

武汉大学

2019 年全国硕士研究生招生考试

初试自命题试题答案

科目名称：微生物学（☒A 卷☐B 卷）科目代码：808

考试时间：3 小时 满分 150 分

可使用的常用工具：☒无 ☐计算器 ☐直尺 ☐圆规（请在工具前打✓）

注意：所有答题内容必须写在答题纸上，写在试题或草稿纸上的一律无效；考完后试题随答题纸交回。

一、名词解释（共 6 小题，每小题 5 分，共 30 分）

1、营养缺陷型（auxotroph）：一种缺乏合成其生存所必需的营养物的突变型，只有从周围环境或培养基中获得这些营养物或其前体才能生长。

2、溶源转变（lysogenic conversion）：由原噬菌体引起的溶源性细菌除免疫性以外的其他表型改变，包括溶源性细菌的细胞表面性质的改变和致病性转变。

3、原生质体（protoplast）：在人为条件下，用溶菌酶除尽细菌等微生物原有细胞壁或用青霉素抑制新生细胞壁合成后，所得到的仅有一层细胞膜包裹着的圆球状细胞，一般由 G⁺菌形成。原生质体对渗透压敏感，无繁殖能力，在合适条件下，细胞壁可以再生，并恢复其繁殖能力。

4、恒浊器（turbidostat）：是一种连续培养装置，装有光电管，通过调整培养容器中培养液的流量，使培养液浊度或细胞的密度保持不变。

5、鉴别培养基（differential medium）：在培养基中加入能与特定微生物的代谢产物发生特征性化学反应的化学物质，用于鉴别不同类型的微生物。

6、反硝化作用（denitrification）：又称为硝酸盐呼吸，以硝酸盐或亚硝酸盐为电子受体进行的厌氧呼吸，此过程中硝酸盐还原形成气态产物 N₂O、N₂。

二、单项选择题（共 15 小题，每小题 2 分，共 30 分）

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	A	C	D	C	B	C	C	B	D
11		12		13		14		15	
C		A		A		B		D	

三、填空题（共 5 小题，每空 1 分，共 15 分）

- 1、重组
- 2、电子传递，最终电子受体
- 3、碳源，氮源，无机盐，生长因子，水，能源（位置可换）
- 4、卵孢子，接合孢子，子囊孢子，担孢子
- 5、对数期，稳定期

四、简答题（共 5 小题，每小题 8 分，共 40 分）

1、（8 分）什么是接合中断法？试述用此法证明染色体呈环状和绘制染色体图的基本原理？

答：Hfr 菌株向 F 菌株的 DNA 转移过程存在严格的顺序性，在实验室中可以每隔一定时间利用强烈搅拌（例如用组织捣碎器或杂交中断器）等措施，使接合细胞对中断其接合，以获得呈现不同数量 Hfr 性状的 F⁻接合子。（2 分）根据这一原理，就可选用几种有特定整合位点的 Hfr 菌株，使其与 F 菌株进行接合，（2 分）并在不同时间使接合中断，最后根据 F⁻中出现 Hfr 菌株中各种性状的时间早晚（用分钟表示），画出一幅比较完整的环状染色体图（4 分）。

2、（8 分）大肠杆菌在 37°C 的牛奶中每 12.5 min 繁殖一代，假设牛奶消毒后，大肠杆菌的含量为 1 个/100 mL，请问按照国家标准（30000 个/mL），该消毒牛奶在 37°C 下最多可以存放多少时间？

答：30000 × 100 = 3000000（个/100 mL）

代时 $G = (t - t_0) / n = 0.301 \times (t - t_0) / \lg N_t - \lg N_0$ （4 分）

$t - t_0 = (\lg 3000000 - \lg 1) \times 12.5 / 0.301 \approx 269 \text{ (min)} \approx 4.5 \text{ (h)}$ （4 分）

故消毒牛奶在 37°C 下最多可以存放 4.5 h。

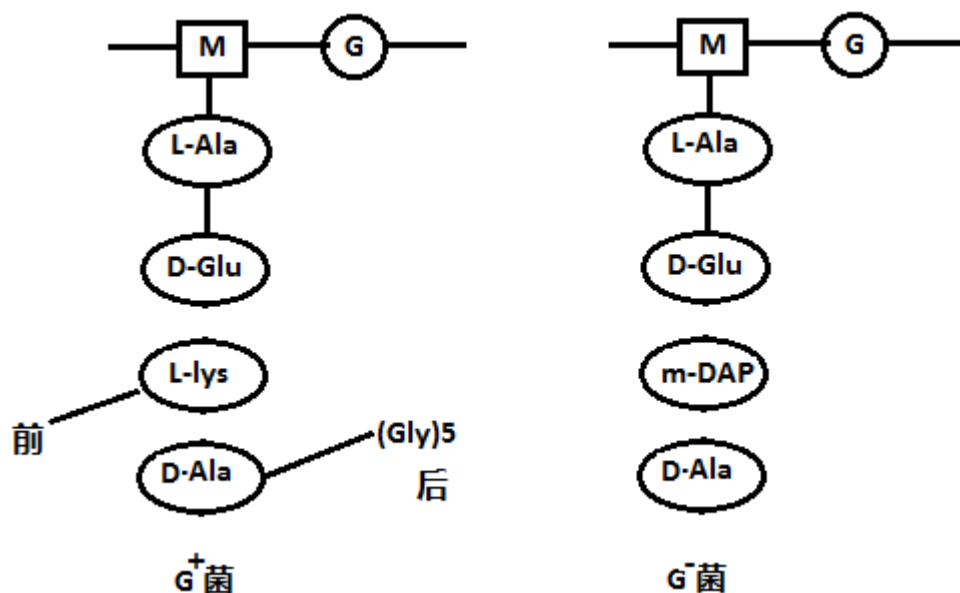
3、（8 分）试用简图表示 G⁺菌和 G⁻菌肽聚糖单体构造的差别，并作简要说明。

答：

如下图所示：

（1）G⁺菌四肽尾分子上的第 3 个氨基酸是 L-lys，而 G⁻菌是 m-DAP；（2 分）

（2）G⁺菌四肽尾的第 4 个氨基酸上有一肽桥（常为甘氨酸五肽），而 G⁻菌则无。（2 分）



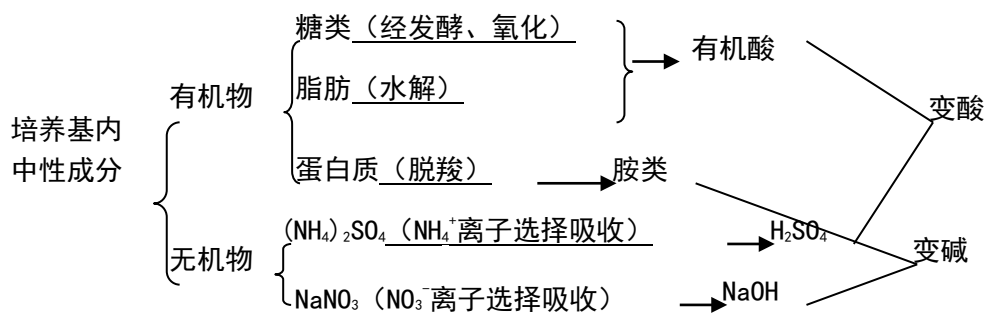
(4 分)

4、(8 分) 一酵母乙醇发酵途径中，从乙醛到乙醇的路径被阻断，它不能在无氧条件下的葡萄糖平板上生长，但可在有氧条件下的葡萄糖平板上生长，试解释这一现象？

答：酵母在对葡萄糖进行糖酵解后，会生成丙酮酸和 NADH，在无氧条件下，丙酮酸会脱羧生成乙醛，乙醛由 NADH 提供还原力，生成乙醇，在此过程中 NAD^+ 重生出来，可再用于接受代谢过程中产生的 H 和电子。如果乙醛到乙醇这个步骤被阻断，那么还原力 NADH 即会用于还原磷酸羟基丙酮生产磷酸甘油，进而水解成甘油，当甘油达到一定浓度，能够抑制菌体的生长。(4 分) 而在有氧条件下，即使乙醛到乙醇这个步骤被阻断，NADH 主要会经由电子呼吸链传递出电子和 H，从而生成 ATP，进而重生出 NAD^+ 。因此代谢不会在此条件下被抑制，故表现出酵母菌在有氧条件下的葡萄糖平板上存活。(4 分)

5、(8 分) 在微生物培养过程中，引起 pH 改变的原因有哪些？在实践中如何保证微生物处于较稳定和合适的 pH 环境？

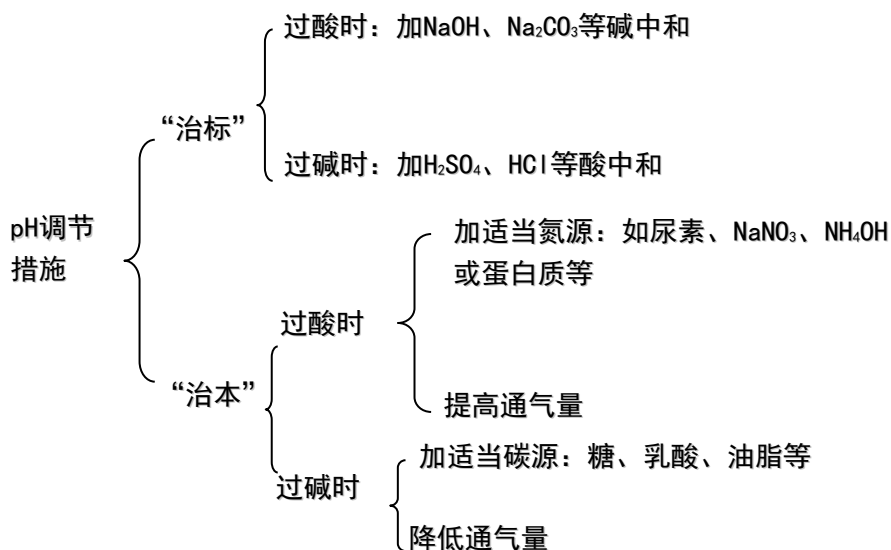
答：(1) 微生物的生命活动会引起环境 pH 改变。微生物可以将糖类发酵形成有机酸，将脂肪水解成有机酸，选择性吸收无机盐的正电部分，引起培养基 pH 下降 (1 分)；而蛋白质的脱羧反应形成胺类，选择性吸收无机盐的酸根，都会引起 pH 上升 (1 分)。



(2) 培养过程变酸变碱与培养基的碳氮比也有极大的关系，碳氮比高的培养基，例如培养各种真菌的培养基，经培养后，其 pH 值常会明显下降，相反，碳氮比低的培养基，例如培养一般细菌的培养基，经培养后，其 pH 值则常会明显上升。(1 分)

(3) 培养基成分中加入缓冲性物质如磷酸盐 (1 分)、备用碱 “CaCO₃” (1 分) 等以保证微生物处于较稳定和合适的 pH 环境。

(4) 及时调节合适的 pH 的措施，分为“治标”和“治本”两类：治标的方法是通过加酸或碱进行中和反应 (1 分)，根据表面现象而进行直接、快速但不能持久的调节；治本的方法有：过酸时，加适量的氮源，提高发酵的通气量 (1 分)；过碱时，适当增加碳源，降低通气量 (1 分)，根据内在机制所采用的间接、缓效但能发挥较持久作用的调节。



五、论述题 (2 小题，共 35 分)

1、(15 分) 某学生利用酪素培养基平板筛选产胞外蛋白酶细菌，在酪素培养基平板上发现有几株菌的菌落周围有蛋白水解圈，是否能够仅凭蛋白水解圈与菌落直径比大，就断定该菌株产胞外蛋白酶的能力强，而将其选择为高产蛋

白酶的菌种，为什么？

答：不能。（3分）因为：（1）不同微生物的营养需求、最适生长温度等生长条件有差别，在同一平板上相同条件下的生长及生理状况不同；（4分）（2）不同微生物所产蛋白酶的性质（如最适催化反应温度、pH、对底物酪素的降解能力等）不同；（4分）（3）该学生所采用的是一种定性及初步定量的方法，应进一步针对获得的几株菌分别进行培养基及培养条件优化，并在分析这些菌株所产蛋白酶性质的基础上利用摇瓶发酵实验确定蛋白酶高产菌株。（4分）

2、（20分）细菌在培养过程中菌体数量急剧减少，如何设计实验证明该细菌的培养液中感染了噬菌体？如何筛选抗噬菌体细菌？

答：证明菌液中是否感染了噬菌体的方法之一：将少量细菌的培养液与大量对噬菌体敏感的细菌混合后，将此混和液与45度左右的琼脂培养基在培养皿中充分混匀，铺平后培养。经数小时至10余小时培育后，观察在平板表面的菌落，若布满敏感细菌菌落的菌苔上长有一个个透亮不长菌的小圆斑，说明细菌的培养液中感染了噬菌体。反之，则可能是其他的原因造成菌体数量急剧减少。（7分）方法之二：将细菌的培养液离心，取菌体沉淀制片，进行电镜观察其中是否含有噬菌体颗粒。（2分）

将培养至对数期的细菌培养液，用新鲜的培养液稀释成浓度为 $10^5/\text{mL}$ 的细菌悬液，涂布到预先涂满噬菌体的平板上，保温一定时间后，可以观察到平板上存在没有形成噬菌斑的菌落，即为抗噬菌体的菌落。（8分）挑选出该菌落，重新涂布于预先涂满噬菌体的平板上，待长出菌落后，选择生长情况最好的菌落继续在预先涂满噬菌体的平板上进行涂布，由此获得纯的抗噬菌体细菌。（3分）