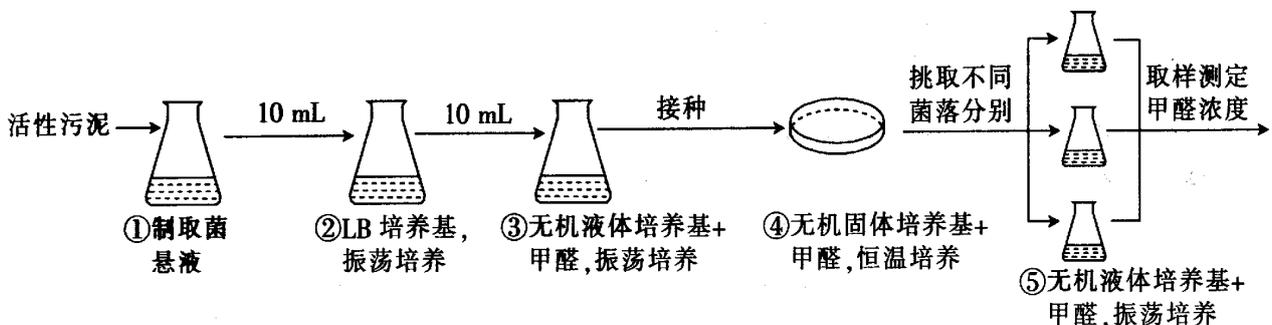


试题汇编——微生物分离、纯化、计数专题

2021. 04. 27

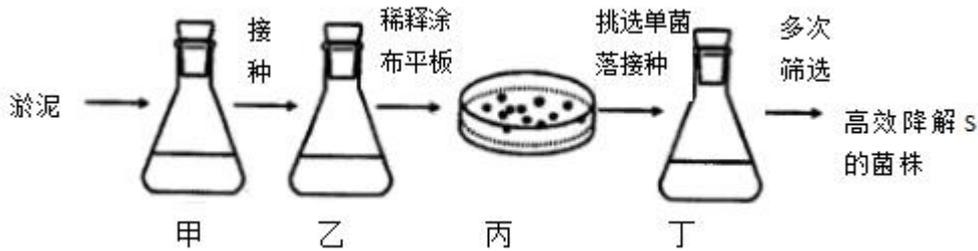
1. 培养基是微生物生长、分离、鉴别的营养基础，下列有关微生物培养及培养基的描述错误的是
A. 微生物培养基的配方中必须包含的成分有碳源、氮源、水、无机盐、生长因子及琼脂
B. 不论何种培养基，在各成分溶化后都要进行灭菌操作，灭菌常用的方法是高压蒸汽灭菌
C. 接种微生物常用的方法有平板划线法和稀释涂布平板法
D. 在以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂可以鉴定分解尿素的细菌
2. 培养基是微生物生长、分离、鉴别的营养基础，下列有关微生物培养及培养基的描述错误的是
A. 微生物培养基的配方中必须包含的成分有碳源、氮源、水、无机盐、生长因子及琼脂
B. 不论何种培养基，在各成分溶化后都要进行灭菌操作，灭菌常用的方法是高压蒸汽灭菌
C. 接种微生物常用的方法有平板划线法和稀释涂布平板法
D. 在以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂可以鉴定分解尿素的细菌
3. 下列有关使用高压蒸汽灭菌锅的操作，错误的是
A. 加水时，水面应与三角搁架平齐 B. 加盖时，将排气软管插入内层灭菌桶的排气槽内
C. 加热时，待冷空气完全排尽后关上排气阀
D. 切断电源后，打开排气阀使压力表降到零后开盖
4. 下列关于微生物培养和利用的叙述，正确的是
A. 配制尿素培养基过程中需使用高压蒸汽灭菌法灭菌
B. 分离转基因大肠杆菌时，须在培养基中添加青霉素以避免普通大肠杆菌的污染
C. 玻璃砂漏斗使用后需先用 1mol/LHCL 浸泡，再在 121°C 下用纸包好灭菌，干燥后保存
D. 欲将细菌培养物转移到新的培养基中，须使用接种环进行操作
5. 下列有关微生物培养与应用的说法正确的是
A. 分离分解尿素的细菌时，尿素是培养基中唯一的氮源和碳源
B. 大肠杆菌的纯化培养过程包括培养基的配制和纯化大肠杆菌两个阶段
C. 微生物在固体培养基上生长时可形成肉眼可见的单个细菌
D. 接种前需要对培养基、培养皿、接种环、实验操作者的双手等进行消毒处理
6. 下列关于稀释涂布平板法操作的叙述，错误的是
A. 将涂布器末端浸在盛有体积分数 70%酒精的烧杯中消毒
B. 涂布前取不超过 0.1 mL 的菌液，滴加到培养基表面
C. 将沾有少量酒精的涂布器在火焰上引燃，燃尽即可进行涂布
D. 用涂布器将菌液涂布在培养基表面时可转动培养皿使涂布均匀
7. 一定浓度的福尔马林（甲醛的水溶液）通过使蛋白质变性而起防腐作用。可从活性污泥中分离出高效分解甲醛的细菌，以处理废弃的福尔马林。下图是筛选和纯化甲醛分解菌的实验过程示意图，其中 LB 培养基能使菌种成倍扩增。下列相关叙述错误的是



- A. 筛选甲醛分解菌的培养基中要添加甲醛作为唯一的碳源
- B. ③→④接种的目的是通过单个菌落分离出甲醛分解菌
- C. 步骤⑤中，各个培养瓶中的甲醛溶液要有一定的浓度梯度

D. 测定并选出甲醛浓度最低的培养瓶后，筛选对应的菌株

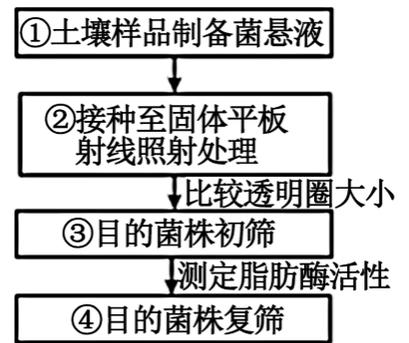
8. 土壤中有些细菌可以降解焦化厂淤泥中的污染物 S，下图是分离、纯化和筛选高效降解 S 的优质菌株的过程，下列叙述正确的是（ ）



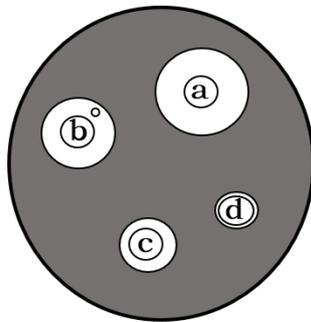
- A. 甲是土样经高温灭菌后用无菌水配置的土壤稀释液
- B. 丙是添加了琼脂的选择性培养基
- C. 在涂布平板上长出的菌落，可通过划线法进行计数
- D. 经多次稀释和筛选，形成的单菌落中所有细胞的遗传物质都相同

9. 产脂肪酶细菌可用于含油废水处理。科研人员用射线照射从土壤中分离的菌株，反复筛选后获得产酶能力提高的菌株，具体流程如图。相关叙述正确的是

- A. 步骤①取土壤样品灭菌后溶于无菌水中制成菌悬液
- B. 步骤②的固体平板可以是以脂肪为唯一碳源的培养基
- C. 步骤②射线照射可引起细菌基因突变或染色体变异
- D. 步骤③透明圈越大的菌落，其脂肪酶活性一定越高



10. 细菌性肺炎一般需要注射或口服抗生素进行治疗。当细菌出现耐药性时，疗效下降。金黄色葡萄球菌（SAU）是细菌性肺炎的病原体之一。A、B、C、D 四种抗生素均可治疗 SAU 引起的肺炎。为选出最佳疗效的抗生素，研究者分别将含等剂量抗生素 A、B、C、D 四张大小相同的滤纸片 a、b、c、d 置于 SAU 均匀分布的平板培养基上，在适宜条件下培养 48h，结果如图。下列相关叙述不正确的是



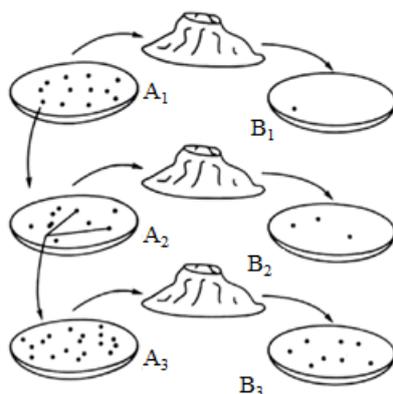
- A. 可选择牛肉膏蛋白胨培养基，对 SAU 菌种进行扩增培养
- B. 对实验使用的培养皿进行灭菌，可以采用干热灭菌的方法
- C. A、B、C、D 四种抗生素，抑菌效果最佳的是抗生素 D
- D. 滤纸片 b 周围透明圈中出现一菌落，可能是该菌落发生了基因突变

11. 下列关于微生物培养的叙述错误的是

- A. 为获得纯净培养物，倒平板前要对培养基进行高压蒸汽灭菌处理
- B. 接种方法可以选择平板划线、稀释涂布平板、穿刺接种等方法
- C. 从土壤中分离分解尿素的细菌时不需要进行对照实验
- D. 将菌液与甘油充分混匀置于 -20℃ 冷冻箱中可以长期保存优质菌种

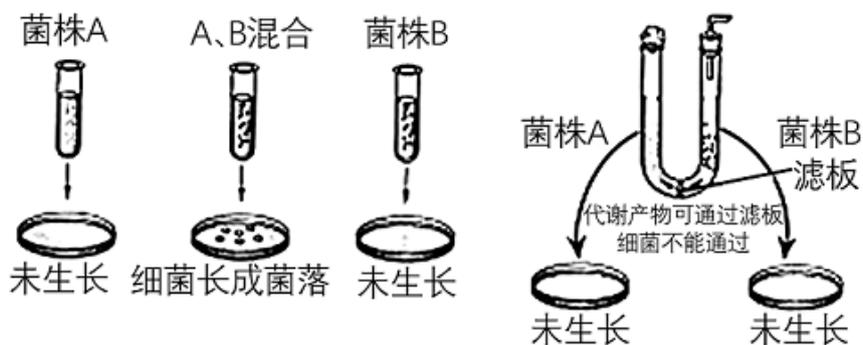
12. 某生物研究小组为探究大肠杆菌抗药性产生与使用抗生素的关系，采用了影印培养法进行了下列实验：
 ①取空白培养基若干，分别标记为 A₁、A₂、A₃、…… 取加入青霉素的空白培养基若干，分别标记为 B₁、B₂、……
 ②将待测大肠杆菌培养液接种在 A₁ 培养基表面，在适宜条件下培养一段时间，培养基的表面会出现一些菌落。
 ③用灭菌后的丝绒包上棉花在 A₁ 上轻轻盖一下，再在 B 上轻轻盖一下，将 A₁ 的菌落位置准确“复制”

到 B₁ 中。培养一段时间后，B₁ 中一定部位出现了少量菌落。④根据 B₁ 中菌落的位置，将 A₁ 中对应位置的菌落取出，均匀涂抹在 A₂ 的表面，培养一段时间后，培养基表面又会出现许多菌落。⑤反复重复③④过程。其过程可简化为如图所示。下列有关叙述错误的是



- A. A 系列平板中的大肠杆菌没有接触过青霉素，没有选择作用
- B. A 系列平板中的大肠杆菌抗药基因的频率会发生定向改变
- C. 随着重复次数的增多，A 与 B 对应的平板中菌落数量逐渐接近
- D. 该实验证明了大肠杆菌抗药性的产生与是否接触青霉素无关

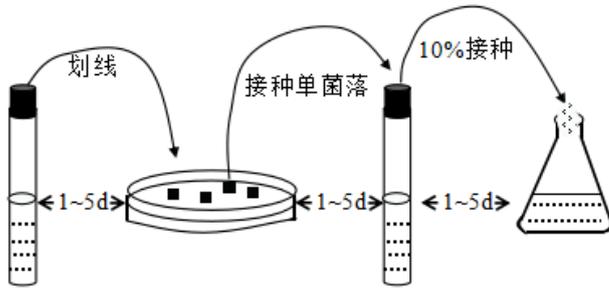
13. 科学家利用营养缺陷型菌株 A、B，在缺乏 A、B 所需营养物质的培养基上培养，结果如下图所示。下列叙述不正确的是



- A. 各组实验所用的培养基均需灭菌处理
 - B. 菌株 A、B 混合后能在上述培养基上生长
 - C. U 型管实验证明菌株 A、B 释放的代谢产物形成了互补
 - D. 推测菌株 A、B 通过接触发生了遗传物质重新组合
14. (南通等六市一模) 巴氏杀菌乳是以生牛(羊)乳为原料,经巴氏杀菌等工序制得的液体产品,根据国家标准(GB19645-2010)每毫升合格巴氏杀菌乳中细菌总数不得超过 50000 个。某兴趣小组进行了新牛奶合适的消毒温度的探究,相关实验操作不合理的是
- A. 配制牛肉膏蛋白胨培养基并在 121℃、100kPa 条件下处理 15-30min
 - B. 将等量的新鲜牛奶分别置于 60℃、70℃、80℃、90℃ 恒温水浴锅中处理 15min
 - C. 对处理后的牛奶进行梯度稀释后,利用涂布法接种平板并在 37℃ 下培养 24h
 - D. 统计培养基上全部菌落数,以菌落数最少组的处理温度作为最适消毒温度
15. (苏州一模) 土壤中有些细菌可以利用原油中的多环芳烃。为筛选出能高效降解原油的菌株并投入除污,某研究小组进行了相关实验。下列有关叙述错误的是
- A. 选择被原油污染的土壤取样,使用稀释涂布平板法或平板划线法进行分离
 - B. 配制以多环芳烃为唯一碳源的选择培养基进行培养,可提高目的菌的浓度
 - C. 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

D.在分离纯化菌种后，需借助生物化学的方法对分离的菌种作进一步的鉴定

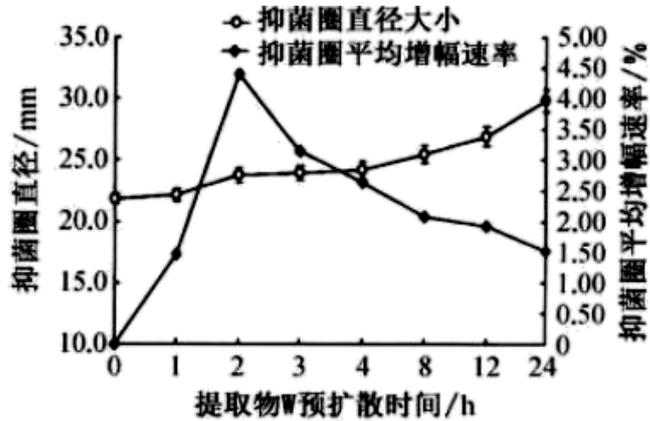
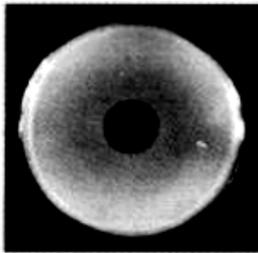
16 (多选). 下图表示研究人员在实验室中使用的简单的分批培养细菌的方法，下列叙述正确的是



低温储存小瓶 琼脂平板 液体培养基 三角瓶

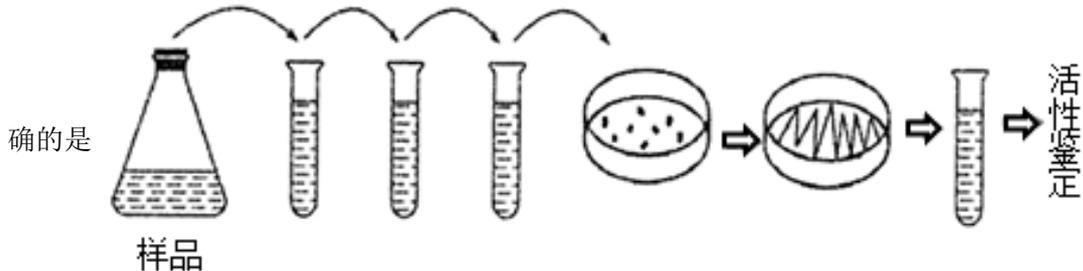
- A. 对于短期保存的菌种，可将菌液加入甘油后放在冷冻箱中冷藏
- B. 尿素分解菌可以利用培养基中的尿素是因为能合成脲酶
- C. 液体选择培养基通常可用于选择培养，增加目标菌种的浓度
- D. 将三角瓶放在摇床上振荡培养能提高溶氧量和养料的利用率

17 (多选). 某同学从植物中提取了 W 物质，并研究其抑菌效果。在平板中央处打孔后加入提取物 W，测量抑菌圈的大小和计算抑菌圈平均增幅速率，实验方法和结果如下图所示。据图分析下列说法错误的是



- A. 将一定量菌液与刚灭菌的培养基混匀后，冷却并倾倒入平板可得到试验菌平板
- B. 在平板上打孔的钢管需要灼烧灭菌，目的是防止微生物污染平板
- C. 抑菌圈直径的大小与菌体浓度、提取物 W 的浓度和预扩散时间密切相关
- D. 提取物 W 在培养基中扩散，加入提取物 W 后的 2 小时可获得最佳抑菌效果

18 (多选). 屠宰场废弃血污不经过处理直接排放，会对环境造成污染。传统处理方法有填埋法和焚烧法等。填埋法易造成地表环境、地下水资源污染。焚烧法处理也会造成大气污染，且废弃物中所含的蛋白资源不能得到有效利用。研究人员以屠宰场血污堆积土壤为分离基质，利用血平板培养基（添加了动物血液），分离出了高效降解血红蛋白的菌株，并初步用于降解废弃血液、生产氨基酸液态肥料。下列叙述正

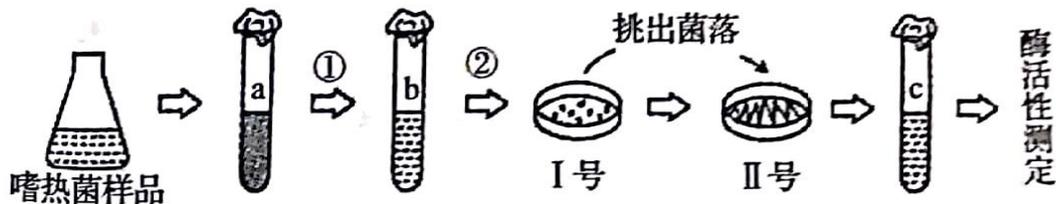


- A. 上述菌株分离纯化过程中用到了稀释涂布平板法和平板划线法
- B. 对分离纯化得到的菌株培养后进行计数，只能采用稀释涂布平板法
- C. 血平板培养基上透明水解圈大的菌落分泌的蛋白酶的活性往往较高
- D. 利用该菌株降解废弃血液可在保护环境的同时实现资源的可持续利用

19（多选）. 通过选择培养或鉴别培养的方法可筛选出目标培养物。下列叙述正确的是

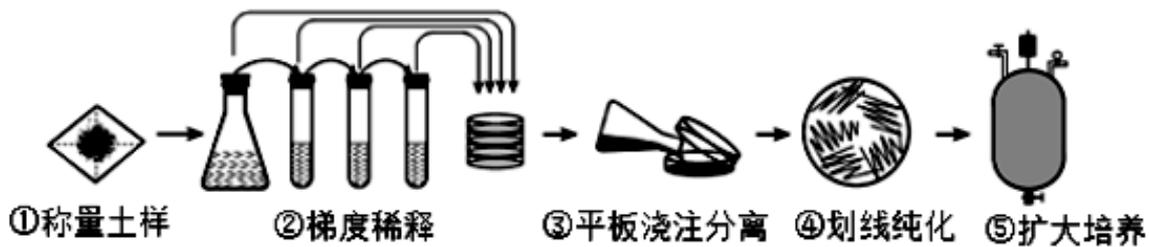
- A. 在含有刚果红的培养基上, 纤维素分解菌菌落周围出现透明圈
- B. 可以用选择培养基筛选导入目的基因的大肠杆菌
- C. 利用选择培养基确定杂交瘤细胞能否产生所需抗体
- D. 分离尿素分解菌的培养基需以尿素为唯一氮源

20（多选）. 高温淀粉酶在工业生产中有很大的实用性。研究者从热泉中筛选出了能高效生产高温淀粉酶的嗜热菌, 其筛选过程如下图所示。下列叙述错误的是



- A. 过程①是对菌液进行稀释, 过程②的接种方法是平板划线法
- B. I号培养基属于选择培养基, 以淀粉作为唯一碳源
- C. I号、II号培养基的配制和灭菌时, 应先进行灭菌再调节 pH
- D. 应从 I号培养基挑出透明圈大的菌落, 接种到 II号培养基上

21. 酵母菌的蛋白质可作为饲料蛋白的来源, 有些酵母菌能以工业废甲醇作为碳源, 研究人员拟从土壤样品中分离出可利用工业废甲醇的酵母菌, 这样既能减少污染又可变废为宝。下图为主要操作流程示意图。



回答下列问题:

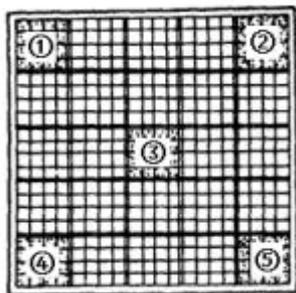
(1) 配制培养基时, 按照培养基配方准确称量各组分, 将其溶解、定容后, 调节培养基的_____, 及时对培养基进行分装, 并进行高压蒸汽灭菌: 在加热排除高压锅内原有的_____后, 将高压锅密闭, 继续加热, 通常在_____的条件下, 维持 15-30min, 可达到良好的灭菌效果。

(2) 取步骤②中梯度稀释后的适量液体加入无菌培养皿, 然后将高压蒸汽灭菌后的培养基冷却至_____ (25°C/50°C/80°C) 左右时倒入培养皿混匀 (步骤③), 冷凝后将培养皿倒置, 在适宜的条件下培养一段时间。

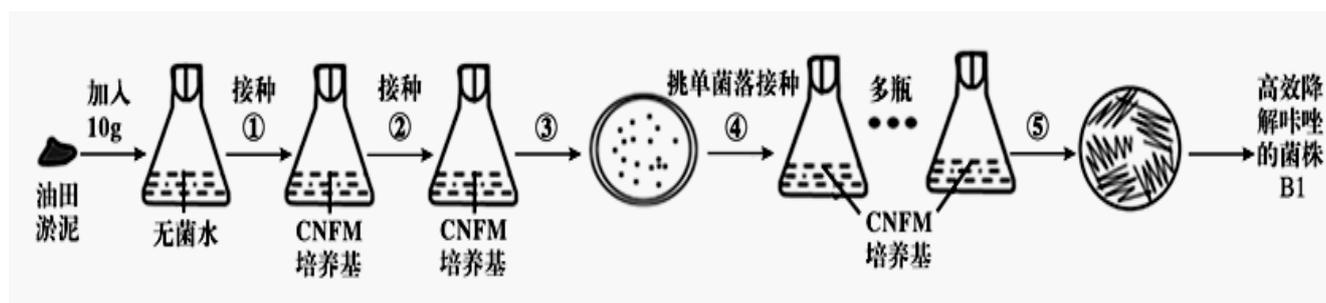
(3) 挑取平板中长出的单菌落, 按步骤④所示进行划线纯化, 下列叙述合理的是____。(2分)

- a. 为保证无菌操作, 接种针、接种环使用前都必须灭菌
- b. 挑取菌落时, 应挑取多个菌落, 分别测定酵母细胞中甲醇的含量
- c. 划线时不能划破培养基表面, 以确保能正常形成菌落
- d. 第二区以后的划线起始端要与上一区的划线的末端相连接, 最后一区的划线末端不能与第一区的划线相连

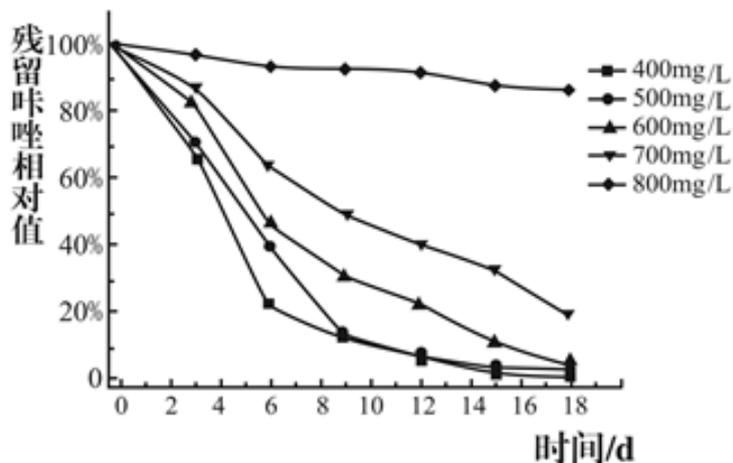
(4) 步骤⑤的培养中, 应加入_____作为碳源, 并加入适量的氮源、无机盐和水等成分。为监测发酵罐中酵母菌活细胞的密度, 取 2mL 发酵液稀释 1000 倍后, 加入等体积台盼蓝染液染色, 用如图所示的计数室规格为 25x16 型的血细胞计数板计数, 要达到每毫升 4×10^9 个活酵母菌细胞的预期密度, 理论上, 图中标号①~⑤五个中格里的呈_____色的酵母菌细胞总数应不少于_____个。



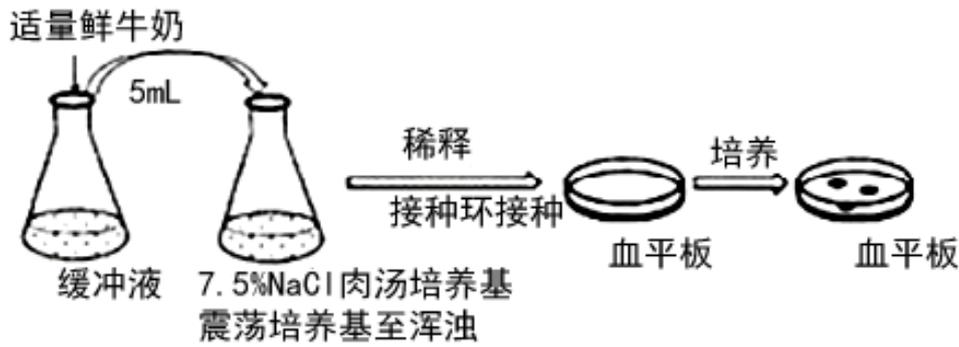
22. (本题 9 分) 吡唑(CA)是一种含氮有机物,是化工产品的中间体,对生物具有毒性,其结构稳定,释放到环境中后难以被降解。科研人员设计如下图所示的操作流程,从油田淤泥中分离筛选出降解吡唑的高效菌株。请回答:



- (1) 本实验选择从油田淤泥中分离降解吡唑的高效菌株的原因可能是_____。
- (2) 配制 CNFM 培养基时,按照配方要求称量各种成分,其中以_____作为唯一氮源,配制完成后调节培养基 pH,并进行_____法灭菌。从功能上看,该培养基属于_____培养基。
- (3) 步骤③和⑤的接种方法分别是_____、_____。
- (4) 若要测定菌株 B₁对吡唑的降解率,可将菌液接入 10mL CNFM 培养基中作为实验组,以_____作为对照组。一段时间后,测定_____,计算降解率。
- (5) 科研人员继续用获得的菌株 B₁探究其对 CA 的耐受能力,分别将菌液接种在 CA 浓度分别为 400mg/L、500mg/L、600mg/L、700mg/L 和 800mg/L 的培养基中,得到如图所示结果。结果表明菌株 B₁能耐受的 CA 浓度为_____左右。

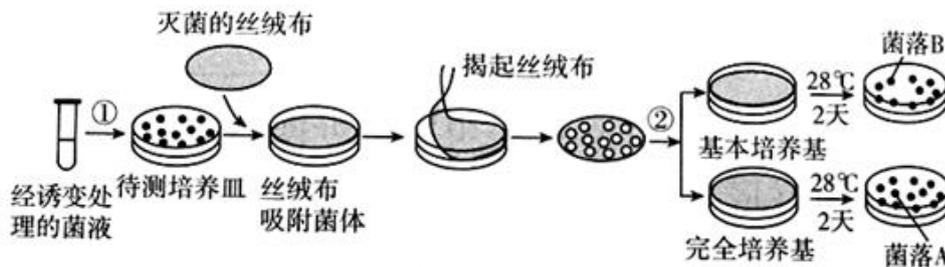


23. (本题 9 分) 金黄色葡萄球菌是一种具有高度耐盐性的微生物,可引起人类肺炎、肠炎等疾病。金黄色葡萄球菌在血平板(培养基中添加适量血液)上生长时,可破坏菌落周围的红细胞,使其褪色。下图为定性检测鲜牛奶中是否存在金黄色葡萄球菌的操作流程,请回答相关问题。



- (1) 从培养过程分析，金黄色葡萄球菌的代谢类型是_____。
- (2) 7.5%NaCl 肉汤培养基可为微生物提供的营养成分，除氮源外还有_____。氮源进入细胞后，可参与合成的多聚体有_____（答出两点即可）。用 7.5%NaCl 肉汤培养基进行选择培养的主要目的是_____。
- (3) 实验操作中，在血平板上的接种方法是_____。该方法可以有效地计算出培养液中目的菌的数量。若取培养液 1mL，稀释 100 倍后吸取 0.1mL 的稀释液，用上述接种方法接种到 5 个血平板上，经培养后，5 个血平板上出现透明圈的菌落数分别为 50、48、51、52、49，由此可知每毫升培养液中活菌的数目为_____个。
- (4) 在制备血平板时需将 pH 调节至_____（微酸性或微碱性）后灭菌，待培养基冷却后，再加入适量血液。血平板在接种金黄色葡萄球菌前，往往随机选取部分灭菌后的空白培养基先培养一段时间，这样做的目的是_____。
- (5) 经多次规范操作、重复实验，血平板上均出现_____的菌落，初步证明鲜牛奶中存在金黄色葡萄球菌。

24. (本题 10 分) 营养缺陷型菌株就是在人工诱变或自发突变后，微生物细胞代谢调节机制中的某些酶被破坏，使代谢过程中的某些合成反应不能进行的菌株。这种菌株能积累正常菌株不能积累的某些代谢中间产物，为工业生产提供大量的原料产物。以下是实验人员利用影印法初检氨基酸缺陷型菌株的过程。请回答下列问题：



- (1) 过程①的接种方法为_____。从培养基成分分析，基本培养基与完全培养基存在差异的成分是_____。
- (2) 进行②过程培养时，应先将丝绒布转印至基本培养基上，目的是_____，从_____盛培养基上获得相应的营养缺陷型菌株。
- (3) 统计菌落种类和数量时要每隔 24h 观察统计一次，直到各类菌落数目稳定，以防止培养时间不足导致_____，或培养时间太长导致_____。
- (4) 为了进一步完成对初检的营养缺陷型菌株的鉴定，实验人员进行了如下操作：
- ①用接种针挑取_____（选填“菌落 A”或“菌落 B”）接种于盛有完全培养液的离心管中，28℃ 振荡培养 1~2 天后，离心，取沉淀物用无菌水洗涤 3 次，并制成菌悬液。
- ②吸取 1mL 菌悬液加入无菌培养皿中，倾注 15mL 融化并冷却至 50℃ 左右的基本培养基，待其冷凝后用记号笔在_____“血盖”或“皿底”）划分五个区域，标记 A、B、C、D、E。
- ③在划分的五个区域上放入少量分组的氨基酸粉末（如下表所示），经培养后，观察生长圈出现的区域，

从而确定属于何种氨基酸缺陷型。

组别	所含氨基酸				
A	组氨酸	苏氨酸	谷氨酸	天冬氨酸	亮氨酸
B	精氨酸	苏氨酸	赖氨酸	甲硫氨酸	苯丙氨酸
C	酪氨酸	谷氨酸	赖氨酸	色氨酸	丙氨酸
D	甘氨酸	天冬氨酸	甲硫氨酸	色氨酸	丝氨酸
E	半胱氨酸	亮氨酸	苯丙氨酸	丙氨酸	丝氨酸

在上述鉴定实验中，发现在培养基 A、D 区域出现生长圈，说明该营养缺陷型菌株属于_____。

25. (本题 9 分) 微生物是一切肉眼看不见或看不清的微小生物的总称，它们是一些个体微小、构造简单的低等生物，微生物与人类生活关系密切，在医疗保健、工业发展、农业生产、生态和环境保护等方面发挥着不可或缺的作用。请回答下列有关微生物的问题：

(1) 微生物培养中使用试管时，试管口通常用封口膜封口或塞有棉花塞，其作用一个是通气，另一个是_____。运用活菌计数法统计的菌落数往往比活菌的实际数目低，原因是_____。采用平板划线法分离目的菌的过程中，所用培养基和接种工具常用的灭菌方法分别是_____。

(2) 纤维素是地球上最大的可再生资源，纤维素分解菌的研究也成了相关科学家关注的课题，纤维素酶是一种复合酶，一般认为至少有三种组分，其中_____、_____使得纤维素分解成纤维二糖，_____将纤维二糖分解成葡萄糖。筛选纤维素分解菌可以用_____法，通过颜色反应直接对微生物进行筛选。

(3) 纯化菌株时，划线的某个平板培养后，第一划线区域的划线上都不间断地长满了菌落，第二划线区域所划的第一条线上无菌落，其它划线上有菌落。造成划线无菌落可能的操作失误有：

①_____ ②_____

21 【答案】pH 冷空气 (压力为) 100kPa、(温度为) 121℃ 50℃

a、c、d 工业废甲醇 无 40

22. 【答案】油田淤泥中富含吡啶，能聚集降解吡啶的菌株 吡啶(CA) 高压蒸汽灭菌 选择 稀释涂布平板法 平板划线法 含相同浓度 CA 但不接种菌液的 10mLCNFM 培养基(或不接种菌液的 10mLCNFM 培养基) 实验组残留的 CA 浓度和对照组的 CA 浓度(或实验组残留的 CA 浓度) 700mg/L

23. 【答案】异养需氧型 碳源、水和无机盐 蛋白质、核酸 增加金黄色葡萄球菌的数量 稀释涂布平板法 5×10^4 微碱性 检测培养基灭菌是否合格 周围存在透明圈

24. 【答案】稀释涂布平板法 氨基酸 防止将特定营养成分带入培养基 完全 遗漏菌落的种类和数目 菌落粘连影响计数、培养基表面干燥脱水、微生物衰败菌落特征不易观察(2分，只答一点给1分，答出两点给满分) 菌落 A 皿底 天冬氨酸缺陷型

25. 【答案】防止杂菌污染 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 高压蒸汽灭菌和灼烧灭菌 C₁酶 C₂酶 葡萄糖苷酶 刚果红染色 接种环灼烧后未冷却 划线未从第一区域末端开始