

农业微生物学实验

广东农林学院

微生物教研组编

一九七五年八月

說 明

一、这部份实验是供除牧医以外的农科各个专业使用的。使用时要根据各个专业的特点作适当取舍。

二、这部份实验按照各个性质相近的内容，归为八个单元。一般完成一个单元的实验要用一个单元的时间（3—4课时），个别实验要分二个单元（或更多一些）时间进行。

三、这部份实验所用的培养基、染色液、试剂、溶液及指示剂的配方均列于附录，各个实验不具体开列。

农业微生物学实验的目的与要求

农业微生物学实验是《农业微生物学》的组成部份，是学习《农业微生物学》课程的一个重要环节。

农业微生物学实验课的目的不仅在于加深和巩固对自学和讲课内容的理解和体会，更重要的是在学习理论知识的基础上，学习并掌握微生物学的基本操作技术，培养分析和解决问题的能力，为农业微生物的生产、研究打下基础。

为使实验顺利进行并提高实验效果，特提出以下要求：

1. 实验前要预习实验内容，明确实验目的和要求，了解操作方法和注意事项。
2. 实验中要坚持严肃性、严格性和严密性，按照实验步骤，依次操作。实验结果必须据实记录，并认真分析研究，以培养科学思维能力。实验报告要求数据确实，绘图准确，分析细致。
3. 某些实验若不能当日观察结果，必须在指定时间内观察。
4. 实验时要保持安静，不得高声谈笑，不要到处走动，注意整洁，确保无菌操作，以达结果准确。如遇仪器出现故障或其它意外情况，要及时报告指导教师。
5. 注意节约水电、药物及其它实验材料。仪器、用具、药物用完后要放回原处。
6. 实验完毕要整理桌面，清洗（或擦拭）仪器用具。并缴交实验报告。未经教师许可，菌种、药物、仪器、用具不得携出室外。

目 录

說明

农业微生物学实验的目的与要求

显微镜的构造及使用方法..... (1)

第一单元 微生物形态的观察..... (6)

实验一 细菌放线菌个体形态的观察..... (7)

实验二 真菌个体形态的观察..... (8)

实验三 微生物菌落形态的观察..... (10)

实验四 噬菌斑的观察..... (11)

实验五 昆虫中核多角体的观察..... (12)

实验六 细菌运动的观察..... (13)

实验七 微生物大小的测定方法..... (14)

实验八 微生物数量的测定——血球计数板法..... (16)

第二单元 微生物的染色法..... (18)

实验九 简单染色法..... (19)

实验十 革兰氏 (Gram) 染色法..... (20)

实验十一 芽孢染色法..... (21)

实验十二 荚膜染色法..... (22)

实验十三 鞭毛染色法..... (24)

实验十四 放线菌印片染色法..... (25)

第三单元 培养基的制备与灭菌..... (26)

实验十五 培养基的制备方法..... (27)

附：硅胶平板的制备..... (29)

实验十六 灭菌方法..... (31)

第四单元 微生物的分离接种培养与保藏..... (38)

实验十七 微生物的分离..... (39)

实验十八 微生物的接种..... (43)

实验十九 微生物的培养..... (46)

实验二十 微生物的菌种保藏..... (49)

第五单元 外界条件对微生物的影响..... (51)

实验二十一	化学药剂对微生物生长发育的影响	(52)
实验二十二	微生物之间的拮抗作用	(53)
实验二十三	紫外线对微生物的影响	(55)
第六单元	土壤微生物分析方法	(56)
实验二十四	土壤样品的采集及其理化性质测定	(57)
实验二十五	土壤样品的稀释及其微生物分析	(59)
实验二十六	根际微生物分析方法	(66)
第七单元	菌肥和微生物农药的实验室制备	(67)
实验二十七	根瘤菌的固体表面培养法	(68)
实验二十八	固氮菌的液体浅层培养法	(69)
实验二十九	杀螟杆菌液体振荡培养法	(70)
实验三十	井冈霉素的固体生产	(71)
第八单元	细菌鉴定的基本方法	(72)
实验三十一	细菌的形态特征	(73)
实验三十二	细菌的培养特征	(74)
实验三十三	细菌鉴定用的生化反应	(76)
实验三十四	细菌生态条件的测定	(85)
附录一	常用培养基的配方	(90)
附录二	常用染色液的配制	(98)
附录三	常用溶液的配制	(100)
附录四	常用指示剂试剂的配制	(101)
附录五	玻璃仪器的洗涤方法	(103)

显微镜的构造及使用方法

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，只有熟悉普通光学显微镜各部的结构，并掌握使用低倍镜、高倍镜、油镜的正确方法，才能研究和观察微生物的形态。

一、显微镜的构造

显微镜的构造包括机械和光学两部份。

(一) 机械部份

1. 镜座：在显微镜的底部，为马蹄形金属，用以支持全镜。

2. 镜臂：圆弧形，上连镜筒，下连镜座，便于搬移，其下有一关节与镜座相连接，可使镜身倾斜。

3. 镜筒及物镜转换器：镜筒为连接目镜和物镜的圆形中空长筒，光线从此通过，下端连接物镜转换器，用以转换不同放大倍数的物镜。

4. 载物台：为圆形或方形的盘，用以载放被检物体。台中央有一圆孔，可以透光。

5. 移动器（或称十字推动器）：附加于载物台上。捻转螺旋，能使标本前后左右移动，便于观察。有些显微镜无移动器而有弹簧夹，为固定标本用，载物台两旁各有一螺旋，以移动载物台（标本）用。

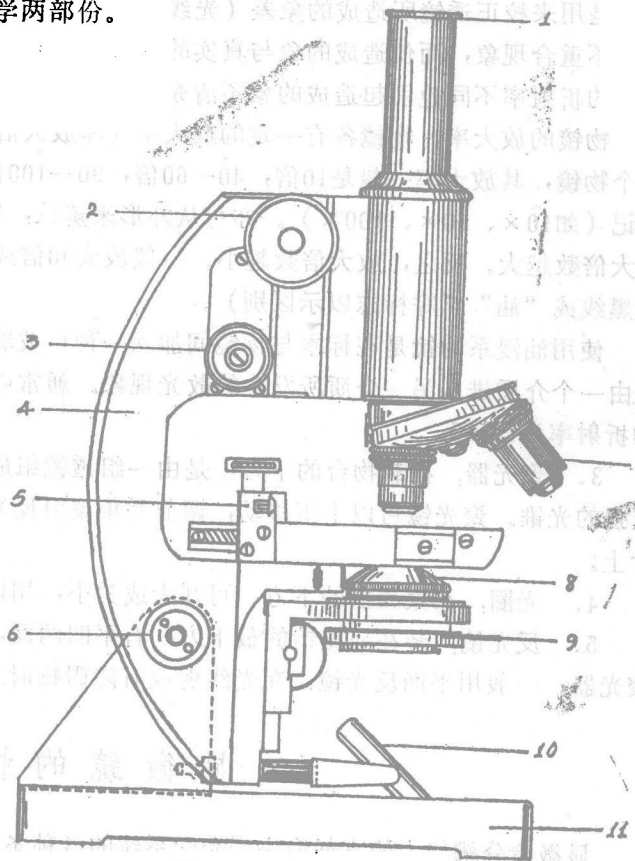


图1 显微镜的构造

1. 接目鏡 2. 粗調節器 3. 細調節器 4. 鏡臂
5. 十字推動器 6. 傾斜關節 7. 接物鏡 8. 聚光器
9. 光圖 10. 反光鏡 11. 鏡座

6. 粗调节器及细调节器：在镜筒的两旁（有些镜在载物台下），为移动镜筒上下升降（即调节物镜的焦点距离）。粗调节器调节距离较大，细调节器位于其下，为精确调节用，每转一周可以升降100微米；有的在细调节器螺旋上附有刻度，每一小格刻度相当2微米。

（二）光学部份

光学部份又可分为放大和照明两个方面。前者包括物镜和目镜，后者包括反光镜、聚光镜和光圈，有的还有特殊的光源部件。

1. 目镜：装于镜筒的上端，是显微镜光学系统的重要部件。通常是由上下两块透镜组成。目镜只能把物镜造成的象再次放大，没有辨析性能。其放大倍数一般标于顶端，如 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等。

2. 物镜：物镜是显微镜光学系统的最重要部份，具有辨析性能。由一组特殊的透镜组成，高效能的物镜有十个以上的透镜。这些透镜有的是用来辨析和放大目的物，有的是用来校正透镜所造成的象差（光线经过透镜时，通过中轴的象和通过边缘部份的象有不重合现象，而使造成的象与真实的象有差别）和色差（光线通过透镜时，由于各色光的折射率不同也引起造成的象不清楚而与真象有差别）。

物镜的放大率：物镜各有一定的放大率（即放大倍数）。普通微生物学显微镜都有3个物镜，其放大率一般是10倍，40—60倍，90—100倍。在物镜的外侧都有放大率的标记（如 $10\times$ 、 $60\times$ 、 $100\times$ ）。亦可从外形来辨认，镜头长度越大，镜片口径愈小时，放大倍数越大。反之，放大倍数越小。一般放大90倍或100倍的都是油镜（油镜头常刻有黑线或“油”字等标志以示区别）。

使用油浸系物镜是在标本与物镜间加入一种和玻璃折射率相同的介质，可以避免光线由一个介质进入另一介质所发生的散光现象。通常以香柏油作为油镜的介质，香柏油的折射率为1.515。

3. 聚光器：在载物台的下方，是由一组透镜组成，可以把平行的入射光汇集成一束强的光锥。聚光镜可以上下移动，调节并集聚由反光镜反射来的光线，使集中于载玻片上。

4. 光圈：在聚光器的下方，可开大或关小，用以调节射入聚光器光线的多少。

5. 反光镜：装在显微镜的最下方，有平凹两面，可自由转动方向，以反射光线至聚光器。一般用平面反光镜，在光线弱或有障碍物时才用凹面反光镜。

二、显微镜的性能

显微镜分辨能力的高低取决于光学系统的各种条件。被观察的物体象必须放大率高，而且清晰。物体经放大后，能否呈现清晰的微细结构，首先取决于物镜的性能，其次为目镜和聚光镜的性能。物镜和聚光镜都有一定的镜口率（或称开口率及数值口径），镜口率的大小与显微镜的分辨能力有关。镜口率是指物镜和被检物体之间的介质折射率

(η) 与镜口角即入射角 (μ) 的半数正弦的乘积。常以下式表示:

$$\text{镜口率 (N·A)} = \eta \sin \frac{\mu}{2}$$

由上式可见介质的折射率 (η) 或镜口角 (μ) 越大, 镜口率也愈大。镜口率大, 显微镜的分辨能力强。例如空气的折射率为 1, 而 $\sin \frac{\mu}{2}$ 值经常是小于 1, 如用油浸系物镜时, 介质折射率 (η) 大于 1, 所以镜口率也大于 1。理论上镜口角为 180° 时, $\sin \frac{\mu}{2}$ 最大则为 1, 如用油浸系物镜时, 柏油折射率为 1.515, 因此镜口率理论上最大数值为 1.515, 但是 180° 的镜口角就等于被检物体与物镜相接触, 这样实际上是不能观察的, 因此在实用范围内物镜的最大镜口率 (N·A) 是 1.4, 因镜口角不超过 140° 其半数正弦也不超过 70° (图 2), $\sin \frac{\mu}{2} = 0.94$, 即 $N \cdot A = 1.515 \times 0.94 = 1.42$, 所以一般油镜的镜口率为 0.85—1.4。

物镜的辨析能力还与镜检时所用的光波长 (λ) 有关。一般显微镜都是使用可见光照明, 在可见光照明下, 用镜口率为 1.4 的物镜, 能分辨出的物体两点间的最短距离 (D) 用下列公式表示之:

$$D = \frac{\lambda}{\eta \sin \frac{\mu}{2}} = \frac{\lambda}{N \cdot A} = \frac{0.55 \text{ 微米}}{1.4} = 0.4 \text{ 微米}$$

注: λ 为可见光的波长 (平均 0.55 微米)。

D 与镜口率成反比, 也就是说镜口率越大, D 数值越小, 分辨率就越强。即两点间的最小距离, 如果小于 0.4 微米, 在显微镜下即混为一点, 不可辨析。因此, 可以通过减低光线波长、增大介质折射率和加大镜口率来提高分辨力。紫外光显微镜和电子显微镜就是利用短波光和电子波来提高分辨力的。

使用某一物镜时, 应配合一定镜口率的聚光镜, 一般聚光镜的镜口率大于或等于物镜的镜口率为宜, 否则影响物镜的性能。

由此可见, 显微镜的效能不是决定在总放大率。一般来说, 显微镜的总放大率应以镜口率的 500—1000 倍为宜, 这个范围内的放大率叫有效放大率。例如, 用 $N \cdot A 1.25$ ($100 \times$) 的物镜, 其有效放大率约为 1250, 超过此数叫无效放大率, 虽用 $15 \times$ 可放大至 2500 倍, 但对分辨力是没有任何帮助的。

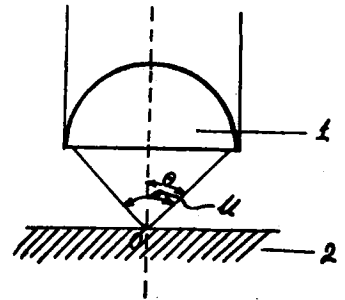


图 2 物镜的镜口角(入射角)
1. 物镜前透镜 2. 标本玻片
O. 目的物 μ . 镜口角
 θ . $\frac{1}{2}$ 镜口角

三、显微镜的使用方法

1. **显微镜的放置** 显微镜应直立于桌上, 不要倾斜。因微生物学工作中, 常用水

浸片和油浸片，如显微镜台倾斜，水或柏油会流动，影响观察。

2. 调节光照 一般用散射光作光源。如光线较弱，可用60瓦至100瓦的乳白或磨砂白热灯作光源，或用8—20瓦的日光灯，或用显微镜灯。普通灯泡的光，因有黄色光影响观察，需在聚光器下加放一块蓝色滤光片或在灯光和显微镜间放一盛有1%CuSO₄溶液的球形烧瓶滤去黄光。

调节光照的一般步骤是：

(1) 将低倍物镜旋到镜筒下方，旋转粗调节器，使镜头与载物台相距约0.5厘米左右。

(2) 上升聚光器，使与载物台表面相距1毫米左右。

(3) 调节反光镜（一般用平面反光镜），开闭光圈，用左眼看物镜，调节光线强弱，直到视野内得到最均匀、最强的照明情况。一般染色标本油镜检查时，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，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。

3. 低倍镜观察

(1) 用左眼看目镜，右手反时针方向慢慢转动粗调节器，镜筒则上升，直到发现视野中有被观察的东西后，改用细调节器，向上或向下微微地转动，直至能清楚地看到标本为止。

(2) 移动玻片标本，将所要观察的部位放在视野中心，将镜筒上升，然后转换高倍镜（转换镜头时，要从侧面注视，不要使镜头与玻片相碰）。

4. 高倍镜观察

高倍镜头放正后，右手顺时针慢慢转动粗调节器使镜筒下降，与此同时，要侧面观察，降至高倍镜头几乎与玻片接触，约距离玻片2毫米时则慢慢上升镜筒，直到发现视野中有被观察东西后，再改用细调节器校正焦距，校正观察部位。高倍镜观察还要注意调节光圈及聚光器，方能清楚地看到标本。

5. 油镜观察

(1) 上升聚光器，全开虹彩光圈。

(2) 用粗调节器使镜上升，取标本片于被检点上加香柏油（或液体石蜡或甘油）*一小滴，转动转换器，使油镜头放正，右手顺时针方向慢慢转动粗调节器，使镜筒下降，从侧面观察，直至油镜头浸入油滴中，并几乎与标本接触时止。（注意：切不可将油镜

*一些物质的折光率 (η) :

甘 油 $\eta=1.475$.

亚 麻 油 $\eta=1.47$.

香柏油 $\eta=1.515$.

石 蜡 油 $\eta=1.481$.

冬青油 $\eta=1.536$.

丁 香 油 $\eta=1.535$.

浓松节油 $\eta=1.542$.

头压到标本，以免损坏油镜头！)

(3) 左眼看目镜，调节反光镜，使视野达到最强的照明亮度，右手反时针方向微微转动粗调节器，上升镜筒（注意：此时只准上升镜筒，不能向下转动），当视野中有模糊的标本物象时，改用细调节器，校正焦距直至被检物清晰为止。

(4) 如果向上转动粗调节器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。

6. 镜检后的工作

(1) 油镜使用后，必须用擦镜纸擦去镜头上的油，再用擦镜纸沾少量二甲苯揩擦镜头，随即用干擦镜纸将镜头擦干，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。

(2) 擦净油镜后，将镜转成八字形，或将聚光器下降，以免物镜与聚光器相碰受损。然后放入镜箱中或套上镜罩。

(3) 显微镜应放在干燥阴凉的地方，不要放在强烈的日光下，潮湿季节要勤擦镜头，或在镜箱内放入干燥剂（硅胶），以免长霉损坏镜头。

(4) 显微镜是贵重和精密的仪器，使用时要小心爱护人民的财产。

四、使用显微镜注意事项

1. 拿取显微镜必须一只手拿着镜臂，一只手托住镜座，并保持镜身上下垂直。切不要用一只手提拿，因为这样不仅容易坠落，而且还容易甩出反光镜及目镜。在拿取过程应避免震动，轻放台上。

2. 使用前，要先将镜身擦拭一遍，同时用绸布（或擦镜纸）擦镜头，切不可用手指拭抹。若发现镜台沾有已干香柏油时，要用擦镜纸沾上少量二甲苯将其擦去。

3. 使用时如发现显微镜的操纵系统不够灵活，则必有故障，不要擅自拆开修理，应即报告指导教师处理。

4. 普通镜检不能利用直射阳光，可利用人工光源，存放时也要避免直射阳光，切不可放在日光中曝晒。

5. 注意护保镜头，防止压碎标本片，同时损坏镜头！

第一单元 微生物形态的观察

观察微生物的形态特征，是研究微生物首要的一步，这是对微生物的直观认识。只有认识了微生物的形态特征，才能进行微生物生理学、分类学以及应用微生物学的研究。

研究微生物的形态，不仅要观察其外部形状、测定其大小，而且要研究其内部构造。不仅要观察其个体形态，且要观察其群体（菌落）形态和数量。

由于微生物常是无色半透明、折光率强，因此要研究其形态和结构，必须采用各种染色方法，制成染色标本，在显微镜下观察。因此微生物个体形态的观察是和下一单元——微生物染色方法紧密联系的。

要求通过本单元实验掌握如下基本技术：(1)使用显微镜油镜观察细菌、放线菌；使用高倍镜观察酵母菌和霉菌；(2)从个体形态区分细菌、放线菌、酵母菌和霉菌，区别细菌的真正运动和布朗运动；(3)从菌落特征区分细菌、放线菌、酵母菌和霉菌的菌落形态，噬菌体“吞噬”细菌的特征；(4)测定微生物大小和数量的方法。

实验一 細菌放綫菌个体形态的观察

細菌的基本形状可分为球状、杆状、螺旋状三大类。根据它们的排列状态，球菌又可分为单球菌、双球菌、四联球菌、八叠球菌、链球菌、葡萄球菌；杆菌又可分单杆菌、双杆菌和链杆菌；螺旋菌又可分为弧菌和螺旋状菌。有些細菌，还有鞭毛、荚膜、芽孢等特殊构造。

放线菌的形状是丝状体，其细胞构造和細菌基本相同，但没有芽孢、鞭毛、荚膜等特殊构造，却会形成孢子丝和孢子等繁殖器官。

实验目的

1. 掌握使用显微镜、油镜观察細菌、放线菌的方法；
2. 从个体形态区分細菌和放线菌。

实验器材

显微镜（带油镜头）、擦镜纸、软布、香柏油、二甲苯；細菌染色片（单球菌、双球、四联球菌、八叠球菌、链球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌、无芽孢杆菌、荚膜、鞭毛、弧菌、螺旋菌）；放线菌染色片。

实验方法

按照显微镜油镜的使用方法，观察細菌、放线菌的染色片。注意它们的外形、排列方式，按比例绘图。全部标本观察完毕后，加过香柏油的标本片，如是封藏片则用纸擦去香柏油即可。若非封藏片，必须浸于二甲苯瓶内洗去香柏油（或用二甲苯滴洗），取出晾干（不可用纸擦拭），放回原处。

注意事项

1. 在转动粗细调节器调节焦距时，要从侧面观察，切勿使物镜镜头与玻片相碰，以免损坏镜头。
2. 在观察細菌、放线菌的形态时，由于采用油镜头透镜口径较小，所以光线要调到最强，便于观察。

问题

如何区别显微镜的低倍镜、高倍镜和油镜？油镜和高倍镜在使用时应注意哪些问题？

实验二 真菌个体形态的观察

真菌包括通常呈卵圆形的酵母菌和呈圆筒丝状的霉菌以及有初步组织分化的蕈菌。它们的体形较细菌、放线菌为大，一般不需用染色和油镜，可直接在普通显微镜的低倍镜或高倍镜下观察。

丝状霉菌大多为多细胞有分枝状（少数为单细胞）的个体，它们繁殖主要靠孢子，其生活史复杂，在不同阶段形成不同的孢子，包括有性和无性孢子。酵母菌一般为卵圆形单细胞，繁殖方式主要是芽殖，有性生殖产生子囊孢子。

实验目的

1. 掌握使用显微镜高倍镜观察酵母菌、霉菌的方法。
2. 从个体形态区别霉菌和酵母菌，并注意酵母菌出芽繁殖和霉菌各种分生孢子的着生方式。
3. 从个体形态区别细菌、放线菌和真菌。

实验器材

显微镜（带低倍镜、高倍镜头）、软布、擦镜纸；接种针（或解剖针）、载玻片、盖玻片、蒸馏水、吸水纸、美蓝染色液、乳酸石炭酸、酒精灯；酵母菌（斜面）、根霉、毛霉、青霉、曲霉、木霉、赤霉菌、白僵菌等平皿培养的菌种。

实验方法

1. 酵母菌形态的观察：

在干净载玻片上，加一小滴美蓝染色液，用接种环在火焰旁从斜面试管取少量菌体，放在玻片染色液中轻轻混匀。取盖玻片一块，先将盖玻片一边接触液体，再轻轻放下盖玻片，不使出现气泡，然后在显微镜下观察。注意酵母细胞形状、大小和出芽以及死活情况，（死的酵母菌被染成蓝色；活酵母染不上色，它能还原美蓝成无色）并按比例绘图。

2. 霉菌的形态观察：

用解剖针于菌落的近边缘，挑取一些菌丝放在玻片上，于其上加一小滴乳酸石炭酸液，（注意，在制作霉菌标本片时一般不用水，而用乳酸石炭酸液，因为菌丝在水中细胞容易膨胀变形，且水易干，而用此溶液不会使菌丝变形，不易干燥，便于较长时间的观察），用解剖针轻轻将菌丝体分开，勿使其堆集，然后加上盖玻片，注意不使产生气泡，在低倍和高倍显微镜下观察。观察时注意菌丝有无横隔、菌丝上有无假根、无性繁殖所生成的孢子是孢子囊孢子还是分生孢子、孢子着生情况、形状和颜色。

用同样的方法观察根霉、毛霉、青霉、曲霉、木霉、赤霉菌、白僵菌等形态，将观

察到的结果，根据菌丝的特点、分生孢子器或孢子囊的形状、分生孢子在小梗上着生的方式、孢子的形状、颜色等，说明根霉与毛霉、曲霉与青霉、赤霉菌与白僵菌之间有何相似处，有何差异处，列表加以总结。

注意事项

1. 在显微镜下观察真菌个体形态时，由于采用低倍或高倍镜观察，光线不宜调得过强，否则影响观察。
2. 观察酵母菌的死活时，不能用对其有毒害作用的染色液。
3. 乳酸石碳酸液能腐蚀衣服，须小心使用。

问题

如何区别细菌、放线菌、酵母菌、霉菌的个体形态？

实验三 微生物菌落形态的观察

微生物在固体培养基上，生长繁殖成为肉眼可以见到的集落称为菌落。不同的微生物形成的菌落是不相同的。掌握识别微生物菌落的方法，可以初步鉴别微生物的种类。

观察微生物菌落，可用肉眼识别，也可借助放大镜观察。

观察微生物菌落，首先要区分霉菌、细菌、放线菌的菌落。由于霉菌菌丝分枝频繁，相互交错，从集而成菌丝体，因此其菌落多呈绒毛状或棉花状。放线菌的菌丝一部份伸入培养基内，另一部份生长在培养基表面，故其菌落紧密地与培养基结合在一起，不易挑出（有些放线菌菌落用接种环一触即碎，或质如面团）。细菌菌落多生于培养基表面，光滑或粗糙，干燥或湿润，也有不同的气味，但用接种环挑取，大多都容易挑出。而酵母菌的菌落虽和细菌一样易于挑出，却常有特殊的酒香味。

实验目的

学习并掌握区别霉菌、酵母菌、放线菌、细菌的菌落形态的方法。

实验器材

手持放大镜、接种环、接种针；细菌、霉菌（根霉、毛霉、青霉、曲霉、木霉、赤霉菌）、酵母菌、放线菌的菌落。

实验方法

观察细菌、放线菌、酵母菌和霉菌在平板培养基上长成菌落的形态，注意菌落的大小、颜色、气味、表面有无光泽、是否光滑透明、干燥或湿润、粘稠度、隆起情况、菌落边缘是否整齐。观察酵母菌的菌落与细菌的菌落有无差别，用接种环挑一下菌落是否容易挑取；如果是霉菌和放线菌的菌落，注意它们与培养基结合是否紧密、菌落是疏松棉花状或绒毛状、还是比较紧的粉状、菌落表面与背面颜色是否相同、菌落是否容易被针挑起。细菌、放线菌、酵母菌和霉菌之间菌落形态有何异同，怎样从菌落形态上把它们区分出来。

问题

试简述霉菌、酵母菌、放线菌、细菌菌落形态的区别。

实验四 噬菌斑的观察

噬菌体是寄生在细菌、放线菌和真菌菌体内的病毒。其专性很强，杀螟杆菌的噬菌体，只能裂解杀螟杆菌；链霉菌的噬菌体，只能裂解链霉菌。它的个体很少，在普通显微镜下无法观察它的形态。但通过噬菌体裂解特异细菌或放线菌这个特点，如液体由浊变清、或在含菌的固体培养基上出现空斑（噬菌斑）等，则可说明有噬菌体的存在。

实验目的

观察噬菌体“吞噬”杀螟杆菌的平板特征—噬菌斑。

实验器材

牛肉汁蛋白胨培养液，牛肉汁蛋白胨琼脂斜面、1%琼脂牛肉汁培养基、灭菌培养皿、吸管、杀螟杆菌菌种、感染噬菌体的杀螟杆菌菌液。

实验方法

1. 取牛肉汁蛋白胨培养液及牛肉汁琼脂斜面各一支，接种杀螟杆菌，于30℃培养8小时，注意菌液生长的混浊程度。
2. 将含噬菌体的菌液接入上述培养8小时的杀螟杆菌培养液中，30℃保温、振荡培养。由于杀螟杆菌被噬菌体裂解，菌液的混浊度逐渐下降，这时噬菌体的数目不断增加，用此作为噬菌体悬浮液。
3. 将在牛肉汁琼脂斜面上培养8小时的杀螟杆菌加4—5毫升已灭菌的生理盐水，制成细菌悬浮液。
4. 将已融化冷至45—50℃的牛肉汁蛋白胨琼脂培养基10毫升倒入已灭菌的培养皿中，静置待凝固。取含1%琼脂的牛肉汁培养基3—4毫升，溶化后放45℃水浴中保温。另吸取细菌悬浮液0.5毫升及0.2毫升含有噬菌体的悬浮液，与保温不凝固的培养基充分混合后，立即倒入已凝固的平板上摇匀作为上层（这种方法称为双层培养），待上层凝固后，放在30℃培养24小时，取出观察。注意平板表面有无空斑及其形态。

实验五 昆虫中核多角体的观察

昆虫中最常见的病毒病是核多角体病。它的主要特征是在昆虫的某些组织如脂肪体、真皮和气管基质以及中肠上皮细胞的细胞核中形成晶状包含体，即多面形的多角小体，患有此病的昆虫体壁在晚期变得十分脆弱，即使轻轻触动，也易破裂，这是由于真皮细胞被完全破坏所致。在这种体液中含有大量多角体。在显微镜下呈折光明显的多面体小颗粒，其形状及大小（0.5—16 μ ）依昆虫的种类而异，但绝不呈球形，亦无内部结构（与尿酸晶体区别）。

实验目的

本实验的目的是用简单的染色方法以观察多角体的存在。

实验器材

已感染核多角体病的昆虫幼虫；解剖剪刀、镊子、载玻片；1%孔雀绿染色液、1%苦味酸液。

实验方法

1. 仔细观察感染核多角体的昆虫幼虫的特征。
2. 用解剖剪刀轻轻剪破尾角，以接种环取流出的体液一环，轻轻涂布于载玻片上，制成涂片。
3. 在火焰上稍加固定，即滴加孔雀绿染色液染10—15秒，然后水洗。
4. 再用1%苦味酸液染色3—5分钟，水洗。
5. 干后以油镜镜检，多角体呈金黄色。如有细菌，菌体呈绿色。

注意事项

昆虫体液内常含有其它各种晶体（尿酸晶体、脂肪球等），应注意区别，切不可混淆。一般病毒形成的多角体若不染色，在新鲜制片中常下沉到底部，而且不呈球形，亦无内部结构（尿酸晶体则有结构）。与脂肪球的区别，则可用酒精、乙醚液处理，如为脂肪球则溶去而消失。

问题

多角体是病毒吗？