

一、名词解释

1. 原核微生物：核很原始，发育不全，只是DNA链高度折叠形成的一个核区，没有核膜，核质裸露，与细胞质没有明显界线，原核微生物没有细胞器，只有由细胞质膜内陷形成的不规则的泡沫结构体系，如间体和光合作用层片及其他内折，也不进行有丝分裂。
2. 质粒：在原核微生物中除有染色体外，还含有另外一种较小的、携带少量遗传基因的环状DNA分子。
3. 芽孢：某些细菌在其生活史的某个阶段或某些细菌在它遇到不良环境时，在细胞内形成的一个内孢子，是抵御外界不良环境的休眠体。
4. 选择培养基：利用微生物对各种化学物质的敏感程度的差异、在培养基中加入某种物质用以抑制非目的微生物的生长并使所要分离的微生物生长繁殖的培养基。
5. 基质水平磷酸化：厌氧微生物和兼性厌氧微生物在基质氧化过程中形成一个含高自由能中间代谢物，促使ADP变成ATP的过程。
6. 定向培育：是人为用某一定环境条件长期处理某一微生物群体，同时不断将它们进行移种传代，以达到累积和选择合适的自发突变体的一种古老育种方法。
7. 基因突变：微生物的DNA被某种因素引起碱基的缺失、置换或插入，改变了基因内部原有的碱基排列顺序，从而引起其后代表现型的改变。
8. 发酵：在没有外源电子受体的条件下，微生物氧化一些有机物，有机物仅发生部分氧化，以其中间产物为最终电子受体，释放少量能量，其余能量保留在最终产物中的一种氧化方式。
9. 主动运输：在微生物细胞内所积累的营养物质的浓度高于细胞外的浓度时，营养物质在渗透酶的帮助下逆浓度梯度积累，并消耗能量的过程。
10. 菌胶团：有些细菌由于其遗传特性决定，细胞之间按一定的排列方式互相粘集在一起，被一个公共的荚膜包围形成一定形状的细胞集团。

二、简答题

1. 革兰氏染色结果的差异主要基于细菌细胞壁的构造和化学组分不同。通过初染和媒染，在细菌细胞膜或原生质体上染上了不溶于水的结晶紫与碘的大分子复合物。 G^+ 细菌由于细胞壁较厚、肽聚糖含量较高和交联紧密，故用乙醇洗脱时，肽聚糖层网孔会因脱水而明显收缩，再加上的 G^+ 细菌细胞壁基本上不含类脂，故乙醇处理不能在壁上溶出缝隙，因此，结晶紫与碘复合物仍牢牢阻留在其细胞壁内，使其呈现蓝紫色。 G^- 细菌因其细胞壁薄、肽聚糖含量低和交联松散，故遇乙醇后，肽聚糖层网孔不易收缩，加上它的类脂含量高，所以当乙醇将类脂溶解后，在细胞壁上就会出现较大的缝，这样结晶紫与碘的复合物就极易被溶出细胞壁。因此，通过乙醇脱色，细胞又呈现无色。这时，再经番红等红色染料复染，就使 G^- 细菌获得了新的颜色——红色，而 G^+ 细菌则仍呈蓝紫色（实为紫中带红）。

2、可给出表格统计进行说明，也可用文字进行回答。

		曝气池运转好	曝气池运转差
原生动物	种类	少	多
	数量	少	多
	鞭毛虫	很多(大于1万个/mL)	少或无
	游泳型纤毛虫	没有漫游虫, 豆形虫、肾形虫多(大于1万个/mL)	漫游虫多, 没有豆形虫、肾形虫
	固着型纤毛虫	畸形, 运动迟缓	多且活跃
	孢囊	有	无

3、氨基酸脱下的氨，在有氧条件下，经亚硝酸细菌和硝酸细菌的作用转化为硝酸，称为硝化作用。反硝化作用是指兼性厌氧的硝酸盐还原细菌将硝酸盐还原成氮气的过程。例A/O、A²/O法等，结合工艺说明硝化作用和反硝化作用在环境中的对氮循环所起的作用。

4、PCR技术是聚合酶链式扩增反应技术，是DNA在体外扩增的技术，其基本原理类似于DNA的天然复制过程，其特异性依赖于与靶序列两端互补的寡核苷酸引物。PCR由变性--退火--延伸三个基本反应步骤构成：①模板DNA的变性：模板DNA经加热至93℃左右一定时间后，使模板DNA双链或经PCR扩增形成的双链DNA解离，使之成为单链，以便它与引物结合，为下轮反应作准备；②模板DNA与引物的退火(复性)：模板DNA经加热变性成单链后，温度降至55℃左右，引物与模板DNA单链的互补序列配对结合；③引物的延伸：DNA模板--引物结合物在TaqDNA聚合酶的作用下，以dNTP为反应原料，靶序列为模板，按碱基配对与半保留复制原理，合成一条新的与模板DNA链互补的半保留复制链重复循环变性--退火--延伸三过程，就可获得更多的“半保留复制链”，而且这种新链又可成为下次循环的模板。

PCR技术应用于环境监测具有快速、灵敏、准确、简便、特异性强的特点，被广泛应用于水体、气体和土壤等方面环境污染的监测中，PCR技术对环境保护具有深远的意义

5、细菌生长分为：停滞期、对数期、静止期、衰亡期。

- ① 停滞期迟缓期：又叫迟缓期。其特点：(1) 细胞质均匀 (2) 代谢活力强 (3) 蛋白质和RNA含量增加 (4) 体积显著增加，许多杆菌可长成长丝状 (5) 形成诱导酶的能力强 (6) 对环境变化敏感
- ② 对数期：又称指数期。其特点：(1) 细菌迅速分裂，菌数按几何级数增加；(2) 世代时间最短，而且恒定；(3) 生长速度最高而且恒定；(4) 代谢活力强无死亡；(5) 菌体整齐，体积恢复到原来大小；(6) 对环境敏感，生理性状及菌体成分较一致
- ③ 稳定期特点：(1) 菌数达到最高峰；(2) 活菌数达到动态平衡；(3) 生长

速率为零；（4）开始积累贮存物质

- ④ 衰亡期特点：（1）生长速率为负值，活菌数减少；（2）细菌发生自溶现象
（3）代谢产物大量积累；（4）形态多变，出现畸形或衰退形。

常规活性污泥法利用生长下降阶段的微生物，包括减速期、静止期的微生物。因为处于静止期的微生物生物的代谢活力虽然比对数期的差，但仍有相当的代谢活力，去除有机物的效果仍然较好，其最大特点是体内积累了大量储存物，强化了微生物的生物吸附能力，自我絮凝、聚会能力强，从而出水效果好。

三、问答题

1、水：水是各种生物细胞必需的。水有良好的溶剂，微生物的新陈代谢过程中的一切生化反应都离不开水的作用。

碳源：碳源是合成菌体成分的原料，也是微生物获取能量的主要来源。整体上看，微生物可以利用的碳源范围极广，从大类上说，可以分为有机碳源和无机碳源两大类，凡必须利用有机碳源的微生物就是异养微生物，凡能利用无机碳源的微生物就是自养微生物。糖类是最广泛利用的碳源。

氮源：氮源主要是供给合成菌体结构的原料，很少作为能源利用。与碳源相似，微生物作为一个整体来说，能利用的碳源种类十分广泛。某些微生物（如固氮菌）能利用空气中分子态的氮或利用无机氮化物如铵盐、硝酸盐合成有机氮化物。多数致病菌则必须供给蛋白胨、氨基酸等有机氮化物才能生长。

无机盐类：无机盐主要可为微生物提供除碳、氮以外的各种重要元素。微生物需要的无机盐类很多，主要有P、S、K、Na、Ca、Mg、Fe等，其主要功能为构成菌体成分；调节渗透压；作为某些酶的成分，并能激活酶的活性等。

生长因子：有些微生物虽然供给它适合的碳源氮源和无机盐类，仍不能生长，还要供给一定量的所谓“生长因子”。其种类很多，主要是B族维生素的化合物等。

生长因子可以从酵母浸出液、血液或血清中获得。

好氧微生物从其营养物质方面来说对污水的要求如下：

- ① 碳素营养源方面，应该满足好氧微生物生长繁殖的要求
- ② 氮素营养源方面，应该满足好氧微生物对氮的需求，如污水中含量不足应人为的添加或综合含氮量高的污水；
- ③ 无机盐、生长因素方面，应根据具体的微生物其在这方面的需求物质加以适当调节。
- ④ 在生存因子方面，应根据好氧微生物对温度，pH值、氧化还原电位、溶解氧、太阳辐射、水的活度与渗透压、表面张力等因数的敏感度，污水应以满足。

2、结合甲烷发酵理论

一、水解阶段：一些微生物的胞外酶，如纤维素酶、淀粉酶、蛋白质酶和脂肪酶等，对有机物质进行体外酶解，把固体有机物转变成可溶于水的物质。如将多糖水解成单糖或二糖，蛋白质分解成多肽和氨基酸，脂肪分解成甘油和脂肪酸。这

些分子量较小的可溶性物质就可以进入微生物细胞之内被进一步分解利用。

二、产酸阶段：各种可溶性物质（单糖、氨基酸、脂肪酸），在纤维素细菌、蛋白质细菌、脂肪细菌、果胶细菌胞内酶作用下继续分解转化成低分子物质，如丁酸、丙酸、乙酸以及醇、酮、醛等简单的有机物质；同时也有部分氢（H₂）、二氧化碳（CO₂）和氨（NH₄）等无机物的释放。但在这个阶段中主要的产物是乙酸，约占70%以上，所以称为产酸阶段。参加这一阶段的细菌称之为产酸菌。

液化阶段和产酸阶段是一个连续过程。它是在厌氧条件下，经过多种微生物的协同作用，将原料中的碳水化合物、蛋白质和脂肪等分解成简单的小分子化合物，同时产生二氧化碳和氢。这个阶段只产生合成甲烷的基质，如乙酸、丁酸、醇、CO₂、H₂等，不产生甲烷，因此称为不产甲烷阶段。它可以看成是一个原料加工阶段，即将复杂的有机物转变成可供产甲烷细菌利用的物质，满足产甲烷菌进行生命活动的需要。在不产甲烷阶段起作用的微生物种类很多、数量很大，并因发酵原料不同而存在着很大差异。其中专性厌氧细菌数量最大，比兼性厌氧细菌和好氧细菌多100~200倍，是这个阶段起主要作用的菌类。需要指出的是：产氢细菌是不产甲烷阶段微生物中一个很重要的类群。大量资料表明：在沼气发酵中，CO₂还原成CH₄，必须有H₂作为电子载体，其反应式为： $CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$ 。中国科学院成都生物研究所已成功从沼气池污泥中富集和分离出不同种和属的产氢细菌。

三、产甲烷阶段：这个阶段是在产甲烷细菌作用下，将不产甲烷阶段所产生的合成甲烷基质转变成甲烷。

发酵工艺：根据甲烷发酵操作条件及反应器结构与性能等，甲烷发酵工艺可分成分批或连续甲烷发酵、液相或固相甲烷发酵、单相或两相甲烷发酵等类型。列举一种工艺，结合工艺从pH、碱度、VFA、有机物负荷等角度说明即可。