

链霉菌属吸水类群的研究

陶天申* 岳莹玉* 梁绍芬 桑金隆

(中国农业科学院土壤肥料研究所, 北京)

利用透射电子显微术和扫描电子显微术, 对属于链霉菌吸水类群的三个菌株的吸水性状作了显微观察, 指出吸水性状是孢子本身破裂的一种特殊形态特征, 在链霉菌属这一类群中, 这一形态具有共同的特点。

链霉菌属包括很多的种, 为了便于分类鉴定, 许多学者^[1-3]将性状相近的种分别归为不同的类群或系列, 其中有的把链霉菌属中具有吸水性状这一特殊形态的各个种归为吸水类群 (Group Hygroscopicus)。

吸水现象是链霉菌的一种特殊的形态学特征, 肉眼可见的是孢子丝“吸水”使菌落表面形成褐黑、褐紫、或黑色粘性湿斑, 有时扩大成片, 甚至布满整个培养基表面。“吸水”程度和吸水后的颜色与菌种及培养条件有关, 在少数情况下, 也可见到吸水斑呈枯黄绿色。

在一般文献上只提到吸水现象是链霉菌孢子丝自溶的结果, 而没有揭示这一现象的显微特征。本文报道用透射电子显微术和扫描电子显微术揭示吸水现象的显微图象。

材料和方法

(一) 菌株

1. 刺孢吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus* Yan et Tao, 1974) 菌株 SF-104^[6] 由中国农业科学院土壤肥料研究所保藏。

2. 吸水链霉菌应城变种 (*S. hygroscopicus* var. *yingchengensis* Yan et Ruan, 1978) 菌株 5102^[8] 由华中农学院微生物教研组提供。

3. 吸水链霉菌井冈变种 (*S. hygroscopicus*

var. *jinggangensis* Yan, 1975) 菌株 19^[9] (人工诱发突变株), 由上海市农药研究所提供。

上述菌种都保存于高氏一号合成琼脂和葡萄糖天门冬素琼脂斜面备用。

(二) 透射电子显微术

1. 将供试菌株移接于马铃薯蔗糖琼脂, 28℃培养至形成丰满孢子丝, 取覆有火棉胶的玻璃片对孢子堆印片, 真空喷镀金属铬和碳, 自玻片剥离碳膜使平整载于铜网, 在 60 千伏电压下, 作透射电子显微观察并拍照。

2. 将供试菌株移接于马铃薯蔗糖琼脂, 28℃培养直至出现吸水性状。取覆有 Formvar 薄膜的铜网对吸水孢子堆轻扣印片, 真空喷涂碳, 在 60 千伏电压下, 作透射电子显微观察并拍照。

(三) 扫描电子显微术

将供试菌株移接于高氏一号合成琼脂平板, 于 37℃ 培养至第四天出现丰满孢子丝, 即取出一部分平板低温保存备用, 其余平板继续培养至第八天出现吸水性状。

将上述未出现吸水性状和出现了吸水性状的平板培养物分别切下一块菌苔, 尽量削去背面琼脂, 切成约 5 平方毫米小块, 用 2.5% 戊二醛 (配于 0.2M pH7.2 磷酸盐缓冲液中) 固定两小时, 用同样缓冲液洗净固定液; 然后用 1% 锇酸 (配

本文于 1978 年 12 月 4 日收到。

本文承中国科学院沈阳金属研究所、山东医学院和中国科学院武汉病毒研究所电镀室协助拍摄显微照片。中国科学院微生物研究所阎逢初先生审阅本文。

* 部分实验在武汉微生物农药厂试验室进行。

于 0.2M pH7.2 磷酸缓冲液中)固定 18 小时,用同样缓冲液充分洗净钨酸固定液。立即用浓度递增的乙醇(50、70、90、100%)脱水各 10 分钟,最后用 100% 乙醇连续脱水三次,每次 10 分钟,将脱水后的样本切成 1 立方毫米小块,用粘着剂粘附于样本台上,真空喷涂碳和金。在 40 千伏电压下,作扫描电子显微镜观察并拍照。

结果和讨论

(一) 刺孢吸水链霉菌孢子表面覆以长刺(图版 I-1)。当出现吸水性状时,孢子堆中的孢子发生不同程度的自溶作用,在透射电子显微镜下可见到许多孢子因自溶而仅留下孢子鞘套(spore sheath)的残骸,其刺状饰物依稀可见,而有的孢子仅显现部分的自溶,还有一些孢子尚完整而没有自溶(图版 I-2)。

当孢子堆出现吸水性状后,因为还有一些孢子没有自溶,用它作接种材料移植于新鲜培养基,仍能正常地生长繁殖,而吸水时间较长的培养物移植时往往不能成活,这可能是培养物的全部或绝大多数孢子均已自溶而丧失其繁殖能力。

(二) 吸水链霉菌井冈变种的人工诱发突变株菌株 19 是从原始菌株经多次自然分离和人工诱变而来,它仍然保持着吸水性状。菌株 19 经平板培养,分别取其未吸水和吸水的菌苔通过固定和脱水等手续,力求保持其自然生长状况,作扫描显微时可见未吸水培养体孢子完整,表面光滑而成串排列,较年幼的孢子丝呈螺旋状,且尚未分化出单个孢子(图版 I-3)。

如图版 I-3 所示,供检标本经戊二醛和钨酸两次固定,然后采取自低浓度到高浓度的乙醇逐级脱水,所制备的标本能较好地保存培养体的生长原状;而未经固定

的标本,常导致生长原状的显示失真。

(三) 菌株 19 吸水后的扫描显微观察(图版 I-4)可见孢子自溶皱缩,一些自溶孢子粘结成团块状,图正中上方一个孢子的破裂口清晰可见。特别值得注意的是供检标本通过固定和脱水处理,在扫描显微观察时能较好地显示孢子的吸水显微特征。

(四) 吸水链霉菌应城变种菌株 5102 吸水后的扫描观察(图版 I-5)可见到单个孢子破裂,和许多表面皱缩自溶孢子相互粘结成堆团,这与图版 I-4 所见极为类似。

(五) 对吸水类群链霉菌中属于不同种和变种的三个菌株进行了未吸水和吸水两个不同生长阶段的显微观察,显示了孢子自溶的特点。吸水链霉菌井冈变种突变株和应城变种典型菌株吸水性状显微图象是类似的,这种类似性说明吸水性状是孢子自溶现象的共同特征。

参 考 文 献

- [1] S. A. 瓦克斯曼(1961): 放线菌第二卷(阎逊初译), 125—159 页, 科学出版社, 1974 年。
- [2] 阎逊初、邓宇秀: 微生物学报, 9(4): 371—378, 1963。
- [3] 李群: 全国第三次抗菌素学术会议论文集, 第一册(童村、张为申主编) 196—204 页, 科学出版社, 1965 年。
- [4] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组: 《链霉菌鉴定手册》, 389—410 页, 科学出版社, 1974 年。
- [5] Tresner, H. D. and E. J. Backus: *Appl. Microbiol.*, 4: 243—250, 1956。
- [6] 中国农业科学院土壤肥料研究所: 微生物学报, 14(1): 47—51, 1974。
- [7] 华中农学院微生物教研组: 微生物学报, 18(1): 23—26, 1978。
- [8] 上海市农药研究所农用抗菌素组: 微生物学报, 15(2): 110—113, 1975。

STUDIES ON THE HYGROSCOPICUS GROUP OF *STREPTOMYCES*

Tao Tian-shen, Yue Ying-yu, Liang Shao-fen, Sang Jin-long

(Institute of Soils and Fertilizers, Chinese Academy of
Agriculture Sciences, Beijing)

Transmission and scanning electro-microscopic observations on the morphological characters of the hygroscopic stage of different species and varieties of hygroscopic *Streptomyces* is reported. The organisms studied are *S. hygroscopicus* var. *jinggancensis* Yan, 1975, strain 19, *S. hygroscopicus* var. *yingchengensis* Yan et Ruan, 1978, strain 5102 and *S. hygrospinosus* Yan et Tao, 1974, strain SF-104.

Under the transmission electromicroscope, when hygroscopicity observable to the naked eye, some spores are completely autolysed, only the ghosts of the spiny ornamentation of the spore sheath remains, some spores are partially autolysed and other spores are intact.

Under the scanning electromicroscope, observed at the same stage, the autolysed spores breakdown and sticking to each other, forming congeal masses.