

一种区别酵母菌子囊孢子与营养体的简易方法

熊春林

(南昌市溶剂厂,江西南昌 330006)

在酵母菌的鉴定分类和遗传育种等工作中,都要遇到子囊孢子的培养、观察和区分问题。一般情况下,使用高倍镜观察子囊及其中的子囊孢子。对于一个子囊中有两个、三个或三个以上子囊孢子能够观察和区分,但需要一定经验。而对于一个子囊中只有一个孢子或者孢子从子囊中释放出来,则很难与营养体细胞区别。本文作者摸索出一种区别酵母菌子囊孢子与营养体的简易方法,介绍如下:

(一) 观察物的培养

1. 菌株: 酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* WVHY8, 从中科院武汉病毒所购入。

2. 产孢子培养基:

(1) Kleyin 培养基(%)^[1]: 蛋白胨 0.25, 葡

萄糖 0.062, NaCl 0.062, NaAc · 3H₂O 0.5, 琼脂 2, pH 6.9—7.1。

(2) McClary 培养基(%)^[1]: 葡萄糖 0.1, KCl 0.18, NaAc · 3H₂O 0.82, 酵母膏 0.25, 琼脂 2。

3. 营养体培养基: 13Bx 麦芽汁, pH4.5—5.5。

4. 接种及培养: 挑取斜面菌种, 接于 13Bx 麦芽汁试管中, 于 28—30℃ 培养 2 天, 观察营养体。然后用此培养物转接在 McClary 氏孢子培养基上, 于 28—30℃ 培养 21 天以上, 按下列方法镜检。

(二) 染色

1. 试剂: 石炭酸复红液^[2]; 95%乙醇+1%

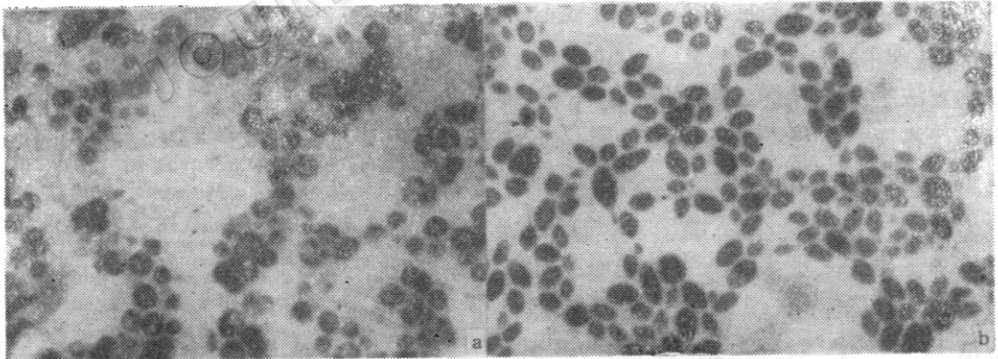


图1 本文方法染色孢子培养物与营养体培养物(1000×)
a. 红色为子囊孢子, 蓝色为营养体 b. 营养体细胞(蓝色)

盐酸脱色液(无水乙醇 95ml+36%盐酸 2.78ml + 蒸馏水 2.22ml); 1% 次甲烯蓝溶液。

2. 方法: 挑取培养好的菌体, 按常规方法涂片、干燥。用石炭酸复红染色 2—3 分钟, 蒸馏水冲洗。然后用 95%乙醇 + 1% 盐酸溶液脱色 40—50 秒, 蒸馏水冲洗。最后用 1% 次甲

烯蓝溶液复染 2—3 分钟, 用蒸馏水冲洗, 干燥, 在显微镜下从低倍到高倍, 最后用油镜观察。

(三) 镜检结果

产孢子培养基上的子囊孢子和营养体分别被染成红、蓝两种颜色(图 1a), 红色为子囊孢子, 蓝色为营养体细胞, 并可以清楚地看到子囊

内2或3个子囊孢子。而同一培养物的水浸片用高倍镜观察则较难分辨出何为子囊孢子,何为营养体细胞,尤其是对单个子囊孢子的观察更为困难。用简单染色方法亦不能区别子囊孢子和营养体细胞。用营养培养基培养的菌体均为营养体,以此作为对照,菌体染成蓝色,细胞整齐,无破裂现象(图1b)。

(四) 小结

Kreger-van Rij N. J. W曾报道,用石炭酸复红溶液加热染色,用乙醇盐酸溶液脱色,最后用次甲烯蓝复染的方法,可以区分子囊孢子和营养体细胞^[3]。但这种方法常因加热使营养体细胞染色较深,不易脱色干净。由于酵母菌细胞大,又没有象细菌那样坚硬的细胞壁,所以加热处理还会使营养体细胞和子囊孢子破裂,出现一些碎片(图2),影响观察结果。而用本文方法染色,既省去加热处理,使细胞整齐,无破裂现象,而且方法简便、快速、实用,可在教学、科研和生产中应用。

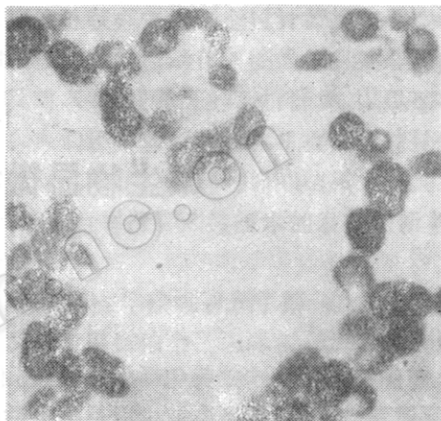


图2 加热法^[3]染色孢子培养物(1500×)

参 考 文 献

1. Barnett J A et al.: Yeast—characteristics and identification, Cambridge university press, Cambridge, p. 21, 1983.
2. 周德庆: 微生物学实验手册, 上海科学技术出版社, 上海, p. 14, 1986.
3. Kreger-van Rij N J W: The Yeasts—a taxonomic study, Elsevier Science Publishers B V, Amsterdam, 1984.