

一种观察真菌和制作封片的方法

胡 以 仁

(云南农业大学, 昆明)

用挑取的方法观察真菌形态构造和制作真菌封片, 一般很难获得满意的结果。载片或盖片培养法^[1,2,3]和玻璃纸法^[4,5]的出现和应用, 使情况得到了改善。但除少数方法外, 大多操作比较麻烦, 有的容易发生污染, 有的效果稍差。现介绍一种十分简便的方法——“多盖片扞片法”, 它技术简单, 不易污染, 效果很好。在研究大量真菌标本或制作载片标本时尤为适用。

(一) 菌种

痈青霉 (*Penicillium fellutanum* FK82127), 烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus* FK82132), 硫色曲霉 (*Aspergillus sulphureus* FK83142), 淡紫拟青霉 (*Paecilomyces lilacinus* FK83140), 盖姆斯被孢霉 (*Mortierella gamsii* FK83164), 上述菌种均由作者分离并鉴定。

(二) 培养基

查贝克培养基。

(三) 方法和步骤

1. 倒平板及开槽: 倒约 3mm 厚的平板。在中部和旁边用无菌解剖刀开宽约 3mm 的槽。

2. 接种: 沿槽的一边接种, 接种量要适中, 最好制成不浓的悬液接种。

3. 扞片: 以无菌盖玻片的一端斜扞入槽内未接种一端的培养基之下, 并使盖片与接种过的槽端相接触 (图 1)。

4. 培养: 24—26℃ 保温培养。

5. 观察与制片: 根据不同的真菌种或视需要, 2—4 日后用无菌手续取片观察, 择优制作封片。曲霉之类需要观察色素状况的真菌, 用水

浸片即可, 如要留待以后 (几周内) 观察, 可用不加染料的 Amann 氏液 [酚 (C. P.) 20g, 乳酸 (比重 1.2) 20g, 甘油 (比重 1.25) 40g 蒸馏水 20ml; 根据需要加或不加棉蓝、曙红等染料]。详细的观察则用各种染色液 (美蓝、番红等)。如要制备封片, 可在载片上加一滴 Amann 氏液, 将长有菌体的盖片浸入 70% 的酒精, 立即取出沥去余液, 以长菌的一面浮载于液滴上, 轻压盖片以除去气泡, 然后用吸水纸吸去多余液体, 拭净盖片四周, 视情况立即或几周后用加拿大胶或合成胶封闭盖片四周, 干燥后就制成载片标本。

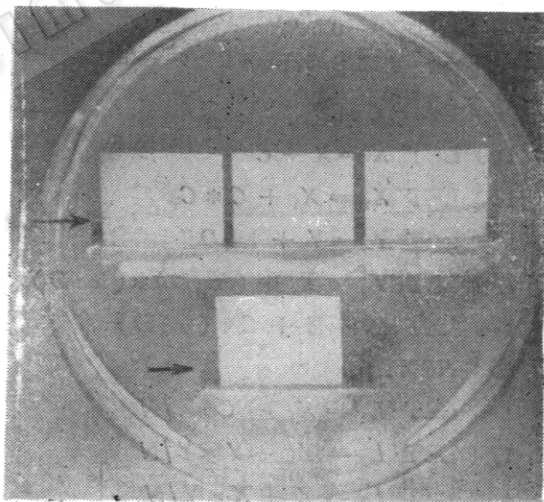


图 1 一种制作封片的方法——多盖片扞片法, 沿箭头处接种

(四) 效果

用上述方法可以较满意地观察到真菌自然着生的形态结构和制作半永久性封片。如痈青霉的单轮生帚状枝; 烟曲霉的顶囊、单层小梗和

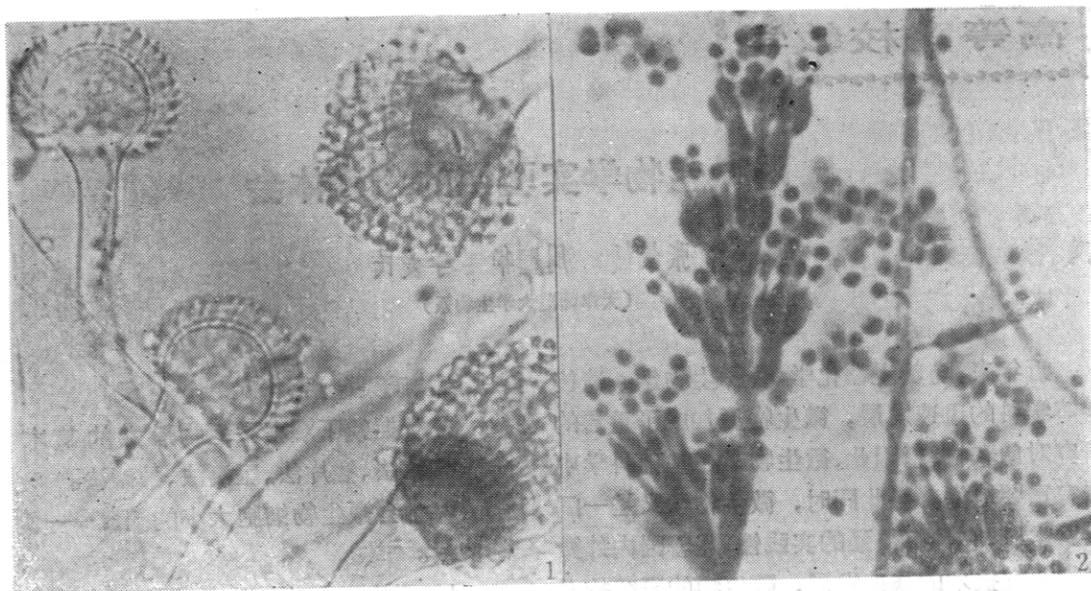


图2 用本方法制片拍摄的烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)
(1) 和淡紫拟青霉 (*Paecilomyces lilacinus*) (2) (×130)

不同生育期的分生孢子头(图2); 疏色曲霉的双层小梗和不同分化程度的分生孢子头; 淡紫拟青霉的多层次帚状枝结构和小梗细长的尖端(图2); 盖姆斯被孢霉的孢囊梗分枝式、孢子囊、退化的囊轴和脱落分散的孢囊孢子等。

(五) 讨论

用“多盖片扞片法”观察或制作载片标本, 技术简单, 省事省时, 效果良好。它除具有一些改进法的菌体纠缠较少、视野清爽明晰等优点外, 还可定期取片观察, 这就比较方便地了解真菌不同生育期的情况。在一个9cm直径的培养皿中扞3—5片或在二个中扞6—10片, 可有较多的观察机会或择优的余地。虽然如此, 根据经验, 仍以一皿扞4片比较合适。此法的另一个好处是, 不必特别进行保湿培养, 由于一皿多片, 在工作中可以少用大量的培养皿。

使用 Amann 氏液有两大优点: (1) 真菌的菌丝、孢子不膨胀, 不收缩, 一般不脱色。Raper 和 Thom 对青霉^[6], Raper 和 Fennell^[7] 对曲霉

的研究中作了肯定, 作者用于其它一些真菌也是如此; (2) 用它来制标本不易干燥, 故在几周后制片也不嫌迟。这对进行大量研究工作十分有利, 可以先制片后观察。

此外, 作者还用此法于放线菌的研究, 效果极佳。制片更是省事, 只须将长菌的盖片按细菌学的方法(火焰固定、染色、水洗、干燥、滴胶固封)处理即可。

参 考 文 献

- [1] 方中达: 植病研究方法, 农业出版社, 1979年, 第108—109页。
- [2] 中国科学院微生物研究所《常见与常用真菌》编写组: 常见与常用真菌, 科学出版社, 1978年, 第251页。
- [3] 余贻主编: 微生物学实验指导, 人民卫生出版社, 1965年, 第180—181页。
- [4] 方心芳: 应用微生物学实验法, 中国财政经济出版社, 1962年, 第121页。
- [5] 邓方席: 微生物学通报, 11(6): 282; 1984。
- [6] Raper, K. B. and C. Thom: A Manual of the Penicillia, Williams & Wilkins Co., 1949, p. 28.
- [7] Raper, K. B. and D. I. Fennell: The Genus Aspergillus, R. E. Krieger Publ. Co., 1965, p. 54.