

豆科根瘤的超微结构研究

韩 善 华

(兰州大学细胞生物学研究室)

Bergerson 等于 1958 年开创了豆科根瘤超微结构的研究^[1],并逐渐形成一门崭新的学科和科研领域。根瘤超微结构研究是指运用各种电镜技术(包括超薄切片、扫描、冰冻蚀刻、放射自显影、细胞化学和免疫电镜等),在亚细胞水平上研究根瘤在发育过程中的结构变化以及这些变化与根瘤发育和固氮的关系。归纳起

来,主要有以下几方面。

(一) 侵入线的结构和细菌的释放

侵入线一词源于光学显微镜研究,后经电镜观察表明,它有一层坚硬的壁,壁的外面是一层膜,壁和膜分别与寄主细胞壁和质膜相连。侵入线壁所包围的囊腔中充满着基质,基质中包埋着数量不等、形状不一的

细菌^[1]。虽然几乎所有根瘤的侵入线都有这些基本结构,但在不同种类和同一种根瘤中,它们的形状、大小和结构都不相同,甚至变化很大。

由于侵入线中细菌的释放,寄主细胞才被侵袭,因此细菌的释放是根瘤化和固氮的关键。对于细菌释放的方式,目前主要有三种不同的看法^[2]: 1. 在侵入线前端后面芽离 (budding off); 2. 从侵入线前端无壁处直接释放; (3) 从侵入线的无壁泡内释放。事实表明,第三种释放方式更为普遍,其过程如下: 首先在侵入线的薄壁处向外隆起并形成小泡,然后侵入线中的细菌进入泡内,泡不断变大。但该处的纤维素不再沉淀,于是细菌仅由一层薄薄的侵入线膜将它与寄主细胞质分开。当这些含菌泡逐渐伸向寄主细胞质时,与侵入线相连的尾部不断收缩,最后完全脱离侵入线而掉进寄主细胞质中^[3]。至于细菌释放的机理,目前还不十分清楚,大部分人认为可能与寄主细胞内吞作用有关,也有人认为或许是由于酶降解侵入线壁所致^[4]。不过后人还无充足证据,需要作进一步研究。

(二) 细菌结构

研究表明,不同种类根瘤中的细菌在形状、大小、结构和内含物等方面虽有相似之处,但也存在着许多不同点。即使同一种根瘤中的细菌也与发育有关。例如大豆根瘤中的细菌绝大多数为杆状,体积一般变化不大,都有清楚的细胞壁、质膜和细胞质。细胞质中含有丰富的核糖体颗粒和染色很深的纤维状核物质。由于细菌不断分裂,其数量大大增加,但因细菌分裂时,泡囊并不分裂,故一个泡囊中有多个细菌存在就成为大豆根瘤的主要特征之一。当细菌发育成熟后,它们不再分裂,细胞质中开始出现大量的不染色的聚- β -羟基丁酸盐 (PHB) 颗粒,但通常没有染色很深、近似圆形的多磷酸盐颗粒。最近发现,丰收 11 号大豆根瘤有些例外,它们的幼龄细菌中不仅含有这种颗粒,而且非常丰富,有时在一个细菌的一个切面上就多达十个以上。豌豆根瘤与大豆根瘤不同,它的细菌形状很不规则,除杆状外,还有大量的 T 形、V 形和 Y 形。细菌停止分裂后,体积显著增大,有的可达原来体积的 40 倍左右^[5]。它们一般都无清晰的细胞壁和核物质,也无 PHB 颗粒。即使在衰老的细菌中也不例外。它的细菌分裂与其泡囊的分裂通常是同时进行的,故一个细菌一个泡囊是绝大多数豌豆根瘤细菌的特点。但张家川豌豆根瘤与此不同,常常有多个细菌同时位于一个泡囊之中,不过这种现象不是因为细菌与其泡囊分裂不同步,而是相邻泡囊彼此融合而成^[6]。

(三) 细菌泡囊的起源

大部分人认为,释放到寄主细胞质中的每个细菌的外面都多了一层泡囊,这层泡囊起源于与寄主细胞质膜相连的侵入线膜。这一看法得到 Tu^[7] 的支持,因为他用冰冻蚀刻技术证明,细菌泡囊和细胞质膜在

性质上十分相似。然而, Generozova^[8] 不同意这一看法,她认为细菌泡囊是在寄主细胞质中合成的,或来自边缘体和内质网。因为她在研究蚕豆根瘤时发现,从侵入线中释放到寄主细胞质中的细菌是没有泡囊的。两年后, Newcomb 等^[9] 进行了同样的研究,他们不仅未能得到 Generozova 的结果,而且再次证明,细菌泡囊是来自寄主细胞质膜。对于细菌泡囊起源的不同结果有各种解释,其中 Kidby 等^[10] 认为,可能与寄主植物有关,但这种解释没有被大家所接受。关于细菌泡囊起源之争从 60 年代初期一直进行到现在。要想彻底解决,唯一的办法就是用各种不同的材料和方法进行广泛而深入的研究。

(四) 侵染细胞

侵染前的寄主细胞,在超微结构方面类似于一般分生组织细胞。然后随着细菌的侵染,细胞质逐渐变浓,核糖体、膨胀型内质网、质体、线粒体和高尔基体不断增多,有时甚至在核膜和细菌之间还出现链状高尔基体^[11]。核也经常有所变化,膨胀而变得不规则,有时还有侵入线或细菌存在于核膜的内陷处和一至二个核仁位于大核仁附近^[12,13]。当侵染细胞成熟后,细胞质和细胞器开始减少,绝大部分细胞质渐渐为细菌占据,线粒体和质体常被挤到细胞外周,集中于胞间隙附近。在某些根瘤中,有时还有一些又大又长的线粒体不同程度地包围着造粉体,形成所谓的线粒体-造粉体之间的紧密联合^[13]。

在各种根瘤研究中,从未报道侵染细胞中有特殊的细胞质内含物存在。但最近发现,在有的大豆根瘤中不仅存在,而且还有一定的生物学发生、组织学分布和特有的超微结构^[12]。

(五) 非侵染细胞

在根瘤的中心组织中,除了大量的侵染细胞外,还有一些分散的,体积较小,染色很浅的非侵染细胞。它的主要特征之一是有一个中央大液泡,液泡周围有一层细胞质,里面含有许多核糖体,少量的粗糙型内质网和高尔基体。质体体积较大,形状不规则,常含有大量的贮藏淀粉。高尔基体一般泡囊较少,分泌小泡也不多。非侵染细胞的壁上通常都有许多胞间连丝,它们可能与物质转移有关。

过去认为,非侵染细胞与固氮无直接关系,仅起一种辅助和支持作用,因而不受重视。最近, Newcomb 等^[14] 通过对非侵染细胞一系列研究发现,事实并非如此,它不仅参与根瘤固氮中脲化物的输入,而且还在其中起了主要作用。现已知道,这种作用是通过非侵染细胞中的一种专一性结构——过氧化(物)酶体或微体来实现的,至少在大豆和豌豆根瘤中如此。

在过去二三十年中,根瘤的超微结构研究有了很大发展,但还有许多种豆科根瘤尚未研究,即使已经

(下转第 19 页)

(上接第 38 页)

研究了根瘤,也有很多问题还不十分清楚,甚至有时还出现完全相反的结果。不过这种状况正在改变,如近来发表的侵入线发育的超微结构^[14]、侵染细胞中细胞质内含物的电镜观察^[12]、侵染细胞与非侵染细胞之间的空间关系^[15]和非侵染细胞中脲酸酶的免疫全定位^[16]等等就是一些很好的例证。

参 考 文 献

- [1] Bergersen, F. J., and M. J. Briggs: *J. Gen. Microbiol.*, 46: 482—490, 1958.
[2] 韩善华, A. F. Yang: 实验生物学报, 20: 13—21, 1987。

- [3] Patel, J. J. and A. F. Yang: *Can. J. Microbiol.*, 27: 36—43, 1981.
[4] Bassett, B. et al.: *Can. J. Microbiol.*, 23: 573—582, 1977.
[5] Dixon, K. O. D.: *Arch. Mikrobiol.*, 48: 166—178, 1964.
[6] Tu, J. C.: *J. Bacteriol.*, 122: 691—694, 1975.
[7] Generozova, I. P.: *Fiziol. Rast (Moscow)*, 26: 788—792, 1979.
[8] Newcomb, W. et al.: *Can. J. Bot.*, 59: 1547—1552, 1981.
[9] Kidby, D. K. and D. J. Goodchild: *J. Gen. Microbiol.*, 45: 147—152, 1966.
[10] Tu, J. C.: *Phytopathology*, 66: 1065—1071, 1976.
[11] 韩善华, A. F. Yang: 微生物学报, 27(3): 217—

(下转第 29 页)