



改进的鞭毛染色方法

刘聿太

(中国科学院微生物研究所, 北京)

细菌的鞭毛染色较困难。我们从目前已报道的几十种方法中, 选出应用较多的Leifson氏^[1]法、Blenden氏^[2]法、Rhodes氏^[2]法和山口氏^[3]法进行了比较, 认为在银染色法中, Blenden氏法效果较好。我们把Rhodes氏法中的热染步骤应用到Blenden氏法中, 取得了较佳的结果。

本文介绍改进的Blenden氏法及实际操作经验。此外, Leifson氏法较简单, 染液可长期保存, 我们亦将操作经验加以介绍。

改进的 Blenden 氏银染色法

一、载片清洗

将载片在洗衣粉水中煮10分钟(注意勿使载片重叠!)后, 用自来水冲洗, 再放入较浓的洗液^[4]中, 在100℃以上的洗液中浸泡几十分钟, 或在60—80℃烘箱中用洗液浸泡过夜(这样更好)。若在室温下浸泡, 则应过5—6天。用前取出载片, 用蒸馏水冲净, 用乙醇脱水, 干后立即使用。

二、制片

在洗净载片上滴一滴蒸馏水, 用接种针把水滴抹成一薄层, 其面积约占载片面积的三分之二; 再在另外三分之一的载片上滴一滴蒸馏水。用接种环轻轻刮取新鲜斜面培养物(一般培养12—18小时, 生长缓慢的菌可适当延长)底部菌苔边缘菌体, 将接种环悬放在水滴中片刻, 待菌体从接种环上稍有扩散时, 立即将接种环移开, 倾斜载片, 让水滴与涂开的水层相接, 自然风干。如室温在15℃以下, 必须在40℃左

右的水浴上风干; 如空气湿度大, 亦可用水浴加温风干, 以提高染色效果。

三、染液的配制

A液: 称取丹宁酸5克, 氯化高铁1.5克溶于100毫升蒸馏水中, 待溶解后加入1%的氢氧化钠溶液1毫升和15%的甲醛溶液2毫升。

B液: 称取2克硝酸银溶于100毫升蒸馏水中。

在90毫升B液中滴加浓氢氧化铵溶液, 到出现浓沉淀后又恰好变为澄清, 然后用其余10毫升B液小心滴加至澄清液中, 至出现轻微雾状为止(此为关键性操作, 应特别小心)。滴加氢氧化铵和用剩余B液回滴时, 要边滴边充分摇荡。

染液当日有效, 4小时内效果最好。

四、染色

在风干的载片上滴加A液, 4—6分钟后用蒸馏水轻轻冲净(否则背景不干净), 再加B液, 缓缓加热至冒汽, 维持约半分钟(加热时注意勿使出现干燥面), 在菌体多的部位可呈深褐色到黑色, 停止加热, 用水冲净, 干后镜检。菌体及鞭毛为深褐色到黑色。

Leifson 氏复红染色法

一、载片清洗及制片

方法同前

二、染液的配制

A液：称取1.2克碱性复红溶于95%乙醇100毫升中。

B液：称取3.0克丹宁酸溶于100毫升蒸馏水中。如加0.2%的苯酚，可长期保存。

C液：称取1.5克氯化钠溶于100毫升蒸馏水。

染液在磨口瓶中保存，室温下稳定。用前将三者等量混合，混合液可在冰箱中存放几周。

三、染色

取1毫升混合染液覆盖整个风干载片，或用蜡笔将载片分成四区制片，隔半分钟到1分钟，在一个区间滴加染液。10多分钟后，当整个载片（或分区时有2—3个区内）出现铁锈色沉淀和表面出现金色膜时，用自来水轻轻冲干净，干后镜检。菌体及鞭毛均为红色。

在这种染色法中，由于滴加的染液中的溶剂（主要是乙醇）挥发而使复红-丹宁酸复合物

沉淀。因此，染色时间与温度、湿度、空气流通情况、染液厚度、染料质量和染液的新旧程度有关。我们的经验是，最短的染色时间有8—9分钟即可，长则可达17—18分钟。所以，要熟练掌握此法，需要一定的熟悉过程。

以上两法各有优缺点，可根据具体情况选用。银染色法易掌握，但染液需每次配制；Leifson氏法所用染液可长期保存。因此前法对不常做鞭毛染色工作的同志较实用，后法则可供经常而少量地染色鞭毛的同志选用。

参 考 文 献

- [1] Harrigan, W. F. and M. E. McCance: *Laboratory Methodes in Microbiology*, Academic Press, London and New York, 1966, pp. 11—12.
- [2] Skerman, V. B. D.: *Abstract of Microbiological Methodes*, John Wiley & Sons, New York and London, 1969, pp. 343—348.
- [3] 山口和夫, 山口良辰: 应用微生物学入门, 1965, pp. 190—191.
- [4] 张宽厚: 《细菌生理学》, 第一版, 人民卫生出版社, 北京, 1962年, 第257页。