

## 教学实验名称：革兰氏染色

# 大肠杆菌

*Escherichia coli* CCTCC AB 93154

### 实验过程：

1、 将实验菌种在 5ml NA 液体培养基中活化，活化的菌种接种于 100ml NA 液体培养基中，37℃摇床中培养，接种后立即取 0.1ml 测量 OD 值，后连续 22h 取菌液测其 OD 值，并绘制实验菌株的生长曲线。

2、 将实验菌株细菌在 NA 斜面置于 37℃培养，斜面生长至 12h 时，取菌进行革兰氏染色，油镜镜检。斜面继续培养至 16h 时，同样，取菌镜检。

### 实验结果：

#### 1. 生长曲线

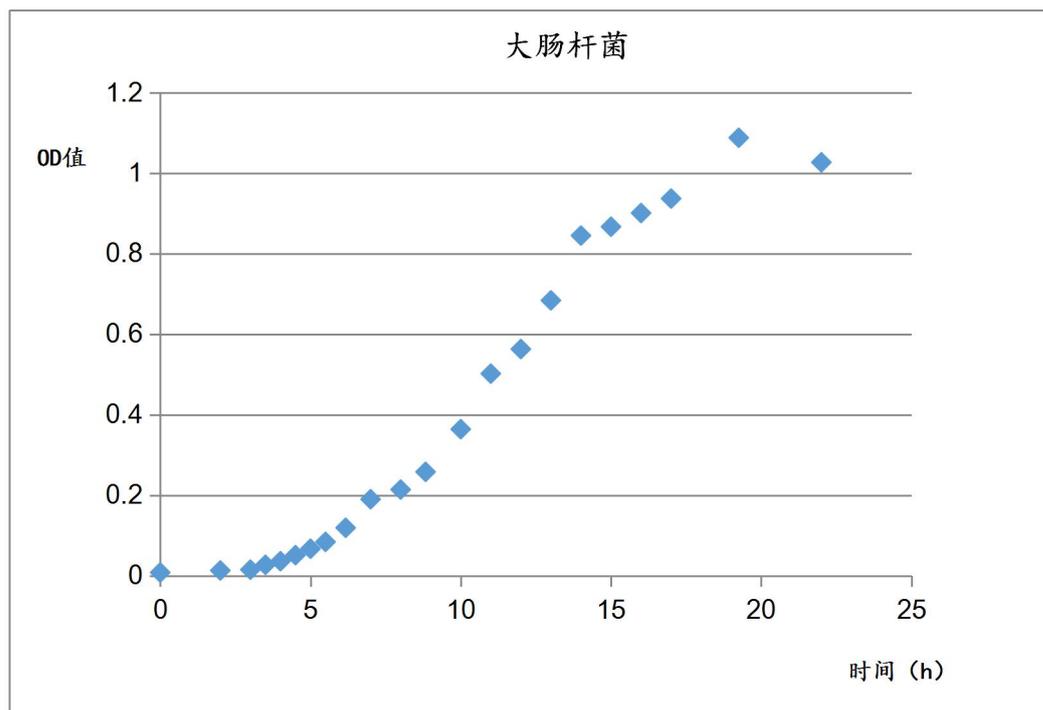


图 1. 细菌在约 11h 左右，增长速率最高。15h 左右进入对数生长后期。根据实验操作方便取 12h 和 16h 两个时间点观察。

## 2. 显微观察

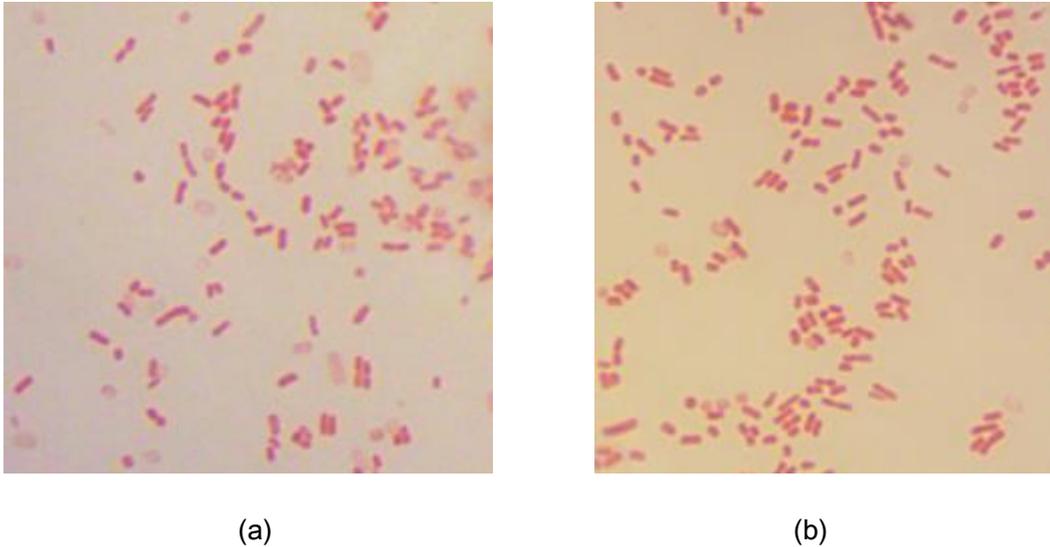


图 2. 对比细菌在 12h 和 16h 时的革兰氏染色(1000×): (a)大肠杆菌 12h; (b)大肠杆菌 16h。

### 结果分析:

实验菌株在 12h、16h 时，细菌均很适合教学实验使用；建议前一天 17:00 接种，方便第二天 9:00 实验课。

# 金黄色葡萄球菌

*Staphylococcus aureus* CCTCC AB 91093

### 实验过程:

3、 将实验菌种在 5ml NA 液体培养基中活化，活化的菌种接种于 100ml NA 液体培养基中，37℃摇床中培养，接种后立即取 0.1ml 测量 OD 值，后连续 22h

取菌液测其 OD 值，并绘制实验菌株的生长曲线。

4、将实验菌株细菌在 NA 斜面置于 37°C 培养，斜面生长至 12h 时，取菌进行革兰氏染色，油镜镜检。斜面继续培养至 16h 时，同样，取菌镜检。

### 实验结果：

#### 3. 生长曲线

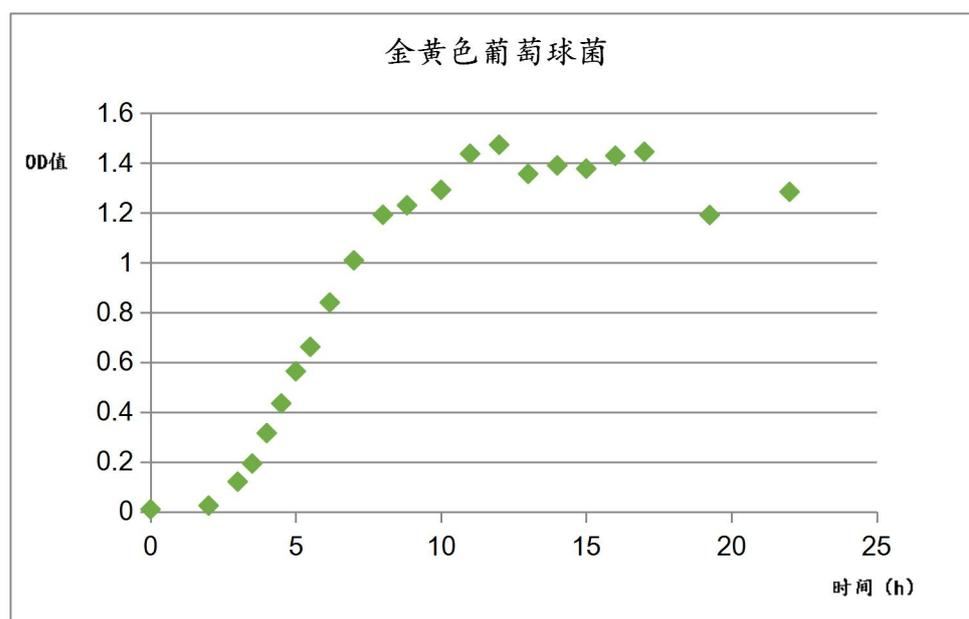
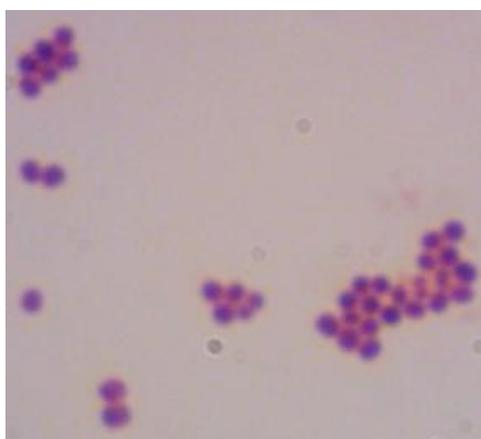


图 1. 细菌在约 11h 左右，增长速率最高。15h 左右进入对数生长后期。根据实验操作方便取 12h 和 16h 两个时间点观察。

#### 显微观察



(a)



(b)

图 2. 对比细菌在 12h 和 16h 时的革兰氏染色(1000×): (a)金黄色葡萄球菌 12h; (b)金黄色葡萄球菌 16h。

### 结果分析:

实验菌株在 12h、16h 时, 细菌均很适合教学实验使用; 建议前一天 17:00 接种, 方便第二天 9:00 实验课。

## 枯草芽孢杆菌

*Bacillus subtilis* CCTCC AB 90008

### 实验过程:

5、 将实验菌种在 5ml NA 液体培养基中活化, 活化的菌种接种于 100ml NA 液体培养基中, 37°C 摇床中培养, 接种后立即取 0.1ml 测量 OD 值, 后连续 22h 取菌液测其 OD 值, 并绘制实验菌株的生长曲线。

6、 将实验菌株细菌在 NA 斜面置于 37°C 培养, 斜面生长至 12h 时, 取菌进行革兰氏染色, 油镜镜检。斜面继续培养至 16h 时, 同样, 取菌镜检。

### 实验结果:

4. 生长曲线

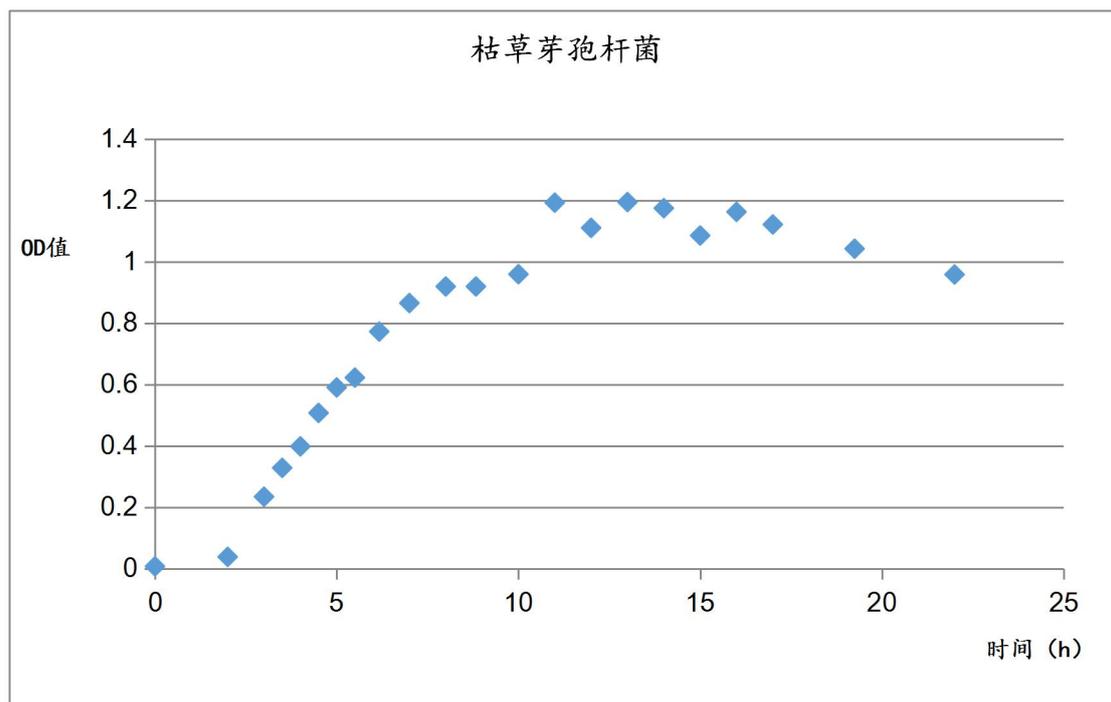


图1. 细菌在约11h左右，增长速率最高。15h左右进入对数生长后期。根据实验操作方便取12h和16h两个时间点观察。

## 5. 显微观察

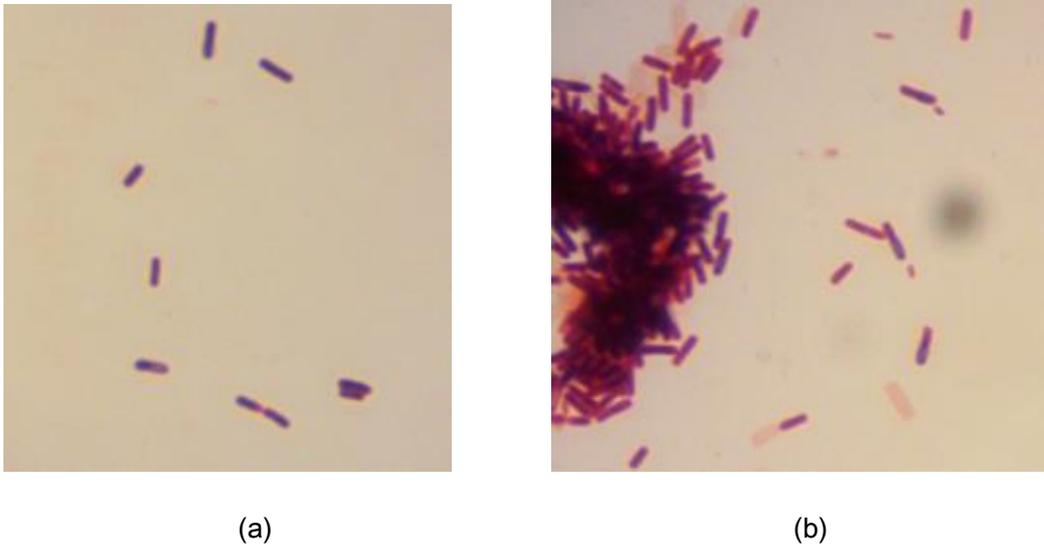


图 2. 对比细菌在 12h 和 16h 时的革兰氏染色(1000×): (a)枯草芽孢杆菌 12h; (b)枯草芽孢杆菌 16h。

### 结果分析:

实验菌株在 12h、16h 时, 细菌均很适合教学实验使用; 建议前一天 17:00 接种, 方便第二天 9:00 实验课。

## 教学实验名称: 荚膜染色

### 胶冻样芽孢杆菌

( *Bacillus mucilaginosus*, CCTCC AB 93189 )

**菌株培养基:** LB 培养基, 硅酸盐培养基 ( 酵母膏 0.4g ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2g ,  $CaCO_3$  1.0g ,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.2g ,  $K_2HPO_4$  0.5g ,  $MgCl_2$  0.2g , 甘露醇 10g , 琼脂 10.0g , 蒸馏水 1000ml ,

pH 7.0~7.2 )

**培养温度** : 28℃

**实验方法** : 待 28 度 LB 斜面上长出菌苔后 , 取菌体转接至硅酸盐培养基上培养。取培养一定时间斜面菌体至载玻片上涂片 ( 稍厚 ) , 空气中自然干燥 ( 不可火烤 ) , 然后滴加一定浓度的草酸铵结晶紫 , 染色一定时间后 , 清水洗掉染液 , 用滤纸吸干后在油镜下观察。

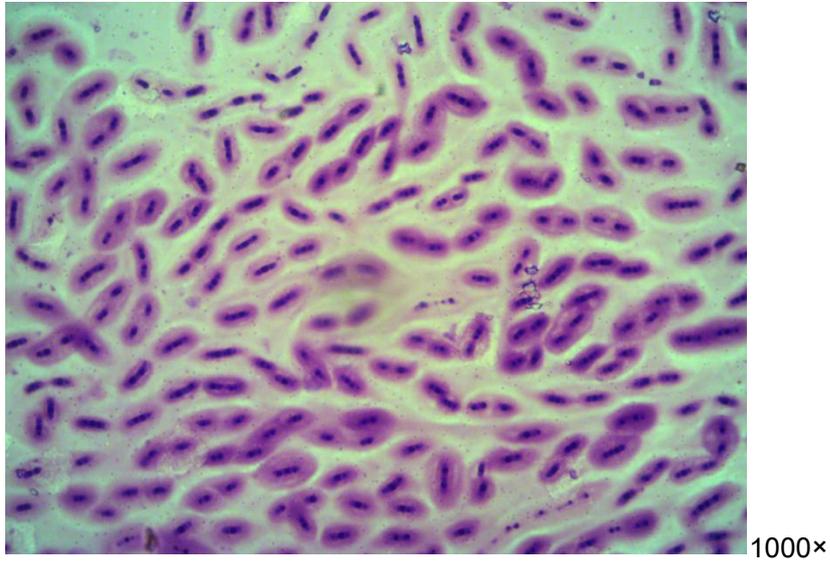
L <sub>9</sub> (3 <sup>4</sup> )				
实验次数	染色浓度 (%)	染色时间 (min)	培养时间 (d)	评分
1	1	1	1	90 分
2	1	2	3	0 分
3	1	3	7	0 分
4	2	1	3	0 分
5	2	2	7	0 分
6	2	3	1	85 分
7	3	1	7	0 分
8	3	2	1	95 分
9	3	3	3	0 分

**正交实验设**

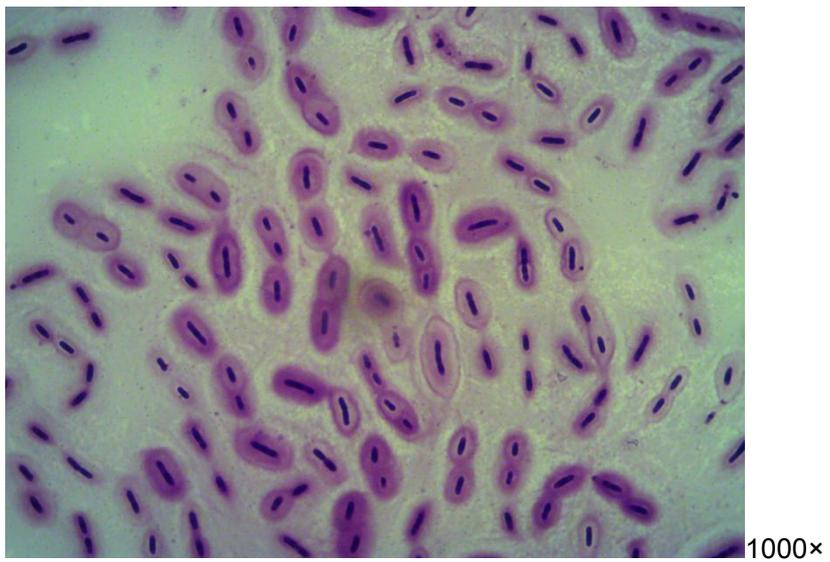
**计和结果如**

**下 :**

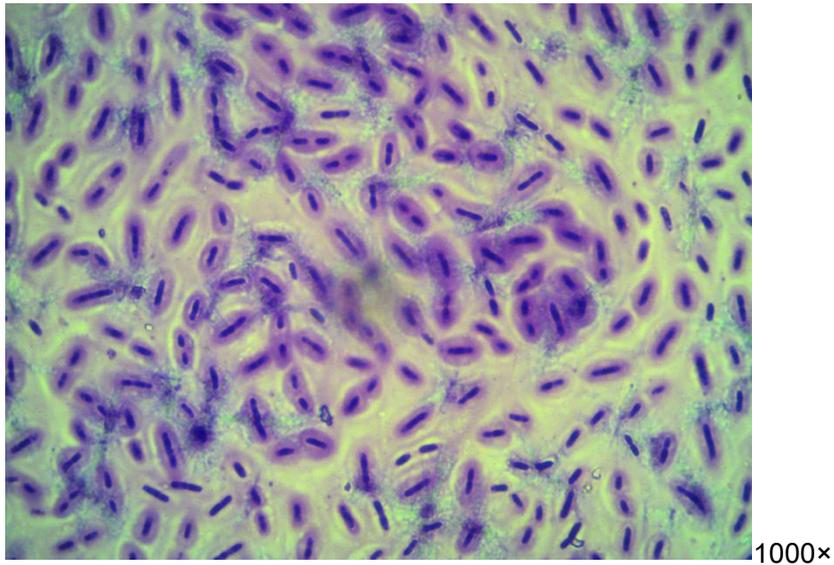
培养时间：1 天，染色液浓度：1%，染色时间：1 min，评分：90 分



培养时间：1 天，染色液浓度：3%，染色时间：2 min，评分：95 分



培养时间：1 天，染色液浓度：2%，染色时间：3 min，评分：85 分



正交实验其他条件下无可见荚膜

**教学实验名称：鞭毛染色**

## 变形杆菌

*Proteus vulgaris* CCTCC AB 91103

**实验过程：**

7、 将实验菌种在 5ml NA 液体培养基中活化，活化的菌种接种于 100ml NA 液体培养基中，37℃摇床中培养，接种后立即取 0.1ml 测量 OD 值，后连续 22h

取菌液测其 OD 值，并绘制实验菌株的生长曲线。

8、将实验菌株细菌在 NA 斜面置于 37°C 培养，斜面生长至 12h 时，取菌进行革兰氏染色，油镜镜检。斜面继续培养至 16h 时，同样，取菌镜检。

## 实验结果：

### 6. 生长曲线

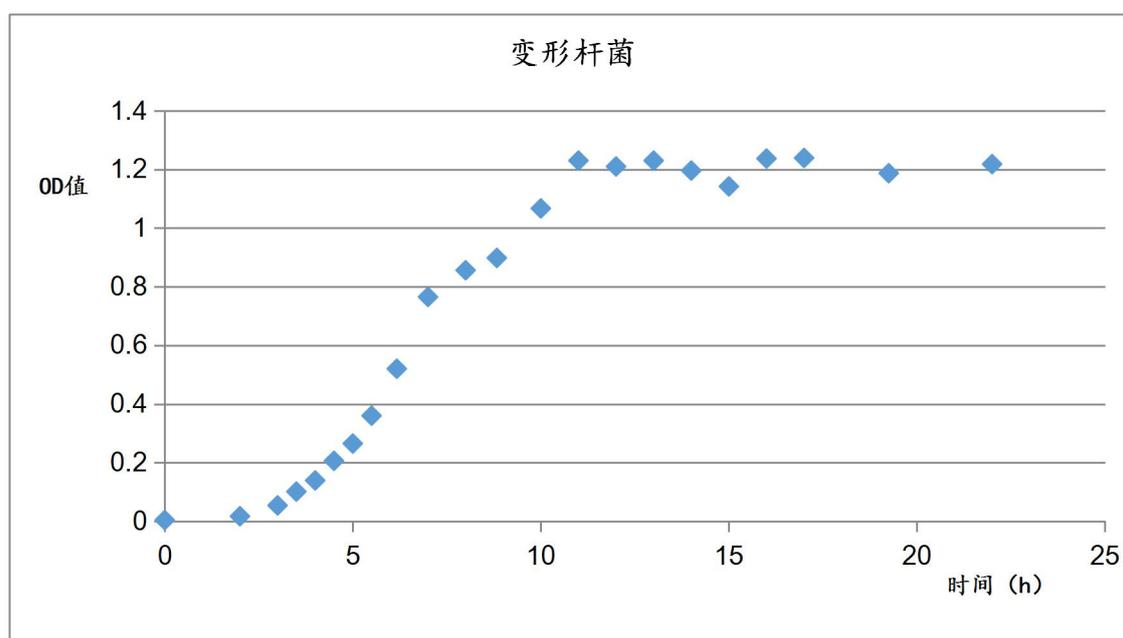
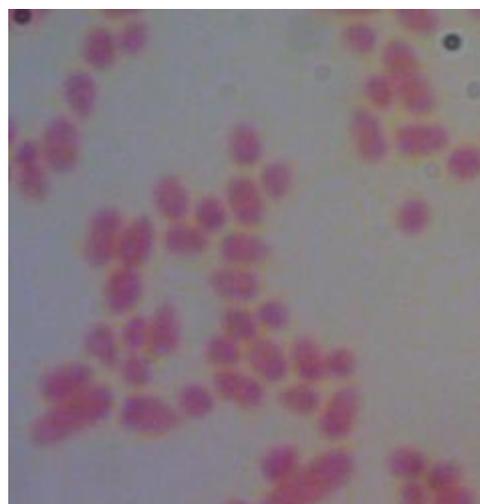


图 1. 细菌在约 10h 左右，增长速率最高。13h 左右进入对数生长后期。根据实验操作方便取 12h 和 16h 两个时间点观察。

### 7. 显微观察



(a)

(b)

图 2. 对比细菌在 12h 和 16h 时的革兰氏染色(1000×): (a)变形杆菌 12h; (b)变形杆菌 16h。

### 8. 鞭毛染色观察



图 3. 培养 16h 后,置于 4℃ 3 天后用银染(A 液和 B 液),仍有部分变形杆菌鞭毛明显(1000×)

### 结果分析:

实验菌株在 12h、16h 时,细菌均很适合教学实验使用;变形杆菌的鞭毛染色,在培养 16h 后,放入 4℃ 3 天后,仍可找到部分鞭毛明显的菌,以及单个细菌分裂后未完全分开,较长的个体。建议前一天 17:00 接种,方便第二天 9:00 实验课。