

环境微生物学实验

HUANJING WEISHENGWUXUE SHIYAN

郑莉 黄绍松 主编



华南理工大学出版社
SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

环境微生物学实验

HUANJING WEISHENGWUXUE SHIYAN

郑莉 黄绍松 主编



华南理工大学出版社
SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

· 广州 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

环境微生物学实验 / 郑莉, 黄绍松主编. —广州: 华南理工大学出版社, 2012. 6
ISBN 978-7-5623-3681-5

I. ①环… II. ①郑… ②黄… III. ①环境微生物学-实验 IV. ①X172-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 113453 号

环境微生物学实验

郑莉 黄绍松 主编

出版发行: 华南理工大学出版社

(广州五山华南理工大学 17 号楼, 邮编 510640)

<http://www.scutpress.com.cn> E-mail: scute13@scut.edu.cn

营销部电话: 020-87113487 87111048 (传真)

策划编辑: 毛润政

责任编辑: 龙辉 毛润政

印刷者: 湛江日报社印刷厂

开本: 787mm × 1092mm 1/16 印张: 8.5 字数: 218 千

版次: 2012 年 6 月第 1 版 2012 年 6 月第 1 次印刷

印数: 1 ~ 1 600 册

定价: 19.00 元

版权所有 盗版必究 印装差错 负责调换

前 言

环境微生物学是环境工程专业较重要的一门专业基础课，是环境污染治理与微生物学相结合而产生发展起来的一门边缘性学科，其重点是研究污染控制工程中涉及的微生物学问题，是在普通微生物学的基础上，着重研究生长在自然环境、受污染环境 and 人工处理系统中的微生物生态、环境的自净作用、环境污染及其生物处理工程中的微生物学原理。环境微生物学实验是该课程必须熟练掌握的核心内容和基本要求。通过该实验课程的学习，不但能使学生熟悉环境中微生物的主要类群，牢固掌握环境微生物学实验的基本操作技能，而且也能使学生初步掌握微生物对环境中污染物的降解与转化及环境监测中的微生物学相关方法，培养学生观察问题、分析问题和解决问题的能力，为毕业论文、毕业设计以及毕业后从事环境保护技术工作奠定基础。

本书主要内容包括基础性实验、应用性实验以及综合性实验三部分。基础性实验包括微生物的培养与操作、微生物观察、微生物的生理生化反应、微生物的生长与计数以及微生物的分离与纯化等。应用性实验包括空气中微生物数量，活性污泥中生物相与放线菌、霉菌、酵母菌的形态观察以及水中大肠杆菌群的监测等。综合性实验是在基础性实验和应用性实验的基础上，增加了综合性、探索性实验内容，要求学生根据已掌握的知识，独立完成试剂配制，仪器安装与调试，尝试分析实验结果，培养学生对实验的独立操作能力以及对实验结果的分析能力。本书可作为高等院校生物、环境等相关专业的微生物学实验教材。各校可根据教学的实际需要和具体实验条件，从中取舍，灵活使用。

由于编者水平有限，书中错误和缺点在所难免，欢迎广大读者提出宝贵意见。

编 者
2012年5月

目 录

基础性实验部分

第1章 微生物的培养与操作	(3)
1.1 培养基的制备	(3)
1.1.1 培养基的分类	(3)
1.1.2 培养基的配制方法	(4)
1.2 无菌操作技术	(5)
1.2.1 无菌操作常用仪器设备	(7)
1.3 微生物的接种	(8)
1.3.1 斜面接种法	(9)
1.3.2 液体接种法	(10)
1.3.3 平板接种法	(10)
1.3.4 穿刺接种法	(12)
1.4 微生物的保藏	(13)
第2章 微生物的观察	(15)
2.1 显微技术	(15)
2.1.1 普通光学显微镜的结构与使用	(15)
2.1.2 暗视野显微镜与荧光显微镜的结构与使用	(17)
2.1.3 相差显微镜与电子显微镜的结构与使用	(21)
2.2 微生物的形态观察	(24)
实验2-1 细菌的简单染色法和革兰氏染色法	(24)
实验2-2 细菌的芽孢和荚膜染色法	(28)
实验2-3 鞭毛染色法及活细菌运动性的观察	(32)
第3章 微生物的生理生化反应	(36)
实验 大分子物质的水解实验	(36)
第4章 微生物的生长与计数	(42)
实验4-1 微生物大小的测定	(42)
实验4-2 平板菌落计数法	(45)
实验4-3 微生物的显微计数——血球计数板法	(47)
实验4-4 大肠杆菌生长曲线的测定	(50)
第5章 微生物的分离与纯化	(53)
5.1 选择培养技术	(53)

5.1.1 样品的来源	(53)
5.1.2 培养条件的控制	(53)
5.2 纯种分离技术	(54)
实验 土壤中微生物的分离与纯化	(56)
第6章 活性污泥理化生化性质的测定	(61)
实验 6-1 活性污泥 MLSS 和 MLVSS 的测定方法	(61)
实验 6-2 活性污泥脱氢酶活性的测定	(62)
实验 6-3 活性污泥耗氧率的测定	(65)
实验 6-4 活性污泥比阻的测定	(67)
实验 6-5 污泥毛细吸水时间的测定	(71)

应用性实验部分

实验 1 沉降法检测空气中微生物数量	(77)
实验 2 活性污泥中生物相与放线菌、霉菌、酵母菌的形态观察	(79)
实验 3 多管发酵法检测水中的大肠菌群	(82)
实验 4 光合细菌处理高浓度有机废水	(86)

综合性实验部分

实验 1 絮凝菌分离、筛选与鉴定	(93)
实验 2 高效脱酚菌的分离和筛选	(96)
实验 3 自养硝化细菌的分离纯化与活性测定	(98)
实验 4 用 Ames 法监测环境中的致癌物	(102)
实验 5 富营养化湖泊中藻类的监测	(107)
附录 1	(111)
I 染色液	(111)
II 培养基	(113)
III 生理生化试剂	(115)
附录 2	(116)
I COD 的测定方法	(116)
II 硝酸盐的测定	(118)
III 亚硝酸盐的测定	(120)
常见玻璃仪器的清洗与包扎	(124)
参考文献	(127)

基础性实验部分

第 1 章 微生物的培养与操作

1.1 培养基的制备

培养基是人工地将多种物质按各种微生物生长的需要配制而成的一种混合营养物质，用以培养或分离各种微生物。因此，营养基质应当有微生物所能利用的营养成分，包括碳源、氮源、能源、无机盐、生长因子和水。根据微生物的种类和实验目的的不同，培养基也有不同的种类和配制方法。

就微生物的主要类型而言，有细菌、放线菌、酵母菌、霉菌及病毒等，培养它们所需的培养基各不相同。在实验室中，常用牛肉膏蛋白胨培养基培养细菌；用高氏一号合成培养基培养放线菌；一般用麦芽汁培养基或马铃薯蔗糖培养基培养酵母菌；一般用察氏合成培养基或马铃薯葡萄糖培养基培养霉菌；而病毒则可以用对其敏感的相应生物或组织来进行培养。

培养基除了要满足微生物生长所要求的各种营养物质外，还应保证微生物所需要的其他生活条件，如适宜的酸碱度、渗透压等。因此，根据不同种类微生物的要求，应将培养基调节到一定的 pH 范围，如细菌培养基中性偏碱，放线菌培养基偏碱，霉菌、酵母菌培养基偏酸。

1.1.1 培养基的分类

1. 培养基按其物质来源可分为天然培养基、半合成培养基和合成培养基三类

(1) 天然培养基由天然物质制成，如牛肉膏蛋白胨培养基。这类培养基的化学成分很不恒定，也难以确定，但配制方便、营养丰富，所以常被采用。

(2) 半合成培养基在天然有机物的基础上适当加入已知成分的无机盐类，或在合成培养基的基础上添加某些天然成分，如培养霉菌用的马铃薯蔗糖培养基。这类培养基能更有效地满足微生物对营养物质的需要。

(3) 合成培养基的各种成分完全是已知的各种化学物质。这种培养基的化学成分清楚，组成成分精确，重复性强，但价格较贵，而且微生物在这类培养基中生长较慢。如高氏一号合成培养基、察氏 (Czapek) 培养基等。

2. 培养基按其物理状态可分为液体培养基、固体培养基和半固体培养基三类

(1) 液体培养基中不加任何凝固剂。这种培养基的成分均匀，微生物能充分接触和利用培养基中的养料，适于做生理等研究，由于发酵率高，操作方便，也常用于发酵工业。

(2) 固体培养基是在液体培养基中加入一定量的凝固剂，使其成为固体状态。理

想的凝固剂应具备以下条件：①不被所培养的微生物分解利用；②在微生物生长的温度范围内保持固体状态，在培养嗜热细菌时，由于高温容易引起培养基液化，通常在培养基中适当增加凝固剂来解决这一问题；③凝固剂的凝固点温度不能太低，否则将不利于微生物的生长；④凝固剂对所培养的微生物无毒害作用；⑤凝固剂在灭菌过程中不会被破坏；⑥透明度好，黏着力强；⑦配制方便且价格低廉。常用的凝固剂有琼脂（agar）、明胶（gelatin）和硅胶（silica gel）。固体培养基常用于微生物分离、鉴定、计数和菌种保存等方面。

（3）半固体培养基是在液体培养基中加入少量凝固剂而呈半固体状态。可用于观察细菌的运动、鉴定菌种和测定噬菌体的效价等方面。

3. 培养基按功能可分为基础培养基、选择性培养基、富集培养基和鉴别性培养基四类

（1）基础培养基是含有一般微生物生长繁殖所需的基本营养物质的培养基。牛肉膏蛋白胨培养基是最常用的基础培养基。基础培养基也可以作为一些特殊培养基的基础成分，再根据某种微生物的特殊营养需求，在基础培养基中加入所需营养物质。

（2）选择培养基是用来将某种或某类微生物从混杂的微生物群体中分离出来的培养基。根据不同种类微生物的特殊营养需求或对某种化学物质的敏感性不同，在培养基中加入相应的特殊营养物质或化学物质，抑制不需要的微生物的生长，有利于所需微生物的生长。

（3）富集培养基也称营养培养基，即在基础培养基中加入某些特殊营养物质制成的一类营养丰富的培养基，这些特殊营养物质包括血液、血清、酵母浸膏、动植物组织液等。富集培养基一般用来培养营养要求比较苛刻的异养型微生物。

（4）鉴别性培养基是用于鉴别不同类型微生物的培养基。在培养基中加入某种特殊化学物质，某种微生物在培养基中生长后能产生某种代谢产物，而这种代谢产物可以与培养基中的特殊化学物质发生特定的化学反应，产生明显的特征性变化，根据这种特征性变化，可将该种微生物与其他微生物区分开来。鉴别性培养基主要用于微生物的快速分类与鉴定，以及分离和筛选能产生某种代谢产物的微生物菌种。

1.1.2 培养基的配制方法

培养基配制流程：药品称量→加热溶解→调节 pH→过滤澄清→分装→加棉塞及包扎→灭菌→平板和斜面的制作

（1）药品称量。按实际用量计算后，按配方称取各种药品，放入大烧杯中。

（2）加热溶解。在烧杯中加入少于所需要的水量，垫上石棉网，放在电炉上小火加热，并用玻棒搅拌，待药品完全溶解后再补充水分至所需量。

（3）调节 pH。检测培养基的 pH，若 pH 偏酸，可滴加 1 mol/L NaOH，边加边搅拌，并随时用 pH 试纸检测，直至达到所需的 pH 范围。若偏碱，则用 1 mol/L HCl 进行调节。对于 pH 要求较精确的微生物，其 pH 的调节可用酸度计进行。

（4）过滤。液体培养基可用滤纸过滤，固体培养基可用 4 层纱布趁热过滤，以利于

观察。但供一般使用的培养基，这一步骤可以省略。

(5) 分装。按实验要求，将配制好的培养基分装入试管或锥形瓶内。以不超过锥形瓶容积的一半或试管高度的 $1/3$ 为宜。

(6) 加棉塞及包扎。将试管或锥形瓶加棉塞并包扎，然后用记号笔注明培养基的名称、组别和日期。

(7) 灭菌。将上述培养基于 121°C 湿热灭菌 20 min 左右。灭菌后取出冷却，待用。用于制作斜面的试管斜放冷却。

(8) 平板和斜面的制作。

倒平板：将培养基冷却至 50°C 左右，在超净工作台中，先用 75% 酒精擦手，待酒精挥发后点燃酒精灯，右手持盛培养基的锥形瓶置于火焰旁边，左手将瓶塞轻轻拔出，瓶口保持对着火焰；然后用右手手掌边缘或小指与无名指夹住瓶塞，左手拿培养皿并将皿盖在火焰附近打开一缝，迅速倒入约 15 mL 培养基，加盖后轻轻摇动培养皿，使培养基均匀分布在培养皿底部，然后平置于桌面上，待凝固后即为平板，如图 1-1 所示。

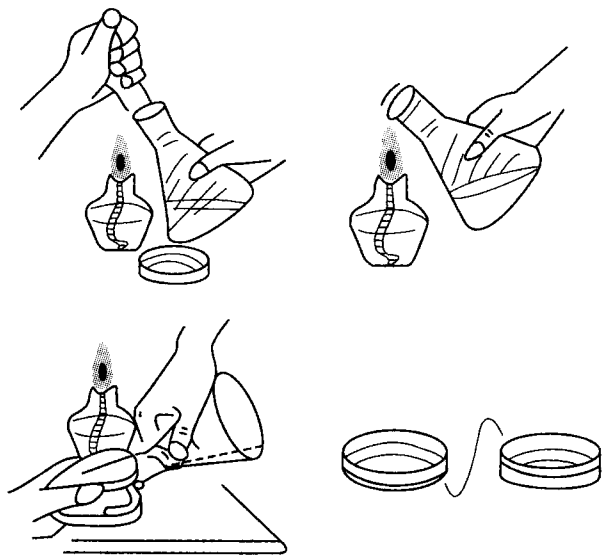


图 1-1 倒平板

摆斜面：灭菌后，趁热将试管口端搁在一根长木条上，并调整斜度，使斜面的长度不超过试管总长的 $1/2$ ，如图 1-2 所示。



图 1-2 摆斜面

1.2 无菌操作技术

在微生物学中，无菌操作技术是一个至关重要的环节。在微生物学实验、生产和科学研究工作中，需要对微生物进行分离纯化培养，不能有任何外来杂菌，因此对所用的器具、培养基必须进行严格灭菌并对工作环境进行严格的消毒，以保证研究工作的顺利

进行。可以说微生物实验的成败往往取决于无菌操作技术掌握得好不好。对于一个环境而言,所谓的无菌,就是指在环境中一切有生命活动的微生物的营养细胞及其芽孢或孢子都不存在。只有在培养基、发酵设备等处于无菌的前提下,微生物接种后,才能实现纯种培养,最终得到所需的产品。无菌操作技术就是防止微生物进入机体或物体的方法。

无菌操作技术包含两个基本概念:消毒和灭菌。消毒是指用物理、化学或生物的方法杀死病原微生物的过程。具有消毒作用的药物称为消毒剂,一般消毒剂在常用浓度条件下只对细菌的繁殖体有效,而对芽孢无效。灭菌是指用物理、化学方法杀灭全部微生物的营养细胞及其芽孢或孢子的过程。灭菌的原理就是使蛋白质和核酸等生物大分子发生变性,从而达到灭菌的效果。

灭菌和消毒的方法有很多,在物理上,有火焰灭菌、干热灭菌和湿热灭菌三种方法。在化学上,可以使用化学药物抑制微生物的代谢活动及其菌体结构,从而起到抑菌和杀菌的作用。此外,还有过滤除菌和照射灭菌等消毒灭菌方法。在微生物实验中,经常用到的消毒灭菌方法有火焰灭菌、湿热灭菌、化学灭菌和紫外线照射杀菌等。

火焰灭菌是指将微生物接种工具等在酒精灯火焰上灼烧以达到灭菌的目的,如接种工具中的接种环、接种针及其他金属用具可以直接在酒精灯火焰上灼烧灭菌,此外,在接种时,也常把试管口、三角瓶口、培养皿放在酒精灯火焰外侧进行无菌操作。

干热灭菌是利用高温使微生物细胞内的蛋白质凝固变性,从而达到灭菌的目的。细胞内蛋白质的凝固性与其本身的含水量有关,在菌体受热时,环境和细胞内含水量越大,蛋白质凝固越快;反之含水量越少,凝固越缓慢。干热灭菌所需的时间是1~2 h,温度是160℃~170℃,但不能超过180℃,否则会烧焦包器皿的纸或棉塞,甚至引起燃烧(纸的着火点是183℃)。

湿热灭菌是利用热蒸汽灭菌,水分子可以破坏维持蛋白质三维结构的氢键和其他相互作用的弱键,热蒸汽在转变成液体时会释放出大量的热,因此其灭菌效果非常好。常用的高压蒸汽灭菌便是湿热灭菌中的一种。其工作原理为:把待灭菌物品放在盛有水且封闭的高压蒸汽灭菌锅中,将锅内的水煮沸,可把锅中原有的冷空气彻底除尽,再继续加热就会使锅内的蒸汽压上升,从而温度也会跟着上升,当蒸汽压达到103.4 kPa时,水蒸气的温度上升到121℃,经过15~20 min便可以杀死全部微生物及其芽孢。

化学杀菌剂主要用于抑制和杀灭物体表面、器械、排泄物和周围环境中的微生物。微生物实验室中常用的化学杀菌剂有氯化汞、甲醛、高锰酸钾、乙醇、碘酒、龙胆紫、石炭酸、煤粉皂溶液、漂白粉、氧化乙烯、丙酸内酯、过氧乙酸、新洁尔灭等。

紫外线灭菌是用紫外灯进行的。波长为200~300 nm的紫外线都有杀菌能力,其中以波长为260 nm的紫外线杀菌能力最强。在波长一定的条件下,紫外线的杀菌效率与强度和时间的乘积成正比。紫外线杀菌机制主要是因为它诱导了胸腺嘧啶二聚体的形成和DNA链的交联,从而抑制了DNA的复制。另一方面,辐射能使空气中的氧电离成[O],再使O₂氧化生成臭氧(O₃)或使水氧化生成过氧化氢(H₂O₂),O₃和H₂O₂均有杀菌作用。由于紫外线穿透力不强,所以只适用于无菌室、接种箱内的空气及物体表面的灭菌。紫外灯距照射物以不超过1~2 m为宜。

1.2.1 无菌操作常用仪器设备

1. 高压蒸汽灭菌消毒锅

高压蒸汽灭菌消毒锅（如图 1-3 所示）常用于微生物实验中的玻璃器皿、溶液培养基等的灭菌处理，是高速、可靠的消毒灭菌设备。其原理主要是利用饱和蒸汽压力对物品进行灭菌。

使用方法：

（1）首先将内层锅取出，再往外层锅内加适量的水，使水面与三角搁架相平。

（2）放回内层锅，并装入待灭菌物品。注意不要装得太挤，以免妨碍蒸汽流通而影响灭菌效果。锥形瓶与试管口端均不要与锅壁接触，以免冷凝水淋湿包口的纸而透入棉塞。

（3）加盖，并旋紧盖上的阀门，勿使漏气。把温度设为 121°C ，时间设为 20 min，打开电源开关开始加热。

（4）灭菌所需时间到后，结束提示音响起，这时压力降为零，慢慢旋开蒸汽锅上盖，取出灭菌物品。注意蒸汽，以免烫伤。

2. 无菌操作间

无菌操作间（如图 1-4 所示）是一间光照度良好、无直接空气对流、并与外界隔离的小室。其外有一缓冲过道，在内室门中开一小活动窗，以便室内外物品的传递。室内有紫外灯，其多少取决于无菌室空间的大小。

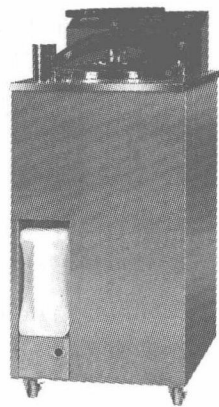


图 1-3 高压蒸汽灭菌消毒锅

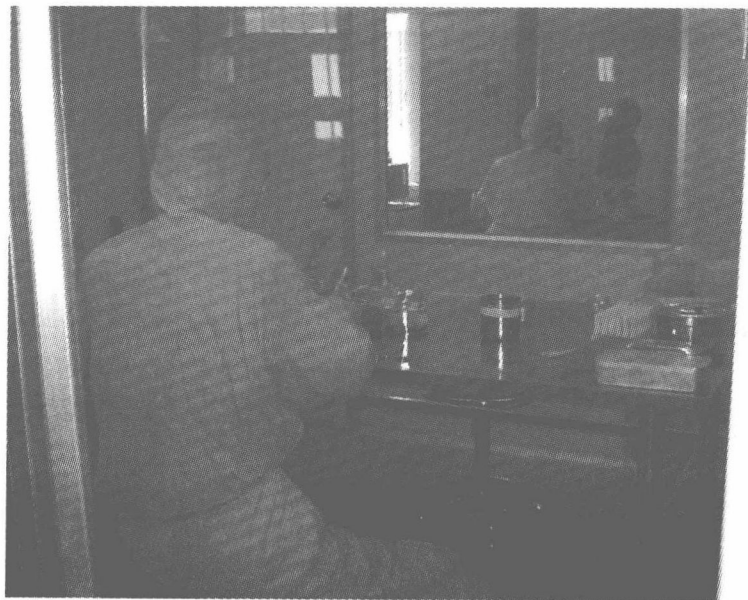


图 1-4 无菌操作间

使用方法:

(1) 无菌操作间应保持清洁,工作前应将室内清理干净,把需要用的实验器材全部放入室内,关好门后开启紫外灯照射灭菌 1 h。

(2) 工作者进入无菌室时应穿戴无菌衣、帽及口罩,并换上无菌室专用的清洁胶底鞋。进入前关闭紫外灯,在工作未完成前,不应随便开门出入。

(3) 工作完毕后,补充常用物品,如酒精、标记笔等,并将室内打扫干净后方可离开。

3. 超净工作台

超净工作台(如图 1-5 所示)是为了适应现代化工业、生物制药以及科研实验等领域对局部工作区域高洁净度的需求而设计的。其工作原理是在特定的空间内,室内空气经预过滤器初滤,由小型离心风机压入静压箱,再经空气高效过滤器二级过滤,从空气高效过滤器出风面吹出的洁净气流具有均匀、稳定的断面风速,可以排除工作区原来的空气,将尘埃颗粒和生物颗粒带走,从而形成无菌的高洁净的工作环境。

使用方法:

(1) 使用前先打开紫外灯照射灭菌,处理净化工作区空气及表面的微生物。

(2) 30 min 后,关闭紫外灯,启动送风机,清除尘粒。10 ~ 20 min 后即可在工作区进行操作。

(3) 工作完毕,停止送风机的运行,整理、清洁台面卫生,并放下防尘帘。

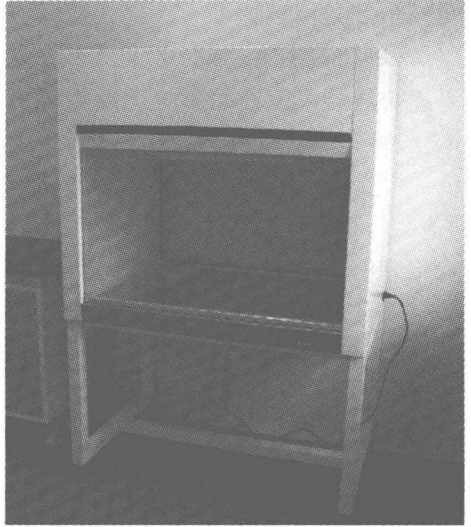


图 1-5 超净工作台

1.3 微生物的接种

微生物接种技术是进行微生物实验和相关研究的基本操作技能。在微生物学的科学试验及发酵生产中,常常把一种微生物移接到另一种灭过菌的新鲜培养基中,使其生长繁殖并获得代谢产物。无菌操作是微生物接种技术的关键。由于实验目的、培养基种类及实验器皿等不同,所用接种方法不尽相同,但均以获得生长良好的纯种微生物为目的,故接种必须在一个无杂菌污染的环境中进行严格的无菌操作。由于接种方法不同,采用的接种工具也有区别,如固体斜面培养物转接时用接种环,穿刺接种时用接种针,液体转接用移液管等。

常用的接种方法有斜面试种法、液体接种法、平板接种法和穿刺接种法。

1.3.1 斜面接种法

斜面接种法是从已经生长好的菌种斜面上挑取少量菌种移植至另一支新鲜斜面培养基上的接种方法（如图1-6所示）。

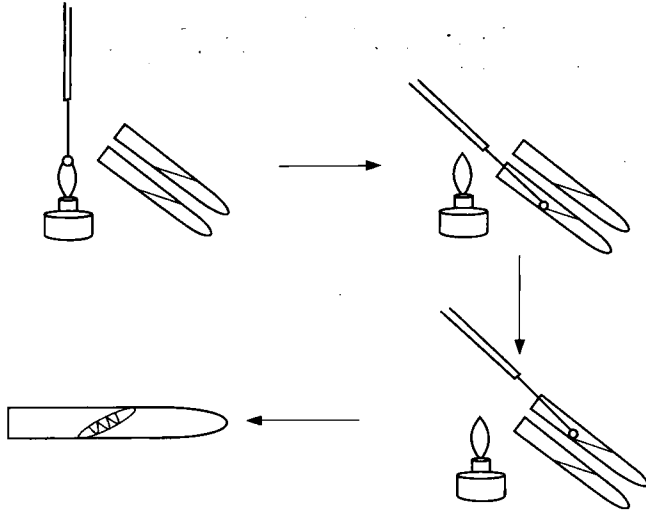


图1-6 斜面接种法

- (1) 操作前，先用75%酒精擦手，待酒精挥发后才能点燃酒精灯。
- (2) 用斜面进行接种时，将菌种管和斜面培养基试管握在左手的大拇指和其他四指之间，使斜面和有菌种的一面向上，并处于水平位置。
- (3) 将菌种管和斜面培养基试管的棉塞旋转一下，以便接种时拔出。
- (4) 右手拿接种环的方式与日常拿笔一样。将要伸入试管部分的金属柄和金属丝在酒精灯火焰上灼烧灭菌。
- (5) 用右手小指、无名指或手掌将菌种管和斜面试管的棉塞同时拔出并把棉塞握住，不得任意放在桌上或与其他物品相接触，再以火焰灼烧管口。
- (6) 将上述在火焰上灭菌过的接种环伸入菌种管内，使接种环在接触菌种前先在试管内壁上或未长菌落的培养基面上接触一下，使接种环充分冷却，以免烫死菌种。然后用接种环在菌落上轻轻地接触，刮取少许后将接种环自菌种管内抽出。抽出时勿与管壁相碰，也勿使其再通过火焰。
- (7) 迅速将沾有菌种的接种环伸入斜面培养基试管口，在斜面上，自下而上曲折划线，使菌体沾附在培养基上，划线时勿用力，否则会将培养基表面划破。
- (8) 接种完毕后将接种环抽出，灼烧管口，塞上棉塞时勿用试管口迎棉塞，以免试管在移动时纳入不洁空气。
- (9) 接种环在放回原位前，要经火焰灼烧灭菌。同时须将棉塞进一步塞紧以免脱落。

1.3.2 液体接种法 (如图 1-7 所示)

(1) 由斜面培养基接种液体培养基: 取种方法同上, 接种时要使试管口向上, 以免培养液流出。接入菌体后, 让接种环与管内壁轻轻研磨, 使菌体擦下。接种后塞好棉塞, 将试管在手掌中轻轻敲打, 使菌体充分分散。

(2) 由液体培养基接种液体培养基, 接种工具除用接种环外, 常用的还有无菌移液管或滴管。需在火焰旁拔去棉塞, 将试管口通过火焰, 用无菌移液管吸取菌液注入培养液内, 摇匀。

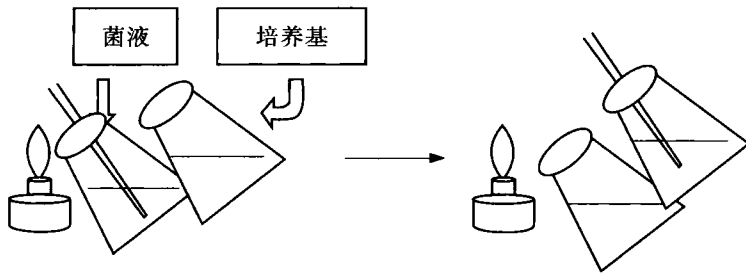


图 1-7 液体接种法

1.3.3 平板接种法

(1) 划线接种法: 在近火焰处, 左手拿皿底, 右手拿接种环, 挑取少量菌种, 先在平板培养基的一边作第一次平行划线, 再转动培养皿约 70° 角, 并将接种环上的剩余物烧掉, 待冷却后通过第一次划线部分作第二次平行划线, 再用同样的方法通过第二次划线部分作第三次划线。划线完毕后, 盖上培养皿盖, 倒置于培养箱培养 (如图 1-8、图 1-9 所示)。

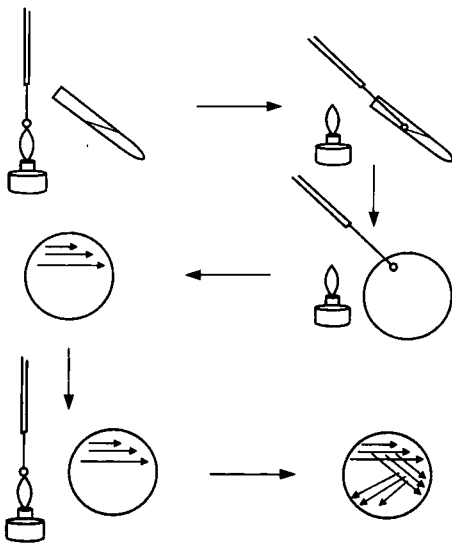


图 1-8 平板划线平行线法

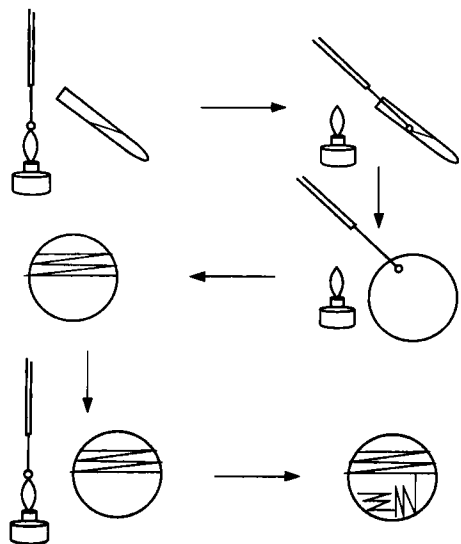


图 1-9 平板划线三线法

(2) 涂布接种法：用无菌移液管吸取 0.2 mL 菌液注入平板中，用无菌玻璃涂棒将菌液轻轻地来回推动，在培养基表面轻轻地涂布均匀（如图 1-10 所示），或是在培养皿内加入 8 个灭菌的玻璃珠，轻轻晃动，涂布均匀（如图 1-11 所示），室温静置 5 ~ 10 min，使菌液吸附进培养基，然后倒置于培养箱培养。

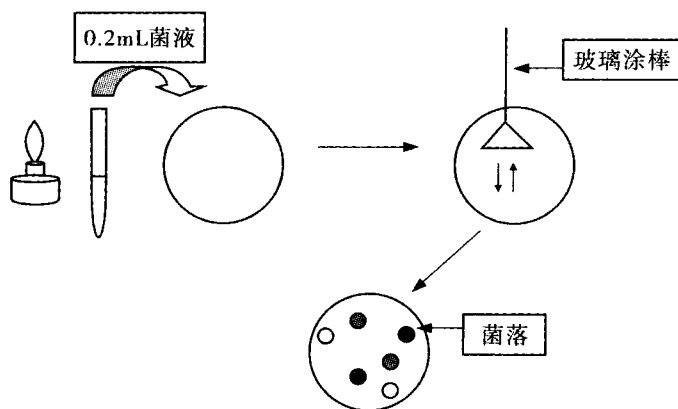


图 1-10 玻璃涂棒涂布

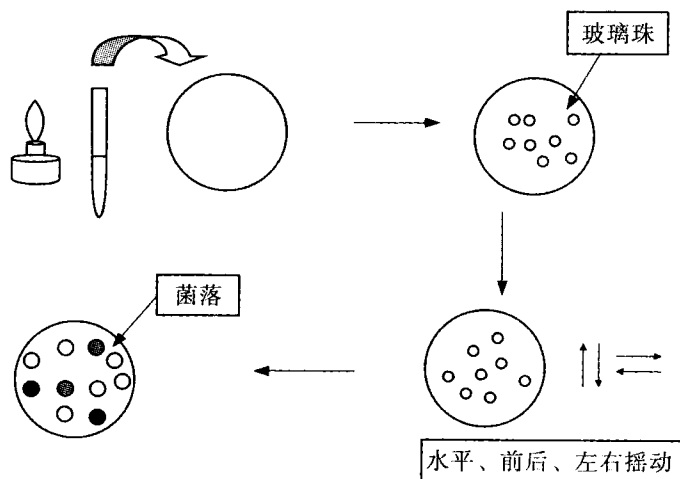


图 1-11 玻璃珠涂布

(3) 三点接种法：要获得霉菌的单菌落，宜在平板上用三点接种法接种，即用接种针蘸取少量霉菌孢子，在平板上点成等边三角形的三点。经培养后，每皿形成三个菌落（如图 1-12 所示）。