

兔双歧杆菌超微结构的观察

郭延奎 牛钟相 朱瑞良

(山东农业大学, 泰安 271018)

摘要 本文观察了兔双歧杆菌(*Bifidobacterium cuniculi*)的超微结构,发现青壮龄兔双歧杆菌的菌体结构完整,从外向里为糖被、细胞壁、细胞膜和细胞质。细胞壁为双层结构即外界膜和内界膜。胞质中有糖原颗粒、核蛋白体、中介体、液泡或空泡。未见有分叉杆菌。老龄菌无糖被,细胞壁不完整,呈碎片状,可见到许多分叉杆菌。提示兔双歧杆菌分叉的形成与营养不良、环境不利及老龄有关。

关键词 兔双歧杆菌,超微结构,电子显微镜

双歧杆菌(*Bifidobacterium*)是一属革兰氏阳性无芽孢厌氧杆菌,广泛存在于人、动物肠道内。兔双歧杆菌是兔肠道的主要正常菌群之一,它能为宿主提供多种维生素、氨基酸等营养物质,调节机体代谢,并能抑制肠道腐败菌和病原菌的繁殖,具有拮抗作用;另外,本菌还可诱发机体的免疫反应,激活机体吞噬细胞的吞噬力,从而提高机体的抗病力^[1]。本文将青壮龄兔双歧杆菌与老龄兔双歧杆菌的超微结构进行了对比观察,结果证明:兔双歧杆菌的多形性(分叉杆菌等)的出现,与营养不良、老龄等因素有关;老龄菌体表面的许多纤维状结构(可能是菌体纤毛或糖被——糖须)减少或消失,糖被有无,与是否能定殖于宿主的肠粘膜上皮有关^[2]。这提示在开发利用本菌研制微生物制剂时,兔双歧杆菌的培养时间勿过长,以免老化后影响定殖效果。有关这方面内容尚未见报道。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 兔双歧杆菌: 山东农业大学动物科学学院微生物教研室分离鉴定保藏菌种。

1.1.2 PYG 培养基: 按文献[3]方法制备。

1.1.3 厌氧培养装置: 山东农业大学动物科学学院微生物教研室自行安装。

1.1.4 电镜及其染色药品等: 山东农业大学作物遗传育种研究所电镜室提供。

1.2 方法

1.2.1 细菌培养: 无菌操作下将兔双歧杆菌接种于PYG两支试管中,置38℃厌氧培养罐中培养,一支培养2d,另一支培养4d以上。

1.2.2 制样及电镜观察: 将上述两种液体培养物离心,弃上清,将沉淀的菌体用3.5%戊二醛固定4h,1%锇酸固定2h,乙醇系列脱水,Epon812树脂渗透包埋,然后制切片,铀铅双染色,JEOL-1200EX透射电镜观察^[4]。

2 结果与讨论

2.1 培养48h的兔双歧杆菌超微结构

培养48h的兔双歧杆菌是两端纯圆的杆状菌(图1-A、B),图中有大量的深黑色菌体,可能是刚分裂完,其染色质均质深染。也有大量生长过程中的杆状双歧杆菌,最长为4.0μm,最宽1.0μm。菌体结构从外向里为糖被,细胞壁、细胞膜、细胞质(图2-A、B)。糖被厚薄不一,最厚60μm,它的作用是保护菌体不被宿主吞噬细胞吞噬,更有利于双歧杆菌在肠系膜上定殖^[5]。细胞壁呈均质状结构,厚度为33nm,

山东省自然科学基金资助项目

1995-04-01 收稿

分为外界膜和内界膜(图 2-B),细胞质中有许多深染的糖原,电子密度高,细胞质中还可见到丝状的染色质,是细菌的遗传物质^[6]。有的细胞质膜内陷形成囊状的中介体(图 2-A、B)胞质内有空泡或液泡。

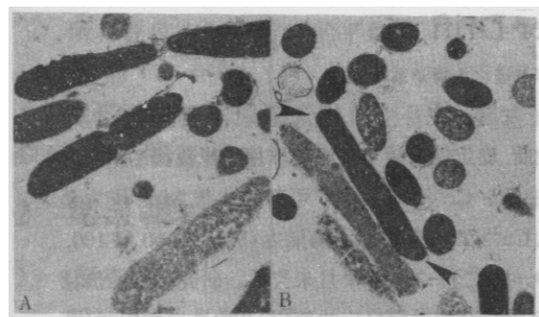


图 1 培养 48h 兔双歧杆菌的超微结构(7500x)

A. 刚分裂的菌体(黑色)及最宽菌体(浅色)

B. 菌体横切面及最长的菌体(箭头)

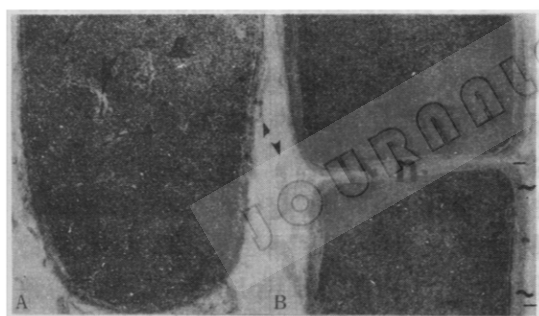


图 2 培养 48h 兔双歧杆菌局部放大(60000x)

A. 丝状染色质(►)中介体(Z)糖被(►►)

B. 中介体(Z)细胞壁(n)糖被(►►)内界膜(~)

外界膜(-)

培养 48h 的双歧杆菌正处于生长繁殖旺盛时期,细菌分裂很多,所见都是杆状菌,无分叉状和多形性。

2.2 培养 96h 的兔双歧杆菌超微结构

兔双歧杆菌培养 96h,可见有分叉的双歧杆菌(图 3-AB),许多细菌的糖被消失,细胞壁解离成碎片状,但细胞膜大都完好(也有被溶解的)。由此可见,老龄菌无糖被,易被吞噬细胞吞噬,对肠粘膜的定殖能力大大降低^[5,7],细胞

壁分解的原因尚不清楚,有待进一步研究。老龄菌体内也有大量的糖原颗粒,可见到颗粒状的拟核物(质粒),空泡增多增大,还可见到较为正常的菌体(横切面)。

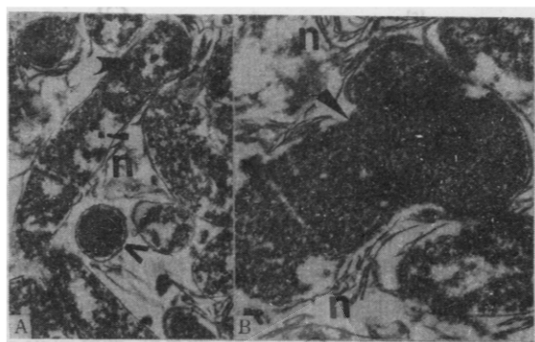


图 3 兔双歧杆菌培养 96h 的超微结构

A. 老龄菌无糖被,细胞壁成碎片(n),有质粒(►),

空泡(i),正常菌(横切面,V),15000×

B. 分叉的双歧杆菌(►),细胞壁碎片(n),30000×

从上述结果看,当培养条件很差,营养缺乏,代谢物质过多时,双歧杆菌呈分叉状,细胞壁分解,细胞膜破裂,老龄菌对宿主肠系膜的定殖能力可能会大大降低。所以在选用双歧杆菌作为保健饲料时,要注意选择分裂生长旺盛时期的双歧杆菌。

参 考 文 献

- [1] 魏曦,康白. 正常菌群与健康,上海:上海科学技术出版社,1985,91~108.
- [2] Dawas IW. Microbial physiology, Maloted press, 1976. 中科院上海植物生理研究所微生物室译,北京:科学出版社,1980,136~165.
- [3] 熊德鑫. 厌氧菌分离和鉴定方法,南昌:江西科技出版社,1986,18~27.
- [4] 林钧安,高锦梁,洪健等. 实用生物电子显微术,辽宁:辽宁科学技术出版社,1989,48~68.
- [5] 康白. 中国微生态学杂志,1994,6(1):45~52.
- [6] 史俊华. 中国微生态学杂志,1990,2(4):10~11.
- [7] Mistsnoka T. Am J Clin Nutr, 1977,30:1799.

(下转第 248 页)

OBSERVATION ON THE ULTRASTRUCTURE OF *BIFIDOBACTERIUM CUNICULI*

Guo Yankui Niu Zhongxiang Zhu Ruiliang

(Shandong Agricultural University, Taian 271018)

Abstract By using electron-microscopy observation on the ultrastructure of *B. cuniculi* were studied. The structure of *Bifidobacterium* which is glycolalyx, cell wall, cell membrane and cytoplasm, from outer to inter is integrated in young rabbit. The cell wall were composed of two compact electron strata and one lucidum electron stracts. There are high electron density (glycoyen, ribosomes, mesosomes, vacuole) in the cytoplasm. And no branching Bacillus was found. However there are lots of branching Bacillus in the old *Bifidobacterium* which there are not glycocalyx and complete cell wall made of pieces. The ultrastructure elucidated by electron-microscopy helps us to reveal the form of the branch of *B. cuniculi* concerning undernourishment and bad environment.

Key words *Bifidobacterium cuniculi*, ultrastructure, electron-microscopy