

改进的真菌载片标本制作法

邓芳席

(湖南农学院,长沙)

真菌的孢子梗小而脆弱,用显微镜观察时,制备成完整又清晰的载片标本,有一定困难。现有的载片培养法^[1],操作麻烦,容易污染,载玻片与盖玻片之间有一小块培养基,菌丝和孢子梗太多,互相交错,又不在一个平面上,观察不清晰。扞片培养法^[2]虽然操作简便,适于观察多种真菌,但从培养基内取出盖玻片时,容易拉断菌丝和孢子梗,如果盖玻片上沾着的菌丝和孢子梗太少,也影响观察效果。玻璃纸透析法^[3],菌丝密而多,交错在一起,看不清楚,特别是对孢子梗较长的真菌,如根霉等,效果很差。

笔者用“皿盖内壁玻璃纸培养法”制作真菌载片标本,取得了很好的效果,现介绍如下。

材料和方 法

(一) 菌种

根霉(*Rhizopus* sp.),青霉(*Penicillium* sp.),曲霉(*Aspergillus* sp.),球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*),交链孢霉(*Alternaria* sp.)。

(二) 培养基

马铃薯蔗糖琼脂培养基。

(三) 皿盖内玻璃纸的准备

将玻璃纸剪成圆形(直径略小于培养皿盖),用水打湿后,粘附在培养皿盖内,套好皿底,包扎好,湿热灭菌备用。

(四) 操作步骤

1. 在上述准备好的培养皿底部,倒入 15ml 左右融化后冷至 70℃ 左右的马铃薯蔗糖琼脂培养基,凝固成平板。利用培养基的热汽中所含微量营养物质和水分沾附于皿盖玻璃纸上。

2. 接种:不同真菌,接种方法不同。

对孢子梗较长的真菌,如根霉,在皿底平板培养基上接种少许孢子或菌丝。皿盖朝上(保持玻璃纸湿度),28±1℃ 培养 3—4 天后,有少

部分根霉粘附在皿盖内玻璃纸上,并长出假根,匍匐菌丝、孢囊梗,孢子囊。

对孢子梗短的真菌,如青霉等,可直接在皿盖内玻璃纸上接种少许孢子,然后用灭菌的玻璃刮刀涂匀,使孢子散布在玻璃纸上(或用接种环沾取少许孢子轻轻抖落在玻璃纸上),置 28±1℃ 培养 2—3 天。

3. 制片:待皿盖玻璃纸上真菌的菌丝和孢子长好后,取下玻璃纸,剪成 1 cm² 小方块。先放在 50% 酒精中浸泡一下,洗掉脱落下来的孢子。然后贴附在干净载玻片上,滴加 1—2 滴乳酸石炭酸棉蓝液。小心盖上盖玻片,轻压盖玻片,使盖玻片紧贴玻璃纸。用吸水纸吸干多余的棉蓝液,置显微镜下观察。

如要制备成封闭标本,用清洁纱布将盖玻片周围擦干净(注意不要移动盖玻片),再涂一圈合成树脂,风干后可长期保存。

结 果

皿盖玻璃纸培养法,营养和水分适宜,真菌生长稀少,分散成单个存在,菌丝分枝和孢子梗着生状态明显,容易制备成完整而清晰的载片标本。如根霉菌,可以看到假根、匍匐菌丝,孢囊梗和孢子囊。曲霉,可以看到菌丝、足细胞、分生孢子梗、顶囊、小梗和分生孢子着生情况。青霉菌,可以看到扫帚状分枝及分生孢子着生情况。白僵菌,可看到筒形或瓶形分生孢子梗,分生孢子着生情况,草酸钙结晶和筒形孢子等。用于其他真菌,效果也很好。

参 考 文 献

- [1] 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,1973年,第257页。
- [2] 方中达:植病研究法,农业出版社,1979年,第231页。
- [3] 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。