

高职高专行动导向教学配套使用教材

微生物基础技术

MICROBIAL BASIC TECHNOLOGY

李 莉 ◎ 主 编



武汉理工大学出版社
WUTP Wuhan University of Technology Press

高职高专行动导向教学配套使用教

微生物基础技术

主 编 李 莉 陈其国
副主编 尹 喆
主 审 陈守文

武汉理工大学出版社

· 武 汉 ·

内 容 提 要

本书围绕显微、无菌、分离纯化、形态鉴别、生长测定、育种和菌种保藏七大微生物学基础技术构建内容体系,根据“必需”、“够用”的原则编写而成,主要内容包括:绪论;显微技术;消毒与灭菌技术;微生物分离培养技术;微生物鉴别技术;微生物生长测定技术;微生物育种技术;菌种保藏技术等部分。

本书可作为高等职业技术学院生物学相关专业教材,也可用于相关职业培训。

图书在版编目(CIP)数据

微生物基础技术/李莉主编. —武汉:武汉理工大学出版社,2010.10
高职高专行动导向教学配套使用教材
ISBN 978-7-5629-3318-2

I. ①微…
II. ①李…
III. ①微生物学
IV. ①Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 191500 号

出版发行:武汉理工大学出版社(武汉市洪山区珞狮路 122 号 邮编 430070)

<http://www.techbook.com.cn> 理工图书网

经 销 者:各地新华书店

印 刷 者:安陆市鼎鑫印务有限责任公司

开 本:787×1092 1/16

印 张:21.25

字 数:544 千字

版 次:2010 年 10 月第 1 版

印 次:2010 年 10 月第 1 次印刷

印 数:1—3000 册

定 价:33.00 元

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页等印装质量问题,请向出版社发行部调换。

本社购书热线电话:(027)87397097 87394412

E-mail:quswwutp@163.com wutp2005@126.com

前言

微生物技术是生物技术、医药、农林、食品等专业的一门基础课程,在生产实践和科学研究中应用广泛。

高等职业教育中的微生物技术课程目标就是学习和掌握微生物学基础技术、基础知识,并灵活应用这些技术完成诸如微生物发酵生产、产品和过程的微生物检测、菌种筛选和保藏等工作任务。因此针对高等职业教育的教材就应该突出微生物学独特技能和解决问题方法的培养,编排上适应高职学生学习心理。以此为目标,自2005年起本课程组进行了三轮改革——高职微生物教学方法改革、职业能力中心内容体系改革和基于工作过程的行动导向课程改革,对职业教育及其对象的特点进行了研究,构建起“以发展职业能力为中心”职教课程内容体系,并进行了行动导向的教学实践,得到了企业界和学生的认同和肯定,形成了以七大基础技术为中心的微生物学基础技术体系。

本书在结构体系、内容范围和写作上有以下特点:

本书按照微生物基础技术体系编写,以显微、无菌、分离纯化、形态鉴别、生长测定、育种和菌种保藏七大微生物学基础技术为中心构成具有开放性的内容体系,七大单项技术节点可构成技术链完成不同岗位的各项工作任务。以菌种岗位为例,无菌、纯培养、生长测定、显微技术构成的技术链可以完成菌种扩大培养工作任务;无菌、纯培养、形态鉴别、菌种保藏构成技术链以完成菌种保藏工作;无菌、分离培养、形态鉴别和显微技术构成技术链以完成菌种复壮工作;无菌、分离培养、形态鉴别、育种技术构成技术链以完成菌种选育工作。结合生理生化反应鉴别技术、基因操作技术等,可以鉴定微生物,与其他诸如细胞培养、基因工程等新技术结合可以完成更多研究和生产任务。

各单项技术内容的编排特点是先练技术,再理解理论,围绕技术和能力的培养这个中心学习理论。技术操作介绍或概述原理、方法、基本操作流程、器材和仪器等,或以典型常用方法为例介绍一种技术方法的基本操作,突出操作技能的培养。技术操作介绍之后安排相关知识和理论,学习者在学会技术操作基础上通过理论的研究和讨论,更易理解技术操作规范,能够处理多变的现场问题,适应生物技术行业多因素影响、交互复杂的职业特点,突出职业能力的培养。将各单项技术组合技术链加以应用,以完成工作任务的完整过程,对学习者的职业能力的提升也极为有效。

本书在微生物基础技术体系框架下,按照理论和知识“必需”、“够用”的原则处理教学内容,即选择与七大基础技术有关的理论和知识组织教材内容,删减微生物学科体系的枝蔓内容,其中相关的应用和社会热点问题、生活实践、历史故事、岗位要求等制作成“超链接”,作为开阔眼界、提高微生物学素质的阅读教材;与七大技术相关的研究性的理论和知识、案例、学科前沿聚焦、工具巧用等内容作成“转接口”,搭建了一级一级逐步深入的阶梯。

本书在每一章起始明确提出技能、知识、职业态度三维课程目标,使学习者对本章的学习目的清晰。概念地图和小结首尾呼应,揭示本章内容间的相互关系以及与其他章节的联系,指导学习者理清思路。供选做的思考题,可帮助学习者巩固必需的理论 and 知识,为掌握技能打下坚实基础。

本书每章通过引起学习者思考来导入,目的一是引起学习者对本章内容的兴趣,二是提示本章的重点内容或要解决的问题,同时问题本身也揭示了本章主要内容之间的联系。

建议本书与《微生物基础技术项目学习册》配合使用。《微生物基础技术项目学习册》给出真实的工作任务,并提出系列问题引导学生形成完成任务的思路,通过完成工作任务的完整过程,将微生物技术内化于学习者自身的知识体系中,使学习者掌握操作技能,更重要的是能自如运用这些技能完成任务、解决问题。根据建构主义学习理论,理解是一个过程,学习者必须自主地发现、转换复杂的信息,以使信息真正为自己所有。因此强调学习是自上而下的加工,即学习者从复杂的任务或问题入手,寻找完成这类任务或解决这类问题所需的基本知识、技能和策略,在学业活动背景中理解、掌握和应用。这样的学习过程能够较好地实现应用技术完成任务或解决问题的学习目标。

建议以学生为中心组织教学活动,教师引导学习者建立完成微生物相关工作任务的思路,呈现典型方法或通用流程,学习者通过自主学习,设计完成任务的实施方案,实施并自主进行过程监控,自我评价,通过展现成果的方式接受质询和反馈,从而掌握微生物基础技术,同时构建完成任务的策略。

本书由李莉(武汉职业技术学院)担任主编,尹喆(武汉职业技术学院)、陈其国(武汉职业技术学院)担任副主编,华中农业大学陈守文教授担任主审。

本书具体编写分工如下:

赵艳霞(武汉职业技术学院)、李燕(十堰职业技术学院)编写绪论和第一章;

尹喆、徐汪(咸宁职业技术学院)编写第二章、第七章和第三章第五节;

李莉、别运清(襄樊职业技术学院)编写第三章第一至第四节;

陈其国、冯小俊(恩施职业技术学院)编写第四章;

刘明华(武汉职业技术学院)编写第五章;

鞠守勇(武汉职业技术学院)编写第七章;

企业技术人员参与方案制定和提供企业相应的技术规范和要求。

全书由李莉统稿,尹喆校对。

红桃 K 集团股份有限公司马昕、武汉科诺生物科技有限公司陈又香、武汉新华扬生物股份有限公司王大春、湖北联合药业有限公司罗京等企业技术人员参与课程组教学改革,并结合企业要求,提出诸多富有建设性的意见和建议,在此表示诚挚感谢!

本书的编写中,参考了很多资料、文献及网上资源,难以一一鸣谢作者,在此一并表示感谢。

本课程组在武汉职业技术学院生物工程学院进行的三轮教学改革,得到了卢洪胜院长的大力支持,获得了武汉大学胡佑伦教授的悉心指导。同时,本书在编写过程中得到了武汉理工大学出版社曲生伟编辑的热情帮助,在此表示衷心感谢。

由于微生物学知识浩瀚繁杂,本书体系又是突显高职“职业能力发展为中心”特点的一种探索,难免会有疏漏之处,恳请读者批评指正,请发送邮件至 lilly@126.com,以便修正。

编 者

2010年7月

目 录

绪论	(1)
第一节 微生物及其特点	(2)
第二节 人类认识和利用微生物的历程	(5)
第三节 微生物的应用	(9)
第四节 微生物基础技术	(11)
本章小结	(13)
习题与思考题	(13)
第一章 显微技术	(14)
第一节 显微观察样品的制备	(15)
第二节 普通光学显微镜的结构和使用	(18)
第三节 相差显微镜的结构和使用	(25)
第四节 其他种类的显微镜及其用途	(28)
本章小结	(31)
习题与思考题	(31)
第二章 消毒与灭菌技术	(32)
第一节 概述	(33)
第二节 物理消毒灭菌法	(36)
第三节 化学消毒灭菌方法	(49)
第四节 影响消毒与灭菌效果的因素	(58)
本章小结	(61)
习题与思考题	(61)
第三章 微生物分离培养技术	(62)
第一节 微生物分离培养技术	(63)
第二节 微生物的营养	(87)
第三节 微生物的培养基	(98)
第四节 环境对微生物生长的影响	(104)
第五节 微生物的代谢	(122)
本章小结	(151)
习题与思考题	(151)

第四章 微生物形态鉴别技术	(153)
第一节 微生物形态鉴别技术	(155)
第二节 细菌	(171)
第三节 放线菌	(184)
第四节 酵母	(190)
第五节 霉菌	(198)
第六节 病毒	(207)
第七节 其他原核微生物简介	(220)
本章小结	(226)
习题与思考题	(227)
第五章 微生物生长测定技术	(228)
第一节 微生物生长繁殖的测定技术	(229)
第二节 微生物的生长规律	(247)
第三节 食品、药品的卫生要求和微生物学标准	(254)
本章小结	(258)
习题与思考题	(259)
第六章 微生物育种技术	(260)
第一节 遗传变异的物质基础	(261)
第二节 原核微生物的基因重组	(268)
第三节 真核微生物的基因重组	(278)
第四节 微生物育种	(280)
本章小结	(298)
习题与思考题	(298)
第七章 菌种保藏技术	(300)
第一节 菌种保藏技术	(301)
第二节 菌种保藏机构简介	(308)
本章小结	(310)
习题与思考题	(310)
附录	(311)
附录一 玻璃仪器的洗涤及各种洗涤液的配制	(311)
附录二 常用培养基配方	(314)
附录三 常用染色液的配制	(322)
附录四 常用试剂和指示剂的配制	(325)
附录五 最大或然数(MPN)统计表	(329)
参考文献	(331)



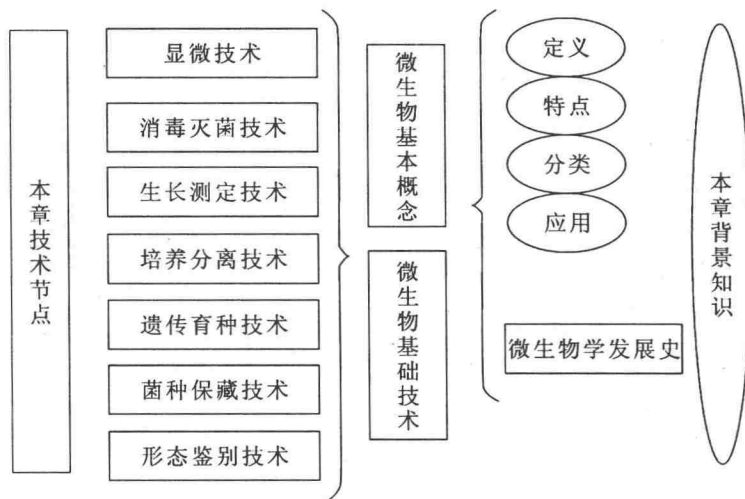
绪 论



学习目标

1. 知识:能复述微生物的定义、特点及分类;理解微生物常用的七大基础技术;认识微生物在各个方面的应用;了解微生物学的发展史。
2. 态度:通过对微生物定义及特点的学习,培养对微观事物科学的、实事求是的、认真细致的学习态度。

本章概念地图



思 考

Q:生物界除了丰富的动物、植物,还有其他生物吗?

A:被广泛接受的生物六界学说认为,除了动物、植物,自然界还有病毒界、原核生物界、原生生物界和真菌界,它们都属于微生物。

Q:微生物在日常生活中存在吗?为什么我们看不到?

A:微生物在日常生活中是广泛存在的,但是由于微生物体积很小,所以我们人类无法用肉眼看到。

第一节 微生物及其特点

在地球上,生活着数百万种生物。大多数生物(人类、动物和植物)体形较大,肉眼可见。然而,在我们周围,除了这些较大的生物以外,还存在着—类体形微小,数量庞大,肉眼难以看见的微小生物,我们称之为微生物(microorganism)。微生物虽然微小,让人觉得“看不见”,“摸不着”,似乎感到陌生,但是,凭借微生物技术,我们能够研究微生物,发现微生物与人类生活及经济建设有着密切的关系。

一、什么是微生物

微生物是指一群体形微小,结构简单,肉眼看不见或看不清楚的微小生物的总称。这个定义具有两个方面的含义。一是体积微小,以至于肉眼通常无法感觉到它们的存在,因此必须借助于光学显微镜或电子显微镜才能看清它们的外形,用 μm 和 nm 为单位来进行微生物大小测量;二是结构简单,大多为单细胞或简单的多细胞,有的甚至不具备细胞结构。

二、微生物的特点

微生物和动植物一样具有生物最基本的特征——新陈代谢和生命周期。除此之外,微生物还具有繁殖快、种类多、分布广、易培养、代谢能力强、易变异等特点,这是自然界中其他生物不可比拟的,而且这些特征归根到底是与微生物体积小、结构简单有关。

1. 繁殖快

一般在适当的条件下,微生物细胞每隔 $12.5\sim 20\text{ min}$ 即可分裂1次,细胞的数目比原来增加1倍。以大肠杆菌为例,一个大肠杆菌 20 min 分裂1次,变成2个子细胞,而每个子细胞都具有相同的繁殖能力。那么1 h后,变成 $8(2^3)$ 个,24 h后,原始的1个细胞变成了 2^{72} 个细菌。如果将这些细胞排列起来,可将整个地球表面覆盖;若每10亿个细菌按1 mg重量来计算, 2^{72} 个细菌质量则超过4772 t。假使再这样繁殖4~5天,它就会形成和地球同样大小的物体。事实上由于种种客观条件的限制,细菌的分裂速度只能维持数小时。

微生物的这一特性在发酵工业上具有重要的实践意义。这主要体现在它的生产效率高,发酵周期短,如培养酵母生产蛋白质,每8 h就可以“收获”一次,但若种植大豆产生蛋白质,最短也要100天。

2. 种类多

微生物在自然界中是一个十分庞杂的生物类群。据统计,目前发现的微生物有10万种以上。从种数来看,由于微生物的发现和研究的比动物、植物迟得多,加上鉴定种的工作和划分种的标准等较为困难,所以首先着重研究的是与人类关系最为密切的微生物。随着分离、培养方法的改进和研究工作的深入,微生物新种、新属、新科甚至新目、新纲屡见不鲜。例如最早发现的较大型微生物——真菌,至今还以每年约1500个新种不断递增。

3. 分布广

微生物在自然界分布极为广泛,土壤、水域、大气中几乎到处都有微生物的存在。上至 85 km 的高空(地球物理火箭取样),深至 10000 m 的海底,高至 300 °C 以上的高温,低至 -250 °C 的低温以及动植物体的体表、体内都有微生物的存在。

微生物之所以分布广泛,与微生物本身小而轻密切相关。小的个体,使任何地方都可以成为微生物的藏身之地。这么轻的个体,使微生物可以随风飘荡,走遍天涯。

(1) 土壤中微生物的分布。土壤是微生物的“大本营”,半尺深的耕作层,其细菌的活重就会达每公顷 6.0~15.3 kg。土壤之所以是微生物生活的最适宜的环境,是因为它具有微生物所需的一切营养物质和微生物进行生长繁殖及生命活动的各种条件。土壤中的动物、植物遗体是微生物最好的食料;土壤矿物质成分中含有微生物所必需的 S、P、K、Fe、Ca 等大量营养元素和 Be、Mo、Zn、Mn 等微量元素,矿物质的含量、浓度适于微生物的发育;土壤中的 pH、渗透压、氧气含量、温度等适宜微生物生活;同时还可以保护微生物免于被阳光直射而致死。所以,土壤又有“天然培养基”之称。

(2) 水中微生物的分布。水中的微生物主要来自土壤、空气、动物排泄物、动植物尸体、工厂和生活污水等。仅细菌而言,分类学上的 47 科中就有 39 科的代表可以在水中找到。

微生物分布广泛,对我们人类来讲,有其有利的一面,我们可以更好地开发菌种资源,从各种场所筛选到我们所需要的微生物,如我国曾多次从土壤中筛选到许多抗生素的产菌;但是如果不加注意,也会引起麻烦,例如饮用水的净化和消毒。

4. 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、化工原料都较化学合成法具有许多优点,它们不需要高温、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生产。

另外,微生物所利用的原料比较简单。例如生产白酒、酒精和柠檬酸等可以用廉价的山芋干等淀粉类材料为原料,许多精细的抗生素药物也是利用豆饼粉和玉米粉为原料生产的。

再有,就是不用特殊的催化剂,一般产品具有无毒性。例如,通过微生物发酵法利用醋酸可的松生产醋酸强地松,只用葡萄糖、玉米浆为原料,最后的产品无毒性;而用化学合成法生产,由于原料中有二氧化硒,所以产品会有毒性。

5. 代谢能力强

微生物体积小,单位体积表面积大,因而微生物能与环境之间迅速进行物质交换,吸收营养和排泄废物,而且有很大的代谢速度。从单位质量来看,微生物的代谢强度比高等生物大几千倍到几万倍。如发酵乳酸的细菌在 1 h 内可分解其自重 1000~10000 倍的乳酸。

6. 易变异

大多数微生物是单细胞微生物,被物理的、化学的诱变剂处理后,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。

人们利用微生物易变异的特点进行菌种选育,可以在短时间内获得优良菌种,提高产品质量。例如,青霉素生产菌,开始时每毫升发酵液中只有几十个单位的青霉素,现经菌种诱变处理后可提高到几万个单位。

由于微生物既具有生物的一般特性,又具有其他生物所没有的特点,因而微生物就成为了人们研究许多生物学基本问题最理想的实验材料,同时还广泛地被用于农业、工业、医药等领域,推动和加快了生命科学的研究发展,特别是在当前掀起新技术革命的浪潮中,微生物更是引起了人们的重视,优先得到开发和利用,微生物工程作为生物工程的突破口而迅速发展。

三、微生物的分类

微生物的种类繁多,有数十万种以上。但从细胞构造是否完整的角度来看,可以把微生物分成三大类型。

1. 真核微生物

这一类微生物具有完整的细胞构造,细胞核的分化程度较高,且细胞核被核膜包围。例如酵母菌、霉菌、真菌等,因此又称为真核细胞型微生物。大多数微生物属于真核细胞。

2. 原核微生物

这一类微生物虽然具有细胞构造,但只有原始的细胞核,细胞核分化程度比较低,没有核膜。例如细菌、放线菌、蓝细菌、细菌、螺旋体等。原核微生物又称为原核细胞型微生物。

3. 非细胞微生物

这一类微生物没有细胞构造,只有裸露的核酸和蛋白质。因此必须寄生在活的易感细胞内生长繁殖。例如病毒、类病毒。

四、微生物在生物界中的地位

由于微生物种类的多样性,因此在生物界中占有重要的地位。1969年魏塔克首先提出五界系统,把自然界中具有细胞结构的生物分为五界。根据我国学者的建议,无细胞结构的病毒应另列一界,这样便构成了生物的六界系统。1978年伍斯等提出了生命起源的三原界系统,现称为三域学说,即将整个生物界分为古生菌域(Archaea)、细菌域(Bacteria)和真核生物域(Eukarya)三个域,把传统的界分别放在这三个域中,这个学说已基本被各国学者所接受。

从表 0-1 中可以看出,在六界系统中微生物占有四界,既有原核生物,又有真核生物,还有非细胞结构的生物,从而显示了微生物分布的广泛性及其在自然界中的重要地位。

表 0-1 微生物在生物六界系统中的地位

生物界名称	主要结构特征	微生物类群名称
病毒界	无细胞结构,大小为纳米(nm)级	病毒、类病毒
原核生物界	为原核生物,细胞中无核膜与核仁的分化,大小为微米(μm)级	细菌、蓝细菌、放线菌、支原体、衣原体、螺旋体等
原生生物界	细胞中具核膜与核仁的分化,为小型真核生物	单细胞藻类、原生动物等
真菌界	单细胞或多细胞,细胞中具有核膜与核仁的分化,为小型真核生物	酵母菌、霉菌等
动物界	细胞中具有核膜与核仁的分化,为大型能运动真核生物	
植物界	细胞中具有核膜与核仁的分化,为大型非运动真核生物	



微生物王国奇观

微生物是地球上最早的“居民”。微生物所以能在地球上最早出现,又延续至今,这与它们特有的食量大、食谱广、繁殖快和抗性高等有关。个儿越小,“胃口”越大,这是生物界的普遍规律。如果将一个细菌在一小时内消耗的糖分换算成一个人要吃的粮食,那么,这个人得吃 500 年。微生物不仅食量大,而且无所不“吃”。地球上已有的有机物和无机物,它们都贪吃不厌,就连化学家合成的最新颖、复杂的有机分子,也都难逃微生物之“口”。人们把那些只“吃”现成有机物质的微生物,称为有机营养型或异养型微生物;把另一些靠二氧化碳和碳酸盐自食其力的微生物,叫做无机营养型或自养型微生物。微生物不分雌雄,它的繁殖方式也与众不同。以细菌家族的成员来说,它们是靠自身分裂来繁衍后代的,只要条件适宜,通常 20 min 左右就能分裂一次,一分为二,二变为四,四分成八……就这样成倍成倍地分裂下去。

虽然这种呈几何级数的繁衍,常常受环境、食物等条件的限制,实际上不可能实现,即使这样,也足以使动植物望尘莫及了。微生物具有极强的抗热、抗寒、抗盐、抗干燥、抗酸、抗碱、抗缺氧、抗毒物等能力。由于微生物只怕“明火”,所以地球上除活火山口以外,都是它们的领地。微生物当然也要呼吸,有的喜欢吸氧气,是好氧性的;有的则讨厌氧气,属于厌氧性的;还有的在有氧和无氧环境下都能生存,叫兼性微生物。微生物不仅能吃,而且还贪睡。据报道,在埃及金字塔中三四千年前的木乃伊上仍有活细菌。微生物的休眠本领也令人惊叹不已。

第二节 人类认识和利用微生物的历程

微生物学是生命科学的一个重要分支,是研究微生物在一定条件下的形态结构、生理生化、遗传变异以及微生物的进化、分类、生态等生命活动规律及其应用的一门学科。因

此微生物学的研究对象是微生物。人类在长期的生产实践中利用微生物、认识微生物、研究微生物、改造微生物,使微生物学的研究工作日益深入和发展。

人类认识和利用微生物的历史可分为下面四个时期:

一、感性认识时期

人类在第一次真正看到微生物的个体之前,虽然还不知道世界上有微生物存在,但是在生产实践和日常生活中已经开始利用微生物,并且积累了丰富的经验。最早或最多利用微生物的领域是食品、酿造行业。在这方面,我国古代劳动人民尤为突出,做出了重大的贡献。

远在 4000 多年以前的龙山文化时期,我国劳动人民就会利用微生物酿酒。这从龙山文化遗址出土的陶瓷饮酒用具中得到了证明。古书中也有许多关于酿酒的记载。公元 5 世纪,北魏贾思勰著的《齐民要术》更是详细地叙述了制曲和酿酒的技术。书中“黄衣”、“黄蒸”等名词的提出,证明当时已经看见和认识了特种微生物(即现在所谓的米曲霉)。除了酒以外,我国劳动人民还最早利用有益微生物生产了酱油、食醋和腐乳等发酵调味品。春秋战国时期,这些发酵调味品已经成为当时较受人们欢迎的食品。随着文化交流日益扩大,我国的酿造技术不断被传授到外国,促进了其他国家科学技术的发展,如日本著名的清酒就是在 1000 多年前从我国传过去的。

其他如农业、医药等方面,我们的祖先也有许多创造发明。金、元时期,提出养蚕的用具每天要晒,以减少病原微生物对蚕体的感染。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感染。种牛痘预防天花的方法,早在北宋时期已广泛应用,当时称为“人痘”。所谓人痘接种法是从正在生天花的人体中取出一些痘痂,经过阴干磨细,然后把它吹到被接种人的鼻孔里,使其得到免疫力。这项技术以后由我国传到俄国,继而传到土耳其和英国,以后又相继传到欧洲其他国家和美洲各国。

由于当时科学技术条件的限制,人们始终未能看到微生物的个体,更无法把它们分离出来,所以从整体上来说,当时只是停留在感性认识阶段。微生物学真正作为一门科学,是在 1675 年荷兰人列文虎克首次发现原生动物后才逐渐形成。

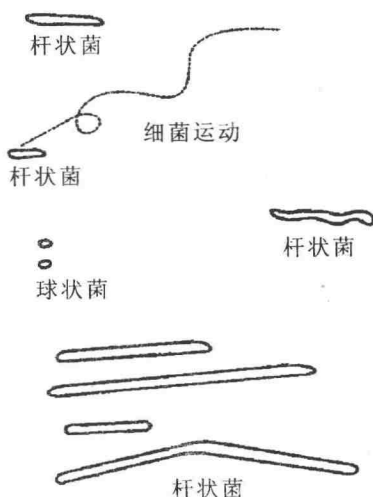


图 0-1 列文虎克最先描述的细菌及其运动图

二、形态描述时期

17 世纪末,资本主义开始发展。由于航海事业的需要,促进了光学技术的研究,使显微镜的制造有了可能。当过布店学徒,做过市政府看门人的荷兰人列文虎克(1632—1723)虽然未受过正式教育,但对自然科学有浓厚的兴趣,特别爱好利用业余时间磨制透镜。他利用自制的能放大 200~300 倍的显微镜,观察雨水、牙垢、腐败物、血液等,在 1675 年第一次观察到原生动物,1683 年又发现细菌。他把这些微小生物称为“微动物”(animal-cule),并描绘成图(图 0-1),并于 1695 年发表了论文《安东·

列文虎克所发现的自然界的秘密》。从此以后的 100 多年时间里,各国科学家纷纷寻找各种微生物,进行观察,描述它们的形态,有的也作了简单的分类。但是对于微生物的生活规律,以及与人类的密切关系仍然了解得不多。直到 19 世纪 50 年代,生产发展的需要进一步推动了微生物学研究的发展,于是微生物学由形态学时期进入到生理学时期。

三、生理学时期

这个时期前后不过几十年的时间,但对微生物学发展起了重要的作用。研究由表及里,揭示了许多生命活动的规律,解决了许多生产上的难题,建立了一整套研究微生物学的实验方法,是微生物学发展史上的奠基时期。在这个时期,对微生物学发展做出最大贡献的要算法国的巴斯德和德国的科赫两人。

1. 巴斯德

巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)在大学里专攻化学,是位化学家。后来由于生产发展的需要,他转向研究微生物,并成了著名的微生物学家。他对人类的贡献主要表现在以下几个方面:

(1) 否定了生命“自然发生”的学说。这就是有名的“曲颈瓶试验”(图 0-2)。巴斯德所做的曲颈瓶试验是这样的:他将盛有有机物汁液的两个瓶子加热灭菌。其中一个瓶子连接一个弯曲的长管,通过弯曲的长管,能与外界空气直接接触。另一个瓶子从顶端开口,置于空气中。结果前一个瓶中没有微生物生长,而后一个瓶中出现了大量的微生物。前一个瓶子之所以能保持无菌状态,是空气中带有微生物的尘埃颗粒不能通过弯曲长管进入瓶中的缘故。这样,长期争论不休的生命“自然发生”论彻底地被否定。

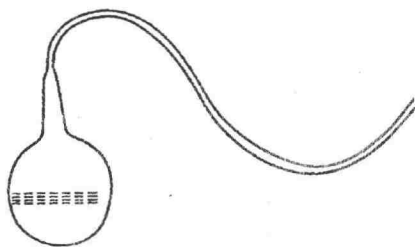


图 0-2 巴斯德试验时使用的曲颈瓶

(2) 解决了当时生产中提出的许多难题,推动了生产的发展。在工业方面,他解决了啤酒变酸的问题,指出只要把酒加热到一定温度,保持一定时间就可以了。在农业方面,他解决了“蚕病”问题,指出细菌是使蚕生病的根源,并提出只要在显微镜下发现有致病的细菌,就连蚕卵一起烧掉,这样可以除去祸根。在医学方面,他对人畜多种疾病进行了研究,创造了防治方法。他应用减低毒性的鸡霍乱病原体接种于鸡体中,可使鸡产生对霍乱的免疫力;他用 42~43 °C 高温培养的炭疽病病原体注射绵羊,使绵羊不受炭疽菌的侵袭;他运用减毒的一般原则,发明了抗狂犬病毒疫苗,用它可治疗被狂犬咬伤的人,挽救了无数人的生命。

(3) 奠定了微生物学的理论基础,开创了许多新的微生物学科。他在解决生产难题的过程中,获得了关于微生物的很多知识,揭示并证明了许多微生物生命活动的规律,为微生物学的研究奠定了理论基础。他研究“酒病”后指出,这是杂菌污染的结果。他证明含糖溶液中发生的乙醇发酵是由酵母菌引起的。他研究了多种发酵后,认为发酵是微生物的作用,不同的微生物可以引起不同的发酵;没有微生物的存在,发酵是不能进行的。他研究“蚕病”及许多人畜疾病以后,提出并证实了传染病是由病原微生物所引起的理论。这些重要的理论推动了微生物学研究向深入方向发展,许多新的微生物学科应运而

生,如工业微生物学、医学微生物学、微生物生理学和微生物免疫学等。

(4) 创造了一些微生物学实验方法。著名的“巴氏消毒法”就是由巴斯德在解决“啤酒变酸”问题时创造的。该法是把含有微生物的酒溶液加热到 62°C , 维持 30 min, 就可杀死其中不耐高温的病原微生物而保持酒不腐败。此法直至现在仍广泛应用于酒、醋、酱油、牛奶、果汁等食品的消毒。

正是由于巴斯德对微生物学做出了这么大的贡献,他赢得了人们的尊敬而被称为“微生物学的奠基人”。

2. 科赫

科赫(1843—1910)是继巴斯德之后,对微生物学的研究做出卓越贡献的另一位科学家。他本是德国乡村医生,后来由于他对法国著名微生物学家巴斯德关于传染病是由微生物所引起的学说颇感兴趣,开始了对微生物的探索。由于他有着超人的独创精神和刻苦、细心的研究态度,他在微生物学研究领域中获得了丰硕成果,同样被人们称为“微生物学的奠基人”。他的主要贡献表现在以下几个方面:

(1) 发明了固体培养基。由于细菌种类很多,形态各异,常常混杂在一起,给研究工作带来了许多不便。科赫在厨房中无意发现了马铃薯的不同地方能长出不同颜色的微生物,并从中得到启发,发明了固体培养基。经过他和他的学生的不断改进,不仅找到了比较理想的凝固剂琼脂,而且设计出了浇铺平板用的玻璃培养皿,这些一直使用至今。

(2) 创造了细菌染色方法。细菌个体微小、透明,在显微镜下不易观察。科赫使用苯胺染料,给菌体染色,使其与视野形成明显的色差,这样便于观察。他也是世界上第一个给细菌鞭毛染上颜色的人。

(3) 发现了许多病原菌。这为以后研究药物和寻找治疗方法提供了依据。他先后对多种疾病进行研究,找到了它们的病原菌,如炭疽杆菌、结核分枝杆菌、霍乱弧菌等。

(4) 提出了为证明某种特定细菌是某种特定疾病的病原菌的所谓“科赫原则”。在以后研究传染病病害中,这个原则起着重要的推动作用。

在这期间,除巴斯德和科赫两人对微生物生理学研究做出重大贡献外,其他的一些科学家也取得了很大的成绩(见表 0-2)。

表 0-2 科学家对微生物研究的主要贡献

国 籍	科 学 家	主要贡献
英国	李斯特	1865 年指出用石炭酸喷洒手术室和煮沸手术用具可以防止术后感染,从而为防腐、消毒以及无菌操作奠定了基础,建立了外科消毒术
俄国	梅契尼柯夫	发现白细胞如何在体内吞噬致病菌的过程,推动了免疫学的研究
俄国	维诺格拉德斯基	发现了自养微生物
荷兰	贝格林克	在 1888 年成功地分离到根瘤菌纯培养物,1891 年又完成了固氮菌的纯培养
俄国	伊万诺夫斯基	发现了病毒,从而扩大了人类对微生物界领域的认识
德国	布赫	发现了磨碎的酵母菌的发酵作用,因而把酵母菌的生命活动和酶的化学作用紧密结合起来,开创了微生物生化研究的新时代
德国	杜马克	发现了红色药物“百浪多息”,可以治疗致病性链球菌感染

四、分子生物学时期

20 世纪上半叶微生物学事业欣欣向荣。微生物学沿着两个方向发展,即应用微生物学和基础微生物学。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。青霉素的发现和瓦克斯曼对土壤中放线菌的研究成果导致了抗生素科学的出现,这是工业微生物学的一个重要领域。微生物在农业中的应用使农业微生物学和兽医微生物学等也成为重要的应用学科。应用成果的不断涌现促进了基础研究的深入,于是细菌和其他微生物的分类系统在 20 世纪中叶出现了,而细胞化学结构和酶及其功能的研究发展了微生物生理学和生物化学,微生物遗传和变异的研究也导致了微生物遗传学的诞生。这样,微生物生态学在 20 世纪 60 年代也形成了一个独立学科。

20 世纪 80 年代以来,在分子水平上对微生物的研究迅速发展,分子微生物学应运而生。在短短的时期内取得了一系列进展,并出现了一些新的概念,较突出的有:生物多样性、进化、三原界学说;细菌染色体结构和全基因组测序;细菌基因表达的整体调控和对环境变化的适应机制;细菌的发育及其分子机理;细菌细胞之间和细菌同动植物之间的信号传递;分子技术在微生物原位研究中的应用。经历约 150 年成长起来的微生物学,在 21 世纪将为统一生物学的重要内容而继续向前发展,其中两个活跃的前沿领域是分子微生物遗传学和分子微生物生态学。

微生物产业在 21 世纪将呈现全新的局面。微生物从发现到现在短短的 300 年间,特别是 20 世纪中叶,已在人类的生活和生产实践中得到广泛的应用,并形成了继动、植物两大生物产业后的第三大产业,即以微生物的代谢产物和菌体本身为生产对象的生物产业,所用的微生物主要是从自然界筛选或选育的自然菌种。21 世纪,微生物产业除了更广泛地利用和挖掘不同环境(包括极端环境)的自然资源微生物外,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出现前所未有的新局面,结合基因组学在药物设计上的新策略将出现以核酸(DNA 或 RNA)为靶标的新药物(如反义寡核苷酸、肽核酸、DNA 疫苗等)的大量生产,人类将完全征服癌症、艾滋病以及其他疾病。此外,微生物工业将生产各种各样的新产品,例如降解性塑料、DNA 芯片、生物能源等,为全世界的经济和社会发展做出更大贡献。

第三节 微生物的应用

一、微生物在农业上的应用

微生物在农业中的应用主要有两种方式:

(1) 作为微生物肥料。微生物肥料可以提高土壤的肥力,改善作物的营养条件,提高作物的产量。例如固氮微生物固定了空气中的游离氮,增进了土壤肥力。

(2) 作为微生物农药。微生物农药可以抑制、杀死病原微生物,从而防治植物病虫害,其最突出的优点是不污染环境。苏云金杆菌是一种广谱微生物杀虫剂,杀虫效果好,

对人、畜、植物绝对安全无毒；井冈霉素可用来防治水稻纹枯病；白僵菌可用来防治松毛虫和玉米螟。

二、生物在食品工业上的应用

早在古代,人们就采食野生菌类,利用微生物酿酒、制酱。但当时人们并不知道微生物的作用。随着对微生物与食品关系的认识日益深刻,人们逐步阐明微生物的种类及其机理,也逐步扩大了微生物在食品制造中的应用范围。概括起来,微生物在食品中的应有三种方式:

(1) 微生物菌体的应用。食用菌是受人们欢迎的食品;乳酸菌可用于蔬菜和乳类及其他多种食品的发酵;单细胞蛋白(SCP)就是从微生物体中所获得的蛋白质。

(2) 微生物代谢产物的应用。人们食用的食品是经过微生物发酵作用的代谢产物,如酒类、食醋、氨基酸、有机酸、维生素等。

(3) 微生物酶的应用。如豆腐乳、酱油。酱类是利用微生物产生的酶将原料中的成分分解而制成的食品。

三、微生物在医药工业上的应用

微生物在医药领域应用最为广泛。据统计,目前微生物在医药方面的应用占60%。利用微生物生产药物,可以提供过去常规方法不能生产的药品或制剂,以及替代生产成本昂贵的药品生产技术。现在发现的抗生素绝大多数是由微生物产生的,例如青霉素。青霉素的发现和应用极大地推动了医学的发展,随后链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素、四环素、红霉素等抗生素不断被发现并广泛应用于临床,使得绝大多数的细菌性疾病得到了有效的控制。除此之外,微生物还提供了安全性能好、免疫能力强的新一代疫苗。例如肝炎病毒疫苗、艾滋病病毒疫苗等。

四、其他应用

生物圈内的各种物质,都处于不断地合成、分解和转化的动态平衡状态之中,组成一个自我调节、自我维持的协调整体,从而保证了地球上生命的延续。但是,当人们将粪便、垃圾、污水等生活废弃物和工业生产所形成的“三废”及农业生产中使用的农药残留物等大量排放入江河、湖泊、海洋以及土壤和空气中,当排入环境的这些物质超过了环境所能耐受的容纳量,即超过了环境的自净能力时,就破坏了自然界的生态平衡,造成环境污染。微生物在处理环境污染物时有着令人惊奇的作用。

在有氧条件下,微生物能够吸附环境中的有机物,并将其分解成无机物,使污水得到净化,同时合成细胞物质。微生物在污水净化过程中,以活性污泥和生物膜的主要成分等形式存在。

在缺氧情况下,厌氧微生物(包括兼性微生物)能将有机物转化成甲烷(CH_4),这不仅消除了有机污染,还可获得清洁的能源,是一种理想的废物资源化的途径。

除了以上应用外,微生物在环境治理方面也有所贡献。最新研究发现,由微生物生成的聚羟基直链烷酸酯可以降解塑料。同时,利用微生物还可以创造一些能源。例如,细菌