

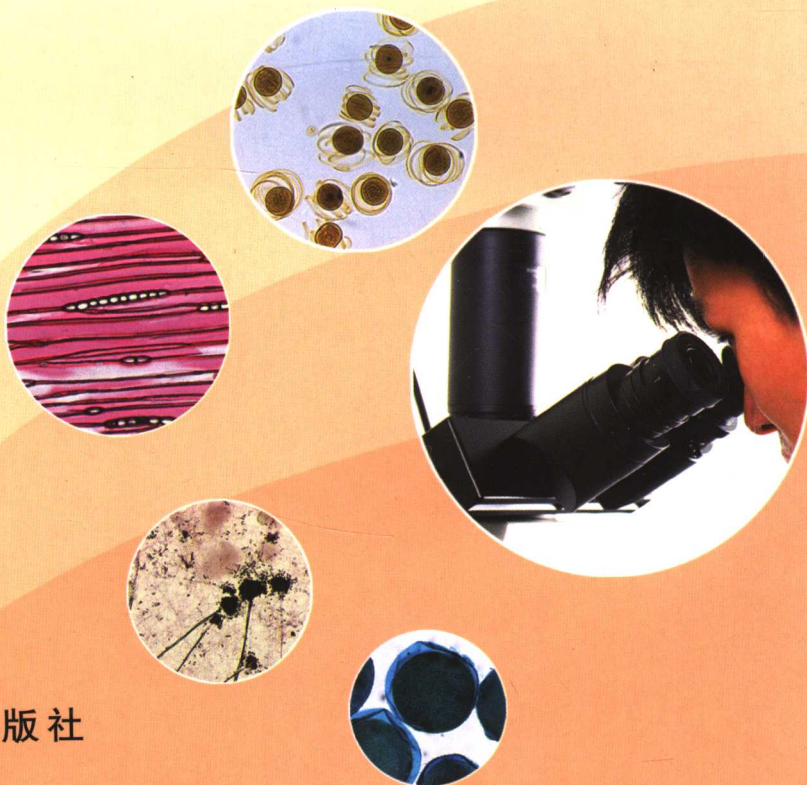


21 世纪农业部高职高专规划教材
全国农业职业院校教学工作指导委员会审定

微生物学

生物技术类专业用

张曙光 主编



 中国农业出版社



中国科学技术出版社
地址：北京市海淀区中关村大街27号
邮编：100081 电话：(010) 62510833

微生物学

生物科学类专业教材

第四版 主编



中国科学技术出版社

21 世纪农业部高职高专规划教材
全国农业职业院校教学工作指导委员会审定

微生物学

张曙光 主编

生物技术类专业用

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物学/张曙光主编. —北京: 中国农业出版社,
2006.5

21 世纪农业部高职高专规划教材

ISBN 7-109-10635-7

I. 微... II. 张... III. 微生物学-高等学校: 技术
学校-教材 IV. Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 034927 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

出版人: 傅玉祥

责任编辑 王芳芳

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2006 年 8 月第 1 版 2006 年 8 月北京第 1 次印刷

开本: 720mm×960mm 1/16 印张: 15.5

字数: 272 千字

定价: 20.80 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

主 编 张曙光 (湖北三峡职业技术学院)
副主编 唐玉琴 (吉林农业科技学院)
周希华 (潍坊职业学院)
参 编 刘志军 (保定职业技术学院)
薛永三 (黑龙江农业经济职业学院)
张中社 (杨凌职业技术学院)
审 稿 赵 斌 (华中农业大学)

前 言

《微生物学》是生物技术类专业一门重要的专业基础课，主要是为专业课的学习提供必要的理论基础和技术方法。本教材在编写中遵照教育部的教学改革文件精神，力求体现能力本位的教学思想，坚持理论必需、够用为度，突出实践操作技能和技术方法训练的原则，按照学生识记知识的特点和规律，由浅入深，依次展开。

本教材在保证知识的系统性和完整性的前提下，强调理论的实用性和技能的可操作性，适当补充更新当代微生物学发展的新理论、新知识、新技术和新方法，体现“宽、全、新、实”的特点，即覆盖面宽、内容全面、知识点新、注重实用。为了拓宽知识覆盖面，突出教材的实用性，将感染与免疫单独列为一章，以强调现代免疫技术的应用。在第十章微生物的应用中，增加了微生物与环境、微生物与食品、微生物与制药等内容，教师可以根据不同的专业选讲部分章节，便于灵活选用。编写中注意引用现实生活中生动有趣的事例，尽量采用形象逼真的图片说明，增强教材的直观性和趣味性，激发学生的学习兴趣。

本教材集理论知识和实践内容为一体，全书分理论部分、实验实训及附录。绪论、第三章及实训七、八、九、十由张曙光编写；第一章、第九章及实训一、二、三由唐玉琴编写；第四章、第五章及实训五、六由周希华编写；第二章、第十章第一节及实训四由张中社编写；第六章、第八章、第十章第二节及实训十一由刘志军编写；第七章、第十章第三、四节及实训十二、十三、十四由薛永三

编写；为了方便学生自学，在附录中收录了常用的试剂、指示剂、培养基等的配方。

华中农业大学赵斌教授百忙之中认真审阅了全文，并提出了宝贵的修改意见。本教材在编写中引用了一些著作者的插图和数据，湖北三峡职业技术学院朱沙同志编绘了部分图片，在此一并致谢。

本教材适应面广、选择性强，各学校可根据不同的专业学习需求选讲部分章节，或选做部分实验实训。本教材既可作为高等职业院校生物技术、生物制药、种植类专业的教学用书，也可作为中等职业院校相近专业的参考用书。

限于编者的知识水平和能力，书中难免存在不足之处，敬请各位同行和广大读者批评指正。

编 者

2006 年 4 月

目 录

前言

绪论	1
复习思考题	5
第一章 原核微生物——细菌、放线菌、蓝细菌	6
第一节 细菌	7
第二节 放线菌	22
第三节 蓝细菌	25
复习思考题	27
第二章 真菌	29
第一节 真菌的一般性状	29
第二节 真菌的分类及主要类群	34
复习思考题	41
第三章 非细胞生物——病毒	42
第一节 病毒的一般性状	42
第二节 病毒的主要类群及其代表	49
第三节 亚病毒	52
复习思考题	53
第四章 微生物的营养	54
第一节 微生物的营养物质	54
第二节 微生物的营养类型和吸收方式	59
第三节 培养基	63
第四节 消毒与灭菌	69
复习思考题	76

第五章 微生物的代谢及发酵	77
第一节 微生物的酶	77
第二节 微生物的产能代谢	81
第三节 微生物的代谢产物	85
第四节 微生物的发酵生产	88
复习思考题	92
第六章 微生物的生长与环境条件	94
第一节 微生物的生长	94
第二节 微生物生长的环境条件	99
第三节 微生物的分离和纯培养	103
复习思考题	106
第七章 微生物的遗传变异和菌种保藏	107
第一节 微生物的遗传	107
第二节 微生物的变异	112
第三节 菌种保藏与复壮	118
复习思考题	122
第八章 感染与免疫	123
第一节 感染与免疫	123
第二节 血清学反应	129
复习思考题	132
第九章 微生物生态	133
第一节 微生物生态系	133
第二节 生物群体的相互关系	142
第三节 微生物与物质转化	150
复习思考题	156
第十章 微生物的应用	157
第一节 微生物与农业	157
第二节 微生物与环境	168

第三节 微生物与食品	172
第四节 微生物与制药	180
复习思考题	188
实验实训	189
实训一 显微镜油镜的使用与细菌形态观察	189
实训二 细菌细胞的特殊染色法及特殊构造的观察	193
实训三 放线菌形态的观察	197
实训四 真菌的形态观察	199
实训五 微生物细胞大小的测量	201
实训六 血球计数板计数法	204
实训七 培养基的配制	207
实训八 消毒与灭菌	209
实训九 微生物的纯种分离技术	213
实训十 微生物接种技术	216
实训十一 自来水中大肠杆菌的测定	218
实训十二 微生物菌种保藏	221
实训十三 血清学技术	223
实训十四 抗生素效价的微生物学测定	227
附录	230
附录 I 常用试剂和指示剂的配制	230
附录 II 常用染液的配制	230
附录 III 常用培养基的配制	231
附录 IV 常用消毒剂的配制	233
附录 V 洗涤液的配制与使用	233
主要参考文献	235

绪 论

一、什么是微生物

微生物是指那些形体微小，结构简单，必须借助显微镜才能看见的微小生物类群的总称。微生物不是分类系统中的一个类群，种类多，成员杂，通常包括病毒、细菌、真菌、原生动物和某些藻类。它们具有如下特点：①形体微小，肉眼看不见，需用显微镜观察，大小以 μm 或 nm 计量。②生长繁殖快，在实验室培养条件下细菌几十分钟至几小时可繁殖一代。③比表面积（表面积与体积之比）大，代谢活性强。在适宜条件下微生物 24h 所合成的细胞物质相当于原来细胞质量的 30~40 倍。④分布广泛，适应性强。凡有高等生物的地方均有微生物存在，甚至在动植物不能生活的极端环境中微生物也能生活。⑤与高等生物相比，容易发生变异。在所有生物类群中，已知微生物种类的数量仅次于被子植物和昆虫。微生物种内的遗传多样性也非常丰富，具有广泛的用途。

二、微生物的种类

微生物的类群很多，形态各异，大小不一，生物学特性差异极大。根据细胞结构的有无和细胞核的类型分为非细胞微生物——病毒、亚病毒，原核微生物——细菌、放线菌，真核微生物——原生生物、真菌及单细胞藻类。

由于微生物种类的多样性及其独特的生物学特性，使其在自然界中占有重要位置。1969 年魏塔克 (Whittaker) 提出五界系统，把具有细胞结构的生物分为五界。1977 年我国学者王大耜等建议在五界系统基础上将无细胞结构的病毒单列一界，便构成了六界系统，即动物界、植物界、原生生物界、真菌界、原核生物界和病毒界。1978 年伍斯 (Woese) 根据不同生物 16S 和 18S rRNA 寡核苷酸序列的同源性测定结果，提出将生物分为 3 个域 (domain)，把传统的界分别放在域中，即古生菌域、细菌域和真核生物域。

三、微生物学的发展

微生物学是研究微生物生命活动规律的学科。基本内容包括：微生物细胞的形态结构及其功能、生理生化反应与营养代谢、微生物遗传变异与菌种选育、微生物的多样性与分类、微生物之间及其与环境之间的相互作用、微生物与人类的关系等。随着微生物学的不断发展，形成了许多新的分支学科，并且还会不断形成新的学科和研究领域。见表 0-1。

表 0-1 微生物学的分科

分科的依据	微生物学分支学科名称
按微生物的种类分	细菌学、真菌学、病毒学、菌物学、原生动物学、藻类学
按技术与工艺分	分析微生物学、发酵微生物学、微生物技术学、遗传工程
按应用范围分	工业微生物学、农业微生物学、医学微生物学、药学微生物学、兽医微生物学、食品微生物学、预防微生物学
按生命活动规律分	微生物生理学、微生物遗传学、微生物生物化学、微生物生态学、微生物分类学、分子微生物学、细胞微生物学、微生物基因组学
按生态环境分	土壤微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、水微生物学、宇宙微生物学
按与疾病的关系分	免疫学、医学微生物学、流行病学

对微生物的应用可以追溯到 8 000 年以前，在 4 000 年前我国的酿酒工艺已经普及，2 500 年前我国人民已发明酿制酱油和醋，公元 6 世纪，我国《齐民要术》详细记载了制曲、酿酒、制酱、酿醋等工艺。尽管在很早以前就有了关于利用和防治微生物的记载，但作为一门学科，只有在人们直接看到了微生物之后才有可能诞生微生物学。17 世纪中叶，荷兰人列文虎克（Antonie van Leeuwenhoek，1632—1723）用自制的简单显微镜观察并发现了许多微生物，包括一些细菌和原生动物，并于 1676 年向英国皇家学会报告了发现结果，为以后的微生物学研究奠定了基础。由于时代的局限性，研究结果没有受到应有的重视，在随后的 200 年微生物学也未取得研究进展。在 19 世纪欧洲完成产业革命之后，科学技术发展进入了一个新时期，微生物学的研究也开始活跃起来。微生物学发展中的重大事件见表 0-2。

法国科学家巴斯德（Louis Pasteur，1822—1895）为微生物学的发展做出了开创性的杰出贡献，被称为“微生物学之父”。他所做的著名的曲颈瓶试验证明空气中含有大量微生物，它们是引起有机质腐败的原因，用无可争辩的事实彻底推翻了“自然发生学说”。在此基础上，他通过对酒精发酵的研究证明发酵是由微生物引起的，与微生物的生长繁殖有关。他之后还发现乳酸发酵、

醋酸发酵和丁酸发酵都是由不同细菌引起的，为微生物学的生理生化研究奠定了基础。此外，他还研究了鸡霍乱病、牛炭疽病和狂犬病，并首次制成狂犬疫苗，为人类防病、治病做出了重大贡献。

另一位微生物学创始人——德国医生柯赫（Robert Koch, 1843—1910）是著名的细菌学家，对病原细菌的研究做出了突出贡献。他从动物血液中分离到引起炭疽病的细菌，证实炭疽杆菌是炭疽病的病原菌，并在 1876 年提出了疾病的微生物致病学说。他的经典实验被称为柯赫氏法则（Koch's postulates），通过对肺结核病的研究发现了结核杆菌，随后又研究了细菌的染色方法和固体培养基的制备，建立了纯培养技术，为微生物的分离培养研究奠定了基础。

到了 20 世纪上半叶，由于科学技术的进步推动了微生物学的快速发展。一方面朝着应用微生物学方向发展。在应用方面，对人类疾病和躯体防御机能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）和 Waksman 关于土壤中放线菌的研究成果导致了抗生素科学的出现，如今抗生素的生产已经是现代化大企业的规模化生产。微生物酶制剂已广泛应用于农、工、医各方面；微生物的其他产品如有机酸、氨基酸、维生素等都已在进行批量生产。微生物在农业中的应用研究成果促进了农业微生物学和兽医微生物学的发展。

另一方面和其他生物科学的交叉、渗透和融合使基础微生物学研究获得了全面深入的发展。首先是微生物学与遗传学和生物化学的结合，催生了微生物遗传学和微生物生理学，进而推动了分子遗传学的形成。与此同时，微生物的其他分支学科也得到迅速发展，细菌学、真菌学、病毒学、微生物分类学、微生物生态学相继形成了独立的学科，全面揭示了微生物的一系列生命活动规律，包括遗传变异、细胞结构与功能、酶及生理生化反应等。进入 20 世纪 50 年代，微生物学与分子生物学技术的结合使微生物学成为生命科学领域中一门发展最快、影响最大的前沿科学。

表 0-2 微生物学发展中的重大事件

时 间	重 大 事 件
1857	Pasteur 证明乳酸发酵是由微生物引起的
1861	Pasteur 用曲颈瓶实验证明微生物非自然发生，推翻了“自然发生学说”
1864	Pasteur 建立巴氏消毒法
1867	Lister 首次成功进行石炭酸消毒试验，创立消毒外科
1867—1877	Koch 证明炭疽病是由炭疽杆菌引起
1881	Koch 等首创用明胶固体培养基分离细菌
1882	Koch* 发现结核杆菌
1884	柯赫法则发表

(续)

时 间	重 大 事 件
1885	Pasteur 研制狂犬疫苗成功
1887	Richard Petri 发明双层培养皿
1888	Beijerinck 首次分离根瘤菌
1890	Von Behring 制备抗毒素治疗白喉和破伤风
1891	Sternberg 与 Pasteur 同时发现肺炎球菌
1892	Ivanowsky 发现烟草花叶病是由病毒引起的
1897	Ross 证实疟疾病原菌由蚊子传播
1909—1910	Ricketts 发现立克次氏体
1928	Griffith 发现细菌转化
1929	Fleming 发现青霉素
1935	Stanley* 首次提纯烟草花叶病毒, 并得到其“蛋白质结晶”
1944	Avery 等证实转化过程中 DNA 是遗传信息载体; Waksman* 发现链霉素
1946—1947	Lederberg* 和 Tatum 发现细菌的接合现象、基因连锁现象
1949	Enders*、Robbins* 和 Weller* 离体培养脊髓灰质炎病毒成功
1952	Hershey* 和 Chase 发现噬菌体将 DNA 注入寄主细胞; Zinder 和 Lederberg 发现普遍性传导
1953	Watson* 和 Crick* 提出 DNA 双螺旋结构
1956	Umbarger 发现反阻遏现象
1961	Jacob* 和 Monod* 提出基因调节的操纵子模型
1961—1966	Holley*、Khorana*、Nirenberg* 等阐明遗传密码
1969	Edelman* 测定抗体蛋白分子的一级结构
1970—1972	Arber*、Nathans* 和 Smith* 发现并提纯限制性内切酶; Temin 和 Baltimore 发现反转录酶
1973	Cohen 等首次将重组质粒转入大肠杆菌成功
1975	Köhler 和 Milstein* 建立生产单克隆抗体技术
1977	Woese 提出古生菌是不同于细菌和真核生物的特殊类群; Sanger* 首次对 ϕ X174 噬菌体 DNA 进行全序列分析
1982—1983	Cech* 和 Altman* 发现具有催化活性的 RNA; McClintock* 发现转座因子; Prusiner* 发现朊病毒 (prion)
1983—1984	Gallo 和 Montagnier 分离和鉴定人免疫缺陷病毒; Mullis 建立 PCR 技术
1988	Deisenhofer 等发现细菌的光合色素
1989	Bishop* 和 Varmus* 发现癌基因
1995	第一个独立生活的生物 (流感嗜血杆菌) 全基因组序列测定完成
1996	第一个自养生活的古生菌基因组测定完成
1997	第一个真核生物 (啤酒酵母) 基因组测序完成

* 为诺贝尔奖获得者。

四、微生物学的重要性

微生物作为大自然的一部分与人类生活密不可分, 绝大多数对人类和动植

物是有益的,有些甚至是必需的。自然界中 N、C、S 等元素的循环需要微生物的参与,否则植物就不能代谢,人类和动物就难于生存。当你品尝面包或酸奶的时候,能享受它们带给你的恩惠,当你感冒或患病的时候,能感受它们带给你的痛苦,它们在给人们带来巨大利益的同时也带来了灾难。因此,对微生物生命活动规律的认识已成为人类认识自然、改造自然的一项重要内容。微生物学一直处于生命科学的前沿,生命活动的许多规律大多是在研究微生物的过程中被认识的。利用酵母菌及其无细胞制剂对酒精发酵的研究,阐明了生物体内的糖酵解途径;以细菌为材料确定的 DNA 双螺旋结构和遗传密码揭示了所有生物的遗传本质;细菌全基因组碱基测序促进了人和植物染色体遗传密码的破译研究。

微生物学的发展促进了人类的进步,使得微生物在工业、农业、医药、环境等方面得到更广泛的应用,微生物生产与动物生产、植物生产并列为生物产业的三大支柱。在工业方面,微生物应用于食品、皮革、纺织、石油、化工、冶金等行业,如利用微生物发酵法生产味精,既能节约成本,又可节约粮食;利用微生物进行石油脱蜡可提高石油的产量和质量。在农业方面,应用微生物生产菌肥、植物生长激素等,还可利用微生物感染昆虫来进行害虫防治,开辟了以菌造肥、以菌促长、以菌防虫、以菌治病等农业增产新途径。在医药方面,可利用微生物来生产抗生素、维生素、辅酶等药物。在环境方面,微生物是消除环境污染、净化环境的重要手段。在新兴的生物技术产业中,微生物的作用更为突出。作为基因工程的外源 DNA 载体,不是菌体本身,就是其细胞中的质粒;用作切割与拼接基因的工具酶,绝大多数来自微生物,而且也是最丰富的外源基因供体。

微生物学发展的短短 300 年间,已在人类生活和生产实践中得到广泛应用。21 世纪,随着微生物学研究技术和方法的发展,微生物学与能源、信息、材料、计算机等的结合将开辟新的研究和应用领域。微生物产业除了更广泛地利用和挖掘不同环境的自然微生物资源外,基因工程菌将形成一批强大的工业生产菌,生产外源基因表达的产物,特别是药物的生产将为完全征服癌症、艾滋病等顽症做出新的贡献。

复习思考题

1. 什么是微生物?微生物有哪些种类?
2. 为什么说微生物在人类生活中占有重要位置?
3. 你如何看待微生物学发展的前景?

第一章 原核微生物——细菌、放线菌、蓝细菌

[本章提要] 原核微生物主要包括细菌、放线菌、蓝细菌。细菌的基本形态主要有球状、杆状和螺旋状；细菌的大小以 μm 为单位进行计量；细菌细胞一般由细胞壁、细胞质、细胞质膜、原核等基本结构构成，此外还有鞭毛、荚膜、芽孢等特殊结构，这些结构是细菌分类鉴定的主要依据；细菌以二分裂方式进行繁殖。放线菌的个体由基内菌丝、气生菌丝、孢子丝和孢子构成，它们是抗生素的主要产生菌。蓝细菌是能够进行光合作用的微生物。

现代的生物学观点认为，整个生物界首先要区分为细胞生物和非细胞生物两大类群。非细胞生物包括病毒和亚病毒；细胞生物包括一切具有细胞形态的生物，可以区分为原核生物和真核生物。原核生物包括细菌、放线菌和蓝细菌，是本章介绍的内容。真核生物包括各种低等动植物和高等动植物。低等动植物又可以区分为藻类、真菌类和原生动物 3 个类群，它们中的大多数是微生物。

以电子显微镜为主要工具研究细胞的微细构造和功能，发现原核细胞和真核细胞（图 1-1）有 3 项主要区别。

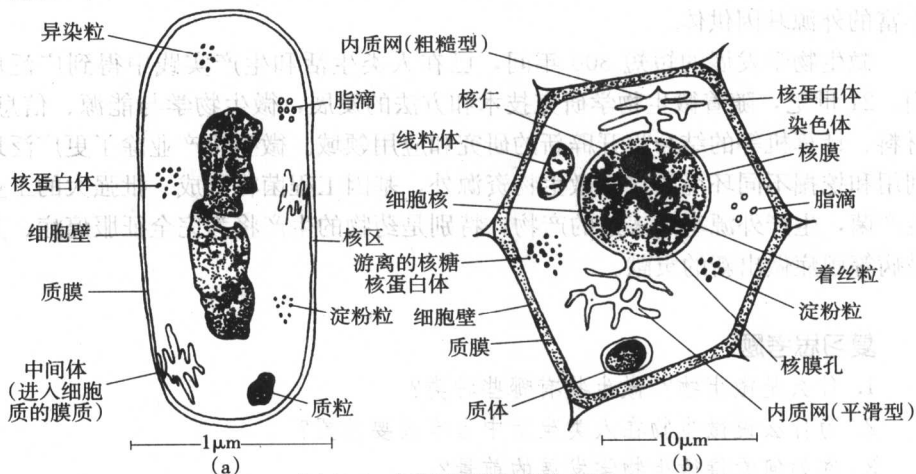


图 1-1 原核细胞和真核细胞
(a) 原核细胞 (b) 真核细胞

(1) 原核细胞中有明显的核区，核区内含有一条双螺旋脱氧核糖核酸构成的基因体，亦称染色体；真核细胞含有由多条染色体组成的基因体群。真核细胞的染色体除含有双螺旋脱氧核糖核酸外还含有组蛋白。真核细胞有一个明显的核，染色体位于核内，核由一层核膜包围，这样的核称为真核。原核细胞的核区没有核膜包围，称为原核。

(2) 原核细胞有一个连续不断的细胞质膜，它包围着细胞质，并且大量褶皱陷入到细胞质中去，称为中体（中间体）。真核细胞的细胞质膜包围着细胞质，但并不陷入，在细胞质内有各种细胞器，它们都各由一层膜包围，这些细胞器的膜和细胞质膜没有直接关系。

(3) 核蛋白体位于细胞质内，它们是蛋白质合成的场所。原核细胞的核蛋白体小，沉降系数为 70S 粒子。真核细胞的核蛋白体要大些，沉降系数为 80S 粒子（细胞器内是 70S）。

除上述 3 项尚有其他不同点，见表 1-1。

表 1-1 原核细胞与真核细胞的主要区别

性 状	原 核 细 胞	真 核 细 胞
细胞核结构	是原核，不具有核膜和核仁	是真核，具有核膜与核仁
DNA	只有一条不与 RNA 和蛋白质结合	一至数条与 RNA 和蛋白质结合
核糖体	70S 粒子在细胞质中	80S 粒子在细胞质中（在某些细胞器中为 70S 粒子）
细胞器	无	有线粒体、高尔基体、内质网等
细胞壁组成	肽聚糖或脂多糖	几丁质、多聚糖或寡糖
繁殖方式	无性繁殖	无性繁殖和有性繁殖
细胞分裂	二分裂	具有有丝分裂和减数分裂
细胞大小	一般较小， $1\sim 10\mu\text{m}$	较大， $10\sim 100\mu\text{m}$

注：S 是沉降系数（Svedberg），用来测试颗粒大小。

第一节 细 菌

细菌是单细胞生物，每一个细胞都是一个独立生活的个体，细胞内没有真正的细胞核，只在细胞的中部有一絮状核区，用简单分裂的方式进行繁殖。

一、细菌的形态和大小

（一）细菌的形态

细菌的个体是由一个原核细胞组成，虽然细菌的个体只是一个细胞，根据