

第 40 讲 微生物的培养与应用

[考纲明细] 1.微生物的分离和培养 2.某种微生物数量的测定 3.培养基对微生物的选择作用 4.利用微生物发酵来生产特定的产物以及微生物在其他方面的应用

知识自主梳理

一、微生物的实验室培养

1.培养基

(1)概念：人们按照微生物对01营养物质的不同需求,配制出供其生长繁殖的02营养培养基质。

(2)营养成分：水、03碳源、04氮源、无机盐四类营养物质,另外还需要满足微生物生长对05pH、特殊营养物质以及06氧气的要求。

(3)培养基的分类

①按物理状态分类

培养基 种类	特点	用途
<u>07液体</u> 培养基	不加 凝固剂	工业生产
半固体 培养基	加凝固剂 (如琼脂)	观察微生物的 <u>08运动</u> 、分类 鉴定
<u>09固体</u> 培养基	加凝固剂 (如琼脂)	微生物分离、 <u>10鉴定</u> ,活菌 计数,菌种保藏

②按化学成分分类

培养基种类	特点	用途
天然培养基	含化学成分 <u>11</u> <u>不明确</u> 的天然物质	工业生产
合成培养基	培养基成分 <u>12</u> <u>明确</u> (用化学成分已知的化学物质配成)	微生物的分类、鉴定

③按功能分类

种类	制备方法	原理	用途	举例
选择培养基	培养基中加入某些化学物质	依据某些微生物对某些物质的特殊需求或抗性而设计	从众多微生物中 <u>13</u> <u>分离</u> 所需的微生物	加入 <u>14</u> <u>青霉素</u> 分离得到酵母菌和霉菌
鉴别培养基	培养基中加入某种 <u>15</u> <u>指示剂或化学药品</u>	产生特定的颜色或其他变化	鉴别不同种类的微生物	用 <u>16</u> <u>伊红美蓝</u> 培养基鉴别大肠杆菌

[深入思考] 为什么选择培养能够“浓缩”所需的微生物？

提示 在选择培养的条件下,可以使那些能够适应这种营养条件的微生物得到迅速繁殖,而那些不适应这种营养条件的微生物的繁殖被抑制,因此可以起到“浓缩”的作用。

2. 无菌技术

(1) 含义：指在培养微生物的操作中,所有防止¹⁷杂菌污染的方法。

(2) 关键：防止¹⁸外来杂菌的入侵。

(3) 不同对象的无菌操作方法(连线)

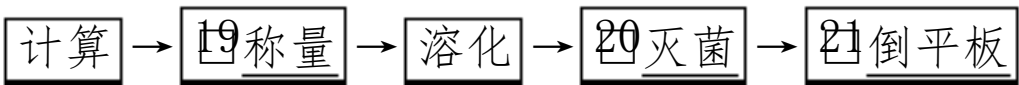
方法	类型	对象
①灼烧灭菌	a. 消毒	I. 接种针(环)
②干热灭菌		II. 培养皿
③巴氏消毒	b. 灭菌	III. 操作者的衣着和手
④紫外线		IV. 水源地
⑤化学药物		
⑥高压蒸汽灭菌		

答案 ①、②、⑥—b— I 、 II ③、④、⑤—a—III、 IV

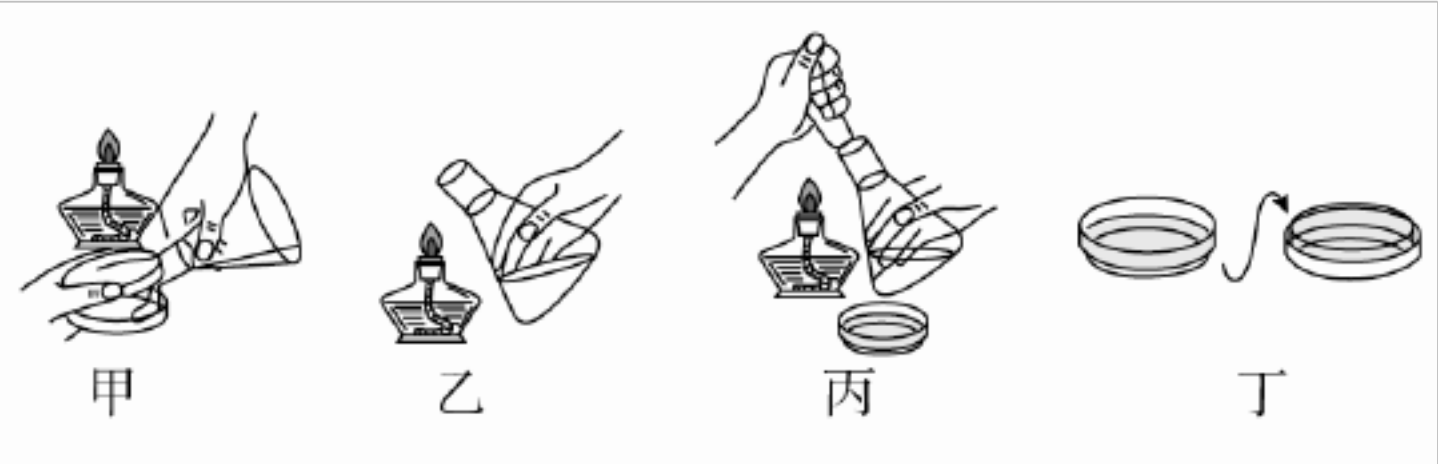
3. 大肠杆菌的纯化培养

(1) 制备牛肉膏蛋白胨固体培养基

① 操作步骤



② 倒平板的方法及注意事项



a. 请用文字和箭头写出正确的倒平板操作流程：²²丙→乙→甲→丁。

b. 乙中的灭菌方法是²³灼烧灭菌。

c. 丁中的操作需要等待²⁴平板冷却凝固才能进行。

[深入思考] (1) 倒平板操作为什么需要使锥形瓶的瓶口通过火焰？

提示 通过灼烧灭菌,防止瓶口的微生物污染培养基。

(2) 平板冷凝后,为什么要将平板倒置？

提示 平板冷凝后,皿盖上会凝结水珠,凝固后的培养基表面的湿度也比较高,将平板倒置,既可以使培养基表面的水分更好地挥发,又可以防止皿盖上的水珠落入培养基,造成污染。

(2)纯化大肠杆菌的两种方法

1)平板划线法

①概念:是通过²⁵接种环在琼脂固体培养基表面²⁶连续划线的操作,将聚集的菌种逐步稀释分散到培养基的表面。

②注意事项:

a.

	第一次 操作	每次划线之前	划线结束
目的	杀死接种环上原有的微生物	杀死上次划线后接种环上残留的菌种,使下次划线的菌种直接来源于上次划线的末端,使每次划线菌种数目减少	杀死接种环上残存的菌种,避免污染环境 and 感染操作者

b.灼烧接种环,待其冷却后才能伸入菌液,以免温度太高杀死菌种。

c.第二次及其以后的划线操作总是从上一次划线末端开始,能使细菌的数目随着划线次数的增加而逐渐减少,最终得到由单个细菌繁殖而来的菌落。

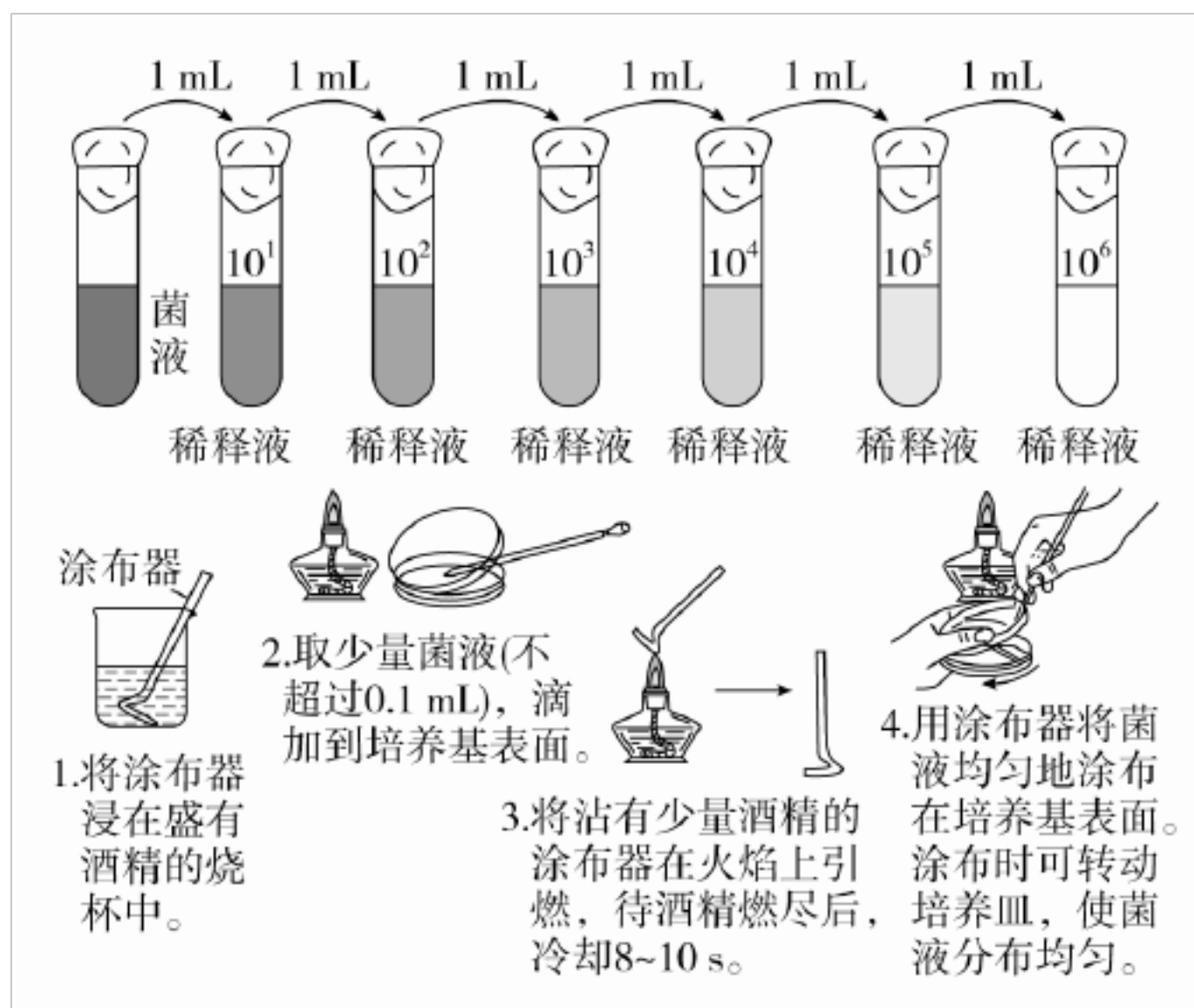
d.划线时最后一区不要与第一区相连。

e.划线用力大小要适当,防止用力过大将培养基划破。

2)²⁷稀释涂布平板法

①概念:是将菌液进行一系列的²⁸梯度稀释,然后将²⁹不同稀释度的菌液分别涂布到琼脂固体培养基的表面,进行培养。

②操作过程



(3)菌种的保存方法

①对于频繁使用的菌种,可以采用00临时保藏的方法。

②对于需要长期保存的菌种,可以采用01甘油管藏的方法。

二、土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

1.筛选菌株

(1)自然界中目的菌株筛选的依据:根据它对01生存环境的要求,到相应的环境中去寻找。

(2)实验室中微生物筛选的原理:人为提供有利于02目的菌株生长的条件(包括营养、温度、pH等),同时03抑制或阻止其他微生物生长。

(3)选择培养基:允许特定种类的微生物生长,同时04抑制或05阻止其他种类微生物生长的培养基。

2.统计菌落数目

(1)常用方法:06稀释涂布平板法。

(2)统计依据

当样品的07稀释度足够高时,培养基表面生长的一个菌落,来源于样品稀释液中的一个08活菌。通过统计平板上的菌落数,就能推测出样品中大约含有多少活菌。

(3)活菌计算方法:每克样品中的菌株数 $= (C \div V) \times M$ [其中C代表某一稀释度下平板上生长的平均菌落数,V代表涂布平板时所用的稀释液的体积(mL),M代表

稀释倍数]。

(4)其他方法：还可利用09显微镜直接计数。

3.设置对照

设置对照的主要目的是排除实验组中10非测试因素对实验结果的影响,提高实验结果的11可信度,例如为了排除培养基被杂菌污染的可能性,需以12未接种细菌的培养基培养作为空白对照。

[深入思考] 除设置对照组外,设置重复组的作用是什么? 应如何设置重复组?

提示 设置重复组的作用是为排除偶然因素对实验结果的干扰; 在每一稀释度下宜设置3个平板作重复组,选择菌落数均在30~300且数目相差不大的三个平板,用“平均值”代入计数公式予以计算菌落数。

4.实验设计

项目	内容
实验原理	①能合成13 <u>脲酶</u> 的细菌才能分解尿素 ②配制以14 <u>尿素</u> 为唯一氮源的培养基,能够生长的细菌就是能分解尿素的细菌
实验流程	土壤取样(富含15 <u>有机质</u>)→配制土壤溶液和制备培养基→16 <u>样品梯度稀释</u> →涂布平板与培养→菌落17 <u>观察</u>
鉴定	①方法:在以尿素为唯一氮源的培养基中加入18 <u>酚红</u> 指示剂培养分解尿素的细菌 ②原理:细菌分解尿素的反应中,细菌合成的脲酶将尿素分解成了19 <u>氨</u> ,其会使培养基的20 <u>碱性</u> 增强,pH 升高

5.结果分析与评价

内容	结论分析
是否有杂菌污染	①空白对照组培养基上无菌落生长→未被杂菌污染；②非空白对照组培养基上菌落数偏高→被杂菌污染；③实验组选择培养基上菌落形态多样,菌落数偏高→培养基上可能混入其他氮源
选择培养基是否具有筛选作用	牛肉膏蛋白胨培养基上的菌落数目明显多于选择培养基上的菌落数目→选择培养基具有 <u>②</u> 筛选作用
样品的稀释操作	如果得到了2个或2个以上菌落数在30~300的平板→操作成功
重复组的结果	若选取的是同一种土样,统计的结果应该接近

三、分解纤维素的微生物的分离

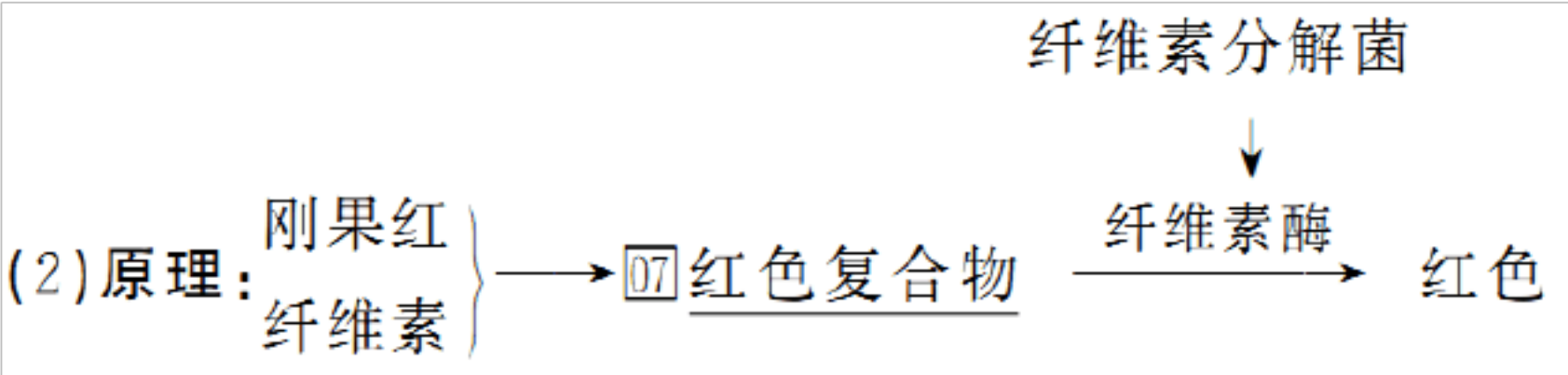
1.纤维素酶

(1)纤维素酶是一种复合酶,一般认为它至少包括① C_1 酶、② C_x 酶和③葡萄糖苷酶三种组分。



2.纤维素分解菌的筛选

(1)方法: ⑥刚果红染色法。



(3)培养基: 以09纤维素为唯一碳源的选择培养基。

(4)实验流程

土壤取样: 富含10纤维素的环境

↓

选择培养: 用11选择培养基培养,以增加纤维素分解菌的浓度

↓

12梯度稀释: 制备系列稀释液

↓

涂布平板: 将样品涂布到13鉴别纤维素分解菌的培养基上

↓

挑选产生14透明圈的菌落

(5)分离纤维素分解菌所用的两种培养基比较

分离纤维素分解菌的实验中先用15选择培养基,再用16鉴别培养基。

①选择培养基为17液体培养基,以纤维素作为碳源和能源的微生物可以正常生长,而其他绝大多数微生物不能正常生长。

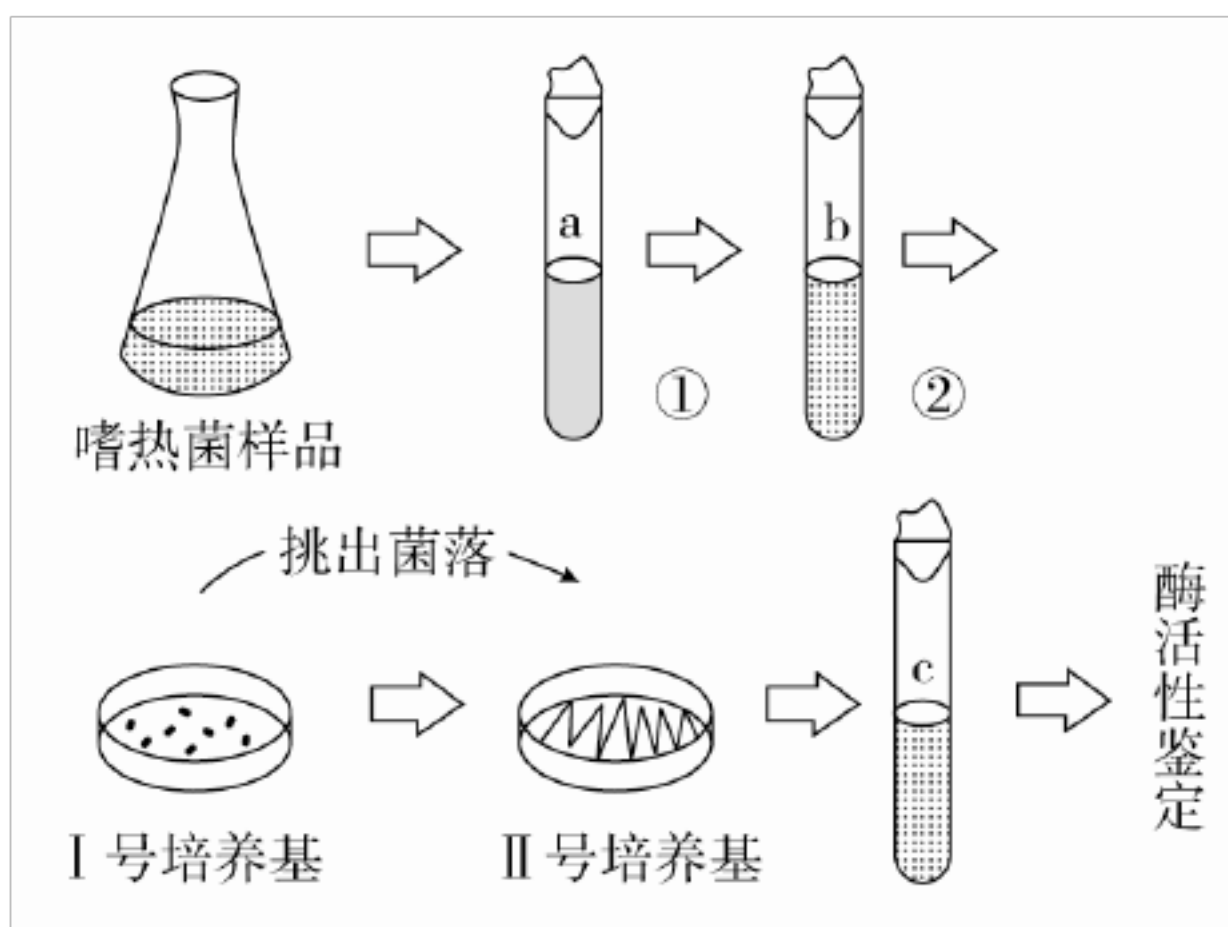
②鉴别培养基含琼脂,为18固体培养基,细菌可在培养基上形成肉眼可见的菌落。刚果红染色法应用的就是鉴别培养基。

考点题型突破

考点1 培养基及微生物的纯化培养技术

 题型一 培养基

1.高温淀粉酶在大规模工业生产中有很大的实用性。研究者从热泉中筛选出了能高效生产高温淀粉酶的嗜热菌,其筛选过程如下图所示。请据图回答下列问题:



(1) I 号培养基从物理状态来看,属于固体培养基,配制时要加入_____作为凝固剂,从用途来看属于选择培养基,应以_____作为唯一碳源。

(2) 配制固体培养基的基本步骤是()

- A. 计算、称量、倒平板、溶化、灭菌
- B. 计算、称量、溶化、倒平板、灭菌
- C. 计算、称量、溶化、灭菌、倒平板
- D. 计算、称量、灭菌、溶化、倒平板

(3) 溶化时,烧杯中加入琼脂后要不停地_____,防止琼脂糊底引起烧杯破裂。对培养基灭菌的方法一般为_____。

(4) ①过程是_____ ②过程所使用的接种方法是_____法。

(5) 部分嗜热菌在 I 号培养基上生长时可释放_____分解培养基中的淀粉,在菌落周围形成透明圈,挑选相应的菌落,接种到 II 号培养基进一步分离纯化后,再对菌种进行_____培养。

答案 (1) 琼脂 淀粉 (2) C

(3) 搅拌 高压蒸汽灭菌

(4) 稀释 涂布平板 (5) 淀粉酶 扩大

解析 (1) 固体培养基通常加入琼脂作为凝固剂。本实验的目的是获得产生高温淀粉酶的嗜热菌,故其选择培养基中应以淀粉作为唯一碳源。

(2) 配制固体培养基的基本步骤是计算、称量、溶化、灭菌、倒平板。

(3) 配制培养基加热溶化时,要注意加入琼脂后要不断搅拌,防止琼脂糊底。对培养基的灭菌一般采用高压蒸汽灭菌法。

(4) 仔细观察题图可知,①是菌液稀释过程,②是采用涂布平板法接种。

(5) 能产生淀粉酶的部分细菌能分解利用淀粉,其菌落周围会出现透明圈,取这

,以后可以对菌种进行扩大培养用于生产。

1.培养基的配制原则

(1)目的要明确:配制时应根据微生物的种类、培养目的等确定配制的培养基种类。

(2)营养要协调:注意各种营养物质的浓度和比例。

(3)pH 要适宜:细菌为 6.5~7.5放线菌为 7.5~8.5真菌为 5.0~6.0培养不同微生物所需的 pH 不同。

2.培养基中营养物质的确定方法

不同种类的微生物代谢特点不同,因此对培养基中营养物质的需求也不同。如:

(1)自养型微生物所需的主要营养物质是无机盐,碳源可来自大气中的 CO_2 ,氮源可由含氮无机盐提供。

(2)异养型微生物所需的营养物质主要是有机物(即碳源),必须由含碳有机物提供,氮源也主要是由有机物提供部分异养型微生物也可以利用无机氮源。

题型二 无菌技术

2. (2018 • II)在生产、生活和科研实践中,经常通过消毒和灭菌来避免杂菌的污染。

回答下列问题:

(1)在实验室中,玻璃和金属材质的实验器具_____ (填“可以”或“不可以”)放入干热灭菌箱中进行干热灭菌。

(2)牛奶的消毒常采用巴氏消毒法或高温瞬时消毒法,与煮沸消毒法相比,这两种方法的优点是_____。

(3)密闭空间内的空气可采用紫外线照射消毒,其原因是紫外线能_____,在照射前,适量喷洒_____,可强化消毒效果。

(4)水厂供应的自来水通常是经过_____ (填“氯气”“乙醇”或“高锰酸钾”)消毒的。

(5)某同学在使用高压蒸汽灭菌锅时,若压力达到设定要求,而锅内并没有达到相应温度,最可能的原因是_____。

答案 (1)可以

(2)在达到消毒目的的同时,营养物质损失较少

(3)破坏 DNA 结构 消毒液

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/687166113003006156>