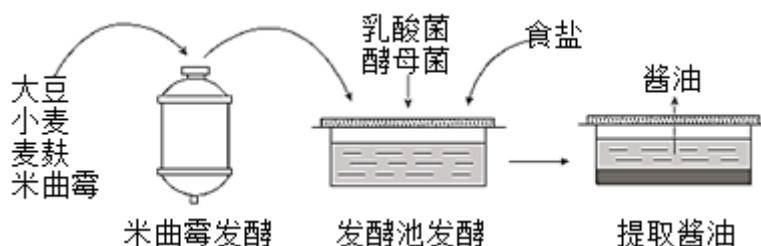


必刷 22 微生物的培养与利用

高考题目

1. (2021·全国乙卷)工业上所说的发酵是指微生物在有氧或无氧条件下通过分解与合成代谢将某些原料物质转化为特定产品的过程。利用微生物发酵制作酱油在我国具有悠久的历史。某企业通过发酵制作酱油的流程示意图如下。



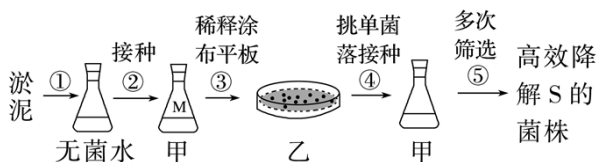
回答下列问题：

(1) 米曲霉发酵过程中，加入大豆、小麦和麦麸可以为米曲霉的生长提供营养物质，大豆中的_____可为米曲霉的生长提供氮源，小麦中的淀粉可为米曲霉的生长提供_____。

(2) 米曲霉发酵过程的主要目的是使米曲霉充分生长繁殖，大量分泌制作酱油过程所需的酶类，这些酶中的_____、_____能分别将发酵池中的蛋白质和脂肪分解成易于吸收、风味独特的成分，如将蛋白质分解为小分子的肽和_____。米曲霉发酵过程需要提供营养物质、通入空气并搅拌，由此可以判断米曲霉属于_____（填“自养厌氧”“异养厌氧”或“异养好氧”）微生物。

(3) 在发酵池发酵阶段添加的乳酸菌属于_____（填“真核生物”或“原核生物”）；添加的酵母菌在无氧条件下分解葡萄糖的产物是_____。在该阶段抑制杂菌污染和繁殖是保证酱油质量的重要因素，据图分析该阶段中可以抑制杂菌生长的物质是_____（答出 1 点即可）。

2. (2020·全国 I，37)某种物质 S(一种含有 C、H、N 的有机物)难以降解，会对环境造成污染，只有某些细菌能降解 S。研究人员按照下图所示流程从淤泥中分离得到能高效降解 S 的细菌菌株。实验过程中需要甲、乙两种培养基，甲的组分为无机盐、水和 S，乙的组分为无机盐、水、S 和 Y。



回答下列问题：

(1) 实验时，盛有水或培养基的摇瓶通常采用_____的方法进行灭菌。乙培养基中的 Y 物质是_____。甲、乙培养基均属于_____培养基。

(2) 实验中初步估测摇瓶 M 中细菌细胞数为 2×10^7 个/mL，若要在每个平板上涂布 100 μL 稀释后的菌液，且保证每个平板上长出的菌落数不超过 200 个，则至少应将摇瓶 M 中的菌液稀释_____倍。

(3)在步骤⑤的筛选过程中,发现当培养基中的 S 超过某一浓度时,某菌株对 S 的降解量反而下降,其原因可能是_____。(答出 1 点即可)。

(4)若要测定淤泥中能降解 S 的细菌细胞数,请写出主要实验步骤:_____。

(5)上述实验中,甲、乙两种培养基所含有的组分虽然不同,但都能为细菌的生长提供 4 类营养物质,即_____。

3. (2019·全国 I, 37)已知一种有机物 X(仅含有 C、H 两种元素)不易降解,会造成环境污染。某小组用三种培养基筛选土壤中能高效降解 X 的细菌(目标菌)。

I 号培养基:在牛肉膏蛋白胨培养基中加入 X(5 g/L)。

II 号培养基:氯化钠(5 g/L),硝酸铵(3 g/L),其他无机盐(适量),X(15 g/L)。

III 号培养基:氯化钠(5 g/L),硝酸铵(3 g/L),其他无机盐(适量),X(45 g/L)。

回答下列问题:

(1)在 I 号培养基中,为微生物提供氮源的是_____。II、III 号培养基中为微生物提供碳源的有机物是_____。

(2)若将土壤悬浮液接种在 II 号液体培养基中,培养一段时间后,不能降解 X 的细菌比例会_____,其原因是_____。

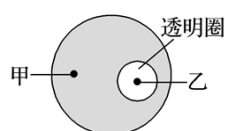
(3)II 号培养基加入琼脂后可以制成固体培养基,若要以该固体培养基培养目标菌并对菌落进行计数,接种时,应采用的方法是_____。

(4)假设从 III 号培养基中得到了能高效降解 X 的细菌,且该菌能将 X 代谢为丙酮酸,则在有氧条件下,丙酮酸可为该菌的生长提供_____和_____。

4. (2019·全国 II, 37)物质 W 是一种含氮有机物,会污染土壤。W 在培养基中达到一定量时培养基表现为不透明。某研究小组欲从土壤中筛选出能降解 W 的细菌(目标菌)。回答下列问题:

(1)要从土壤中分离目标菌,所用选择培养基中的氮源应该是_____。

(2)在从土壤中分离目标菌的过程中,发现培养基上甲、乙两种细菌都能生长并形成菌落(如图所示)。如果要得到目标菌,应该选择_____菌落进一步纯化,选择的依据是_____。



(3)土壤中的某些微生物可以利用空气中的氮气作为氮源。若要设计实验进一步确定甲、乙菌能否利用空气中的氮气作为氮源,请简要写出实验思路、预期结果和结论,即_____。

(4) 该小组将人工合成的一段 DNA 转入大肠杆菌, 使大肠杆菌产生能降解 W 的酶(酶 E)。为了比较酶 E 与天然酶降解 W 能力的差异, 该小组拟进行如下实验, 请完善相关内容。

①在含有一定浓度 W 的固体培养基上, A 处滴加含有酶 E 的缓冲液, B 处滴加含有相同浓度天然酶的缓冲液, C 处滴加_____, 三处滴加量相同。

②一段时间后, 测量透明圈的直径。若 C 处没有出现透明圈, 说明_____ ; 若 A、B 处形成的透明圈直径大小相近, 说明_____。

5. (2019·全国III, 37)回答下列与细菌培养相关的问题。

(1)在细菌培养时, 培养基中能同时提供碳源、氮源的成分是_____ (填“蛋白胨”“葡萄糖”或“ NaNO_3 ”)。通常, 制备培养基时要根据所培养细菌的不同来调节培养基的 pH, 其原因是_____。硝化细菌在没有碳源的培养基上_____ (填“能够”或“不能”) 生长, 原因是_____。

(2)用平板培养细菌时一般需要将平板_____ (填“倒置”或“正置”)。

(3)单个细菌在平板上会形成菌落, 研究人员通常可根据菌落的形状、大小、颜色等特征来初步区分不同种的微生物, 原因是_____。

(4)有些使用后的培养基在丢弃前需要经过_____ 处理, 这种处理可以杀死丢弃物中所有的微生物。

6. (2018·全国卷 I, 37)将马铃薯去皮切块, 加水煮沸一定时间, 过滤得到马铃薯浸出液。在马铃薯浸出液中加入一定量蔗糖和琼脂, 用水定容后灭菌, 得到 M 培养基。

回答下列问题:

(1)M 培养基若用于真菌的筛选, 则培养基中应加入链霉素以抑制_____ 的生长, 加入了链霉素的培养基属于_____ 培养基。

(2)M 培养基中的马铃薯浸出液为微生物生长提供了多种营养物质, 营养物质类型除氮源外还有_____ (答出两点即可)。氮源进入细胞后, 可参与合成的生物大分子有_____ (答出两点即可)。

(3)若在 M 培养基中用淀粉取代蔗糖, 接种土壤滤液并培养, 平板上长出菌落后可通过加入显色剂筛选出能产淀粉酶的微生物。加入的显色剂是_____, 该方法能筛选出产淀粉酶微生物的原理是_____。

(4)甲、乙两位同学用稀释涂布平板法测定某一土壤样品中微生物的数量, 在同一稀释倍数下得到以下结果
甲同学涂布了 3 个平板, 统计的菌落数分别是 110、140 和 149, 取平均值 133; 乙同学涂布了 3 个平板, 统计的菌落数分别是 27、169 和 176, 取平均值 124。有人认为这两位同学的结果中, 乙同学的结果可信度低, 其原因是_____。

必刷点一 微生物的应用

7. 下面是古代家庭酿酒的具体操作过程：先将米煮熟，待冷却至 30 ℃时，加少许水和一定量的酒酿(做实验时用酵母菌菌种)，与米饭混匀后置于瓷坛内，并在米饭中间挖一个洞，加盖后置于适当的地方保温(28 ℃)，一段时间后即成。现请你从以下几个方面对其发酵过程做一个简单的分析。

(1) 先将米煮熟的目的是_____，在米饭中间挖一个洞的目的是增加_____的含量，保证酵母菌在一开始时进行_____，从而有利于酵母菌数量的增加。

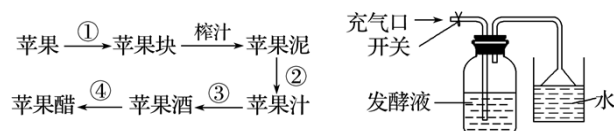
(2) 在家庭酿酒过程中有酒精产生，可用_____来检验，在酸性条件下，其与酒精反应呈现_____色。

(3) 写出酵母菌无氧呼吸的反应式：_____。

(4) 在具体操作过程中，要根据米的多少加适量的酒酿，如把握不住，宁多而不能少，如果加少了将产生什么后果？为什么？

_____。

8. (2019·连云港期末) 如图为某同学设计的酿制苹果醋的基本流程图和发酵装置示意图。回答下列问题：



(1) 过程①需要先清洗后切块，以减少_____。

(2) 过程③发酵所需的微生物是_____，产生的酒精可以与_____ (试剂) 发生显色反应。

(3) 过程④中在变酸的酒表面，观察到的菌膜是_____在液面大量繁殖而形成的。若要对该菌进行初步分离纯化，比较便捷的操作是采用_____ (填“平板划线”或“稀释涂布平板”) 法把它们接种到固体培养基上，经培养得到肉眼可见的菌落。

(4) 在发酵装置示意图中，过程④需要将装置中的充气口开关_____。果醋的制作是否成功，除了通过观察菌膜的形成、嗅味和品尝进行初步鉴定外，还可以通过检测 and 比较醋酸发酵前后的_____作进一步鉴定。

9. 某小组利用塑料饮水杯、充氧泵、空气过滤器、回旋式单向阀、硅胶管等材料制作的一种新型的果酒、果醋两用发酵装置，如下图。请分析回答：

(1) 制作果酒和果醋利用的微生物分别是_____、_____。

(2) 图中_____和不锈钢气泡石能为发酵罐中的培养液进行充氧操作，_____能为通入的空气进行无菌过滤，从而对发酵罐中的培养液实现无菌换气。

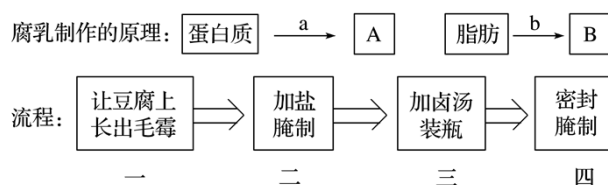
(3) 酿制果酒时一般将温度控制在_____℃，图示装置一般要先通气后紧闭软管夹，通气的目的是_____。

若要检测果汁发酵后是否有酒精产生，可从出料口取 2 mL 发酵液加入试管，再滴加 0.5 mL 溶液，观察是否呈现_____色。

(4)图中排气构件由回旋式单向阀通过硅胶塞连接于排气口而成，使用前先在单向阀内装入约 1/3 体积冷却的开水，这样处理的主要好处有_____。

_____。(至少答出两点)

10. 腐乳是我国古代劳动人民创造的一种经过微生物发酵制成的大豆食品。腐乳味道鲜美，易于消化吸收，所以一直受到人们的喜爱。请结合腐乳制作的原理及流程示意图，回答下列问题：



(1) 图中 a、b 分别表示的是 _____，它们的来源是 _____，作用是 _____。

(2) 过程一中，为保证产品的质量，应采取的措施是 _____。

(3) 过程二具体的操作应该是 _____，

这样既不使豆腐块过早酥烂，又能避免豆腐块腐败变质。

(4) 过程三中卤汤配制所需要的材料有 _____。

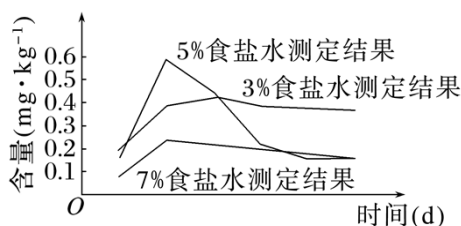
(5) 过程四应如何操作才能取得最佳效果 _____。

11. 泡菜的制作容易受环境条件的影响，温度过高、食盐用量过低、腌制时间过短等，均会造成细菌大量繁殖，亚硝酸盐含量增加。某研究小组以“测定泡菜腌制过程中亚硝酸盐含量的变化”为课题开展了如下研究。请分析回答：

①取 3 个泡菜坛，分别编号为 A、B、C。②向 3 个泡菜坛内分别加入调味料和 0.6 kg 洗净的新鲜大白菜。

③向 3 个泡菜坛内分别加入 2 L 浓度依次为 3%、5%、7% 的食盐水。④密封后置于相同的环境中发酵。

⑤测定亚硝酸盐的含量。在封坛前进行第一次测定，以后定期测定，并将测定的数据绘制成曲线图，如下图所示。



(1) 制作泡菜的主要菌种是 _____，其代谢类型是 _____。

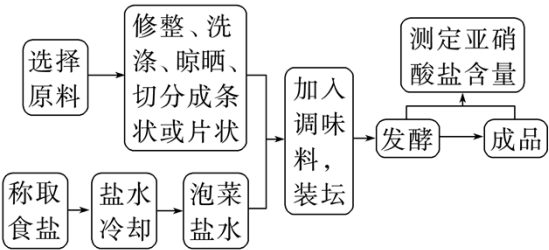
(2) 该实验的自变量是 _____。

。实验中食盐水需煮沸并冷却后才可使用，原因是_____。

(3)图中浓度为 3%的食盐水的测定结果，说明_____。

(4)为了使实验结果更准确，测定亚硝酸盐含量时应_____。

12. 如图是泡菜的制作及测定亚硝酸盐含量的实验流程示意图，请据图回答：



(1)制作泡菜宜选用新鲜的蔬菜或其他原料，原因是_____。

(2)制备泡菜的盐水中清水与盐的质量比为_____。盐水需煮沸并冷却才可使用，原因是_____。

(3)发酵过程中应定期测定亚硝酸盐的含量，原因是_____。

(4)泡菜发酵过程中，会产生多种酸，其中主要是_____，还产生少量的亚硝酸盐。对亚硝酸盐的定量测定可用_____法，因为亚硝酸盐在盐酸酸化条件下与_____的反应产物能与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐偶联成_____色染料。进行样品测定时，还要取等量水进行同样的测定，目的是_____。

必刷点二 培养基的配置及用途

13.. (2022·广东六校联盟高三联考)为了检测牛奶中是否含有某种微生物，配制的培养基的配方如下，请分析回答下列问题(注：伊红美蓝是由两种染色剂组成的细胞染料)：

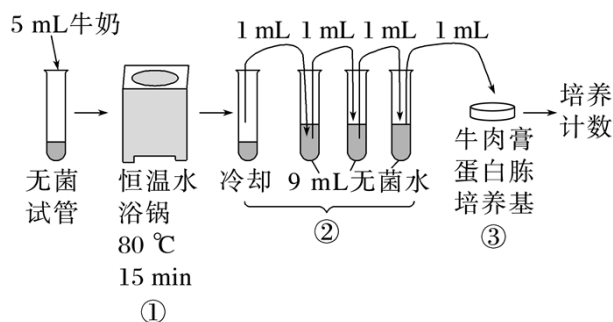
蛋白胨	乳糖	蔗糖	K_2HPO_4	伊红	美蓝	蒸馏水
10 g	5 g	5 g	2 g	0.4 g	0.065 g	1 000 mL
将培养基 pH 调至 7.2						

(1)根据配方，该培养基可用来培养_____ (填“细菌”“霉菌”或“细菌与霉菌”)，其所含氮源的功能是_____。

(2)该微生物在同化作用上的代谢类型是_____型，其在培养基上产生的单个菌落在生态学中被称为_____。

(3)接种好的培养皿在恒温箱中培养时要倒置，目的是_____。

(4)有同学为统计消毒后的牛奶中该微生物的含量，取 5 mL 牛奶样液进行了下图操作，每个平板中的统计结果为 87、83、85，则经过消毒后的牛奶中该微生物的含量大约是_____个·mL⁻¹。用该方法统计样本菌落数时 _____(填 “ 是 ” 或 “ 否 ”) 需要设置空白对照组，目的是_____。



14. 下表所示是某公司研发的一种培养大肠杆菌的培养基配方，请结合所学知识，回答下列相关问题：

成分	蛋白胨	乳糖	蔗糖	K_2HPO_4	显色剂(伊红美蓝)	琼脂
含量	10.0 g	5.0 g	5.0 g	2.0 g	0.2 g	12.0 g
将上述物质溶解后，用蒸馏水定容到 1 000 mL						

(1) 根据用途划分，该培养基属于_____培养基，若要分离能分解尿素的细菌，需对培养基作出的最关键的调整是_____，若还需鉴定分解尿素的细菌，需做出的调整是_____。

(2) 从培养基的成分上看，大肠杆菌的同化类型为_____。该培养基能否分离筛选出大肠杆菌？为什么？
_____。

15. 乳酸菌是对人体有益的微生物之一，常用于生产酸奶，其发酵产物为乳酸，能溶解周围环境中的难溶性碳酸钙。回答下列问题：

(1) 为检测某品牌酸奶中的乳酸菌含量是否达标，检验人员进行了相关实验。

① 配制培养基：培养基中除含水、无机盐、碳源、氮源和琼脂外，还需添加维生素和_____。

② 稀释样品：取 1 mL 待测酸奶，用_____进行梯度稀释。

③ 接种培养：用_____法接种，培养时控制的气体条件是_____。

④ 观察计数：菌落周围出现_____的就是乳酸菌的菌落，选择菌落数在_____的平板计数。每隔 24 小时统计一次菌落数目，选取菌落数目稳定时的记录作为结果，目的是_____。

(2) 生产上不能用含有抗生素的牛奶发酵成酸奶，原因是_____
_____。

必刷点三 微生物的培养

16. (2022·山西高三适应考试) 自然界里有多种微生物，将其进行合理的筛选、培养和应用，能给医药和化工等生产领域带来巨大经济效益。回答下列问题：

(1)对培养基进行灭菌时,多采取_____法,而对接种环或涂布器灭菌时则用_____法,若要将微生物采用平板划线法进行分离操作,在固体培养基表面连续进行了5次划线,则需要对接种环灼烧_____次。平板划线在做第二次及其以后的划线操作时,要从上次划线的_____开始划线,最后一次划的线不能与第一次划的线_____。

(2)将接种后的固体培养基和一个未接种的固体培养基放入恒温箱中_____培养,以减少培养基中水分的挥发。其中,培养未接种的固体培养基是为了_____。

17. 某生物兴趣小组的同学计划调查某快餐店的冰块中大肠杆菌的含量。具体实验步骤如下:

第一步:配制培养基(成分:蛋白胨、氯化钠、乳糖、水、X和Y)。

第二步:制作无菌平板(含成分Y)。

第三步:设置空白对照组和实验组,对照组接种①,实验组接种②。

第四步:将各组平板置于37℃恒温箱中培养一段时间,统计各组平板上菌落的平均数。

回答下列问题:

(1)培养基中的乳糖可以为大肠杆菌提供_____。为了方便大肠杆菌的鉴定,需要在培养基中添加成分X_____,在该培养基表面,大肠杆菌的菌落呈现_____(填颜色)。为了完成步骤二,该培养基中的成分Y通常是_____。

(2)完善步骤三,①是_____,②是_____。

(3)在纯化大肠杆菌前,将灭菌后的空平板先培养一段时间,目的是_____。划线的某个平板培养后,第一划线区域长满了菌落,第二划线区域却无菌落产生,可能的原因是_____

(4)该小组将得到的菌株接种到液体培养基中并混匀,一部分进行静置培养,另一部分进行振荡培养。结果发现,振荡培养的细菌比静置培养的细菌生长速度快。分析其原因是振荡培养能提高培养液中_____的含量和_____的利用率。

18. 鲸死亡后会沉入海底,俗称“鲸落”。“鲸落”后期会形成一个以厌氧菌和硫细菌等为主体的生态系统。厌氧菌以“鲸落”肌肉中的脂肪为食,同时产生一些硫化氢等硫化物。硫细菌将硫化物氧化成硫酸盐,并以该过程中释放的能量合成有机物。请回答相关问题:

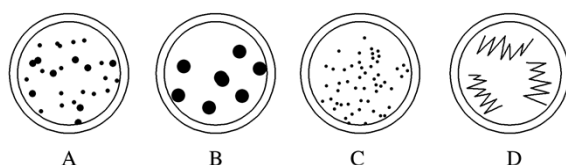
(1)培养微生物的培养基中一般都会含有水、无机盐、氮源和碳源,培养“鲸落”群落中厌氧菌的碳源必须是_____。要培养硫细菌,培养基中的成分需要特殊配制,主要体现在_____

_____,这种培养基可以用来专一性培养硫细菌,所以称为_____培养基。

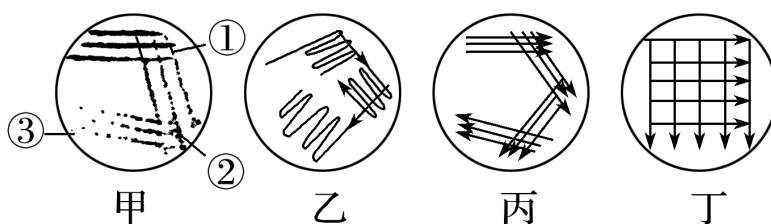
(2)在分离“鲸落”中的微生物时要制备固体培养基,在倒平板操作后,将平板倒置,这样做的目的是_____。

(3)为了研究“鲸落”中含有微生物的情况,需将“鲸落”提取物加水稀释,然后将稀释水样用涂布器分别

涂布到琼脂固体培养基的表面进行培养，这种方法称为_____。下面所示的四种菌落分布情况中，不可能由该方法得到的是_____。



(4)若想得到“鲸落”中某目标菌种，可用平板划线法进行纯化。若下图甲是接种培养后的菌落分布图，对应的平板划线操作示意图为_____。图甲中的③更易获得单菌落，判断依据是_____。



19. 苹果干腐病是由一种名为茶藤子葡萄座腔菌的真菌引起的疾病，病菌通常由枝条伤口入侵感染，在伤口处形成溃疡。某中学的科研小组计划分离出该真菌，并进行药物防治实验，为苹果干腐病的防治提供合理的建议。经过查阅资料，确定了分离时所用的 PDA 培养基配方，如下表所示：

物质	马铃薯	葡萄糖	自来水	氯霉素
含量	200 g	20 g	1 000 mL	0.3 g

该真菌在上述 PDA 培养基上生长时有特定的形态特征：辐射状白色匍匐菌丝，绒毛状。

(1)要获得菌落，则上表中还应添加的成分是_____。氯霉素在 PDA 培养基中的作用是_____。培养基的制备步骤包括计算、称量、溶化、_____、倒平板。等平板冷却凝固后，应将平板倒置，这样做的目的是_____。

(2)用剪刀从染病枝条溃疡处剪取 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 的患病组织，并用 0.1% 的升汞进行_____，置于培养基中心，在合适条件下进行培养，共培养五组。待菌落形态特征稳定后，用_____法将该致病菌分别转移至含有等量 0.5% 苦水碱剂、40% 福美砷、清水的上述 PDA 培养基中进行抗药性实验，并每隔 24 h 记录一次最后划线区域的菌落数目。

①选取菌落数目稳定的记录作为结果，这样做的目的是_____。

②记录结果如下：

小组	0.5% 苦水碱剂	40% 福美砷	清水
菌落数目	2	8	17

从结果分析可知，_____能很好地抑制该真菌的生长，适合防治苹果干腐剂。

必刷点四 微生物的分离及计数

20.

尿素最初是从人的尿液中发现的，但随着科学家成功实现尿素的体外人工合成，尿素的生产逐渐走向工业化，尿素也逐步成为一种重要的农业氮肥。下图是土壤中分解尿素的细菌分离与计数的基本流程，请回答有关问题：

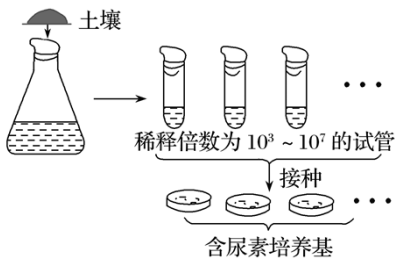
土壤取样→制备培养基→接种→培养观察→计数

- (1)配制图中所用培养基，在熔化琼脂时需要不断用玻棒搅拌，目的是_____。
配制好的培养基转移到锥形瓶中后，可采用_____方法进行灭菌。
- (2)该过程采用的接种方法是_____，培养一段时间要能在培养基表面形成单个的菌落，从操作层面需要满足两个条件：一是_____；二是涂布时要尽量做到均匀涂布。
- (3)该实验中的选择培养基对分解尿素的细菌具有选择作用，其原理是_____。
若要判断选择培养基是否起到了筛选的作用，对照组的设置是_____。
- (4)一般选择菌落数在 30~300 的平板进行计数，统计的菌落数往往比活菌的实际数目低，原因是_____。
- (5)在筛选尿素分解菌的培养基中应加入_____，用于鉴定该种细菌能够分解尿素。

21. 尿素是一种重要的农业肥料，经微生物分解后能更好地被植物利用。某生物兴趣小组试图探究土壤中微生物对尿素是否有分解作用，设计实验并成功筛选到能高效分解尿素的细菌(目的菌)。培养基成分如下表所示。

KH_2PO_4	Na_2HPO_4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	葡萄糖	尿素	琼脂
1.4 g	2.1 g	0.2 g	10 g	1 g	15 g

将表中物质溶解后，用蒸馏水定容到 100 mL。实验过程如图所示：



- 回答下列问题：
- (1)该培养基为微生物生长提供了多种营养物质，营养物质类型包括_____。
(答出两点即可)。能筛选出目的菌的原因是_____。
- (2)图中将细菌接种到固体培养基上时，采用的方法是_____。初步筛选出来的菌种还需要进一步的鉴定：在培养基中加入_____指示剂，接种并培养初步筛选的菌种，若指示剂变成_____色，则可说明该菌种能够分解尿素。

(3) 在实验中，下列材料或用具需要灭菌的是_____ (填序号)，需要消毒的是_____ (填序号)。

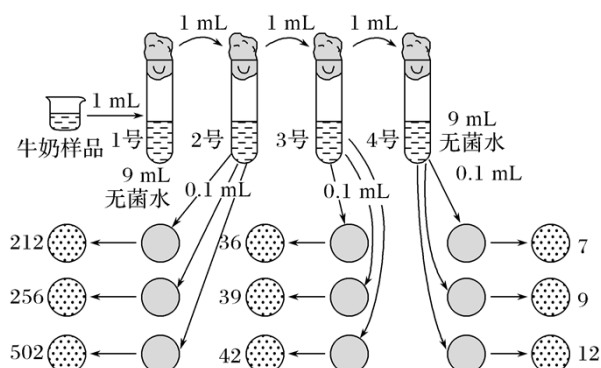
① 培养细菌的培养基与培养皿

②玻璃棒、试管、锥形瓶和吸管

③实验操作者的双手

(4) 实验结束后，使用过的培养基应该进行_____处理后，才能倒掉。

22. 研究发现一些嗜冷细菌产生的蛋白酶可使乳蛋白分解，导致牛奶变质。为了筛选检测变质牛奶中的嗜冷细菌，某研究小组做了如图所示实验(注：培养皿旁的数字代表菌落数目)。请回答下列问题：



(1) 牛奶饮用前要经过巴氏消毒，以杀死有害微生物，与煮沸消毒相比，巴氏消毒的牛奶在常温(约 28 ℃)下保存时间较短，原因是_____，导致牛奶中营养成分被分解而变质。

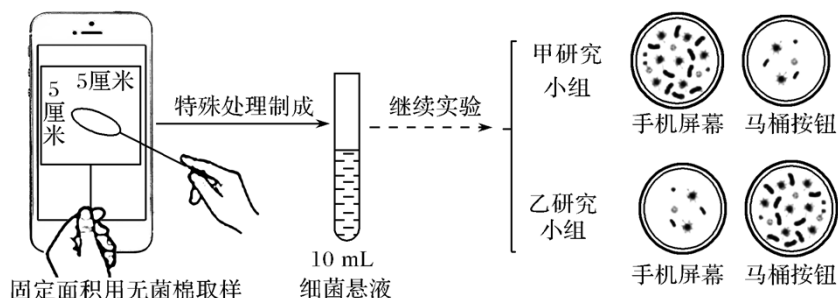
(2) 若要筛选嗜冷细菌，应将牛奶样品稀释液接种在以_____为唯一氮源的固体培养基上，并且在_____的环境条件下培养，以利于嗜冷细菌生长，抑制或阻止其他微生物的生长。

(3) 据图分析，研究小组采用的是_____法分离和计数嗜冷细菌。

(4) 用上述方法统计样本中菌落数时是否需要设置对照组？_____ (填“需要”或“不需要”)，其原因是_____。

(5) 按照菌落计数的要求，据图可得出 1mL 牛奶样品中嗜冷细菌的活菌数为_____个，与用血细胞计数板计数相比，此计数方法测得的细菌数目较_____。

23. 目前，有网文称单位面积手机表面的细菌比马桶按钮上的多。某校甲、乙两研究性学习小组通过如图所示实验展示调查结果。回答下列有关问题：



(1) 实验使用的培养基，含有营养物质和_____。制备培养基时，应将 pH 调至_____。图中继续实验中可能包含的实验操作有_____ (答出三点)。

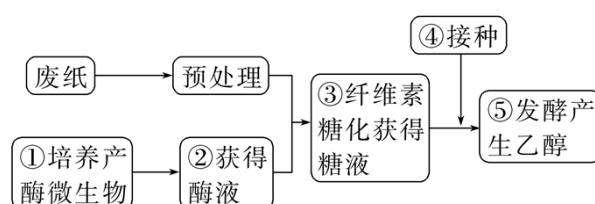
(2)通过观察菌落的特征可知,手机屏幕和马桶按钮上都存在多种微生物。两研究性学习小组实验操作均正确且完全一致,但结果截然不同。你认为可能的原因是_____。

(3)实验中,两研究性学习小组采用的接种方法是_____。按图示操作取样固定面积,实验员欲测定某手机屏幕的细菌数量,将10 mL 细菌悬液进行梯度稀释,分别取0.1 mL 稀释倍数为 10^2 的样品液接种到三个培养基上培养一段时间后,统计菌落数分别为38、40、42,则该手机屏幕的细菌数为_____个/ cm^2 。

(4)在此实验的基础上,欲了解手机表面大肠杆菌的数量,则应怎样操作和判断?

必刷点五 分解纤维素的微生物的分离

24.如图是纯化纤维素分解菌并生产乙醇的基本工作流程,请回答下列问题:



(1)图中①过程应选取富含纤维素的土壤,在鉴定和筛选所需微生物时需用_____对纤维素进行染色并制成选择培养基,最后还要在平板培养基上分离纯化目的菌。为避免杂菌污染培养物和环境,接种时要在_____旁操作。

(2)图中②环节获得的酶是一种复合酶,一般认为它至少包括三种组分,分别为 C_1 酶、 C_x 酶和_____。前两种酶使纤维素酶分解成_____,第三种酶将前两种酶的分解产物分解成葡萄糖。⑤环节常用的菌种是_____。

(3)用稀释涂布平板法测定一土壤样品中纤维素分解菌数量。在对应稀释倍数为 10^6 的稀释液中,取0.2 mL 稀释液涂布,得到以下统计结果:涂布了三个平板,统计的菌落数分别是210、240和246;请计算每毫升原液中的菌体数是_____。

25.科学家从羊等食草动物胃中筛选纤维素分解菌,并对其降解纤维素的能力进行了研究。请回答下列问题

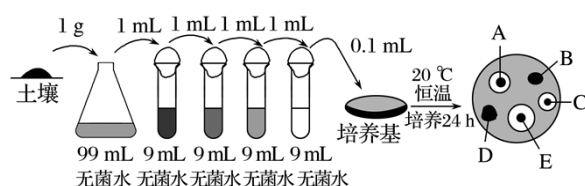
(1)若科学家在_____平板上,发现以某种菌的菌落为中心的透明圈,则表明此种菌为纤维素分解菌。

(2)在纤维素分解菌的培养过程中应保持恒温箱中的温度约为_____ (填“4℃”“20℃”或“35℃”)。

科学家采用稀释涂布平板法分离、纯化纤维素分解菌。在实验前,需要使用_____法对培养基进行灭菌;在接种前,随机取若干灭菌后的空白平板先行培养了一段时间,目的是_____。

(3)在接种的过程中,需要使用_____ (填“接种环”或“涂布器”)进行接种。科学家欲将筛选得到的纤维素分解菌进行大量培养,应选用_____ (填“液体”或“固体”)培养基,并以_____为唯一碳源,配制此培养基时,_____ (填“能”或“不能”)使用牛肉膏作为氮源。

26. 饲养动物常用的植物饲料中含有难溶的植酸钙等物质，很难被动物吸收利用，并且影响其他营养物质的利用。若在饲料中添加植酸酶，则能催化植酸钙水解成为可以被吸收利用的磷酸盐等。如图是科研人员从作物根部土壤中分离产植酸酶的菌株的过程示意图。请分析回答问题：



(1) 实验室中筛选微生物的原理是_____。

配制培养基时各种成分在溶化后分装前必须_____。

(2) 请写出一种纯化得到植酸酶的方法：_____，其原理是_____。

(3) 现将从 100 mL 含有产植酸酶菌的土壤样品溶液中取出的 1 mL 样品溶液稀释 10^4 倍后，取 0.1 mL 稀释液均匀涂布在选择培养基表面，测得菌落数的平均值为 150，空白对照组平板上未出现菌落，则 100 mL 原菌液中含有产植酸酶菌_____个，该方法的测量值与实际值相比一般会_____（填“偏大”“偏小”或“相等”）。

(4) 由于植酸钙的不溶解性，使培养基中形成白色浑浊。产植酸酶的菌株会水解植酸钙，菌落的周围将形成透明的区域，根据透明区域的有无，可初步判断该菌是否产植酸酶。实验结果显示的 A~E 五种菌株中，_____是产植酸酶的最理想菌株。

(5) 通常对获得的纯菌种还可以依据菌落的_____等菌落特征对细菌进行初步的鉴定(或分类)。

27. 秸秆还田的过程中，配施适量的高效纤维素分解菌，能有效促进秸秆分解，提高秸秆还田效率，且不会造成环境污染。回答下列问题：

(1) 筛选纤维素分解菌时，可到腐烂稻草等环境中采集土样，原因是_____。

(2) 有很多类群微生物都能有效降解纤维素，为了避免不同微生物之间的生长互相影响，应该用_____培养基进行培养，获得纯化菌株。

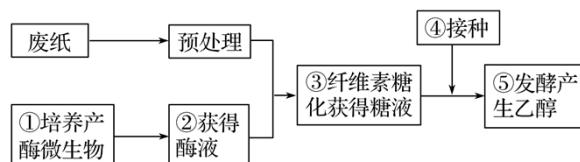
(3) 用刚果红染色法初步鉴定纤维素分解菌后，进一步用液体滤纸培养基分组复筛，其中滤纸的作用是_____。培养一段时间后，将残留的滤纸烘干称重，残留的滤纸越少，则说明_____。

(4) 采用_____技术，将筛选到的高效纤维素分解菌固定，能够阻隔其受到外界不利因素的毒害作用，增加使用寿命。

(5) 为了长期保存高效纤维素分解菌菌种，可以采用_____的方法。

(6) 现有高效分解纤维素的细菌，为探究其最适 pH，某同学设计如下实验：取锥形瓶若干分为 4 组，加入等量秸秆及其他必需营养物质，分别设置 pH 为 1、3、6、7，接种等量纤维素分解细菌，培养一段时间后，测定各组锥形瓶中秸秆减少量的平均值。该 pH 设置的不足之处有_____和_____。

28. 如图是纯化纤维素分解菌并生产乙醇的基本工作流程，请回答下列问题：

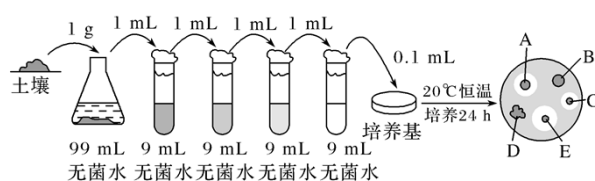


(1) 图中①过程应选取富含纤维素的土壤，在鉴定和筛选所需微生物时需用_____对纤维素进行染色并制成选择培养基，最后还要在平板培养基上分离纯化目的菌。为避免杂菌污染培养物和环境，接种时要在_____旁操作。

(2) 图中②环节获得的酶是一种复合酶，一般认为它至少包括三种组分，分别为 C_1 酶、 C_x 酶和_____。前两种酶使纤维素酶分解成_____，第三种酶将前两种酶的分解产物分解成葡萄糖。⑤环节常用的菌种是_____。

(3) 用稀释涂布平板法测定一土壤样品中纤维素分解菌数量。在对应稀释倍数为 10^6 的稀释液中，取 0.2 mL 稀释液涂布，得到以下统计结果：涂布了三个平板，统计的菌落数分别是 210、240 和 246；请计算每毫升原液中的菌体数是_____。

29. 饲养动物常用的植物饲料中含有难溶的植酸钙等物质，很难被动物吸收利用，并且影响其他营养物质的利用。若在饲料中添加植酸酶，则能催化植酸钙水解成为可以被吸收利用的磷酸盐等。如图是科研人员从作物根部土壤中分离产植酸酶的菌株的过程示意图。请分析回答下列问题：



(1) 实验室中筛选微生物的原理是_____。

配制培养基时各种成分在溶化后分装前必须_____。

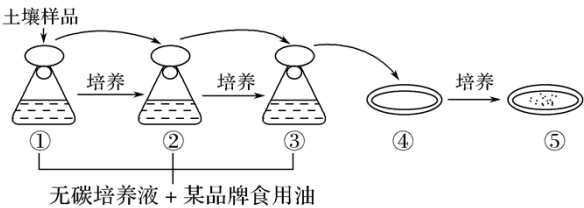
(2) 请写出一种纯化得到植酸酶的方法：_____，其原理是_____。

(3) 现将从 100 mL 含有产植酸酶菌的土壤样品溶液中取出的 1 mL 样品溶液稀释 10^4 倍后，取 0.1 mL 稀释液均匀涂布在选择培养基表面，测得菌落数的平均值为 150，空白对照组平板上未出现菌落，则 100 mL 原液中含有产植酸酶菌_____个，该方法的测量值与实际值相比一般会_____（填“偏大”“偏小”或“相等”）。

(4) 由于植酸钙的不溶解性，使培养基中形成白色浑浊。产植酸酶的菌株会水解植酸钙，菌落的周围将形成透明的区域，根据透明区域的有无，可初步判断该菌是否产植酸酶。实验结果显示的 A~E 五种菌株中，_____是产植酸酶的最理想菌株。

(5) 通常对获得的纯菌种还可以依据菌落的_____等菌落特征对细菌进行初步的鉴定(或分类)。

30. 油烟由多种有害物质组成，不易降解。某同学从长期受到某品牌食用油产生的油烟污染的土壤中分离出油烟降解菌，其筛选分离过程如图所示，回答下列问题：



(1) 图中①→③的过程称为_____，其目的是_____。

(2) 该同学将③中的微生物培养液接种到培养基④之前，进行了梯度稀释，制成稀释倍数分别为 10^1 、 10^2 、 10^3 的不同稀释度的样品液，分别吸取 0.1mL 样品液涂布于培养基上。每个稀释倍数的样品液涂布三个培养基，最终形成的菌落的数目如表所示：

培养基编号	稀释倍数		
	甲	乙	丙
10^1	168	172	170
10^2	12	14	19
10^3	2	3	6

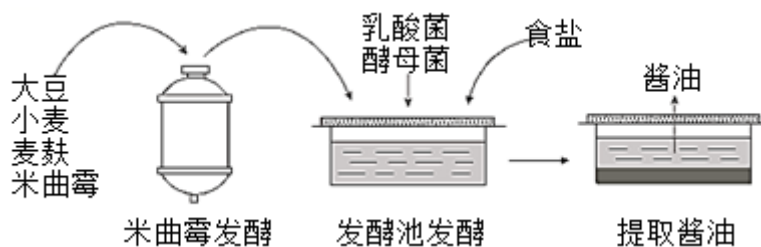
应选择稀释倍数为_____的培养基进行计数，稀释前每毫升菌液中含有油烟降解菌的数目为_____个，这种计数方法统计的结果往往会比显微镜直接计数的结果小，其原因是_____。

(3) 在⑤中的固体培养基应加入该品牌食用油，其作用是_____。培养基常用的灭菌方法是_____。

必刷 22 微生物的培养与利用

高考题目

1. (2021·全国乙卷)工业上所说的发酵是指微生物在有氧或无氧条件下通过分解与合成代谢将某些原料物质转化为特定产品的过程。利用微生物发酵制作酱油在我国具有悠久的历史。某企业通过发酵制作酱油的流程示意图如下。



回答下列问题：

(1) 米曲霉发酵过程中，加入大豆、小麦和麦麸可以为米曲霉的生长提供营养物质，大豆中的_____可为米曲霉的生长提供氮源，小麦中的淀粉可为米曲霉的生长提供_____。

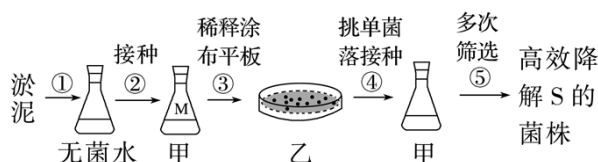
(2) 米曲霉发酵过程的主要目的是使米曲霉充分生长繁殖，大量分泌制作酱油过程所需的酶类，这些酶中的_____、_____能分别将发酵池中的蛋白质和脂肪分解成易于吸收、风味独特的成分，如将蛋白质分解为小分子的肽和_____。米曲霉发酵过程需要提供营养物质、通入空气并搅拌，由此可以判断米曲霉属于_____（填“自养厌氧”“异养厌氧”或“异养好氧”）微生物。

(3) 在发酵池发酵阶段添加的乳酸菌属于_____（填“真核生物”或“原核生物”）；添加的酵母菌在无氧条件下分解葡萄糖的产物是_____。在该阶段抑制杂菌污染和繁殖是保证酱油质量的重要因素，据图分析该阶段中可以抑制杂菌生长的物质是_____（答出1点即可）。

【答案】①. 蛋白质 ②. 碳源 ③. 蛋白酶 ④. 脂肪酶 ⑤. 氨基酸 ⑥. 异养好氧 ⑦. 原核生物 ⑧. 酒精和二氧化碳 ⑨. 酒精、乳酸、食盐（答一个即可）

【解析】1、参与腐乳制作的微生物主要是毛霉，其新陈代谢类型是异养需氧型。腐乳制作的原理：毛霉等微生物产生的蛋白酶能将豆腐中的蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸；脂肪酶可将脂肪分解成甘油和脂肪酸。2、微生物的生长繁殖一般需要水、无机盐、碳源和氮源等基本营养物质，有些还需要特殊的营养物质如生长因子，还需要满足氧气和 pH 等条件。3、果酒制作的菌种为酵母菌，其原理是：在有氧的条件下，酵母菌大量繁殖，无氧的条件下，酵母菌产生酒精和二氧化碳。

2. (2020·全国 I, 37)某种物质 S(一种含有 C、H、N 的有机物)难以降解, 会对环境造成污染, 只有某些细菌能降解 S。研究人员按照下图所示流程从淤泥中分离得到能高效降解 S 的细菌菌株。实验过程中需要甲、乙两种培养基, 甲的组分为无机盐、水和 S, 乙的组分为无机盐、水、S 和 Y。



回答下列问题:

(1)实验时, 盛有水或培养基的摇瓶通常采用_____的方法进行灭菌。乙培养基中的 Y 物质是_____。甲、乙培养基均属于_____培养基。

(2)实验中初步估测摇瓶 M 中细菌细胞数为 2×10^7 个/mL, 若要在每个平板上涂布 $100 \mu\text{L}$ 稀释后的菌液, 且保证每个平板上长出的菌落数不超过 200 个, 则至少应将摇瓶 M 中的菌液稀释_____倍。

(3)在步骤⑤的筛选过程中, 发现当培养基中的 S 超过某一浓度时, 某菌株对 S 的降解量反而下降, 其原因可能是_____ (答出 1 点即可)。

(4)若要测定淤泥中能降解 S 的细菌细胞数, 请写出主要实验步骤: _____。

(5)上述实验中, 甲、乙两种培养基所含有的组分虽然不同, 但都能为细菌的生长提供 4 类营养物质, 即_____。

【答案】(1)高压蒸汽灭菌 琼脂 选择 (2) 10^4 (3)S 的浓度超过某一值时会抑制菌株的生长 (4)取淤泥加入无菌水中, 涂布(或稀释涂布)到乙培养基上, 培养后计数 (5)水、碳源、氮源和无机盐

【解析】(1)乙培养基为固体培养基, 因此培养基中加入的是可使液体培养基凝固的琼脂。甲、乙两种培养基都是为了分离出可降解 S 的细菌, 因此是选择培养基。(2)设稀释倍数为 A, $1 \text{ mL} = 1\,000 \mu\text{L}$, 套用计算式: $A \times \frac{200 \text{ 个}}{0.1 \text{ mL}} = 2 \times 10^7 (\text{个/mL})$, 计算出 $A = 10^4$ 。(3)在筛选降解 S 物质的细菌的过程中, 如果培养基中的 S 浓度过高, 会导致细菌培养基的渗透压增大, 细菌失水而代谢活性降低, 对 S 的降解量反而下降(或者 S 改变了培养基的 pH, 导致细菌代谢活性降低)。(4)测定淤泥中能降解 S 的细菌细胞数的主要步骤是①淤泥取样, 即取少量的淤泥加入无菌水中; ②用稀释涂布平板法涂布到乙培养基上; ③微生物培养与观察计数。

3. (2019·全国 I, 37)

已知一种有机物 X(仅含有 C、H 两种元素)不易降解,会造成环境污染。某小组用三种培养基筛选土壤中能高效降解 X 的细菌(目标菌)。

I 号培养基:在牛肉膏蛋白胨培养基中加入 X(5 g/L)。

II 号培养基:氯化钠(5 g/L),硝酸铵(3 g/L),其他无机盐(适量),X(15 g/L)。

III 号培养基:氯化钠(5 g/L),硝酸铵(3 g/L),其他无机盐(适量),X(45 g/L)。

回答下列问题:

(1)在 I 号培养基中,为微生物提供氮源的是_____。II、III 号培养基中为微生物提供碳源的有机物是_____。

(2)若将土壤悬浮液接种在 II 号液体培养基中,培养一段时间后,不能降解 X 的细菌比例会_____,其原因是_____。

(3)II 号培养基加入琼脂后可以制成固体培养基,若要以该固体培养基培养目标菌并对菌落进行计数,接种时,应采用的方法是_____。

(4)假设从 III 号培养基中得到了能高效降解 X 的细菌,且该菌能将 X 代谢为丙酮酸,则在有氧条件下,丙酮酸可为该菌的生长提供_____和_____。

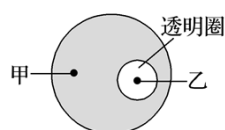
【答案】(1)牛肉膏、蛋白胨 X (2)下降 不能降解 X 的细菌因缺乏碳源不能增殖,而能降解 X 的细菌能够增殖 (3)稀释涂布平板法 (4)能量 合成其他物质的原料

【解析】(1)牛肉膏蛋白胨培养基中,牛肉膏、蛋白胨为微生物生长提供了氮源,而 II、III 号培养基中除 X 外的其他物质均不含碳,所以能为微生物提供碳源的有机物是 X。(2)因为 II 号培养基中碳源只有 X,属于选择培养基,只有能降解 X 的细菌才能增殖,而不能降解 X 的细菌因缺乏碳源不能增殖。

4. (2019·全国 II, 37)物质 W 是一种含氮有机物,会污染土壤。W 在培养基中达到一定量时培养基表现为不透明。某研究小组欲从土壤中筛选出能降解 W 的细菌(目标菌)。回答下列问题:

(1)要从土壤中分离目标菌,所用选择培养基中的氮源应该是_____。

(2)在从土壤中分离目标菌的过程中,发现培养基上甲、乙两种细菌都能生长并形成菌落(如图所示)。如果要得到目标菌,应该选择_____菌落进一步纯化,选择的依据是_____。



(3)土壤中的某些微生物可以利用空气中的氮气作为氮源。若要设计实验进一步确定甲、乙菌能否利用空气中的氮气作为氮源,请简要写出实验思路、预期结果和结论,即

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。
如要下载或阅读全文，请访问：
<https://d.book118.com/096022214152010115>