



第三章 微生物形態學與觀察

實驗四 菌落與細菌的觀察

一、目的

自然界中存在著數目繁多及種類多樣之微生物，經由單一個細菌分裂，培養繁殖而形成的細菌族群稱為菌落 (colony)。本實驗使用顯微鏡觀察不同種類的細菌所形成的菌落形態，包括菌落的大小、顏色、氣味、表面光滑或粗糙、邊緣平整或呈鋸齒狀，是否有黏液。

二、原理

微生物經由培養分離出單一菌落，藉由其外形 (morphology)、培養特徵 (cultural characteristics) 和生理生化特性 (physiology characteristics) 的不同，將微生物進行初步的鑑定分類。而固態培養基的菌落觀察包括了形狀 (shape)、大小 (size)、顏色 (color)、邊緣的形態、凸起的形狀及程度、透光率 (opacity)、表面形態、固定性 (consistency)、溶解性 (emulsifiability)、氣味 (odour) 和生長量等，本實驗將利用表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、大腸桿菌(*Escherichia coli*)以及擬態弧菌(*Vibrio mimicus*)三種不同微生物之培養液，以接種環取出菌液，於顯微鏡下觀察細胞形態並且平鋪塗抹在營養固態瓊脂培養基 (Nutrient broth agar)和 TCBS 瓊脂培養基 (Thiosulfate-Citrate-Bile salt-Sucrose agar)，經過 37 °C 隔夜培養後，觀察菌落的各種特性。



三、材料與設備

(一) 材料

1. 球菌：表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)
2. 桿菌：大腸桿菌(*Escherichia coli*)
3. 弧菌：擬態弧菌(*Vibrio mimicus*)
4. 無菌稀釋水
5. 營養固態瓊脂培養基(Peptone 10 g、Beef extract 5 g、NaCl 2 g 和 agar 15 g)
6. TCBS 瓊脂培養基(Yeast extract 5 g、Proteose peptone 10 g、Sodium citrate 10 g、Sodium thiosulfate 10 g、Oxgall 8 g、Saccharose 20 g、Sodium chloride 10 g、Ferric ammonium citrate 1 g、Bromthymol blue 0.04 g、Thymol blue 0.04 g 和 agar 15 g)
7. 15 ml 試管
8. 拭鏡紙
9. 載玻片
10. 蓋玻片
11. 接種環
12. L 型玻棒
13. 酒精燈
14. 牙籤

(二) 設備

1. 顯微鏡
2. 37 °C 培養箱
3. 旋轉式試管組織培養器



四、方法與步驟

1. 製作不含任何抗生素且滅菌過的營養固態瓊脂培養基和 TCBS 瓊脂培養基。
2. 使用 L 型玻棒分別平鋪塗抹表皮葡萄球菌、大腸桿菌在營養固態瓊脂培養基和擬態弧菌在 TCBS 瓊脂培養基。
3. 37 °C 隔夜孵育後，觀察菌落的特性並且繪圖。
4. 使用牙籤挑起固態瓊脂培養基的單一菌落，培養在 15 ml 液態培養基試管中，37 °C 旋轉孵育到隔夜。
5. 用接種環以酒精燈過火滅菌，冷卻後沾取含菌液態培養基。
6. 均勻塗抹滴有無菌稀釋水之載玻片上。
7. 以 45°角蓋下蓋玻片，避免氣泡產生。
8. 用顯微鏡觀察且記錄繪圖出三種不同微生物細胞的形態。



實驗四 菌落與細菌的觀察

班級：_____

組別：_____

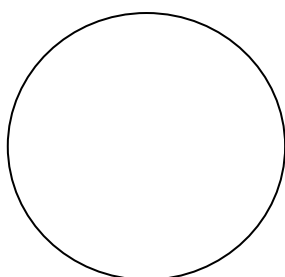
姓名：_____

學號：_____

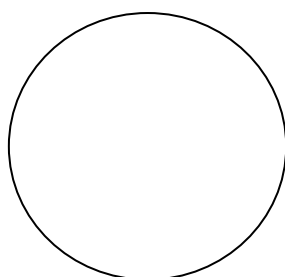
五、結果

1. 請分別描述固態瓊脂培養基三種不同微生物的型態並請繪圖固態瓊脂培養基上菌落的特徵。

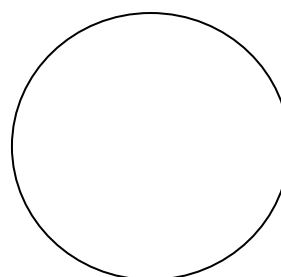
菌種	形狀	大小	顏色	邊緣
表皮葡萄球菌				
大腸桿菌				
擬態弧菌				



表皮葡萄球菌

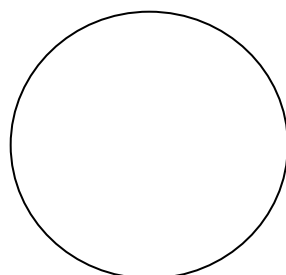


大腸桿菌

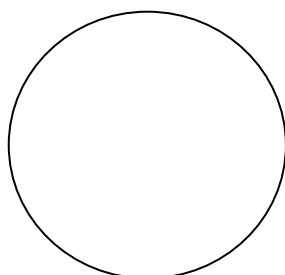


擬態弧菌

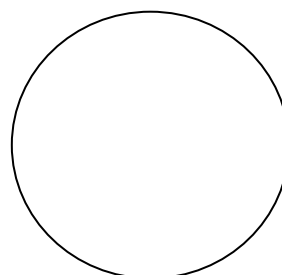
2. 請繪圖顯微鏡下細菌的特徵。



表皮葡萄球菌



大腸桿菌



擬態弧菌



六、問題與討論

1. 在外部形態之觀察上有何差異，如何分辨？
2. 本實驗介紹的三種菌株，在自然界中大多存在何處？
3. 除了球菌、桿菌及弧菌外，請舉出你所知道其它細菌的形狀？

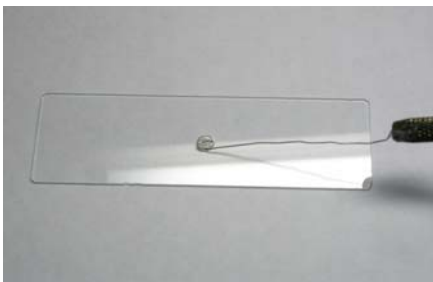


圖 4-1

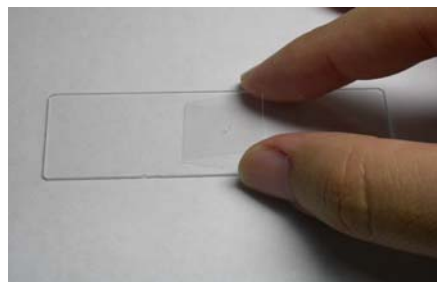


圖 4-2



實驗五 菌體大小測定

一、目的

- (一) 了解菌體大小測定之單位。
- (二) 依實際實驗，測取微生物之大小。

二、原理

微生物的大小可用顯微測微計來測量。顯微測微計由載物台測微計 (stage micrometer) 和目鏡測微計 (ocular micrometer) 組成，載物台測微尺是用來標定目鏡測微尺每刻度在不同放大倍率時的分度值，欲正確量取細胞之大小，顯微鏡視野之直徑須先以目鏡測微計與載物臺測微計確定之(圖 5-1)。

一般測量微生物的單位： $1\ \mu = 10^{-3}\ \text{mm}$

1. chlorella：3~10 μm
2. protozoa：10~1000 μm
3. blood cell：3~10 μm
4. bacteria： $0.8 \times 3\sim 4\ \mu\text{m}$
5. yeast： $1\sim 5 \times 5\sim 30\ \mu\text{m}$
6. virus：7 $\mu\text{m} \times 800\ \mu\text{m}$

三、材料與設備

- (一) 菌種：
 1. 細菌 (例如 *E. coli*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*)
 2. 黴菌 (例如：紅麴菌)



3. 酵母菌 (例如：*Saccharomyces cerevisiae*)

(二) 器材：

1. 目鏡測微計
2. 載物臺測微計
3. 顯微鏡
4. 杉木油或礦物油
5. 二甲苯
6. 拭鏡紙
7. 無菌水
8. 接種環

四、方法與步驟

(一) 顯微鏡校正：

1. 將測微計放在玻片夾下載物台上。
2. 將目鏡測微計放入接目鏡內(5 x 或 10 x)。
3. 接上接物鏡 40 x，並使鏡頭非常接近測微計。
4. 調節調節螺，視野內出現兩刻度，找出重疊的兩線，計算刻度與格數，準正。

(二) 測量菌體大小：

1. 將測微計拿下。
2. 作塗抹。
3. 放於玻片夾下，用(15 x × 40 x)觀測其每一個菌體在目鏡測微計中所占刻度。



4. 計算乳酸菌及酵母菌之大小。

圖六

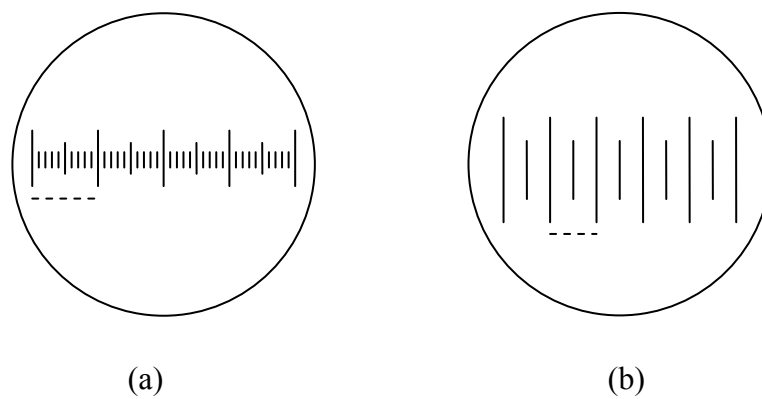


圖 5-1：目鏡測微計(ocular micrometer) (a) 與載物台測微計(stage micrometer) (b)



實驗五 菌體大小測定

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果

1. 計算各種微生物之大小。

六、問題與討論

1. 如何記錄各種不同形狀微生物之大小。

七、參考文獻

陳吉平、唐坤元。1991。微生物學實驗。睿煜出版社。屏東縣。



實驗六 簡單染色法

一、目的

了解簡單染色法之化學基本理論並練習染色法。使用單一染劑來染細菌作直接的觀察稱為「直接染色法」。可了解細菌之型態與排列狀態。本法為所有染色法之基礎。可提供微生物最基本的資訊。

二、原理

本法的細菌抹片僅用於單獨染料染色。主要以鹽基性染料含有帶陽電荷之呈色原來針對帶有負電荷的細菌核酸與細胞壁成分，藉著彼此吸引及結合力來達到染色的目的。此法可以最短的時間提供細菌型態與排列狀態的資訊。非常具實用價值。常用在本法之鹽基性染料為甲烯藍，結晶紫與石炭酸複紅，染色時間則依染料而有所調整，石炭酸複紅為 15 至 30 秒，甲基藍則為 1 至 2 分鐘，結晶紫則為 20 至 60 秒。

三、材料與設備

(一) 材料

1. 甲基藍
2. 結晶紫
3. 石炭酸複紅

(二) 設備

1. 酒精燈（或本生燈）



2. 電熱板
3. 接種環
4. 玻片
5. 吸水紙
6. 拭鏡紙
7. 染色盤
8. 顯微鏡

四、方法與步驟

1. 將鏈球菌 (*Streptococcus*) 製備成抹片，各抹片於染色前需先經過熱固定。
2. 將玻片置於染色盤上，覆以染色液，並注意適宜之染色時間。
3. 以蒸餾水尖嘴瓶小心沖去過剩染色液，此時玻片應與水流成平行，如此可減少微生物自抹片中流失。
4. 以吸水紙吸乾抹片，切勿揩拭。
5. 以油鏡觀察抹片。



實驗六 簡單染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果

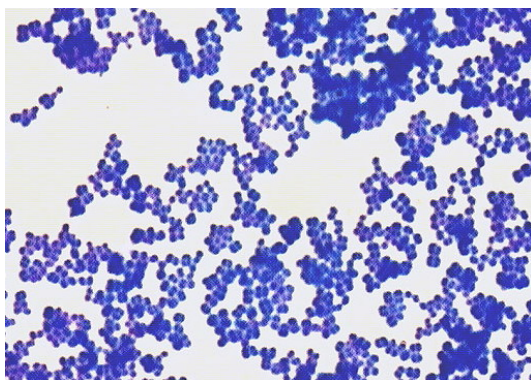


圖 6-1 鏈球菌之簡單染色(*Streptococcus*)

六、問題與討論

1. 試述直接染色法之應用時機？
2. 試述直接染色法與格蘭氏染色法之不同點？
3. 試述為何染色前需要固定？



實驗七 陰性染色法

一、目的

了解陰性染色之化學原理並練習如何染色。本法為現行菌種的初步鑑定又稱「間接染色法」。此法之染色處理過程並非針對菌體本身。所用之染劑係因陰離子呈色，所以無法對同樣帶陰電荷之菌體細胞呈色，而於染色時會在細胞周圍形成沈澱圈。藉著與環境之對比觀察到細菌。

二、原理

背景染色之應用重點為標本不需以熱固定，細胞不至因化學藥物之影響導致結構變形，因此特別適用於觀察細菌自然之大小與型態。對於某些結構組成特殊且不易以化學藥劑染色之細菌如螺旋菌，可藉染色之背景而顯現未經染色之細胞。背景染色需用酸性染料如伊紅或苯胺黑。因細菌體表帶負電荷，而酸性染料之呈色原（chromogen）也帶負電荷，故不會滲入細胞內。

三、材料與設備

（一）材料

1. 苯胺黑染色液

（二）設備

1. 酒精燈（或本生燈）
2. 接種環
3. 染色盤
4. 玻片



5. 拭鏡紙

6. 顯微鏡

四、方法與步驟

1. 取一小滴苯胺黑染色液，滴於潔淨玻片之一端。
2. 以無菌操作取一接種環之培養螺旋菌，置入苯胺黑染色液中，混勻。
3. 取另一玻片（或蓋玻片）其一端置於苯胺黑色液之前，並呈 30 度狀態，向他端推去，使混和液成一薄塗膜。
4. 將玻片置空氣中乾燥，不宜以熱固定。
5. 以油鏡觀察之。



實驗七 陰性染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果



圖 7-1 陰性染色之螺旋菌

六、問題與討論

1. 試述陰性染色法之鑑別對象？
2. 為何操作陰性染色時不宜加熱？
3. 是否可由陰性染色法來測量細菌之大小？



實驗八 革蘭氏染色法

一、目的

了解革蘭氏染色之化學原理並練習染色法如何將細菌分為革蘭氏陽性與革蘭氏陰性菌。本法為現行菌種初步鑑定中最常見者且為重要的分類依據。染色過程需要四種溶液：鹼性染劑、媒染劑包含酸性、鹼性、金屬鹽類或碘：用為增加染劑對菌體之親和力，協助將染劑固定在細胞上，使之呈色、脫色劑及對比染劑：一種鹼性染劑，使經脫色的菌體再呈色。

二、原理

革蘭氏染色需用經熱固定之抹片，且依序使用三種化學溶液。第一步為初染劑使細菌著色來形成顏色對比，第二步為脫色劑。依細胞化學組成之不同，脫色劑可完全或部份除去初染所得細胞之顏色。最後為複染劑，與初染呈對比。脫色時若初染未洗去，則不能吸收複染，細胞將保留初染的顏色。若初染成功被脫色，則細胞會吸收複染之顏色。因此細胞之構造可依保留之染色劑來鑑別。此法為微生物分類與鑑別之主要工具，可將細菌區分為革蘭氏陽性菌與革蘭氏陰性菌。本法使用試劑的化學機轉如下：初染劑(結晶紫)，係最先使用之試劑會使細菌染成紫藍色。媒染劑(碘液)，可與初染劑結合而形成不溶性複合物來形成結晶紫-碘複合體，此時所有細菌均成紫黑色。脫色劑 (95%乙醇)，具有脂溶性與蛋白質脫水劑之功能。其作用依據微生物細胞壁所含脂肪濃度。格蘭氏陽性菌之脂質含量低可保留結晶紫-碘複合體，其機制因少量之脂質經乙醇作用，立刻溶解形成細胞壁之細孔，隨即因乙醇之脫水作用而封閉細孔，以致緊密結合之初染劑不易移去，保留紫色。革蘭氏陰性菌細胞壁外層含高量之脂質，易為乙醇溶解，形成較



大之孔洞。細胞壁蛋白脫水後也無法封閉，因此有利於結晶紫-碘複合體之釋出，致使菌體成無色。複染劑為番紅，凡經脫色之細菌，會被染成紅色。因僅革蘭氏陰性菌發生脫色，故於此步驟能吸收複染劑。但脫色過度時可使初染流失，使革蘭氏陽性菌成革蘭氏陰性菌。但脫色不足，則不能完全除去結晶紫-碘複合物，結果是革蘭氏陰性菌成革蘭氏陽性菌。

三、材料與設備

(一) 材料

1. 結晶紫
2. 碘液
3. 95%乙醇
4. 番紅

(二) 設備

1. 酒精燈（或本生燈）
2. 電熱板
3. 接種環
4. 玻片
5. 吸水紙
6. 拭鏡紙
7. 染色盤
8. 顯微鏡



四、方法與步驟

1. 拭淨玻片。
2. 以無菌操作，每菌分別製備一抹片之外，另 *Escherichia coli* 及 *Staphylococcus aureus* 混合置備一抹片。於空氣中乾燥，熱固定後備用。
3. 將塗抹覆以結晶紫，靜置一分鐘。
4. 以蒸餾水輕洗。
5. 覆以革蘭氏碘液媒染劑，靜置一分鐘。
6. 以蒸餾水輕洗。
7. 以 95%乙醇脫色，勿脫色過度，逐滴滴下，至發現結晶紫未自塗抹中釋出為度。
8. 以蒸餾水輕洗。
9. 以番紅複染 45 秒。
10. 以吸水紙吸乾，並用油鏡觀察。



實驗八 革蘭氏染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果

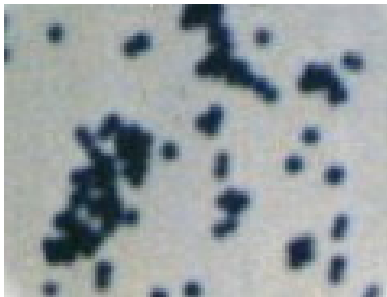


圖 8-1 革蘭氏染色陽性菌 (*Staphylococcus*)

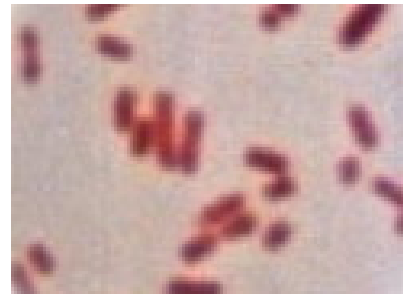


圖 8-2 革蘭氏染色陰性菌(*E.coli*)

六、問題與討論

1. 試述革蘭氏染色法應注意事項？
2. 試述細胞壁構造如何影響染色結果？
3. 最後呈色結果不同之意義為何？



實驗九 莢膜染色法

一、目的

了解莢膜染色之化學原理並練習如何染色。本法為常用之菌種特性鑑定。莢膜是細菌所分泌之膠狀物質，附著於細胞壁上且圍繞於菌體周圍。一般說來具有莢膜之細菌的毒力及致病性都較高。含厚層莢膜之細菌於宿主體內可自我保護免於被吞噬作用所破壞。莢膜物質可為多醣類，醣蛋白或肽聚醣。由於可溶性很高，因此莢膜染色較其他各種鑑別染色法操作上要更小心。除了塗抹後不可加熱，更要避免激烈沖洗。

二、原理

首先以結晶紫做為初染劑，加於未經熱固定之塗抹物。此時菌體與莢膜均會染成暗紫色。再以 20%硫酸銅為脫色劑與複染劑。由於莢膜為非離子性，經初染後染劑僅微弱附著於莢膜上。因莢膜物質為高度水溶性，所以使用硫酸銅而不用酒精為脫色劑。除去過剩之初染液與附著於莢膜之染液，但無法移除與細胞壁結合之初染劑。此時硫酸銅亦為複染劑，使其吸附於已脫色之莢膜物質。最後可得淺藍接近灰白色的莢膜及深紫紅色的菌體。

三、材料與設備

(一) 材料

1. 1%結晶紫
2. 20%硫酸銅。



(二) 設備

1. 酒精燈（或本生燈）
2. 接種環
3. 染色盤
4. 玻片
5. 拭鏡紙
6. 顯微鏡。

四、方法與步驟

1. 拭鏡玻片，以無菌操作製備一克伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 之濃厚塗抹片，於空氣中乾燥後備用(勿熱固定)。
2. 將玻片覆以結晶紫，並靜置 5~7 分鐘。
3. 以 20%硫酸銅溶液輕洗。
4. 以吸水紙拭乾或靜置於空氣中乾燥，並以油鏡觀察。



實驗九 莢膜染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果



圖 9-1 莢膜染色之克伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*)

六、問題與討論

1. 試述莢膜染色法之鑑別對象？
2. 操作莢膜染色時為何不可加熱？
3. 試舉例說明莢膜對病原性之影響？



實驗十 抗酸性染色法

一、目的

了解抗酸性染色之化學原理並練習染色法如何將細菌分為抗酸性與非抗酸性菌。本法為現行菌種鑑定的依據之一。此類型的細菌用酸液處理後，因特殊構造成分不易被脫色，故稱抗酸菌。常見如 *Mycobacteria*、*Actinomycetes* 等細菌。

二、原理

多數之細菌可藉單染法或革蘭氏染色法而著色，但有少數菌屬如分支桿菌屬（*Mycobacterium*）中則需藉著特別的抗酸性染色法來觀察。此屬中之結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）與麻瘋桿菌（*Mycobacterium leprae*）乃動物及人類之重要致病菌，對於此類之鑑定，本染色法為最重要之確認方法。分支桿菌其細胞壁含有厚層蠟質，染料不易滲透。但一經滲透，也不為酸性酒精所脫色。故稱為抗酸性，其他菌則易為酸性酒精所脫色，屬於非抗酸性。本法所採用染色劑如下：初染劑：石炭酸複紅，因多數之分支桿菌對一般染料如甲基藍與結晶紫缺乏敏感性，故於複紅中含有石炭酸，可使染料溶於細胞壁之脂質成分內，並使滲透而保留紅色。加熱有助於滲透作用，使石炭酸複紅經細胞壁之脂質而進入胞漿內。脫色劑：酸性酒精（3% HCl+95%乙醇）。脫色前塗抹先使冷卻，俾含蠟質之細胞物質硬化。加入酸性酒精時，初因初染劑較脫色劑更易溶於該細胞蠟質，故抗酸性菌對脫色具抗性，因此保留初染劑而成紅色，非抗酸性菌因缺乏細胞蠟質，脫色時初染劑易移去而成無色。複染劑：甲烯藍，用以染色脫色之細胞，因只有非抗酸性菌發生脫色，故可吸收複染劑而成藍色，抗酸性菌則仍保留初染之紅色。



三、材料與設備

(一) 材料

1. 石炭酸複紅
2. 酸性酒精
3. 甲烯藍

(二) 設備

1. 酒精燈（或本生燈）
2. 電熱板
3. 接種環
4. 玻片
5. 吸水紙
6. 拭鏡紙
7. 染色盤及顯微鏡

四、方法與步驟

1. 拭淨玻片。
2. 以無菌操作，每菌分別製備一抹片。於空氣中自然乾燥，並加以熱固定。
3. 將塗抹覆以石炭酸複紅，置溫熱之電熱板上，使蒸熱約 5 分鐘。注意勿使染液蒸發，需要時補充之。並調節電熱板至適宜溫度，以防沸騰。若用不加熱法，可將塗抹覆以含有 Turditol 之石炭酸複紅，染色 3~5 分鐘。
4. 將玻片放置冷卻，而後以蒸餾水輕洗之。
5. 逐滴加入酸性酒精脫色之，至無石炭酸複紅洗出即可。
6. 以甲烯藍複染 2 分鐘。
7. 以蒸餾水輕洗之。
8. 以吸水紙拭乾，並用油鏡觀察。



實驗十 抗酸性染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果

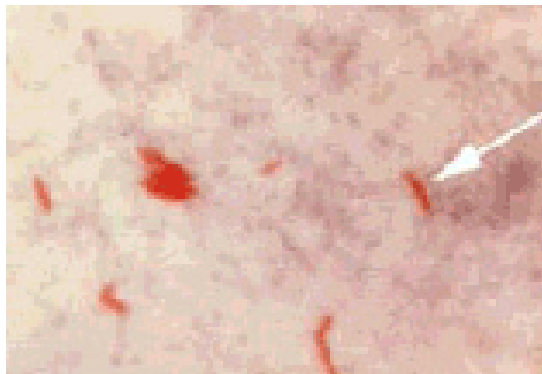


圖 10-1 抗酸性染色之結核菌

六、問題與討論

1. 試述抗酸性染色法之鑑別對象？
2. 試述抗酸性菌的細胞壁構造？
3. 試述抗酸性菌的病原性？



實驗十一 孢子染色法

一、目的

了解孢子染色法之化學基本理論並練習染色法。本法為現行菌種分類鑑定之一。厭氣性之梭狀芽胞桿菌屬（*Clostridium*）與好氣性之桿菌屬（*Bacillus*），在正常情形下，為代謝作用旺盛之生長型細胞。當環境條件不利於細胞之活動時，會形成具高度抵抗力而代謝停止之孢子。此為嚴苛環境下，確保細胞存活之轉機。在此情況下，細胞經芽胞形成作用產生細胞內構造即內孢子（endospore），而內孢子會被緻密之孢子殼（spore coat）環繞。當環境繼續惡化時，內孢子即自衰退之生長型細胞釋出而成獨立之孢子。孢子外層對各種不利影響如高熱、冷凍、放射線、乾燥、化學藥品及染料等均具相當之抵抗力。當環境條件變為有利時，孢子可再經萌芽恢復為代謝旺盛之生長型細胞。

二、原理

本法係以孔雀石綠（malachite green）為初染劑，因孢子殼不易吸收孔雀石綠，故需加熱來提高其滲透效率。此步驟會將生長型細胞與孢子都染成綠色。之後以一般水洗來脫色。但經孔雀石綠染色後之孢子，不易被水洗脫色。仍保留綠色。但是孔雀石綠對生長型細胞之結構成份不具親和力，所以水洗會移去殘留的染料使細菌變成無色。最後再以番紅（safranin）來複染，經脫色後之生長型細胞會變成紅色，借此與綠色之孢子來區分。



三、材料與設備

(一) 材料

1. 孔雀石綠
2. 番紅

(二) 設備

1. 酒精燈（或本生燈）
2. 電熱板
3. 接種環
4. 玻片
5. 吸水紙
6. 拭鏡紙
7. 染色盤
8. 顯微鏡

四、方法與步驟

1. 拭淨玻片，將菌製備成抹片，並加熱固定。
2. 將抹片覆以孔雀石綠，並將玻片置於電熱板上，加熱至產生蒸汽 2~3 分鐘。
注意勿使染液蒸乾，需要時補充之。並調至適當溫度，以防染液沸騰。
3. 將玻片冷卻，以自來水輕洗之。
4. 以番紅複染 30 秒。
5. 以自來水輕洗之。
6. 以吸水紙拭乾或烘乾，並用油鏡觀察。



實驗十一 孢子染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果

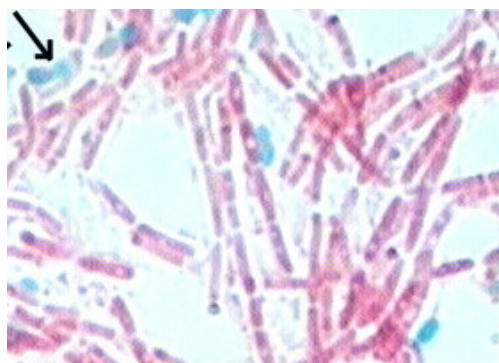


圖 11-1 梭狀桿菌之孢子染色(*Clostridium*)

六、問題與討論

1. 試述孢子染色法之應用時機？
2. 試述在染孢子時為何要加熱？
3. 試描述孢子在梭狀桿菌菌體內之位置？



實驗十二 鞭毛染色法

一、目的

了解鞭毛染色之化學原理並練習染色法如何鑑定有鞭毛的細菌。本法為現行菌種鑑定中重要的形態學分類依據。

二、原理

細菌的鞭毛為一極細微的構造，直徑大小為 10-20 nm。一般來說電子顯微鏡可以清楚的觀察到。但是利用特殊的染色法，則在普通光學顯微鏡下也可看見。鞭毛染色的基本原理，即在染色前先用媒染劑沉積在鞭毛上，使鞭毛直徑加粗加寬後，再針對其進行染色。丹寧酸和三氯化鐵或鉀明礬為常用的媒染劑。進行 Leifson 染色法受菌種、菌齡和室溫等因素的影響，且染色液須經 15-20 次過濾。而且最好每次現配現用不要存放。以免保存的過程有沉澱變質影響結果。在整個操作過程中必須仔細小心，由於細菌鞭毛極細很易因操作不當而脫落。另外保持染色用玻片乾淨無油污以避免干擾更是十分重要。

三、材料與設備

(一) 材料

1. Leifson 染色液: Dehydrated Flagella Stain 1.9 gm、95% ethanol 33 ml、distilled water 67 ml。

(二) 設備

1. 酒精燈（或本生燈）
2. 電熱板



3. 接種環
4. 玻片
5. 吸水紙
6. 拭鏡紙
7. 染色盤
8. 顯微鏡

四、方法與步驟

1. 清洗並選擇光滑無裂痕的玻片，最好選用新的。為了避免玻片相互重疊，應將玻片插在專用金屬架上，然後將玻片置洗衣粉過濾液中（洗衣粉煮沸後用濾紙過濾，以除去粗顆粒），煮沸 20min。取出稍冷後用自來水沖洗、晾乾，再放入濃洗液中浸泡 5—6 天，使用前取出玻片，用自來水沖去殘酸，再用蒸餾水洗。將水瀝乾後，放入 95%乙醇中脫水。
2. 配製染料：染料配好後要過濾 15-20 次後染色效果才好。
3. 放置滴梭狀桿菌(*Clostridium*)菌液於一端，將玻片傾斜，讓菌液流向另一端，並用濾紙吸去多餘的菌液。
4. 在空氣中自然乾燥。
5. 使染料覆蓋塗片。
6. 在沒有傾去染料的情況下，就用蒸餾水輕輕地沖去染料，否則會增加背景的沉澱。
7. 自然乾燥。
8. 鏡檢時先低倍觀察，再高倍觀察，最後再用油鏡觀察，觀察時要多找一些視野，不要只在 1-2 個視野中找尋細菌的鞭毛。



實驗十二 鞭毛染色法

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果



圖 12-1 梭狀桿菌鞭毛染色 (*Clostridium tertium*)

六、問題與討論

1. 試述鞭毛染色法應注意事項？
2. 試述鞭毛之功用及分類的方式？
3. 列舉幾種有鞭毛之細菌？



實驗十三 微生物的運動性

一、目的

細菌之運動性可作為鑑別不同屬 (genera) 如 *Enterobacter* (陽性) 與 *Klebsiella* (陰性) 或種 (species) 如 *Bacillus anthracis* (陰性) 與其他 *Bacillus* (陽性)。

二、原理

細菌運用其鞭毛進行運動。當細菌培養於半固體狀之培養基時，其運動性可由肉眼判定。

三、材料與設備

(一)材料

1. SIM (sulfide-indole-motility) medium 或其它 motility test medium (運動性試驗培養基)
2. 培養 18-24 小時之純化細菌
 - 1) *Escherichia coli*
 - 2) *Klebsiella pneumoniae*

(二) 設備

1. 酒精燈
2. 接種針
3. 試管架

四、方法與步驟

1. 以接種針挑取細菌。
2. 穿刺培養基約 2/3 深處。
3. 於 37°C 培養 24-48 小時後觀察；若低溫下有運動性，則接種二試管，一培養 37°C，一培養於室溫(22 °C)。



實驗十三 微生物的運動性

班級：_____

組別：_____

姓名：_____

學號：_____

五、結果

1. 將試管內的細菌生長情形圖示之。
2. 具運動性之細菌從穿刺線往外生長，因此，附近培養基呈混濁，或呈絨毛狀。
不具運動性之細菌則只在穿刺線上長，附近培養基清澈乾淨。
3. 有些細菌於低溫下有運動性，則接種二試管，一培養於 37 °C，一培養於室溫 (22 °C)。
4. 於每公升培養基內可加入 0.05 g 之 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC)，當細菌生長時會將無色之 TTC 還原為紅色的 formazan，只有在細菌生長的地方呈現紅色，使運動性之判定更為容易。
5. 細菌儲存久後易失去運動性。

六、問題與討論

1. 除了鞭毛外，細菌尚有哪些運動方式？



2. 為何使用接種針而不使用接種環進行運動性檢測？