

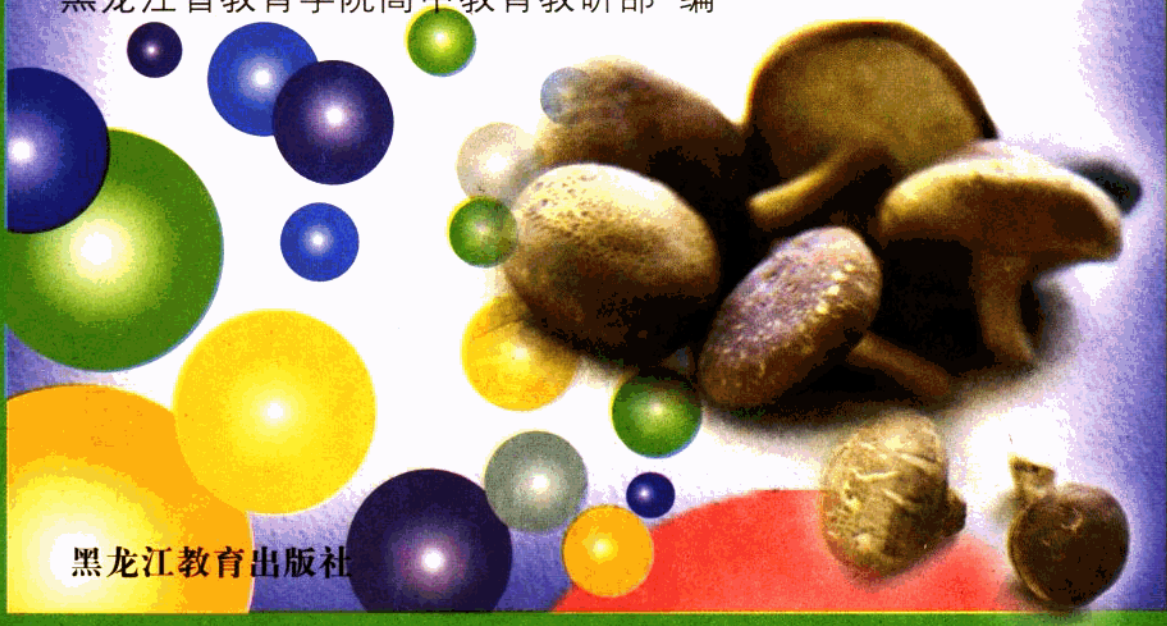


高中生物 实验

全一册
(高中三年级用)

导学

黑龙江省教育学院高中教育教研部 编



黑龙江教育出版社

高中生物实验导学

全 一 册

(高中三年级用)

黑龙江省教育学院中教部 编

黑龙江教育出版社

2006 年·哈尔滨

高中生物实验导学

全一册

(高中三年级用)

黑龙江省教育学院中教部 编

责任编辑:张佳莉

封面设计:陈冬妮 傅 旭

责任校对:尹 燕

黑龙江教育出版社出版(哈尔滨市南岗区花园街158号)

哈尔滨市庆大印刷厂印刷·黑龙江省新华书店发行

开本 787×1 092 1/16·印张 2·字数 40 千

2002 年 8 月第 1 版·2006 年 8 月第 5 次印刷

印数:47 115~50 358

ISBN 7-5316-3809-6



9 787531 638094 >

ISBN 7-5316-3809-6/G·2902 定价:1.20 元

批准文号:黑价联字[2006]32 号 举报电话:12358

如发现印、装质量问题,影响阅读,请与印刷厂联系调换。

厂址:哈尔滨市南岗区文兴街 9 号 32 中院内

电话:53921700 邮编:150080

编 者 的 话

在深化教育改革、全面推进素质教育的形势下,普通高中课程改革试验正在我省进行。为配合这一试验,我们编写了这套高中理、化、生实验导学丛书,力求突出高中课改中加强理科实验、培养实践能力这一重点,为广大师生提供一些有益的帮助。

这套实验导学丛书,针对高中理科的各个学生实验,既有对实验操作技能的点拨,又有对实验原理及科学方法的阐述,还有富于启发性的实验报告和问题、知识的拓展,完全以与以往实验报告册不同的面目展现,是适应高中新课程、新教材试验的一次探索和尝试。

在内容上,丛书首先注重了实用性,保持与试验教材同步,涉及了教材中每一个学生实验。从实验的预习和准备,到实验的原理及具体操作,都进行了点拨和阐述;从实验的数据与处理,到实验报告的设计填写,都留给学生一定的空间;从实验的总结与回顾,到实验的扩展与迁移,又都具有思考和启迪的余地。因此,丛书便于学生使用和自学。这其中,指导性和启发性又在书中有较好的体现。一方面,对于实验中的重点、难点问题,均有所侧重地予以阐明;另一方面,又设置了一些富于启发性、具有开放色彩的问题,使学生在操作和思维两方面去设计、想像和创新。这将有利于培养高中学生的相关能力。

在体例编排上,各学科均设置了相应的栏目,摒弃单一、机械、呆板的形式,力求多样、灵活。还试设了拓展高中学生知识面,介绍发明、制作、科普类的栏目,使丛书具有一定的可读性。

由于丛书编写比较仓促,又是一次大胆尝试,恳请广大师生提出批评、建议,以便修订时及时改正。

本册书主编为郭玉华,参加本书编写刘石、孙平、高英芬。

编 者

2002年3月30日

目 录

实验一 温度对酶活性的影响.....	(1)
实验二 自生固氮菌的分离.....	(4)
实验三 学习细菌培养的基本技术	(10)
练习一 学习植物组织培养技术(选做)	(16)
参考答案	(23)

实验一 温度对酶活性的影响

【实验原理】

淀粉遇碘后,形成蓝紫色的复合物。淀粉酶可以使淀粉逐步水解成麦芽糖和葡萄糖。麦芽糖和葡萄糖遇碘后,不形成蓝紫色的复合物。(麦芽糖和葡萄糖能够与斐林试剂发生氧化还原反应,生成砖红色的氧化亚铜沉淀。)

【目的要求】

1. 初步学会探索影响酶活性条件的方法。
2. 探索淀粉酶在不同温度下催化淀粉水解的情况。

【材料用具】

质量分数为 2% 的新鲜淀粉酶溶液。

试管、量筒、小烧杯、大烧杯、滴管、试管夹、酒精灯、石棉网、三角架、温度计、火柴。

质量分数为 3% 的可溶性淀粉。

【实验建议】

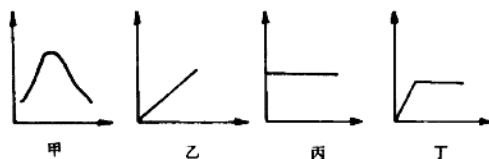
1. 可用水浴锅来提供 60℃ 的热水环境。
2. 淀粉酶可购买发酵酒用的 α 淀粉酶。(糖化酶)

【方法步骤】

步 骤	说 明	讨 论						
1. 取 3 支洁净的试管,编上号,并且分别注入 2mL 可溶性淀粉溶液。 2. 将 3 支试管分别放入 60℃ 左右的热水、沸水和冰块中维持各自的温度 5min。 3. 在 3 支试管中各注入 1mL 新鲜的淀粉酶溶液,摇匀后,维持各自的温度 5min。 4. 在 3 支试管中各滴入 1 滴碘液,然后摇匀。 5. 观察。 6. 结论。	试管规格应该一样。 也可在试管中插入温度计,观察温度变化。 一定要后放淀粉酶。 <table border="1"><thead><tr><th>温度变化</th><th>颜色</th></tr></thead><tbody><tr><td>60℃ 的热水中的试管</td><td rowspan="3"></td></tr><tr><td>沸水中的试管</td></tr><tr><td>冰块中的试管</td></tr></tbody></table>	温度变化	颜色	60℃ 的热水中的试管		沸水中的试管	冰块中的试管	为什么热水中要维持 5min? 如果先放淀粉酶,后放入不同的温度环境中,会出现什么后果?
温度变化	颜色							
60℃ 的热水中的试管								
沸水中的试管								
冰块中的试管								

【巩固练习】

1. 室温条件下,苹果用刀切开后放置一会儿切面变色(棕褐),而苹果罐头打开后不变色。错误的解释是 ()
 A. 苹果遇铁变色
 B. 苹果发生氧化反应
 C. 苹果发生酶促反应
 D. 苹果罐头加热后酶变性失活
2. 为使加酶洗衣粉的去污渍效果更好,处理方法应该是 ()
 A. 先用冷水浸泡,再在温水中搓洗
 B. 先用开水浸泡,再在温水中搓洗
 C. 先用温水浸泡,再在温水中搓洗
 D. 先用温水浸泡,再在冷水中搓洗
3. 在 10°C (X)、 40°C (Y)、 80°C (Z) 条件下,淀粉酶的活性大小是 ()
 A. $X > Y > Z$ B. $Z > Y > X$ C. $X > Z > Y$ D. $Y > X > Z$
4. 下列关于酶的叙述不恰当的一项是 ()
 A. 不应将加酶洗衣粉溶于沸水中使用
 B. 所有消化酶只有在消化道中才能起作用
 C. 麦芽糖酶水解后产生许多氨基酸分子
 D. 淀粉酶可高效地促进淀粉分解为麦芽糖
5. 某学生为了验证唾液的功能,做了如下一组实验:取甲、乙两试管,分别加入 2ml 淀粉糊,甲试管内又加入了 2ml 唾液,两试管同时在 37°C 的温水中保温 10min 后取出,各加入 0.5ml 碘液,发现只有乙管内呈蓝色反应。此学生的实验步骤中有一个错误,请你指出 ()
 A. 乙试管应置于低温或是室温条件下 B. 乙试管应加胃液
 C. 试管应加与唾液等量的清水 D. 乙试管应加 2ml 淀粉溶液
6. 下列各图中,横轴表示酶的反应温度,纵轴表示酶的反应速率。能正确反映温度与酶反应速率关系的是 ()

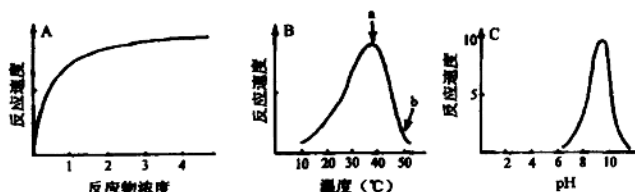


- A. 甲 B. 乙 C. 丙 D. 丁
7. 若白天光照充足,下列哪种条件对作物增产有利 ()
 A. 昼夜恒温 25°C B. 白天温度 25°C , 夜间温度 15°C
 C. 昼夜恒温 15°C D. 白天温度 30°C , 夜间温度 15°C
8. 在温室中栽培作物,如遇持续的阴雨天气,为了保证作物的产量,对温度的控制应当 ()

A. 降低温室温度,保持昼夜温差 B. 提高温室温度,保持昼夜温差

C. 提高温室温度,昼夜恒温 D. 降低温室温度,昼夜恒温

9. 下列图 A、B、C 三图依次表示酶浓度一定时反应速度和反应物浓度、温度、pH 值的关系。请据图回答下列问题:



- (1) 图 A 中, 反应物达到某一浓度时, 反应速度不再上升, 其原因是_____。

- (2) 图 B 中, a 点所对应的温度称_____。

- (3) 图 B 中, a 点到 b 点曲线急剧下降, 其原因_____。

- (4) 将装有酶与反应物的甲、乙两试管分别放入 12°C 和 75°C 水浴锅中, 20 分钟后取出转入 37°C 的水浴锅中保温, 两试管内反应分别应为:

甲_____; 乙_____。

- (5) 图 C 表示了_____催化反应的速率变化曲线。

A. 唾液淀粉酶 B. 胃蛋白酶 C. 胰蛋白酶 D. 植物蛋白酶

10. 新采摘的玉米果穗具有甜味, 但放一段时间后甜味便降低; 如果采摘后放在沸水中浸泡一段时间后在保存, 甜味能保留较长时间。

请回答:

- (1) 放一段时间后甜味降低的原因是_____。

- (2) 沸水浸泡一段时间后再保存, 甜味可保留较长时间的原因是_____。

- (3) 通过上述实验, 可证明_____。

实验二 自生固氮菌的分离

【实验原理】

土壤是微生物的大本营。尤其是农田表层土壤自生固氮菌的数量较多,可用表层土制成的稀泥浆接种到无氮培养基上进行培养。在这种环境中,只有自生固氮菌才能生长繁殖。用这种方法可以将自生固氮菌与其他细菌分离开来。

【目的要求】

1. 初步学会从土壤中分离自生固氮菌的方法。
2. 初步学会制作临时涂片的方法。

【材料用具】

农田的表层土壤(土壤溶液的 pH 值不低于 6.5)。

无菌研钵、无菌玻璃棒、接种环、天平、存放有载玻片的酒精缸、盖玻片、显微镜、酒精灯、火柴、镊子、恒温箱、量筒、玻璃铅笔。

灭过菌的、盛有无氮培养基的培养皿,结晶紫染液,无菌水。

【实验建议】

1. 无氮培养基可用改良的阿须贝培养基:

葡萄糖(蔗糖)	10g
磷酸氢二钾	0.2g
NaCl	0.2g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2g
K_2SO_4	0.2g
CaCO_3	5g

2. 如果无菌间或无菌箱不足以满足学生上课时使用,本实验也可以在普通实验室操作。注意关好窗户,以防止气体流动;并在实验室内用浇花的喷雾器喷洒新洁尔灭或来苏尔,进行降尘除菌。
3. 酒精灯最好放在金属托盘里,以避免学生操作时发生意外,碰倒酒精灯,或学生使用接种针时不小心刮到酒精灯蕊引起失火。
4. 实验时最好戴口罩,以防止感染细菌和避免操作者口腔内的细菌落入培养基中干扰实验。若不戴口罩进行实验,一定注意操作者不能讲话,以免讲话时气流带来的杂菌干扰实验。

5. 接种环可用普通电炉丝制作。用直径 3mm、长 20cm 铝或铜电线(去皮)做柄,将一端砸扁把电炉丝包扎上,另一端用塑料或白胶布缠绕上,防止烧接种针时烫手。

【方法步骤】

步 骤	说 明	讨 论
1. 接种 (1)接种前将灭过菌的、盛有无氮培养基的培养皿,放在 37℃ 的恒温箱中 24 ~ 48 小时。随后,选取培养基上没有生长任何微生物的培养皿备用。 (2)取 10g 土壤,放在无菌钵中,注入 5ml 无菌水,并用无菌玻璃棒搅拌均匀,备用。 (3)将接种环放在酒精灯火焰上烧灼,然后微启培养皿盖,将接种环放在培养基边缘处冷却(约 10 秒)。然后用接种环蘸取少许稀泥浆,轻轻地点接在培养基的表面上,共点接 15 ~ 20 处。 (4)接种后,轻轻地盖上培养皿盖,将培养皿放在实验桌上,并在盖上写明实验内容、接种人的姓名和接种日期。	检验培养基的灭菌是否彻底,以避免杂菌感染,培养基表面光洁无任何变化。 避免土壤以外的菌混入。 首先,将接种环横过来从头到尾地烧灼一遍,然后再将接种环斜着烧灼一遍。每次使用前都要按此方法操作。接种时手和衣袖不要碰到火焰,以免烧伤。 在培养皿盖上面用玻璃铅笔书写实验内容时,要尽量简写或缩写,减少其所占面积。	为什么培养温度要 37℃? 为什么培养时间不超过 48 小时? 为什么盛放培养基的培养皿应该是灭过菌的? 为什么土壤要定量? 左手单手操作时如何将培养皿盖微微开启? 接种环为什么要冷却? 接种后接种环必须及时 _____, 以免 _____ 工作台。
2. 培养 将接过种的培养皿放入恒温箱内,在 28℃ ~ 30℃ 的温度下培养三四天。	28℃ ~ 30℃ 是细菌的最适生长温度。	为什么温度低会影响细菌的生长速度? 培养皿正放还是倒置效果好?
3. 观察 三四天后,取出培养皿,仔细观察培养基上稀泥浆周围长出的培养物——黏液。	黏液初为无色透明,而后为乳白色,最后变成褐色,表明含有自生固氮菌。	菌落的颜色变化可能是由于 _____。

步 骤	说 明	讨 论
4. 镜检 (1)制作临时涂片 ①用镊子从存放载玻片的酒精缸中夹取一片载玻片,将载玻片放在酒精灯的上方缓缓烘烤,以便烘干上面的酒精。之后,将载玻片放在实验桌上,待载玻片冷却后在其中中央滴一滴无菌水。 ②在火焰旁,按照接种的要求用灭过菌的接种环从培养基上挑取少许黏液,将黏液涂在载玻片上的水滴中,加一滴结晶紫染液,混合均匀,染色 1min。 ③另取一片载玻片做推片。将推片自液滴左侧向右侧移动,使液滴均匀地附着在两片之间。然后,将推片自右向左平稳地推移,推出一层均匀的菌膜。 (2)干燥 让临时涂片自然干燥。 (3)在显微镜下观察 依次通过低倍镜和高倍镜观察临时涂片,可以看到染成紫色的自生固氮菌。	一定要用镊子进行操作,以防烧手。载玻片一定要清洁,向载玻片中间滴的水滴要小。 从培养基上挑取菌落黏液时,宜取少不宜多。使用过的接种环注意灭菌后再放在桌子上。 推片既要迅速、平稳、均匀,又要薄。推片时两片之间呈 $30^{\circ} \sim 40^{\circ}$ 夹角。 自生固氮菌的临时涂片不用加热固定,以免破坏荚膜。 仔细观察各种自生固氮菌的形态和大小,注意观察其中有没有圆褐固氮菌。	为什么要从酒精缸中取出载玻片并要进行烘烤? 接种环使用前后为什么要灭菌? 为什么要又均匀又要薄?如镜下光线很暗应调节_____和_____。 你知道有几种自生固氮菌?用什么办法分离开?
5. 观察结果	描述自生固氮菌。	请画出你所看到的菌形态特征。
6. 实验结束后,进行整理、洗手。	微生物实验前后都要洗手,有条件的最好用 75% 的酒精棉球擦手消毒。	为什么实验结束后要洗手?

【巩固练习】

- 在分离自生固氮菌中,下列说法正确的是 ()
 - 必须选择无氮的 $\text{pH} < 6.5$ 的培养基
 - 培养基中有氮无氮都可以
 - 必须选择无氮的、 $\text{pH} > 6.5$ 的培养基
 - 必须厌氧培养
- 观察自生固氮菌时需要制片,其操作顺序是 ()
 - 取材→推片→染色→干燥
 - 取材→染色→推片→干燥
 - 染色→取材→推片→干燥
 - 取材→染色→干燥→推片
- 下列说法中错误的是 ()

- A. 自生固氮菌代谢类型有好氧、厌氧、兼性厌氧
 B. 有 NH_3 存在时会抑制自生固氮菌固氮作用
 C. 不同生理类型的固氮菌中都含有固氮酶
 D. 微生物固氮不需要能量
4. 豆科植物与根瘤菌的互利共生关系主要体现在 ()
 A. 豆科植物从根瘤菌获得 NH_3 , 根瘤菌从豆科植物获得糖类
 B. 豆科植物从根瘤菌获得含氮有机物, 根瘤菌从豆科植物获得 NH_3
 C. 豆科植物从根瘤菌获得 N_2 , 根瘤菌从豆科植物获得有机物
 D. 豆科植物从根瘤菌获得 NO , 根瘤菌从豆科植物获得 NH_3
5. 你认为做自生固氮菌分离实验成功的关键步骤有哪些 ()
 ①选取偏碱性表层土壤制备泥浆 ②培养基必须经过严格高压灭菌
 ③点接、涂片均应无菌操作 ④涂片要强调薄、匀
 A. ①③ B. ②④ C. ①②③ D. ①②③④
6. 每次使用接种环前后, 均应在火焰上彻底烧灼, 但挑菌时必须待接种环_____后才可使用。整个过程保持在酒精灯的_____无菌区内, 以保证不被_____。
7. 制作临时涂片, 用推片推菌膜过程中, 推片与载玻片的夹角为_____, 推片自右向左_____的推移, 推出_____的膜。临时涂片要_____干燥。
8. 灭过菌的无氮培养基放在_____中 1~2d, 选取_____供接种用。
9. 分离自生固氮菌时要选用 pH 值偏_____农田_____, 是因为这种土壤含_____。

【实验参考】

1. 阿须贝培养基(无氮培养基)

葡萄糖 10g、 K_2HPO_4 0.2g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g、 NaCl 0.2g、 $\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1g、 CaCO_3 5g、琼脂 20g、 H_2O 1000ml、pH7.2。

2. 无氮培养基的培养皿(平板培养基)的制法

(1) 配制

将配方中成分依次加入 100mL 烧杯(或下口杯)中, 加热溶解, 补足水分。调 pH 值 7.2~7.4 分装在 250mL 三角瓶中, 注意培养基不能沾污瓶口, 以免浸湿棉塞, 引起污染; 分装量不要超过三分之二, 用纱布棉塞堵住瓶口, 外面包上牛皮纸, 以防止灭菌时冷凝沾湿和灭菌后的灰尘浸入。然后用线绳扎好, 挂上标签, 注明培养基的名称。高压灭菌后, 冷却, 放入冰箱中保存。

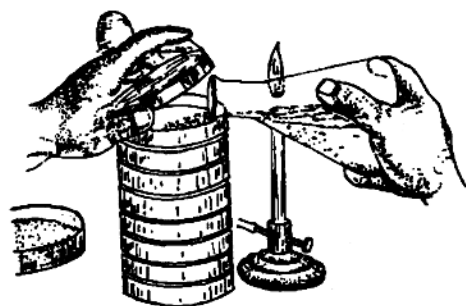
(2) 干热灭菌

将洗净的培养皿用报纸包好放在干燥箱中, 关门, 加热, 调恒温调节器, 自动控温在 160°C ~ 170°C , 2h。到时间后, 中断电源, 待温度降到 70°C 以下, 可以打开箱门取出物品。在这以前切勿打开箱门, 否则容易使玻璃突然遇冷破损。干热灭菌时, 工作人员不能离开, 应时常观察, 注意防火。

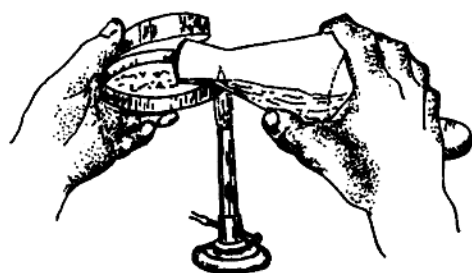
(3) 倒平板

将已灭菌的盛有无氮培养基的三角瓶放在水浴锅(或蒸锅)中加热熔化, 待冷却至

45℃左右(手握不觉得烫为宜)后,在酒精灯附近将牛皮纸去掉,同时将灭菌后的培养皿的包装纸去掉,右手持三角瓶在酒精灯火焰旁去掉棉塞,左手拿起培养皿在火焰附近打开口,迅速注入培养基 15mL 左右,具体操作见图。加盖后平置于桌面上,待凝固后,即成平板培养基。放入 37℃ 温箱中培养 24 小时,观察无杂菌出现,便可以使用。



胆架法

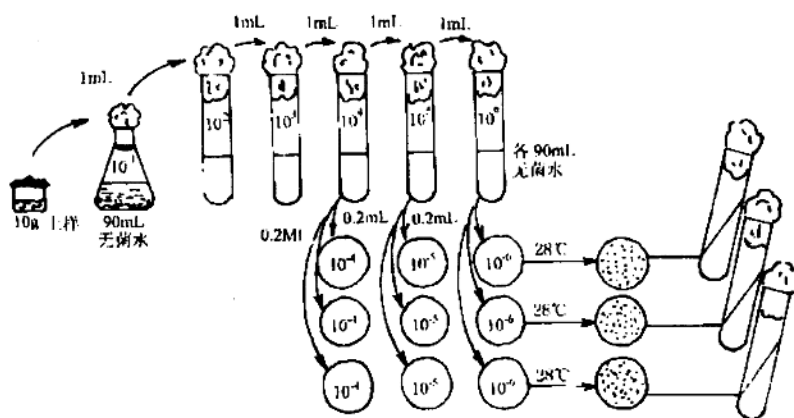


倒平板 手持法

4. 微生物的纯培养方法

(1) 平板稀释分离法

如果要将土壤溶液中的 n 种固氮菌分离,可称取土样 10g 放入盛有 90mL 无菌水的三角瓶中(瓶内带玻璃珠)振动约 20min,使土样与水充分混合,将菌分散。用一支 1mL 无菌吸管从中吸取 1 土壤悬液注入盛有 9mL 无菌水的试管中,吹吸三次。振荡均匀,然后再用一支无菌吸管从此试管中吸取 1 注入另一盛有 9mL 无菌水的试管中,以此类推制成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 各种稀释度的土壤溶液见图。



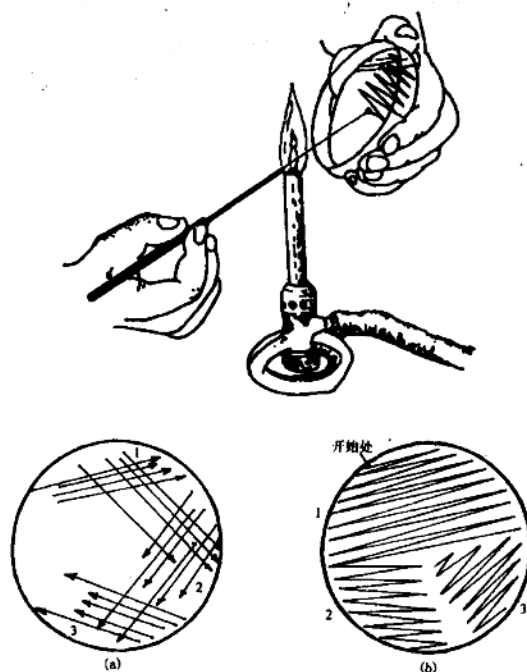
取灭菌后的三个盛有无氮培养基的培养皿,其盖上分别写着稀释度 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 。在无菌环境中,从不同稀释度的土壤稀释液中各吸取 0.2mL,对号放入写好稀释度的培养皿中。用三支玻璃棒分别在培养基表面轻轻涂均匀,然后将培养皿倒置在 28℃ 恒温箱内培养 3~5d。

培养基上长出单个菌落后,进行无菌操作。挑取单个菌落分别接种到灭菌的斜面培养基上,放入 28℃ 恒温箱中继续培养三四天。用显微镜检查生长出的单个纯菌落制作的涂片可观察到单一种类的固氮菌。

(2) 平板划线法

① 分区划线法 用灭菌后的接种环沾取待分离的菌悬液一环,在制备好的无氮平板培养基上以无菌操作在第一区平行划线三四条,再转动培养皿约 70°,并将接种环上剩余物质烧掉;待冷却后,通过第一区划线部分做第二区平行线,再用同样的办法通过第二区做第三区平行线。划第三区时注意接种环不要接触第一区的划线,也不要将培养基表面划破。

② 连续划线法 用接种环挑取样品菌液,在平板培养基上做连续划线。切完线后盖上皿盖,倒置于 28℃ ~ 30℃ 温度下的恒温箱中培养 3 ~ 4d。长成单个菌落后,转接至斜面培养,即获得纯菌种,见下图。



实验三 学习细菌培养的基本技术

【实验原理】

根据某种细菌的营养需要而选择多种原料配制而成的培养基,不仅含有这种细菌生长繁殖所需要的各种营养质,还要有适宜的 pH。本实验所用的牛肉膏蛋白胨培养基,应用较广泛,适于芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌等多种细菌培养。

配制好的培养基必须经过灭菌。灭菌是指杀死一定环境中所有微生物的细胞、芽孢和孢子。对不同的材料,应当采取不同的灭菌方法。培养基一般采用高压蒸气灭菌法。就是将待灭菌的培养基放入密闭的高压蒸气灭菌锅内,通过加热使锅内的水沸腾并产生水蒸气。当水蒸气将锅内的冷空气排尽以后,关闭排气阀并继续加热,这时锅内的压力就会升高,最终使菌体蛋白质凝固变性,从而达到灭菌的目的。接种环是用火焰烧灼灭菌的。

将某种细菌接种在彻底灭菌的培养基上,经过一段时间的培养后,就能够得到生长良好的细菌菌体,它们在培养基上会呈现出一定的形态特征。

【目的要求】

1. 通过对牛肉膏蛋白胨培养基的配制,了解配制培养基的一般步骤和方法。
2. 了解灭菌的基本原理以及实验室中常用的灭菌方法。
3. 初步学会细菌培养的基本技术。

【材料用具】

芽孢杆菌或金黄色葡萄球菌、牛肉膏、蛋白胨、琼脂。

天平、角匙、200mL 烧杯、试管、漏斗、量筒、玻璃棒、滴管、胶管、弹簧夹、铁架台、酒精灯、石棉网、三角架、火柴、纱布、棉花、牛皮纸、线绳、标签、接种环、精密 pH 试纸(或 pH 计)、金属小筐、高压蒸气灭菌锅、恒温箱。

NaCl、1mol/L 的 NaOH 溶液、体积分数为 75% 的酒精溶液、蒸馏水。

【实验建议】

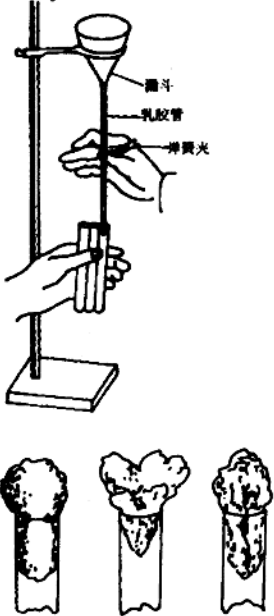
1. 200mL 烧杯最好换成 200mL 或 250mL 的搪瓷烧杯或不锈钢杯等金属杯。玻璃烧杯加热时,用玻璃棒搅拌极易破裂、损坏。用金属杯注意预先设置好 100mL 刻度。

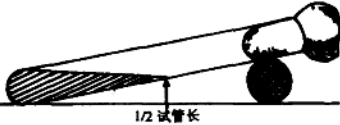
2. 包扎试管时可用皮筋套代替线绳捆试管和固定管口外面包上的牛皮纸。也可用废弃的自行车里胎剪取皮筋代替线绳。试管上可用玻璃铅笔标记号,注明培养基名称、配置日期和制作者姓名,也可在牛皮纸上做记号。试管不够用时,几个试管都可以捆成一捆。

3. 酒精灯最好放在金属盘里使用,防止意外碰倒而失火。

4. 操作时不能说话,防止气流带来杂菌。

【方法步骤】

步 骤	说 明	讨 论
1. 培养基的配制 (1)称量 用天平称取 0.5g 牛肉膏、1g 蛋白胨、0.5gNaCl、2g 琼脂。将称好的牛肉膏、蛋白胨和 NaCl 放入烧杯。 (2)溶化 向上述烧杯中加入蒸馏水 100mL,用玻璃棒搅匀后,放到酒精灯上加热。当牛肉膏和蛋白胨溶化后,加入琼脂,并继续用微火加热。在琼脂溶化的过程中,要控制火力的大小,并且不断搅拌,以免培养基溢出或烧焦。待琼脂完全溶化后,补加蒸馏水至 100mL。 (3)调 pH 用滴管逐滴滴入 1mol/L 的 NaOH 溶液,边滴边搅拌,并随时用 pH 试纸测 pH,直到 pH 为 7.4~7.6 为止。 (4)培养基的分装 按右上图所示,将培养基趁热分装到洁净的试管中,培养基的高度约为试管高度的 1/5。注意:分装时不要将培养基沾在管口和试管的上段,以免引起污染。 (5)加棉塞 培养基分装完毕以后,在管口上加一个棉塞。棉塞能防止杂菌污染,保证通气良好。加棉塞时,应使棉塞长度的 2/3 在试管口内,如右图所示。 (6)包扎 每 10 支试管用线绳捆成一捆,并且在管口外面包上一层牛皮纸,然后用线绳扎好。在每捆试管外挂上标签,注明培养基名称、配制日期和制作者姓名。	用塑料薄膜涂牛肉膏方法称量牛肉膏。 一定要先将牛肉膏蛋白胨搅拌均匀,后加热。加入琼脂后不断搅拌防止糊底。 搅拌时动作要轻,防止打破烧杯。 要防止 pH 调得过高。  正确 不正确 包牛皮纸可以防止水蒸气落在棉塞上,避免棉塞受潮,感染杂菌。	为什么要加牛肉膏和蛋白胨? 琼脂的作用是什么? 为什么要调 pH? 有没有别的灌装办法? 棉塞的棉花能不能选用脱脂棉? 可以用橡皮筋代替线绳吗?

步 骤	说 明	讨 论
2. 灭菌 (1) 打开高压蒸气灭菌锅, 将里面的灭菌桶取出, 向锅内加水(最好用开水), 水面与底架平齐为宜。 (2) 将扎好的试管管口向上竖放在灭菌桶内, 将灭菌桶放回灭菌锅。 (3) 加盖, 并将排气软管插入灭菌桶的排气槽内。以两两对称的方式, 同时旋紧相对的两个紧固螺栓, 以防漏气。 (4) 排出锅内的冷空气。接通电源, 当压力上升到 49kPa 时, 打开排气阀放气, 当压力降到 0 时, 关闭排气阀。重复上述放气过程一次, 以彻底排除锅内的冷气。 (5) 当锅内的压力上升到 98kPa 时, 控制火力大小, 使压力维持在 98kPa 左右 20min, 切断电源。 (6) 当压力降至 0 以后, 打开排气阀, 10min 以后, 旋松紧固螺栓, 取出试管。最后, 将灭菌锅里的水排除放干净。 3. 搁置斜面 当培养基冷却至 50℃ 左右时, 将试管带棉塞的一端搁在一根木棒上。搁置的长度要合适, 使培养基形成的斜面的长度不要超过试管总长度的一半。 4. 接种 (1) 用肥皂将双手洗净、擦干, 再用酒精(体积分数为 75%)棉球擦拭双手。 (2) 当手上的酒精挥发完毕后点燃酒精灯。 (3) 接种, 操作程序如下:	水加少了, 易干锅; 水加多了, 产生震动。 注意: 灭菌桶内的物品不能放得太挤, 否则会影响灭菌效果。 戴棉手套操作, 将排气阀立直排气。 不能开通气阀, 否则容易使培养基污染棉塞。 木棒可用玻璃棒或铁棒代替。  搁置斜面 一定要等手上的酒精挥发完毕后, 再点燃酒精灯; 否则, 容易将手烧伤。	加开水能_____。 为什么物品放得太挤会影响灭菌效果? 灭菌时间太长会破坏培养基的营养成分吗? 压力不到 0 开盖容易_____。 摆放试管时用不用戴手套? 低于 50℃ 摆放培养基可以吗? 为什么要用 75% 的酒精棉球, 而不用 95% 的酒精?