

观察微生物形态的几种方法

王 秀 云

(北京师范大学生物系)

对微生物个体形态的观察,在借助显微镜的同时,还必须有适宜的方法,才能得到满意的效果。现介绍几种方法:

(一) 观察细菌的运动

生活状态的鞭毛菌运动,用普通光学显微镜(暗视野)即可观察到。但必须注意识别是菌自身的运动,还是水的流动或布朗运动。制片方法有悬滴法和压滴法两种。

1. 悬滴法:有凹玻片法和火柴棍法。

(1) 凹玻片法:在盖玻片中央滴一小滴菌液,在凹玻片的凹窝周围涂少许凡士林(或浆糊),将凹玻片翻转使凹窝中心对准盖玻片上的菌液,轻压,使两玻片粘在一起,再小心反转过来,菌液仍悬在盖玻片下,先用低倍镜找到悬液边缘,再转高倍观察。

(2) 火柴棍法:去掉火柴头,将棍截为二段,沾少许凡士林,平行排列在载玻片上,间距以盖玻片宽度为准。在盖玻片中心滴一小滴菌液。翻转载玻片,使棍对准盖玻片边缘,盖玻片上的一小滴菌液恰在两棍之间,轻压,使盖玻片粘牢在棍上,再反转过来,菌液仍悬在盖玻片下。观察方法同前。

2. 压滴法:有普通法和染色法。

(1) 普通法(即常规法)略。

(2) 染色法:基本同普通法。所不同的是沾一接种环染液(1:10000的美蓝或1:2000结晶紫)与载玻片上的菌液混匀,用高倍镜检。染料对菌活力无影响时,则菌被染呈现较淡颜色。

除上述方法外,还可用肉眼直接观察,即在制成的柱状半固体培养基中心,用接种针垂直刺入,将菌接种进去,经适宜温度培养24小时,观察结果,无鞭毛菌只能沿接种线生长,因而生

长物边界清晰;有鞭毛菌则运动到接种线以外的地方生长,使生长物边界模糊不清。

(二) 观察微生物的个体形态

1. 载片法:此法适于观察微生物的自然生长状态,如细菌菌体的排列情况、孢子的萌发;酵母菌出芽及假菌丝的典型树枝状分枝;霉菌、放线菌的立体生长状态等,还可定时观察不同生长时期的情况。

制片方法有滴片法、埋片法、凹玻片法及印片法等,它们的共同特点是需要一个湿室,即在培养皿底部放一张吸水纸或一根U形玻棒,加一点水保持湿度,灭菌后即可使用。如果培养霉菌,可不用灭菌。

(1) 滴片法:将融化的培养基滴在载玻片中心,轻轻摇动玻片使流成一小片薄层(或用弯头玻棒沾少许融化的培养基在玻片上涂一薄层),再将载玻片放在U形棒上,取一接种环稀释(肉眼看不到混浊)的菌细胞悬液或孢子悬液接种到薄层培养基上。适温培养一定时间后取出观察。也可在干燥后长期保存。若观察曲霉的辐射状分生孢子小梗,低倍镜看不清时,可加一滴乳酚油(分生孢子太多时,可用二滴乳酚油冲掉一些),加盖玻片,高倍镜检。

(2) 埋片法:将灭菌的载玻片浸入培养皿中的融化培养基内,使载玻片上表面布一薄层透明培养基,冷却,取出载玻片放入湿室,接种稀释的菌悬液,适温培养,取出玻片,去掉背面与侧面的培养基,加盖玻片,镜检,也可在培养物干燥后染色镜检。

(3) 凹玻片法:此法适用于霉菌。在凹玻片凹窝周围涂一薄层凡士林,将一小滴融化的培养基滴入凹窝(约1/2—2/3深度),加盖玻片

粘牢。将载玻片直立放置(见图1),待培养基凝固,下滑盖玻片,使凹窝上方露出一条缝隙,用接种针将少许霉菌孢子划线接种到培养基表面,再将凹窝封闭,适温培养一定时间后,镜检。

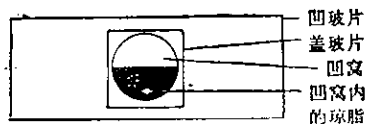


图1 凹玻片法示意图

(4) 印片法: 此法适于观察放线菌的孢子和孢子丝。此法是将培养物制片。在载玻片上涂一薄层加拿大树胶,取一小块长有培养物的培养基,将其表面紧贴在树胶层上,轻压,去掉培养基,加盖玻片,镜检。

2. 盖片法: 此法是将标本制在盖玻片上。

(1) 印片法: 在载玻片上滴一滴稀释美蓝(或其它染液),再将盖玻片平放在平板培养基上,轻压,取出后将沾有培养物的一面向下,放在载玻片的染液滴上(勿有气泡),镜检。

(2) 埋片法: 此法适于放线菌的观察。在平板培养基上划线接种少量放线菌孢子,并在接种线旁斜插入盖玻片,经适温培养,菌丝沿盖玻片向上生长,取出盖玻片,镜检。

(3) 压片法: 此法适于酵母出芽及假菌丝的观察。在平板培养基上间隔划线接种稀释的酵母菌液,在划线处平放盖玻片,轻压,经25—28℃培养2—3天后,取出盖玻片,镜检。

3. 玻璃纸法: 此法适于观察放线菌和霉菌的自然生长状态。接种量不宜过大,培养时间不宜过长,以免影响观察效果。

将无菌的玻璃纸平铺在平板培养基上,取约0.1毫升稀释的孢子悬液接种在玻璃纸上,涂匀,适温培养一定时间后,剪下一小块带菌的玻璃纸,表面向上放在载玻片小水滴上,使纸平贴在载玻片上,镜检。若水干了,还可再滴水,仍可观察。但注意不要触动玻璃纸,以免破坏菌的自然状态。