

细菌鞭毛染色法的进一步改进

余 名 崑

(江西大学生物系,南昌)

目前,细菌鞭毛染色存在三方面的困难:准备手续烦琐,染液配制费时且有效期短,染色效果不稳定。为此,我们探讨了改进方法。

在两类染色方法中,目前多认为银盐法较碱性复红法优越,我们以前法为基础作了一些改进。

我们发现,染色失败有时是由于鞭毛外围干扰物质(如牛肉膏或粘液)未除净所引起,有时是由于冲洗使鞭毛脱落,或涂片搁置稍久鞭毛瓦解。还发现,载片情况不必太烦琐;细菌材料不必多次转种;染液的有效期可以延长;染色时间应适当更动;涂片可以加热,等等。

为此,我们在试验基础上提出以下操作步骤。全部染色过程仅需数分钟。

1. 载片清洗: 用洗衣粉水煮沸半小时以上,翻动 2—3 次,逐片擦洗后,流水冲洗干净,竖直晾干,备用。

2. 染色样品制备: 可用斜面培养物直接涂片,但效果不如用菌液涂片。菌液可用一接种环培养物用蒸馏水制备;亦可在试管斜面中盛入 2—3ml 无菌水再接种,即可得到菌液。教学实验时,可用土壤或污水接种,或用污水直接涂片。菌液过浓时,宜用蒸馏水适当稀释。

3. 涂片: 取 1 滴菌液加于载片一侧,竖直载片,使菌液向另一侧流去。菌液流经处片刻即自行干燥。涂片应迅速干燥,必要时可在火焰上温和加热。然后尽快染色,以免鞭毛瓦解。

4. 涂片清洗: 用蒸馏水或清水一杯,将干燥涂片在其中浸数秒钟,或在涂片上滴加数滴水,数秒钟后倒掉,将涂片倾斜通过火焰烤干涂面,擦去载片上的残留水。

5. 染色: 滴加 A 液,染色 30 秒钟,若 A 液放置较久,可染色 60 秒钟,但须加一小滤纸片,将 A 液滴在纸片上;用细水流将 A 液冲洗干净,勿直接冲洗涂面,以免冲去或损伤鞭毛;倾斜地在火焰上通过 3 次烤干涂面,擦去残留在载片上的水;滴加 B 液,稍微加热染色 60 秒;弃去 B 液,滴加蒸馏水冲洗一遍,若出现结晶,可滴加氨水除去后再滴加蒸馏水冲洗,烤干镜检。

(染液的配制方法是: A 液是将分别配制的贮备液 20% 单宁溶液和 4% 氯化高铁溶液等量混合而成。气温较低时,应将新鲜混合液加热至 50℃,冷却后使用,数月内可使用。存放时出现沉淀不影响使用; B 液是向 2% 硝酸银溶液中滴加氨水至恰好澄清,再用硝酸银溶液回滴至出现薄雾而成,避光保存。)