

专题 2 微生物的培养与应用

课题 2 土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

杨永亮 广东省云浮市新兴县惠能中学

一、教材分析

教材从尿素在农业上的重要用途切入，介绍了土壤中能分解尿素的细菌，进而说明这种细菌的作用是能够合成分解尿素的酶。教学中，教师可以联系生产生活实际，使学生对尿素以及分解尿素的细菌形成一定的感性认识。教材还简要地介绍了尿素的发现过程以及尿素合成的历史，这些都是“科学、技术、社会”教育的丰富素材。最后，教材明确指出了本课题的目的，有助于学生准确把握课题的方向。

二、教学目标

1. 知识与技能

利用选择培养基分离细菌，运用相关技术解决生产生活中有关微生物的计数。

2. 过程与方法

体验无菌操作的实验过程。

3. 情感、态度与价值观

关注我们身边周围都存在细菌，养成讲究卫生的良好习惯。

三、教学重点：

对土样的选取和选择培养基的配制。

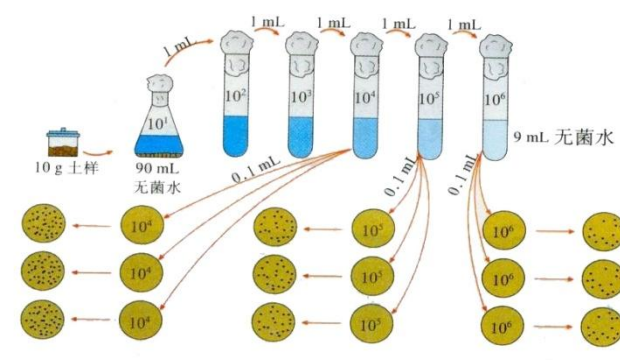
四、教学难点：

对分解尿素的细菌的计数。

五、教学过程

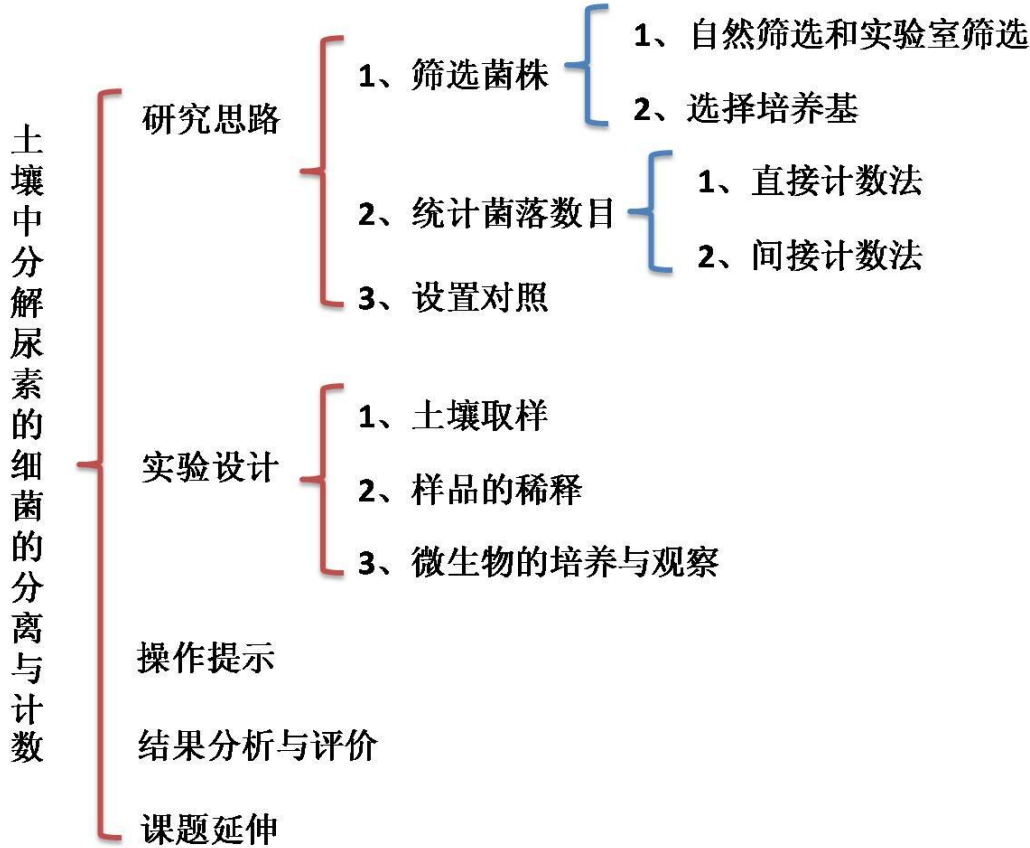
教学内容	教师活动	学生活动	设计意图
导入课题	教师讲解： 我们上节学习了培养基的配置以及无菌操作技术，下面来学习如何进行细菌的分离，获得所需要的目的微生物。	学生回忆专题 2 微生物的实验室培养里面关于培养基及无菌操作的相关知识。	创设情景，引入新课
研究思路 1、筛选菌株	1、教师让学生阅读课本 P21，讲解实例：DNA 多聚酶链式反应是一种在体外将少量 DNA 大量复制的技术，此项技术要求使用耐高温（93℃）的 DNA 聚合酶，因为热泉温度 70~80℃，淘汰了绝大多数微生物只有 Taq 细菌被筛选出来。引导学生得到启示根据它对生存环境的要求，到相应的环境中去寻找（即自然界筛选）。 2、实验室中微生物的筛选原理实验室筛选：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。 3、选择培养基：在微生物学中，将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的培养基。目的是从众多微生物中分离所需要的微生物。 4、培养基选择分解尿素的微生物的原理：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。 5、教师让学生阅读课本 P1 图 2-6，展示各种筛选菌株方法的多媒体图片：	1、学生讨论为什么 Taq 细菌能从热泉中筛选出来吗？ 2、学生阅读课本 P22 侧边栏关于本课题使用的培养基成分相关内容，讨论并回答提供碳源和氮源的分别是什么物质。 3、学生讨论培养基如何对微生物进行筛选。 4、学生观看教师展示的多媒体图片。	通过教师讲解知识点，引导学生对知识进行迁移学习，培养学生的逻辑迁移思维。 通过观看图片，使学生由感性认识

	 黄石公园热泉  海底火山  大肠杆菌显色培养基  实验室筛选 SARS 菌株		过渡到理性认识。培养学生的学科素养。
2、统计菌落数目	1、直接计数法：最常用的显微镜直接计数 2、间接计数法：最常用方法稀释涂布平板法。 每克样品中的菌株数 = $(C \div V) \times M$ C: 某一稀释度下平板上生长的平均菌落数 V: 涂布平板时所用的稀释液的体积 (ml) M: 稀释倍数	1、学生举例血球计数板属于直接计数法。 2、学生讨论并区别：稀释涂布平板法是用来计数的，而平板划线法是用来纯化的。	知识的迁移，培养学生的知识整合能力。
3、设置对照	1、对照实验是指除了被测试的条件外，其他条件都相同的实验。满足该条件的称为对照组，未满足该条件的称为实验组。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。 2、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 同学筛选出约 150 个菌落，但其他同学只选择出约 50 个菌落，分析其原因。教师要求学生设计实验方案。	学生设计实验方案： 方案一：由其他同学用与 A 同学相同土样进行实验； 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。	培养学生的怀疑精神，并根据自身设计实验方案进行验证。培养学生的实验设计能力。

实验设计	1、教师讲解样品的稀释和稀释液的取样培养流程图。  2、土壤取样： 从肥沃、湿润的土壤中取样。先铲去表层土 3cm 左右，再取样，将样品装入事先准备好的信封中。 3、制备培养基和样品的稀释： 制备以尿素为唯一氮源的选择培养基，并按一定倍数稀释。 4、微生物的培养与观察： 每隔 24h 统计一次菌落数目。选取菌落数目稳定时的记录作为结果。	学生讨论思考下列问题： 1、如何从平板上的菌落数推测出每克样品中的菌落数？ 答：统计某一稀释度下平板上的菌落数，最好能统计 3 个平板，计算出平板菌落数的平均值，然后按课本旁栏的公式进行计算。 2、为什么分离不同的微生物要采用不同的稀释度？ 答：因为土壤中各类微生物的数量（单位：株/kg）是不同的，为获得不同类型的微生物，就需要按不同的稀释度进行分离，同时还应当有针对性地提供选择培养的条件。	通过实验设计，培养学生设计实验方案能力，培养学生的学科素养。体验无菌操作的实验过程。
操作提示	1、无菌操作 a、取土用小铁铲、盛土样信封在使用前都需要灭菌。 b、应在火焰旁称取土壤。在火焰附近将称好的土样倒入锥形瓶中，塞好棉塞。 c、在稀释土壤溶液的过程中，每步都要在火焰旁操作。 2、做好标记 注明培养基种类、培养日期、平板培养样品的稀释度等。 3、规划时间	学生讨论实验过程的注意事项。	培养学生的创新思维。

结果分析与评价	1、培养物中是否有杂菌污染以及选择培养基是否筛选菌落 2、样品的稀释操作是否成功 3、重复组的结果是否一致	学生交流成果，分析自己的成功之处和需要改进的地方。	培养学生学会对别人评价和自我评价的能力
课题延伸	在以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂。培养某种细菌后，如果 PH 升高，指示剂将变红，说明该细菌能够分解尿素 脲酶的检测	学生了解酚红指示剂的作用，通过对比认清颜色的区别。	知识的延伸与迁移。

六、板书设计



七、课后练习

- 1、下列有关培养基的叙述正确的是？
 - A、培养基是为微生物的生长繁殖提供营养的基质
 - B、培养基只有两类：液体培养基和固体培养基
 - C、固体培养基中加入少量水即可制成液体培养基
 - D、微生物在固体培养基上生长时，可以形成肉眼可见的单个细菌

- 2、不同培养基的具体配方不同，但一般都含有？
 - A、碳源、磷酸盐和维生素
 - B、氮 源和维生素
 - C、水、碳源、氮源和 无机盐
 - D、碳元素、氧元素、氢元素、氮元素

- 3、制备牛肉膏蛋白胨固体培养基的步骤是？
 - 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

- 4、有关倒平板的操作错误的是？
 - A、将灭过菌的培养皿放在火焰旁的桌面上
 - B、使打开的锥形瓶瓶口迅速通过火焰
 - C、将培养皿打开，培养皿盖倒放在桌子上
 - D、等待平板冷却凝固后需要倒过来放置

- 5、有关平板划线操作正确的是？
 - A、使用 已灭菌的接种环、培养皿，操作过程中不再灭菌
 - B、打开含菌种的试管需通过火焰灭菌，取出菌种后需马上塞上棉塞
 - C、将沾有菌种的接种环迅速伸入平板内，划三至五条平行线即可

D、最后将平板倒置，放入培养箱中培养

6、关于微生物营养物质的叙述中，正确的是？

A、是碳源的物质不可能同时是氮源

B、凡碳源都提供能量

C、除水以外的无机物只提供无机盐

D、无机氮源也能提供能量

答案：AACCD