

张清敏 主编 李洪远 王 兰 副主编

环境生物学实验技术



Chemical Industry Press

33



化学工业出版社
环境科学与工程出版中心

环境生物学实验技术

张清敏 主 编
李洪远 王 兰 副主编



化学工业出版社
环境科学与工程出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

环境生物学实验技术/张清敏主编. —北京:
化学工业出版社, 2005.4
ISBN 7-5025-6826-3

I. 环… II. 张… III. 环境生物学-实验
IV. X17-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 023407 号

环境生物学实验技术

张清敏 主编

李洪通 主 兰 副主编

责任编辑: 徐娟

责任校对: 战鸿红

封面设计: 关

化学工业出版社 出版发行
环境科学与工程出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

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

*

新华书店北京发行所经销

北京红光印刷厂印装

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 10 $\frac{3}{4}$ 字数 222 千字

2005 年 5 月第 1 版 2005 年 5 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6826-3/X·613

定 价: 25.00 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

编写人员名单

主 编 张清敏

副 主 编 李洪远 王 兰

编写人员（按姓氏笔画排序）

马宝玲	马维奇	王 兰	王 忠	多 森
刘 曼	苏 锋	李 阳	李 燕	李洪远
张 丽	张彦峰	张清敏	陈爱因	孟伟庆
侯树宇	梁 林			

前 言

所有自然科学知识和理论都来源于实际的观察和实验，对于实验性学科——环境科学来说，就更是如此。富营养化水体的生态修复、污水处理、固体废物的资源化以及污染空气的净化等，都离不开环境生物学技术，因此，环境生物学实验课程，就成为了培养学生科研素质、提升创新能力的重要环节。环境生物学实验技术是生态学、微生物学和毒理学等课程的重要组成部分。现代生物学实验技术是多种多样的，既有基本的显微观察和实验方法，也有高技术分析和方法。本书着重指导学生如何能设计实验（课题研究方案），记录实验中的实验数据和问题，进行数据分析以及怎样写作实验报告或论文。有些实验技术是复杂的专业性的实验技术，在研究生阶段，甚至更远的将来也能使用。由于学生之间知识背景和实验基础存在着差距，所以，在实验技术编排上尽量从基础实验技术入手，以适应不同实验技术水平的学生使用。

由于环境生物学涉及的范围广，不可能把所有的实验技术方案都一一列出，但是，本书包括了环境科学学生必须具备的生物学实验技术。学生们在学习一般原理和技术要点的基础上，可以进一步改进或创造出更新更有价值的实验技术。本书的特点为：

- 经典的实验技术，以图文框详细说明；
- 强调实验操作要点，突出关键实验技术；
- 每个实验之后列出了思考题，以提高理性认识，扩展发展空间；
- 重点突出，图表丰富，使用方便；
- 强调实验设计、实验记录和实验报告（包括论文）的写作。

书中大部分章节都进行了多年的实验课教学实践，在编写过程中得到了许多研究生的帮助，汲取了不少的真知灼见，但是，限于我们的水平，难免会有疏漏和遗憾之处，望老师和同学们在使用本书时及时提出批评指正。

编者

2005年2月于南开园

内 容 提 要

本书共分6章。第1章是实验技术课程的主旨和要求；第2章是基础实验技术，学生必须牢固掌握；第3章是现代生物学实验技术；第4~6章是专业性实验技术，分别为环境微生物学实验技术、环境生态学实验技术和生物有效性实验技术。

本书涵盖了环境生物学所有实验技术，是环境科学及相关学科学生的必备实验教材，它可为攻读不同学位的学生打下良好的实验技术基础，也是从事环境科学实验研究的科技人员的实用参考书。

目 录

第 1 章 实验技术课程的主旨和要求	1
1.1 实验技术的主旨	1
1.2 实验技术课的基本要求	1
1.3 实验工作记录	3
1.4 课题研究	6
1.5 实验报告与论文写作	7
第 2 章 基础实验技术	10
2.1 液体的量取	10
2.2 溶液的配制	14
2.3 天平的使用	17
2.4 水、pH 值和缓冲溶液	17
2.5 溶解氧的测定	22
2.6 电导率的测定	25
2.7 透明度的测定	26
2.8 吸光值的测定	26
2.9 样本和取样	27
2.10 实验设计	32
第 3 章 现代生物学实验技术	37
3.1 细胞培养技术	37
3.2 动植物组织和细胞研究	41
3.3 基因工程技术	46
3.4 免疫技术	51
3.5 离心技术	59
第 4 章 环境微生物实验技术	64
4.1 培养基的制备	64
4.2 消毒和灭菌	67
4.3 微生物的接种技术	70
4.4 微生物形态观察	73
4.5 细菌染色法及观察	75
4.6 水中细菌总数的检测	80
4.7 水中大肠菌群的检测	82

4.8	土壤及空气中微生物的检测	87
4.9	微生物在氮素循环中的作用	90
4.10	光合细菌的培养及其对高浓度有机废水的净化作用	92
4.11	酚降解菌的分离及其性能的测定	94
4.12	活性污泥微生物的显微镜观察及微型动物的计数	96
4.13	活性污泥耗氧速率、废水可生化性及毒性的测定	98
4.14	表面活性剂降解菌的分离	101
第5章	环境生态学实验技术	104
5.1	生命表及生殖力表的编制方法	104
5.2	种群在有限环境中的 Logistic 增长	106
5.3	温度对鱼类呼吸速率的影响	108
5.4	水体初级生产力的测定	110
5.5	次级生产力的测定	112
5.6	群落中物种多样性指数的测定	113
5.7	植物群落数量特征的调查(种-面积曲线的绘制)	116
第6章	生物有效性实验技术	120
6.1	种子发芽毒性实验	120
6.2	蚕豆根尖微核实验	121
6.3	藻类急性毒性实验	124
6.4	枝角类急性毒性实验	127
6.5	脱氢酶活性测定	130
6.6	羧甲基纤维素酶活性测定	132
6.7	污染物对细胞色素 C 的影响	133
6.8	污染物对乙酰胆碱酯酶的影响	135
6.9	污染物对斑马鱼胚胎发育的毒性测定	136
6.10	环境污染物的生物毒性实验——发光菌的发光光度法	138
6.11	Ames 致突变实验	140
附录1	SI 单位及其应用	147
附录2	实验误差与提高实验准确度的方法	151
附录3	易变质及需要特殊方法保存的试剂	156
附录4	常用化学消毒灭菌药剂	157
附录5	生物学中常用染色剂及其特性	159
	参考文献	161

第1章

实验技术课程的主旨和要求

1.1 实验技术的主旨

任何科学知识和理论都来源于实际的观察和科学实验，这一点对于环境科学更是如此。实验技术课程是大多数课程的重要部分，在实验课上培养起来的科研素质和实验技能，不仅对学生完成学业而且对从事创新性课题研究都具有重要而深远的意义。

实验技能的培养包括：

- ① 设计实验，在了解实验原理和目的基础上，逐渐学会自己设计实验；
- ② 观察与测量，这是实验过程的主要内容；
- ③ 实验记录，真实准确地记录实验中每一个数据、每一个细节并且及时整理；
- ④ 分析和解释数据，是处理实验数据的基本功；
- ⑤ 写作实验报告，是对实验技术过程和实验结果的总结，同时也是提升综合科研素质和实验能力的重要一环。

1.2 实验技术课的基本要求

1.2.1 课前充分准备

要点 实验前准备越充分，则学到的实验技能就越多。不要认为老师已经为实验课准备好了一切，自己只要“照方抓药”就行了。

课前务必做如下准备。

① 预先仔细阅读实验讲义内容，明确实验目的和实验技术。该实验与当前的课堂学习有关吗？是否需要复习或预习这部分内容？完成预习报告。

② 实验时携带记录本、铅笔等必要的文具，以便记录实验中的数据和现象。

③ 认真了解并严格遵守实验室和野外工作的规则（图文框 1-1 和图文框 1-2）。

图文框 1-1 实验室工作的基本规则

(1) 熟悉如何处理着火事故，包括安全出口的位置，怎样启动报警器，脱离着火现场后在哪里集合等细节。切记，在任何时候，人身安全是第一位的。

(2) 时刻着装保护衣：整洁的实验服（扣好纽扣），必要时要戴安全眼镜（对眼睛有害的场合）和口罩。

(3) 严禁在实验室吸烟、饮食，以免吸入或误食污染物。

(4) 使用移液管时，不要用嘴吸取液体，应使用洗耳球。

(5) 小心使用玻璃仪器。

(6) 了解危险化学品药品的警告标志。

(7) 危险化学品药品要在通风橱中操作。保证通风橱正常工作，非必要时不要打开通风橱，通风橱上一般标有最大开口限度。

(8) 危险药品的用量应尽量少。

(9) 操作时干净利落，有条理，考虑周密，尽可能避免事故发生。

(10) 每次实验完毕要进行彻底清理，这既是保证安全的重要方法，也是培养对实验工作负责的态度。

图文框 1-2 野外工作的基本规则

(1) 出发前充分了解野外工作的目的、潜在的危險以及合适的防护措施。

(2) 认真设计工作方案，充分考虑参与人员的身体素质、经历和工作地点的环境。不要过高估计预期结果——野外工作通常比实验室工作要求更严格。

(3) 备齐第一救助设备，至少有两名参与人员接受过救助培训。

(4) 未经组织者或领队允许，不要单独工作。

(5) 携带地图和指南针，并会正确使用。

1.2.2 实验过程

实验过程中认真、准确地记录每一个数据和每一个细节，不管是否对实验结果有意义，都要记录下来，不放过任何疑点。

实验过程中要保持桌面整洁，实验记录本放在工作区附近，但不要放在工作区内；把清洁的器具放在实验桌的一边，使用过的放在另一边。

对于公用的实验试剂和用具，遵守“物归原处”的原则，用完后立即原样放好。这是对自己对他人方便的职业习惯，必须注意养成。

1.2.3 按时完成实验报告或论文

在完成实验内容后或阶段性实验后,必须及时地进行总结,对实验内容和实验结果用简洁的文字表达出来,这就是实验报告,如果是阶段性课题研究就是科学论文。写作实验报告和科学论文的过程也是提高写作水平和整理、提高科研水平的过程。

写实验报告时,从“材料和方法”开始写起,是最容易入手的方法。把实验中所用的实验材料和实验方法用简洁的文字尽可能详细而又准确地表述出来。“结果”、“讨论”是最难写的部分,可以先写出初稿,隔几天后再仔细斟酌每一句、每一字。写实验报告也必须事先计划,务必安排足够时间进行修改、讨论。为了按时高质量地完成实验报告或论文,必须设置时间表,并要留有余地。

1.3 实验工作记录

在进行现代化的实验室工作或课题研究项目时,需要掌握处理数据和观察结果的技能,要学会在实验记录本上记录研究情况,原因是:准确和有条理的记录有助于以后使用,如写实验报告或写论文;进行重要的技能锻炼,如科学写作、绘图、制表或解释结论等;在研究过程中分析和处理数据,避免研究结束时积压起来。

1.3.1 原始数据的收集和记录

要点 记录原始数据——不要在草稿纸上胡乱记录数据,否则容易丢失或忘记每个数值代表的含义。

单项观察结果(如实验室温度)可直接记录在记录本上,但在收集大量信息时,用表格就显得非常方便。创建表格的要领包括以下几点。

- ① 确定一个简短的标题或数字编码,以便相互参考。
- ② 确定要测定的变量数目及其相互关系,绘出一个合适的表格。

表格的第一列为自变量的值,后面的几列为各个重复或样本的测定值。如果对同一生物体或样本测定了多个变量,每个变量要占据一行。进行时间进程研究时,各个重复按处理方式分类填在表格的竖列中,不同的时间填在表格的横行中。

③ 数据的排列要反映其收集顺序,表格的设计要尽量使记录过程直观,以减少记录错误。最后论文发表时,可使用不同的排列方式。

设计数据收集的表格——要保证有足够的空间填写数据,出错时还能在旁边更正。

④ 根据计算的需要添加列。各个数学计算单独归入一列,使计算步骤清晰,如果计算大量数据,可使用计算机的制表软件。

⑤ 用铅笔记录数据,以便修改。

⑥ 记录定量数据要仔细,每个数字要大而清晰,以避免混淆。

⑦ 数值型数据要有合适的有效数字,反映出测量的准确性和精确性。数据不要四

舍五入，否则会影响以后的数据分析。

⑧ 复制记录表，用来记录重复的实验和观察。

⑨ 不正常的数值或观察结果要在脚注中注明，不能试图依赖记忆。

1.3.2 课题研究的详细记录

课题研究工作最好要做两次记录。

(1) 原始记录

原始记录常在实验室或田间完成。这时，应重点记录材料、方法和结论等方面的细节。包括在其他地方用不到，但可用来检查错误的信息，如配制溶液的过程（精确记录体积和质量，而不仅仅是浓度），如果出现错误结果，就可检查是否存在计算方面的错误。记录所用的化学试剂和材料的生产厂家（来源）、类型和状态。如果用活页纸进行记录，一定要在每页纸上标记日期和页码，用订书钉或活页夹装订在实验记录本上。

原始记录的基本顺序应该反映出研究报告的雏形，包括标题、日期、简短的前言、详尽的材料和方法、数据及简略的结论。

(2) 第二次记录

在原始记录之后，应在另一个记录本上整洁地进行第二次记录。在与导师讨论实验结果和写作实验报告或研究论文时要参考该记录本。这些记录要保留原始记录的基本特点，但更加精简，重点应转移到对实验的分析上。数据的表示要易于理解，如使用表格或归纳图。用合适的统计检验进行结果分析。

选择笔记本——螺旋装订的记录本适于用来记录原始数据，打开后，可以很方便放在实验桌上，出现重要记录错误也容易修改。

1.3.3 记录的要点

两次记录法是处理在实验室或野外进行的潦草记录的方法：有时需在混乱复杂的条件下迅速记录数据，然后再进行第二次整洁记录。这样可以再次考虑原始记录中被忽视的细节，同时也进行了复制，以免原始记录丢失或污损。

日常记录可用来确定已有的研究（如值得摘录的专利研究，某种观点的作者、出处、时间等），也可用来检查错误（如找出影响实验结果的方案）。

进行原始记录时，不要随意丢失任何数据。例如如果仅仅记下平均数，而没有记录具体数据，就会影响以后的统计分析。

有许多方法可以减少记录的工作量。对于类似的实验不需要重复记录“材料和方法”部分，如可以写作“实验方法参照实验 B4”。如果实验方法引自于教材或论文（与导师核实以后），复印一份即可。

收集数据后要立即进行分析，否则会影响后面的工作。特别重要的是值得用图显示实验结果。进入下一步实验之前必须完成统计分析，因为处理数据表面上的差异经统计检验后可能并不显著。在分析数据的过程中要记得出的任何结论，有时实验中很明显的结论在写作报告和论文时就忘记了。同样地，有时会突然产生进一步研究的方案，立

即记录下来,对以后的工作有参考价值。即使实验失败了,对原因的分析也会为今后的研究提供参考。

1.3.4 野外工作的特殊要求

在野外工作时遇到的主要问题是天气对原始记录的影响,以及实验场地距离第二次记录的时间。风、雨、低温等都会影响记录,因此时刻要做好最坏的准备。做记录时要穿着合适的衣服。

保护野外记录本的最简单的方法是用一个大的透明塑料袋把它装起来,可以在袋内进行记录(图1-1)。也可以使用覆有防水膜的文件夹保护记录本,或使用专门的具有防水封面的记录本。

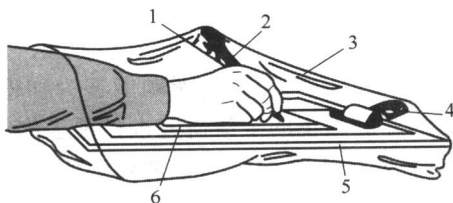


图 1-1 一种在野外保护记录本的简单有效的方法

1—系笔的细绳; 2—可以在潮湿的纸上写字的铅笔
(不能用钢笔); 3—透明塑料袋; 4—铁夹; 5—硬板(用 A4 纸
至少要 31cm×22cm); 6—记录纸

在室外记录观察结果时要注意以下事项。

① 用铅记录。在潮湿或低温条件下,用钢笔或圆珠笔写的字迹易模糊,持久性差,还不能过度倾斜书写。

② 出发前充分准备,以提高野外记录的速度与质量:时间和地点预先写好,表格预先设置好。

每次返回基地后要重新抄写野外原始记录,因为在野外工作时很容易丢失或损坏记录本。返回后,趁记忆清晰,迅速补写其他细节。

③ 可以考虑录音记录,但也要尽快记录在记录本上,以防录音效果不好。

④ 适当考虑使用照相机。尽快冲洗相片,检查拍照是否合适。选择拍照质量有保证的照相机。

1.3.5 使用集体记录

如果是研究小组共同工作,可以使用集体数据库。这样就避免了重复记录的麻烦,又保证了技术上的一致性。集体记录包括:一本公用的普通技术手册(如怎样配制培养基或溶液);一套仪器使用说明书;公用化学试剂目录以及仪器和日常实验用品的供应商名单(标明存放位置)。

1.4 课题研究

课题研究过程中困难重重，但收获颇多。研究工作的评定是学位成绩的重要组成部分，因此，要全面完成课题研究。

1.4.1 确定研究题目

慎重地考虑确定研究题目，征询导师的意见，利用图书馆的资料和研究论文获得更多的研究背景信息。最重要的是能否对选择的题目在整个研究阶段都保持兴趣。其他的有关事项如下。

① 学习新技能的机会。实际上，你应该努力去获得经验和技能，有信心完成课题研究。

② 获得有效研究结果的途径。一个理想的课题能够为你得到研究论文中许多可信的数据提供方法。同时，通过开展真正的全新研究也扩展了你的知识。

③ 帮助。在研究过程中需要什么帮助？一个忙碌的实验室（拥有许多做论文的学生）能够提供良好的研究环境，但导师太忙而无暇顾及你，你要争取更多的机会与导师交流。

④ 论文发表。大学生具有写作研究论文的能力，有远见的导师会引导你抓住论文发表（期刊或会议）的机会。

了解导师、实验室和课题的最好的信息来源是询问师兄师姐。有些研究生可能已经建立了你所需要的实验系统，他们会提出新的建议。

与导师沟通对于有效开展工作是必需的。可事先约定专门的会谈时间，如讨论学期进展、回顾工作计划或考虑草稿的前言内容。大多数导师持“开放政策”，允许你讨论新的问题。每一次会谈都要充分准备：写出要咨询的问题；用容易理解的方式表述实验结果（带上实验记录本）；明确进一步工作的计划。

1.4.2 制定研究计划

由于研究时间较长，需要制定计划，以充分利用时间。研究计划包括日常计划和整个研究计划。论文写作也要列入研究计划。

如果要求写出阶段性研究报告，要把它看做是清理思路、进行总结的机会，设定期限，完成草稿的前言、材料和方法等部分，值得花一些时间。

1.4.3 开始研究

图 1-2 为进行课题研究的步骤示意。开始时，不要花费太多时间阅读文献和制定冗长的研究计划。集中精力做一个实验，可以激发新思想的产生，没有任何东西能代替实践。即使实验“失败”了，也会从中获取有用的东西来提出新的假设，或修改原有假设。预备实验能及早发现实验技术的不足，从而及时调整。实践经历有助于制定合乎实际的研究工作计划。

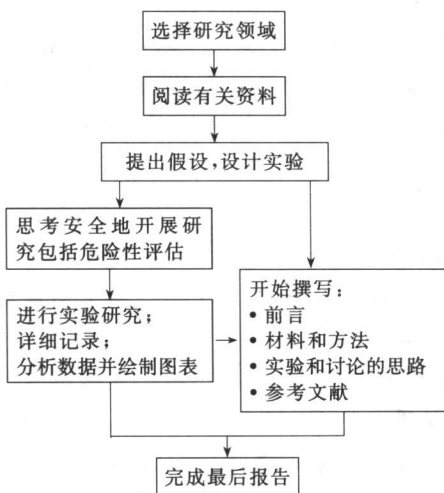


图 1-2 进行课题研究的步骤示意

1.4.4 实验室工作

课题研究期间, 应注意如下事项。

(1) 考虑周全。保持工作台面整洁, 主动承担一些实验室的工作, 如校正 pH 计、配制母液、照看植物和动物以及继代的培养物等。

(2) 小心使用仪器。仪器价格昂贵, 粗心操作会导致仪器的校正装置失效, 影响他人和自己的工作。

(3) 预先熟悉操作技术。充分了解实验方法可以避免重大错误的发生。

(4) 对于没有把握的操作步骤, 应经常请教他人。

要点 遵守实验室和野外基地的所有安全条例, 熟悉所有相关的实验过程——在这些工作场所通常贴有醒目的警示标志。如有疑问, 请教他人!

1.5 实验报告与论文写作

在每项实验完成后都必须尽快写出实验报告, 这是培养和提高科学研究素质的重要方法, 也是与他人进行科学成果交流的重要方式。虽然实验报告与课题报告、学位论文在内容的深度、广度及篇幅上有很大区别, 但是它们的基本结构是相同的。撰写实验报告或论文的步骤如下。

(1) 列提纲

参照图文框 1-3 中对实验工作报告格式的要求, 对报告的各部分写出提纲或列出计划。

图文框 1-3 实验工作报告的结构 (格式)

实验工作报告的结构 (格式) 几乎适用于所有毕业论文和论文, 一般来讲大学生的实验报告和课题研究报告均以这种结构作为模式。普通目录的格式有“结果和讨论”部分, 便于分析结果, 并指出经研究得到的一些观点。在科技论文中, 摘要之后紧跟着关键词。

要素 (按顺序)	内容/目的	内容回顾
标题	表明论文主题	是否简短地说明了文章的内容?
作者与单位	介绍作者及其工作单位和联系地址	所有的细节是否正确?
摘要	概括方法、结果和结论	是否解释了进行这项工作的原因?
引言	解释进行这项工作的原因以及文献背景, 选择这些实验方法和实验材料的依据, 指明实验中隐藏的假设	是否提供足够的背景知识和引用所有相关的文献? 所有科学术语是否被定义? 是否已经解释了研究这个问题的原因和整套方法?
材料和方法	实验所用材料和方法, 应尽量详细, 以便其他实验工作者重复这项工作	是否包括每个实验和避免了不必要的重复? 所用生物材料是否使用了正确的命名? 所有化学药品是否使用了正确的名称、来源和纯度?
结果	以一种容易理解的方式排列和描述获得的数据 (用图则不用表格, 或用小表格而尽量不用大表格)	实验结果是否具有逻辑性? 所有部分是否有足够的联系? 所有数据是否以最清楚的方式表达出来? 是否进行了统计分析? 所有图和表格是否以应有的顺序出现? 所有的图和表格说明是否提供了足够解释结果的信息?
讨论/结论	讨论结果: 结果的意义、重要性以及与其他人所做的结果进行比较分析, 建议下一步将做什么	是否解释了结果的重要性? 与已发表的资料进行比较创新点是什么?
致谢	感谢那些给予帮助的人	是否列出所有给予帮助人 (包括给予资助的团体) 的姓名?
参考文献	以合适的形式列出所有的参考文献: 提供足够的信息以便读者能方便的找到这些文献	是否列出论文中出现的所有参考文献? 所列的参考文献在论文中出处编号是否正确? 期刊是否完全以正确的形式出现? 是否按顺序或正确的序号列出?

(2) 撰写

“前言”，这是论文写作最花时间的部分。开始时，要安排一些时间到图书馆查阅资料或在网上浏览有关资料，积累相关参考文献，与导师讨论研究内容和实验步骤，以免徒劳。在“前言”的末尾留一段空间来写实验目的和研究目标。这对于老师或读者了解你的研究内容非常重要，可以在结果分析后再完成这一部分。

“材料和方法”，这一部分容易写，忠实于实验记录，不要漏掉任何细节。这一部分不允许有“结果与讨论”的内容。

“结果”，是将实验数据绘制成图表的形式表达，也涉及文字的描述，比较容易写。

“讨论/结论”，这一部分最难写，要阐述主要观点，用自己的研究结果与相关文献的结果进行比较，表达应尽量简明。

“摘要”，是论文的精华，具有画龙点睛之效果，务必反复推敲每一个字，做到恰到好处。

“致谢”，列出所有给予帮助人的姓名。

“参考文献”，按照论文中先后引用的顺序列出所有参考文献。为了防止出错，在查阅文献时就做成卡片，以便在撰写论文时查找。

(3) 修改

一旦完成初稿，检查是否解答了图文框 1-3 所提出的问题。交给指导老师审阅，或请不熟悉你课题研究的朋友或同事阅读你的论文，他们也许能指出一些措辞错误或遗漏的信息或不清楚的解释。写完论文，至少检查两遍。

(4) 定稿

整洁的论文令人欣赏，以最好的形式打印出来，确保图表清晰，大小合适，格式正确。