

关于分解尿素的细菌的分离

一、课题背景

1、尿素的利用

尿素是一种重要的**农业氮肥**。**尿素不能直接**被农作物**吸收**。土壤中的细菌将尿素**分解成氨**之后才能被植物利用。

2、细菌利用尿素的原因

土壤中的细菌分解尿素是因为它们**能合成脲酶**



4、课题目的

- ①从土壤中分离出能够分解尿素的细菌
- ②统计每克土壤样品中究竟含有多少这样的细菌

一. 研究思路

(一). 筛选菌株

(二). 统计菌落数目

(三). 设置对照

(一). 筛选菌株

1、实例：

DNA多聚酶链式反应是一种在体外将**少量DNA大量复制**的技术，此项技术要求使用**耐高温**（ 93°C ）的**DNA聚合酶**。



原因：因为热泉温度 $70\sim 80^{\circ}\text{C}$ ，淘汰了绝大多数微生物只有Taq细菌被筛选出来。

启示：寻找目的菌种时要根据它对生存环境的要求，到相应的环境中去寻找。

2、实验室中微生物的筛选原理：

人为提供**有利于目的菌株生长**的条件(包括营养、温度、pH等)，同时**抑制或阻止其他微生物**生长。也就是用选择性培养基筛选。

3、土壤中分解尿素的细菌的分离与计数所需培养基:

KH_2PO_4	1.4g
NaH_2PO_4	2.1g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2g
葡萄糖	10.0g
尿素	1.0g
琼脂	15.0g

- ①从物理性质看此培养基属于哪类? **固体培养基**
- ②从用途看此培养基属于哪类? **选择培养基**
- ③从化学成分看此培养基属于哪类? **合成培养基**

3、土壤中分解尿素的细菌的分离与计数所需培养基:

KH_2PO_4	1.4g
NaH_2PO_4	2.1g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2g
葡萄糖	10.0g
尿素	1.0g
琼脂	15.0g

②在此培养基中哪些作为碳源、氮源?

碳源: **葡萄糖** 氮源: **尿素**

3、土壤中分解尿素的细菌的分离与计数所需培养基:

KH_2PO_4	1.4g
NaH_2PO_4	2.1g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2g
葡萄糖	10.0g
尿素	1.0g
琼脂	15.0g

③此培养基是否对微生物具有筛选作用？如果有，是如何进行筛选的？

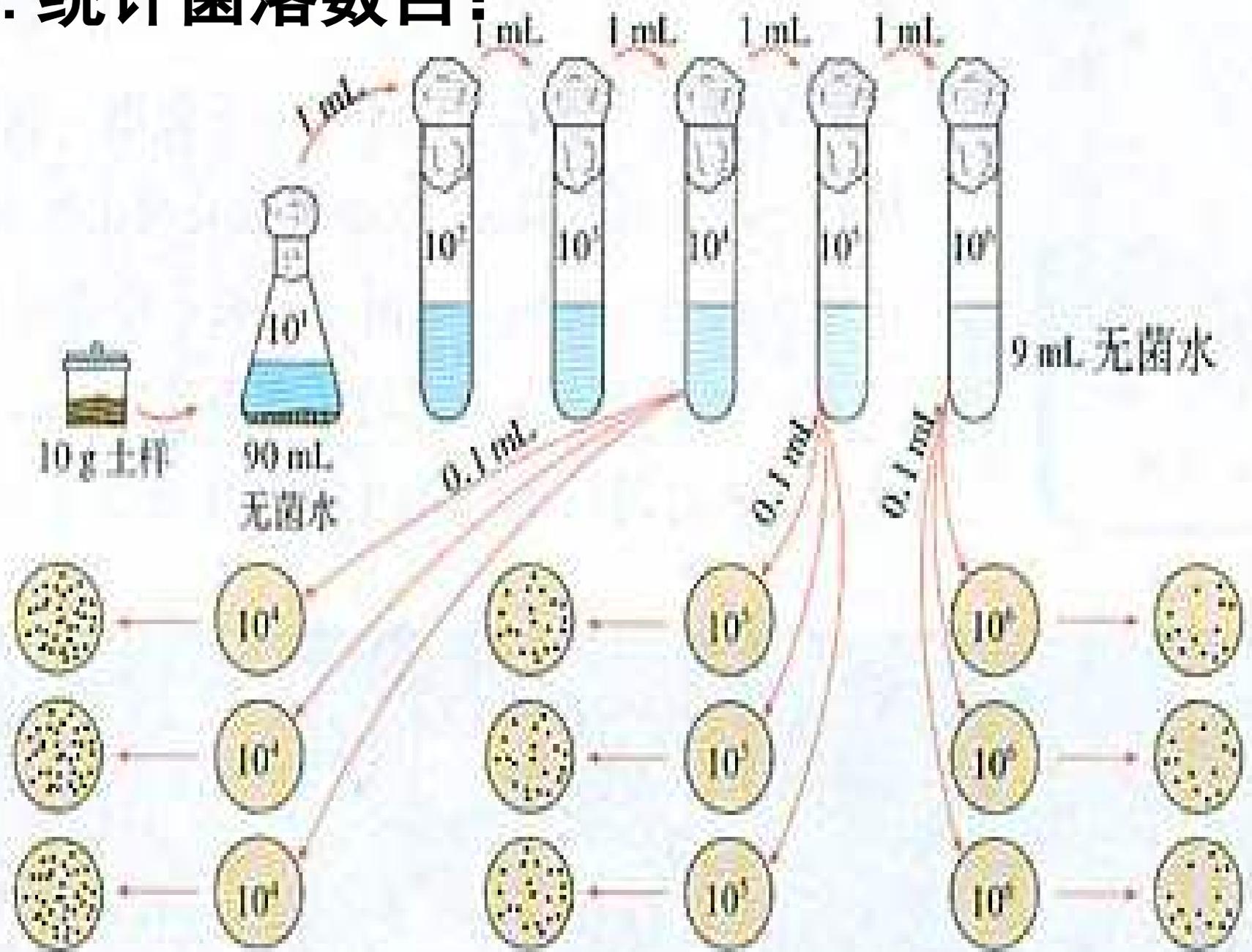
有，此培养基的氮源为尿素，只有能合成脲酶的微生物才能分解尿素，以尿素作为氮源。缺乏脲酶的微生物由于不能分解尿素，缺乏氮源而不能生长发育繁殖，而受到抑制，所以用此培养基就能够选择出分解尿素的微生物。

6、怎样证明此培养基具有选择性呢？

	培养基类型	是否接种	结果
实验组	以尿素为唯一氮源的培养基	是	只生长分解尿素细菌
对照组	牛肉膏蛋白胨培养基	是	生长多种微生物

判断该培养基有选择性

(二). 统计菌落数目:



分析:

两位同学用稀释涂布平板法测定同一土壤样品中的细菌数。在对应稀释倍数 10^6 的培养基中，得到以下两种统计结果。

1. 第一位同学在该浓度下涂布了一个平板，统计的菌落数为230。

2. 第二位同学在该浓度下涂布了三个平板，统计的菌落数分别为21、212、256，该同学以这三个平板上菌落数的平均值163作为结果。

你认为哪位同学的结果更接近真实值？你认为这两位同学的实验需要改进吗？如果需要，如何改进？

答：都不接近，都需要改进。第一位同学需要设置重复实验组。第二位同学统计的三个菌落数相差太大，说明操作有误，需要重新实验。

小结

- ①为使结果接近真实值可将同一稀释度的稀释液涂布到**三个或三个以上**的平板中培养。
- ②为了保证结果准确，一般选择菌落数在**30——300**的平板上进行计数，计算出菌落**平均数**
- ③统计的菌落往往比活菌的**实际数目低**。

2、显微镜直接计数法：

利用**血球计数板**，在显微镜下计算一定容积里样品中微生物的数量。

缺点

不能区分死菌与活菌；

不适于对运动细菌的计数；

需要相对高的细菌浓度；

个体小的细菌在显微镜下难以观察；

(三). 设置对照：

设置对照的主要目的是排除实验组中**非测试因素对实验结果的影响，提高实验结果的可信度。**

实例：在做分解尿素的细菌的筛选与统计菌落数目的实验时，A同学从对应的 10^6 倍稀释的培养基中筛选出大约150个菌落，但是其他同学在同样的稀释度下只选择出大约50个菌落。分析其原因。

**原因：(1)土样不同，
(2)培养基污染或操作失误
(或者是混入了其他的含氮物质)**

如何设计实验证明呢？

方案一：由其他同学用与A同学相同土样进行实验

结果预测：如果结果与A同学一致，则证明A无误；如果结果不同，则证明A同学存在操作失误或培养基的配制有问题。

方案二：将A同学配制的培养基在不加土样的情况下进行培养，作为空白对照，以证明培养基是否受到污染。

小结：通过这个事例可以看出，实验结果要有说服力，对照的设置是必不可少的。

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/89706112020006105>