体形态。如酿制小曲酒的根霉、制豆腐乳的毛霉、生产葡萄糖的曲霉菌、生产青霉素的青霉菌等。

以上五大类主要微生物中,细菌、放线菌、酵母菌和霉菌是在工业上有重要作用的微生物,是本书讨论的重点。

此外还有:

蓝细菌(蓝绿藻)——原核微生物,单细胞或细胞聚合体。

支原体、立克次氏体、衣原体——单细胞,介于细菌与病毒之间的一类原始而小型的原核微生物。

微细藻类——单细胞藻类。如红藻、绿藻、小球藻等。

原生动物——单细胞,无真正细胞壁。如变形虫、吸管虫、草履虫等。

可见,微生物世界中的成员确实是阵容庞大,姿态万千,芸芸众生,各有特色。为了对微生物有更多、更深入的了解,下面将对其特性作一概述。

二、微生物的特性

我们知道,物体的体积越小,其比面值 K ($K = \text{表面积}/\text{体积}$) 就越大。例如鸡蛋、豌豆和原生动物($\phi 150\mu\text{m}$)的比面值 K 分别约为 1.5、6 和 400。由于微生物的形体极其微小,因而其比面值极大。例如一个体积为 $1\mu\text{m}$ 的球菌,其比面值 K 竟达到 60000。这就意味着具有小体积、大面积这一突出特点的微生物,除了具有一般大型生物的共性外,还具有以下其他生物所不能比拟的特性。

1. 种类多

到目前为止,人们已经发现并已认识的微生物已有 10 万多种。但是,正如一位前苏联微生物学家所说的:“目前我们所了解的微生物种类,最多也不超过生活在自然界中的微生物总数的 10%。”而人类已经开发利用的微生物仅占已发现微生物种的约 1%,都是与人类的生活、生产关系最密切的那些种类。随着人们对微生物世界研究的不断深入,对微生物分离纯化和培养方法的不断改进,大量新的微生物种属,甚至于新科、新目将会源源不断地补充入人类为微生物所编造的“花名册”中。

微生物的种类多一方面表现在微生物的生理代谢类型多。不同种类的微生物,由于具有各自不同的酶系,因而具有各自不同的生活习性、代谢方式和产能方式,能分解利用地球上各

种不同的有机物质,真可谓“嗜好千差万别,各尽所能,各取所需”。人类可利用微生物的这种机能来转化各种初级有机物质,变废为宝,防治公害,保护环境。另一方面表现在微生物能产生和积累的代谢产物种类繁多。人们已知道的微生物代谢产物就大类而言,主要包括酶类、多肽蛋白质类、抗生素类、核苷酸类、氨基酸类、有机酸类、糖类、酯类、醇酮醛类、激素类、毒素类等,每一大类的代谢产物又往往有成百上千种。例如,单从各种微生物中已发现的限制性核酸内切酶就有约 1500 种;已发现的仅来自微生物的抗生素就有约 5000 种;一个宽 $1\mu\text{m}$ 、长几 μm 的小大肠杆菌就可以产生出 2000 多种不同的蛋白质。微生物能产生和积累各种各样代谢产物的这种特性,正好可被人类利用生物合成技术来生产各种有用的发酵产品。

2. 分布广

微生物因其形体微小,重量轻,故可以随着风和水流到处传播。在空气、水、土壤和动植物体表体内,到处都充满了大量的各种微生物。例如曾测得 1m^3 的空气中就有几万个微生物,1mL 港口海水就有十几万个微生物,1g 肥沃土壤竟有几亿到几十亿个微生物,一个成年人体内所携带的微生物总量约为 1kg,人的粪便中约有三分之一是微生物的菌体。可以说微生物是无处不有,无孔不入,几乎到处都是微生物活动的场所,只要环境条件合适,它们就可以在那里大量地繁殖起来。

凡是有动植物生存的地方都有微生物存在,而没有动植物生存的地方也有微生物存在。因为一部分微生物具有特殊的抗逆性,它们可以在某些恶劣的极端环境条件下生活,被人们认为是生物圈上下限的开拓者和各种世界记录的保持者。无论在几百米的深土、万米的深海,还是在几万米的高空,无论是在热气腾腾的温泉,还是在零下负几十度的极地,无论是在高酸度的有色金属浸矿水,还是在高浓度的盐湖水中,都发现有微生物家族成员的踪迹。例如,据报道,前苏联科学家在南极进行钻探时,发现深度达 300m 的岩心中也有活细菌存在;美国科学家在东太平洋深度达 1 万 m 的海底温泉中,发现大量耐高温高压的硫细菌;人类用火箭曾从 8 万 m 的高空中采集到微生物。由此可见,微生物是在地球上占有最多领土、领海和领空的一群生物。

3. 繁殖快

微生物惊人的生长繁殖速度是其他任何生物都望尘莫及的。若以体重增加 1 倍的时间计算,小牛约需五六十天,小猪约需三四十天,小鸡约需一二十天,野草也需十几天,而生长速度最慢的微生物只需十几小时就足够了。一般细菌的世代时间为几十分钟至一百多分钟。在最适宜的条件下,人们最熟悉的大肠杆菌每 13 ~ 20min 就可分裂出新的一代。一个多小时就“五世同堂”了。若按每 20min 分裂一次计,一天就可分裂 72 次,一个细菌经一天繁殖后,总细菌数可达 2^{71} 个(约 4 千多 t),若再继续繁殖下去将不可思议。当然,这只是理论上的推算,而实际上,尽管由人为创造的最适培养条件,也只能维持数小时,细菌不可能无限制地进行指数分裂。

微生物繁殖速度快这一特性,在发酵工业上有着重要的实际意义。人们只需在常温常压及近中性的 pH 值条件下,利用简单的营养物质就可以繁殖生产出大量菌体蛋白质。此外,由于微生物繁殖速度快,代谢产物积累迅速,因而发酵周期短,生产效率高,在短时间内就可以获取大量的发酵产品。

4. 代谢强

微生物的代谢强度比起高等生物要高出几百至几万倍,主要表现在吸收多,转化快。吸收多即“胃口大”。例如,一个能够利用乳糖的细菌每小时能消耗(分解)的乳糖量等于其自身细

胞质量的 2 千倍以上。转化快即“工作效率高”。例如,1kg 的酵母菌在一天之内可使几吨糖全部转化为酒精和二氧化碳;一接种环的谷氨酸菌,经两天的扩大培养和发酵就能将 8t 糖和 2t 尿素转化为 3t 湿菌体和 4t 谷氨酸。可见,微生物细胞确实是一个生产效率极高的“活工厂”。

微生物代谢能力强这一特性为它们的高速生长繁殖和产生大量代谢产物提供了充足的物质基础。其代谢能力强的主要原因是由于上述的个体小,表面积大,因此它们能够在细胞与环境之间迅速交换营养物质和代谢产物。同时,它们在细胞内也会不断合成具有高活性的代谢酶类,以适应自身迅速生长繁殖的需要。

5. 易变异

微生物容易发生变异的主要原因是个体多为单细胞或结构简单的多细胞,甚至非细胞结构,因而在受到外界物理或化学因素影响后,很容易引起细胞内的遗传物质发生突变,结果导致遗传性状,包括形态或生理表型上的变异。微生物易变异的另一个原因是细胞增殖速度快,细胞数量多,因而尽管其自发突变率很低,也会造成在短时间内产生较多的变异后代。

很显然,微生物容易变异的特性对人类而言既有益又有害。一方面,人们可以采用各种物理的、化学的诱变因素对微生物群体进行诱变处理,然后再用适当的方法筛选出正突变菌株,从而提高或增强菌株的某种性能。而这种诱变育种过程往往在短时间内就能进行和实现。

另一方面,工业中应用的优良生产菌种,如果使用或保存不妥,也很容易发生负突变,使产量大大降低甚至不再积累某种产物,更为严重的是病原微生物对人类医疗上使用的某些抗生素产生耐药性变异,使抑菌的用药浓度不断提高,如有的青霉素耐药菌株,其耐药性竟比原始菌株提高 1 万倍。

以上微生物的 5 个特性是所有微生物的共性,对人类来说是既有利又有弊的,我们学习生物学的目的就在于兴利除弊。对于大部分有益的微生物,我们要利用其特性为人类造福;对于少数病原微生物或腐败微生物,我们则要设法控制其特性,以减少它们的破坏性和危害性。

三、微生物的分类和命名

1. 微生物的分类单位

在微生物分类学中,将具有相同特征的微生物构成同一个种(Species);将性质相似、相互有关的各个种组成属(Genus);相似的属合并为科(Family);近似的科合并为目(Order);近似的目归纳为纲(Class);综合各纲成为门(Phylum);由若干门组成界(Kingdom),由此构成一个完整的分类系统。

因此,微生物种以上的分类单位自上而下依次分为界、门、纲、目、科、属、种共 7 级,这是主要的分类单位。此外,在两个主要分类单位之间,还可添加亚门、亚纲、亚目、亚科、亚属等次要分类单位。种是最基本的分类单位,在种以下还可以分为亚种、型、菌株等。

种(Species):可以认为是一群表型特征十分相似、亲缘关系极其接近的菌株的总称。在微生物学中一个种往往是用该种内一个典型菌株作为该种的模式种。

亚种(Subspecies):是种的细分单位,一般指其某一明显而稳定的特征与模式种不同的种,而变种(Variety)则是亚种的同义词。

型(Type):同一种微生物的各种类型,如寄生型、血清型、溶菌型等,其差别不像变种那样显著。

菌株(Strain):同一种微生物的每一不同来源的纯培养物,或由一个独立分离的单细胞繁

殖而成的纯种群体均可称为该菌种的一个菌株。

2. 微生物的命名

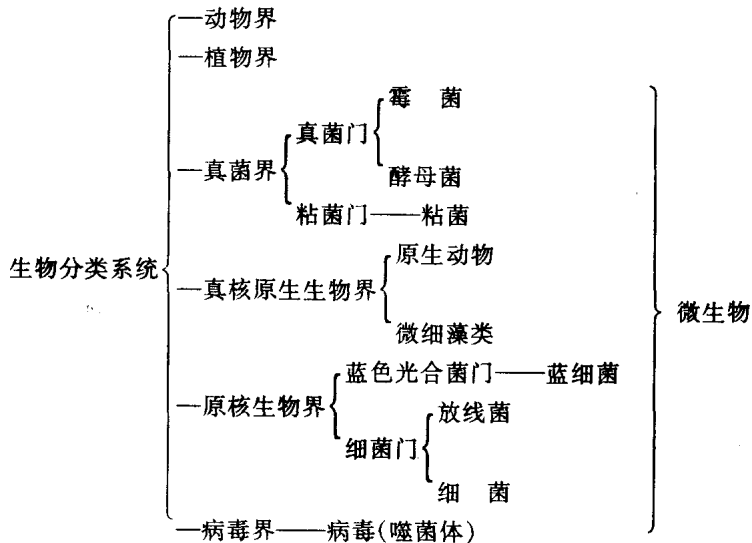
微生物与其他生物一样,按国际命名法命名,即采用“双名法”,给每一种微生物取一个国际学术界都公认的科学名称,即学名。每一个微生物的学名均由两个拉丁词或拉丁化的词组成,在出版物中应排成斜体字,属名在前,是一个表示该种微生物主要特征的名词,第一个字母应大写;种名在后,是一个描述微生物次要特征的形容词或名词,首字母小写。例如大肠埃希氏菌的学名为:*Escherichia coli*,巴斯德酵母的学名为:*Saccharomyces pastori*,黑曲霉的学名为:*Aspergillus niger*。有时在种名之后附有定名人的姓(用正体,可省略),例如 Rosenbach 命名的金黄色葡萄球菌学名为:*Staphylococcus aureus* Rosenbach。如果是新种则在学名之后加 n. sp.,有时只泛指某一属的微生物,而不指定某个具体种或没有种名只有属名时,可在属名后加 sp. 或 spp.。表示变种或亚种的学名,是在种名后加 var. 或 subsp.,再接变种名称。例如枯草芽孢杆菌黑色变种的学名应写成 *Bacillus subtilis* var. *niger*。

有时微生物也采用通俗或简化的名字,即俗名,具有简明和大众化的优点。如丙酮丁醇梭菌称为“丙丁菌”,铜绿假单胞菌称为“绿脓杆菌”,金黄色葡萄球菌称为“金葡萄”等。

菌株的名称可随意地用字母、符号或编号等表示,都放在学名后面。

3. 微生物在生物分类系统中的地位

近一百多年来人类对生物分类从两界系统经历了三、四、五和六界系统,到 1978 年又提出了三界系统。若按我国学者王大相(1977)在魏塔克(Whittaker)主张五界系统的基础上再增加一个病毒界而形成的六界系统,那么微生物在该分类系统中应分别属于病毒界、原核生物界、真核原生生物界和真菌界。



4. 微生物的分类依据

微生物的分类是以它们的形态结构、生理生化反应和遗传性等特征的异同为依据,并根据生物进化的规律,将微生物分门别类,编排成系统。微生物分类的主要依据包括下列几个方面:

①形态特征 包括在显微镜下观察的细胞个体形态和在固体、半固体及液体培养基中的群体生长特征。

②生理生化特征 包括微生物的营养要求、代谢产物、在某些培养基(如牛乳、明胶)中的

生长反应和生长状况、对氧气的不同要求等。

③生态特性 主要包括微生物在自然界的分布情况,与其他生物有否寄生和共生关系等。

④血清学反应 常借助特异性的血清学反应来确定未知菌种、亚种或菌株。

⑤细胞壁成分 根据不同微生物细胞壁的组成成分和结构具有明显的特殊性,通过成分分析作为分类的依据。

⑥红外吸收光谱 利用红外吸收光谱技术测定微生物细胞的化学成分,作为分类依据之一。

⑦GC 含量 GC 含量不同的生物,其 DNA 结构不同,因而在遗传上也是互不相同的。

⑧DNA 杂和率 将不同微生物来源的 DNA 热变性为单链,再进行重新配对结合,通过测定其杂和率,进一步判定微生物的亲缘关系,从而作出更精确的分类。

5. 微生物的分类鉴定方法

微生物的分类方法可归纳为下列 3 种:

①经典分类鉴定法 根据微生物的形态结构、特征和生理生化特性等少数几种特征进行分类的传统分类方法。

②数值分类鉴定法 通常以生理生化特征、对环境的反应和忍受性以及生态特性等较多的特性为依据,并借助电子计算机计算出菌株间的总类似值,再进行比较和归类。

③遗传分类鉴定法 以 GC 含量和不同来源 DNA 之间的碱基顺序的类似程度及同源性为依据,从遗传学的角度在分子水平上估价微生物间的亲缘关系,从而进行分群归类。

第二节 工业微生物学发展简史

一、利用微生物的自然发酵酿造传统食品

在 17 世纪以前,虽然人们还无法直接看见微生物个体的存在,但是在生产实践中,逐步学会了利用自然界中的有益微生物,在自然接种和混菌发酵的条件下,借助微生物活动产生的产物来酿造各种传统食品和饮料,包括酒、酱、醋、泡菜、酸奶、干酪和面包等。例如葡萄酒的酿造很早以前就有记载,而比这种果酒酿造需要更多工艺知识和较大生产规模的啤酒酿造,公元前 3 世纪在古代巴比伦的陶报上就已有记载。它记载了由谷类制造啤酒的某些品种,并且由有经验的酿造工匠组成了专业性酿造行业。他们已知道出芽的谷物(大麦芽)更容易酿造成啤酒。显然,这一阶段是一个很漫长的时期,那时人们对微生物本身还几乎是一无所知的情况下,凭生产实践经验,借微生物的自然发酵来制造各种传统发酵食品,因而为工业微生物学的发展奠定了一定的基础。

二、微生物形态与发酵生理学的开创性研究

17 世纪中后期,荷兰人吕文虎克(Leeuwenhoek)用自制的最大能放大 270 倍的简单显微镜,观察了各种含菌样品,并做了正确的描述,首次揭示了自然界中确实存在着大量微小的生物。这对后来微生物的形态与发酵生理的研究创造了极为有利的条件。

18 世纪中后期荷兰动物学家穆勒(Mueller)对各种微生物进行观察描述和分类鉴定;19 世纪前期 Ehrenberg 进一步将细菌与其他微生物分开,并新设了 4 个属;19 世纪中后期,科恩(Cohn)等开始对微生物进行系统的分类,使越来越多的新种属被发现,分类系统不断更新;从

19世纪60年代开始,法国人巴斯德(Pasteur)在发酵生理学的研究方面作出了卓越的贡献,使当时的酒酿造业从困境中走了出来。巴斯德通过实验证明,酒和醋的酿造过程实际上是微生物发酵过程,而且认为不同发酵是由不同种类微生物所引起的,酒变酸是由于有害微生物繁殖的结果,并提出科学的巴斯德消毒法。从此,人们不仅利用微生物发酵生产食品,也发酵生产菌体蛋白、各种溶剂和有机酸。

19世纪70~80年代,微生物纯种培养技术取得了很大的进步,先是1872年布雷费尔德(Brefeld)进行了霉菌的纯种分离与培养。1878年英国医生利斯特成功地纯化培养乳酸菌并测定了菌数,接着是德国细菌学家柯赫(Koch)发明了用明胶斜面分离培养菌种和鉴定菌种的纯培养技术。1886年,丹麦的汉森(Hansen)采用液滴培养法分离纯种啤酒酵母,1887年佩特利(Petri)改用玻璃平皿取代试管进行稀释分离培养单菌落,柯赫的学生赫西的妻子用琼脂代替明胶。上述这些研究成果使发酵技术的最基本手段——微生物纯种培养方法基本建立起来,标志着传统发酵向近代发酵的一个重大转折。

1897年法国的布克纳(Buchner)用石英砂和高岭土将啤酒酵母细胞磨碎,制成透明的富含蛋白质的酵母汁液(不含活细胞),并发现这种汁液(当时称为酿酶 Zymase)与砂糖混合后可以发酵产生酒精,从而提出了发酵的酶作用过程的证据,这也是进一步对发酵代谢机制开展研究的前奏。

三、现代微生物发酵工业的兴起

1928年夏天,英国细菌学家弗莱明(Fleming)在分离细菌时发现其中有一只培养皿内污染的霉菌很特别,菌落四周的细菌不能生长,在离菌落远处才有细菌生长。他做了很多实验,鉴定出该霉菌是点青霉,证实它能产生一种抗菌物质并取名为青霉素。限于当时的社会条件,这一重要发现未能得到人们的重视和支持。

直到第二次世界大战爆发后,由于前线战伤感染致死的人很多,抗感染药物才受到人们的高度重视。40年代初,牛津大学病理学教授弗洛里(Florey)、钦恩(Chain)、亚伯拉罕(Abraham)等20多位学者组成攻关组,重新研究青霉素。经过一年的努力,奠定了青霉素的治疗学基础。1941年他们第一次用青霉素进行治疗研究并小批量制备青霉素。1942年美国Merck公司开始生产青霉素并大规模用于临床治疗,使青霉素大显奇效,引起世界的震惊和轰动,被誉为科学上的一项奇迹,是第二次大战中与原子弹和雷达并驾齐驱的三大发现之一。

1943年,人们又发现了高产青霉素新菌种产黄青属,使青霉素产量大大提高并在美国开始大量生产。同年,钦恩(Chain)又确定了青霉素的分子结构。

1944年,瓦克斯曼(Waksman)在1941年发现的链霉素也投产了,此后,氯霉素在1947年、金霉素在1948年、土霉素在1949年、红霉素在1951年等也相继投产了。1957年卡那霉素问世,1959年Rolinson完成了6-氨基青霉素烷酸(6-APA)的研究,使人工合成高效广谱抗生素成为可能。因此,20世纪40~50年代成为抗生素工业发展的黄金时代。

四、现代工业微生物学的新发展

20世纪五六十年代受抗生素工业迅猛发展的影响,工业微生物学史上开始出现寻找各种有益微生物代谢产物的热潮,而且工业微生物产品逐步向生产少量而贵重的生物药物新产品的方向发展。如利用微生物来生产维生素 B_2 、维生素 B_{12} 、赤霉素、甾体激素,用两步法发酵生产维生素C、用发酵法或酶法生产各种氨基酸和核苷酸等。