

## 生物学综合实验考核模式的改革与探索

### ——“盲样中未知细菌分离和初步特征”实验方案分析

王英明<sup>1,2</sup>(✉), 徐德强<sup>1,2</sup>, 肖义平<sup>1,2</sup>, 刘明秋<sup>2</sup>, 钟江<sup>2</sup>, 乔守怡<sup>1,2</sup>

1. 生物科学国家级实验教学示范中心(复旦大学), 上海, 200433
2. 复旦大学生命科学学院, 上海, 200433

**摘要:** 我们建立了一个考核型实验——盲样中未知细菌分离和初步特征研究, 通过最终实验结果考核学生倒平板、划线分离、菌落特征观察、个体形态观察等能力。教师制备数组各含有3株不同特征细菌的盲样, 学生自主设计实验方案并独立完成实验, 根据实验得到的结果确定盲样中各株细菌的基本形态特征。作为微生物学实验课的最后一项内容, 盲样实验能够客观评估学生基本的微生物学实验技术和解决典型微生物学问题的能力; 同时, 还能够促进学生复习、总结所学实验课程内容。

**关键词:** 盲样, 未知菌, 实验技术, 个体形态, 菌落形态

## Reform of Examination-Type Comprehensive Experimental Teaching: Isolation and Preliminary Characterization of Unknown Bacteria in a Blind Sample

WANG Ying-ming<sup>1,2</sup>(✉), XU De-qiang<sup>1,2</sup>, XIAO Yi-ping<sup>1,2</sup>, LIU Ming-qiu<sup>2</sup>, ZHONG Jiang<sup>2</sup>, QIAO Shou-yi<sup>1,2</sup>

1. National Demonstration Center for Experimental Biology Education (Fudan University), Shanghai 200433, China
2. School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China

### 1 引言

微生物学是现代生命科学的基础学科, 是基因工程、发酵工程等学科的理论和技术基础, 在医药卫生、工农业生产、环境保护和生态文明建设中具

有极高的理论和应用价值。微生物学是一门实践性很强的学科, 在微生物学的发展历史上, 技术和方法的进步推动了微生物学学科的发展, 提高了人类对于微观世界的认识, 增强了人类利用自然和改造自然的能力。微生物学实验技能, 涵盖解决微生物学问题的分析、操作、观察、判断、总结和写作等诸多方面, 简而言之, 就是解决微生物学具体问题的能力, 而微生物学实验课是他们获得这项能力的第一课堂, 生物科学和生物技术本科专业的教学质量国家标准中都要求设有微生物学实验室, 并开设

收稿日期: 2019-10-28; 修回日期: 2019-12-17

基金项目: 国家基础学科人才培养基金项目(J1210012); 上海市教委本科教学质量和教学改革计划; 复旦大学在线课程建设项目

通讯作者: 王英明, E-mail: yingming\_w@fudan.edu.cn

微生物学实验<sup>[1]</sup>。微生物学实验具有耗时长、涉及面广、设计性强、操作要求高等特点，一直以来，其教学理念、教学内容、教学方法等方面都是教学改革的热点和难点。

微生物学实验是我校生命科学学院生物科学和生物技术两个专业的必修课，也是微生物学方向的唯一实验课程，合计48学时。以创新型人才培养为核心目标，在有限的学时中更好地促进学生掌握微生物学的基本实验技能，提高学生解决典型问题的能力，一直是我们教学改革的方向。为了促进学生主动学习，并客观评价教学效果，我们在微生物学实验课中开设了考核型实验——盲样中未知细菌分离和初步特征研究。所谓考核型实验，指的是学生独立设计并完成的，教师依据明确的实验结果进行成绩评定的综合型实验。

## 2 课程设计

### 2.1 基本情况

本院开设的微生物学实验课主要是三年级本科生修读，同时他们也学习微生物学理论课。学生一般还学习过有机化学实验、分析化学实验、动物学实验、植物学实验、生物化学实验、细胞生物学实验等。微生物学实验课内容包括：实验室安全，消毒和灭菌，材料的准备，微生物分离、培养与接种，微生物的制片、染色和观察，微生物数量测定，样品中微生物的检测，微生物形态、生理和生化特征观察，微生物的分子生物学鉴定等。盲样实验是微生物学实验课的最后一项内容，涉及实验技术包括

表1 盲样中未知细菌的特征

盲样编号\_\_\_\_\_ 学号\_\_\_\_\_ 姓名\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_

菌株编号	菌落特征	菌体形状和排列方式	芽孢有/无(如有,说明形状和位置)	革兰氏染色(阴或阳)

### 2.4 评分标准

安全是微生物学实验课程教学的基础，每一起安全事故背后都有更多的安全隐患，如不及时关闭煤气灯；实验素养是实验室工作的好习惯，有利

培养基配制、无菌操作倒平板、平板划线分离、菌落特征观察、斜面接种、革兰氏染色和显微镜观察等<sup>[2]</sup>，这些技术学生在课程中都独立完成过。

### 2.2 材料和菌株

实验需要的材料包括营养琼脂培养基、革兰氏染色试剂(包括草酸铵结晶紫染色液、鲁氏碘液、乙醇和沙黄染色液)、培养皿、试管、试管帽、接种环、移液管、助吸器、涂布棒等；设备包括培养箱、灭菌锅、显微镜等，其中灭菌锅由教师统一操作。

实验前一周，教师用营养琼脂斜面复苏并扩大培养实验用菌株，用无菌生理盐水制作菌悬液，按照预实验确定的菌株种类和比例混合几株菌的菌悬液，分装随机编号的无菌试管(各1 mL)，即为实验用盲样。每个学生随机发放盲样1支。

### 2.3 教学方案和课程要求

首先，教师总结典型微生物学问题研究的路线和常规技术，回顾在课程中学习过的实验技术。其次，教师介绍考核实验采用的培养基、培养温度和培养时间，指出革兰氏染色、芽孢观察和菌落特征观察的培养时间不同。最后，教师明确实验要求：(1)学生查阅资料或相互交流，自主设计方案，采用所学技术，独立完成实验，确定盲样中菌株数及各株细菌的基本形态特征，并把结果填写在表1中，注意用词简练、规范；(2)学生自行安排时间，一周内独立完成实验；(3)学生实验期间应注意实验安全、环境卫生和实验素养等方面。

于实验的完成和相互协作，如显微镜的100×物镜(油镜)必须及时擦拭，否则积累的油污会损坏镜头；学生填写在表1中的结果是学生经过探究得到的最终结论。因此，我们根据实验安全、实验素养和实验结果等三个方面进行评分，具体标准见表2。

表2 盲样实验的评分标准

评分点	分值(满分20)	主要评分标准
(1) 实验安全	3	安全事故扣3分; 安全隐患一项扣1分, 最多扣3分
(2) 实验素养	2	卫生0.5分, 清理培养物0.5分, 清洗器皿0.5分, 擦拭油镜0.5分
(3) 每株菌		多或少一株菌扣5分
① 菌落特征	1.8	形状、大小、隆起、颜色、表面和边缘, 每项0.3分
② 菌体形状和排列	1	菌体形状0.5分, 排列方式0.5分
③ 芽孢有/无等	1	如无, 答对1分; 如有, 答对0.5分, 另计芽孢形状0.3分, 位置0.2分
④ 革兰氏染色	1.2	结果正确1.2分

### 3 注意事项

#### 3.1 盲样的准备

盲样的准备是实验的关键, 需要注意如下几个问题: (1) 选择菌株, 首先要考虑生物安全性, 致病力较强或临床分离的菌株不宜采用; 其次, 所选菌株应具有多样性和代表性; 最后, 所选菌株用营养琼脂 30℃ 培养时生长应比较迅速。我们一般选用芽孢杆菌科 (*Bacillaceae*)、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*)、假单胞菌科 (*Pseudomonadaceae*)、微球菌科 (*Micrococcaceae*)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 的细菌。部分芽孢杆菌科细菌用营养琼脂培养会产生明显荚膜, 平板划线时菌胶团中的菌体 (或芽孢) 不易分离, 产生的菌落大小常不一致, 应避免选择这类细菌。(2) 菌株混合, 每组盲样中混合 3 株细菌比较合适, 兼顾革兰氏阳性/阴性细菌、球菌/杆菌、产芽孢/不产芽孢等方面的特征。超过 4 株细菌则制备样品和实验分离难度都很大。为减少学生借鉴他人结果的可能, 需要准备几组盲样, 各组间部分菌株可以相同。由于部分菌株菌落很大, 或抑制其他菌株生长, 因此需要通过预实验确定合适的菌株组合和比例。(3) 根据考核结果调整盲样, 比如我们曾采用过芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) GP-379 菌株、一株金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和一株克雷伯菌 (*Klebsiella* sp.) 的组合, 其中 GP-379 菌株的革兰氏染色结果为阴性, 而一些教材明确指出芽孢杆菌属是革兰氏阳性菌, 多数该组盲样学生会把阴性结果当作操作问题造成的, 选择继续进行革兰氏染色, 直至得到“阳性”的结果, 因此目前已把 GP-379 菌株换为其他芽孢杆菌。

#### 3.2 其他事项

考核实验期间, 实验室在非上课时间 (包括周六、周日) 都应面向学生开放, 以便于学生安排实验内容。连续开放带来的安全问题是重中之重, 一方面必须和学生反复强调, 并通过成绩评分来督促学生; 另一方面, 任何学生进行实验时, 都必须由教师陪同, 不可以单独进入实验室。

学生实验过程中需要复习以前的实验内容, 除了教科书、实验记录外, 最好能提供在线资源, 至少要提供相关操作视频。我们在 2003 年就录制了全部实验关键操作的教学视频, 在 2017 年又重新制作了全部实验课程的视频, 可以在本校生物科学国家级实验教学示范中心网站和超星 MOOC 等处进行在线学习。

### 4 教学效果

首先, 经一周实验, 学生一般都能完成考核实验, 这是因为学生彼此交流, 最终都会采用类似的实验方案, 并主动复习实验技术。2018 年秋季微生物学实验课的盲样实验成绩和其他实验成绩 (报告成绩) 情况见表 3。从表 3 中可以看出, 盲样实验的成绩比其他实验的成绩略高, 可能和学生对待该类探索性实验的重视、兴趣和积极性明显提高有关; 此外, 在实验过程中学生间的交流也非常多。对于学生来说, 分离盲样中未知细菌, 并描述其形态特征, 这种根据结果评分的研究型实验比传统的实验报告更有利于挖掘学生学习的潜力, 绝大部分学生最后都可以得到比较理想的结果。

其次, 盲样实验成绩和其他实验成绩间相关系数为 0.389、0.237 和 0.199, 两者正相关, 但相关性

不强，盲样实验以接近科研的实验结果描述为最主要的评分标准，学生的判断、操作、观察、总结和描述等能力都影响了最终的成绩，提供了和实验操作、实验理论、实验报告不同的评分角度。

最后，实验素养和实验安全方面扣分不多，存在的主要问题是油镜没有及时擦拭。相比于平时教师在实验结束后督促，盲样实验后发现的问题并不多。

表3 微生物学实验课的盲样实验和其他实验成绩

班级	学生数	盲样实验成绩 平均值	盲样实验成绩 标准差	其他实验成绩 平均值	其他实验成绩标准差	相关系数
1班	24	18.54	1.14	17.49	1.27	0.389
2班	31	18.13	2.05	17.80	1.14	0.237
3班	22	18.73	1.28	18.07	0.99	0.199

## 5 结语

微生物学实验课对动手能力要求较高，学时有限，培养耗时长，为了实现人才培养的目标，内容安排非常重要。操作技术是微生物学实验课的根本和基础，而综合型、研究型实验对学生创新能力培养非常重要。我们设计的盲样实验，要求学生分离盲样中的未知细菌，并进行形态特征的初步研究，必须综合运用这些操作技术来解决具体问题，给出明确的结果。相比于环境样品中各类微生物的分离和特征研究实验，如蛋白酶产生菌研究<sup>[3]</sup>，盲样实验采用的技术类似，但学生只能独立完成，实验结果明确，成绩评价更加客观；其次，盲样实验充分发挥学生的积极性，在有限的学时中运用所学实验技术，解决具体实验问题；再次，实验的结果和评分主要按照细菌的形态特征描述，以训练归纳、写作等方面的实验技能；最后，考核标准中加入实验素养和实验安全的要求，模拟学生独立在实验室进行科研工作的情景，有利于学生养成良好的实验习惯。在十多年的教学实践中，盲样实验受到了学生的一致好评，如有学生反映这个实验很有挑战性，“胜似奥赛，时间虽花费多些，但值得”；兄弟院校

专家也予以高度评价，认为这种考核方式对培养学生独立分析问题和解决问题能力是极有帮助的。

作为微生物学实验课的最后一次考核型实验，每组3株细菌的盲样实验是比较合适的，能够促进学生主动复习课程内容，但平均分较高，标准差不大，如果希望作为评定成绩的主要标准，还需要进一步提高难度，比如盲样中加入4种细菌或增加实验内容。

## 参考文献

- [1] 教育部高等学校教学指导委员会. 普通高等学校本科专业类教学质量国家标准(上)[S]. 北京: 高等教育出版社, 2018.
- [2] 徐德强, 王英明, 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2019.
- [3] 张茵, 徐旭士, 何伟, 等. 微生物学实验模块“蛋白酶产生菌的筛选、培养和选育”的教改研究与实践[J]. 微生物学通报, 2020, 37(11): 1698-1700.

(责编 张磊)