

## 微生物实验课试题库及标准答案

试题类型

试题数量

备 注

名词解释

29

试题涵盖了《微生物学》各章节有关实验技术的内容,以及沈萍、范秀容等编《微生物学实验》第三版实验指导书的内容。

选择题 40 判断题 59 填空题 70 思考题 13 总数 211

微生物实验技术 名词解释

01.电子显微镜:电子显微镜是利用电子波波长短,分辨力高的特点以电子流代替光学显微镜的光束使物体放大成象的超显微镜检装置。

02.普通光学显微镜:用自然光或者灯光作光源镜检物体的显微镜。

03.合成培养基:由化学成分已知的营养物质配制而成的培养基。

04.人工培养基:人工配制的供微生物生长繁殖并积累代谢产物的一种营养基质。

05.天然培养基:由化学成分不完全清楚的天然物质如马铃薯、麸皮等配制而成的培养基。

06.半合成培养基:由化学成分已知的化学物质和化学成分不完全清楚的天然物质配制而成的培养基。

07.革兰氏染色法:。革兰氏染色是细菌的一种鉴别染色法,细菌首先用结晶紫染色,再用碘液固定,然后用 95%的酒精脱色,最后用蕃红复染。凡是菌体初染的结晶紫被酒精脱去了紫色后,又被蕃红复染成红色的细菌称为革兰氏负反应细菌;凡是菌体初染的紫色不能被酒精脱色,也不能被蕃红复染成红色的细菌称为革兰氏正反应细菌。

08.简单染色:用单一染料使微生物细胞染上所用染料颜色的染色方法。

09.稀释平板计数法:将一定量的样品经十倍稀释后,用平板培养最后三个稀释度的样品稀释液。待菌落长出后,计数出某一稀释度的菌落数后再乘以稀释倍数,即为样品中的含菌数。

10.显微直接计:利用血球计数板或细菌计数板在显微镜下测计出每小格的微生物细胞数量后,再换算出单位体积中微生物细胞总数的测数方法。

11.巴氏消毒:巴氏消毒是法国微生物学家巴斯德发明的一种消毒方法。是在 62-63℃的条件下,保温半小时杀死微生物的营养体(主要是病原菌)的方法。

12.间歇灭菌:利用 100℃的温度杀死微生物的营养体,每次 1 小时连续三天,中间的空隙时间让未杀死的芽胞萌发成营养体,在下一一次 100℃的温度下被杀死。如此反复两次可将培养基的微生物(包括芽胞)全部杀死。该方法适用于没有高压灭菌器的地方进行灭菌处理。1

13.消毒:只杀死微生物的营养体(主要是病原菌),而不能杀死微生物的芽胞的除菌方法。

14.灭菌:利用物理或化学方法杀死所有微生物包括细菌的芽胞的除菌方法称为灭菌。

15.过滤除菌:利用一定孔径的滤膜阻止微生物的通过而除去溶液中或者空气中微生物的除菌方法。

16.湿热灭菌:利用热的蒸汽杀死微生物的灭菌方法。湿热灭菌又分常压蒸汽灭菌和加压蒸汽灭菌

17.干热灭菌:利用干热空气杀死微生物的方法。其灭菌工艺条件通常为 160-170℃/2h。

18.选择培养基:根据使用的目的,控制培养基的组成成分,使之有利于某种微生物的生长而限

制其它微生物的生长,从而能从自然界混杂的群体中分离出某一种单一的微生物。如无氮培养基用来分离土壤中的自生固氮菌。

19.加富培养基:在基本培养基中加入血清,动植物组织液或者其它生长因子而配制出来的营养特别丰富的培养基。

20.鉴别培养基:根据微生物的代谢特点,通过指示剂的显色反应,用以鉴别不同微生物的培养

21.数值孔径:数值孔径是判断物镜和聚光镜性能的重要指标,通常用  $N.A$  表示:

$N.A=n \cdot \sin a$  ( $n$  为介质折光率, $a$  为镜口角)。

22.分辨力:分辨力是指显微镜能够分辨出的物体两点间最小距离的能力。它与波长及物镜的数值孔径有关。

23.超净工作台:利用过滤除菌的原理而设计出来的一种无菌操作工作台,鼓风机鼓出的空气通过孔径很小的薄膜将空气中的微生物过滤后变成无菌空气吹向操作台,可防止周围有菌空气流入,能保证操作台始终保持无菌状态,便于无菌操作。

24.纯培养技术:纯培养技术是培养某个单一微生物的方法。包括培养基的制作与灭菌。单一微生物的分离与纯化,和无菌操作接种技术。

25.焦深:焦深是指清晰的目的象的上面和下面所看见的物象之间的距离。它与放大倍数成反比,即放大倍数越大,焦深越小。

26.暗视野显微术:利用暗视野聚光器能阻止光线直接照射标本,而使光线斜射在标本上。在显微镜中见到黑暗视野中明亮物象的镜检技术。

27.荧光显微术:紫外光作光源的显微镜检技术。

28.负相差:在黑暗视野中看到明亮物体的相差镜检技术。

29.正相差:在明亮视野中看到黑暗物体的相差镜检技术。

## 实验技术 选择题

01.革兰氏染色的关键操作步骤是:

A.结晶紫染色。B.碘液固定。C.酒精脱色。D.复染。 答:(C)

02.放线菌印片染色的关键操作是:

A.印片时不能移动。B.染色。C.染色后不能吸干。D.A-C。 答:(A)。

03.高氏培养基用来培养:

A.细菌。B.真菌。C.放线菌。 答:(C)。

04.肉汤培养基用来培养:

A.酵母菌。B.霉菌。C.细菌。 答:(C)。

05.无氮培养基用来培养:

A.自生固氮菌。B.硅酸盐细菌。C.根瘤菌。D.A,B 均可培养。E.A,B,C 均可培养。 答:(D)。

06.在使用显微镜油镜时,为了提高分辨力,通常在镜头和盖玻片之间滴加:

A.二甲苯。B.水。C.香柏油。 答:(C)。

07.常用的消毒酒精浓度为:

A.75%。B.50%。C.90%。 答:(A)。

08.用甲醛进行空气熏蒸消毒的用量是:

A.20ml/M<sup>3</sup>。B.6ml/M<sup>3</sup>。C.1ml/M<sup>3</sup>。 答:(B)。

09. 高压蒸汽灭菌的工艺条件是:

A.121℃/30min。B.115℃/30min。C.130℃/30min。 答:(A)。

10. 巴氏消毒的工艺条件是:

A.62-63℃/30min。B.71-72℃/15min。C.A.B.均可。 答:(C)。

11. 半固体培养基的主要用途是:  
A.检查细菌的运动性。B.检查细菌的好氧性。C.A.B.两项。 答:(C)。
12. 半固体培养基的琼脂加入量通常是:  
A.1%。B.0.5%。C.0.1%。 答:(B)。
- 13.使用手提式灭菌锅灭菌的关键操作是:  
A.排冷气彻底。B.保温时间适当。C.灭菌完后排气不能太快。D.A-C。 答:(A)。
14. 目镜头上的"K"字母表示:  
A.广视野目镜。B.惠更斯目镜。C.补偿目镜。 答:(C)。
- 15.目镜头上的"P"字母表示:  
A.平场目镜。B.广视野目镜。C.平场补偿目镜。 答:(A)。
- 16.物镜头上的"PL"字母表示:  
A.正低相差物镜。B.正高相差物镜。C.负高相差物镜。 答:(A)。
- 17.物镜头上的"UVL"字母表示。  
A.无荧光物镜。B.照相物镜。C.相差物镜。 答:(C)。
18. 镜头上标有"对 C"字母的镜头是:  
A.相差调整望远镜。B.摄影目镜。C.相差目镜。 答:(A)。
19. "PA"表示:  
A.马铃薯培养基。B.高氏培养基。C.肉汤培养基。 答:(A)。
- 20.无菌室空气灭菌常用方法是:  
A.甲醛熏蒸。B.紫外灯照射。C.喷石炭酸。D.A.B.并用。 答:(D)。
- 21.干热灭菌的关键操作是:  
A.灭菌物不能有水。B.保温过程中不能开箱门。C.降温不能太快。 答:(A)。
22. 霉菌水浸制片的关键操作是:  
A.菌丝要分散。B.菌丝首先要用 50%的乙醇浸润。C.盖盖玻片不能有气泡。D.A-C。 答:(A)。
- 23.用来染芽胞的染料通常是:  
A.孔雀绿。B.结晶紫。C.复红。D.番红。 答:(A)。
24. 复红法染鞭毛的关键操作是:  
A.玻片干净。B.染料新鲜。C.菌体活化适当。D.A.B.C。 答:(B)。
- 25.镀银法染鞭毛的关键操作是:  
A.玻片干净。B.染料无沉淀。C.加热适当。D.菌体活化适当。E.A-D。 答:(A)。
26. 进行简单染色使用的染色液通常是:  
A.复红。B.蕃红。C.结晶紫。D.孔雀绿。E.A-D 均可。 答:(A)。
- 27.物镜头上的"APO"字母代表:  
A.消色差物镜。B.复消色差物镜。C.半消色差物镜。 答:(B)。
28. 物镜头上的"Ach"字母表示:  
A.平场物镜。B.超平场物镜。C.消色差物镜。 答:(A)。
29. 物镜头上的“NH”字母表示:  
A.正相差物镜。B.负相差物镜。C.负高相差物镜。 答:(C)。
30. 物镜头上的“0.17”表示:  
A.要求的盖玻片厚度。B.要求的载玻片厚度。C.镜头浸油的深度。 答:(A)。
31. 镜头上标有“NK”字母的镜头是:  
A.照相目镜。B.荧光目镜。C.相差目镜。 答:(A)。
32. 目镜头上的“PK”字母表示:  
A.平场目镜。B.补偿目镜。C.平场补偿目镜。 答:(C)。

33. 物镜头上的"Splan"字母表示:  
A.超平场物镜。B.平场物镜。C.消色差物镜。答:(A)
34. 物镜头上的"SplanApo"表示:  
A.超平场复消色差物镜。B.超平场半消色差物镜。C.超平场物镜。答:(A)。
- 35.物镜头上的"Planapo"表示:  
A.超平场物镜。B.平场物镜。C.平场复消色差物镜。答:(C)。
36. 物镜头上的"Plan"字母表示:  
A.平场物镜。B.消色差物镜。C.超平场物镜。答:(A)。
37. 目镜头上的"W"字母表示:  
A.广视野高眼点补偿目镜。B.高眼点目镜。C.广视野目镜。答:(C)。
38. 目镜头上的"SWK"字母表示:  
A.超广视野目镜。B.高眼点补偿目镜。C.平场补偿目镜。答:(A)。
- 39.目镜头上的"WHK"字母表示:  
A.超广视野目镜。B.广视野高眼点目镜。C.平场补偿目镜。答:(B)。
- 40.物镜头上的"错.L"字母表示:  
A.消色差物镜。B.半消色差物镜。C.复消色差物镜。答:(B)。

#### 实验技术 判断题

- 01.无菌吸管上端塞入棉花是为了过滤口中的有菌空气。答:(对)。
- 02.无菌吸管上端塞入棉花的目的是为了防止菌液吸入口中。答:(错)。
- 03.稀释平板测数时,放线菌计数的标准是选择每皿中菌落数在 30-300 个之间的稀释度进行计数。答:(对)。
04. 稀释平板测数时,细菌计数的标准是选择每皿中菌落数在 30-300 个之间的稀释度进行计数。答:(对)。
- 05.稀释平板测数时,细菌,放线菌,真菌的计数标准是选择每皿中菌落数在 30-300 个的稀释度进行计数。答:(错)。
06. 稀释平板测数时,真菌的计数标准是选择每皿中菌落数在 10-100 个的稀释度进行计数。答:(对)。
- 07.稀释平板测数时,细菌、放线菌、真菌的计数标准是选择每皿中菌落数在 10-100 个的稀释度进行计数。答:(错)。
- 08.用混菌法测微生物活菌数时,每个平皿中的菌液加入量是 1ml。答:(对)。
- 09.用涂抹法测微生物活菌数时,每个平皿中的菌液加入量是 0.1ml。答:(对)。
10. 用油镜镜检时应将聚光器升至最高。答:(对)。
11. 使用高倍镜时,可将聚光器升至最高。答:(错)。
- 12.为了满足微生物对微量元素的需要,配制培养基所用的水最好使用自来水。答:(对)。
- 13.稀释测数用的无菌水通常是由自来水灭菌而成。答:(对)。
- 14.观察根霉,青霉只需用低倍镜观察即可。答:(错)。
- 15.实验室通常使用血球计数板测微生物的总菌数。答:(错)。
16. 浸油的油镜头可用软的卫生纸擦净。答:(错)。
- 17.为了节省时间,可直接在染色涂片上滴加香柏油后,直接用油镜观察。答:(错)。
- 18.使用油镜的正确操作步骤是:  
1.低倍镜观察。2.高倍镜观察。3.转出高倍镜头,滴加香柏油后用油镜观察。答:(对)。
- 19.在擦拭显微镜镜头时,应向一个方向擦拭。答:(对)。

- 20.显微镜镜头的放大倍数越大,它的数值孔径值越大,其镜口角也越大。答:(对)。
- 21.稀释平板测数通常是采用十倍稀释法。答:(对)。
- 22.稀释平板测数通常采用的是二倍稀释法。答:(错)。
- 23.做稀释平板测数时,只需一支吸管从头稀释到尾即可。答:(错)。
- 24.做稀释平板测数时,每做一个稀释度都必须更换一支无菌吸管。答:(对)。
- 25.稀释平板测数时,无论是用混菌法,还是用涂抹法,每个平皿中的菌液加入量都是 1ml。答:(错)。
- 26.稀释平板测数时,无论是用混菌法,还是用涂抹法,每个平皿中的菌液加入量都是 0.1ml。答:(错)。
- 27.实验室做固体培养基时,常加 1.8%的琼脂作凝固剂,做半固体培养基时,琼脂加入量通常是 0.5%。答:(对)。
- 28.实验室做固体培养基,常加 2%的琼脂作凝固剂,做半固体培养基时,琼脂加入量通常是 1%。答:(错)。
- 29.E.coli 经革兰氏染色后,菌体呈红色,它是革兰氏正反应细菌。答:(错)。
- 30.在光学显微镜下,根霉的孢子囊是透明的。答:(错)。
- 31.使用手提灭菌锅灭菌后,为了尽快排除锅内蒸汽,可直接打开排气阀排气。答:(错)。
- 32.苏云金杆菌的芽胞在菌体的中央。答:(错)。
- 33.所有真菌菌落的表面干燥,呈绒毛状。答:(错)。
- 34.所有放线菌菌落表面干燥,呈粉粒状。答:(错)。
- 35.所有细菌菌落的表面都是光滑湿润状。答:(错)。(芽胞菌菌落表面粗糙。 )。
36. 镜台测微尺每小格的实际长度是 10 微米。答:(对)。
- 37.目镜测微尺每小格的实际长度是 10 $\mu$ m。答:(错)。
- 38.镜台测微尺每小格的实际长度是 10nm(纳米)。答:(错)。
- 39.血球计数板两边的平台比计数区高 0.1cm。答:(错)。
- 40.血球计数板两边的平台比计数区高 0.1mm。答:(对)。
- 41.棉花塞塞入试管的长度应为棉塞全长的 2/3。答:(对)。
- 42.棉花塞塞入试管的长度应为棉塞全长的 2/3。答:(错)。
- 43.摆斜面的长度应不超过试管长度的 2/3。答:(错)。
- 44.摆斜面的长度应不超过试管长度的 1/2。答:(对)。
- 45.血球计数板计数区的面积是 1mm<sup>2</sup>。答:(对)。
- 46.用血球计数板计数时,任数 5 个大方格(80 个小格)的菌数即可。答:(错)。
- 47.在使用细菌计数板计数时,为了防止计数偏大,计数区四周压线的菌只能数两边。答:(对)。
- 48.目镜测微尺每格的实际长度是未知的,需用长度已知的镜台测微尺校正。答:(对)。
- 49.测微生物的细胞大小时,需要校正的是镜台测微尺每格的实际长度。答:(错)。
- 50.测微生物细胞大小时,需要校正的是目镜测微尺每格的实际长度。答:(对)。
- 51.血球计数板计数区每小格的体积是 1/4000mm<sup>3</sup>。答:(对)。
- 52.血球计数板计数区共有 400 个小格,每小格的面积是 1/400cm<sup>2</sup>。答:(错)。
- 53.用分装器将培养基分装试管时,应谨防培养基沾染试管口。答:(对)。
- 54.琼脂的熔化温度是 90℃ 以上,凝固温度是 45℃ 以下。答:(错)。
- 55.琼脂的熔化温度是 95℃ 以上,凝固温度是 45℃ 以下。答:(对)。
- 56.玻璃器材洗净后在急需时可采用高压蒸汽灭菌,而不能用于热灭菌。答:(对)。
- 57.细菌计数板每小格的体积是 1/20000mm<sup>3</sup>。答:(对)。
- 58.血球计数板计数区每小格的体积是 1/4000cm<sup>3</sup>。答:(错)。
- 59.无菌室用甲醛熏蒸消毒后可喷氨水以减少甲醛的刺激。答:(对)。

## 实验技术 填空题

- 01.霉菌水浸片的制片程序是加一滴水于载玻片中央,用解剖针挑取菌丝少许,将菌丝用 50% 的酒精浸润,将菌丝用蒸馏水水洗,将菌丝放入载玻片水滴中并小心分散,盖上盖玻片。
- 02.放线菌印片染色的操作程序是印片,干燥,固定,复红染色 2-3 分钟,水洗,晾干。
- 03.固体培养基常用洋菜(琼脂)作凝固剂,普通固体培养基的用量一般为 1.5-2.0%,半固体培养基的用量一般为 0.5%。
- 04.简单染色的操作程序是涂片,干燥,固定,复红染色 1-2 分钟,水洗,晾干。
- 05.使用手提式灭菌锅进行灭菌的操作程序是\_\_锅内加水,灭菌物体装锅,对称上紧密封螺帽将锅密封上,加热升温,排尽锅内冷空气,升温至灭菌工艺条件(一般为 98kpa),在工艺条件下保压计时(一般为 30 分钟),到时间后切断热源,降温,出锅。
06. 实验室配制固体培养基的操作程序是照配方称取药品,将药品溶解在一定量的水中后加热煮沸,将琼脂按量称取后用水浸湿,将浸湿的琼脂加入煮沸的营养液中,待琼脂全部融化后调节 pH 值,补充损失的水分,分装培养基入不同的容器中。
- 07.有荚膜的细菌用负染色法染色后,荚膜为无色,菌体为\_红色。
- 08.细菌经革兰氏染色后,革兰氏正反应菌呈\_\_紫色,革兰氏负反应菌呈\_\_红色。
- 09.细菌经简单染色后呈\_\_所染染料的颜色\_\_。
- 10.显微镜的光学系统由\_反光镜,聚光镜,物镜,\_和目镜组成。
11. 显微镜的机械部分包括\_镜座,镜臂,载物台,转换器,镜筒,推动器,粗动螺旋,微动螺旋聚光镜升降螺旋。等九部分组成。
- 12.高氏培养基通常用来培养\_放线菌,其 pH 值为\_7.5-8.0\_\_。
- 13.PA 培养基通常用来培养真菌\_\_菌,其 pH 值为 5-6\_\_。
- 14.牛肉膏、蛋白胨培养基通常用来培养\_细菌,其 pH 值为\_、7.0-7.2\_\_。
- 15.无氮培养基通常用来培养自生固氮菌。其氮源来自\_空气中的 N<sub>2</sub>\_\_。
- 16.干热灭菌的工艺条件是 160-170℃/2h\_\_。
- 17.使用显微镜低倍镜观察时,聚光器应该降低,使用显微镜高倍镜观察时,聚光器应该适当升高。
- 18.革兰氏染色的关键操作是酒精脱色\_\_。
- 19.显微镜的倍数越大,焦深越小,调焦应该越小心\_\_。
- 20.按培养基的形态,可将培养基分为液体\_固体\_,半固体\_\_三种类型。
- 21.配制常规培养基时通常用\_自来\_水。
- 22.热灭菌通常用来灭菌玻璃器材,培养基的灭菌通常用\_高压蒸汽灭菌。
- 23.细菌稀释测数通常采用 10 倍\_\_稀释法,稀释用试管无菌水为 9\_\_毫升。
- 24.配制培养基时常用\_1molNaOH、和 1molHCL 调节 pH 值。
- 25.按培养基的特殊用途,可将培养基分成\_\_选择培养基,加富培养基,鉴别培养基等。
- 26.选择培养基可用来分离培养我们所需的特殊微生物类群,例如我们要从土壤中分离纤维分解菌,可以利用\_纤维素\_作唯一碳源来筛选纤维分解菌\_\_；要分离产蛋白酶的微生物,可以利用酪蛋白,作唯一氮源分离\_蛋白分解菌\_\_。
27. 革兰氏染色的操作程序是涂片,干燥,固定,结晶紫染色 1 分钟,水洗,碘液媒染 1 分钟,水洗,95%的乙醇脱色 25 秒,水洗,蕃红复染 3-5 分钟,水洗,晾干\_\_。
- 28.培养基是人工配制的适合不同微生物生长繁殖或积累代谢产物的营养基质。按营养物质的不同来源可分为\_天然培养基,合成培养基,半合成培养基\_\_三大类。

- 29.高倍镜头的数值孔径通常为\_0.65\_,放大倍数为\_40x\_。
- 30.油镜头的数值孔径通常为\_1.25,放大倍数为\_100x 或 90x\_。
- 31.低倍镜头的数值孔径通常是 0.25\_,放大倍数为\_10x 或 8x\_。
- 32.穿刺接种使用的接种工具为\_接种针,斜面接种使用的接种工具为接种环\_。
- 33.进行稀释测数使用的主要器材有\_酒精灯,1ml 无菌吸管,9ml 试管装无菌水,9cm 的无菌平板
- 34.用孔雀绿和复红作细菌芽胞染色时,可使菌体呈红色,使芽胞呈\_绿色。
- 35.用日光灯作光源时,通常用\_平面反光镜,用自然光作光源时,通常用凹面\_\_反光镜
- 36.无菌室杀菌通常采用紫外灯照射,和喷洒化学药剂(如酚)相结合的方法。
- 37.半固体培养基通常用来检查\_细菌的运动性。
- 38.摆试管斜面的基本操作方法是摆斜面用特制木条放在桌面上,将装有固体培养基的试管趁热放在特制木条上摆成斜面,斜面长度不得超过试管长度的 1/2,将试管棉塞部分用灭菌报纸盖上,以防空气中微生物落到棉塞上引起污染。
- 39.不能加热灭菌的液体培养基应采用滤法除菌,通常用的器皿有蔡氏细菌过滤滤和膜滤\_。
- 40.蓝细菌的培养可用膜滤\_培养基。
- 41.分离酵母菌时为了抑制细菌的生长,通常用\_膜培养基。
- 42.从土壤中分离真菌时,通常在培养基中加入\_孟加拉红和\_链霉素显\_抑制细菌的生长。
- 43.测微生物的大小使用的主要工具是微镜,镜台测微尺和\_目镜测微尺。
- 44.测微生物的数量使用的主要工具是\_显微镜和血球计数板\_。
- 45.进行细菌的显微计数时使用的主要工具是显微镜和细菌计数板\_。
- 46.普通光学显微镜测酵母菌的大小的操作程序是将镜台测微尺置载物台上,调焦找到台尺,在低倍镜下校正目镜测微尺每格的长,在高倍镜下校正目镜测微尺每格的长,去掉台尺换上待测样本片,在高倍镜下测出十个酵母菌宽和长的格数,将校正值乘入,算出十个酵母菌的平均宽和平均长,以平均宽  $\times$  平均长  $Y(\mu\text{m})$  表示酵母菌的大小。
- 47.显微计数的操作程序是\_将待测菌进行适当的稀释,将计数板置于载物台上,在低倍镜下找到计数区,将菌液加到计数区上,调焦看到菌体,按五点取样法计数五个大方格的菌数,计算每小格的含菌数,计算出单位体积(如每 ml)中的含菌数。
- 48.荚膜染色法的操作程序是\_涂片,风干,加复红染色 3-5 分钟,水洗,晾干,加墨素涂抹,风干。
- 49.芽胞染色的操作程序是片,干燥,固定,  
孔雀绿加热染色 15 分钟,水洗,复红染色 2-3 分钟,  
水洗,  
晾干。
- 50.芽胞染色的关键操作是孔雀绿加热染色\_。
- 51.放线菌印片染色的关键操作是\_印片时不能移动\_。
- 52.用负染色法染荚膜的关键操作是\_涂抹墨素要薄。
- 53.摇床振荡培养通常用来培养\_好气微生物,亨格特的厌氧操作方法通常用来培养专性厌氧菌
- 54.革兰氏染色反应与细菌细胞壁的\_结构\_和\_\_组成\_有关。在革兰氏染色过程中,当用 95%酒精处理后,就放在显微镜下观察,革兰氏阳性菌呈\_紫\_色,而革兰氏阴性菌呈\_无色。
- 55.血球计数板与细菌计数板的主要差别是前者计数区的深度是后者的五倍
- 56.制霉菌水浸片时加棉兰染色液可使菌体呈\_浅兰色。
- 57.*Anabaena azo* 对 *ica* 的异型胞通常是\_间生在光学显微镜下它是\_透明的,细胞两端有极节\_。它能控制氧气的进入,保持异型胞内\_低氧分压,以利于固定分子氮\_。
- 58.配制培养基时,应注意各种营养物质的配比,特别是 C:N 比(碳氮比)。一般而言,当 C:N<sup>3</sup>5:1 时,

有利于\_菌体生长；当 C:N $\geq$ 5:1 时,有利于\_\_积累代谢产物。

59.由于各种微生物对某种化合物如抗生素、染料的敏感性不同,可以利用这一特征来从土壤中分离出不同类群的微生物。如在培养基中加入青霉素(链霉素),会杀死或抑制细菌和放线菌的生长而分离出真菌\_\_；在培养基中加入\_\_结晶紫\_\_,有利于分离到革兰氏阴性菌。

60. 细菌在革兰氏染色过程中,最后用蕃红复染的原因是 G-细菌经结晶紫染色、碘液媒染、酒精脱色后菌体紫色脱去,故需用蕃红复染,这样在光镜下才能见到红色的菌体。

61.高倍镜下能看到的物象在油镜下看不到往往是由于\_片置反和\_菌体着色太浅引起。

62.微生物在培养基中生长时,由于其\_新陈代谢而使培养基\_pH 值发生改变；所以在配制培养基时,为维持该条件的相对恒定,常在培养基中加入缓冲物质如\_碳酸盐( $\text{CaCO}_3$ )\_或\_磷酸盐

63.一般而言,微生物在含糖基质上生长,会产\_酸\_,而使\_pH 下降\_；微生物分解蛋白质或氨基酸会产\_碱\_,而使\_pH 上升。

64.在微生物培养过程中使用的培养皿首先是被\_Petri 采用的,因此又称培养皿为\_Petri\_dish。Hesse 在其妻子的启发下,将固体培养基使用的凝固剂由明胶改为\_琼脂

65.显微镜的微动螺旋每转一圈升降距离为\_0.1 毫米

66.两个典型的革兰氏正反应细菌和革兰氏负反应细菌经革兰氏染色后都呈阴性反应往往是由于\_酒精脱色时间过长和\_\_菌体培养时间太长引起。

67.检查乳品和饮料是否含有\_大肠杆菌(E.Coli)\_等肠道细菌,可采用\_伊红--美兰\_培养基,在这种培养基平板上\_大肠杆菌(E.Coli)\_会形成具有\_金属\_\_光泽的紫黑色小菌落。

68.细菌鞭毛经镀银法染色后呈\_褐\_色。

69.细菌鞭毛经李夫森法染色后呈\_红色。

70.由于升汞( $\text{HgCl}_2$ )有腐蚀作用,所以不能用于金属器皿消毒,特别是\_铝制品。

## 实验技术 思考题

01.试述在普通光学显微镜下测定微生物细胞大小的基本方法。

测定微生物细胞的大小主要使用目镜测微尺。其方法如下：

1.先用长度已知的镜台测微尺校正目镜测微尺。校正的方法是让台尺与目尺重叠,看台尺的 X 格正好与目尺的 Y 格重叠,然后用 计算目尺每格的长.分别校正目镜测微尺在低倍镜,高倍镜及油镜下每格所代表的实际长度。

2.将待测微生物制成水浸片或染色涂片置载物台上,调焦找到微生物后用目镜测微尺测量其宽几格,长几格,然后乘上相应放大倍数下的校正值。

3.一般测 10 个微生物,然后以平均值表示。4.若是酵母、细菌等单细胞微生物,通常测其宽和长,然后以平均宽'平均长表示,单位为  $\mu\text{m}$ 。

02. 以测苏云金杆菌工业菌粉中的活菌数为例,试述稀释平板计数的基本方法。

1.测数前先准备好测数用的 1ml 无菌吸管,9cm 无菌平板,9ml 试管无菌水和牛肉膏蛋白胨琼脂培养基。

2.称取 10 克工业菌粉加入 90ml 无菌水中置摇床上或用手振荡 20-30 分钟,让菌体分散。

3.将上述振荡过的菌液按无菌操作法进行十倍稀释直到  $10^{-8}$ 。

4.取 9cm 无菌平板 9 套用记号笔在平板底编号, $10^{-8}$  编 3 套, $10^{-7}$  编 3 套, $10^{-6}$  编 3 套。

5.用 1 支 1ml 的无菌吸管,取 1ml $10^{-8}$  的稀释菌液放入编号  $10^{-8}$  的平板中,如此将三个重复做完.同法取  $10^{-7}$  稀释菌液放入三个编号为  $10^{-7}$  平板中.同法取  $10^{-6}$  稀释菌液放入三个编号为



10-6 平板中.(均要按无菌操作法做)。

6.将牛肉膏蛋白胨琼脂培养基熔化冷至 45-50℃后,在酒精灯火焰边按无菌操作法倒入上述 9 套平板中,每个加入量大约 15-20ml,边加边摇动平板,使培养基与菌液充分混匀。

7.待培养基凝固后,将平板倒过来,置 28-30℃下培养 48 小时后计数。

### 03.试述划线分离的操作方法。

1.取 9ml 无菌平板一套在火焰旁按无菌操作法倒入 15-20ml 营养琼脂,让其冷凝成平板。

2.左手拿上述平板,右手拿接种环在火焰上灭菌后沾取原始分离物在平板上平行划线三条

3.将接种环在火焰上灭菌,左手平板转动大约 70 度,用灭菌接种环通过第一次划线的地方作二次划线,亦划三条。

4.同上法再作第三次,第四次划线。

5.盖上平板盖,将平板倒过来置 28-30℃下培养 2-4 天后观察结果.划的好应在第四次划线处出现单个菌落。

注:本答案也可画图说明。

### 04.试述检查细菌的运动性的操作方法。

检查细菌的运动性有两种方法:

#### 1.镜检法

将待检样品制成菌悬液,滴一点菌液于一盖玻片上,取一凹窝载玻片,将凹窝对准菌悬液盖在盖玻片上,然后将盖玻片和载玻片一起翻转,让菌悬液在凹窝上的盖玻片下.然后在显微镜下观察,观察应找悬液的边缘.因细菌为了更多地接触空气,总向水滴的边缘运动,观察时要注意将细菌的运动与分子的布朗运动区别开。

#### 2.半固体穿刺法

将待检细菌穿刺接种在半固体试管培养基中,若细菌仅沿穿刺线生长,说明细菌不运动。若细菌沿穿刺线向周围扩散生长,说明细菌有运动性。

### 05. 简述配制培养基的基本原则:培养基是人工配制的适合不同微生物生长繁殖,或用于积累代谢产物的营养基质。所以配制培养基时应注意以下原则:

1.根据微生物的不同选用不同的培养基,以满足微生物对营养物的需要。如自养型微生物所要求营养较简单,而异养型微生物营养要求较复杂。培养细菌,放线菌,真菌等各有不同的培养基。

2. 注意各种营养物质的浓度与配比。微生物生长所需要的营养物质往往在适当时才生长良好。浓度大往往会抑制微生物的生长。如糖类,各种重金属盐类如果浓度太高,也会影响微生物的生长。同时各种营养物质的浓度比也应注意,特别是 C/N 比。

3.注意将培养基的 pH 值控制在一定范围内。为了防止因微生物生长繁殖或积累代谢产物后影响培养基 pH 值,常在其中加入磷酸盐,碳酸盐,以维持培养基 pH 值的相对恒定。

4.同时还应考虑培养基的氧化还原电位及原材料的经济、易购和来源广泛的原则。

### 06. 试述配制培养基的基本过程及应该注意的问题。

配制培养基的基本过程是:

1.按培养基的配方称取各种药品,用量太少的药品应配制成溶液后再取一定量加入。

2.将各种药品加水溶解,通常是加所需水量的一半。

3.若配固体培养基,按 2%的用量称取琼脂,用水将琼脂浸湿一下,用手挤去琼脂中过多的水分,加入 2 的溶液中。

- 4.加热至琼脂全部溶解,并补足所需的全部水量。
- 5.用 1molNaOH 和 1molHCL 调节 pH 至要求值。
- 6.用分装器将培养基分装入试管或三角瓶中,塞上棉塞并包扎,灭菌后备用。

注意事项:

- 1.配制过程中,在加热熔化琼脂时,要不断搅拌,以防糊底。
- 2.分装时不要让培养基沾染试管口或瓶口,以防培养过程中容易污染杂菌。

#### 07.试述显微计数的基本方法。

显微计数通常用来测微生物单细胞的数量,大一点的细胞如酵母菌用血球计数板,小一点的细胞如细菌用细菌计数板。该测数方法不能区别死活细胞,测出的是微生物总的细胞数量。

血球计数板和细菌计数板构造相似,计数区的面积都是  $1\text{mm}^2$ ,两者的差别在于血球计数板的深度为  $0.1\text{mm}$ 。细菌计数板的深度为  $0.02\text{mm}$ 。无论是血球计数板还是细菌计数板计数区都划为 25 个大方格,每个大方格又划为 16 个小格。所以每小格的体积为  $1/4000\text{mm}^3$  或  $1/20000\text{mm}^3$ 。计数时,先在显微镜下找到计数区,然后将菌液稀释到适当浓度,取少量菌液滴在计数区上盖上特制盖玻片,亦可先盖盖玻片。然后用吸管将菌液从计数板上的沟里加入。靠菌液的表面张力充满计数区。计数时采取五点取样法数数,即四角各取一个大方格,再在中央取一个大方格。计数时大方格四周压线的细胞只数两边,以防增加数量。将 5 个大方格的菌数加起来除以 80 得出每个小格的菌数,再乘以 4000 即为  $1\text{mm}^3$  的菌数,再乘上 1000 即为 1ml 的菌数,乘上稀释倍数即为样品含菌数。

#### 08. 标本片上的某一物象,第一次看到后如何再次找到它?

要做到这一点,首先取决于显微镜的好坏,若显微镜上的推动器带有纵横标尺,很容易做到这一点。首先记住标本片放到推动器上的方向,然后记下观察某一物体时推动器上的纵横标尺的数字。如纵 3,横 4。当标本片拿下来后,若要重复观察原来的物象,只要按原方向将标本片夹在推动器上,将推动器推动到第一次观察该物体的纵,横标尺数字纵 3,横 4,即可看到第一次观察过的物体。

#### 09.试述在光学显微镜下所看到的 *Anabaena* 对 *ica* 的主要特征。

*Anabaena* 对 *ica* 的主要特征是:

- 1.菌体为丝状体,营养细胞为绿色,藻丝不扭曲。
- 2.该菌有异型胞,异型胞间生,无色透明,两端有极点。
- 3.厚壁孢子无色、大、两端无极点。

10. 革兰氏染色反应的成败关键是什么?为什么革兰氏染色有十分重要的理论与实践意义?  
因通过革兰氏染色,可把几乎所有的细菌都分成 G+和 G-菌两大类细菌,在细胞结构、成分、形态、生理、生化、遗传、免疫、生态和药物敏感性等方面都呈现出明显的差异。因此,任何细菌只要通过革兰氏染色,即可提供不少重要的生物学特性方面的信息。

革兰氏染色反应的成败关键是:

- 1).菌龄:12-24 小时的纯培养物。
- 2).革兰氏染色操作技术其中严格控制酒精脱色时间和菌液涂布时应均匀而薄是关键。
- 3).培养基的组成。

11. 如何从土壤中分离得到一个微生物的纯培养体?

首先要根据分离对象选择适宜的培养基。若要分离真菌应选用马丁-孟加拉红选择培养基;若要分离细菌应选用牛肉膏蛋白胨培养基;若要分离放线菌应选用高氏培养基。土样采回来后,用常规的十倍稀释分离法进行稀释分离,若分离细菌,一般稀至  $10^{-8}$ ,若分离放线菌,一般稀至  $10^{-6}$ ;若分离真菌,一般稀至  $10^{-4}$ 。取最后三个稀释度倒平板获得单个菌落。将平板上出现的单菌落转接斜面培养,同时镜检菌体的纯度,若不纯,应将培养的单菌落斜面再次进行稀释分离。倒平板获得单菌落,转接斜面培养,同时镜检菌体的纯度。反复几次直到得到菌体单一的单菌落方可认为是某一微生物的纯培养体。

12. 察氏培养基的组成为:蔗糖:30 克,磷酸氢二钾:1.0 克,硝酸钠:2 克,硫酸镁 0.5 克,氯化钾:0.5 克,硫酸亚铁:0.01 克,蒸馏水:1000ml.

试述:

- ①该培养基的 C 源,N 源各是什么物质。
- ②除 C 源和 N 源外的其它物质起什么作用:
- ③该培养基为什么不加生长因子?

(1)该培养基的 C 源物质是蔗糖,N 源物质是硝酸钠。

(2)磷酸氢二钾、硫酸镁、氯化钾、硫酸亚铁为该培养基提供矿质营养。蒸馏水提供水分。

(3)该培养基培养的微生物在培养基上能合成自身所需的全部生长因子,故无需添加生长因素,该培养基所培养的微生物为野生型。

13. 简述采用多管发酵法测定自来水大肠杆菌群的方法。

采用多管发酵法测定自来水大肠杆菌群培养基:乳糖蛋白胨发酵管(内有倒置小套管),三倍浓缩乳糖蛋白胨发酵管(瓶)(内有倒置小套管),伊红美蓝琼脂平板,灭菌水。

仪器或其他用具:载玻片,灭菌的带玻璃塞空瓶,灭菌培养皿,灭菌吸管,灭菌试管等。

(一)自来水水样的采集:先将自来水龙头用火焰烧灼 3min 灭菌,再开放水龙头使水流 5min 后,以灭菌三角烧瓶接取水样,以待分析。

(二)检查方法:

1.初(步)发酵试验 在 2 个含有 50ml 三倍浓缩的乳糖蛋白胨发酵烧瓶中,各加入 100ml 水样。在 10 支含有 5ml 三倍浓缩乳糖蛋白胨发酵管中,各加入 10 ml 水样。混匀后,  $37^{\circ}\text{C}$  培养 24h, 24h 未产气的继续培养至 48h。

2.平板分离 经 24h 培养后,将产酸产气及 48h 产酸产气的发酵管(瓶),分别划线接种于伊红美蓝琼脂平板上,再于  $37^{\circ}\text{C}$  下培养 18—24h,将符合下列特征的菌落的一小部分,进行涂片,革兰氏染色,镜检。①深紫黑色、有金属光泽;②紫黑色、不带或略带金属光泽;③淡紫红色、中心颜色较深。

3.复发酵试验 经涂片、染色、镜检后,如为革兰氏阴性无芽胞杆菌,则挑取该菌落的另一部分,重新接种于普通浓度的乳糖蛋白胨发酵管中,每管可接种来自同一初发酵管的同类型菌落 1-3 个, $37^{\circ}\text{C}$  培养 24h,结果若产酸又产气,即证实有大肠菌群存在。