

## 根瘤菌的鞭毛染色

梁绍芬 姜瑞波 关妙姪

(中国农业科学院土壤肥料研究所, 北京)

细菌的鞭毛极为纤细, 必须用特殊的染色方法才能在普通光学显微镜下观察到。根瘤菌的鞭毛则更为纤细, 染色更加困难。特别是根瘤菌的种类较多, 同一个种的不同菌株生长速度相差很大, 鞭毛出现的时间很不一致。因此, 掌握各种根瘤菌鞭毛出现的时间是根瘤菌鞭毛染色成功的关键之一。另外, 根瘤菌的菌体表面有多糖粘液物质, 使菌体粘在一起而不易分散。给鞭毛染色增加了困难。

我们采用改进的 Blenden 氏鞭毛染色法, 并采取相应的改进措施, 使菌体易于分散。在对 70 株根瘤菌的染色试验中, 取得了较好的效果。现将方法介绍于下。

### (一) 染色液

甲液: 丹宁酸 5g,  $\text{FeCl}_3$  1.5g, 蒸馏水 100ml。

乙液:  $\text{AgNO}_3$  2g, 蒸馏水 100ml。

### (二) 载玻片的准备

按一般鞭毛染色的要求处理。

### (三) 菌种准备

由于染色液要现用现配, 所以最好是把需要染色的菌株集中起来分批进行。染色前要将保存的菌种接种在新鲜的甘露醇-酵母汁培养基上活化 1—2 次。根瘤菌在含碳水化合物多的培养基上, 菌体表面容易形成较多的多糖粘液。为了减少多糖粘液的产生, 使之易于分散, 一般可将活化后的菌株再接种到下列培养基的新鲜斜面上。配方如下(%): 蛋白胨 0.5,  $\text{MgSO}_4$  0.02, 甘露醇 1.0,  $\text{CaSO}_4$  0.01,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.02,  $\text{NaCl}$  0.02, 琼脂 2。

接种后再加入 0.5—1.0ml 的无菌水, 置 28—30℃ 的温箱内培养。如果有个别菌株在上述蛋白胨培养基上生长不良时, 也可以按同样

的方法将菌株接种在甘露醇-酵母汁培养基上。某些根瘤菌, 同一个种不同的菌株其生长速度、鞭毛出现的时间都有很大差异。有的培养 24 小时就出现鞭毛, 有的培养 70 小时左右才出现鞭毛。所以, 在没有摸清鞭毛出现的大概时间之前, 一个菌株要同时接种几支斜面, 可分别在 24 小时、48 小时和 72 小时取样制片。我们的经验是, 快生型的根瘤菌一般培养 24—48 小时制片为宜。慢生型的根瘤菌培养 48—72 小时制片为宜。以大豆根瘤菌(*Rhizobium japonicum*)为例, 其效果见图 1—2。染色的方法与步骤以及结果观察均按改进的 Blenden 鞭毛染色法进行。

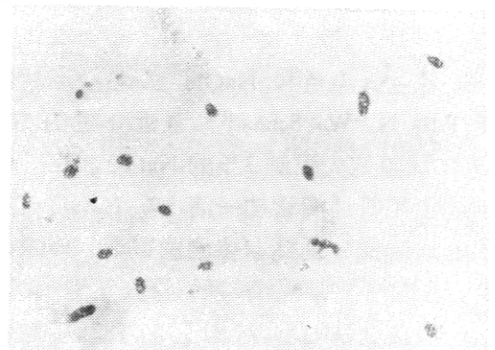


图 1. 快生型大豆根瘤菌 USDA 192 的鞭毛染色



图 2. 慢生型大豆根瘤菌 Y-11 的鞭毛染色

## 参 考 文 献

- 【1】 Finar, L. and L. W. Erdman: *Antonie van Leeuwenhoek*, **24**: 47, 1958.
- 【2】 中国科学院微生物研究所细菌分类组: 一般常用细菌分类方法, 科学出版社, 北京, 1978 年。
- 【3】 刘聿太: 微生物学通报, **7**(1): 42—43, 1980。