

用 Skerman 显微操作技术分离硫酸盐还原菌

李雅芹

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 本文介绍使用 Skerman 显微操作技术在非厌氧条件下对硫酸盐还原菌进行单细胞分离, 这一操作可以代替繁琐费时的常规单菌落分离方法。

关键词 Skerman 显微操作技术; 硫酸盐还原菌; 单细胞分离

显微操作是单细胞分离的一种技术。大多数显微操作器的设计是把操作物放在显微镜视野里, 显微工具来自外源。这样设计的缺点是操作时视野面积有限, 放置显微工具有困难。澳大利亚昆士兰大学 Skerman 教授研制的显微操作器是在显微镜下用显微拉制器做成显微工具, 然后直接安装在显微镜物镜头上, 用来进行好气微生物的单细胞分离。

通常, 厌氧菌的分离纯化比好气菌困难。对于硫酸盐还原菌来说, 常规分离方法是系列稀释后用试管厌氧培养再进行单菌落分离^[1,2]。平板单菌落分离更难于控制厌氧条件。即使在厌氧条件下也难于排除某些伴生菌。笔者使用 Skerman 显微操作器在非厌氧条件下成功地实现了硫酸盐还原菌的单细胞分离, 从而可以代替繁琐费时的单菌落分离方法。

用 Skerman 显微操作技术对硫酸盐还原菌进行单细胞分离操作步骤如下。

(一) 制作显微工具

在显微镜下用显微拉制器把玻璃毛细管拉制成显微针、显微钩、显微球和显微环等, 根据需选择合适的一种安装在显微镜物镜头上(图 1)。

(二) 涂布富集培养物

在含培养基的洋菜平板上离边缘 10—20 mm 处滴上一滴富集培养物, 倾斜平板使之流向另一侧, 离边缘 10—20mm 处(图 2a), 稍稍等候蒸发过量水份。

(三) 挑取单细胞

将涂布富集培养物的洋菜平板放在显微镜载物台上, 移动载物台, 使用显微工具(如显微

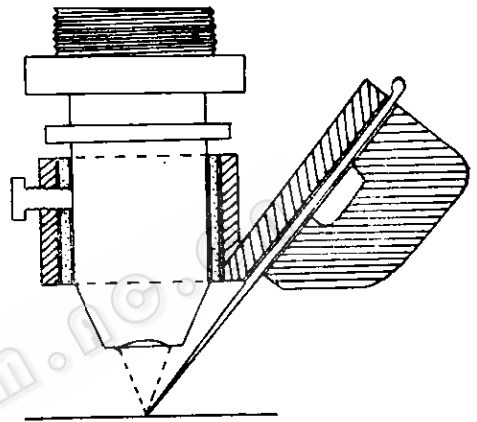


图 1 安装在显微镜上的显微工具

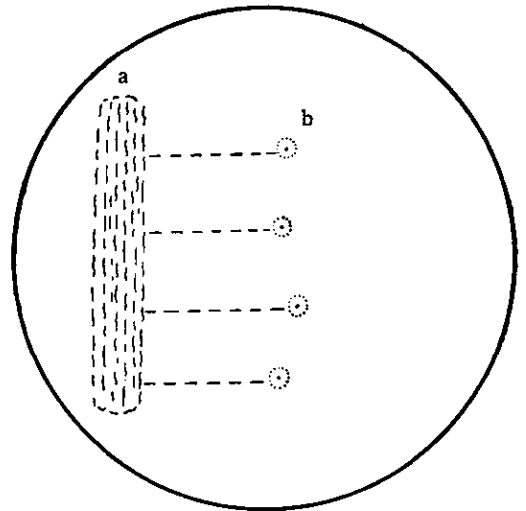


图 2 在洋菜平板上分离单细胞
a 涂布的富集培养物 b 挑取的单细胞放置点

环)从涂布带挑取单细胞, 背向垂直涂布带移动到无菌空白处, 离开细胞群约 20mm。(图 3)。同样方法, 挑取第二、第三个细胞……。注意使细胞彼此相距 20mm, 标记每个单细胞最终放

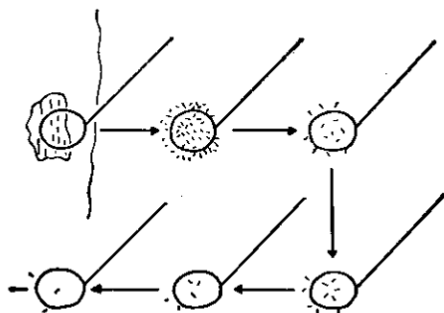


图3 显微环挑取单细胞

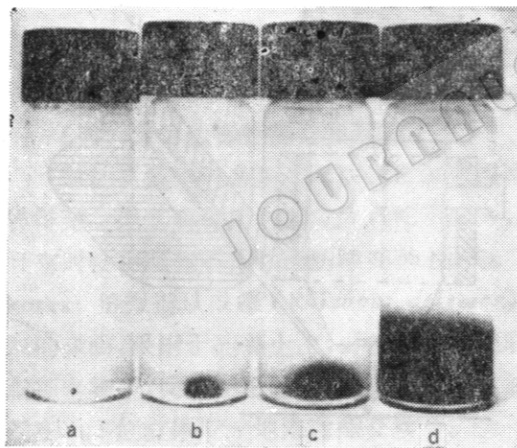


图4 由单细胞形成的黑色菌落
a、b、c、d 分别为 5、6、7、8 天的培养物

置点(图 2b)。

(四) 移植单细胞

用无菌解剖刀切下含单细胞的洋菜小块 ($2.0 \times 2.0 \times 2.0\text{mm}$), 放入带螺旋盖的 5ml 无菌小玻璃瓶里, 以含亚铁的新鲜半固体培养基充满, 盖好螺旋盖, 置于恒温箱培养 3—7 天, 可以看见单细胞生长形成的黑色菌落(图 4), 即为硫酸盐还原菌纯培养物。

其中操作步骤 2—4 需要在无菌室里进行。对于厌气菌来说, 在非厌气条件下迅速挑取单细胞后必须立即厌气培养, 以免失活。像好气菌那样, 也可以使挑取的单细胞在洋菜平板上继续生长繁殖, 形成一定大小的菌落后再移植到新鲜培养基中培养。

参 考 文 献

1. Postgate J R: *The Sulphate-reducing Bacteria*. Second edition. Cambridge University Press, Cambridge-London-New York-Melbourne-Sydney, p. 36—38, 1984.
2. Krieg N R: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume I, Williams and Wilkins, Baltimore/London, p. 667—668, 1984.