

真菌接合孢子囊的形成及特征 观察实验的改进探索

徐德强, 王英明, 肖义平

(复旦大学生命科学学院, 上海 200433)

摘要: 真菌接合孢子囊的形成及特征观察是微生物学实验教学内容之一。采用蓝色犁头霉“+”和“-”菌株为实验菌种(取代以往常用的匍枝根霉), 并以“八”字型划线接种, 同时拍摄了该菌种形成接合孢子囊的5个生长阶段典型特征的显微镜照片用于实验教学, 不但减轻了以往匍枝根霉孢囊孢子等易污染实验室环境的现象, 也避免了该菌种对培养温度较敏感、常易引起实验结果不理想的情况。同时使学生知识学得更活、更扎实, 并对培养学生创新意识也具有一定的指导意义, 因而提高了该实验教学的效果, 受到学生的欢迎。

关键词: 真菌; 蓝色犁头霉; 接合孢子囊; 实验

中图分类号: Q-331 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-4956(2010)03-0036-03

Improvement of character observation experiment of formation process of *zygosporangium* in *Fungi* and an analysis on its teaching effect

Xu Deqiang, Wang Yingming, Xiao Yiping

(College of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract: The character observation of formation process of *zygosporangium* in *Fungi* is one of teaching contents in microbiological experiments. The “+” and “-” strains of *Absidia coerulea* were selected as the experiment species, instead of *Rhizopus stolonifer*, frequently used before. Then, *Fungi* were inoculated by streaking plates according to the shape of “八”. Some micrographs were taken to serve the experiment teaching. These micrographs described typical characters of 5 growth phases through which this species formed *zygosporangium*. This will decrease the pollution phenomenon caused by using sporangiospore of *Rhizopus stolonifer*, and also avoid the situation in which this species is hypersensitive to cultural temperature, resulting in bad experiment result. Meanwhile, this will give students a live study and make them have great basic knowledge. In addition, this is helpful for developing students’ innovative consciousness. This process has received much welcome from students because of enhancing experiment teaching effect.

Key words: *Fungi*; *absidia coerulea*; *zygosporangium*; experiment

真菌接合孢子囊的形成及特征观察是高校微生物学实验之一, 通常采用匍枝根霉为实验菌种(少数学校也采用蓝色犁头霉, 但其教材中介绍内容极为简单, 更无“八”字型划线接种及蓝色犁头霉“+”、“-”菌株形成接合孢子囊的5个生长阶段典型特征的显微镜照片)^[1-4], 但该菌生长对温度很敏感(有性生殖在23~25℃), 温度稍高实验结果常不理想。同时培养该菌

的皿盖上常存在菌丝及大量孢子囊、孢囊孢子等生长物, 观察该菌特征时易污染实验室环境。对此, 我们选用蓝色犁头霉“+”和“-”菌株为实验菌种, 并以“八”字型划线接种进行了该菌种接合孢子囊形成及特征观察的探索, 并取得了很好的教学效果。

1 方法

1.1 接种培养

采用蓝色犁头霉“+”和“-”菌株为实验菌种, 并以“八”字型划线接种马铃薯葡萄糖琼脂平板, 并将此平板置于25~28℃恒温箱培养4~5d。

收稿日期: 2009-03-31

基金项目: 国家基础科学人才培养基金项目(J0630643)

作者简介: 徐德强(1951—), 男, 上海市人, 大学本科, 副教授, 研究方向: 环境微生物学。

1.2 特征观察

1.2.1 肉眼观察

一般接种第2 d就能观察到平板上“+”和“-”菌株的菌丝各自向两侧生长现象,而当培养至4~5 d时可见到异性菌株间有一条黑色的接合孢子囊带。

1.2.2 显微镜观察

(1) 培养物直接观察。打开皿盖,在接合孢子囊带上压一块载玻片,轻轻按一下,使载玻片贴近接合孢子囊层,然后将此平板生长物直接置于显微镜载物台上观察接合孢子囊带不同部位,以了解蓝色犁头霉“+”和“-”菌株形成接合孢子囊的过程。

(2) 培养物制片观察。用无菌解剖针挑取蓝色犁头霉“+”和“-”菌株所形成的接合孢子囊不同部位的生长物和乳酸苯酚液等制作临时封片,然后用显微镜观察蓝色犁头霉“+”和“-”菌株形成接合孢子囊及其生长不同阶段的特征。

2 结果

(1) 蓝色犁头霉“+”和“-”菌株在马铃薯葡萄糖琼脂平板上所形成的接合孢子囊带见图1。

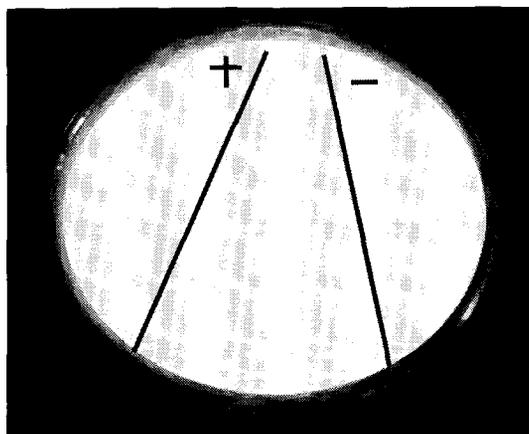


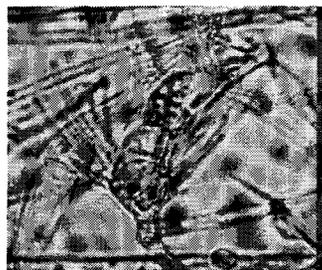
图1 蓝色犁头霉“+”和“-”菌株在马铃薯葡萄糖琼脂平板上所形成的接合孢子囊带

图1表明,在蓝色犁头霉有性生殖后期可见到“+”和“-”菌株生长物间有一条黑色的接合孢子囊带。

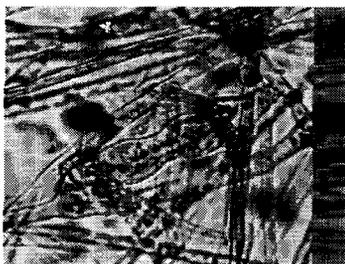
(2) 蓝色犁头霉“+”和“-”菌株形成接合孢子囊的过程见图2。



(a) 原配子囊的形成



(b) 配子囊的形成



(c) 质配、核配



(d) 幼接合孢子囊



(e) 成熟的接合孢子囊

图2 蓝色犁头霉接合孢子囊形成过程特征图

图2展示了蓝色犁头霉有性生殖形成接合孢子囊的5个生长阶段的典型特征,即原配子囊的形成(图中两原配子囊间有横壁)→配子囊的形成(每个原配子囊产生横壁将原配子囊分为两部分,横壁前端为配子囊,另一端为配子囊柄)→质配、核配(两个配子囊中间横壁消失)→幼接合孢子囊(未膨大)→成熟的接合

孢子囊(暗黑色球形)。

3 教学效果分析

(1) 作者采用蓝色犁头霉“+”和“-”菌株为实验菌种,并采用“八”字型划线接种方法,使学生在同一时间观察到该菌接合孢子囊形成的不同生长阶段特征,

既节省了实验观察时间,又利于教师对实验时间的安排。

(2) 由于采用蓝色犁头霉“+”和“-”菌株为实验菌种,从而在实验结果观察过程中明显减轻了实验菌种孢子囊及孢囊孢子等对实验室环境的污染。

(3) 由于蓝色犁头霉“+”和“-”菌株形成接合孢子囊的培养温度较宽(25~28℃为较适宜),即使温度下降至23℃或上升至30℃,对实验结果也无太大影响,因而实验成功率也得到明显提高。

(4) 以往高校中普遍采用匍枝根霉为实验菌种,其形成接合孢子囊的几个生长阶段的特征至今也仅有从国外相关文献中引入的人工绘制的示意图^[5-6]。而作者拍摄的蓝色犁头霉“+”和“-”菌株形成接合孢子囊5个生长阶段典型特征的显微镜照片非常便于学生结合详细文字介绍、对照实物进行特征观察,学生不但兴趣大增,而且也使学生学知识学得更活、更扎实,实验教学效果很好。

(5) 作者拍摄并用于实验教学的蓝色犁头霉“+”

和“-”菌株形成接合孢子囊的5个生长阶段的典型特征的显微镜照片,属国内首见^[7-9],国外罕见^[10],对培养学生创新意识也具有一定的指导意义。

参考文献(References):

- [1] 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [2] 赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [3] 钱存柔,黄仪秀. 微生物学实验教程[M]. 北京:北京大学出版社,1999.
- [4] 闵航. 微生物学实验教程[M]. 杭州:浙江大学出版社,2005.
- [5] 阿历索保罗 CJ, 明斯 CW, 布莱克米尔 M. 菌物学概论[M]. 4版. 姚建,李玉主,译. 北京:中国农业出版社,2002.
- [6] 阿历索保罗 CJ, 明斯 CW. 真菌学概论[M]. 3版. 余永年,宋大康,译. 北京:中国农业出版社,1983.
- [7] 裘维蕃. 菌物学大全[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [8] 邢来君,李明春. 普通真菌学[M]. 北京:高等教育出版社,1999.
- [9] 刘志恒. 现代微生物学[M]. 2版. 北京:科学出版社,2008.
- [10] Webster J, Weber R W S. Introduction to fungi[M]. 3th ed. Cambridge: Cambridge University Press,2007.
- [6] Murata K, Masuda M. Analysis of strain distribution of softwood in transverse compression measured by digital image correlation method [J]. Zairyo/Journal of the Society of Materials Science, 2003,52(4):347-352.
- [7] Bruck H A, McNeill S R, Sutton M A, et al. Digital image correlation using Newton-Raphson method of partial differential correction [J]. Experimental Mechanics,1989,29(3):261-267.
- [8] Wei Tong. An evaluation of digital image correlation criteria for strain mapping applications [J]. Strain, 2005,41(4):167-175.
- [9] Chu T C, Ranson W F, Sutton M A, et al. Applications of digital-image-correlation techniques to experimental mechanics [J]. Experimental Mechanics, 1985,25(3):232-244.
- [10] Althof RJ, Wind M G J, Dobbins J T. Rapid and automatic image registration algorithm with subpixel accuracy [J]. IEEE Transactions on Medical Imaging,1997,16(3):308-316.
- [11] Hou Zhende, Qin Yuwen. A study of fractal interpolation method [C]//The International Society for Optical Engineering, 2001: 386-389.
- [12] Sutton Michael A,Chao Y J. Measurement of strains in a paper tensile specimen using computer vision and digital image correlation. Part 1: data acquisition and image analysis system [J]. Tappi Journal, 1988,71(3):173-175.
- [13] Schreier H W, Braasch J R, Sutton M A. Systematic errors in digital image correlation caused by intensity interpolation [J]. Optical Engineering, 2000,39(11):2915-2921.
- [14] Zhang Dongsheng, Arola D. Applications of Digital Image Correlation to Biological Tissues [J]. Journal of Biomedical Optics, 2004,9(4):691-699.
- [15] Zhang D, Eggleton C D, Arola D. Evaluating the Mechanical Behavior of the Arterial Tissue Using Digital Image Correlation [J]. Experimental Mechanics, 2002,42(4):409-416.
- [16] Abraham S, Marcel J E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures [J]. Analytical chemistry, 1964,36(8):1627-1639.
- [17] Zhang Dongsheng, Luo M, Arola D. Displacement/strain measurement under optical microscope with Digital Image Correlation [J]. Optical Engineering, 2006,45(3):33605.
- [18] 张东升,罗森,韩永胜. 材料力学性能显微测试系统[J]. 实验力学, 2006,21(5):651-654.

(上接第 35 页)