

环境微生物学综合性实验教学改革

乔维川* 虞磊 叶菊娣

(南京林业大学生物与环境学院环境工程系 江苏 南京 210037)

摘要: 目前环境微生物学实验教学还存在学生的实验技能锻炼少、实验与科研训练脱节、有价值的学生实验被忽视等缺点,亟需对此进行改革。本文在分析环境微生物学实验教学的现状及主要问题的基础上,提出了以科研创新项目为基础设计综合性实验,以教学实验结果转化为科研前期成果的改革思路,重点探讨了针对环境微生物学科研实训性实验教学改革的具体方向和措施,以提高学生的实验操作技能,促进学生创新能力的培养。

关键词: 环境微生物学, 实验教学, 改革, 科研

Teaching reforms of comprehensive experiment in Environmental Microbiology

QIAO Wei-Chuan* YU Lei YE Ju-Di

(Department of Environmental Engineering, College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China)

Abstract: There are many shortcomings in the experiment course of Environmental Microbiology, such as the less practice on experiment skills, no relationship between the designed contents and scientific researches, and sometimes the valued experiments were ignored. Therefore, changes should be done urgently. In this paper, the current status and problems in the experiment course of Environmental Microbiology were totally analyzed. The comprehensive experiments were designed aiming for scientific research innovation and scientific research goals. The innovation idea was that experimental teaching results should be converted into scientific research pre-production. Moreover, in order to improve the experimental skills and creativities, the specific directions and methods of the teaching innovation was mainly discussed.

Keywords: Environmental Microbiology, Experimental teaching, Innovation, Scientific research

Foundation item: The Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD); Teaching Reform Program of Nanjing Forestry University

*Corresponding author: E-mail: hgqwc@njfu.edu.cn

Received: September 30, 2016; **Accepted:** January 12, 2017; **Published online** (www.cnki.net): January 16, 2017

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程; 南京林业大学教学改革项目

*通讯作者: E-mail: hgqwc@njfu.edu.cn

收稿日期: 2016-09-30; 接受日期: 2017-01-12; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-01-16

环境微生物学是在环境科学和环境工程两个专业方向的基础上应运而生的一门微生物学的新分支学科。它是环境科学、环境工程、环境监测、生物工程和给排水工程等专业的专业基础课,旨在为学生提供广泛的微生物基础和操作技能^[1]。作为环境微生物学的实践教学环节,“环境微生物学实验”课程的教学目的是为学生完成毕业论文、从事环境工程以及生物水处理技术相关工作奠定实践基础^[2]。通过“环境微生物学实验”的学习,学生应当熟练掌握一套培养、分离、鉴定、定向选育微生物的实验方法和操作技能。

南京林业大学自 2000 年设立环境工程专业以来就开设了“环境微生物学实验”课程,以增强环境微生物学的教学,提高学生的微生物学实验操作技能。通过多年的教学实践,“环境微生物学实验”教学体系已趋于成熟和完善。但是,随着我国经济改革的不断发展,要求环境微生物学的教学应当更加注重实践,使本科教学与科研创新建立更紧密的联系^[3]。因此,本文提出了“以科研促教学,以教学带动科研”的思想,重点研究了环境微生物学实验教学如何与科研实训紧密结合,以科研综合性实验代替传统的单项实验教学,探索出一套科研与教学实验相互促进的环境微生物学实验教学方法。使学生在科研课题的实验研究基础上,加强对环境微生物学基本理论知识的理解,培养学生分析问题与解决问题的能力,并熟练掌握必要的微生物学实验技能。

1 环境微生物学实验教学中的主要问题及改革思路

目前,南京林业大学开设的“环境微生物学实验”课是环境工程专业基础课“环境微生物学”的辅助实验教学课程,主要由 8 项基本实验和 1 项综合性实验构成,共 16 个学时,已经形成了完整的课程体系,但目前还存在不少的问题。

(1) 现有的实验仅仅是对学生进行实验技能的培训,缺乏培养学生对微生物学基本理论知识的理解能力,以及分析问题和解决问题的能力,因此有

必要通过良好的实验设计来提高对学生能力的培养水平。如果能将教学实验与教师的科研创新结合起来,就有可能解决此问题。实际上,环境微生物学的某些基础性科学研究,例如环境微生物资源的开发利用等项目,包含了大量的微生物学基本实验操作,因此将科研实训与教学实验相结合,具有很强的可行性。

(2) 现有的实验教学安排学时短、教学时间仓促,学生没有足够的时间去学习和练习;并且环境工程专业的学生较多,而教学实验室空间狭小,很难有足够的实验空间。如果以科研课题为基础,完全用科研性实验代替现有的单项实验,则可打破实验的时间和空间限制,即授课教师在集中讲授实验原理和操作技能的基础上,由实验课题小组根据需要自由选择实验时间和地点进行课题研究,使学生的学习效果达到最大化。

(3) 每项课程内容均相对独立,不符合微生物学实验的一般规律。从原有的课程设置(表 1)可以看出,目前环境微生物学实验课所设置的实验内容多为孤立、连贯性不强的项目,各实验之间的内容重复较多,学生难以系统地掌握微生物学实验。有必要将原来独立设置的实验内容整合到一起,形成具有一定连续性的实验体系。一项涉及微生物研究的科研课题,往往与微生物的分离、筛选和鉴定有关,实验操作均包含微生物的所有操作单元。因此,将各项实验内容设为一项综合性科研实验,能使学生更加全面地理解微生物的操作,提高微生物实验操作技能。

(4) 在每学年的环境微生物学实验中,学生们都能够从不同的环境中分离到大量的纯种微生物,其中一部分实际上具有较大的实用价值,但由于实验时间有限,未能对其进一步研究,导致了这些微生物资源的浪费。如果教师的科研实验与教学实验结合起来,就可充分利用教学实验的成果,为教师的科研服务;同时,教学实验也有了更明确的目标,学生可以得到实际的实验训练,成果更加显著。

表 1 原有实验项目的设置
Table 1 The setting of original experimental content

实验项目 Experimental items	课时数 Class hours	内容提要 Summary
光学显微镜的操作和纯培养菌种的形态观察 Operation of the optical microscopy and morphological observation of pure culture strains	2	掌握光学显微镜的结构、原理及操作方法, 观察细菌、真菌、活性污泥等微生物的微观形态
微生物细胞数的计数 Counting the number of microbial cells	1	掌握血球计数板的结构和使用方法, 掌握溶液中酵母菌数量的测定和计算方法
细菌的简单染色和革兰氏染色 Simple and gram staining of bacteria	2	掌握细菌的简单染色和革兰氏染色方法, 判断革兰氏阳性菌和阴性菌的方法
培养基的配制和灭菌 Preparation and sterilization of the culture medium	2	掌握 LB 和 PDA 培养基的配制、分装和高压蒸气灭菌方法及无菌操作技术
细菌的纯种分离、培养和接种技术 Purebred isolation, culture and inoculation technology of bacteria	1	练习掌握涂布平板法和平板划线分离法分离微生物
纯培养菌种的菌体、菌落形态的观察 The colony morphology observation of pure culture strains	1	观察细菌、真菌在固体培养基和液体培养中的菌落形态
细菌菌落总数的测定 Determination of the total number of bacterial colonies	1	了解大肠菌群的生化特性, 学习测定自来水中大肠菌群数的方法
空气中微生物的测定 Determination of microorganisms in air	1	通过实验了解不同的环境条件下空气中微生物的分布状况, 学习并掌握检测和计数空气微生物的基本方法
土壤中微生物的分离与鉴定 Separation and identification of microorganisms from soil	5	综合性实验, 完成土壤中微生物的分离、筛选和初步鉴定

2 科研实训性教学改革探索

针对出现的问题, 设定以下教学改革的目标: 通过对环境微生物学实验教学大纲进行修订, 改革传统的实验教学方法, 将单一的实验操作技能训练转变为以科研创新项目为基础的科研实验训练。围绕单项实验操作训练设计综合性科研实验, 将教学实验结果转化为相关的科研前期成果, 不但能够实现学生实验技能的训练和提高, 还能加强学生对环境微生物学基本理论知识的理解, 培养学生分析问题与解决问题的能力, 而且还为本科生提供了一种实践创新训练的方式。此外, 教学实验结果还将作为科研的基础性工作, 提高环境微生物学研究的科研效率。

2.1 课程教学实验内容的设计

目前在环境微生物学实验的教学改革中, 普遍以综合性实验替代独立的单项实验, 甚至采用模块

化的教学方式^[4]。使学生在完成特定实验任务的过程中学习各种环境微生物学所要求的实验技能。本研究设计了两项综合性实验, 将所有的单项微生物学实验融入其中, 即: 环境中特定微生物的分离、培养和鉴定, 以及污水处理厂区环境中微生物的测量和观察。

2.1.1 环境中特定微生物的分离、培养和鉴定综合性实验: 具体的实验流程如图 1 所示。

(1) 选择实验任务。即需要从环境中分离特定微生物, 选择的标准是易于从环境中分离、筛选和鉴定。由实验指导老师根据自己的科研课题确定或由学生自由选择几种常见的目标微生物, 如纤维素降解菌、酚降解菌、石油烃类降解菌、木质素降解菌等。

(2) 培养基的制备和灭菌。根据实验任务, 学生需要配制 LB 培养基和 PDA 培养基, 同时还需要配制相应的鉴定和筛选培养基。

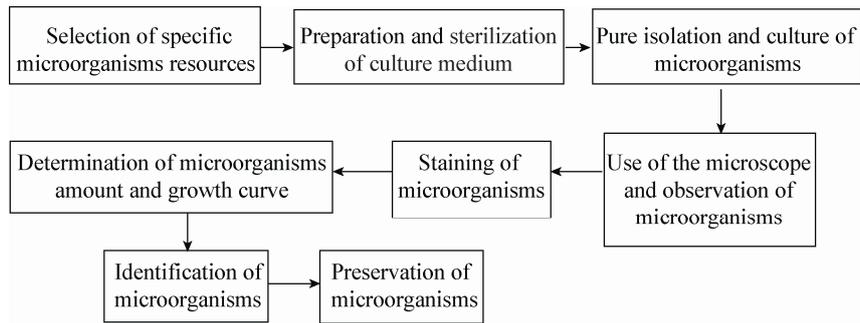


图 1 环境中特定微生物的分离、培养和鉴定实验

Figure 1 Isolation, cultivation and identification of specific microorganisms from environment

(3) 微生物的纯种分离和培养。选择环境样品(土壤、活性污泥等), 采用稀释平板法进行微生物的分离和筛选。培养基主要选用鉴别培养基。

(4) 光学显微镜的操作和纯培养菌种的形态观察。对分离出的微生物进行显微镜观察。重点学习显微镜的操作和微生物培养特征的观察。最后将目标微生物接种到斜面 LB 培养基或 PDA 培养基。

(5) 微生物的染色。练习革兰氏染色法, 鉴定所筛选微生物属于革兰氏阳性或阴性。

(6) 微生物的生长量和生长曲线的测定。采用重量法或比色法对微生物生长量和生长曲线进行测定。

(7) 微生物的种类鉴定。对所筛选的微生物提取基因组 DNA, 采用 PCR 基因扩增技术对其中的 16S rRNA 基因或 18S rRNA 基因进行克隆和 DNA 测序。学习利用 GenBank 数据库进行微生物的种类鉴定。

(8) 菌种的保藏。学习和掌握菌种的低温保藏处理方法, 对微生物进行分类保藏。

2.1.2 污水处理厂区微生物的测定和观察: 具体的实验流程如图 2 所示。

(1) 活性污泥的培养和观察。要求学生自行培养活性污泥, 并观察培养过程中活性污泥中原生动物和微型后生动物的数量和种类的变化, 观察活性污泥形态、颜色和气味等的变化。

(2) 污水处理厂出水中细菌总数和大肠菌群的测定。要求采用稀释平板法测定原水中细菌总数, 采用多管发酵法测定原水中的大肠菌群。

(3) 空气中微生物数量的测定。要求采用平皿落菌法测定污水处理厂不同区域空气中微生物的数量和种类。

2.2 根据科研实训要求进行教学内容的扩展和更新

(1) 微生物的分类鉴定增加了 DNA 鉴定和 Biolog 两种方法。在这两个实验中, 学生需要掌握细菌 DNA 的提取、凝胶电泳实验、基因扩增实验和 Biolog 微生物鉴定仪的使用和操作, 以及美国国立生物信息技术中心 NCBI 数据库的使用方法。

(2) 增加了微生物保藏实验。为了将学生的实验成果保存下来, 开设了此环节的课程, 主要是训练学生采用冷藏和低温冷冻的方法保藏微生物。

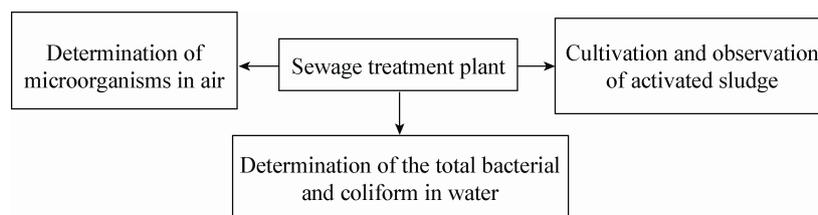


图 2 污水处理厂区微生物的测量和观察

Figure 2 Determination and observation of microorganisms in wastewater treatment plant

2.3 以完整的科研训练过程替代传统实验过程

改革后的环境微生物学实验教学具有很强的科研属性,学生不仅要参与实验的准备,而且更需要用科研的思维来完成实验任务,包括深入理解实验的目的和意义,查阅文献资料,制订实验方案,确定实验方法和步骤,准备实验材料,学习仪器的使用方法,配制实验药品,撰写符合科研论文要求的实验报告等。经过全程参与实验,学生实际上已经得到了科学研究的训练,为今后的大学生创新训练和毕业论文等教学实践环节打下了坚实的基础^[2,5]。

2.4 以科研管理模式开放环境微生物学实验室

开放性实验室和开放性实验教学模式应该说是现代高校实验教学模式的必然趋势和发展方向。开放性实验室加上开放性实验教学模式可以给学生更大的自由发展和自主学习空间,使其各方面能力得到充分的培养和锻炼,有利于学生素质和创新能力的培养^[6-8]。原有的环境微生物学实验一般安排为每位学生一周完成一次独立实验,实验室一周仅开放一次,这极大地限制了学生实验的自主性。改革后的教学内容,要求学生应根据本组实验的进程和需要,随时进入实验室完成实验。教师除了每周进行集中讲解和指导外,每天还抽出一定时间在实验室进行针对性的指导和答疑。

2.5 将环境微生物学实验的成果转化为科研成果

以往的环境微生物学实验只是为了训练学生的实验操作技能,消耗了大量的实验材料。实验结束后,学生分离筛选出的一些有潜在价值的微生物因为没有进一步的鉴定和研究,也没有进行科学的保藏,大多数都被丢弃了。因此,改革后的环境微生物学实验必须将学生实验与学科的科研工作联系起来,也就是针对专业教师的科研需求,在学生的环境微生物学实验中以特定需求的微生物作为分离筛选的目标任务,实验结束后获得的微生物菌株可以为教师所用。同时,建立环境微生物菌种库,将学生实验过程中分离出的微生物菌株保藏下来,为环境工程专业的微生物学研究打下基础。

3 改革研究成果评价与讨论

根据实验设计要求和要求,本研究在2013和2014级学生中进行了实验和评价,收到了较好的效果,获得了很多宝贵的经验。学生们一致反映自己的微生物学实验操作能力得到了有效的锻炼,环境微生物学知识得到了进一步升华,指导老师对实验结果也非常满意,准备对实验中获得的几株菌株进一步研究,并纳入到他们现有的课题研究中。

3.1 以科研促教学的效果

通过本次实验教学的改革,学生的实验操作能力得到了很大的提升。以往的实验通常以练习操作为主,缺乏目标和任务,实验成败不影响最终的考核成绩。然而改革后的实验要求学生确立明确的目标任务,且最终的实验成果将直接纳入到最后的业绩评定中。因此学生必须在实验前进行精心准备,包括查阅大量的文献资料,制定合理的实验方案和步骤,正确配制实验药品,实验过程中严格按照实验规程进行操作,实验结束后还要对实验结果进行详细的分析和讨论。因此,改革后的实验教学明显提高了学生的文献查阅、方案制订、实验操作和论文写作的能力和水平。例如,在产漆酶细菌的分离鉴定实验中,学生们首先查阅了相关文献,明确了以造纸黑液作为菌种来源,并选择了用LB天青培养基鉴定;在实验中,采用稀释平板法在鉴定培养基上进行分离,从出现透明圈的菌落中挑出纯种菌,接种到斜面培养基上,再将纯种分离的细菌接种到LB培养基中培养7d,测定培养液的漆酶酶活,出现酶活的细菌即为产漆酶细菌,并对该细菌种类进行了DNA鉴定,最后完成了实验论文。通过该实验的学习,学生完成了一个完整的科研任务,实验能力得到了明显的提高。

在实验过程中,学生们均遇到了不少问题和难题。例如,在如何选择合适的培养基的问题上,学生们通过查阅文献资料,主动与学长和老师沟通交流,反复进行预实验,最终选出了最佳的培养基。在实验过程中,学生们遇到了菌株反复感染的难题,学生们不得不开动脑筋,找出感染的根源,最

终完成实验。因此,通过实验的训练,学生们提高了分析问题和解决问题的能力。

3.2 以教学带动科研的效果

本次改革实验获得了一批有价值的科研成果。两次实验改革中,学生们分别分离出了纤维素降解菌、漆酶产生菌、铅固定化细菌等 12 个菌株(表 2)。这些实验结果与老师的科研课题紧密结合,其中克雷伯氏菌的研究已得到国家自然科学基金资助;卷枝毛霉、棘孢曲霉和枯草芽孢杆菌的研究已获得江苏省环境科学与工程重点序列学科的资助;铅黄肠球菌和芽孢杆菌的研究已得到南京林业大学大学生创新训练项目的资助。其他菌株也已转交研究生继续开展深入研究。

3.3 建立环境工程微生物菌种库

本次实验改革的标志性成果是建立了环境工程微生物菌种库。所有学生实验分离出的菌株经过鉴定、分类、编号,然后冷冻保藏。经过两年的实验积累,菌种库已保藏菌株约 300 株,为我校环境工程微生物学研究打下了坚实的基础。

3.4 开放式的教学实验室管理评价

我们的实验教学改革实践证明,开放教学实验室是完全可行性的,学生可根据自己实验的实际需要,随时申请进入环境微生物学实验室完成实验。

为此,实验室新建了网络门禁和监控系统,学生的申请及老师的审核均可在网络上完成,老师还可在网络上实时观察学生的实验情况,发现问题可及时指导和纠正。实验室开放式管理改变了以往的封闭管理模式,为学生提供了更大的自由发挥的时间和空间。本课程实验改革所采取的开放管理模式已经推广到环境工程专业的其他实验课程当中,获得了良好的效果。

3.5 存在的问题

因为科研任务比传统的实验教学要复杂得多,不少学生曾流露出畏难情绪。为此,在改革过程中实验指导教师花费了大量心血,帮助学生顺利完成从文献查阅、实验方案制定到实验技能培养、实验结果总结和实验论文撰写的各个实验教学环节。在针对 2013 级学生的实验中,因为目标微生物较难筛选,实验难度较大,不少学生未能分离筛选出预定的微生物,例如在分离产漆酶细菌时,培养基颜色的变化不明显,而且样品中的产漆酶细菌数量较小,最终只有两个小组分离到了该细菌。虽然如此,实验失败的小组也仔细分析了失败的原因,总结了经验教训,最终仍完成了整个科研训练过程,科研技能得到了有益的锻炼。在 2014 级的实验中,我们选择了一些较易分离筛选的目标微生物。

表 2 实验中分离出的部分菌株

Table 2 The isolated strains in the experiments

菌株 Strains	主要功能 Functions	鉴定方法 Identification methods
克雷伯氏菌 <i>Klebsiella</i> sp.	具有很强的脱色作用	Biolog
卷枝毛霉 <i>Mucor circinelloides</i> Q531	能累积 20%以上的油脂	16S rRNA 基因测定
铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i> S6	在 55 °C 以上,且能产生纤维素酶	Biolog
棘孢曲霉 <i>Aspergillus aculeatus</i> tax-6	产紫杉醇	18S rRNA 基因测定
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> cjp3	产漆酶	16S rRNA 基因测定
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> S3	嗜热纤维素降解菌	Biolog
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> X3	固定化重金属	16S rRNA 基因测定
恶臭假单胞菌 <i>Pseudomonas putida</i>	纤维素降解	Biolog
液化沙雷菌 <i>Serratia liquefaciens</i>	纤维素降解	Biolog
皮氏罗斯通菌 <i>Ralstonia pickettii</i>	纤维素降解	Biolog
披发戈登氏菌 <i>Gordonia hirsuta</i> Gh-4	胞外多聚物具有较强的絮凝活性	Biolog
芽孢杆菌 <i>Bacillus tequilensis</i>	铅固定化	16S rRNA 基因测定

物,如铅固定化细菌的分离,因为铅固定化细菌很容易同溶液中的铅离子形成黑色颗粒物沉淀,实验现象非常容易辨别,学生实验的成功率也大大提高了。

4 结语

南京林业大学环境工程专业自开设环境微生物学实验教学课程以来,不断地进行改革创新,从最初的仅训练学生的动手操作能力,到训练学生的综合实验能力,再到现在以锻炼学生的科研能力为目标,综合提高了学生的实验操作、实验设计、分析问题和解决问题的能力。本文正是以科研实训为导向,对环境微生物学实验教学进行了重新设计,不仅增加了与科研能力训练相适应的实验教学内容,而且将孤立的实验内容设计为统一流程的综合性实验;不仅将封闭式教学改革转变为开放式的教学方式,而且将实验教学与教师科研项目 and 大学生创新训练项目紧密结合,还将学生的实验成果应用于环境微生物菌种库的建立,将学生的实践教学、教师的科研课题和环境工程学科的建设有机地结合起来,共同发展。

参考文献

- [1] Zhou QY, Wang SF. Microbiology of Environmental Engineering[M]. 4th Edition. Beijing: Higher Education Press, 2015: 3 (in Chinese)
周群英,王士芬.环境工程微生物学[M].第4版.北京:高等教育出版社,2015:3
- [2] Lü LZ, Lin H, Chen XZ, et al. Reform and practice of environmental engineering microbiology experiment teaching[J]. Microbiology China, 2014, 41(10): 2149-2153 (in Chinese)
吕绿洲,林海,陈秀枝,等.环境工程微生物学实验教学改革与实践[J].微生物学通报,2014,41(10):2149-2153
- [3] Bao LN, Ling Q, Wang L. Application of hierarchical integration teaching mode in the reform of microbiology of environmental engineering experiment[J]. Journal of Biology, 2013, 30(4): 110-112 (in Chinese)
鲍立宁,凌琪,王莉.“层次一体化”教学模式在《环境工程微生物学实验》课程改革中的应用[J].生物学杂志,2013,30(4):110-112
- [4] Huang YQ, Han M, Sun JD, et al. Several ideas on environmental microbiology experiment teaching reforms[J]. Journal of Microbiology, 2012, 32(6): 99-102 (in Chinese)
黄玉茜,韩梅,孙军德,等.关于环境微生物学实验教学的几点想法[J].微生物学杂志,2012,32(6):99-102
- [5] Hao CB. The expoloration of Microbiology of Environmental Engineering experimental teaching methods[J]. China Science and Technology Information, 2009(21): 216,229 (in Chinese)
郝春博.《环境工程微生物学》实验教学方法探索[J].中国科技信息,2009(21):216,229
- [6] Guan HM, Liu HC. The thinking of the opening laboratory and experimental teaching model[J]. Science & Technology Information, 2007(24): 93-94 (in Chinese)
关惠铭,刘海昌.对开放性实验室和开放性实验教学模式的思考[J].科技资讯,2007(24):93-94
- [7] Shao JH, Wei XD, Zhou XH, et al. Exploring experimental teaching reforms for environmental engineering microbiology in the background of “Quality of Projects”[J]. Journal of Biology, 2010, 27(3): 106-108 (in Chinese)
邵继海,魏祥东,周细红,等.“质量工程”背景下的环境工程微生物学实验教学改革探索[J].生物学杂志,2010,27(3):106-108
- [8] Liu YJ, Liu GP, Wang XG, et al. Research and practice on experimental teaching reforms for environmental engineering microbiology[J]. Journal of East China Institute of Technology (Social Science), 2006, 25(2): 191-194 (in Chinese)
刘亚洁,刘光萍,王学刚,等.环境工程微生物学实验教学改革探索与实践[J].华东理工学院学报:社会科学版,2006,25(2):191-194