

## 第2节 微生物的培养技术及应用

### 知识点 1 培养基

1.概念:人们按照微生物对营养物质的不同需求,配制出供其生长繁殖的营养基质。

#### 2.种类

划分标准	培养基种类	特点	应用
物理性质	液体培养基	不含凝固剂,呈液体状态	扩大培养、工业生产等
	固体培养基	含凝固剂(如琼脂),呈固体状态	微生物分离、鉴定、活菌计数、保藏菌种等

续表

划分标准	培养基种类	特点	应用
目的 用途	选择 培养基	允许特定种类的微生物生长,同时抑制或阻止其他种类微生物生长	富集、分离出特定的微生物
	鉴别 培养基	根据微生物的代谢特点在培养基中加入某种指示剂或化学药品,进而产生特定的颜色或其他变化	鉴别不同种类的微生物

### 3.培养基的成分

#### (1)基本成分

营养物质		来源	功能
碳源	无机碳源	$C_{O_3}^{2-}$ 、 $HC_{O_3}$ 等含碳无机物	①构成细胞物质和一些代谢物;
	有机碳源	糖类、脂质、蛋白质、有机酸、石油等	②有机碳既是碳源又是能源
氮源	无机氮源	铵盐、硝酸盐等	合成蛋白质、核酸及含氮的代谢物
	有机氮源	牛肉膏、蛋白胨、尿素、氨基酸等	

续表

营养物质	来源	功能
水	—	①溶剂; ②参与微生物代谢
无机盐	无机物	①细胞内的组成成分; ②维持渗透压

**特别提醒** 牛肉膏和蛋白胨来源于动物,含有糖、维生素和有机氮等营养物质。

(2)培养基还需要满足微生物生长对pH、特殊营养物质以及O<sub>2</sub>的需求。

微生物	乳酸杆菌	霉菌	细菌	厌氧微生物
特殊需求	添加 维生素	调至 酸性	调至中性 或弱碱性	提供无 氧环境

**易错分析** 并非所有培养基中都有有机碳源和有机氮源,如培养自养型生物的培养基中可不含有有机碳源,其可利用大气中的 $\text{CO}_2$ ;培养自生固氮微生物的培养基中可不含有有机氮源,其可利用大气中的 $\text{N}_2$ 。

## 知识点 2 无菌技术——消毒和灭菌

类型		操作方法		适用范围
消毒	使用较为温和的物理、化学或生物等方法杀死物体表面或内部一部分微生物	煮沸消毒	100 °C 煮沸5~6 min	家庭餐具等生活用品
		巴氏消毒	63~65 °C 消毒30 min或72~76 °C 处理15 s或80~85 °C 处理10~15 s	不耐高温的液体,如牛奶
		化学药物	用酒精擦拭双手、用氯气消毒水源等	生物活体、水源等
		紫外线	紫外线照射30 min	接种室、接种箱、超净工作台

续表

类型		操作方法		适用范围
灭 菌	使用强烈的理化方法杀死物体内外所有的微生物,包括芽孢和孢子	灼烧灭菌	酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧	接种工具(涂布器、接种环、接种针)、其他金属工具或接种过程中的试管口、瓶口等
		干热灭菌	将灭菌物品放入干热灭菌箱,在160~170 °C的热空气中维持1~2 h	耐高温、需要保持干燥的物品,如玻璃器皿、金属用具等
		湿热灭菌	高压蒸汽灭菌锅内,100 kPa、121 °C下维持15~30 min	培养基等,生产和实验室常用



## 特别提醒

(1) 对于一些不耐高温的液体, 如牛奶, 使用巴氏消毒法的优点是在达到消毒目的的同时, 基本不会破坏牛奶的营养成分。

(2) 在紫外线照射前, 适量喷洒苯酚或煤酚皂溶液等消毒液, 可以加强消毒效果。

## 知识拓展

### (1) 芽孢和孢子

	芽孢	孢子
概念	有些细菌在一定的条件下, 细胞里面形成的一个椭圆形的休眠体(不是繁殖体)	细菌、原生动物、真菌和植物等产生的一种有繁殖或休眠作用的生殖细胞
特点	对干旱、低温、高温等恶劣的环境有很强的抵抗力, 环境适宜时又可萌发成细菌	能直接长成新个体

(2) **生物消毒法**: 利用生物或其代谢物除去环境中的部分微生物的方法。如有的微生物能够寄生于多种细菌体内, 使细菌裂解, 因此可以用它们来净化污水、污泥。

### 知识点 3 微生物的纯培养

#### 1. 相关概念

(1) 培养物: 接种于培养基内, 在合适条件下形成的含特定种类微生物的群体。

(2) 纯培养物: 由单一个体繁殖所获得的微生物群体。

(3) 纯培养: 获得纯培养物的过程。

#### (4) 菌落

① 概念: 分散的微生物在适宜的固体培养基表面或内部繁殖形成的肉眼可见的、有一定形态结构的子细胞群体。

② 特征: 大小、形状、光泽、颜色、透明度等。

③功能:鉴定菌种的重要依据。

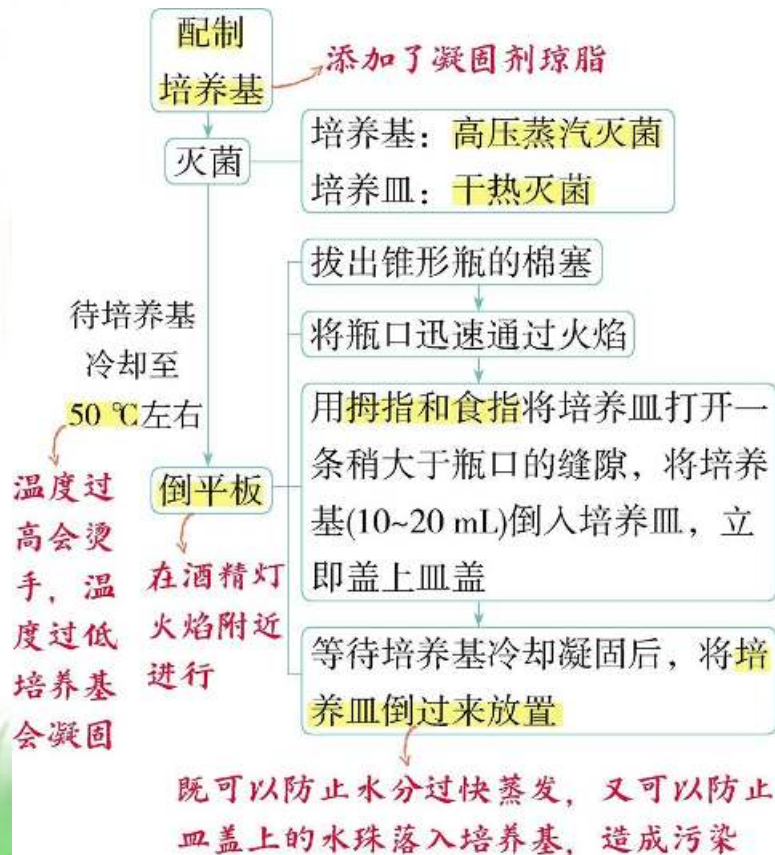
## 2.酵母菌的纯培养

(1)原理



## (2)步骤

### ①制备培养基



**特别提醒** 倒平板时如果不小心将培养基溅在皿盖与皿底之间的部位,则平板不能用来培养微生物,因为空气中的微生物可能在皿盖与皿底之间的培养基上滋生。

②接种和分离酵母菌:接种环灼烧灭菌,在酒精灯火焰旁冷却后取菌种进行平板划线。

③培养酵母菌:完成平板划线后,待菌液被培养基吸收,将接种后的平板和一个未接种的平板倒置,放入恒温培养箱中培养。

### (3)平板划线中的操作

#### ①灼烧接种环的时间和目的

灼烧时间	灼烧目的
蘸取菌液前	杀死接种环上原有的微生物,防止外来杂菌污染培养基
第二次及之后每次划线前	杀死上次划线后接种环上残留的菌种,使划线时的菌种直接来源于上次划线的末端
最后一次划线后	杀死接种环上残存的菌种,避免微生物污染环境和感染操作者

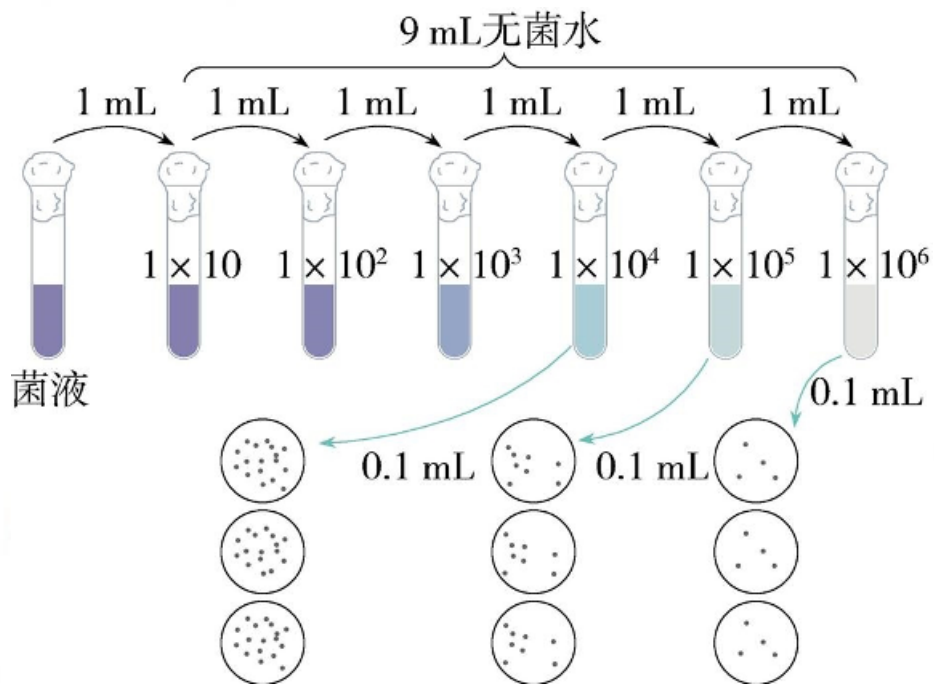
②总是从上一次划线的末端开始划线的原因:线条末端微生物的数目比起始处要少,从上一次划线的末端开始划线,能使微生物的数目随着划线次数的增加而逐渐减少,最终能得到由单个细胞繁殖而来的菌落。

③最后一次的划线与第一次的划线不能相连的原因:最后一次划线已将微生物稀释成单个细胞,如果与第一次的划线相连,则会增加微生物的数目,达不到纯化的效果。

## 知识点 4 微生物的选择培养和计数

### 1.微生物的选择培养

(1)方法——稀释涂布平板法:梯度稀释→涂布平板。



涂布前,先将涂布器浸在酒精中,再将涂布器放在火焰上灼烧,待酒精燃尽、涂布器冷却后,再用涂布器将菌液均匀地涂布在培养基表面。

(2)菌落培养:待涂布的菌液被培养基吸收后,将平板倒置,放入恒温培养箱中培养。

## 2.微生物的数量测定

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/035312301132012010>