

深海极端环境样品采集与嗜极微生物培养虚拟仿真 实验教学指导书

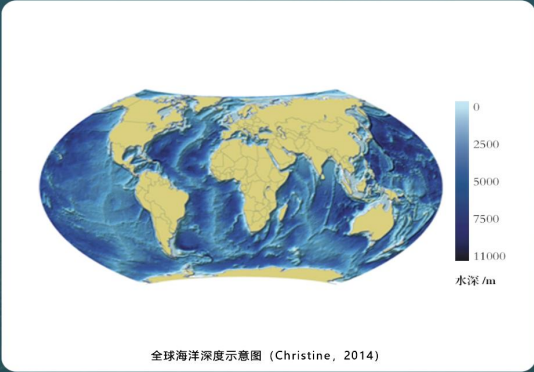
本实验的目的是让学生通过虚拟仿真平台开展深海微生物培养的体验式、主动性学习。本着“能实不虚，虚实结合”的项目创建原则，改变以教师为主的传统讲授法，强调“学生全面发展”的教育理念，本项目通过线上线下相结合、以交互式体验教学方法为主，促使学生在虚拟环境中主动学习，同时通过探索式教学方法，以任务驱动，让学生自主发现问题、探索问题，将基于网络的远程教学和基于课堂理论教学的引导式教学相结合，激发学生对实验的兴趣，提高学生的实践能力。本虚拟仿真实验分为三个环节进行。“**热液区微生物理论知识**”环节：通过实景照片、文字介绍和动画演示等形式对深海极端环境微生物研究相关的知识点进行呈现，并通过系统考核，检验学生学习的掌握程度。“**科考船认知和热液区样品采集**”环节：对科考船进行海洋生物考察时常用的设备进行认知学习；随后根据引导，跟随“蛟龙号”深潜器下潜到“德音一号”热液区进行样品采集。“**高温高压微生物培养**”环节：在“常规步骤引导”和“关键步骤引导加自由发挥”的模式下按照任务要求自主设计培养基培养和高压釜加压步骤等实验环节，完成微生物样品处理、培养基配制、梯度稀释、灭菌、高压釜加压等高温高压微生物培养全过程。

开始实验：

步骤一：深海与热液区微生物相关知识学习

该步骤包含八个知识版块的内容介绍。可通过点击鼠标任意选择相关内容进行学习，可反复观看学习，所有内容学习完之后即可进入下一步骤。每个版块都配备一到多张图片进行辅助说明，可点击图片区域下方的按钮切换图片。

大厅 experimentIntro 热液区微生物理论知识 科考船认知与热液区样品采集 海洋高温高压微生物培养 助手



全球海洋深度示意图 (Christine, 2014)

深海与热液区简介

海洋中95%的海域深度超过1000 m。一个半世纪以前，人们认为600 m以下是一片生命禁区。也有人将深海比作沙漠，这里漆黑、低温、高压、寡营养。事实上，这里同样孕育着丰富多彩的生命形式。深海的压力通常在100个大气压以上。大多数区域的温度再2-4℃。深海热液喷口主要分布于洋中脊（如东太平洋海隆和大西洋中脊）和弧后盆地（如冲绳海槽）。与一般深海的低温不同，这个区域的海水温度普遍偏高，最高可达464℃。迄今为止发现的最深的热液喷口位于开曼海沟（Cayman Trough），水深5000多米处。与一般深海生态系统低生物量和高生物多样性的特征相反，深海热液生态环境中，生物量高但多样性相对较低。在热液区周围存活着长管虫、怪虫、蛤类、贻贝类，还有蟹类、水母、藤壶等特殊生物群落。海底热液流中的细菌多以悬浮状态存在，丰度为 $5 \times 10^3 - 5 \times 10^6$ 个细胞/ml。有人将这样五彩缤纷、生机勃勃的海底生物世界称为海底“生命绿洲”。

- 深海与热液区简介
- 热液区形成原理
- 德音1号热液区
- 向阳红03科考船
- 微生物的营养和培养条件
- 培养基的灭菌处理
- 微生物生长状况测定
- 热液菌目的生理特性

步骤二：环节测试-选择题

这两个步骤分别从10道选择题和10道判断题组成的题库中随机抽取5道题进行测试。

大厅 experimentIntro 热液区微生物理论知识 科考船认知与热液区样品采集 海洋高温高压微生物培养 助手

请完成以下选择题和判断题

一、选择题 题数：5 正确：0

- 常用的培养基高压蒸汽灭菌条件是（ ）。
 - A. 100℃处理15分钟
 - B. 131℃处理25分钟
 - C. 121℃处理15分钟
 - D. 121℃处理5分钟
- （多选）热液菌目（Thermococcales）是一类（ ）的微生物。
 - A. 严格厌氧
 - B. 极端嗜热
 - C. 化能异养
 - D. 属于细菌

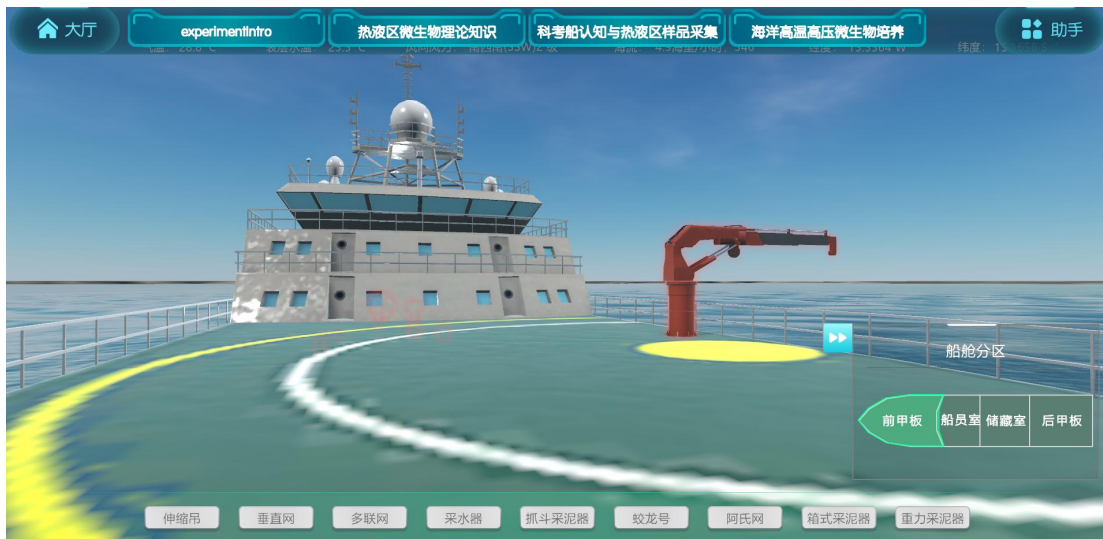
步骤三：环节测试-判断题

测试结束后，直接给出作答结果。如果对作答结果不满意，可选择返回步骤一进行学习。



步骤四：科考船常见设备认知

可按住鼠标右键转动视角，使用方向键移动位置，点击右下角缩略图切换前后甲板，使用鼠标左键单击高亮部件以完成科考船相关部件的认知学习。



步骤五：蛟龙号下放和下潜过程

按照引导操作，即可观看蛟龙号下放、下潜过程。在潜入深海过程中可观察到对海洋雪这一特殊景象的模拟，并对海洋雪的形成原理进行学习。



步骤六：蛟龙号在热液区海底移动寻找采样点

该步骤给定任务为采集热球菌目古菌适宜栖息环境的样品，可点击屏幕上的按钮进行上下、前后、左右六个方向的移动，点击鼠标右键滑动屏幕可进行转向，从而实现全方位的热液区环境和地貌观察。熟悉环境后，根据第一阶段的学习，需要将深潜器移动到环境温度为 50–100℃ 的地方进行样品采集。如果采样点温度过低，将无法完成任务。



步骤七：水样采集

到达合适的采样位置后，点击采样按钮，即可观看采集水样动画。采样完成后，将生成采样点环境参数报告。



步骤八：培养基配置

每个培养基组分均配有说明性文字，对该组分的功能和用量范围进行提示，每种组分用量的多少均会对预期的培养结果产生影响。通过调节各组分的用量可以直接观察到预期的培养效果，从而确定最佳的培养基配方。热球菌目是一类严格厌氧菌，配置的培养基需要使用刃天青指示除氧情况（有氧粉色，无氧无色），也需要观察硫化钠添加量对培养基颜色的影响。



步骤九：灭菌锅操作

在灭菌锅操作部分，需要自行判断灭菌锅内和蒸汽冷却水壶中的水位是否合适，然后进行加水、倒水等操作，灭菌结束后，需要佩戴手套防止烫伤。



步骤十：样品取出

根据提示，从实验室的样品储藏冰箱中取出样品即可。



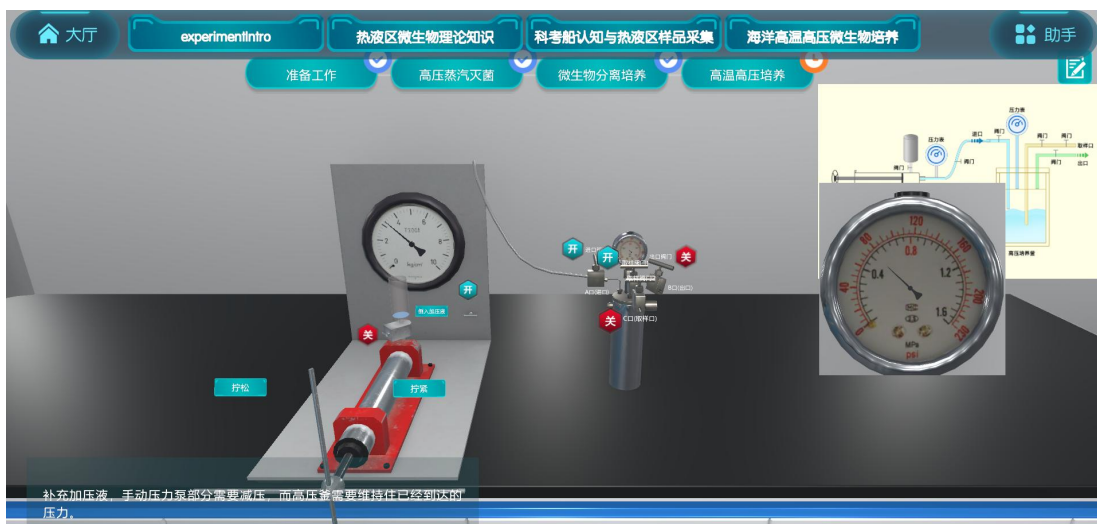
步骤十一：超净台操作

根据提示，进行超净台的紫外灯消杀，日光灯和风机使用等操作。随后根据提示进行环境准备（点燃酒精灯等操作）、样品吸取、梯度稀释、移液枪刻度调整和样品接种等操作。



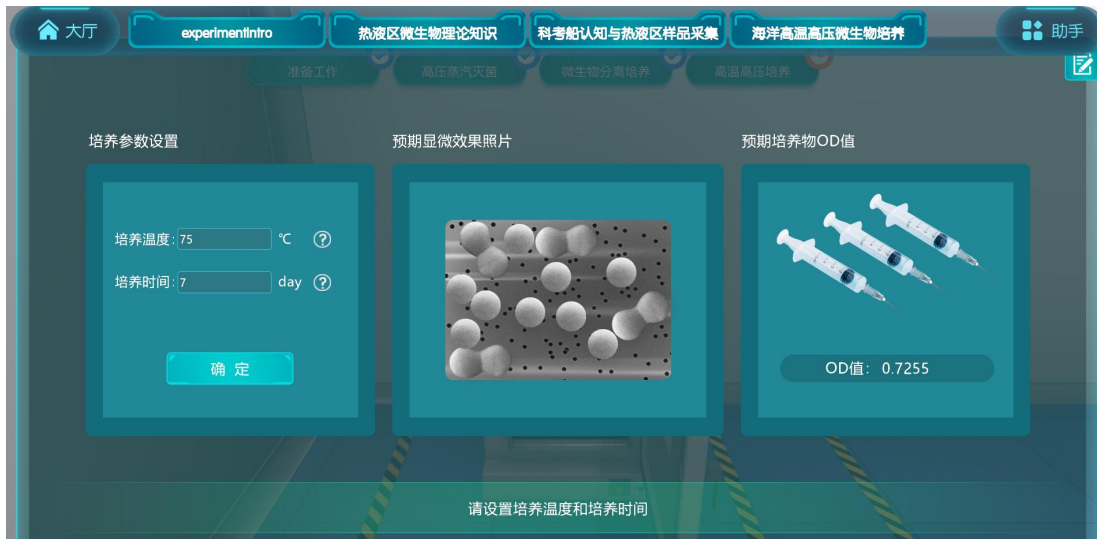
步骤十二：高压釜加压操作

该步骤一开始主要通过文字介绍和引导性操作，对高压釜加压操作进行原理和流程性介绍。待第一次加压液用完，但是压力仍未达到所需压力时，该步骤转为开放式操作模式。需要先通过相应压力阀的操作隔离加压泵和高压釜的压力，对加压泵进行减压至常压，然后补充新的加压液后重新对加压泵进行加压，待加压泵和高压釜压力相当时，将二者联通，最后对高压釜进行二次加压。加压完成后，要将高压釜所有压力阀关闭，加压泵减压至常压后才能将二者分开。



步骤十三：培养条件设置

培养的温度由采样点的环境决定，采样点环境参数可在右上角点击按钮查看。温度和培养时间对培养结果的影响可以在屏幕的右边直接观察到。



最后，根据培养基配方、培养温度和时间等因素综合分析后给出实验结果。培养结果（OD 值）和每一步的操作细节决定最终实验成绩。

