

细菌芽孢的简易染色法

冯清平

(兰州大学生物系)

现有的细菌芽孢染色法,如孔雀绿法和石炭酸复红法等,虽然效果不错,但都需要使涂片微火加热一定时间和不断添加染液,学生操作不便;芽孢边缘不清晰;同时,菌体中如有异染粒时,用孔雀绿法就易使异染粒的颜色与芽孢相混,不便观察。为解决以上问题,我们在教学过程中,摸索出一种苯酚品红黑色素染色法。此法操作简便,效果良好,是一种比较理想的简易染色法。现介绍如下:

一、染剂

1. 苯酚品红液:

(1) 碱性品红溶液: 碱性品红 11 克, 无水乙醇 100 毫升。将碱性品红在研钵中研磨, 并逐渐加入无水乙醇, 使之溶解。

(2) 苯酚溶液: 苯酚 5 克, 蒸馏水 100 毫升。取 (1) 液 10 毫升与 (2) 液 100 毫升充分混合, 过滤备用。

2. 95% 的乙醇。

3. 黑色素溶液: 黑色素(水溶性) 10 克, 蒸馏水 100 毫升。将黑色素溶于蒸馏水, 置沸水浴中半小时后, 滤纸过滤两次, 滤液用蒸馏水补

加到 100 毫升, 加 0.5 毫升甲醛防腐, 保存备用。

二、试验用菌

在芽孢培养基上于 26—27°C 培养 70—90 小时的菌苔。

三、培养基

酵母膏 0.7 克, 蛋白胨 1.0 克, 葡萄糖 1.0 克, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 克, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 克, K_2HPO_4 1.0 克, 琼脂 20 克, 加自来水至 1000 毫升调 pH7.0—7.2, 8 磅 30 分钟灭菌后摆成斜面。

四、染色步骤

1. 在小试管里加入 0.2 毫升无菌水和 1—2 白金耳的菌苔, 充分搅匀, 混合成浓厚菌苔悬液。

2. 在菌悬液中加入 0.2 毫升苯酚品红溶液, 充分混合后, 于沸水浴中加热 3 分钟。

3. 用接种环取上述混合液 2—3 环于载玻片上, 涂薄、风干后, 将载玻片稍倾斜用 95% 的乙醇冲洗至无红色染剂。 (下转第 273 页)

(上接第 291 页)

4、再用自来水冲洗,滤纸吸干。

5、取 1—2 接种环的黑色素溶液滴于涂片处,立即展开涂薄,风干后镜检。

五、结果

在淡紫灰色背景的衬托下,菌体为白色,菌体内的芽孢为红色。菌体和芽孢的色调分明;

芽孢的形状、大小与位置均非常清晰。

此法用于科研和教学都很方便。处理一次材料可涂 10—15 个片子,便于重复。

参 考 文 献

- [1] 微生物教材研究会编:《微生物による生物实验》, 66、68 页,三省堂, 1977。
- [2] 王大毅:《细菌分类基础》, 136 页, 1977, 科学出版社, 北京。