

国家级实验示范中心配套教材

微生物学实验

Microbiology
ExperimentS

杨民和 主编



科学出版社

微生物学实验

Microbiology Experiment

第四版 李彬

中国农业大学出版社

国家级实验示范中心配套教材

微生物学实验

杨民和 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书共分八章,第一章介绍微生物的个体形态观察;第二章为微生物的分离和纯培养;第三章为微生物的生长和数量的测定;第四章为微生物的生理生化反应;第五章为微生物的遗传与育种;第六章为细菌的血清学鉴定;第七章为分子微生物学基础;第八章为应用微生物学实验,总计61个实验。最后为附录,包括常用微生物名称、常用培养基配方、常用试剂和溶液的配制、常用染色液和配制等。

本书为大学本科微生物学实验教材,供高等学校生物科学、生物技术、生物工程、发酵工程、植物科学和生产类各专业学生及科研、生产单位相关人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验 / 杨民和主编. —北京: 科学出版社, 2012.7
国家级实验示范中心配套教材

ISBN 978-7-03-034716-9

I. ①微… II. ①杨… III. ①微生物学 - 实验 - 高等学校 - 教材 IV.
①Q93.33

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第121876号

责任编辑: 陈 露 封 婷 刘 晶 / 责任校对: 何艳萍
责任印制: 刘 学 / 封面设计: 殷 靓

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年7月第 一 版 开本: B5 (720 × 1000)

2012年7月第一次印刷 印张: 11 1/4

字数: 208 000

定价: 25.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《微生物学实验》编辑委员会

主 编 杨民和

副主编 龙中儿 郑 毅

编 委 (按姓氏笔画排序)

龙中儿 付学琴 刘春雷 汤鸣强

杨民和 吴文林 张丹凤 林标声

易 龙 周 强 郑 毅 黄运红

黄鹭强 蒋咏梅 游清徽

前 言

微生物学作为一门学科，起源于人类长期的生产实践，对于与酿造工业、医学、农业和人类日常生活相关的微生物学问题的关注，特别是显微镜和纯培养技术的发明与使用，是微生物学创立的基础。因此，微生物学是一门实践性非常强的学科，微生物学的实验操作技术是该学科的重要组成部分。随着科学的发展，微生物学实验技术积极地向其他学科广泛渗透，为遗传学、生物化学、分子生物学和生物技术等现代学科的发展做出了重要的贡献。生命科学类专业的学生只有在学习微生物学基本理论的基础上，全面、系统地学习、掌握和实践微生物学相关的实验操作技能，才能更好地学习和理解其他学科的知识，并将生物学理论和技术应用到科学研究与生产实际中去。

在当前的师范院校中，既有像生物科学这样的师范类专业，又有像生物技术、生物工程和发酵工程一类的非师范专业。在师范院校的课程设置中，微生物学是一门专业基础课，但各个专业在对微生物学教学内容的要求上不尽相同。因此，在实验内容的选择上，本书偏重于基础实验技术，强化微生物学的基本实验技能，力求训练和提高学生实际应用微生物学理论与技术的能力。同时，为适应新形势的要求，培养学生的综合素质和创新能力，本书也安排了分子微生物学和应用微生物学的实验内容。各单位可以根据自己的实际条件和教学要求，选做相应的实验内容，并可以将相关的实验综合起来，组织研究型实验内容。

本书共分 8 章 61 个实验，包括：微生物的形态观察、分离和纯培养、生长和数量的测定、生理生化反应、遗传与育种、血清学鉴定、分子微生物学和应用微生物学等。每个实验列出实验原理、目的要求、实验器材、方法和步骤、结果与分析、注意事项和思考题等内容。书后有附录和参考资料。

2008 年，福建师范大学生命科学学院获批建设“国家级生物学实验教学示范中心”，《微生物学实验》作为国家级实验教学示范中心的配套教材之一，一直得到张彦定教授和陈寅山教授的鼓励与帮助；参编单位给予了积极的协作和配合，科学出版社给予了大力的支持。在此，谨向以上单位和个人表示衷心的感谢！

参与本书编写的成员来自福建、江西两省的部分师范院校，均为微生物学教学和科研的第一线骨干教师。本书的编写，既有我们教学和科研经验的总结，也参考了国内兄弟院校编写的实验教材。鉴于我们的业务水平有限，真诚地希望老师和同学们在使用的过程中，对书中的不足之处加以指正。

编 者

2012 年 3 月

目 录

前言

第一章 微生物的个体形态观察	1
实验 1 细菌的简单染色及形态观察	1
实验 2 细菌的革兰氏染色法	3
实验 3 细菌的芽孢染色	4
实验 4 细菌的鞭毛染色及运动性观察	6
实验 5 放线菌的形态观察	10
实验 6 霉菌水浸玻片的制备和观察	12
实验 7 霉菌分生孢子的培养和观察	14
实验 8 酵母菌子囊孢子的培养和观察	16
实验 9 伞菌菌丝体、子实体和孢子的形态观察	17
实验 10 噬菌斑的培养和观察	19
第二章 微生物的分离和纯培养	22
实验 11 玻璃器皿的洗涤和灭菌	22
实验 12 无菌操作和微生物的接种技术	24
实验 13 牛肉膏蛋白胨培养基的配制	26
实验 14 马铃薯蔗糖琼脂培养基的配制	28
实验 15 高氏 I 号培养基的配制	29
实验 16 血琼脂培养基的配制	31
实验 17 培养基的灭菌和消毒	33
实验 18 土壤中微生物的分离和纯化	36
实验 19 植物组织中微生物的分离和纯化	40
实验 20 环境中噬菌体的分离与纯化	42
实验 21 噬菌体效价的测定	45
实验 22 不同类型微生物培养特征的比较	47
实验 23 微生物的液体摇瓶培养	49
实验 24 微生物菌种保藏	50
第三章 微生物的生长和数量的测定	56
实验 25 微生物的显微计数法	56

实验 26	光电比浊计数法	59
实验 27	稀释平板菌落计数法	60
实验 28	微生物生长曲线的测定	62
实验 29	微生物细胞大小的测定	64
实验 30	环境因素对微生物生长的影响	68
第四章	微生物的生理生化反应	77
实验 31	大分子物质的水解实验	77
实验 32	糖发酵实验	80
实验 33	IMViC 和硫化氢实验	81
第五章	微生物的遗传与育种	84
实验 34	微生物的紫外线诱发突变	84
实验 35	抗药性突变株的分离	86
实验 36	营养缺陷型菌株的筛选和鉴定	88
实验 37	霉菌原生质体的制备和观察	92
实验 38	霉菌原生质体的融合	94
第六章	细菌的血清学鉴定	96
实验 39	免疫血清的制备	96
实验 40	直接凝集反应	98
实验 41	沉淀反应	101
实验 42	双向免疫扩散试验	103
第七章	分子微生物学基础	106
实验 43	细菌质粒 DNA 的小量制备	106
实验 44	感受态细胞的制备	108
实验 45	质粒 DNA 的转化	109
实验 46	DNA 重组	111
实验 47	土壤中总 DNA 的提取	114
实验 48	PCR 技术	115
第八章	应用微生物学实验	118
实验 49	水中细菌总数的测定	118
实验 50	多管发酵法测定水中大肠菌群数	120
实验 51	牛乳中细菌的检测	124
实验 52	乳酸发酵和乳酸菌饮料制作	127
实验 53	乙醇发酵及糯米甜酒的酿制	130
实验 54	抗生素效价的测定	132

实验 55	抗生素体外抑菌活性的测定——抗菌谱实验	134
实验 56	苏云金芽孢杆菌的发酵生产	137
实验 57	食用菌的分离和培养	138
实验 58	食用菌的固态发酵和栽培	143
实验 59	脂肪酶产生菌的筛选	145
实验 60	检测几种常见消毒剂的杀菌效果	148
实验 61	乳酸菌筛选及抑菌作用研究	150
参考文献		153
附录		154
附录 I	常用的微生物名称	154
附录 II	常用培养基配方	156
附录 III	常用试剂和溶液的配制	161
附录 IV	常用染色液的配制	167

第一章 微生物的个体形态观察

实验 1 细菌的简单染色及形态观察

【实验原理】

细菌菌体微小且透明，在光学显微镜下，特别是在油镜下，菌体与背景没有显著的明暗差，很难看清菌体形态。若菌体染色，则菌体折光率增大，其形态易于观察。

细菌染色的染料是一类苯环上含有发色基团和助色基团的化合物。发色基团使化合物具有染色能力；助色基团有电离特性，可以与被染物结合，使被染物着色。染色的染料分为碱性染料、酸性染料和中性染料三大类。碱性染料带正电荷，能和带负电荷的物质结合。因细菌蛋白的等电点较低，当它生长于中性、碱性或弱酸性的溶液中时常带负电荷，所以通常采用美蓝、结晶紫、碱性复红或孔雀绿等碱性染料使其着色。酸性染料带负电荷，能与带正电荷的物质结合。当细菌分解糖类产酸使培养基 pH 下降时，细菌所带正电荷增加，易被伊红、刚果红或酸性复红等酸性染料着色。中性染料又称复合染料，是前两类染料的结合物，如伊红美蓝、伊红天青等。

简单染色法是利用单一染料对细菌进行染色以显示其形态的一种方法。该方法操作简便，适于观察细菌的一般形状及排列，但不能辨别细菌细胞的构造。

【实验目的和要求】

1. 了解简单染色法的基本原理，并掌握其操作方法；
2. 掌握油镜的使用及无菌操作技术；
3. 初步认识细菌的形态特征。

【实验器材】

1. 菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)。

2. 染色液

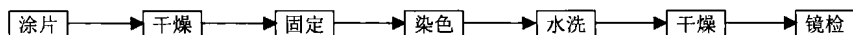
碱性美蓝染液、结晶紫染液。

3. 器材

显微镜、酒精灯、载玻片、接种环、香柏油、二甲苯、生理盐水、擦镜纸等。

【实验方法与步骤】

简单染色法的基本程序如下：

**1. 涂片**

在干净的载玻片中央滴加一小滴生理盐水或用接种环挑 3 或 4 环生理盐水，然后在无菌操作条件下，用接种环从斜面上挑取少量菌种于载玻片上的生理盐水中，混匀并涂成薄膜，涂布面积为 $1\sim 1.5\text{cm}^2$ 。

2. 干燥

涂片可以放在空气中自然干燥；若要使干燥速度加快，可在酒精灯上方加温，但勿紧靠火焰。

3. 固定

待涂片干燥后，手持涂片一端，有菌膜的一面向上，在酒精灯火焰上通过 2 或 3 次，待冷却后，再加染料。

4. 染色

将涂片水平放置，在菌膜部位滴加染色液(以恰好覆盖菌膜为宜)，染色 $1\sim 2\text{min}$ 。

5. 水洗

倾去染液，斜置涂片，用细水流的自来水冲洗(切勿用自来水直接冲洗菌膜部位)，直至洗下水呈无色为止。

6. 干燥

将水洗的涂片放在空气中晾干或用吸水纸吸干，注意不要擦擦菌体。

7. 镜检

待涂片干燥后，先用低倍镜观察，再用高倍镜观察，找出适当的视野后，将高倍镜转出，在菌膜部位上加香柏油一滴，然后将油镜头浸入油滴中仔细调焦观察细菌的形态。镜检完成后，用擦镜纸滴加二甲苯 $1\sim 2$ 滴，擦干净油镜镜头上残留的香柏油，保持镜头的干净。

【结果与分析】

绘制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的菌体形态图。

【注意事项】

1. 涂片时，生理盐水及菌体不宜过多，涂片要均匀，不宜过厚。
2. 水洗时，水流不宜过大、过急，以免涂片薄膜脱落。
3. 热固定时温度不宜过高(以玻片背面不烫手为宜)，否则会改变甚至破坏细胞形态。

【思考题】

1. 为什么染色前需要进行菌体固定？
2. 为什么固定时只能微加热？若加热温度过高、时间过长，会出现什么问题？
3. 为什么要待涂片完全干燥后才能使用油镜进行观察？
4. 为什么镜检完成后必须清除残留在油镜镜头上的香柏油？

实验 2 细菌的革兰氏染色法

【实验原理】

革兰氏染色反应是细菌分类和鉴定的一个重要特征，它是 1884 年由丹麦医生 C. Gram 创立的。革兰氏染色法(Gram stain)不仅能观察到细菌的形态，而且还可将细菌分为染色反应呈蓝紫色的革兰氏阳性(G^+)菌，染色反应呈红色的革兰氏阴性(G^-)菌。细菌对于革兰氏染色的不同反应，是由它们细胞壁的成分和结构不同而造成的。革兰氏阳性菌的细胞壁主要是由肽聚糖形成的网状结构组成的，在染色过程中，当用乙醇处理时，由脱水而引起网状结构中的孔径变小，通透性降低，使结晶紫-碘复合物被保留在细胞内而不易脱色，因此，呈现蓝紫色；革兰氏阴性菌的细胞壁中肽聚糖含量低，而脂类物质含量高，当用乙醇处理时，脂类物质溶解，细胞壁的通透性增加，使结晶紫-碘复合物易被乙醇抽出而脱色，然后又被染上了复染液(番红)的颜色，因此呈现红色。

【实验目的和要求】

1. 了解革兰氏染色法的原理及其在细菌分类鉴定中的重要性；
2. 掌握革兰氏染色方法。

【实验器材】**1. 菌种**

培养 18~24h 的大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、待测菌一种。

2. 药品

乙二酸铵结晶紫染液、卢戈氏(Lugol)碘液、95%乙醇、番红复染液、无菌水。

3. 用具

载玻片、接种环、镊子、酒精灯、火柴、洗瓶、废液缸、吸水纸、显微镜等。

【实验方法与步骤】**1. 涂片**

将培养 18~24h 的 3 种菌分别用接种环涂 3 条带于清洁载玻片上(注意涂片不宜过厚)，风干、固定(通过火焰 1 或 2 次即可，不可过热，以载玻片不烫手为宜)。

2. 染色

(1) 初染：滴加乙二酸铵结晶紫染液覆盖涂菌带，染色 1~2min，水洗至洗出液无色。

(2) 媒染：滴加卢戈氏碘液冲去残水，并覆盖约 1.0min，水洗至洗出液无色。

(3) 脱色：将载玻片上面的水用吸水纸吸干，在白色背景下滴加 95%乙醇洗至洗出液无色时(20~30s)，立即用水洗去乙醇，用吸水纸吸干。

(4) 复染：用复染剂(番红)染色 10s，水洗。

(5) 镜检：吸干或风干后，油镜观察。

【结果与分析】

实验结果革兰氏阴性菌呈红色，革兰氏阳性菌呈紫色。检视实验中 3 种菌各染成什么颜色？它们是革兰氏阴性菌还是革兰氏阳性菌？将实验结果记录在表 2-1 中。

表 2-1 革兰氏染色结果

菌名	菌体颜色	菌体形态	鉴定结果(G^+ / G^-)
大肠杆菌			
金黄色葡萄球菌			
待测菌			

【注意事项】

1. 染液要求新配制，放置时间不宜过长，卢戈氏碘液易褪色失效，必须装在棕色试剂瓶内并放于暗处保存。

2. 革兰氏染色的关键在于严格掌握 95%乙醇脱色程度，如脱色过度，则阳性菌可被误染为阴性菌；而脱色不够时，阴性菌可被误染为阳性菌，因此脱色时间一定要把握好。

3. 菌龄也影响染色结果，如阳性菌培养时间过长，或已死亡及部分菌已自行溶解，都常呈阴性反应，因此一定要确保实验菌的菌龄。

【思考题】

1. 革兰氏染色中涂片为什么不宜过厚？染色成败的关键步骤是哪一步？
2. 对未知菌种进行革兰氏染色时，如何保证染色技术操作正确、结果可靠？

实验 3 细菌的芽孢染色

【实验原理】

芽孢为某些细菌细胞在不良的环境条件下产生的休眠体，芽孢壁厚、透性低、不易着色，而一旦染上颜色以后难以脱色。

芽孢染色主要是利用不同的染料进行染色,使芽孢和营养体呈不同的颜色。在加热条件下,用着色力强的染料对芽孢进行染色,菌体也会着色,然后水洗,芽孢染上的颜色难以被洗脱,而菌体会脱色。然后用对比度大的复染剂对菌体染色,菌体染上复染剂颜色,芽孢仍为原来的颜色,因而能更明显地衬托出芽孢,便于观察。

【实验目的和要求】

1. 学习并掌握细菌的芽孢染色法;
2. 了解并观察细菌芽孢的结构和形态。

【实验器材】

1. 菌种

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*),在适宜的生长温度下培养 20h。

2. 药品

5%孔雀绿水溶液、0.5%番红水溶液、二甲苯、香柏油、蒸馏水、95%乙醇。

3. 用具

显微镜、接种环、酒精灯、载玻片、擦镜纸、吸水纸等。

【实验方法与步骤】

1. 制片

取清洁载玻片,在中央滴一滴蒸馏水,用接种环无菌操作从枯草芽孢杆菌斜面上挑一环菌置于载玻片液滴上,小液滴呈混浊状即可,并按常规方法干燥、固定(每隔几秒在酒精灯火焰上过一次)。

2. 加热染色

往载玻片滴加数滴 5%孔雀绿水溶液覆盖涂菌部位,用夹子夹住载玻片在微火上加热至染液冒蒸汽(此时计时)并维持 5.0min,加热时注意补充染液,勿让涂片干涸。

3. 脱色

待玻片冷却后,用缓流自来水冲洗至流出水无色为止。

4. 复染

用 0.5%的番红水溶液复染 1.5~2.0min。

5. 水洗

用缓流自来水冲洗至流出水无色为止。

6. 镜检

待载玻片自然干燥后(可在酒精灯火焰上每隔几秒过一次)油镜镜检,观察芽孢的形态。

【结果与分析】

按表 3-1 记录实验结果。

表 3-1 细菌芽孢形态记录表

菌种 \ 项目	菌体颜色	芽孢颜色	芽孢形状及着生位置
枯草芽孢杆菌			
生孢梭菌			

【注意事项】

1. 芽孢染色用的菌种应控制菌龄，幼龄菌尚未形成芽孢，老龄菌芽孢囊破裂。
2. 从试管中取菌液时，应先用接种环充分搅拌，然后再挑取菌液，否则菌体沉于管底，涂片时菌体太少。
3. 对芽孢进行孔雀绿染色后，一定要等玻片冷却后方可用水冲洗。

【思考题】

1. 芽孢染色法为什么需要加热？加热染色时为什么必须维持在染液微冒蒸汽的状态？
2. 脱色反应中，为什么必须用缓流自来水冲洗？

实验 4 细菌的鞭毛染色及运动性观察

【实验原理】

鞭毛是细菌的运动“器官”，细菌是否具有鞭毛，以及鞭毛着生位置和数目是细菌分类鉴定的重要依据之一。细菌的鞭毛一般都很纤细，其直径通常为 10~20nm，除了极少数能形成鞭毛束(由许多根鞭毛构成)的细菌可以用相差显微镜直接观察到鞭毛束的存在外，细菌的鞭毛一般均不能用光学显微镜直接观察到，而只能用电子显微镜观察。光学显微镜观察细菌鞭毛，必须用鞭毛染色法。

鞭毛染色方法很多，但其基本原理相同，即在染色前先用媒染剂处理，使它沉积在鞭毛上，从而使鞭毛直径加粗，然后再进行染色。常用的媒染剂由单宁酸和氯化高铁或钾明矾等配制而成。本实验主要介绍硝酸银染色法和改良的 Leifson 染色法，前一种方法更容易掌握，但染色剂配制后保存期较短。

在显微镜下观察细菌的运动性，可以初步判断细菌是否具有鞭毛。通常使用压滴法或悬滴法观察细菌的运动性。与鞭毛染色法相比，该方法可以较快速、简便地判断细菌是否具有鞭毛。观察时，要适当减弱光强度以增强反差，若光线太强，细菌和周围的液体难以区分。

压滴法是指将菌悬液滴在普通的载玻片上，然后盖上盖玻片，置于光学显微镜下观察。悬滴法则是将菌悬液滴在洁净的盖玻片中央，在其周边涂上凡士林，然后将它倒盖在有凹槽的载玻片中央，置于光学显微镜下观察。鞭毛细菌可做直

线、波浪式或翻滚运动，细菌之间会出现明显的位移。

大多数球菌不生鞭毛，杆菌中有的有鞭毛有的无鞭毛，弧菌和螺菌几乎都有鞭毛。有鞭毛的细菌在幼龄时具有较强的运动力，衰老的细菌鞭毛易脱落，故观察时宜选用幼龄菌体。

【实验目的和要求】

1. 掌握细菌鞭毛染色法，并观察细菌鞭毛的形态特征；
2. 掌握压滴法和悬滴法并观察细菌的运动性。

【实验器材】

1. 菌种

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、假单胞杆菌(*Pseudomonas* sp.)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)。

2. 染色液

硝酸银染色液、Leifson 染色液、0.01%美蓝水溶液。

3. 器材

显微镜、酒精灯、凹载玻片、盖玻片、载玻片、接种环、香柏油、二甲苯、擦镜纸、凡士林、吸水纸等。

【实验方法与步骤】

1. 鞭毛染色技术

(1) 硝酸银染色法

1) 载玻片清洗：首先选择光滑无裂痕的载玻片，并将载玻片置洗衣粉溶液中，煮沸 20min，然后取出用自来水冲洗、晾干，最后将沥干的载玻片置于 95%乙醇中，取出后在酒精灯火焰上烧去乙醇，并用擦镜纸擦拭干净。若将水滴滴在载玻片上，水能均匀散开，则表明载玻片光滑、干净。

2) 菌种的准备：用于染色的菌体一般采用对数生长期的细菌，菌龄较老的菌株容易失落鞭毛。菌种通常先活化，再传代培养 3~5 次，以增强细菌的运动力，最后一代的菌体培养 12~16h 待用。

3) 菌液的制备：首先用接种环挑取菌种数环，移至含 1ml 无菌生理盐水的试管中，使菌液呈轻度混浊，然后将试管放在 37℃培养箱中静置 10min(放置时间不宜太长，否则鞭毛会脱落)，促使幼龄菌的鞭毛松展开。

4) 制片：吸取少量菌液滴在干净载玻片的一端，立即将载玻片倾斜，使菌液缓慢地流向另一端，用吸水纸吸去多余的菌液。涂片于空气中自然干燥，干燥后应尽快染色，放置时间不宜过长。

5) 染色：涂片干燥后，滴加硝酸银染色 A 液覆盖 3~6min，后用蒸馏水充分洗去 A 液，再用 B 液冲去残水，后再加 B 液于载玻片上，维持 30~60s，当涂面出现明显褐色时，立即用蒸馏水冲洗。若加 B 液后显色较慢，可用微火加热(加热

时应随时补充蒸发掉的染料,不可使载玻片出现干涸区),直至显褐色时,立即水洗,自然干燥。

6) 镜检:先用低倍镜,再用高倍镜,最后用油镜观察。观察时,可从载玻片的一端逐渐移至另一端,有时只在涂片的一定部位观察到鞭毛。观察到的菌体呈深褐色,鞭毛显褐色,通常呈波浪形。

(2) 改良的 Leifson 染色法

1) 载玻片的清洗、菌种的准备和菌液的制备方法同上。

2) 制片:用记号笔在载玻片反面将玻片分成 3~4 个等分区,在每一小区的一端滴一小滴菌液。将玻片倾斜,让菌液流到小区的另一端,用吸水纸吸去多余的菌液。室温或 37℃ 干燥。

3) 染色:加 Leifson 染色液覆盖第一区的涂面,隔数分钟后,加染液于第二涂面,如此继续染第三、四区。间隔时间自定,其目的是为了确定最佳染色时间。在染色过程中仔细观察,当整个玻片都出现铁锈色沉淀、染料表面现出金色膜时,即直接用水轻轻冲洗(不要先倾去染料再冲洗,否则背景不清)。染色时间大约 10min,自然干燥。

4) 镜检:先用低倍镜,再用高倍镜,最后用油镜观察。菌体和鞭毛均呈红色。

2. 运动性观察

载玻片的清洗、菌种的准备和菌液的制备方法同鞭毛染色法。

(1) 压滴法

1) 制片:在干净的载玻片上加一滴无菌生理盐水,挑取一环菌液与水混合,再加一环 0.01% 的美蓝水溶液与其混合均匀。用镊子取一干净的盖玻片,使其一边与菌液边缘接触,然后将盖玻片慢慢放下盖在菌液上。观察专性好氧菌时,可在放盖玻片时压入小气泡,以防止细菌因缺氧而停止运动。

2) 镜检:先用低倍镜找到视野,再用高倍镜观察。若用油镜观察,盖玻片厚度不能超过 0.17mm,换镜时要小心,以免压碎盖玻片、损伤镜头。观察时在略暗的光线下进行,即适当缩小光圈或降低聚光器以增大反差,从而便于观察。镜检时要注意辨别是细菌的运动还是分子运动,前者在视野下可见细菌自一处游动至他处,而后者仅在原处左右摆动。细菌的运动速度依菌种不同而异,应仔细观察。

(2) 悬滴法

1) 涂凡士林:取干净凹载玻片,在其四周涂少许凡士林,见图 4-1。

2) 加菌液:在盖玻片中央滴一小滴菌液。为便于在观察时寻找菌液位置,可用记号笔在菌液周围画上記号。菌液不能加得太多,为了便于观察,也可用接种环挑取一环菌液于盖玻片中央。