



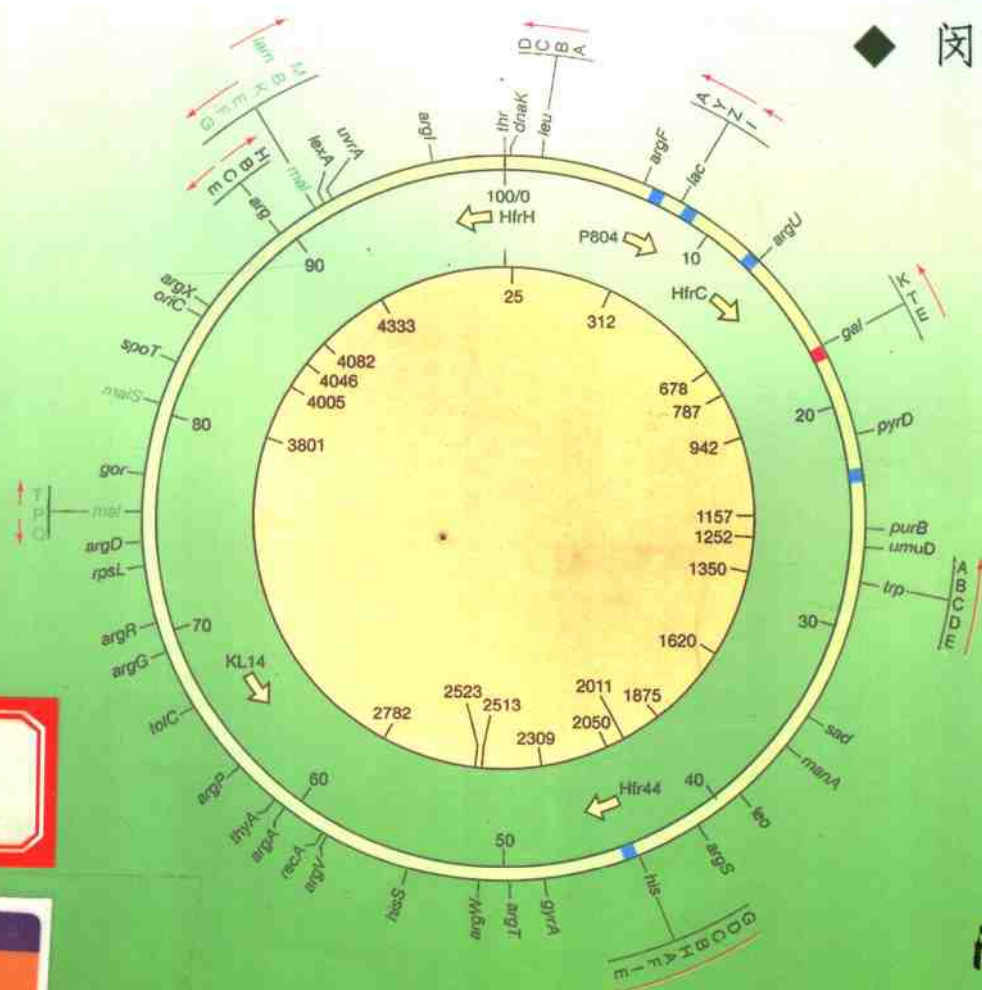
国家理科基地名牌课程系列教材
TEXTBOOK SERIES FOR BIOLOGICAL SCIENCE BASE

微生物学实验

EXPERIMENT OF MICROBIOLOGY

实验报告分册

◆ 闵 航 主编



浙江大學出版社

微生物学实验

(实验报告分册)

主 编：闵 航

参 编：贾小明 陈美慈 马晓航

吴伟祥 陈中云 林小清

闵 航

前 言

这本《微生物学实验指导》是在前三版(1983年第一版,1988年第二版,1999年第三版)的基础上,为进一步适应微生物学学科的发展和本科教学的实际需要,进行修改扩充编写而成的。全书分“实验指导”与“实验报告”两分册。实验指导共设29个实验,系统包括了形态观察、操作技术和实际应用,内容涵盖了微生物学的形态、生理、生化、遗传育种、生态、环境、生物活性、系统发育、分子生态等不同方面;本书与由闵航主编的《微生物学》教材(浙江大学出版社,2005)的内容相配套,以适用于生物科学、生物技术、生物信息、应用生物学、农学类、环境微生物学等各个专业,使用时可根据不同专业的教学要求加以选择。

值本书正式出版之际,编者向为创建和编写本书中各个实验付出辛勤劳动的所有教师、实验管理人员尤其是王献凤、陈浩军两位老师表示由衷的感谢。由于编者水平有限,不妥之处在所难免,请读者批评指正。

编 者

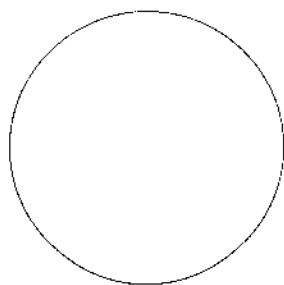
2004年8月

目 录

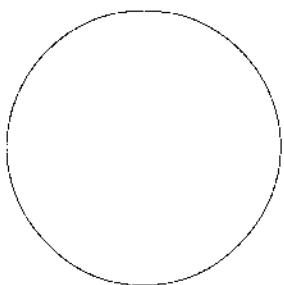
实验 1	显微镜油镜的使用和细菌形态的观察	1
实验 2	细菌的染色和细菌细胞构造的观察	2
实验 3	放线菌和真菌的形态观察	3
实验 4	微生物细胞的大小和数量的测定	4
实验 5	微生物培养基的配置和灭菌	5
实验 6	微生物的分离、培养和菌种保藏	6
实验 7	食用菌——平菇的栽培	7
实验 8	甜酒酿的制作和酒药中糖化菌的分离	8
实验 9	微生物的生理生化反应	9
实验 10	细菌纯培养生长曲线的测定	10
实验 11	噬菌体的培养及效价测定	11
实验 12	根瘤菌质粒的快速检测	12
实验 13	细菌的紫外线诱变和营养缺陷型突变株的筛选	13
实验 14	土壤微生物区系的埋片观察法	14
实验 15	水质的细菌学检查以及空气中微生物的检测和计数	15
实验 16	活性污泥中微生物的显微镜观察	16
实验 17	活性污泥或水稻土中甲烷形成活性的测定	17
实验 18	豆科植物根瘤、根瘤细菌的形态观察及其分离	18
实验 19	根瘤或土壤固氮酶活性的测定	19
实验 20	环境条件对微生物生长的影响	20
实验 21	用 AMES 法测定化学物质的致突变作用	22
实验 22	微生物对不含氮有机物和含氮有机物的转化作用	23
实验 23	硝化作用强度的测定	24
实验 24	分解果胶类物质微生物的检测	25
实验 25	微生物乳酸发酵的观察	26
实验 26	液化型淀粉酶产生菌的分离与酶活性的测定	27
实验 27	蛋白酶产生菌的分离和蛋白酶活性的测定	28
实验 28	细菌分离菌株的分子生物学鉴定与系统发育分析	29
实验 29	土壤细菌群落多样性的 PCR-DGGE 凝胶电泳分析	30

实验 1 显微镜油镜的使用和细菌形态的观察

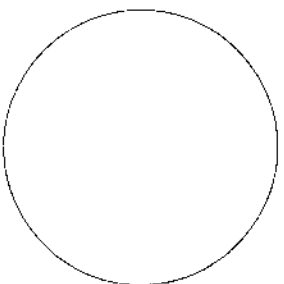
1. 镜检绘图：



杆状细菌(放大 ____ × ____)

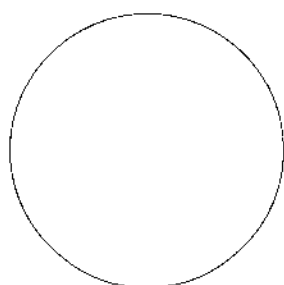


螺旋状细菌(放大 ____ × ____)

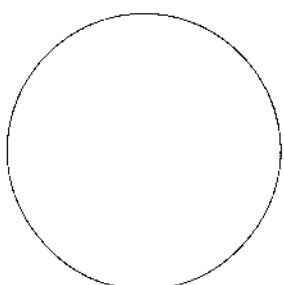


球状细菌(放大 ____ × ____)

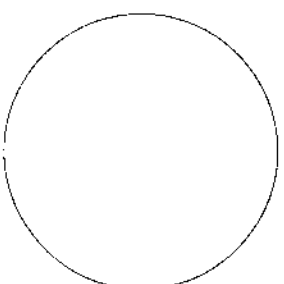
2. 示教片绘图：



四联球菌(放大 ____ × ____)



双球菌(放大 ____ × ____)

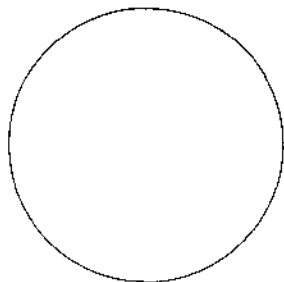


(放大 ____ × ____)

实验2 细菌的染色和细菌细胞构造的观察

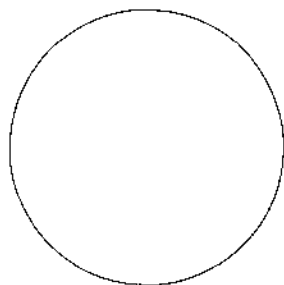
镜检绘图

1. 一般染色法:

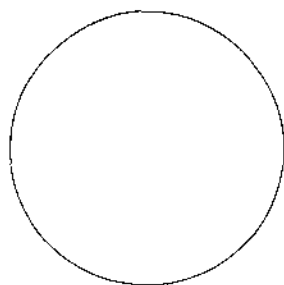


牙垢细菌
(放大____×____)

2. 革兰氏染色法:

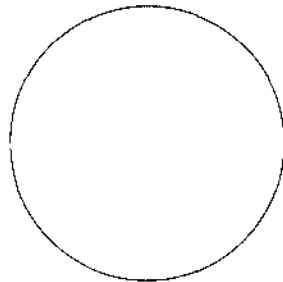


大肠杆菌(*Escherichia coli*)
(放大____×____)
革兰氏(G)____反应

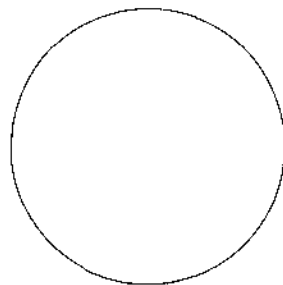


枯草杆菌(放大____×____)
革兰氏(G)____反应

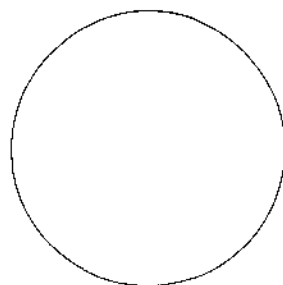
示教片绘图



苏云金芽孢杆菌
(*Bacillus thuringiensis*)的芽孢
(放大____×____)



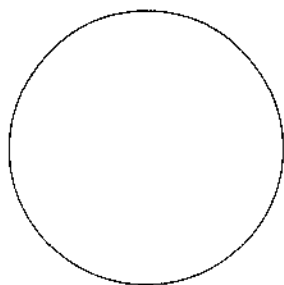
胶质芽孢杆菌
(*Bacillus mucilaginosus*)的荚膜
(放大____×____)



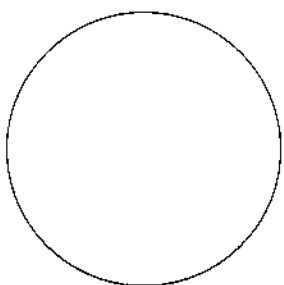
枯草杆菌的鞭毛
(放大____×____)

实验 3 放线菌和真菌的形态观察

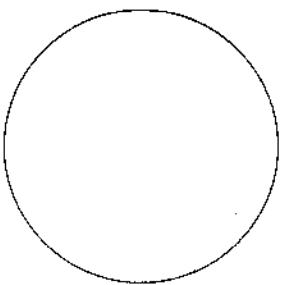
镜检绘图



青色链霉菌
(*Streptomyces glaucus*)
(放大____×____)

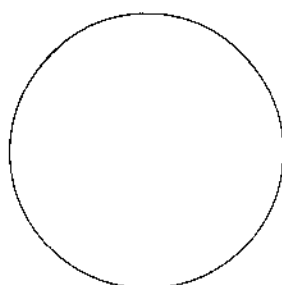


黄曲霉
(*Aspergillus flavus*)
(放大____×____)

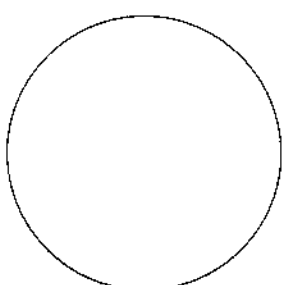


啤酒酵母
(*Saccharomyces cerevisiae*)
(放大____×____)

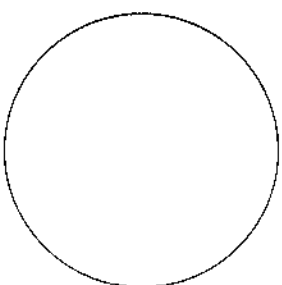
示教片绘图



黑根霉
(*Rhizopus niger*)
(放大____×____)



青霉
(*Penicillium* sp.)
(放大____×____)



梨头霉
(*Absidia* sp.)的接合孢子
(放大____×____)

实验 4 微生物细胞的大小和数量的测定

一、微生物细胞大小的测定

1. 把用不同放大倍数的接物镜所测得的目镜测微尺每小格所代表长度记录于下表中：

表 4-1 目镜测微尺每小格在不同物镜下代表的长度

目 镜	物 镜	
	40(倍)	100(倍)
15(倍)	μm	μm

2. 将测得的微生物大小值记录于表中。

	宽 (μm)		长 (μm)	
	细胞编号	平均值	细胞编号	平均值
	1		1	
枯 草 杆 菌	2		2	
	3		3	
	4		4	
	5		5	
	6		6	
	7		7	
	8		8	
	9		9	
	10		10	

细菌的大小=

二、微生物细胞数量的测定

1. 计算方法

菌体数/mL = $\frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5} \times 25 \text{ (或 } 16) \times 10^4 \times \text{稀释倍数}$

2. 计数结果

中 格					中格平均值	大格总数	稀释倍数	菌体数/mL
x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	$\bar{x}$			

结果:1mL 菌液中酵母为_____个

实验 5 微生物培养基的配置和灭菌

问答题：

1. 试述培养基配制的原则。如何检查培养基灭菌是否彻底？
2. 干热灭菌法、加压蒸汽灭菌法和常压间歇灭菌法有何不同？它们各用于哪些场合和物品？

实验 6 微生物的分离、培养和菌种保藏

请描述分离菌的菌落特征。

1. 细 菌

2. 放线菌

3. 霉 菌

实验 7 食用菌——平菇的栽培

问答题：

简述平菇的培养和管理方法。

实验 8 甜酒酿的制作和酒药中糖化菌的分离

一、问答题。

1. 试述甜酒酿发酵中涉及的微生物种类及其作用？

2. 酿造出可口的甜酒酿必须具备哪些基本条件？

二、绘出分离菌的形态图，注明各部位名称，并写出中文名和拉丁文属名及放大倍数。

实验 9 微生物的生理生化反应

请将本实验结果填入下表内。

表 9-1 细菌对有机化合物的分解和利用的各项试验结果

试验名称	反应物	代谢产物	检查产物 的试剂	结果记录			
				大肠杆菌	枯草杆菌	金黄色葡萄球菌	未知菌
淀粉水解 试验							
硫化氢产 生试验							
石蕊牛乳 试验							

实验 10 细菌纯培养生长曲线的测定

一、记录培养不同时间后细菌悬液的光密度值。

表 10-1 细菌悬液的 OD 值

	培 养 时 间 (h)								
	0	1.5	3	4	6	10	12	14	
OD 值 (A_{600nm})									

二、以细菌悬液光密度为纵坐标,培养时间为横坐标,绘出大肠杆菌生长曲线,并标出生长曲线中四个时期的位置及名称。

实验 11 噬菌体的培养及效价测定

将各平板上所出现的噬菌斑数记录在下表中。

表 11-1 平板上噬菌斑的数目

噬菌体稀释度	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	对 照
平板上噬菌斑数目 (三个平板的平均数)							

实验 12 根瘤菌质粒的快速检测

一、将观察到的结果绘制成图。

二、对实验结果进行分析、讨论。

实验 13 细菌的紫外线诱变和营养缺陷型突变株的筛选

1. 计算紫外线处理后的存活率

	菌落数	稀释倍数	总菌数/mL	存活率(%)
处理菌在完全培养基平皿上				
未处理菌在完全培养基平皿上				

2. 计算紫外线处理后的杀菌率

	菌落数	稀释倍数	总菌数/mL	杀菌率(%)
处理菌在完全培养基平皿上				
未处理菌在完全培养基平皿上				

3. 计算紫外线诱发突变率

	菌落数	稀释倍数	总菌数/mL	突变率(%)
处理菌在完全培养基平皿上				
未处理菌在完全培养基平皿上				