

实验二 细菌的芽胞染色、荚膜染色和放线菌形态观察

一、实验内容和菌种：

1、芽胞染色：苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)

2、荚膜染色：胶质芽胞杆菌 (*Bacillus mucilaginosus*)

3、放线菌形态观察：

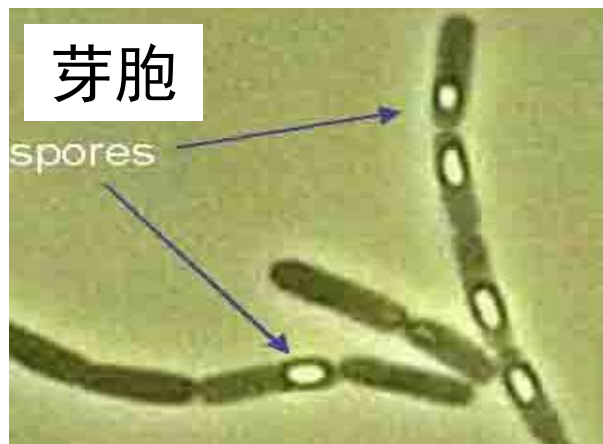
紫色直丝链霉菌 (*Streptomyces violaceorectus*)

二、实验原理：

1、芽胞的染色（简单染色法）：

定义： 某些细菌生长的后期在细胞内形成一个圆形或是椭圆形高度折光的休眠体，称为芽胞（spore）。

原理： 芽胞由于**壁厚，透性低，难以染色**，因此我们用**简单染色**的方法，将菌体着上色，而芽胞由于着不上色呈透明。



2、荚膜染色（负染色法）：

定义： 包被于某些细菌细胞壁外的一层厚度不一的胶状物质，即糖被。

原理： 由于荚膜与染料间的亲和力弱，不易着色，通常采用**负染色法**染荚膜，即设法将菌体和背景着色而荚膜不着色，从而使荚膜在菌体周围呈一透明圈。



菌体

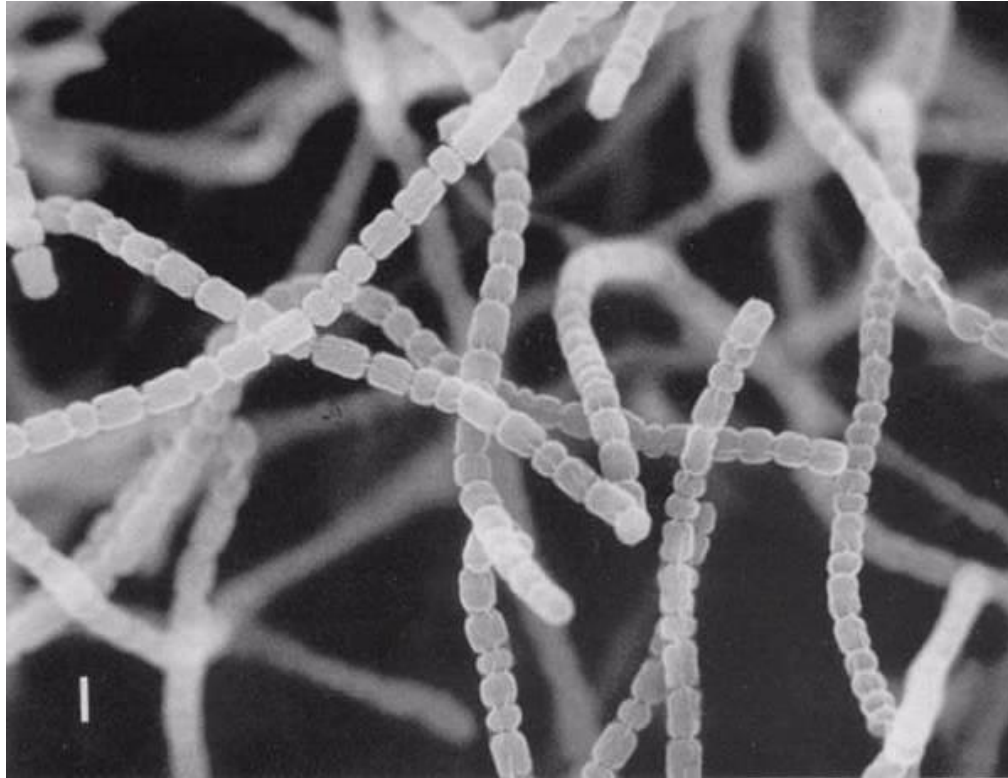
荚膜

3、放线菌观察：

高GC含量的G⁺菌，形成分支的菌丝和无性孢子。典型放线菌除了发达的**基内菌丝**外，还有发达的**气生菌丝和孢子丝**。



菌丝被隔膜分隔成含有若干个核的长细胞，气生菌丝断裂而成的成串的孢子称为孢子丝。



印片法观察放线菌孢子丝形状和孢子排列情况（**分类的重要依据**）。

三、试剂及染料：

结晶紫

复红

黑素

香柏油、二甲苯、擦镜纸

四、实验步骤：

(一) 芽胞染色：

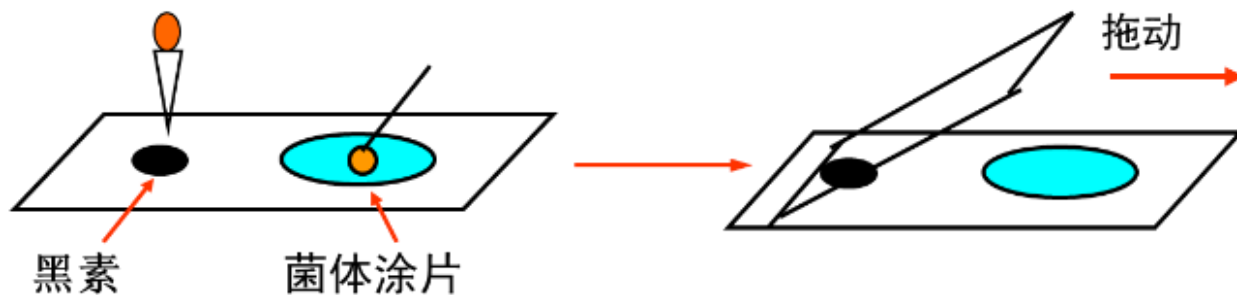
苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)

- 1、制片：取 *B. t* 涂片（操作方法同 简单染色）
- 2、干燥
- 3、固定
- 4、染色：滴结晶紫染色 1 ~ 2 分钟，水洗，
- 5、镜检：按10x , 40x , 100x 顺序镜检，观察 *B. t* 的芽胞

(二) 荚膜染色 (负染色法)

胶质芽胞杆菌 (*Bacillus mucilaginosus*)

- 1) **制片**: 取洁净的载玻片一块, 于中央加一滴蒸馏水, 用接种环从斜面挑取菌体1环涂片, 于玻片一端加一滴黑素。 (**注意黑素不能多**)
- 2) **刮片**: 另取一载玻片, 以30度角将其边缘浸入黑素中向另一端拖动, 将黑素涂成一薄层。
- 3) **镜检**: 10x , 40x 物镜观察 (**注意物镜不要接触黑素, 不要用油镜观察**)。

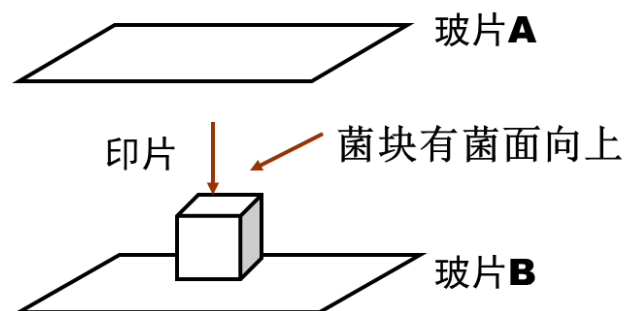


(三) 放线菌的形态观察

方法：印片染色法

菌种：紫色直丝链霉菌(*Streptomyces violaceorectus*)

1. **制片**：取干净载玻片一块，用小刀划取放线菌培养体一块，正面向上放在载玻片上，用另一块载玻片对准菌块轻按，然后将其垂直拿起，使得菌块上的气生菌丝印在载玻片上（注意不要使薄片在培养体上滑动，以免打乱孢子丝形态）。
2. **干燥**。
3. **固定**：将印有放线菌的涂面向上，通过酒精灯火焰3 - 4次，将菌丝固定。
4. **染色**：复红染色1 - 2分钟。
5. **水洗、晾干**（不能用吸水纸吸干）
6. **镜检**：10x，40x，100x观察气生菌丝、孢子丝的形态。



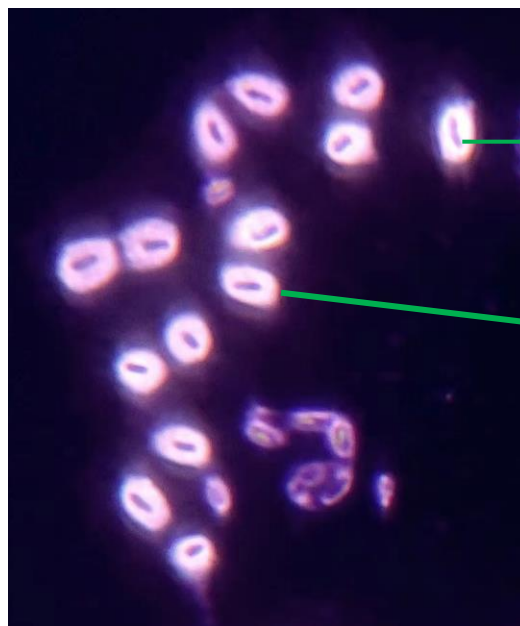
五、作业：

绘制胶质芽胞杆菌（40x）、苏云金芽胞杆菌（100x）和紫色直丝链霉菌（100x）形态图，并标出各部分名称（真实，美观，图例详细）。

实验报告统一格式

1. 实验目的
2. 实验原理
3. 实验材料
4. 实验方法和步骤
5. 实验结果和分析

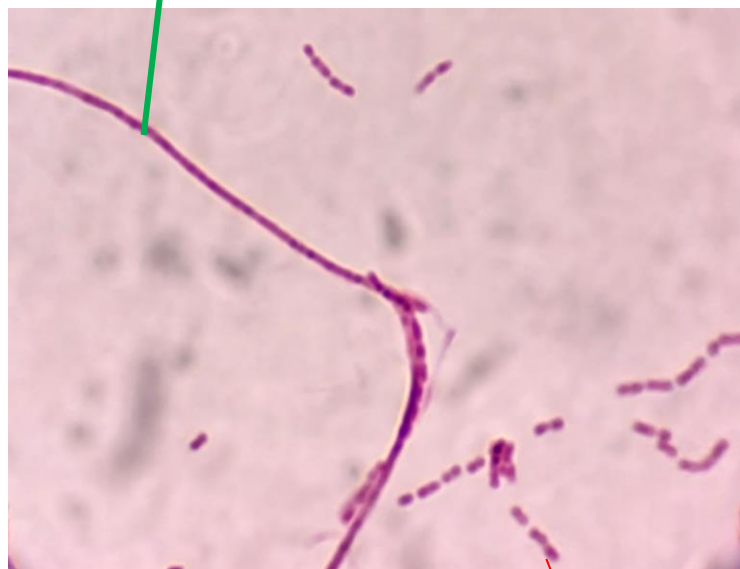
胶质芽胞杆菌



菌体

荚膜

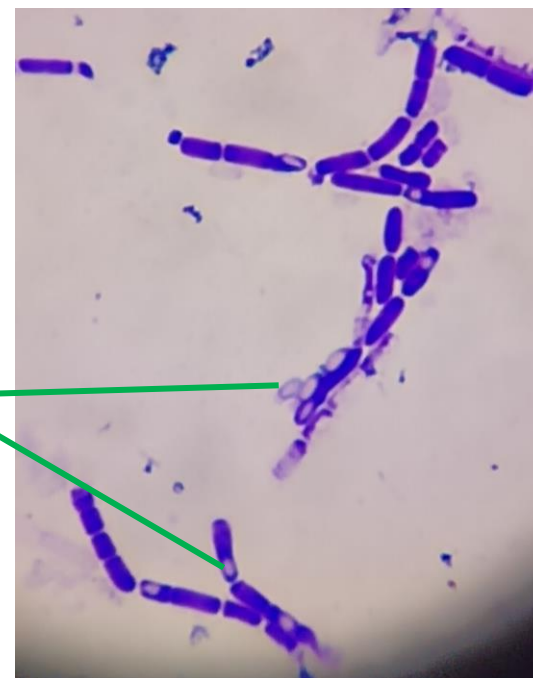
气生菌丝



紫色直丝链霉菌

孢子丝

芽胞



苏云金芽胞杆菌