

经陕西省中小学教材审定委员会2008年审查通过（试用）

普 通 高 中

ShengWu **生物**

实验操作与评价



主编 芦竹艳

选修模块

（全一册）

陕西师范大学出版社

经陕西省中小学教材审定委员会2008年审查通过（试用）

普通高中

生物实验操作与评价

选修模块

（全一册）

陕西省教育厅教育技术装备管理中心监制

- 丛书顾问：廖伯琴 王磊 王较过 张迎春
- 主 编：芦竹艳
- 副 主 编：马振亚 周引媚
- 编 者：张 瑜 李红建 纪顺平 陈 延
- 摄 影：筑巢影像

陕西师范大学出版社

图书代号:JC8N0667

普通高中生物实验操作与评价(选修模块)

芦竹艳 主编

责任编辑 陈 延

责任校对 纪顺平

装帧设计 筑巢影像

出版发行 陕西师范大学出版社

社 址 西安市陕西师大 120 信箱(邮政编码:710062)

网 址 <http://www.snupg.com>

经 销 各地新华书店

印 刷 陕西利达印务有限责任公司

开 本 850mm×1168mm 1/16

印 张 7.5

字 数 150 千

版 次 2008 年 7 月第 1 版

印 次 2008 年 7 月第 1 次

书 号 ISBN 978-7-5613-4308-1

定 价 10.00 元

读者购书、书店添货或发现印刷装订问题,请与本社读者服务部联系、调换。

电 话:(029)88218368 88270127(传真)



前言

Foreword

《陕西省普通高中学生学业水平考试实施意见(试行)》将生物实验操作考试列入普通高中学生学业水平考试的范围,作为鉴定学生生物学科学习质量是否达到课程标准要求的重要手段。为了帮助同学们适应普通高中课程改革带来的这一变化,通过以实验为主的多种探究活动,体验科学研究的过程,激发学习的兴趣,强化科学探究的意识,促进学习方式的转变,培养创新精神和实践能力,我们组织国内著名学科专家、实验操作考试命题组核心专家和一线优秀教师,依据《普通高中生物课程标准(实验)》的要求,编写了《普通高中生物实验操作与评价》地方教材,经陕西省中小学教材审定委员会审查通过,专供2007年秋季、2008年秋季入学的普通高中学生使用。

本地方教材适合各版本课程教材教学需要,强调“以实验操作为基础学习生物科学知识,以实验操作培养学生的科学素养”的教学理念,注重强化实验教学目标、实验操作过程和实验操作评价三者之间的关联。

本书在精选的每个实验操作实例中,都设立了“实验目的”“提出问题”“我的猜想”“方案设计”“实验操作”“我的结论”“思考与交流”“实验反思”“实验成绩评价”等栏目。目的是在训练学生掌握生物学最基本的操作技能的基础上,培养学生观察、思考、提出问题、分析问题、解决问题的能力,养成实事求是、严肃认

真的科学态度,逐步培养敢于创新的开拓精神。

编写适合课程改革需要的地方教材是一种探索,是一项凝聚教师集体劳动的工程。我们在编写本教材时,吸收了许多高中生物教学、教研教师的研究成果,在此表示衷心的感谢!

为帮助教师 and 同学们拓展课程资源,在本书出版的同时,我们开放了课程资源网站(zkoo.b88k.com),将更多有关实验操作的视频、图片、文本信息和教研动态免费提供给大家,并期望在大家的积极参与中,使网站成为面向全省、全国的教学、教研互动平台。

由于普通高中实验操作考试和本教材的编写尚处于探索试行阶段,书中难免存在疏漏之处,恳请各位老师和同学们批评指正,以臻完善。

编委会

2008年7月



目录

实验 ①	微生物的分离和培养	1
实验 ②	细菌的分离和计数	11
实验 ③	培养基对微生物的选择作用	21
实验 ④	酶的存在和简单的制作方法	30
实验 ⑤	酶活力测定的一般原理和方法	38
实验 ⑥	探究酶在洗涤方面的应用	46
实验 ⑦	生物材料中特定成分的提取	54
实验 ⑧	果酒及果醋的制取	64
实验 ⑨	泡菜的腌制和亚硝酸盐的测定	76
实验 ⑩	植物组织培养的一般方法	87
实验 ⑪	DNA 粗提取及鉴定	99
参考答案		109
附录		111



实验 ①

微生物的分离和培养

一、实验目的

- 1 阐明大肠杆菌的培养条件及操作原理。
- 2 尝试配制细菌培养基及倒平板。
- 3 在固体培养基上进行细菌的分离和培养。
- 4 辨认细菌菌落的特征。

二、提出问题

细菌属于原核生物,个体微小,一般用肉眼无法看到。由于细菌适应性强,水、土壤、空气等环境中,无处不有细菌的存在,即使在人体内也有细菌的“足迹”。自然界中各种微生物混杂生活在一起,即便取少量的样品也是许多微生物共存的群体。人们要研究某种微生物的特性,首先须使该微生物处于纯培养状态。大肠杆菌是我们日常生活中接触最多的细菌之一,如果能在人工配制的培养基上将大肠杆菌进行繁殖,那么就可达到分离细菌的目的。

我的问题:_____。

三、我的猜想

大肠杆菌分布广泛,取材容易。由于它是一种异养微生物,若用一定比例的营养物质配制成固体培养基,人工创设一种利于大肠杆菌生活的环境,那么它一定会在这种“肥沃的土壤”中“生根开花”,在培养基的表面形成肉眼可见的菌落,进而达到分离纯化的目的。

四、方案设计

1 实验原理:

单个细菌利用培养基中的各种营养物质,在适宜的条件下能繁殖生长形成菌落。

2 仪器与药品:

(1)请在以下表格中选择你要用的实验用具(√)。

显微镜		标签		三角架	
天平		恒温箱		火柴	
烧杯		铁架台		涂布器	
试管		漏斗		接种环	
漏斗		酒精灯		锥形瓶	
量筒		胶头滴管		弹簧夹	
玻璃棒		石棉网		纱布	
牛皮纸		药勺		棉花	
线绳		pH 试纸		灭菌锅	
移液管		试管架		放大镜	

(2)试剂:牛肉膏、蛋白胨、琼脂、NaCl、体积分数为 75% 的酒精溶液、蒸馏水、1 mol/L 的 NaOH 溶液、3% 的 HCl 溶液。

你认为该实验还需要的仪器与药品有:_____。

3 实验过程:

(1)配制培养基;(2)倒平板;(3)平板划线;(4)恒温箱培养。

五、实验操作



安全提示:

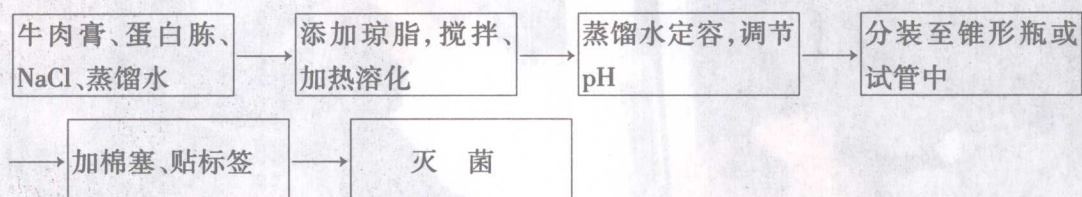
- (1)小心使用酒精灯,注意防火,防止烧伤。
- (2)小心使用电炉。
- (3)使用高压灭菌锅时,加压之前一定要把原先的空气排净。灭菌完成后要等压力表中读数为“0”后,先放气再打开锅盖,注意安全。
- (4)实验完毕,双手用肥皂洗净、擦干。



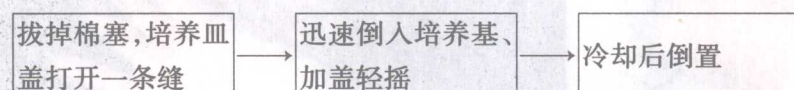
① 用所选择的材料用具进行操作和记录。

(1) 请参考以下步骤认真细致地操作。

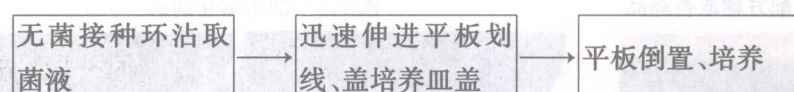
① 配制培养基



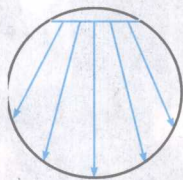
② 倒平板



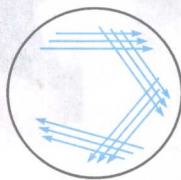
③ 平板划线



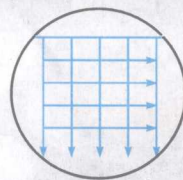
注: 常见的平板划线法有以下几种, 请参考。



扇形划线



连续划线



方格划线

(2) 观察平板上细菌的生长状况, 做好记录。

时间	温度	菌落数量	菌落大小

2 操作规范精选:

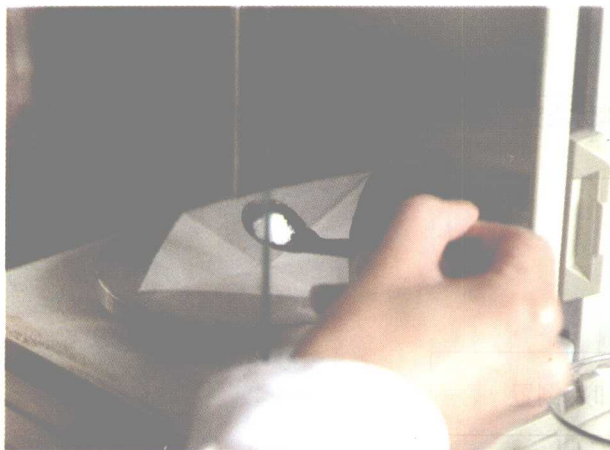


图 1.1 根据牛肉膏蛋白胨琼脂培养基的配方称取各药品



图 1.2 加水溶化药品



图 1.3 加热融化琼脂



图 1.4 调节 pH



图 1.5 分装、包扎培养基



图 1.6 培养基灭菌

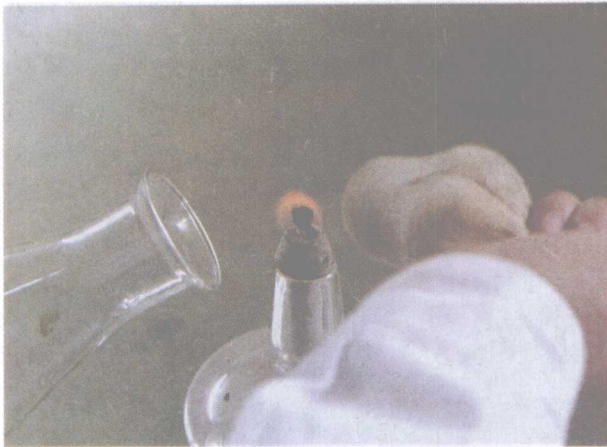


图 1.7 在酒精灯火焰旁拔出培养基的棉塞

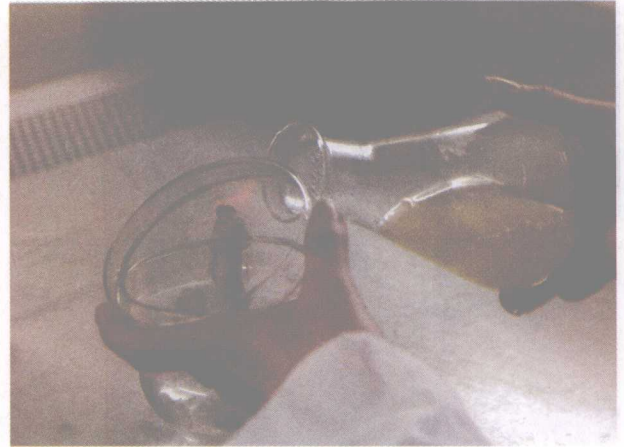


图 1.8 倒平板

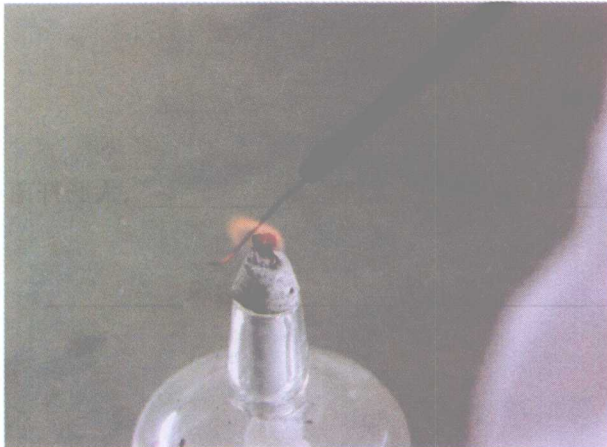


图 1.9 接种环消毒



图 1.10 沾取菌液



图 1.11 接种环伸入平板进行划线

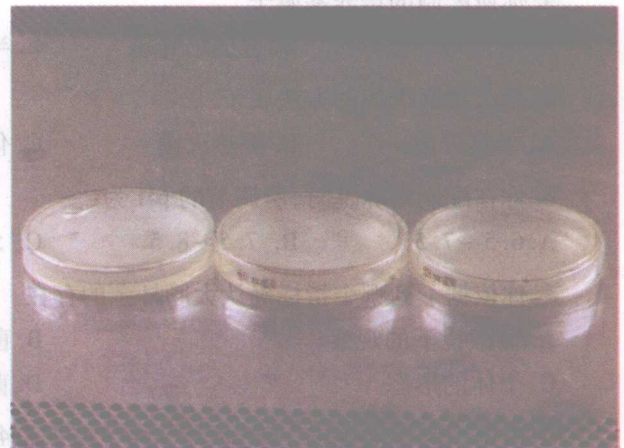


图 1.12 接种好的培养基倒置

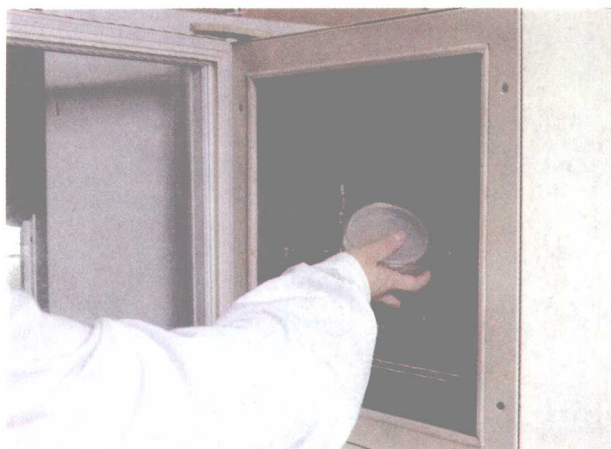


图 1.13 放入培养箱培养

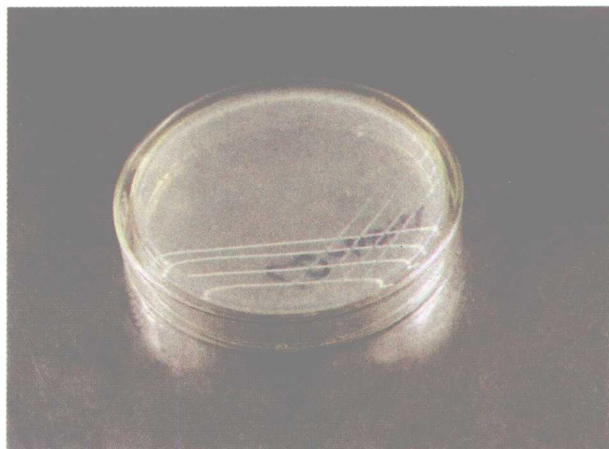


图 1.14 几天后结果观察

六、我的结论

- ① 在大肠杆菌的培养基中,务必提供碳源、_____源、生长因子、无机盐和 _____,大肠杆菌才能在此环境下繁殖形成菌落。
- ② 大肠杆菌在固体培养基上形成的菌落,其表面_____,形状为_____,边缘_____。

七、思考与交流

- ① 你所配制的培养基属于 ()
A. 天然培养基 B. 合成培养基 C. 半合成培养基 D. 化学培养基
- ② 用灭菌锅灭菌的方法属于 ()
A. 干热灭菌 B. 湿热灭菌 C. 化学灭菌 D. 物理灭菌
- ③ 你在配制培养基时,所调节的 pH 为 ()
A. 6.5~7.5 B. 7.5~8.5 C. 5.0~6.0 D. 4.0~5.0
- ④ 你依据下列哪个指标确认大肠杆菌的存在 ()
A. 显微镜下的观察 B. 菌落的特征
C. 个体的形态 D. 菌群的生长速度
- ⑤ 根据国家标准规定,生活饮用水中大肠菌群每 1L 中不超过 ()
A. 4 个 B. 3 个 C. 2 个 D. 1 个
- ⑥ 在观察平板上细菌的生长状况时,12 h 和 24 h 观察到的结果一样吗? 为什么?



⑦下表为牛肉膏、蛋白胨培养基的成分列表,据此回答:

成分	牛肉膏	蛋白胨	NaCl	H ₂ O
含量	0.5 g	1 g	0.5 g	100 mL

(1)蛋白胨在培养基中的作用是_____。

(2)要用此材料配制观察细菌菌落状况的培养基,还需添加的成分是_____。该培养基所培养细菌的同化作用方式属_____。

(3)若表中各成分含量过多,会导致细菌_____。

(4)培养基配制好后,分装前应进行的工作是_____。

(5)从配制培养基直到培养完成,所采用的预防杂菌感染的方法是(请列举三项):

(6)在培养基凝固前要搁置斜面,其目的是_____。



实验反思

①如果在你的平板上出现了其他微生物的菌落,你将如何进一步分离较为纯净的大肠杆菌?

②平板划线时,你用了哪种划线方法?平板划线的目的是什么?

3 平板划线时为什么不能划破培养基？

4 在本实验操作过程中,你觉得最困难的操作是什么？你是怎样“闯关”的？

5 食物久置后会变质,这是由于微生物滋生引起的。那么微生物的滋生与哪些因素有关呢？是温度？是水？……请你设计一个实验,尝试探究影响微生物滋生的原因。

九、实验成绩评价

项 目	等 级				自我 评价	小组 评价	教师 评价
	优	良	及格	不及格			
1. 实验原理及方法	对实验原理非常清楚,实验方法选择恰当	对实验原理清楚,实验方法选择基本可行	对实验原理较为清楚,实验方法选择有误	对实验原理不了解,实验方法不可行			



2. 材料和用具			合理选用仪器, 使用正确	较能合理选用仪器, 使用基本正确	不能独立、正确选用仪器, 使用有误	不能自主选用仪器, 使用错误严重
3. 操作过程	配制培养基	计算称量	准确无误	基本准确	有误, 经指点能改正	无计量概念, 随意取用
		熔化	不断搅动, 琼脂完全熔化成均匀态	搅动, 琼脂偶有粘底	偶尔搅动, 琼脂糊底有异味	琼脂糊底严重, 烧杯破裂
		灭菌	能严格按照要求灭菌, 操作熟练	注意灭菌, 操作较为熟练	有灭菌意识, 操作不熟练	不灭菌, 经指出仍不改正
		调节pH	使用方法合理、准确, 所调 pH 合适	调节方法基本准确, pH 较为合适	调节方法不当, 经指点后改正	无调节过程
	倒平板	方法正确, 动作熟练, 平板制作合格	方法基本准确, 动作较熟练, 平板制作合格	方法有误, 经指点能改正, 平板较合格	方法有误, 经指点仍无法正确操作, 平板不合格	
	平板划线	方法选用科学、合理, 操作规范, 划线清晰	方法选用合理, 操作较规范, 划线较清晰	方法选用不当, 经指点能规范操作, 划线较清晰	没有正确的划线方法, 经指点仍不改进	
	培养	能正确调节、使用恒温箱, 定时观察、调整	能正确使用恒温箱, 定时观察	不能正确调节、使用恒温箱, 经指点可按要求完成, 有观察	不能正确调节、使用恒温箱, 无观察	
4. 实验结果			认真仔细观察实验现象, 真实做好记录, 单一菌落清晰明显	认真观察实验现象, 按时记录, 单一菌落较为清晰可辨	记录不完整, 菌落分辨不清	无记录, 杂菌丛生, 实验结果看不到
教师综合评价						
最终评价及建议						

教师寄语: _____。

小资料:

关于培养基

培养基 (medium) 是人工配制的适合微生物生长繁殖或积累代谢产物的营养基质。用以培养、分离、鉴定、保存各种微生物或积累代谢产物。

各类微生物对营养的要求不尽相同,因而培养基的种类繁多。培养细菌常用牛肉膏蛋白胨培养基,培养放线菌常用高氏 I 号培养基,培养霉菌常用蔡氏培养基或马铃薯培养基,培养酵母菌常用麦芽汁培养基或马铃薯葡萄糖培养基。另外还有固体、液体、加富、选择、鉴别等培养基之分。在这些培养基中,就营养物质而言,一般不外乎碳源、氮源、无机盐、生长因子及水等几大类。琼脂只是固体培养基的支持物,一般不为微生物所利用。它在 96℃ 以上熔化成液体,而在 45℃ 左右开始凝固成固体。在配制培养基时,根据各类微生物的特点,就可以配制出适合不同种类微生物生长发育所需要的培养基。

培养基除了满足微生物所必需营养物质外,还要求有一定的酸碱度和渗透压。霉菌和酵母菌的 pH 偏酸;细菌、放线菌的 pH 为微碱性。所以每次配制培养基时,都要将培养基的 pH 调到一定的范围。

一、培养基的由来

当 19 世纪巴斯德和其他微生物学家开始研究微生物时,发现要把每种微生物分开,就必须让它们长在一种人们为它们准备好的物质上,这种人工专门为微生物准备的物质上除了微生物需要的养料外,还必须严格防止别的微生物进入。经过了几十年的时间,到 19 世纪末,微生物学家终于获得了比较满意的培养基,以法国微生物学家巴斯德和德国医生科赫为代表的许多微生物学家用无菌技术进行了大量工作,分离出许多种纯种的微生物。

二、培养基的基本成分

能源、碳源:自养微生物以二氧化碳为碳源,光或无机物为能源,在无机物组成的培养基中生长。例如化能自养型的氧化硫杆菌培养基中,加入粉末状硫为能源,以空气中的 CO_2 为碳源。异养微生物以有机物为碳源和能源,培养基中常需加入葡萄糖、蔗糖或麦芽糖、乳糖等单糖或双糖,有的可利用淀粉、纤维素等多糖,或利用动物组织中的糖类。例如培养细菌常用的牛肉膏蛋白胨培养基,其中牛肉膏即为主要碳源和能源。

氮源:自养微生物以含氮无机物铵盐、硝酸盐等为氮素营养,例如氧化硫杆菌以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源;异养微生物以无机物铵盐、硝酸盐或含氮有机物为氮源。自生固氮菌利用空气中的 N_2 为氮素营养,其培养基中无需加入氮源,称为无氮培养基。

矿质元素、生长因子:微生物生长繁殖需要 P、K、Na、S、Mg、Ca 等主要矿质元素以及 Fe、Cu 等微量元素,因此培养基中常加入 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 、NaCl、KCl、 FeSO_4 等无机盐类;生长因子主要是调节微生物代谢活动的 B 族维生素,常由酵母膏、肝浸出液等提供。许多天然成分的原料如牛肉膏、麦芽汁、玉米粉、豆芽汁等,含有各种无机元素和生长因子,不需另外添加。



实验 ②

细菌的分离和计数

一、实验目的

- 1 说明平板菌落计数的基本原理和方法。
- 2 测定每克土壤样品中能够分解尿素的细菌数量。

二、提出问题

土壤中富含微生物生活所需的各种营养物质,适合众多微生物的生长。不同的土壤环境微生物的种类和数量存在着明显的差异。人们可通过只提供目的微生物生长必需的条件,或加入某些抑制剂使非目的微生物不能生长,从而达到选择、分离微生物的目的。再通过特殊方法加以统计,则可估算出目的微生物在被测土壤中的数量。

我的问题:_____。

三、我的猜想

微生物的生长不仅需要大量的碳源,同时也需要提供氮源。而尿素不仅是一种重要的农业氮肥,也是某些土壤微生物的氮源,但只有含脲酶的细菌才能将尿素分解成氨,然后利用。

四、方案设计

1 实验原理:

通过选择培养基从土壤中分离出所需的菌种,然后再统计样品中活菌的数目。

统计活菌数目的方法很多,常用的平板菌落计数法是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(一般选择菌落数在 30 ~ 300 的平板),就能推测出样品中大约含有多少活菌。