

The background of the cover is a composite image. The top half features a close-up of a microscope's objective lenses and stage, with a petri dish visible in the lower left. The bottom half shows a petri dish with a grid pattern, containing several small, star-shaped microbial colonies. The entire image has a blue color scheme.

苑宝玲 李云琴 编

环境工程 微生物学实验



化学工业出版社
环境·能源出版中心

环境工程微生物学实验

苑宝玲 李云琴 编



化学工业出版社
环境·能源出版中心

· 北京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

环境工程微生物学实验/苑宝玲, 李云琴编. —北京:
化学工业出版社, 2005. 10

ISBN 7-5025-7771-8

I. 环… II. ①苑…②李… III. 环境生物学: 微
生物学-实验 IV. X172-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 125176 号

环境工程微生物学实验

苑宝玲 李云琴 编

责任编辑: 刘兴春

文字编辑: 向 东 周 侗

责任校对: 陈 静

封面设计: 关 飞

*

化学工业出版社 出版发行
环境·能源出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010) 64982530

(010) 64918013

购书传真: (010) 64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印装

开本 850mm×1168mm 1/32 印张 5½ 字数 129 千字

2006 年 1 月第 1 版 2006 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-7771-8

定 价: 13.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

环境工程微生物学的发展，在环境保护和环境治理中起着举足轻重的作用，它是环境工程、环境科学和给排水工程等专业本科生的专业基础课。掌握必要的环境工程微生物学实验技能对于理解和认识环境工程微生物学的有关理论，从事环境工程的研究工作具有重要的意义。

环境工程微生物学是一门实践性很强的课程，除了系统的课程理论学习外，还必须配有足够数量的实验训练，以巩固和加深学生对基本知识和基本技能的掌握与理解。目前，大多数环境院系都开设这门课程，但并没有一本专门针对环境工程微生物学这门课程的实验书，只是在教材的后续章节中提供了一些基本的实验。随着环境科学与工程学科的发展，特别是生物处理技术在环境领域的突出重要性，所涉及的实验方法和实验手段需要不断丰富和改进，因此针对这些需求，编写了《环境工程微生物学实验》一书。本教材既注重对学生在环境微生物学领域基本实验技能的培养和锻炼，同时也反映了本学科一些新的研究方法，具有内容丰富、选材广泛、实用性强等特点。

本书的实验内容主要包括超微结构的病毒、原核生物、真核生物及水环境中微生物群落的形态观察，纯种细菌的分离、纯化、培养和接种，水的细菌学检查，水体污染与自净的指标评价体系，污染物抑制生物活性和毒性的微生物学检测。此外，为了保证学生对有关知识的整体认识，书中部分实验内容较多，需时较长，教师可根据具体情况进行安排。

本书是由福州大学环境与资源学院苑宝玲、李云琴在环境工程

微生物实验教材和讲义的基础上编写的，所写内容均为自己所熟悉的教学或科研内容。但由于编者水平有限，书中不妥之处在所难免，敬请读者批评指正。

编者

2005 年 8 月

内 容 提 要

本书共包括 22 个实验，其内容涵盖超微结构的病毒、原核生物、真核生物及水环境中微生物群落的形态观察，纯种细菌的分离、纯化、培养和接种，水的细菌学检查，水体污染与自净的指标评价体系，污染物抑制生物活性和毒性的微生物学检测。既注重对学生在环境微生物学领域基本实验技能的培养和锻炼，同时也反映了本学科当前国内外最新研究方法，具有内容丰富、选材广泛、实用性强等特点。

本书可作为环境类及生物类专业大中专学生及研究生的实验指导书，也可供从事环境保护、环境监测、环境工程及相关工作的技术人员参考。

目 录

实验须知	1
一、普通微生物学实验的目的	1
二、普通微生物学实验课的要求	1
三、实验室规则	1
实验一 光学显微镜操作及细菌、放线菌和蓝细菌个体形态的观察	3
一、实验目的	4
二、光学显微镜的基本结构和功能	4
三、实验仪器与试剂	11
四、实验步骤	11
五、实验报告	14
六、思考题	14
实验二 藻类、原生动物及微型后生动物的个体形态观察	15
一、实验目的	15
二、实验仪器与试剂	15
三、实验步骤	15
四、实验报告	15
五、思考题	16
实验三 微生物大小的测定	17
一、实验目的	17
二、实验原理	17
三、实验仪器与试剂	18
四、实验步骤	18
五、实验报告	19
六、思考题	20
实验四 微生物细胞数的计数——显微镜直接计数法	21

一、实验目的	23
二、实验原理	23
三、实验仪器与试剂	25
四、实验步骤	25
五、实验报告	26
六、思考题	27
实验五 微生物的染色	28
一、细菌的简单染色法	29
二、革兰染色法	31
实验六 培养基的制备和灭菌	35
一、实验目的	35
二、实验原理	35
三、实验仪器与试剂	38
四、实验步骤	38
五、实验报告	40
六、思考题	40
实验七 细菌的分离、纯化、培养和接种技术	41
一、细菌的分离、纯化	41
二、细菌的接种	44
实验八 纯培养菌中的菌体、菌落形态的观察	48
一、实验目的	48
二、实验仪器与试剂	48
三、实验方法	48
四、实验报告	49
五、思考题	50
实验九 水中细菌菌落总数的测定	51
一、实验目的	51
二、实验原理	51
三、实验仪器与试剂	51
四、实验步骤	51

五、实验报告	54
六、思考题	55
实验十 多管发酵法测定水中大肠菌群	56
一、实验目的	56
二、实验原理	56
三、实验仪器与试剂	57
四、实验步骤	59
五、实验报告	61
六、思考题	63
实验十一 滤膜法测定水中大肠菌群	64
一、实验目的	64
二、实验原理	64
三、实验仪器与试剂	64
四、实验步骤	64
五、实验报告	66
六、思考题	66
实验十二 噬菌体的分离与纯化	67
一、实验目的	67
二、实验原理	67
三、实验仪器与试剂	68
四、实验步骤	68
五、实验报告	69
六、思考题	70
实验十三 噬菌体效价的测定	71
一、实验目的	71
二、实验原理	71
三、实验仪器与试剂	71
四、实验步骤	71
五、实验报告	72
六、思考题	73

实验十四 水体自净程度的指标	74
一、实验目的	75
二、实验仪器	75
三、实验方法	75
四、实验报告	81
五、思考题	82
实验十五 水体富营养化程度的评价	83
一、实验目的	83
二、仪器和试剂	84
三、实验方法	85
四、实验报告	89
五、思考题	89
实验十六 鱼类急性毒性实验	90
一、实验目的	90
二、实验原理	90
三、实验器材	91
四、实验方法	91
五、实验报告	95
六、思考题	95
实验十七 发光细菌——细菌生物发光抑制试验	96
一、实验目的	96
二、实验原理	97
三、实验器材	98
四、实验方法	98
五、实验报告	100
六、思考题	100
实验十八 硝化细菌——硝化作用抑制试验	101
一、实验目的	101
二、实验原理	101
三、实验器材	102

四、实验方法	102
五、实验报告	103
六、思考题	103
实验十九 藻类——生长抑制试验	104
一、实验目的	104
二、实验原理	104
三、实验器材	105
四、实验方法	105
五、实验报告	106
六、思考题	107
实验二十 原生动物——微尺度群落及毒性试验	108
一、实验目的	108
二、实验原理	108
三、实验器材	109
四、实验方法	109
五、实验报告	110
六、思考题	110
实验二十一 活性污泥毒性检测——脱氢酶活性试验	111
一、实验目的	111
二、实验原理	111
三、实验仪器与试剂	112
四、实验方法	112
五、实验报告	112
六、思考题	113
实验二十二 活性污泥耗氧速率的测定及废水可生化性与毒性的评价	114
一、实验目的	114
二、实验原理	114
三、实验器材	114
四、实验方法	115
五、实验报告	117

六、思考题	118
附录 1 染色液的配制	119
一、吕氏 (Loeffler) 碱性美蓝染液	119
二、齐氏 (Ziehl) 石炭酸复红染色液	119
三、革兰 (Gram) 染色液	119
四、芽孢染色液	120
五、荚膜染色液	120
六、鞭毛染色液	121
七、富尔根核染色液	121
八、Bouin 氏固定液	122
九、乳酸石炭酸棉蓝染色液	122
十、瑞氏 (Wright) 染色液	123
十一、美蓝 (Levowitz-Weber) 染液	123
十二、异染颗粒染色液	123
附录 2 常用染色方法	124
一、染色法 (见实验五)	124
二、革兰染色法 (见实验五)	124
三、芽孢染色法	124
四、荚膜染色法 (墨汁背景染色法)	124
五、鞭毛染色法	125
六、聚 β -羟基丁酸 (类脂粒、脂肪球) 染色	125
七、异染颗粒染色	125
附录 3 常用培养基	126
一、牛肉膏蛋白胨培养基 (培养细菌用)	126
二、淀粉琼脂培养基 (高氏 1 号培养基, 培养放线菌用)	126
三、查氏培养基 (培养霉菌用)	126
四、马丁 (Martin) 琼脂培养基 (分离真菌用)	127
五、马铃薯培养基	127
六、麦芽汁琼脂培养基	127
七、半固体牛肉膏蛋白胨培养基 (厌氧微生物培养)	128

八、合成培养基	128
九、淀粉培养基	128
十、明胶培养基	128
十一、糖发酵培养基	129
十二、复红亚硫酸钠培养基（远藤培养基）	129
十三、伊红美蓝培养基（EMB 培养基）	130
十四、乳糖蛋白胨培养液（“水的细菌学检查”用）	130
附录 4 试剂和溶液的配制	131
一、3%酸性酒精溶液	131
二、中性红指示剂	131
三、淀粉水解试验用碘液（卢戈碘液）	131
四、溴甲酚紫指示剂	131
五、溴麝香草酚蓝指示剂	131
六、甲基红试剂	132
七、V. P. 试剂	132
八、吲哚试剂	132
九、格里斯（Griess）试剂	132
十、二苯胺试剂	132
十一、阿氏（Alsever）血液保存液	132
十二、肝素溶液	133
十三、pH8.6 离子强度 0.075mol/L 巴比妥缓冲液	133
十四、1%离子琼脂	133
十五、其他细胞悬液的配制	133
附录 5 菌种保存方法	135
一、保藏方法分类	135
二、各保藏法的应用范围及优缺点	136
附录 6 常用染料	142
一、天然染料	142
二、人工染料	143
附录 7 废水生物处理过程中常见的微生物	146

一、细菌	146
二、原生动物	148
三、后生动物	152
附录 8 水环境中常见藻类	153
参考文献	159

实验须知

一、普通微生物学实验的目的

掌握微生物学实验的基本操作技能，了解微生物学的基本知识；加深对课堂理论的理解。同时培养同学认真观察思考、分析解决问题的能力 and 严肃认真的科学态度。

二、普通微生物学实验课的要求

1. 实验预习，了解实验的目的和原理，做到每一步实验都心中有数。

2. 实验观察和记录，微生物实验的连续性较强，实验中也经常出现突发情况，所以要求同学认真细致观察，如实记录。

3. 实验结果，要求同学实事求是地填写实验结果，交给老师评阅。

4. 爱护公共财物并维护公共秩序。

5. 公用的仪器药品用后放回原处。

6. 对精密仪器（显微镜、天平）细心维护，轻拿轻放。

7. 从冰箱或温箱取放物品时要随时关门。

8. 对消耗性的材料、用品、药品要厉行节约（擦镜纸、滤纸条等）。

三、实验室规则

微生物实验不同于动、植物实验，会经常接触到一些致病菌或条件致病菌，所以希望大家严格遵守无菌操作，为保证自身及他人

的健康，以防污染或感染。

1. 实验室的整洁，非必需书、物品请勿带入实验室，不得在室内吸烟、进食，实验后收拾、擦净桌子。

2. 实验时需小心，如遇到盛菌试管打破或皮肤破伤要及时处理。

3. 实验培养的材料需标明自己的组别、处理方式，放入教师指定地点培养。

4. 实验后的灭菌，所用物品可用 3% 来苏水浸泡消毒或高压灭菌。

5. 实验前后、工作之前先洗手，工作后用肥皂洗手。

6. 离开实验室，一定关闭水、电、门、窗。

实验一 光学显微镜操作及细菌、放线菌和蓝细菌个体形态的观察

由于微生物个体细小，因此必须用显微镜来研究它们的个体形态和细胞结构。熟悉和掌握显微镜的操作技术是研究微生物不可缺少的手段。

现代显微镜一般可以分为两大类，一类是光学显微镜，另一类是非光学显微镜。这两类显微镜又可根据不同的情况分成若干类型，如下所示。

