

细菌鞭毛染色方法的再改进

刘德容

(山西大学生命科学系 太原 030006)

李晓虹

(国家医药管理局上海医药工业研究院 上海 200040)

摘要 对 16 种细菌进行改进的细菌鞭毛染色,其染色效果较好

关键词 细菌鞭毛染色,改进方法

分类号 Q93.336

鞭毛是细菌的运动器官,它的数目和着生位置在细菌菌体形态特征鉴定上是必不可少的指标之一,而它的直径非常纤细,只有 $0.02 \sim 0.03 \mu\text{m}$ ^[1],必须用特殊的染色方法才能在普通光学显微镜下观察到。细菌的鞭毛染色比较困难。目前报道的染色方法又很多^[2~4],我们多年的工作实践证明,样品处理过程愈多,鞭毛断脱的也愈多。在染色操作的细节上我们作了一些改进,注意了这些细节,可使染色效果更好。

1 载玻片的清洗

将载玻片(最好是新的)放入经过滤的洗衣粉水中煮 20min,用绸布在自来水下逐片冲洗净,再浸泡在浓洗液中置 $60 \sim 80^\circ\text{C}$ 烘箱中 4~10h,取出后逐片用自来水、蒸馏水冲洗,放在 95% 乙醇中浸泡,用时烧去酒精冷却后立即使用,如不立即使用应浸泡在 95% 乙醇中备用。

载玻片的洁净与否在制片前需进行检查。即于载玻片上滴加水滴后立即均匀散开的可使用,否则不能使用。

2 菌种准备

新鲜菌种不必传代,老菌种需适温传代 2~3 次,每日 1 次。传代用斜面试管内需有冷凝水或无菌水,在水与固体斜面交界处向上划线接种,适温培养 8~20h。有些菌甚至培养 6h 更好,尤其是对产生胞外粘液层的细菌如多粘芽孢杆菌等在未形成胞外粘液层之前菌体容易分散,鞭毛容易染色。而具有终生鞭毛的细菌如普通变形杆菌,培养时间则不必太限制。

3 制片

制片前应先作运动力的检查(压滴法或旋滴法均可),确认为细菌运动者,再进行鞭毛染

色。制片时先于洁净载片的一端滴一滴蒸馏水,用充分冷凉的接种环取培养好的斜面底部的菌悬液一环,悬放在水滴中片刻,见水滴稍变混浊,马上将接种环移开,静置1~2min,使细菌鞭毛舒展后将载片稍倾斜,使菌液自载片的一端流向另一端,使成一薄层,立放在台子上,自然风干。

注意:取菌时,勿烧菌种口避免鞭毛受损断脱。

4 染液的配制

4.1 配方^[1]

A液:丹宁酸5g, FeCl_3 1.5g, 福尔马林(15%)2.0ml, NaOH (1%)1.0ml, 蒸馏水100ml。

B液: AgNO_3 2g, 蒸馏水100ml。

4.2 注意事项

① 100ml A液中的5g丹宁酸加热溶解至透明后再加入其它成分。

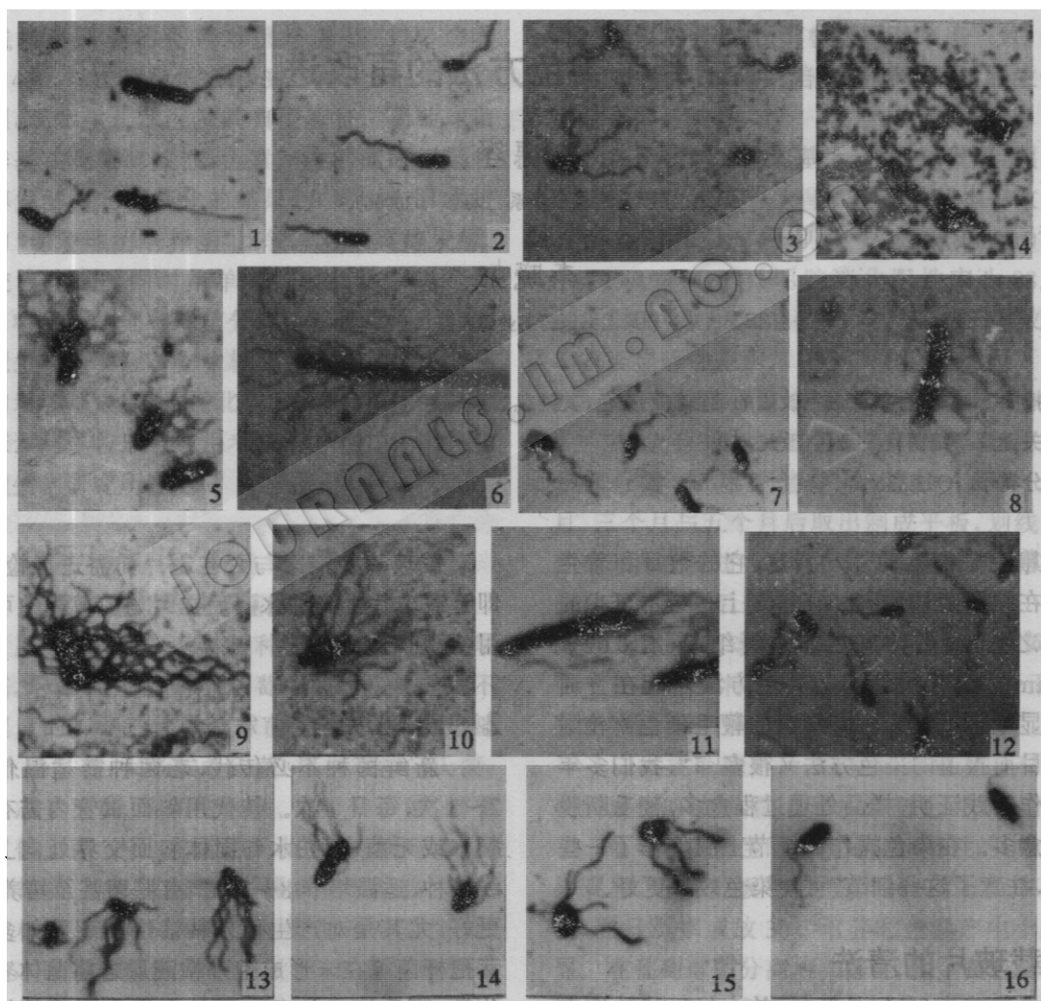


图1 16种细菌鞭毛染色结果

1. 产碱杆菌 (*Alcaligenes* sp.) 2. 黄单胞菌 (*Xanthomonas* sp.) 3. 黄杆菌 (*Flavobacterium* sp.) 4. 大肠杆菌 (*Escherichia coli*)
5. 库特氏菌 (*Kurtzia* sp.) 6. 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 7. 土壤杆菌 (*Agrobacterium* sp.)
8. 多粘芽孢杆菌 (*B. polymyxa*) 9. 腊状芽孢杆菌 (*B. cereus*) 10. 沙门氏菌 (*Salmonella* sp.) 11. 普通变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)
12. 欧文氏菌 (*Erwinia* sp.) 13. 肠杆菌 (*Enterobacter* sp.) 14. 产碱杆菌 (*Alcaligenes* sp.)
15. 无色细菌 (*Achromobacter* sp.) 16. 假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.)

② 配制 B 液时,需滴加浓氨水和回滴硝酸银溶液,此时务必边滴加边搅拌,使呈现轻微而稳定的薄雾状沉淀。

5 染色

在风干的涂菌载片上滴加 A 液,4~6min 后用蒸馏水轻轻冲净(否则背景不干净),再加 B 液,缓缓加热至冒气,维持约 0.5min(加热时注意勿使出现干燥面),在菌体多的部位可呈深褐色至黑色,停止加热,用水冲净,干后镜检。菌体及鞭毛为深褐色到黑色。对于鞭毛较细的某些菌种如枯草芽孢杆菌等,则需要适当延长染色时间。需要说明的一点,即是一次染色的片子数量多时,为避免 A 液失效,可全部集中先用 A 液染完,蒸馏水冲净晾干后,再集中染 B 液

也可。但必须先完整地染几片子视其染色效果再进行分别集中染色。

6 结果

自然风干后的染色片,在普通光学显微镜下镜检,多找几个视野,可观察到清晰可辨的褐色鞭毛。16 种细菌鞭毛染色结果见图 1。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院微生物研究所细菌分类组编著. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978, 115~118.
- [2] 郭恒彬. 微生物学杂志, 1989, 9(2): 80.
- [3] 余名嵩. 微生物学通报, 1982, 9(4): 192.
- [4] 王全德, 李进芬. 微生物学通报, 1987, 14(2): 89~91.