

研究简报

青霉素对蓝藻细胞的作用

郭厚良

(武汉大学生物系)

EFFECT OF PENICILLIN ON THE CELLS OF
BLUE-GREEN ALGAE

Guo Houliang

(Department of Biology, Wuhan University)

关键词 青霉素; 蓝藻; 异形胞; 原生质球

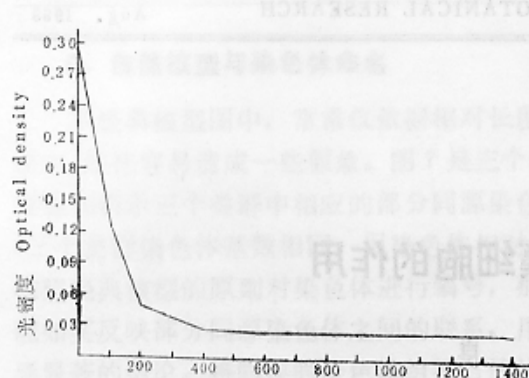
Key words Penicillin; Blue-green algae; Heterocyst; Spheroplast

1967年, Biggins首次报道通过溶菌酶处理获得了有生活力的蓆藻(*Phormidium luridum*)原生质球^[1]。此后,虽然许多作者在这方面作了不少工作^[4,6,8,9],但原生质球的再生和融合问题至今没有得到解决。再生和融合与分离制备方法密切相关,因此,原生质球的分离制备方法还需深入研究。为此,我们研究了青霉素对蓝藻细胞的作用,以探讨青霉素法制备蓝藻原生质球的可能性。

据研究,青霉素的杀菌机理在于干扰细菌细胞壁的生物合成,使细菌细胞壁破裂导致细胞解体^[1],由此便产生了制备细菌原生质体的青霉素法。很早就知道,青霉素对蓝藻细胞也有类似的作用^[5],但没有人提到青霉素是否也能像细菌那样用于蓝藻原生质球分离。为了研究这一方法,我们首先在不加渗透稳定剂条件下,进行了青霉素处理蓝藻细胞的试验,发现青霉素处理能使蓝藻细胞破裂。试验材料为固氮鱼腥藻(*Anabaena azotica*),处理温度为30℃,处理时间为24小时。细胞破裂通过显微镜检查确认,细胞破裂的程度用光密度计量,测定光密度使用波长为670nm。不同剂量的处理结果见图1。

从图1可以看出,青霉素的破细胞效力在剂量增至600u/ml时达最大值,显微镜检查,细胞破裂率在95%以上。在此剂量之上,效果基本一致。

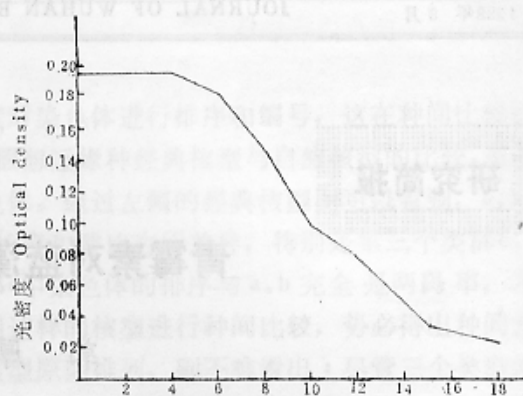
青霉素破细胞的作用时间如图2所示。



青霉素剂量 (单位/毫升) Dosage of penicillin(u/ml)

图1 不同剂量青霉素的破细胞效果

Fig.1 Lytic effect of penicillin in different dosages



时间 (小时) Time(hour)

图2 青霉素不同时间的破细胞效果

Fig.2 Lytic effect of penicillin at different times

从图2可以看出,青霉素的作用比较缓慢。在处理的头4小时,几乎没有一点效力。从6小时之后,作用加强。在长达10小时的时间内,细胞破裂所产生的光密度以十分均匀的速度下降。到处理18小时,光密度下降至最低点。

为了实验青霉素分离蓝藻原生质球的可能性,在明确青霉素对蓝藻的破细胞作用后,我们在青霉素处理时,加入0.5mol甘露醇作为可能产生的原生质球的渗透稳定剂。结果发现,得不到原生质球。而且,更使人感到意外的是,甘露醇不仅不能阻止细胞破裂,反而会加速细胞破裂,这种作用与甘露醇的浓度有关(表1)。

表1 甘露醇对青霉素破细胞作用的影响(处理5小时)

Table 1 Influence of mannitol on the lytic effect of penicillin (treating for 5 hours)

处 理 Treatment	光 密 度 Optical density
0.0mol甘露醇+1000u/ml青霉素	0.130
0.1mol甘露醇+1000u/ml青霉素	0.065
0.3mol甘露醇+1000u/ml青霉素	0.055
0.5mol甘露醇+1000u/ml青霉素	0.060
0.7mol甘露醇+1000u/ml青霉素	0.080
0.9mol甘露醇+1000u/ml青霉素	0.110
对 照	0.165

从表1看出,1000u/ml青霉素处理5小时,由于细胞破裂而导致的光密度下降并不十分显著。而只要0.1mol甘露醇参与作用,处理5小时后,光密度就从对照的0.165下降至0.065。与低浓度相比较,高浓度具有保护细胞的作用,但也比单纯青霉素处理细胞破裂快。鉴于甘露醇的这种作用,我们将处理方法加以改变,用青霉素处理6小时之

后再加入甘露醇。但跟踪检查6小时，还是看不到原生质球形成。

在渗透稳定剂存在的条件下，细胞仍然破裂而不形成原生质球，这一点使人感到奇怪。这种处理我们不断重复了许多次，结果都是一样。我们认为，这可能与蓝藻细胞的结构特点有关：其细胞壁和原生质膜紧贴，不能发生质壁分离^[2]。这样，当细胞壁破裂时，致使原生质膜跟着破裂。壁膜紧贴对原生质球形成的障碍，在溶菌酶处理中也有反映，这就是当细胞壁受溶菌酶作用部分解体时，原生质球不能象植物和其他微生物那样，从细胞壁的缺口脱壳而出。这表现在许多细胞还没有改变自身的形状就变得不抗低渗^[4]。这样的细胞已有部分细胞壁解体 and 原生质膜暴露，所以不抗低渗。但它们不能很快形成原生质球，因为其余没有解体的细胞壁与原生质膜还紧贴在一起。这就提出了一个问题：蓝藻原生质球分离之所以比较困难，一个因素就是细胞壁和原生质膜的连接过于紧密。

值得注意的是，青霉素对蓝藻的破细胞作用限于营养细胞，异形胞不受影响(图3)。这一结果与 Shilo(1970)^[7]曾看到过的一种现象相同，他发现，从以色列鱼塘分离的一种粘菌，能裂解多种单细胞和丝状蓝藻，但这种作用也只限于营养细胞，异形胞不受影响。青霉素处理留下异形胞，可以为分离蓝藻异形胞提供一种十分简便的新方法。我们初步鉴定这种异形胞为生活细胞，其固氮活性以及其内部结构是否受到影响有待深入研究。

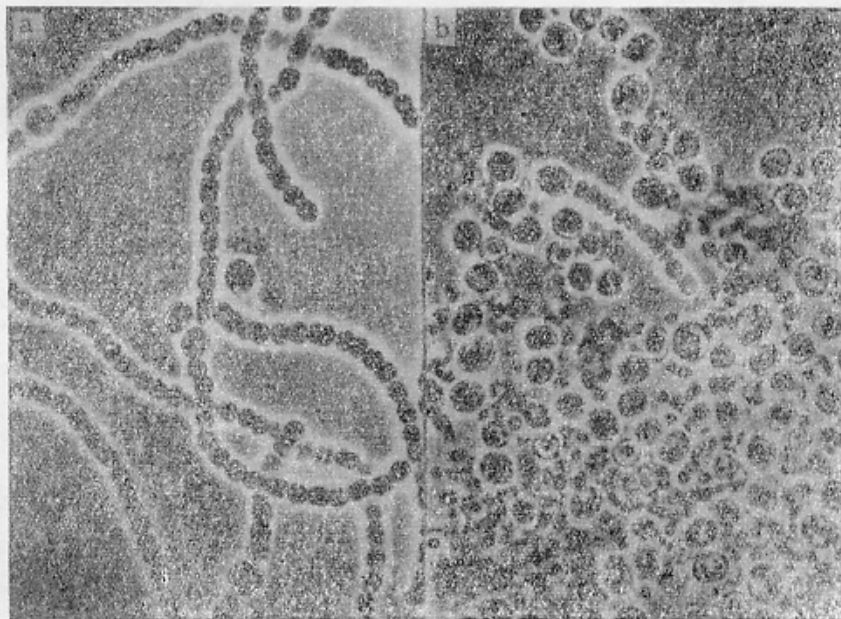


图3 青霉素对蓝藻细胞的作用

Fig.3 Effect of penicillin on the cells of the blue-green alga

- a. 未处理藻丝；b. 青霉素处理（1500单位/毫升 20小时）之后，营养细胞解体，异形胞保留。×990
 a. Untreated trichomes; b. After treating with penicillin(1500u/ml, 20 hours), the vegetative cells were disintegrated and the heterocysts were remained, ×990

主要参考文献

- 1 俞大维, 李季伦. 微生物学, 北京: 科学出版社, 1985: 709—710
- 2 黄有肇, 刘志礼. 固氮蓝藻, 北京: 农业出版社, 1984: 58
- 3 Biggins J. *Plant Physiol*, 1967; 42: 1442—1446
- 4 Delaney S F. *J Gen Microbiol*, 1984; 130: 2771—2773
- 5 Drews G. *The Biology of Blue-green Algae*. Blackwell Scientific Publications, 1973: 101, 109
- 6 Gabriel M. *Z Allg Mikobiol*, 1984; 24: 679—689
- 7 Shilo M. *J Bacteriol*, 1970; 104: 453—461
- 8 Vance B D, Ward H B. *J Phycol*, 1969; 5: 1—3
- 9 Гусев М В, Никитина К А, Коржепеская Т Г. *Микробиология*, 1970; 39: 862—868
- 10 Семёнова П Р, Минеева П А, Гусев М В. *Микробиология*, 1982; 51: 259—266