

# 发酵工程实验指导书

边艳青 编      赵宝华 审

河北师范大学生命科学学院

微生物教研室

2003年3月

# 实验一、自然分离（6学时）

## 一、实验目的

1. 掌握活菌技术的方法
2. 纯化单菌落。
3. 观察菌落形成过程及菌落类型。

## 二、实验原理

微生物菌株在一定条件下，会发生不定向的突变，而且大部分突变是负变异，再生产水平的波动。自然分离就是利用微生物在一定条件下产生自发突变的原理，通过分离、筛选排除衰退型菌株，从中选择维持原有生产水平的菌株。自然分离能达到纯化、复壮菌种，稳定生产的目的。

## 三、试剂及器材

- 1.菌种 龟裂链霉菌
- 2.分离培养基

配方：淀粉 3%、CaCO<sub>3</sub> 0.4%、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.4%、NaCl 0.5%、玉米浆 0.4%、琼脂 2.2%

- 3.无菌用具 1ml 和 10ml 吸管，玻璃涂棒，9ml 无菌水试管，无菌双碟，显微镜，无菌水，带玻璃珠的三角瓶，斜面试管。

## 四、实验步骤

### 1. 单孢子悬液制备

- 1) 用 15ml 无菌水注于斜面上，用接种针将孢子刮下，倒入装有玻璃珠和无菌水的三角瓶内。
- 2) 放在振荡器上或用手振荡 10-15min。
- 3) 无菌滤纸过滤，得单孢子悬液。

### 2. 活计数

- 1) 将已制备好的单孢子悬液稀释到  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ ，然后分别吸取 0.2ml 于灭菌的空白双碟中，在加入 10ml 左右已溶化并冷却到 50℃左右的培养基，摇匀，37℃培养 4 天，即可计数。

### 3. 自然分离

根据活计数结果，以估计每个平板上生长 20-30 个菌落的稀释度稀释加入已倒好平板的双碟内，用无菌玻璃涂棒涂匀，37℃培养 4 天，生长好后，用接种针接于斜面上，培养，保存，备用。

## 五、实验报告

1. 用表格统计活计数。
2. 用表格说明菌落形态。
3. 制备单孢子悬液时注意哪些问题？