

多孢子菌的超微结构观察

梁家骥 张凤英 陈子英

(中国科学院微生物研究所,北京)

氧化甲烷微生物的细胞超微结构曾由 Davies^[1]、Малашенко^[2] 和 Patt^[3] 等人作过观察,并将某些种的细胞内膜结构区分为 I 型和 II 型。本文报道我们分离的两株以甲烷作为生长碳源和能源的多孢子菌的超微结构。

材 料 和 方 法

一、菌种和培养条件

沙石多孢子菌 (*Polysporobacterium arenari-*

um) 和色黄孢子菌 (*P. chromflavum*) 用甲烷培养基培养^[4],蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 用普通肉汁培养基培养。啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 用麦芽汁培养基培养。

二、切片样品的制备

用离心法收集培养好的菌体,以生理盐水洗一次,将菌体投入 45°C—42°C 的 2% 水洗琼

电镜照片、切片分别由本所技术室初昭桥、边庆和、谢家仪、施艳芬协助完成。

脂中,在室温凝固后切成小块,大小约0.5—1 mm见方。立即在2.5%戊二醛中固定3小时以上,然后用pH 7.2, 0.1M磷酸缓冲液洗三次,放入0.1%锇酸溶液中(配好的锇酸溶液按1:1加入磷酸缓冲液混合)固定2—3小时,再用磷酸缓冲液洗2次,转入乙醇溶液(10%, 30%, 50%, 70%, 95%)梯度脱水(以上步骤均用低速离心)。最后置无水丙酮内过夜,再转入1:1丙酮树脂混合剂中,浸透2—3小时,再转入全树脂中浸透过夜。浸透过的样品放入胶囊,加入包埋剂(国产618树脂1g,顺丁烯二酸酐0.28g,苯二甲酸丁酯0.17 ml,二乙基苯胶0.06 ml,充分混匀),在室温放置3—4小时后,于68—72℃烤箱中固化。用LKB 8800型切片机切片,经2%醋酸铀和柠檬酸铅^[1]双重染色各20—25分钟,用日立H-500透射电镜观察。

结果与讨论

同样方法制作的以上四种菌的细胞超薄切片,经多次重复观察,可明显看出细胞超微结构的差异。啤酒酵母细胞,核结构明显,在细胞核与细胞质间有一清晰的双层核膜和一致密的核仁,还有外膜清晰的线粒体(图版I-1),这与已报道过的啤酒酵母电镜照片是相似的^[6]。而且在出现子囊时,核膜也明显可见(图版I-2)。蜡状芽孢杆菌,未见有明显核结构,有一不明显的

核区(图版I-3)。在沙石多孢子菌(图版I-4, I-5)与黄色多孢子菌(图版I-6, I-7)的切片,具有复杂的细胞质内膜结构,在培养7天的沙石多孢子菌中(图版I-4),膜系统排列整齐,紧密。在震荡培养14天的细胞内膜排列疏松,不整齐(图版I-5)。根据Davies等人提出的甲烷氧化菌两种内膜构型,两种多孢子菌的内膜结构均属于I型,在幼龄细胞与衰老细胞中均如此。在某些切片中,还看到有液泡,但都没发现明显的核结构。沙石多孢子菌和黄色多孢子菌的超微结构与Davies等人描述的甲基单胞菌科(*Methylomonadaceae*)相似,同Wolf等^[7]所描述的能以甲烷作碳源和能源的酵母(*Sporobolomyces roseus*)毫无共同之处。

参 考 文 献

- [1] Davies, S. L. and R. Whittenbry: *J. Gen. Microbiol.*, **61**: 227—232, 1970.
- [2] Малашенко, Ю. Р. и др.: *Метанокисляющие микроорганизмы*, стр., 145—156, Изд. «НАУК» Москва, 1978.
- [3] Patt, T. E., G. C., et al.: *J. Bacteriol.*, **120**: 955—964, 1974.
- [4] 陈子英等: *微生物学报*, **20**(4): 1—2, 1980.
- [5] Reynolds, E. S.: *J. Cel. Biol.* **17**: 208—212, 1963.
- [6] Rose, A. H. and Harrison, J. S.: *The Yeast, vol. I, Biology of Yeast*, p. 224, Academic press, London and New York. 1969.
- [7] Wolf, H. J. et al.: *Bacteriol.*, **141**(3): 1340—1349, 1980.