

簡明細菌學實驗教程

甘景鎬編



簡明細菌學實驗教程

甘景鎬編

復生醫藥書局經售
上海南京西路茂名北路口

新農出版社出版

簡明細菌學實驗教程

著作
權證

編 者 甘 景 鎬

發行委員會 邵霖生 余松烈 鄭廣華
林子琦 高順濤

發 行 者 新 農 出 版 社
上海天津路212弄20號305室

印 刷 者 協 鑫 印 刷 所
北京西路169號電話··66160

定 價 人 民 幣 六 〇 〇 〇 元

公曆一九五一年五月初版

1-1000

目 次

顯微鏡.....	1
一般培養法.....	3
實驗一 純粹培養.....	5
實驗二 簡單染色法.....	7
實驗三 格蘭氏染色法.....	9
實驗四 細菌的動態.....	11
實驗五 鞭毛染色法.....	13
實驗六 芽胞染色法.....	15
實驗七 莢膜染色法.....	17
實驗八 耐酸菌染色法.....	19
實驗九 明膠培養法.....	21
實驗十 細菌對於染料的選擇反應.....	23
實驗十一 細菌怎樣消化蛋白質.....	25
實驗十二 鹼性培養基的選擇作用.....	27
實驗十三 細菌產生吲哚的試驗.....	29
實驗十四 細菌代謝生酸和氣體.....	31
實驗十五 細菌還元硝酸鹽的作用.....	33
實驗十六 太陽光和細菌生長的關係.....	35
實驗十七 厭氣培養.....	37
實驗十八 乾燥程度對於細菌生長的影響.....	39
實驗十九 熱對於細菌繁殖的影響.....	41
實驗二十 防腐劑對於細菌的影響.....	43
實驗二十一 空氣裏的細菌.....	45
實驗二十二 食物裏的細菌.....	47
實驗二十三 水裏細菌檢查法.....	49
實驗二十四 牛乳細菌分析.....	51
實驗二十五 植物細菌檢驗法.....	53

實驗二十六 噬菌體.....	55
實驗二十七 抗體原和抗毒素反應.....	57
實驗二十八 未知種類的細菌檢驗法.....	59
附 表	
破傷風桿菌在乾熱和濕熱環境下滅菌所需要的時間.....	61
巴士德滅菌法對於牛乳菌的成效.....	61
動物病原菌的石炭酸滅菌係數.....	62



顯微鏡的目的是觀察肉眼所不能見到的東西。它是由許多透鏡組合而成的，經過透鏡的作用，能够逐漸放大倍數。

學生在實驗室裏，第一步需要先觀察顯微鏡的構造，而且必需按照教師事前演講和示教所述的綱要來瞭解各部的功用。

顯微鏡的主要部份(參攷圖一)

是：

- (1) 附有傾斜接頭的基座。
- (2) 支持顯微鏡筒的臂。
- (3) 顯微鏡兩端的透鏡：

(甲)目鏡，5X或10X(4X或7X)。

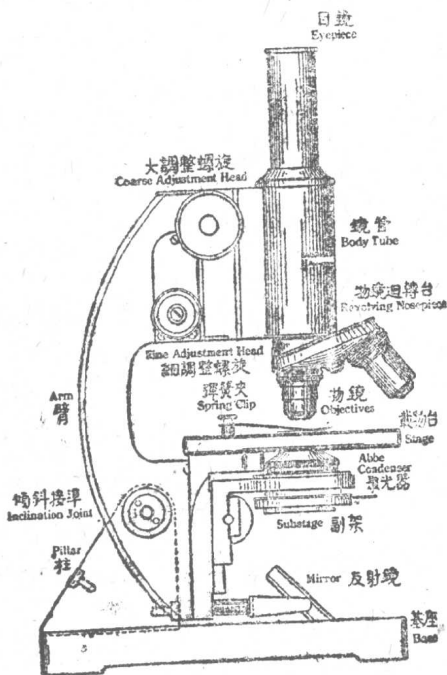
(乙)接物鏡：

(子)低度鏡(記有16 mm.)。

(丑)高度鏡(記有4 mm.)。

(寅)油浸鏡(記有1.9 mm.)。

(丙)附有公毫米刻度的抽筒。



圖一 顯微鏡

(丁)可以旋轉的接物鏡座。

(4) 調節螺旋：

(甲)精細螺旋(螺旋每旋轉一週，顯微鏡筒可以上昇或下降約0.5mm.)

(乙)粗螺旋。

(5) 載物台：

(甲)按載玻片用的夾。

(乙)台下調節光線的彩簾。

(丙)台下附有反射光線的鏡架；兩面分別配裝平面鏡和凹面鏡。

(丁)聚光器。

細菌學研究最常用的是油浸鏡。就是用一滴油放在接物鏡和觀察對象中間；這樣地可以減低光線損失，使觀察比較明顯，倍數也可增加到 950—1000 倍。

實驗時，從貯存室或是你的保管櫃裏拿出一具顯微鏡；詳細研究它的構造。

從下表計算出你的顯微鏡由於各種透鏡配合而成的放大倍數：

接物鏡	原來放大的倍數	接目鏡	放大倍數
16mm.	10	5X	50
4mm.	44	5X	220
16mm.	10	10X	100
4mm.	44	10X	440
1.9mm.	95	10X	950

使用顯微鏡觀察時應守的規則

1. 觀察目的物的時候，必要用蓋玻片隔離，不可使目的物和接物鏡直接接觸。
2. 在轉用高度接物鏡的時候，必須把鏡筒稍為提高。
3. 在檢視目的物尋求焦點的時候，僅可以用精細螺旋校準。
4. 在實驗觀察的時候，如果要用圖畫畫出你所看見的目的物，千萬不要畫草圖；而應該在觀察的時候，直接把詳圖畫出來。
5. 畫圖的時候，為着要詳細標示所看見的目的物，應該畫出比顯微鏡下觀察更大的圖畫。
6. 畫出的圖應該儘量詳盡。
7. 第一步觀察應該先用低度鏡，以後：

(甲)把粗螺旋旋轉四分之一圈，讓鏡筒稍為提高；

(乙)把高度鏡或是油浸鏡轉過來；

(丙)用油浸鏡的時候，應該先把一滴油放在蓋玻璃上面；

(丁)把鏡筒移到距離蓋玻璃僅有一綫之薄的距離；

(戊)從目鏡觀察，同時徐徐轉動精細螺旋，使目的物觀察清楚。

在旋動螺旋的時候，千萬注意不可以粗率動作，要是讓接物鏡太靠近目的物，可能壓破接物鏡裏的透鏡。

一般培養法

碟中培養法(Plate cultures)

實驗裏保存的滅菌培養基，均是貯在試管裏；要把它移到培養碟裏，必需按照下列程序：

(1)把貯有培養基的試管放在貯存熱水的燒杯裏加熱，使培養基溶解。瓊脂培養基需要加熱到 100°C ，明膠培養基僅需 40°C 。

(2)把試管裏的培養基審慎傾入培養碟裏，碟口除需要開放的程度外，不要開得太大。

明膠培養基必需用冷水或放在冰箱裏凝冷。瓊脂培養基在 42°C 下即會凝固。

培養碟接種法

1. 劃線培養法(Streak culture)

把接種針的頭搖成圓形，把培養的菌液或是固體菌落挑起少許，按照指示方法劃在培養碟的瓊脂培養基上面。

2. 調合培養法(Pour culture)

把要接種的細菌加入到貯有液態瓊脂培養基(冷到 50°C)的試管裏，把試管震盪使菌在試管裏均勻地分佈，在還沒有凝固的時候，即傾入培養碟裏。

明膠培養基

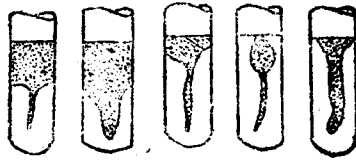
1. 什麼是明膠？它是澱粉、蛋白質或是糖？
2. 從參考書裏找出明膠用作培養基的歷史。
3. 我們從什麼地方製造明膠？
4. 舉出幾種含有明膠的食品。

有的細菌可以使明膠液化，有的不能。液化的現象表示這種細菌能夠消化明膠作為營養料。凡不能使明膠液化的細菌，僅會利用培養基裏的肉羹作為營養

料。

液化明膠的方式和程度，常常可以用來幫忙判別細菌的種類。

由下面圖解可以看到液化的方式：



成層型 擴散型 噴泉型 縮毛型 囊型

圖二 凝膠液化的圖式

實驗一 純粹培養

目的：練習怎樣從純粹培養取出細菌，接種入殺菌的培養基。

方法：仿照教師示教的方法，練習接種的方法。

(a) 取二管斜面瓊脂(Agar-slant)，分別接種下列四種純粹培養菌中的任二種。

(1) 金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)

(2) 白色葡萄球菌(*Staphylococcus albus*)

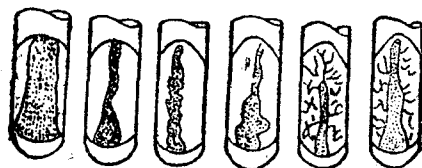
(3) 枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)

(4) 普通變形桿菌(*Proteus vulgaris*)

(d) 把接種成功的試管放在孵養器(Incubator)裏培養。

(c) 經過四十八小時後，觀察培養的成果。

報告：按附列圖解註出你培養成果生長的方式。



展佈型 柱型 枯枝型 串珠型 地下莖型 樹枝型

圖三 純粹培養或斜面培養發育的型式

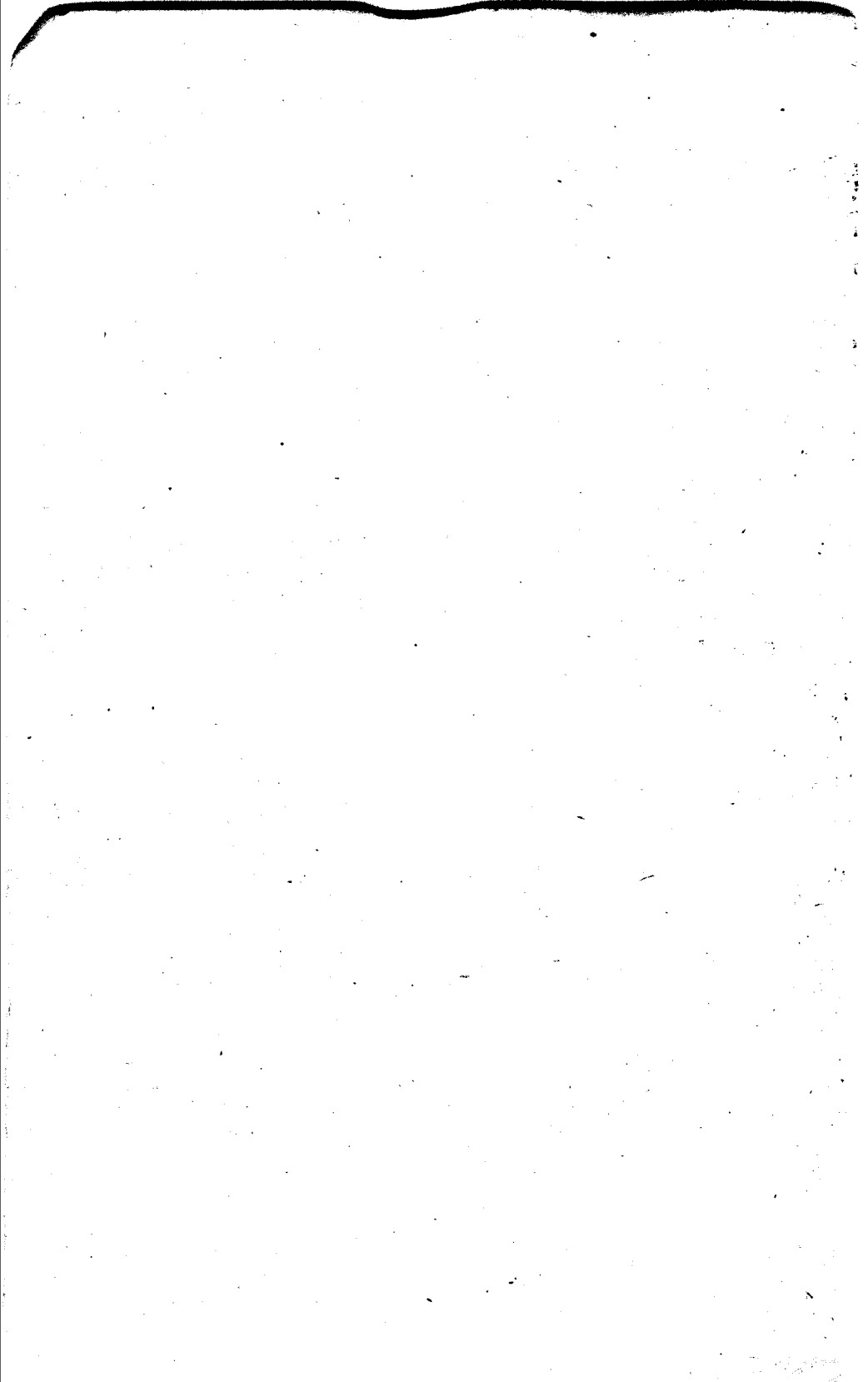
實驗二 簡單染色法

目的：練習研究細菌應用的染色技術。

方法：潔淨一片載玻片，把它放在本生爐上，使片的中部和焰尖接觸約四秒鐘，這樣可以把可能附着在片上的黏性物質燒去。在片的中央放自來水一滴。假使水滴不會向旁散佈而凝聚成圓圈的一滴，便表明玻片還沒有潔淨；要重新洗淨。假如水滴可以很快分散，就用白金耳放上一滴肉羹，把玻片放在火焰上用微火往返微熱使它乾燥。

在玻片上乾燥的薄膜上面加了一滴龍胆紫(Gentian violet)染液；其他染液如曙紅(Eosin)一品紅(Acid fuchsin)或是甲烯藍(Methylene blue)也可以。滴上後保持45秒鐘，把玻片用淨水沖洗，在這薄膜上加一滴油，用顯微鏡觀察。

報告：將觀察所得作成報告。



實驗三 格蘭氏染色法

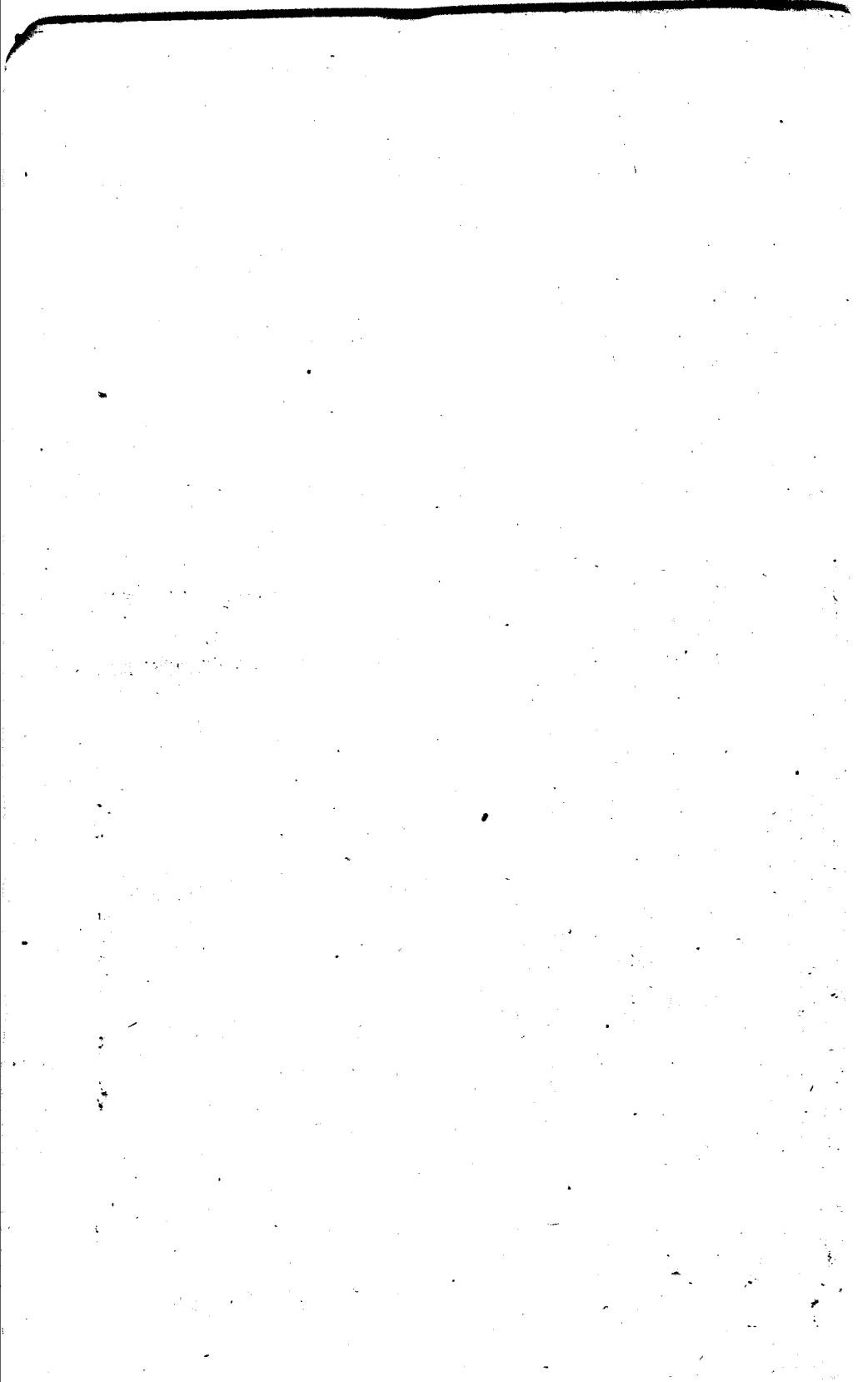
目的：練習格蘭氏(Gram)染色法。

方法：用實驗第一其所培養的四種菌，按照實驗第二的方法都製成薄膜。按照下法用格蘭氏法染色

1. 在薄膜上放上幾滴的格蘭氏龍膽紫染液，經30分鐘後，沖洗。
2. 施用羅果碘液(Lugol's iodine solution)，一分鐘後沖洗。
3. 用95%酒精脫色，10—15分鐘後洗去酒精。
4. 用曙紅(水溶液)複染45秒鐘後，沖洗。
5. 乾燥後放上一滴油，在顯微鏡下觀察。

注意：細菌會染成紫色的稱為格蘭正菌(Gram positive)；假如染上復染液後，稱為格蘭負菌(Gram negative)。

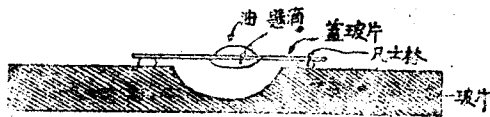
報告：畫出顯微鏡下觀察的菌形，註上名稱，并紀錄它們對於格蘭氏染液的着色反應。



實驗四 細菌的動態

目的：研究細菌的動態。

方法：取凹面載玻片(Depression slide)一片，用凡士林塗佈筒(Vaseline gun)在凹面載玻片凹井周圍塗上一環的凡士林，在凹井裏放入一滴帶有生存細菌的培養基，照下法放上蓋玻璃。



圖四 懸滴觀察法

輕輕把蓋玻璃按下，使凹井和外面環寬隔絕，這樣可以避免菌滴乾燥起來。在蓋玻璃上放上一滴油，在顯微鏡下觀察。

報告：用圖畫畫出能動和不能動的細菌形狀，再用簡單圖解畫出細菌活動的徑路。

