

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)

第二版

无锡轻工业学院

中国轻工业出版社

58.6
132(2)

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)

第二版

无锡轻工业学院 编

(21 460 / 1.1)
3K445 / 11

中国轻工业出版社

(京)新登字034号

内 容 提 要

本书为高等工业院校工业发酵及有关专业本科微生物学教科书。编者从分子水平阐述了微生物的形态与分类、微生物的营养与生长、微生物的代谢与调节、理化因素对微生物生长与发酵的影响、微生物的生态及环境保护、微生物的遗传与菌种选育等方面的基础理论、研究方法 & 近期发展内容。此外,还选编了微生物的基本实验与必要的附录。因此,除用作教材外,本书也可供有关研究人员,工程技术人员及高校有关专业师生参考使用。

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)

第二版

无锡轻工业学院 编

中国轻工业出版社出版

(北京东长安街6号)

北京交通印务实业公司印刷

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: 19.125 插页: 1 字数: 489千字

1990年5月第一版第一次印刷

1994年10月第二版第三次印刷

印数: 16,001—23,000 定价: 13.15元

ISBN 7-5019-0776-5/TS·0507

前 言

新编的《微生物学》是根据国内外微生物学近年来的发展内容,针对工业发酵专业本科培养目标,吸取各有关使用单位和读者的意见,对于无锡轻工业学院、华南工学院(现为华南理工大学)、天津轻工业学院和大连轻工业学院合编的《微生物学》(轻工业出版社1980年版本)进行了大范围修改补充,由无锡轻工业学院编写而成。

本书由檀耀辉主编,由陈驹声主审,并经轻工业部组织的工业发酵专业教材编审委员会审定。

本书第一章由檀耀辉、陶文沂编写,第二、第七章由诸葛健编写,第三、第四、第五章由张星元编写,第六章由陶文沂编写,实验及附录部分由李华钟编写。

本书作为工业发酵专业和有关专业微生物课程教学用书,也可供有关研究人员、工程技术人员及高等院校有关师生参考。

限于编者水平,不足之处在所难免。诚挚欢迎阅读本书的师生和有关专家、学者提出批评意见,以臻完善。

编 者

1988年冬

目 录

第一章 绪论	1
第一节 微生物与微生物学	1
一、微生物及其特点	1
二、微生物学及其研究内容	6
三、微生物与发酵工业	7
第二节 微生物学的发展	14
一、古代劳动人民对微生物的利用和控制	14
二、微生物的发现和微生物学发展简史	16
三、我国工业微生物学研究和应用发展概况	20
第三节 微生物的分类和命名	21
一、微生物在生物界中的地位	21
二、微生物的分类方法	22
三、微生物的命名法则	27
第二章 微生物的形态与分类	30
第一节 细菌	30
一、细菌的形态和大小	31
二、细菌细胞的一般构造及特殊结构	35
三、细菌的繁殖方式和培养特征	51
四、细菌的分类	54
五、发酵工业中常用常见的细菌	59
第二节 放线菌	66
一、放线菌的形态和构造	67
二、放线菌的繁殖	70
三、放线菌的分类	71

四、发酵工业上常用的放线菌·····	73
第三节 酵母菌·····	74
一、酵母菌的形态和大小·····	75
二、酵母菌的细胞构造·····	77
三、酵母菌的繁殖方式与生活史·····	86
四、酵母菌的分类·····	96
五、工业上常见常用的酵母菌·····	108
第四节 霉菌·····	115
一、霉菌的形态和构造·····	116
二、霉菌的繁殖方式和生活史·····	128
三、霉菌的分类·····	137
四、发酵工业上常见常用的霉菌·····	140
第五节 担子菌(高等真菌)·····	153
一、担子菌的一般形态和构造·····	153
二、担子菌的繁殖方式和子实体的形成·····	155
第六节 噬菌体·····	156
一、噬菌体的形态和构造·····	157
二、噬菌体的生长和繁殖·····	159
三、噬菌体的生活史·····	161
四、噬菌体的分离检查·····	163
五、噬菌体的防治·····	166
六、酵母的病毒(Killel杀伤因子)·····	171
第三章 微生物的营养与生长·····	174
第一节 微生物的营养·····	174
一、微生物的营养类型·····	174
二、微生物的营养物质·····	177
三、营养物质的跨膜输送·····	186
四、微生物培养基·····	194
第二节 微生物的生长·····	204

一、微生物个体细胞的生长	205
二、微生物群体的生长	210
三、微生物生长的测定	226
四、生长与工业发酵目的产物的生成	232
第四章 微生物的代谢与调节	242
第一节 微生物的能量代谢	242
一、微生物生物氧化的产能模式	244
二、微生物的氧化磷酸化机制	246
三、微生物的能量途径	254
第二节 微生物的合成代谢	273
一、微生物进行生物合成的先决条件	273
二、生物大分子的前体物质的合成	278
三、生物大分子的合成	287
第三节 微生物的代谢调节	304
一、物质代谢的相互关系	306
二、微生物的代谢调节与控制	308
三、代谢的人工控制及其在发酵工业上的应用	324
第五章 环境因子对微生物生长及代谢的影响	331
第一节 环境因子对微生物生长和生存的影响	331
一、物理因子对微生物生长的影响	331
二、化学因子对微生物生长的影响	344
第二节 微生物的人工培养和控制发酵的实现	348
一、菌种和培养基	348
二、灭菌和消毒	351
三、控制发酵的实现	360
第六章 微生物遗传与菌种选育	363
第一节 育种的遗传学基础	364
一、遗传学基本规律	364
二、遗传的物质基础	372

第二节 从自然界分离菌种	380
一、采样	380
二、增殖培养	383
三、分离	385
四、筛选	393
第三节 基因突变	394
一、突变现象及诱发因素	395
二、突变机制	399
三、诱发突变方法	403
第四节 基因重组	419
一、真核微生物的基因重组	420
二、原核微生物的基因重组	426
三、原生质体融合(Protoplast Fusion)	436
四、基因工程(Genetic Engineering)	441
第五节 育种方法	446
一、育种的基本步骤	446
二、营养缺陷型突变株的筛选	456
三、抗性突变及其它特殊性能变异株的筛选	462
第六节 菌种的保藏	468
一、菌种的退化及其防治	468
二、菌种的保藏	474
第七章 微生物的生态与环境保护	482
第一节 自然界中的微生物	482
一、土壤中的微生物	483
二、水中的微生物	486
三、空气中的微生物	491
四、腐败食品中的微生物	494
第二节 微生物之间的相互关系	496
一、中性共生现象	497

二、同住现象	497
三、互惠共生现象	497
四、共生现象	498
五、竞争现象	498
六、拮抗现象	499
七、寄生现象	500
第三节 微生物与环境保护	500
一、水的污染源	500
二、处理废水的微生物法	501
第八章 微生物学实验技术	513
实验须知	513
实验一 显微镜的构造及使用方法	514
一、目的要求	514
二、实验器材	514
三、普通光学显微镜简介	514
四、实验内容	521
五、结果与思考题	521
实验二 酵母菌细胞形态观察、死活细胞的染色鉴别	522
实验三 显微镜油浸镜的使用方法及细菌形态观察	523
实验四 细菌的一般染色技术	525
实验五 细菌的特殊染色技术	530
实验六 酵母菌细胞内部结构成分的染色观察	533
实验七 放线菌的形态观察	535
实验八 霉菌的形态观察	536
实验九 酵母菌子囊孢子的培养及染色观察	539
实验十 假丝酵母假菌丝的培养及观察	541
实验十一 微生物大小的测定	542
实验十二 酵母菌细胞总数及出芽率测定	546

实验十三	玻璃器皿的清洗、包扎, 培养基的配制 及灭菌	549
实验十四	微生物的纯培养技术	554
实验十五	厌氧微生物的培养技术	563
实验十六	噬菌体的分离、纯化及效价测定	565
实验十七	微生物的平板菌落计数法	569
实验十八	酿造用水中大肠杆菌群菌数的测定	572
实验十九	营养缺陷型菌株的筛选	576
实验二十	酵母菌对糖类的发酵和对氮源的利用	579
实验二十一	菌种保藏技术	581
实验二十二	显微摄影技术	583
实验二十三	电子显微镜的构造及使用方法	586
附录		592
I. 染色液的配制		592
II. 教学用培养基的配制		596

第一章 绪 论

细菌、酵母、霉菌、藻类、原生动物和病毒形成了生物学上的一个群体,看上去它们虽然形态各异,但在形体微小、结构简单等方面却很相似。因此,把它们通称为微生物。对于它们的研究形成了一门科学,称为微生物学。

第一节 微生物与微生物学

一、微生物及其特点

微生物不是生物分类学上的名词,而只是所有形体微小的单细胞,或个体结构较为简单的多细胞,或没有细胞结构的低等生物的通称。按照魏塔克(Whittaker)1969年提出的生物界的新概念,所有具有细胞结构的生物,可按原核、真核单细胞、真核多细胞和多核三个水平,以及营养吸收的三种方式,即光合、吸收、摄取,而分为五个界,即原核生物界、原生生物界、真菌界、植物界与动物界。微生物学的研究对象只涉及原核生物界、原生生物界、真菌界以及没有细胞结构的病毒界生物。

微生物横跨几个界。从广义上说,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都属于微生物范畴。在发酵工业中经常遇到的是细菌、放线菌、酵母菌、霉菌(小型丝状真菌)及危害细菌、放线菌生长的病毒(噬菌体)等。这些微生物虽然形态不同,大小各异,但它们具有一些共同的特点。如都是简单而低等的生命形式,它们的生活习性、繁殖方式、生态分布等都很相似,个体小、种类多、繁殖快、分布广、容易培养、代谢能力强、易变异改造等特点。正是由于微生物

的这些特点，使微生物在工农业生产上具有不可估量的本领，也使许多科学家越来越重视对它们的研究。

下面就分别介绍它们这些共同的特点：

1. 个体小

一般而言，若不凭借显微镜的帮助，用肉眼是不能看到微生物的。但从整个微生物领域来讲，也有较大的，如原生动物、藻类、地衣等，它们的细胞比霉菌大；也有比细菌更小的，如立克次氏体，而病毒则必须使用电子显微镜才能进行观察。微生物的大小一般用微米(μm)作单位。部分微生物的大小如图1-1所示。与红血球相比，曲霉的分生孢子大致与红血球直径相当，曲霉的顶囊为红血球的五倍左右，而细菌、立克次氏体等比红血球小得多。

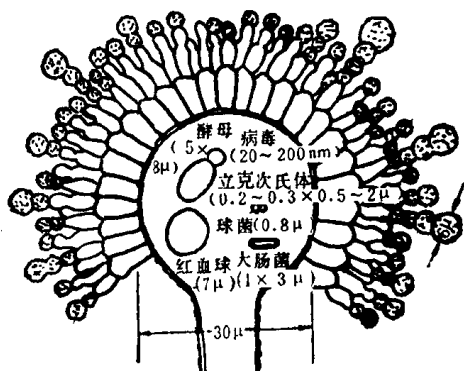


图 1-1 微生物大小的比较

2. 种类多

就目前已发现的微生物而言，已经有十万种以上。这众多的不同种类的微生物，具有各自不同的生活习性和代谢方式，能分解利用不同的有机物质，能合成积累多种不同的代谢产物。因此，微生物在与动物、植物一起构成自然界元素循环时，能使千万种具有不同分解程度的有机物残渣分解成小分子化合物。这些小分子化合物最终被植物吸收或进入大气中。正因为微生物的种类

繁多,能适应的物质也几乎无所不包,故人们常利用它们来防治公害。微生物所积累的不同的代谢产物常被用于生物合成技术方面,即利用微生物和一些易得的碳、氮营养物质来生产各种发酵产品,如发酵食品、溶剂、抗菌素、酶制剂、多种生物试剂,及化工产品、原料等。

3. 繁殖快

微生物的繁殖速度比高等动植物要快千万倍。例如,大肠杆菌在适宜条件下繁殖一代的时间只需20~30min。因此,用微生物将简单的营养物质合成目前世界上缺乏的蛋白质,引起了许多科学家的兴趣。菌体蛋白与牛肉等蛋白质的氨基酸组成基本相似,营养价值颇高,而用于生产蛋白的微生物的世代周期可以是2~9h(酵母)或0.5~2.5h(细菌)。一个总占地面积为20m²左右的发酵罐一天生产的蛋白质就相当于一头牛,这是动物饲养根本不可能达到的。菌体蛋白不仅可作饲料,而且可作药用,还可作培养基,以生产多种生物试剂。此外,微生物繁殖速度快、代谢产物积累就迅速,发酵生产的速度也较快。

但微生物的繁殖速度不是一成不变的。如果单以每20分钟细菌繁殖一代来计算,则24小时后细菌的细胞可由一个增至 5×10^{21} 个,其干重将以万吨计,这是不堪设想的,会造成严重危害。但是事实上,由于营养物质的消耗、代谢产物的积累,pH值的变化等,即使是在很适宜的营养环境中,微生物的繁殖速度也会迅速下降,细胞死亡的速度加快,因此不会造成什么危害。但要看到,繁殖快将对发酵工业生产和人体的健康带来威胁,因为当杂菌混入发酵的微生物中时,它的快速繁殖会造成生产的不正常或失败,而病害微生物的繁殖扩散所造成的社会影响更大。

4. 分布广

微生物在自然界中的分布极其广泛,从2000m高的天空到大海深处,从冰雪覆盖的极区到终年炎热的赤道,空气中、地面物体及土壤中、水中,甚至动植物的体表和内脏中,到处都有微生

物的存在。其中，土壤是微生物的大本营，任何一小团土都是一个微生物的世界。可以从中发现许多种类的微生物。 1cm^3 肥沃土壤中所包含的微生物个体数约在亿个数量级以上。

微生物的分布并不是均衡的。以其分布密度而言，温带地区的有一定营养物质(有机物、无机物及水分)的土壤的上层，为微生物最密集的区域；温度过高(如温泉、火山灰等)或过低(如极区、雪线之上)、贫瘠、干燥的土壤以及土壤的表面及很深的地下，微生物的数量则大为减少。

微生物的分布也存在一定的规律性倾向，这与微生物的生活习性、营养需要等密切相关。对于不同的生态环境，如环境中主要的碳源、氮源、无机盐的种类、水分的多寡，pH值的高低及氧化还原电位等，不同的微生物反映不同，适宜的就大量繁殖，从而成为这里的主要生物相成分，不适宜的微生物的繁殖就减慢或停止，甚至死亡，在少量样品中就无法察觉它们的存在。因此在分离特定的微生物时，人们往往根据其生活习性 & 营养需求，而有选择性地某些特定环境取样分离，这样可提高效率。

5. 容易培养

微生物能在自然界中广泛存在并大量繁殖的一个重要原因，就在于它对于营养条件、温度、pH值等一般没有苛刻的要求。在常温、常压及 pH 中性的条件下，若环境中普遍存在简单的有机物(如淀粉、纤维素、糖类、蛋白质)和无机盐等，则大多数微生物都可进行培养繁殖，并在生长过程中积累代谢产物。这在微生物的研究和应用上是极为有利的。它可使微生物应用工业在温和的常温、常压和中性条件下，以一些无毒性的农副产品(如廉价的山芋干、玉米粉、油类作物籽粕如豆饼粉等)作为原料，生产各种发酵食品、饮料、药物和多种生化试剂。与化工合成法相比，它既不需要耐高温、高压及酸、碱腐蚀的设备，也不需要精细昂贵的化工原料，节约能源，而且不需要添加催化剂之类的有毒物质，保证产品安全。

6. 代谢能力强

由于微生物个体很小，具有巨大的比表面积（表面积与容积之比），因此它们能够在细胞机体与外界环境之间迅速交换营养物质和废物；此外，由于微生物的细胞世代周期短，为适应繁殖需要，它们的体内会不断合成具有高活性的代谢酶类，因而其代谢强度极大。从单位重量来看，微生物代谢强度比高等动物的代谢强度要大几千至几万倍。1kg酵母菌即可在一天内使几千千克糖代谢形成酒精。微生物的代谢能力强对于提高发酵速度是极有利的，既能实现快速发酵生产，又能快速分解和处理有害物质。

7. 容易变异

微生物细胞体系简单，许多是单细胞的。在受到外界的物理、化学因素影响后，细胞内的遗传物质容易发生变化，并且很快就会使细胞的遗传性状发生变化。这种变异了的细胞可以按照变化后的情况稳定地繁殖后代；而在高等动物中，某个细胞的变化不会引起整个机体遗传性状的变化，即使是生殖细胞的变化也要受到多种因素的限制。微生物的容易变异的特性已经成为许多科学家的研究目标和工具。人们采用人为的理化因素强烈处理，诱发微生物变异，改变微生物的代谢途径和调节机制，从而使原来微生物不能大量分泌和积累的中间代谢产物等可以大量形成。并为此建立了一些新的发酵工业体系，如谷氨酸以外的多种氨基酸发酵生产，核苷酸发酵生产等；即使是传统的利用天然菌株进行发酵的产品，也采用了育种的方法来提高产量、减少杂质和副产物、提高原料的利用率、简化工艺和改善质量、风味等。可以讲，绝大多数的发酵已经使用了变异菌株。

变异和变异性状的表现同样成为科学家研究基因功能的工具，通过对微生物的研究，可以建立高等动、植物的遗传模式。

微生物的上述特点被利用于工农业等领域，为人类造福；但要看到对人类有害的微生物，如病害微生物、霉腐微生物，也同

样具有上述特点，这就增加了微生物的破坏性和危害性，同时给防止这些有害微生物的破坏带来了很大的困难。

二、微生物学及其研究内容

微生物学是研究微生物及其生命活动的学科。研究的内容涉及微生物的形态结构、分类鉴定、生理、生态、营养、遗传变异以及微生物之间的关系等。工科大学发酵专业的微生物学还要着重介绍与发酵工业生产有关的微生物的特殊生长规律和代谢机理。

实质上，发酵过程就是利用微生物作为动力，生产某种特定产物的生微化学过程。微生物是发酵工业的核心，是活的灵魂；而微生物学则是发酵专业技术课——工艺学、过程及设备的基础，微生物的作用和影响始终贯穿在这些课程中。只有充分理解和掌握了微生物学知识，才能真正懂得制定工艺条件的依据和设备的设计要求。

通过微生物学的教学和实验，要使发酵专业学生具备牢固的微生物学理论基础知识和熟练的操作技能。要求学生在形态上能够阐明微生物的结构与功能；生理上掌握细胞的代谢规律及微生物培养的各种外界条件对发酵产品的种类、产量和质量的影响；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，了解微生物对环境污染处理的基本原理；分类上要了解微生物的分类依据及如何判别、鉴定；遗传变异上要了解微生物的遗传因子和环境条件之间的辩证关系，掌握菌种选育的基础理论和基本方法。

开发微生物在生物固氮、冶金、环境保护等方面的应用也是微生物学的重要研究内容；而防止微生物的霉腐、致病等同样是微生物学的重要研究内容。

作为目前世界科学发展的前沿学科领域之一的生物工程，也是以微生物学作为其重要的基础理论的。微生物的培养技术，包括

营养要求,深层培养等,为细胞工程提供了十分有益的方法;微生物酶制剂的大力开发,促进了酶工程的发展;而反过来酶工程又为微生物的培养利用提供了固定化微生物这一新技术;微生物作为遗传研究对象,揭示了遗传学的许多理论问题的本质,使遗传学研究由经典的个体水平发展到细胞水平,并发展到分子水平,在此基础上确立的基因工程或遗传工程主要以微生物为目标,使微生物的应用领域更宽,培育了在自然界中并非天然存在的具有优异性能的超级微生物;发酵工程本身也得到了扩展和深化。从这一角度出发,要求发酵专业的工程师们对于微生物学给予特别的重视。由此可见,微生物学是微生物方面一系列课程(即:微生物生理学、微生物遗传学、育种技术、遗传工程基础和技术等)的基础。

三、微生物与发酵工业

发酵工业所使用的微生物目前仅限于非寄生性的一小部分微生物,而大部分微生物尚未得到发掘利用。各种发酵工业上已经使用的主要的微生物可综述如下:

1. 酿造食品

食醋的生产是由乙醇经微生物的氧化作用而实现的,参与氧化过程的微生物有醋杆菌属的一些种。其中,在酒厂、啤酒厂和葡萄酒厂中所发现的一些能由啤酒、葡萄酒生产的醋酸,具有忍受啤酒花成分的醋杆菌,它们是这些厂的有害微生物。胶醋杆菌(*Acetobacter xylinum*)在许多醋厂作为天然醋酸菌用于生产白醋,但这种菌产醋慢,同时产生恶臭及劣味物质,并能使醋分解,应视为污染菌。醋厂人工培育的速酿醋菌有产醋醋杆菌(*A. acetigenum*)许氏醋杆菌(*A. schutzenbachii*)及弯醋杆菌(*A. curvum*)等。这些菌在环境中并非天然存在,它们对制醋具有特别良好的性能,并具有对营养物质要求简单,迅速,高产和粘质形成少的优点。醋杆菌还可用于由山梨醇生产山梨糖,或由甘油生产