全品
— SINCE 1992 —

教育图书 功能学具 学生之家

基础教育行业专研品牌

30+年专注教育行业

全品学练考

主编 肖德好

导学案

高中生物学

选择性必修3 RJ

数智教辅

全品AI学伴

7×24小时有问必答

高效预复习，吃透每一课

天津出版传媒集团

天津人民出版社

CONTENTS 目录 导学案

01 第1章 发酵工程
PART ONE

第 1 节 传统发酵技术的应用 …… 099

第 1 课时 传统发酵技术与泡菜制作/099

第 2 课时 果酒和果醋的制作/101

第 2 节 微生物的培养技术及应用 …… 103

第 1 课时 微生物的基本培养技术/103

第 2 课时 微生物的选择培养和计数/107

第 3 节 发酵工程及其应用 …… 113

章末总结（一）【第 1 章】 …… 116

02 第2章 细胞工程
PART TWO

第 1 节 植物细胞工程 …… 117

第 1 课时 细胞工程的概念及植物组织培养技术/117

第 2 课时 植物体细胞杂交技术/119

第 3 课时 植物细胞工程的应用/121

第 2 节 动物细胞工程 …… 123

第 1 课时 动物细胞培养/123

第 2 课时 动物细胞融合技术与单克隆抗体/127

第 3 课时 动物体细胞核移植技术和克隆动物/130

第 3 节　胚胎工程 …… 133

第 1 课时　胚胎工程的理论基础/133

第 2 课时　胚胎工程技术及其应用/136

章末总结（二）【第 2 章】 …… 139

03 第3章　基因工程
PART THREE

第 1 节　重组 DNA 技术的基本工具 …… 141

第 2 节　基因工程的基本操作程序 …… 144

第 1 课时　目的基因的筛选与获取/144

第 2 课时　基因表达载体的构建/148

第 3 课时　将目的基因导入受体细胞、目的基因的检测与鉴定/149

第 3 节　基因工程的应用 …… 152

第 4 节　蛋白质工程的原理和应用 …… 154

章末总结（三）【第 3 章】 …… 156

04 第4章　生物技术的安全性与伦理问题
PART FOUR

第 1 节　转基因产品的安全性 …… 158

第 2 节　关注生殖性克隆人 …… 159

第 3 节　禁止生物武器 …… 162

章末总结（四）【第 4 章】 …… 164

◆ 参考答案 …… 165

第 1 章　发酵工程

第 1 节　传统发酵技术的应用

第 1 课时　传统发酵技术与泡菜制作

预习梳理　夯基础

一、发酵与传统发酵技术

1. 发酵：指人们利用_____，在适宜的条件下，将原料通过_____转化为人类所需要的产物的过程。

2. 传统发酵技术

(1)概念：直接利用_____中天然存在的微生物，或利用前一次发酵保存下来的_____等发酵物中的微生物进行发酵、制作食品的技术。

(2)特点：以混合菌种的_____发酵及_____发酵为主，通常是家庭式或作坊式的。

(3)主要产品：腐乳、酱、酱油、醋、泡菜和豆豉等。

(4)举例：腐乳的制作

①参与发酵的微生物：多种微生物，如酵母、曲霉和毛霉等，其中起主要作用的是_____。

②发酵原理：经过微生物的发酵，豆腐中的蛋白质被分解成小分子的_____。

[注]微生物还可以产生脂肪酶，将脂肪分解为脂肪酸和甘油。

二、制作传统发酵食品的微生物（如乳酸菌）

(1)乳酸菌在自然界中分布广泛，空气、土壤、植物体表、人或动物的肠道内都有分布，常见种类：乳酸链球菌和乳酸杆菌。

微生物	代谢类型	发酵原理	用途
乳酸菌	_____	在_____条件下，乳酸菌将葡萄糖分解成_____； 反应简式：_____ _____ _____	用于乳制品的发酵、泡菜的腌制等

(2)各种微生物的最适生长温度不同，如酿酒酵母的最适生长温度约为_____℃，多数醋酸菌的最适生长温度为_____℃。

预习检测　判正误

(1)对微生物而言，“发酵”在有氧和无氧条件下都能进行。（　）

(2)泡菜的制作前期需要通入氧气，后期应严格保持无氧条件。（　）

(3)制作泡菜过程中，有机物的干重和种类将减少。（　）

(4)毛霉主要通过产生蛋白酶分解蛋白质参与腐乳发酵。（　）

(5)泡菜制作过程中，泡菜坛中溶液量会增加，原因可能是外界溶液浓度高，细胞渗透失水。（　）

任务活动　提素养

任务　探究·实践——制作泡菜

1. 菌种来源：植物体表面天然的乳酸菌。

2. 制作原理：在密闭条件下，乳酸菌发酵，乳酸会不断积累，当它的质量分数为 0.4%～0.8%时，泡菜的口味、品质最佳。

3. 方法步骤

(1)配制盐水：用清水和食盐配制质量分数为_____的盐水，并将盐水煮沸，_____待用。

↓

(2)蔬菜加工：将新鲜蔬菜（如萝卜、黄瓜、豇豆等）洗净，切成块状或条状，混匀，晾干。

↓

(3)蔬菜装坛:将晾干的蔬菜装入泡菜坛内,装至半坛时,放入蒜瓣、生姜及其他_____,继续装至_____满。

↓

(4)加入盐水:将冷却好的盐水缓缓倒入坛中,使盐水_____全部菜料,盖好坛盖。

↓

(5)封坛发酵:向坛盖边沿的水槽中注满水,并在发酵过程中注意经常向水槽中补充水,根据室内_____控制发酵时间。

[分析]

(1)制作泡菜时,盐水按清水和食盐质量分数为5%~20%进行配制的原因是_____。

(2)盐水煮沸的目的是_____,冷却的目的是_____。

(3)蔬菜装坛只装至八成满的原因包括_____;装坛后,坛盖边沿的水槽中需要注满水,其目的是_____。

(4)发酵初期会有气泡冒出,但随着发酵的进行,气泡的产生逐渐停止,试分析原因。

_____。

(5)泡菜"咸而不酸",造成这个结果最可能的原因是什么?

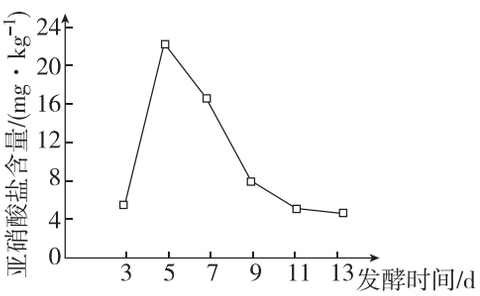
_____。

(6)泡菜坛内液体表面会有一层白色的菌膜,是_____产生的。

(7)发酵过程中温度控制在室温即可,原因是温度过高易滋生杂菌,温度过低,则发酵时间会___。

4. 进一步探究

泡菜制作过程中,泡菜表面的杂菌产生的硝酸还原酶将硝酸盐还原成亚硝酸盐,亚硝酸盐在特定条件下能转变成有致癌作用的亚硝胺。但随着腌制时间的延长,乳酸菌大量繁殖,产生乳酸,抑制杂菌繁殖,同时由于亚硝酸盐的自然分解和化学反应,亚硝酸盐含量逐渐下降。

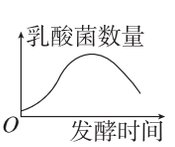
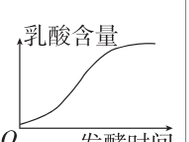
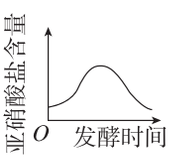


(1)请列举泡菜腌制过程中,影响泡菜中亚硝酸盐含量的因素:_____(答出两点即可)。

(2)据图分析,从亚硝酸盐含量来看,该泡菜在_____天后食用比较合适,因为此时_____。

归纳拓展

制作泡菜的过程中乳酸菌数量、乳酸含量和亚硝酸盐含量的变化

	乳酸菌数量	乳酸含量	亚硝酸盐含量
发酵初期	少(氧气抑制乳酸菌活动)	少	增加(硝酸盐还原菌的作用)
发酵中期	达到最多(乳酸积累,抑制杂菌活动)	积累增多、pH下降	下降(硝酸盐还原菌受抑制,部分亚硝酸盐被分解)
发酵后期	减少(乳酸继续积累,pH继续下降,抑制乳酸菌活动)	继续增多,pH继续下降,直至稳定	下降至相对稳定(硝酸盐还原菌被完全抑制)
曲线变化			

反馈评价

例 1 [2026·河北邢台高二月考] 传统发酵工艺是中国古代科技和文化的瑰宝，古籍中的记载为我们研究和发展现代发酵技术提供了重要参考。下列关于传统发酵的叙述，正确的是 （ ）

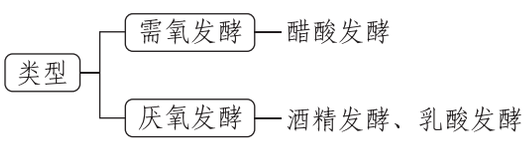
A. 在泡菜发酵过程中，乳酸菌主要分解蛋白质产生乳酸

B. 酸奶制作过程中，后期低温处理有利于乳酸菌的大量生成

C. 传统发酵技术可以直接利用原材料中天然存在的微生物

D. 传统发酵利用不同原核生物产生不同代谢物的原理生产人们需要的产物

[题后归纳] 发酵类型(根据微生物对氧气的需求)



例 2 [2025·湖南长沙高二月考]《食味杂咏·北味酸菜》记载了酸菜的制作方法："寒月初取盐菜入缸，去汁，入沸汤熟之"。盐菜即白菜，冬天以淡盐水浸之，一月而酸。下列叙述不正确的是 （ ）

A. 家庭制作酸菜时可以利用蔬菜表面的菌种，不需要单独接种

B. 发酵过程中，杂菌数目减少使乳酸菌与杂菌的种间竞争减弱

C. 容器中乳酸含量的变化趋势与亚硝酸盐含量的变化趋势相似

D. 利用有盖的酸菜坛制作酸菜时，不需要打开盖放气

[题后归纳]

(1)原料的选择：应选质地鲜嫩、无虫咬、无烂痕的新鲜蔬菜。

(2)腌制过程：注意控制腌制的时间、温度和食盐的用量。温度过高、食盐用量过低，容易造成细菌大量繁殖；腌制时间过短，会导致亚硝酸盐含量过高，一般在腌制 6 d 左右，亚硝酸盐含量开始下降。

(3)营造"无氧环境"的措施：①选择的泡菜坛密封性要好，可选择无裂纹、无砂眼、坛沿深、盖子吻合好的泡菜坛，也可以选择其他密封良好的罐子等；②加入蔬菜后要注入煮沸冷却后的盐水，使盐水没过全部菜料；③盖上坛盖后要在坛盖边沿的水槽中注满清水。

第 2 课时　果酒和果醋的制作

预习梳理

夯基础

微生物	代谢类型	发酵原理	用途
醋酸菌	_____	醋酸菌可以在两种条件下生成醋酸： ①当_____都充足时，醋酸菌能通过复杂的化学反应将_____分解成乙酸；反应简式：_____ _____ _____； ②当缺少_____时，醋酸菌直接将_____转化为乙醛，再将乙醛变为乙酸； 反应简式：_____ _____ _____	酿醋

（续表）

微生物	代谢类型	发酵原理	用途
酵母菌	_____ _____	在_____条件下，酵母菌能进行_____ _____； 反应简式：_____ _____ _____	酿酒、制作馒头和面包等

预习检测

判正误

(1)当氧气不充足、缺少糖源时，醋酸菌将乙醇转化为乙醛，再将乙醛变为乙酸。 （ ）

(2)制作果醋的温度比制作果酒的温度高。 （ ）

(3)制作果酒的菌种属于真核生物，制作果醋、腐乳、泡菜的菌种属于原核生物。 （ ）

(4)果醋发酵时，乙醇既是乙酸发酵的底物，又可以抑制杂菌繁殖。（ ）

(5)制作果酒时果汁要装满发酵瓶，以便造成无氧环境有利于发酵。（ ）

任务活动

提素养

任务　探究·实践——制作果酒和果醋

1. 菌种来源：许多新鲜水果的果皮表面附着有大量的不同种类的野生酵母菌。

2. 制作原理：在这些酵母菌的作用下，水果可以发酵成果酒。在有氧的条件下，果酒经醋酸菌的作用还可以进一步发酵成果醋。

3. 方法步骤

(1)实验用具消毒：将发酵瓶、榨汁机等器具用洗洁精清洗干净，并用体积分数为_____的_____消毒，晾干备用

↓

(2)挑选冲洗葡萄：先_____，后_____，沥干

↓

(3)榨汁：用榨汁机榨取葡萄汁，装入发酵瓶中

↓

(4)果酒发酵：①放在_____℃的温度下发酵10～12 d ②发酵过程要注意适时排气

↓

(5)取样检测：取样检测酒精含量

↓

(6)果醋发酵：①打开瓶盖，盖上一层纱布，进行发酵 ②发酵温度为_____℃，时间为7～8 d

4. 结果评价与检验

(1)果酒：发酵后取样，通过嗅味和品尝进行初步鉴定。此外，还可用显微镜观察酵母菌，并用酸性重铬酸钾溶液检验是否存在酒精（反应后颜色由橙色变成灰绿色）。

(2)果醋：首先通过观察菌膜的形成、嗅味和品尝进行初步鉴定，再通过检测比较醋酸发酵前后的pH做进一步的鉴定。此外，还可以通过在显微镜下观察发酵液中是否有醋酸菌，并统计其数量做进一步鉴定。

[分析]

(1)用清水冲洗葡萄时，一般清洗1～2次，不能反复冲洗的原因是_____。且要先用清水冲洗后再去除枝梗和腐烂的籽粒，以避免_____。

(2)将葡萄汁装入发酵瓶时，应预留大约1/3的空间，其目的是_____。

(3)酒精发酵过程中，每隔12 h左右将瓶盖拧松一次，目的是_____。注意：不是打开瓶盖，原因是_____。

(4)酒精发酵过程中，发酵液一般无须经过严格的灭菌处理，这是因为在_____的发酵液中，酵母菌可以生长繁殖，而绝大多数其他微生物都因无法适应这一环境而被抑制。

(5)进行葡萄醋的发酵时，打开瓶盖的目的是_____；盖上一层纱布的目的是_____。

5. 问题拓展

(1)果酒搁置久了会有酸味的原因：有氧条件下，醋酸菌在缺乏糖源时，可以将酒精转化为乙醛，再将乙醛转化为乙酸。

(2)泡菜坛表面的白膜和醋表面的白膜不同，前者是酵母菌大量繁殖形成的，后者是醋酸菌大量繁殖形成的。

(3)制作葡萄酒的过程中，随着发酵的进行，发酵液颜色逐渐变为深红色，这是因为发酵过程中随着酒精度的升高，红葡萄皮中的色素进入发酵液。

反馈评价

例 1 [2026·山东德州高二期末] 传统蓝莓醋的简要制作流程为采摘蓝莓→挑选清洗→破碎榨汁→果酒发酵→果醋发酵→蓝莓醋。下列说法正确的是（ ）

A. 蓝莓需先清洗再去枝梗，消毒后进行榨汁

B. 果酒发酵过程中需适时打开瓶盖进行放气

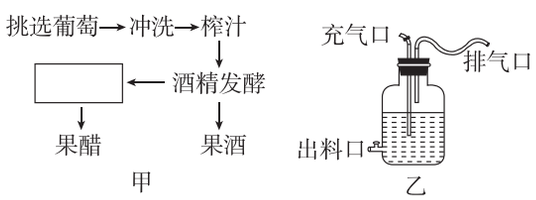
C. 果酒发酵所需的适宜温度高于果醋发酵

D. 果酒发酵时发酵液产生的气泡量明显多于果醋发酵时

[题后归纳] 果酒和果醋的检测

项目	酒精发酵	醋酸发酵
气味和味道	酒味	酸味
气泡和泡沫	有	一般无
发酵液状态	颜色加深变成深红色（以紫色葡萄为原料）	浑浊，液面形成白色菌膜

例 2 下面是果酒和果醋制作的实验流程和某同学设计的果酒和果醋的发酵装置。下列相关叙述中，错误的是（ ）



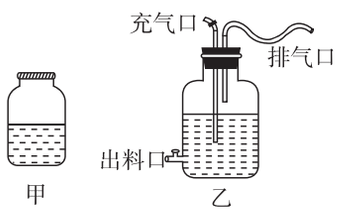
A. 冲洗葡萄的次数不能过多，否则可能导致果酒的制作失败

B. 制作果酒时，充气口要先打开再关闭，排气口打开

C. 图乙装置中排气管弯曲可防止空气中的杂菌污染

D. 根据图甲可知，利用葡萄制作果醋时，必须先进行酒精发酵然后再进行果醋发酵

[拓展] 发酵装置的分析



(1)装置甲中每隔 12 小时左右将瓶盖拧松一次，目的是排出装置内的 CO_2。当果酒制作完成后，再将瓶盖打开，盖上一层纱布，进行果醋的发酵。

(2)装置乙中，充气口是在发酵过程中充气用的，排气口可用来排出产生的气体，出料口是用来取样的。排气口连接弯曲的长管既可以排出气体，又可以防止杂菌污染。还可以在充气口安装过滤装置，以防止充入的气体携带外来杂菌，污染发酵液等。制酒时先打开充气口后关闭充气口，制醋时将充气口连接充气泵，不断输入氧气。

第 2 节　微生物的培养技术及应用

第 1 课时　微生物的基本培养技术

预习梳理

夯基础

一、微生物及培养条件

1. 微生物的概念：微生物是_____的统称，包括细菌、真菌和病毒等。本章中提及的微生物主要指_____。

2. 在实验室培养微生物：一方面要为人们需要的微生物提供合适的_____；另一方面要确保_____。

二、培养基的配制

1. 培养基的概念：人们按照微生物对_____的不同需求，配制出的供其生长繁殖的_____。

2. 培养基的功能：用以培养、_____、鉴定、保存微生物或_____。

3. 培养基的种类：液体培养基 ↓（加入_____等凝固剂）固体培养基：微生物在其表面或内部生长，可形成_____

4. 培养基的营养要素

(1)各种培养基的配方不同，但一般都含有____、_____、_____、_____等营养物质。

(2)需要满足微生物生长对_____、特殊营养物质以及_____的需求。部分实例见下表。

细菌类型	对培养基的需求
乳酸杆菌	添加_____
霉菌	一般将培养基调至_____性
细菌	一般将培养基调至_____性
厌氧微生物	提供_____的条件

三、无菌技术

1. 获得纯净的微生物培养物的关键：防止_____。

2. 具体操作

(1)对操作的_____、操作者的衣着和手进行清洁和_____。

(2)将用于微生物培养的器皿、接种用具和培养基等进行_____。

(3)做好消毒和灭菌工作后应避免已经灭菌处理的材料用具与_____接触。

(4)为避免周围环境中微生物的污染，接下来的许多操作应在_____上并在_____附近进行。

3. 消毒和灭菌

	方法	结果
消毒	较为_____的物理、化学或生物等方法	仅杀死物体表面或内部的_____
灭菌	_____的理化方法	杀死物体内外_____（包括芽孢和孢子）

四、微生物的纯培养

1. 相关概念

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

(2)纯培养物：由_____繁殖所获得的微生物群体。

(3)纯培养：获得_____的过程。

(4)菌落：分散的微生物在适宜的_____培养基表面或内部可以繁殖形成_____、有一定形态结构的_____。

2. 步骤：微生物的纯培养包括_____、_____、_____、_____和_____等步骤。

3. 常用接种方法：_____和_____。

预习检测

判正误

(1)实验室培养硝化细菌时，培养基中无须加入有机碳源。（ ）

(2)消毒的原则是既杀死材料表面的微生物，又减少消毒剂对细胞的伤害。（ ）

(3)为了防止污染，接种环经灼烧灭菌后应立即挑取菌落。（ ）

(4)倒平板时，培养皿皿盖不能完全打开。（ ）

(5)进行平板划线操作时，第一步灼烧接种环是为了避免接种环上可能存在的微生物污染培养物。（ ）

(6)所有微生物在培养时，培养基中都需加入氮源。（ ）

(7)若皿盖和皿底之间溅上培养基，这个培养基不可再用。（ ）

任务活动

提素养

任务一　培养基的配制

【情境】下表为培养细菌常用的培养基配方。

牛肉膏	蛋白胨	NaCl	琼脂	蒸馏水
5.0 g	10.0 g	5.0 g	20.0 g	定容至 1000 mL

(1)该培养基是_____(填“固体”或“液体”)培养基。

(2)利用该培养基的细菌的同化作用类型是_____(填“自养型”或“异养型”)。

(3)配方中的牛肉膏主要为细菌的生长提供_____等营养,蛋白胨主要为细菌的生长提供_____等营养。

归纳拓展

1. 培养基的成分

营养物质		来源	功能
碳源	无机碳源	CO_2、$NaHCO_3$ 等含碳无机物	①提供碳元素,构成细胞物质和一些代谢产物; ②有机碳既是碳源又是能源
	有机碳源	糖类、脂质、蛋白质、有机酸、石油等	
氮源	无机氮源	N_2、NH_3、铵盐、硝酸盐等	主要是提供氮元素,用于蛋白质、核酸等的合成
	有机氮源	牛肉膏、蛋白胨、尿素、氨基酸等	
特殊营养物质		维生素、氨基酸、碱基	①酶或核酸的组成成分; ②参与代谢过程中的酶促反应
水		—	①良好的溶剂; ②维持生物大分子结构的稳定
无机盐		无机化合物	①细胞组成成分、生理调节物质、某些化能自养菌的能源物质; ②酶的激活剂、抑制剂

[注意]①微生物最常利用的碳源是糖类,尤其是葡萄糖;最常利用的氮源是铵盐、硝酸盐。

②对异养微生物来说,含C、H、O、N的有机化合物既是碳源和能源,又是氮源。

③并非所有培养基都含有碳源、氮源。若培养自养型微生物,如硝化细菌,培养基可不含碳源,其可利用空气中的CO_2合成有机物;若培养固氮微生物,培养基可不含氮源,其可将空气中的氮气固定为含氮有机物。

④琼脂仅作为凝固剂,不能为微生物生长提供能量和碳源。

⑤病毒为非细胞结构生物,不能利用人工培养基来直接培养。

2. 三种培养基的比较

培养基种类	特点	用途
液体培养基	不加凝固剂	一般用于工业生产
半固体培养基	容器放倒不致流出,剧烈震动则破散	观察微生物的运动、分类鉴定
固体培养基	加凝固剂,如琼脂	微生物分离、鉴定、活菌计数、保存菌种

反馈评价

例1 [2026·四川巴中高二期中] 下列有关微生物培养基种类及配制原则的叙述,正确的是(　　)

A. 任何培养基都必须含有碳源、氮源、水、无机盐等营养物质

B. 液体培养基可用于观察菌落,固体培养基可用于工业生产

C. 微生物的生长除受营养因素影响外,还受pH、O_2、渗透压等的影响

D. 淀粉可作为所有微生物的碳源

任务二　无菌技术

【资料】阅读教材第11页“资料卡——常用的消毒和灭菌方法”,完善下表。

无菌技术	常用方法	应用范围	操作方法
消毒	_____法	日常用品	在100 ℃煮沸5～6 min
	_____法	不耐高温的液体,如牛奶	在63～65 ℃消毒30 min或72～76 ℃处理15 s或80～85 ℃处理10～15 s,可杀死绝大多数微生物,并且基本不破坏营养成分
	化学药物消毒法	手、水源等	用_____擦拭双手,用_____消毒水源
	_____法	接种室、接种箱或超净工作台等	用紫外线照射30 min

（续表）

无菌技术	常用方法	应用范围	操作方法
灭菌	_____法	涂布器、接种环、接种针或其他金属用具、试管口、瓶口等	将需灭菌的器具在酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧
	干热灭菌法	玻璃器皿（如吸管、培养皿等）、金属用具等耐高温的和需要保持干燥的物品	使用干热灭菌箱在160～170 ℃的热空气中维持1～2 h
	_____法（属于湿热灭菌法）	培养基及容器	常使用高压蒸汽灭菌锅以水蒸气为介质，在压力100 kPa、温度为121 ℃的条件下，维持15 ～30 min

[注意]用紫外线消毒前，适量喷洒苯酚或煤酚皂溶液等消毒液，可以加强消毒效果。

反馈评价

例2 [2026·河南郑州高二月考]无菌技术在生产、生活和科研实践中有着广泛的应用。下列叙述错误的是（　）

A. 喷洒苯酚配合紫外线照射可提高对超净工作台的消毒效果

B. 可用干热灭菌法对实验中所使用的培养皿、金属用具等进行灭菌

C. 接种前后的接种环或涂布器都要在酒精灯的火焰上进行灼烧消毒

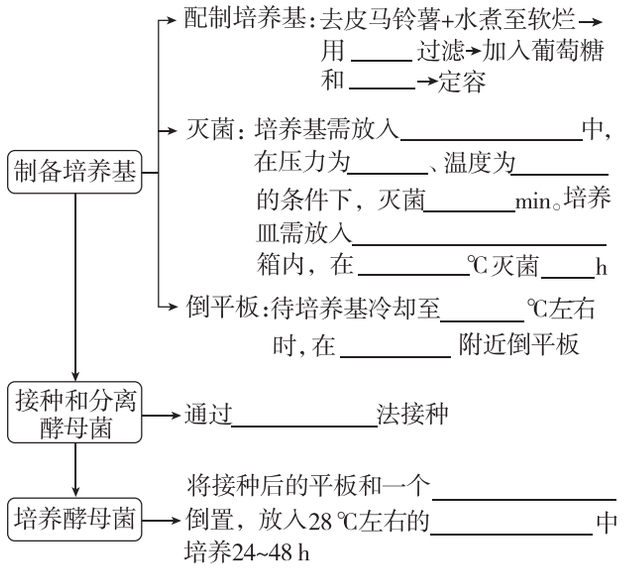
D. 高压蒸汽灭菌既能杀死微生物的营养体，也能杀死芽孢等休眠体

任务三　探究·实践——酵母菌的纯培养

1. 原理

采用_____和稀释涂布平板法能将_____微生物分散在固体培养基上，之后经培养得到的单菌落一般是由_____微生物繁殖形成的纯培养物。

2. 方法步骤



[分析]

(1)倒平板时_____(填“能”或“不能”)将培养皿完全打开，原因是_____。

(2)培养基冷却凝固后，将培养皿_____(填“正置”或“倒置”)，原因是_____。

(3)进行平板划线时，接种环首先要进行_____灭菌，待其冷却后再进行接种，原因是_____。第二次划线时应从第一次划线的_____开始，其原因是划线后，线条末端细菌的数目比线条起始处要_____。

(4)将_____与接种的平板同时倒置培养，其目的是_____。

归纳拓展

1. 平板划线的注意事项

(1)接种环只蘸一次菌液，但要在培养基不同位置连续划线多次。

(2)每次划线前对接种环进行灼烧灭菌，灼烧接种环之后，要冷却后才能进行划线，以免温度太高杀死菌种。

(3)最后一次划线与第一次划线不能相接。

(4)划线用力要适当，防止用力过大将培养基划破。

新东方教育行业专研院 SINCE 1993 30+年专注教育行业

2. 平板划线法中几次“灼烧”的分析

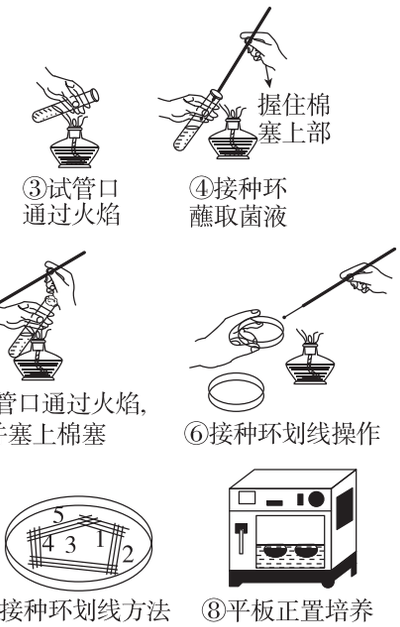
平板划线法中的无菌操作主要是通过“灼烧”实现的，在平板划线过程中要进行多次灼烧，这几次灼烧的目的见表。

操作	第一次灼烧	从第二次划线开始，每次划线之前灼烧	划线结束后灼烧
目的	避免接种环上可能存在的微生物污染培养物	杀死上次划线结束后接种环上残留的菌种，使下一次划线时接种环上的菌种直接来源于上次划线的末端	杀死接种环上残留的菌种，避免微生物污染环境和感染操作者

反馈评价

例 3 [2024·湖南卷] 微生物平板划线和培养的具体操作如图所示，下列操作正确的是 （ ）





A. ①②⑤⑥　　B. ③④⑥⑦

C. ①②⑦⑧　　D. ①③④⑤

例 4 [2025·江苏泰州高二期末] 下列有关“酵母菌的纯培养”实验的叙述，合理的是 （ ）

A. 可用干热灭菌法对培养皿进行灭菌处理

B. 马铃薯琼脂培养基中葡萄糖是唯一碳源

C. 待培养基冷却至 40 ℃时进行倒平板操作

D. 使用后的培养基丢弃前没有必要再灭菌

第 2 课时　微生物的选择培养和计数

预习梳理

夯基础

一、选择培养基

1. 概念： 在微生物学中，将允许_____生长，同时_____其他种类微生物生长的培养基，称为选择培养基。

2. 菌株的筛选

(1)自然界中：根据目的菌株对生存环境的要求，到相应环境中去寻找。

实例：聚合酶链式反应(PCR)中用到的耐高温的 DNA 聚合酶，就是从热泉中筛选出的_____体内提取出来的。(筛选依据：水生栖热菌能在_____℃的高温条件下生存，而绝大多数微生物在此条件下不能生存。)

(2)实验室中：人为提供有利于_____生长的条件(包括营养、温度和 pH 等)，同时_____其他微生物的生长。

方法：利用选择培养基分离。

二、微生物的选择培养

思路：对土样进行充分_____，再将菌液涂布到制备好的_____上，待涂布的菌液被培养基吸收后，将平板_____。在涂布有合适浓度菌液的平板上就可以观察到分离的_____。

三、微生物的数量测定

1. 稀释涂布平板法

(1)稀释涂布平板法除可以用于_____外，也常用来统计样品中_____。当样品的_____足够高时，培养基表面生长的一个单菌落，来源于样品稀释液中的一个_____。通过统计平板上的_____数，就能推测出样品中大约含有多少活菌。

(2)通常选用一定稀释范围的样品液进行培养，其目的是获得菌落数为_____、适于计数的平板。

(3)为减少实验误差，在同一稀释度下，应至少对_____个平板进行重复计数，然后求出平均值。

(4)统计结果一般用_____数而不是用活菌数表示。当_____时，平板上观察到的只是一个菌落，因此统计的菌落数往往比活菌的实际数目_____。

2. 显微镜直接计数法

用特定的_____或_____，在显微镜下观察、计数，然后再计算一定体积的样品中微生物的数量。

(1)对相对较大的酵母菌细胞、霉菌孢子等的计数常用_____计数板；对细菌等较小的细胞计数常用_____计数板。

(2)统计的结果一般是_____和_____的总和。

[注]在计数前用台盼蓝染液对细菌进行染色，可以通过统计无色细胞的个数来对活菌进行计数。

预习检测

判正误

(1)以尿素为唯一氮源的培养基是选择培养基。(　)

(2)稀释涂布平板法可用于分离微生物和统计样品中活菌数目。(　)

(3)将土壤稀释液彻底灭菌后再接种到培养基上，可以有效防止杂菌的污染。(　)

(4)稀释涂布平板法的操作中，不同浓度的菌液均可在培养基表面形成单菌落。(　)

(5)“土壤中分解尿素的细菌的分离与计数”实验过程中应使用涂布器、移液管等操作工具，使用前进行灭菌处理。(　)

(6)用平板划线法对纤维素分解菌进行计数时，应选菌落数为30～300的平板计数。(　)

(7)利用血细胞计数板可以直接统计待测菌液中的活菌数目。(　)

任务活动

提素养

任务一　选择培养基

【情境】现有一种培养基，成分和含量如下表。

KH_2PO_4	$MgSO_4\cdot 7H_2O$	NaCl	$CaCO_3$	甘露醇($C_6H_4O_6$)	$CaSO_4\cdot 2H_2O$	琼脂	蒸馏水
0.2 g	0.2 g	0.2 g	5 g	10 g	0.1 g	15 g	定容至1000 mL

(1)从功能角度分析，该培养基均属于_____培养基。

(2)该培养基中作为碳源的物质是_____，利用该培养基能分离出_____微生物，原因是

_____

_____

_____。

(3)在配制培养基时需要添加KH_2PO_4等，其作用是为微生物生长提供_____，还能维持培养过程中_____。

归纳拓展

1. 选择培养基的类型

(1)利用营养缺陷型选择培养基进行的选择培养：通过控制培养基的营养成分，使营养缺陷型微生物不能正常生长。

(2)利用化学物质进行的选择培养：在完全培养基中加入某些化学物质，利用加入的化学物质抑制某些微生物的生长来选择所需的微生物。

(3)利用特定的碳源或氮源：通过对培养基设定唯一的碳源或氮源来培养能利用该底物的特定微生物。

(4)利用培养条件进行的选择培养：改变微生物的培养条件(如高温、pH等)，筛选特定微生物。

2. 几种常用的选择培养基

选择培养基	培养基中加入青霉素——分离得到酵母菌和霉菌等真菌
	培养基中加入高浓度的食盐——分离得到金黄色葡萄球菌
	以尿素作为唯一氮源的培养基——分离得到尿素分解菌
	不添加氮源的培养基——分离得到固氮微生物
	石油是唯一碳源时——分离得到能消除石油污染的微生物
	培养基放在高温环境中培养——得到耐高温的微生物
	不加含碳有机物的培养基——分离得到自养型微生物

反馈评价

例 1 [2026·四川德阳高二联考] 在微生物学中，将允许特定种类微生物生长，同时抑制或阻止其他种类微生物生长的培养基，称为选择培养基。下列关于选择培养基应用的叙述，错误的是 ( )

A. 以无氮源的培养基筛选出固氮微生物

B. 以添加青霉素的培养基筛选出真菌

C. 以无有机碳源的培养基筛选出自养微生物

D. 给液体培养基通入氧气以促进破伤风杆菌的生长

例 2 [2024·海南卷] 某小组为检测 1 株粗糙脉孢霉突变株的氨基酸缺陷类型，在相同培养温度和时间的条件下进行实验，结果见表。下列有关叙述错误的是 ( )

组别	培养条件	实验结果
①	基础培养基	无法生长
②	基础培养基＋甲、乙、丙 3 种氨基酸	正常生长
③	基础培养基＋甲、乙 2 种氨基酸	无法生长
④	基础培养基＋甲、丙 2 种氨基酸	正常生长
⑤	基础培养基＋乙、丙 2 种氨基酸	正常生长

A. 组别①是②③④⑤的对照组

B. 培养温度和时间属于无关变量

C. ①②结果表明，甲、乙、丙 3 种氨基酸中有该突变株正常生长所必需的氨基酸

D. ①～⑤结果表明，该突变株为氨基酸甲缺陷型

任务二　微生物的选择培养与数量测定

【资料】 阅读教材第 17 页“稀释涂布平板法操作示意图”。

(1)请补充相关内容

取样：铲取土样，将样品装入_____中

↓

等比稀释：①将 10 g 土样加入盛有_____mL 无菌水的锥形瓶中，充分摇匀；②取 1 mL 上清液加入盛有_____mL 无菌水的试管中；③依次等比稀释

↓

滴加菌液：取 0.1 mL 菌液，滴加到培养基表面

↓

涂布器灭菌：①将涂布器浸在盛有_____的烧杯中；②将涂布器放在火焰上灼烧，待酒精燃尽、涂布器_____后，再进行涂布

↓

涂布平板：用_____将菌液均匀地涂布在培养基表面。涂布时，可转动_____，使涂布均匀

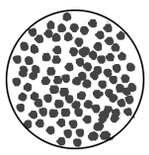
(2)要想得到某种特定细菌的纯培养物，上述过程使用的培养基，从功能角度看，为_____。

(3)铲取土样过程所用的铲子和纸袋要进行____处理。

(4)样品的等比稀释过程中，_____(填“需要”或“不需要”)更换移液管。要等涂布器冷却后才能进行涂布操作，原因是_____。

归纳拓展

1. 平板划线法与稀释涂布平板法的比较

比较项目	平板划线法	稀释涂布平板法
图示		
接种工具	接种环	涂布器
关键操作	接种环在固体平板培养基表面连续划线	①一系列的梯度稀释 ②涂布平板法操作
注意事项	每次划线前后均需灼烧接种环	稀释度要足够高，为确保实验成功可以增加稀释度的范围
菌体获取	在具有显著的菌落特征的区域中挑取菌体	从适宜稀释度的平板上的菌落中挑取菌体
优点	可以根据菌落的特点获得某种微生物的单菌落	既可以获得单菌落，又能对微生物计数
缺点	不能对微生物计数	操作复杂，需要涂布多个平板
共同点	都能将微生物分散到固体培养基表面，以获得单菌落，达到分离纯化微生物的目的，也可用于观察菌落特征	

2. 两种计数方法的比较

比较项目	稀释涂布平板法	显微镜直接计数法
原理	当样品的稀释度足够高时，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	利用特定细菌计数板或血细胞计数板，在显微镜下观察、计数，然后再计算一定体积的样品中微生物的数量
公式	每克样品中的菌株数：$(C\div V)\times M$ C：某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	每毫升原液所含菌体数：每小格平均菌体数$\times 400\times 10\ 000\times$稀释倍数（注：计数室的容积为0.1 mm^3）
计数依据	培养基上的菌落	菌体本身
缺点	当两个或多个细胞连在一起时，平板上观察到的只是一个菌落	不能区分活菌与死菌
结果	比实际值偏小	比实际值偏大

反馈评价

例3 [2026·山东临沂高二期末] 科研人员通过稀释涂布平板法筛选出高耐受且降解金霉素能力强的菌株，旨在解决金霉素过量使用所导致的环境污染问题。下列说法错误的是（ ）

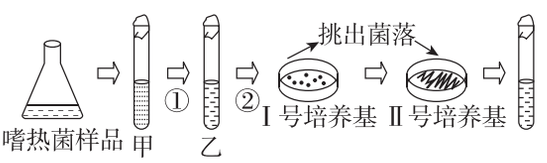
A. 以金霉素为唯一碳源制备选择培养基

B. 接种时，用涂布器蘸取菌液并均匀地涂布在培养基表面

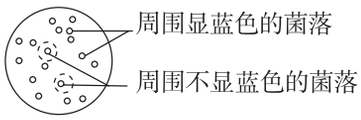
C. 实验中需增加一个未接种的平板作为对照

D. 逐步提高培养基中金霉素的浓度有助于获得高耐受的菌株

例4 高温淀粉酶在大规模工业生产中有很强的实用性。研究者从热泉中筛选高效产生高温淀粉酶的嗜热菌，其筛选过程如图a所示。将得到的菌悬液转接于同时含有葡萄糖和淀粉作碳源的固体培养基上培养，得到若干菌落后用碘液作显色处理，看到如图b所示情况。下列选项错误的是（ ）



a



b

A. 过程①②合称为稀释涂布平板法

B. 甲、乙试管中的液体均为选择培养基

C. Ⅱ号培养基上的接种方法为平板划线法

D. 图 b 中周围不显蓝色的菌落含有所需菌种

任务三　探究·实践——土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

1. 原理：绝大多数微生物都能利用葡萄糖，但是只有能合成_____的微生物才能分解尿素。利用以_____作为唯一氮源的选择培养基，可以从土壤中分离出分解尿素的细菌。

2. 方法步骤

(1)土壤取样：富含有机质的土壤层。

↓

(2)样品的稀释：通常选用一定稀释范围的样品液进行培养，以保证获得菌落数为 30～300、适于计数的平板。

↓

(3)微生物的培养：细菌一般在 30～37 ℃的温度下培养1～2 d。

↓

(4)观察：根据菌落的特征区分微生物，每隔 24 h 统计一次菌落数目，选取菌落数目稳定时的记录作为结果。

[分析] 将表格内容补充完整

样品的稀释与涂布平板过程中的实验设计

组别	具体组别	具体操作	作用
实验组	实验组 1	涂布接种的选择培养基	三次重复排除偶然因素对实验结果的影响，用以分离并计数能分解尿素的细菌
	实验组 2	涂布接种的选择培养基	
	实验组 3	涂布接种的选择培养基	

（续表）

组别	具体组别	具体操作	作用
对照组	对照组 1	涂布接种的牛肉膏蛋白胨培养基	对照组 1 与实验组 1、2、3 对比用以验证 _____ _____
	对照组 2	不涂布接种的选择培养基	对照组 2 与实验组 1、2、3 对比用以验证 _____ _____
	对照组 3	不涂布接种的牛肉膏蛋白胨培养基	对照组 3 与对照组 1 对比用以验证牛肉膏蛋白胨培养基中是否含有杂菌
实验结果	实验组 1、2、3 分离得到尿素分解菌的_____； 对照组 1 得到_____； 对照组 2、3 正常情况下_____		

①实验中所用接种方法是_____。

②实验中能以菌落数表示活菌数的原因是_____

_____。

③某同学将 1 mL 土壤样液稀释 100 倍，在 3 个平板上用稀释涂布平板法分别接入 0.1 mL 稀释液，经适当培养后，3 个平板上的菌落数分别为 56、57 和 58，则土壤样液中活菌数大约为_____个/L。

[注意] 常见的分解尿素的微生物：部分芽孢杆菌、尿素小球菌等细菌，某些真菌和放线菌也能分解尿素。

3. 进一步探究

【资料】 酚红指示剂是一种常用的酸碱指示剂，在 pH 为 6.8～8.4 时显示橙色，pH 低于 6.8 呈现黄色，pH 高于 8.4 呈现红色。分解尿素的细菌能产生脲酶，脲酶将尿素分解成氨，培养基 pH 升高，可使酚红指示剂变红。

(1)实验中在以尿素为唯一氮源的选择培养基上生长的菌落_____(填“是”“不是”或“不一定是”)分解尿素的细菌，原因是_____