

高等学校教材

# 微生物学实验指导

黄秀梨 主编



CHEP  
高等教育出版社



Springer  
施普林格出版社

高等学校教材

# 微生物学实验指导

黄秀梨 主编

## 编著者

黄秀梨	夏立秋	辛明秀	黄文芳
陶树兴	胡 巍	赵宝华	洪 洞
刘丽丽	王 旭	黄国锦	王 磊
李利红	李越丹	李 宏	谢 君



CHEP  
高等教育出版社



Springer  
施普林格出版社

高等数学实验指导

# 微生物学实验指导

主编 黄秀梨

## 图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验指导 / 黄秀梨主编; 夏立秋等编著. - 北京: 高等教育出版社; 德国: 施普林格出版社, 1999. 6 (2000 重印)

ISBN 7-04-006956-3

I. 微… II. ①黄… ②夏… III. 微生物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 17636 号

微生物学实验指导  
黄秀梨 主编

出版发行 高等教育出版社 施普林格出版社

社 址 北京市东城区沙滩后街 55 号

邮政编码 100009

电 话 010-64054588

传 真 010-64014048

网 址 <http://www.hep.edu.cn>

经 销 新华书店北京发行所

印 刷 北京外文印刷厂

开 本 787×1092 1/16

印 张 8.5

字 数 210 000

版 次 1999 年 6 月第 1 版

印 次 2000 年 7 月第 2 次印刷

定 价 11.50 元

©China Higher Education Press Beijing and Springer - Verlag Berlin Heidelberg 1999

版权所有 侵权必究

第一部分 基础实验

第一部分 基础实验

实验 1 培养基的配制	1
实验 2 消毒和灭菌	3
实验 3 土壤的稀释分离、纯化及无菌操作技术	6
实验 4 微生物菌落的观察	9
实验 5 显微镜油浸系物镜的使用	12
实验 6 细菌形态的观察	15
实验 7 细菌单染色法及口腔微生物的观察	17
实验 8 细菌的革兰氏染色	19
实验 9 细菌鞭毛染色及其运动的观察	21
实验 10 细菌芽孢、荚膜的染色及观察	23
实验 11 支原体、衣原体的形态观察	25
实验 12 放线菌的形态观察	26
实验 13 酵母菌的形态观察	28
实验 14 霉菌的形态观察	31
实验 15 细菌大小的测定	33
实验 16 细菌数量的测定	35
实验 17 细菌的生理生化反应(V.P.反应、甲基红试验、吲哚试验、糖发酵试验)	39
实验 18 微生物与氧关系的检测	41
实验 19 厌氧微生物的培养	43
实验 20 免疫血清的制备	49
实验 21 凝集反应	51
实验 22 沉淀反应	53
实验 23 巨噬细胞体外吞噬实验	55

第二部分 实际应用实验

实验 24 乳酸发酵与乳酸菌饮料	58
实验 25 酒精发酵及糯米甜酒的酿制	60
实验 26 抗生素抗菌谱及抗生素的抗药性测定	62
实验 27 固定化枯草芽孢杆菌连续生产 $\alpha$ 淀粉酶	64
实验 28 食用菌的培养	67
实验 29 苏云金芽孢杆菌的发酵生产	69
实验 30 病毒的血清学反应	72
实验 31 螺旋体的检测	76
实验 32 从虫体中分离杀虫微生物	79

II 微生物学实验指导

实验 33 微生物菌种保藏 ..... 81

第三部分 分子微生物学基础实验

实验 34 质粒 DNA 的小量制备 ..... 86  
实验 35 感受态细胞的制备及转化 ..... 87  
实验 36 DNA 重组 ..... 91  
实验 37 PCR 技术 ..... 93

第四部分 专题实验

实验 38 水中大肠菌群的检测 ..... 95  
实验 39 噬菌体的提取及效价测定 ..... 98  
实验 40 细菌转导的测定 ..... 100  
实验 41 微生物的诱变育种 ..... 102  
实验 42 营养缺陷型的筛选和鉴定 ..... 104  
实验 43 微生物的原生质体融合 ..... 106

第五部分 微生物实验技能的测评

实验 44 基本实验技能的检测 ..... 110  
实验 45 实验设计及实施能力的测评 ..... 112

附 录

附录 1 实验室意外事故的处理 ..... 113  
附录 2 实验用培养基配制 ..... 114  
附录 3 酸碱指示剂的配制 ..... 117  
附录 4 实验用染色液及试剂的配制 ..... 117  
附录 5 微生物学实验中一些常用数据表 ..... 121  
附录 6 玻璃器皿及玻片洗涤法 ..... 122  
附录 7 琼脂的制造和检查方法 ..... 123  
附录 8 各国主要菌种保藏机构 ..... 124  
附录 9 实验用缩写名称对照表 ..... 124  
附录 10 实验常用中英名词对照表 ..... 125

## 六、实验报告

### (一) 绘图

1. 单染色后观察到的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的形态图。
2. 你所观察到的口腔微生物的形态图,并注明使用的染色方法,菌体和背景的颜色。

### (二) 单染色法和负染色法操作要点。

## 七、问题和思考

1. 涂片在染色前为什么要先进行固定?固定时应注意什么问题?
2. 制备染色装片时应注意哪些事项,为什么?制片为什么要完全干燥后才能用油镜观察?
3. 你知道口腔中通常存在哪些微生物吗?如何进行区分?

## 参考书目

- 1 钱存柔等.微生物学实验.北京:北京大学出版社,1985
- 2 Wistreich G A et al. Laboratory Exercises in Microbiology. 5th ed. New York: Macmillan, 1984

## 实验8 细菌的革兰氏染色

### 一、实验目的和内容

目的:初步掌握细菌涂片方法及革兰氏染色法步骤。

内容:1. 制作细菌染色装片。

2. 进行革兰氏染色法操作。

### 二、实验材料和用具

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*E. coli*)菌液,待测菌菌液1~2种。  
革兰氏染色液(结晶紫染液、卢戈氏碘液、95%乙醇、石炭酸复红液等)、香柏油、二甲苯。  
显微镜、擦镜纸、接种环、载玻片、吸水纸、试管、小滴管、酒精灯。

### 三、操作步骤

#### (一) 制片

1. 涂菌 用无菌操作方法从试管中沾取菌液一环,用接种环在洁净无脂的载玻片上做一薄而均匀、直径约1cm的菌膜。涂菌后将接种环火焰灭菌。

2. 干燥 于空气中自然干燥。亦可把玻片置于火焰上部略加温加速干燥(温度不宜过高)。

3. 固定 目的是杀死细菌并使细菌粘附在玻片上,便于染料着色,常用加热法,即将细菌涂片膜向上,通过火焰3次,以热而不烫为宜,防止菌体烧焦、变形。此制片可用于染色。

(二) 染色

1. 初染 于制片上滴加结晶紫染液,染 1min 后,用水洗去剩余染料。
2. 媒染 滴加卢戈氏碘液,1min 后水洗。
3. 脱色 滴加 95%乙醇脱色,摇动玻片至紫色不再为乙醇脱退为止(根据涂片之厚薄需时 30s 至 1min),水洗。
4. 复染 滴加石炭酸复红液复染 1min,水洗。
5. 用滤纸吸干,油镜镜检。

### (三) 结果

革兰氏阳性菌染成蓝紫色,革兰氏阴性菌染成淡红色。

### (四) 检测未知菌

用以上方法对未知菌进行革兰氏染色,并绘图、记录染色结果。

## 四、注意事项

1. 涂片务求均匀,切忌过厚。
2. 在染色过程中,不可使染液干涸。
3. 脱色时间十分重要,过长,则脱色过度,会使阳性菌被染成阴性菌。
4. 老龄菌因体内核酸减少,会使阳性菌被染成阴性菌,故不能选用。

## 五、演示

制片方法及染色过程。

## 六、实验报告

### (一) 绘图

1. 大肠杆菌革兰氏染色视野图。
2. 金黄色葡萄球菌革兰氏染色视野图。

### (二) 记录革兰氏染色法步骤,并进行结果分析。

### (三) 未知菌的检测结果。

## 七、问题和思考

1. 涂片后为什么要进行固定? 固定时应注意什么?
2. 什么是革兰氏染色法? 染色过程应注意什么?
3. 试分析革兰氏染色法在细菌分类中的意义。

## 参考书目

- 1 李振林. 微生物学及检验技术. 第二版. 广州: 广东科技出版社, 1993
- 2 陆德源. 医学微生物学. 第四版. 北京: 人民卫生出版社, 1998
- 3 朱忠勇. 实用医学检验. 北京: 人民军医出版社, 1992