



普通高等学校精品课程建设教材

# 基础生物学

## 实验指导

### 微生物学分册

赵海泉◎主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

## 图书在版编目(CIP)数据

基础生物学实验指导/赵海泉主编. —北京:中国农业大学出版社,2008.8  
ISBN 978-7-81117-425-0

I. 基… II. 赵… III. 生物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. Q5-33  
中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 125784 号

书 名 基础生物学实验指导 微生物学分册  
作 者 赵海泉 主编

---

策划编辑	魏秀云	责任编辑	孟 梅
封面设计	郑 川	责任校对	陈 莹
出版发行	中国农业大学出版社		
社 址	北京市海淀区圆明园西路 2 号	邮政编码	100193
电 话	发行部 010-62731190,2620	读者服务部	010-62732336
	编辑部 010-62732617,2618	出 版 部	010-62733440
网 址	<a href="http://www.cau.edu.cn/caup">http://www.cau.edu.cn/caup</a>	e-mail	cbsszs @ cau.edu.cn
经 销	新华书店		
印 刷	涿州市星河印刷有限公司		
版 次	2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月第 1 次印刷		
规 格	787×980 16 开本 5.25 印张 92 千字		
定 价	本册定价:12.00 元(总定价 84.00)		

---

图书如有质量问题本社发行部负责调换

# 《基础生物学实验指导》 教材编写人员

主 编 赵海泉

副 主 编 蔡永萍

编写人员 (以姓氏笔画为序)

何金铃 陈晓琳 张玉琼

金 青 郭 宁 詹永乐

## 编者的话

安徽农业大学从高等教育发展的需要出发,结合学校的实际情况,自2005年9月起在学校全面实行学分制改革,学分制的教育管理对过去的人才培养模式、专业培养方案、课程设置及学时数等方面进行了大规模的调整。为配合学校学分制改革,加强学生的动手能力,在有限的学时内完成基础生物学实验内容,我们编制了这本《基础生物学实验指导》教材。

教材分《植物学分册》、《动物学分册》、《微生物学分册》、《生物化学分册》、《植物生理学分册》、《细胞生物学分册》和《遗传学分册》7个分册。教材以本科生为使用对象,既满足农业院校各相关专业学生学习基础生物学的要求,也可为生物类专业学生学习基础生物学实验使用。教材以基础生物学实验为内容,吸收国内外有关基础生物学实验的新成果、新方法、新进展,对涉及基础生物学课程的实验有较完整的介绍,并尽可能使各实验课程的内容之间既有相互联系又不交叉重复。在内容的编排上既考虑学科的课程体系,也兼顾农业院校各专业的需要;既依据现有的实验室条件,也按照实验课程的学时设置;既有经典性实验,也有综合性和设计性实验。

教材的编写人员均为长期在基础生物学实验教学一线的老师,具体分工为《植物学分册》由何金铃老师编写,《动物学分册》由詹永乐老师编写,《微生物学分册》由陈晓琳老师和赵海泉老师编写,《生物化学分册》由金青老师编写,《植物生理学分册》由张玉琼老师编写,《细胞生物学分册》由郭宁老师和蔡永萍老师编写,《遗传学分册》由郭宁老师编写,赵海泉老师和蔡永萍老师负责统稿和审稿。

在教材编写的过程中得到了安徽农业大学教务处、生命科学学院和中国农业大学出版社诸多老师的支持和帮助,在此,我们一并表示衷心的感谢。

由于我们的水平有限,加上对实行学分制理解认识的局限,书中的不妥之处在所难免,敬请批评指正。

赵海泉

2008年5月

# 前 言

微生物学是农业院校相关专业重要的学科基础课程,是学习相关后续专业课程必要的前提。微生物学技术不仅是微生物学进展的基石,也为整个生命科学技术做出了重要的贡献,随着分子生物学技术的不断发展,极大地丰富了微生物学实验技术的内容;同时微生物学实验技术和方法也已广泛地渗透到现代生命科学的各分支领域,掌握微生物学的实验技术、基本原理以及研究过程对了解微生物学的基本理论是非常重要的。开设微生物学实验课程,不仅可以使学生加深对微生物学基本原理、基础知识的理解,而且对培养学生分析问题、解决问题的能力 and 严谨的科学态度以及提高科研技能等都具有十分重要的作用。

为适应学校的教学改革,在涉及微生物学各相关专业人才培养方案中,微生物学理论课与实验课教学时数大幅缩减情况下,积极调整教学内容,不断更新教学手段,力求做到减课时不减质量,减课堂教学不减能力培养,编辑了适合现行教学体制的微生物学实验教学指导书。

根据我校的学分制改革需要,微生物学实验分册包括四项重要的基本实验技术,即无菌操作技术、显微技术、纯种分离技术和纯培养技术,体现了微生物学实用的技术方法,同时注重传统、经典技术理论与现代新兴技术的结合。教学计划 30 课时,分 10 次进行。实际教学安排可根据各专业要求,从中予以选择、调整。

为兼顾不同专业对微生物学知识与实验技能的需求,充分考虑学生的学习能力与兴趣差异,本书在传统的验证性实验的基础上,增加了一定比例的综合性和设计性实验。本教学指导书的主要目的,通过微生物学实验和操作技能让学生巩固和加深理解理论课知识,熟悉和掌握实验和操作技能,培养学生独立分析问题和解决问题的能力,培养严谨的科研作风,锻炼学生的自学能力;进一步启发和提高学生的创造意识和创新能力。

本书注重知识的系统性,力求做到编排合理、层次清晰、概念准确、内容简练、方法实用、便于教学。

本书包含了微生物学教研室全体老师们的丰富经验,同时也融合了编者多年从事微生物学教学实践的心得与对一些实验方法的改进所做的有效尝试。

书中借鉴了国内一些优秀教材与资料,在此表示衷心的感谢!对于同仁们对本书的编写所给予的关心、支持与帮助表示衷心感谢!

# 目 录

微生物学实验室规则	( 1 )
实验一 油镜的使用	( 2 )
实验二 微生物学实验的无菌操作	( 8 )
实验三 简单染色法	( 11 )
实验四 革兰氏(Gram)染色法	( 13 )
实验五 细菌特殊染色法	( 15 )
实验六 微生物细胞大小的测定	( 19 )
实验七 细菌培养特征的观察	( 22 )
实验八 蓝细菌(蓝藻)形态的观察	( 24 )
实验九 放线菌形态及其菌落特征的观察	( 26 )
实验十 霉菌形态及其菌落特征的观察	( 29 )
实验十一 酵母菌形态及其菌落特征的观察	( 32 )
实验十二 培养基的制备	( 34 )
实验十三 消毒和灭菌	( 40 )
实验十四 微生物的分离与纯化	( 46 )
实验十五 紫外线对微生物的影响	( 50 )
实验十六 化学药剂对微生物的影响	( 52 )
实验十七 实验室环境和人体表面微生物检查	( 54 )
实验十八 微生物细胞数量的镜检计数法	( 57 )
实验十九 微生物细胞数量的平板培养计数法	( 60 )
实验二十 大肠杆菌生长曲线的测定	( 63 )
实验二十一 质粒的转化	( 65 )
附录一 教学常用培养基	( 67 )
附录二 教学常用染色液及封片剂	( 71 )
参考文献	( 74 )

# 微生物学实验室规则

- 一、上课不迟到、不早退、不无故旷课,衣着整洁,不准随意调换座位,不准大声喧哗,不乱倒废液、乱丢废物。
- 二、认真学习、遵守实验室安全条例。
- 三、实验前应认真预习实验指导,经教师指导后方可进行实验操作。
- 四、使用精密、贵重仪器,必须了解其性能和操作方法,在老师指导下操作。
- 五、因故损坏仪器,要及时报告,并要给予赔偿;对情节严重者给予纪律处分。
- 六、实验中要认真记录数据和现象,独立完成实验报告。
- 七、若发生意外事故,应保持沉着,及时抢救,并迅速报告,以便妥善处理。
- 八、实验完毕,应洗涤器皿、整理台面;值日生要处理废物、清扫地面;验收合格后方可离开实验室。

# 实验一 油镜的使用

## 一、实验目的与原理

1. 目的:学习并掌握油镜的原理和使用方法,复习普通光学显微镜的结构、各部分的功能和使用方法。

2. 原理:微生物的个体很小,要观察微生物个体的形态及其特殊的繁殖方式,需用放大倍数较高的显微镜。因此,显微镜的使用在微生物学工作中极其重要,只有正确掌握显微镜的低倍镜、高倍镜、油镜的使用方法,才能研究和观察微生物的形态。本实验即通过对细菌染色涂片标本的观察,练习并掌握油镜的正确使用方法。

(1)光学显微镜的结构:光学显微镜是由机械系统和光学系统组成(图 1-1)。

①机械系统:显微镜的机械系统是整个显微镜装配的骨架,是安装光学系统的基座。显微镜的机械部件包括镜座、载物台、物镜转换器、镜筒和调节器等。

镜座:镜座是显微镜的基本支架,它由底座和镜臂两部分组成。在它上面连接载物台和镜筒,它是用来安装光学放大系统部件的基座。

载物台:又称镜台,是载放被观察标本的地方。在用低倍镜观察样品时(如平皿上的菌落),用手移动样品就可以了,如用高倍镜或油镜观察时,用载物台上的压片夹固定样品。较好的显微镜则是用标本移动器(或称推进器),转动旋钮,可以使标本前、后、左、右移动。有的标本移动器带有标尺,可指明标本所在位置。

粗、细调节旋钮:粗调节旋钮和细调节旋钮是调节镜筒或载物台上下移动的装置,以达到调焦的目的。一般较好的显微镜,其粗、细调节旋钮是共轴式的,在细调节旋钮的外侧还刻有分度,可用于测量被检物体的厚度。

物镜转换器:它是装配物镜用的,可以装配 4~6 个物镜。由于观察样品时,需要从低倍镜转向高倍镜以至油镜。因此,在物镜转换器上按顺序安装一套不同放大倍数的物镜,使用起来很是方便。

镜筒:从物镜的后缘到镜筒尾端的距离称机械筒或筒。因为物镜的放大率是对一定的镜筒长度而言的。镜筒长度变化,不仅放大倍率随之变化而且成像质量也受到影响。因此,使用显微镜时,不能任意改变镜筒长度。国际上显微镜的标准筒长定为 160 mm,此数字标在物镜的外壳上。



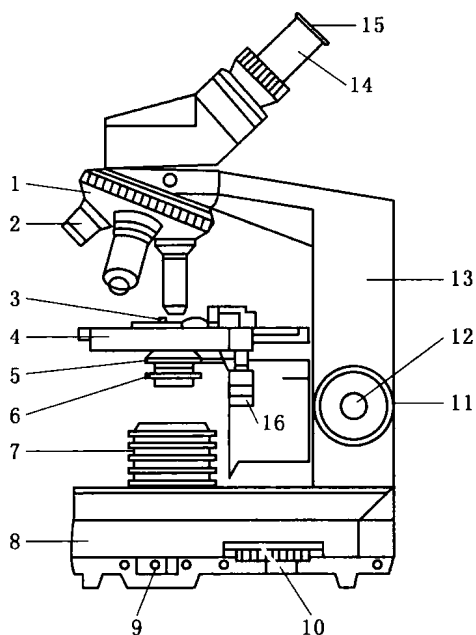


图 1-1 光学显微镜构造示意图

1. 物镜转换器 2. 物镜 3. 游标卡尺 4. 载物台 5. 聚光器 6. 虹彩光圈 7. 光源  
 8. 镜座 9. 电源开关 10. 光源滑动变阻器 11. 粗调螺旋 12. 细调螺旋  
 13. 镜臂 14. 镜筒 15. 目镜 16. 标本移动螺旋

②光学系统:显微镜的光学系统包括反光镜、聚光器、物镜和目镜等(图 1-2)。

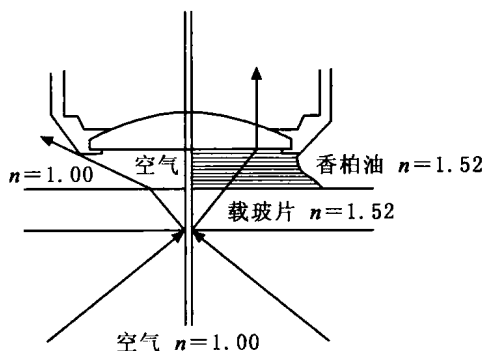


图 1-2 油浸物镜的原理

左侧为左干燥系透镜;右侧为油浸透镜

**反光镜:**反光镜是普通显微镜的取光设备,它有两面,一面是平面镜,另一面是凹面镜,镜体安装在弧弓上,可自由翻转以调整位置,使光线射向聚光器。无聚光器的显微镜,在使用低倍物镜时可用平面镜,用高倍物镜时则用凹面镜。在有聚光器的显微镜中,无论使用低倍或高倍物镜时都应使用平面镜,如在微弱光线下不得已才使用凹面镜。

**聚光器:**聚光器安装在载物台下,其作用是将光源经反光镜反射来的光线聚焦样品上,以得到最强的照明,使物像获得明亮清晰的效果。聚光器的高低可以调节,使焦点落在被检物体上,以得到最大亮度。一般聚光器的焦点在其上方 1.25 mm 处,而其上升限度为载物台平面下方 0.1 mm。因此,要求使用的载玻片厚度应在 0.8~1.2 mm 之间,否则被检样品不在焦点上,影响镜检效果。聚光器前透镜组前面还装有孔径光阑,它可以开大和缩小,影响着成像的分辨率和反差,若将孔径光阑开放过大,超过物镜的数值孔径时,便产生光斑;若收拢孔径光阑过小,分辨率下降,反差增大。因此,在观察时,通过孔径光阑的调节再把视场光阑(具备视场光阑的显微镜)开启到视场周缘的外切处,使不在物视场内的物体得不到任何光线的照明,以避免散射光的干扰。

**物镜:**安装在镜筒前端物镜转换器上的透镜,利用光线使被检物体第一次造像,因而直接关系和影响成像的质量,对分辨率有着决定性的影响。

**目镜:**目镜的作用是把物镜放大的实像再放大一次,并把物像映入观察者的眼中。目镜的结构较物镜简单。普通光学显微镜的目镜通常由两个透镜组成,上端的一块透镜称“接目镜”,下端的透镜称“场镜”。上下透镜之间或在两个透镜的下方,装有由金属制的环状光阑或叫“视场光阑”,物镜放大后的中间像就落在视场光阑平面处,所以其上可安置目镜测微尺。

普通光学显微镜常用的目镜为惠更斯目镜(Huygens eyepiece),如果要进行研究用时,一般选用性能更好的目镜,如补偿目镜(K)、平场目镜(P)、广视场目镜(WF)。照相时选用照相目镜(NFK)。

## (2) 光学显微镜的基本原理

①物镜的性能:可以从物镜外壳上标志着的数值孔径(numerical aperture,简称为 NA)大小来表示。NA 是指物镜前透镜与被检物体之间介质的折射率( $n$ )和镜口角( $\alpha$ )(图 1-2)半数的正弦之乘积,可用公式表示:

$$NA = n \cdot \sin \alpha / 2$$

数值孔径的大小又是衡量一台显微镜分辨率强弱的依据。分辨率是指显微镜能辨别物体两点之间的最小距离。用  $D$  表示,其公式如下:

$$D = \frac{\lambda}{2NA}$$

式中： $D$ ——分辨率；

$\lambda$ ——所用光源波长；

$NA$ ——数值口径。

从公式中可看出， $NA$  愈大，或观察时所用光波愈短，则分辨率愈小。

### ②降低分辨率的措施

选择波长较短的光源：在使用可见光（如卤素灯或钨丝灯）作光源时，可加蓝色滤光片以吸收长波的红、橙光，使波长接近于平均波长（ $0.55 \mu\text{m}$ ）。如果使用波长为  $0.27 \mu\text{m}$  的紫外光为光源，其分辨率可降低 2 倍。

增大介质的折射率：空气折射率为 1.0，水折射率为 1.33、玻璃折射率为 1.52，香柏油折射率为 1.51。所以在观察细菌形态时，都使用油浸物镜，目的是利用香柏油与玻璃的折射率近似的特性，以减少光线从一介质进入另一介质时产生折射而散失（图 1-2）。可增强视野的亮度和降低分辨率。

增大物镜的镜口角：但其极限值最大也难达到  $180^\circ$ ，改变的余地很小。

增加明暗反差：使标本的明暗对比增强，这也是提高清晰度的一项措施。

③物镜种类：物镜的种类很多，可从不同角度来分类，根据物镜前透镜与被检物体之间的介质不同，可分为干燥系物镜，以空气为介质，如常用的  $40\times$  以下的物镜。数值孔径均小于 1；油浸系物镜，常以香柏油为介质，此物镜又叫油镜头，其放大率为  $90\sim 100\times$ ，数值孔径值大于 1。

根据物镜放大率的高低，可分为：

低倍物镜：指  $1\sim 6\times$ ， $NA$  值为  $0.04\sim 0.15$ ；

中倍物镜：指  $6\sim 25\times$ ， $NA$  值为  $0.15\sim 0.40$ ；

高倍物镜：指  $25\sim 63\times$ ， $NA$  值为  $0.35\sim 0.95$ ；

油浸物镜：指  $90\sim 100\times$ ， $NA$  值为  $1.25\sim 1.40$ 。

## 二、实验用品

1. 菌种：枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)，四联球菌 (*Micrococcus sp.*) 的玻片标本。
2. 试剂：香柏油，二甲苯。
3. 器材：显微镜，擦镜纸，接种环，载玻片，吸水纸等。

### 三、实验内容与操作

#### (一)调节光照

油镜观察标本时,光度宜强,可将光圈开大,聚光器上升到最高,反光镜调至最强。未染色标本。在低倍镜或高倍镜观察时,应适当地缩小光圈,下降聚光器,调节反光镜,使光度减弱,否则光线过强不易观察。

#### (二)观察

低倍镜观察:低倍物镜( $8\times$ 或 $10\times$ )视野面广,焦点深度较深,为易于发现目标确是检查位置,故应先用低倍镜观察。

高倍镜观察:将高倍镜( $40\times$ )转至镜筒下方(在转换物镜时,要从侧面注视,以防低倍镜未对准焦距而造成镜头与玻片相撞)。调节光圈和聚光镜,使光线亮度适中,再仔细反复转动微调螺旋,调节焦距。获得清晰物像,仔细观察细菌的运动性或细菌染色标本,再移动十字推动器选择最满意的镜检部位将染色标本移至视野中央,待油镜观察。

油镜观察:细菌或其他标本的微细结构,都需要用油镜( $90\times$ 或 $100\times$ )观察。由于物镜放大倍数与其焦点距离长度相反,即物镜放大倍数越高,其工作距离越短。一般油镜的工作距离在 $0.15\text{ mm}$ 左右,故使用油镜必须特别小心。

具体操作步骤如下:

上升聚光器,全开虹彩光圈;用粗调螺旋提起镜筒,转动转换器将油镜转至镜筒正下方。

在标本镜检部位滴上1滴香柏油。右手顺时针方向慢慢转动粗调螺旋,使镜筒下降,并及时从侧面注视使油镜浸入油中,直到几乎与标本接触时为止(注意切勿压到标本,以免压碎玻片,甚至损坏油镜头)。

左眼看目镜,右手反时针方向微微转动粗调螺旋,上升镜筒(注意:此时只上升镜筒,不能向下转动),当视野中有模糊的标本物像时,改用细调螺旋,并移动标本直至标本物像清晰为止。

如果向上转动粗调螺旋已使镜头离开油滴又尚未发现标本时,可重新按上述步骤操作,直到看清物像为止。

#### (三)镜检后显微镜的保养

油镜使用完毕后,必须用擦镜纸擦去镜头上的油,再用擦镜纸蘸少量二甲苯擦镜头,随即用另一片擦镜纸将镜头上残余的二甲苯擦净。否则粘固透镜的胶质会被二甲苯溶解,日久镜片易移位脱落。

下降聚光器,打开光圈,垂直反光镜,以免积聚灰尘。

用绸布将镜身擦拭干净(切不可用手揩擦),去除灰、油污、水汽,以免生锈长霉。

显微镜各部件归位,镜台上垫放干净的专用绸布或纱布,落下镜筒,使物镜呈“八”字形置于载物台上,压住绸布,罩上镜套,然后放回镜箱中。

#### 四、注意事项

1. 显微镜应存放在干燥阴凉的地方,不要放在强烈的日光下暴晒,梅雨季节应在镜箱内放置干燥剂(硅胶),如长时间不用,则光学部分应卸下放在干燥器中,以免受潮生霉。

2. 显微镜应严禁与挥发性药品或腐蚀性药品放在一起,如碘片、醋酸、盐酸、硫酸等。

3. 在使用油镜时,如果按上述操作步骤未发现目的物,则可能是由于油镜上升太快,眼睛未捕捉到一闪而过的物像,应重新操作。另外,应特别注意下降油镜镜头时,切勿用力过猛以免损坏镜头和载玻片。

#### 五、作业与思考题

1. 用油镜观察标本时为何不可用调节螺旋向下转的方法来寻找目的物?
2. 使用油镜观察标本时为何要加香柏油?

# 实验二 微生物学实验的无菌操作

## 一、实验目的与原理

1. 目的:认识无菌操作的重要性,掌握无菌操作技术。

2. 原理:微生物学实验中的许多工作,包括移植、接种等,都需要在无菌的或不被杂菌污染的条件下进行,才能保证做到纯培养。因此,无菌操作是微生物学实验的一项重要的基本操作。

## 二、实验用品

1. 培养基:牛肉膏蛋白胨斜面培养基。
2. 器材:接种环,接种针,酒精灯等。

## 三、实验内容与操作

虽然由于工作目的和所用材料不同,无菌操作的具体操作有所差异,但在基本动作上则是一致的。图 2-1 所示的是在移植试管斜面菌种时的 4 个基本操作。操作要点如下:

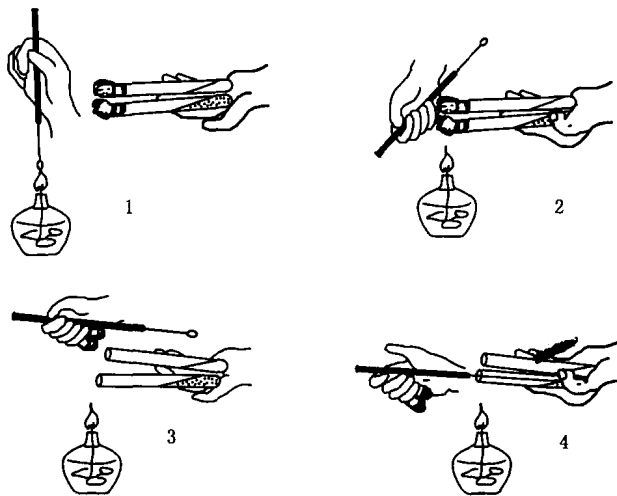


图 2-1 移植试管斜面菌种的基本操作

1. 左手平托两支试管, 拇指按住试管的底部, 外侧一支试管是斜面上长有菌苔的菌种试管, 内侧一支是有空白斜面的试管。

2. 右手持接种环, 用拇指、食指和中指把住柄部。先垂直将环向下, 在酒精灯(或煤气灯)火焰上将白金丝(或镍铅丝)烧红。然后斜持着将杆部在火焰上慢慢通过, 往复一次。只是能烧到需进入试管的部分就行, 而且不需烧红。因为当金属杆通过火焰被烧灼时, 上面如果附有杂菌, 不被烧死, 也已被固定, 不致造成污染(如图 2-1, 图 2-2 接种环的火焰灭菌步骤)。

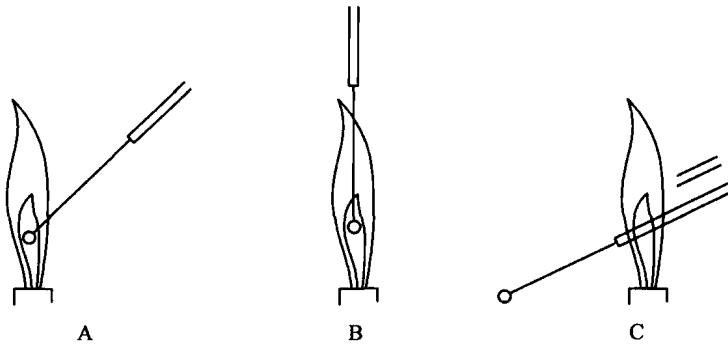


图 2-2 接种环或针的火焰灭菌

3. 将两支试管的上端并齐, 靠近火焰(必要时也可使用两个灯焰)。用右手小指和掌心将两支试管的棉塞一并夹住拔出棉塞后仍夹在手中, 立即将两支试管的管口同时放到火焰上烧灼, 但不要烧得太久。也可用右手小指和掌心夹住里侧试管的棉塞。拔出之后, 将管口放到火焰上, 再用无名指和小指夹住外侧试管的棉塞, 拔下之后, 将两支试管管口同时放到火焰上。

4. 将烧灼过的接种环伸入外侧的菌种斜面试管内。先把接种环的先端触及无菌苔的培养基上, 使其冷却, 再根据需要以环(或钩)蘸取一定量的菌苔(注意勿刮破培养基)。将沾有菌苔的接种环抽出试管, 注意勿使接种环碰到管壁或管口。

5. 迅速将接种环伸入里侧的试管, 将沾有菌苔的金属环落于空白斜面的底部, 轻轻向上划线(直线或曲线, 根据需要确定)。

6. 将两支试管的管口在火焰上烧灼, 并把右手所持的两个棉塞一并或分别塞回各自的试管。必要时可将棉塞底部通过火焰, 使其微燃, 然后立即塞入试管内, 当即熄灭。

7. 将沾有菌苔的接种环在火焰上烧红灭菌。应先在内焰中烧灼, 使其干燥后, 再在外焰中烧红, 以免菌苔骤热, 会使菌体爆溅, 造成污染。

#### 四、注意事项

1. 接种环刮取菌种时要完全冷却。
2. 注意勿划破培养基表面,也勿将菌苔碰到管壁上。

#### 五、作业与思考题

1. 简述无菌操作的重要意义。
2. 无菌操作要注意什么问题?



# 实验三 简单染色法

## 一、实验目的与原理

1. 目的：学习细菌涂片、制片、染色技术，掌握简单染色法，观察细菌的基本形态，巩固无菌操作技术和油镜使用方法。

2. 原理：细菌菌体无色透明或半透明，必须借助于染色法，使细菌着色，以增加菌体的显示力。细菌细胞含有很多核酸，所以一般染色多用碱性染料，如美蓝(methylene blue)，碱性复红(basic fuchsin)，结晶紫(crystal violet)，孔雀绿(malachite green)，番红(safranin O)等。

## 二、实验用品

1. 菌种：枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)，四联球菌(*Micrococcus sp.*)。
2. 试剂：番红染色液，结晶紫染色液，香柏油，二甲苯。
3. 器材：显微镜，酒精灯，载玻片，接种环，吸水纸，擦镜纸等。

## 三、实验内容与操作

制备细菌染色涂片流程：

涂片 → 干燥 → 火焰固定 → 染色 → 水洗 → 干燥 → 油镜观察。

### (一) 涂片

取干净玻片，于中央加蒸馏水一小滴，将接种环在火焰上灼烧灭菌，冷却后，取试管斜面菌种一支，用无菌操作法将接种环从菌种管表面轻轻挑取细菌少许(注意：不要挑破培养基)，涂在玻片水滴中成直径约  $1\text{ cm}^2$  均匀的薄层。如果是液体培养物则不必加水，直接取菌液 1~2 环涂片。接种环经灭菌后放回原处。

### (二) 干燥

将涂片于空气中自然干燥，或将涂片置于火焰高处微热烘干，但不能直接在火焰上烘烤，以免菌体变形。

### (三) 固定

将已干燥的涂片有菌面向上，迅速通过火焰 2~3 次，使菌体固定于玻片上。固定的目的是将细菌杀死，使细菌黏附在玻片上，染色时不致脱落，同时改变菌体