

## 箭舌豌豆根瘤中细菌衰老的研究\*

韩善华

(兰州大学生物系, 兰州 730000)

箭舌豌豆根瘤中的细菌在开始衰老时,首先是细菌周膜增大,接着细胞壁变得不光滑,质膜附近出现大量含有纤维状物质的小泡。其中少数小泡体积特别大,几乎被纤维状物质充满,或将附近的细胞质连同其小泡一道卷入泡中,形成一个游离的细胞质小球。随着细菌进一步衰老,长度大大缩短,电子透明区显著减小,原生质结构消失并出现凝聚,形成一些电子密度很高的团絮状物质,而且在质膜附近还产生小的空泡。最后细菌完全解体,变成为一团泡状和膜状结构。

**关键词** 箭舌豌豆根瘤;细菌;衰老

固氮根瘤中细菌的固氮活性一般均与其发育有关。当细菌发育成熟时,固氮活性最高,随后逐渐降低,直至完全丧失。因此,对根瘤中细菌衰老的研究越来越受到学者们的重视。已有的一些报道多系在非正常条件下的研究及无效根瘤的衰老<sup>[1-4]</sup>,正常条件下细菌的衰老却报道很少<sup>[5-6]</sup>,而且均为一般常见根瘤。对箭舌豌豆这种抗旱耐寒根瘤中细菌衰老进行深入研究十分必要,因为它的研究不仅有助于探索不同根瘤品种中细菌衰老基本过程的异同及其机理,而且也可为培育和选择长寿根瘤品种提供科学依据。

### 材料和方法

将箭舌豌豆(*Vicia sativa*)种子种于兰州大学生物园中,在自然条件下生长结瘤,然后从根部选取成熟根瘤,按我们以前报道的方法<sup>[7]</sup>进行制样,并在光学显微镜和电子显微镜下观察处于不同发育时期的细菌和进行照相。

### 结果

箭舌豌豆根瘤为杆形,基部与植株相

连。根瘤中的侵染组织由侵染细胞和非侵染细胞组成。前者数量多,体积大,染色深,并含有许多细菌,后者则与此相反(图版 1-1)。在成熟的侵染细胞中,虽然细菌大小各不相同,形状多种多样,但基本结构颇为一样,都由细菌周膜、细胞壁、质膜和原生质组成。其中原生质最为复杂。细胞质一般位于细菌质膜附近,密度较大,染色较深,含有许多类核糖体颗粒。拟核区位于细菌中央,与其细胞质相比,染色浅,密度小,由众多的 DNA 细纤维组成。有趣的是这些细菌的内含物异常地少,不仅没有染色很深的多磷酸盐颗粒,而且也没有电子密度很低的多聚- $\beta$ -羟基丁酸盐颗粒(PHB)(图版 1-2)。

当细菌继续发育时,最明显的变化是细菌周膜变大,在细菌周膜与细胞壁之间形成一个宽大的环形电子透明区。透明区中通常没有可见成分,偶尔也有少量的纤维状物质或泡状结构。它们的壁开始变得不光滑,有的甚至呈波浪形或锯齿状。在壁与质膜之间形成一个明显的腔隙,腔隙

本文于1990年6月30日收到。

\* 国家自然科学基金资助课题。

中有多少不等的纤维状物质。不仅如此, 质膜附近还出现一些小泡, 而且小泡中常有纤维状物质(图版 I-3)。这些小泡首先出在细菌中部细胞质中, 并随着细菌发育逐渐增多, 体积不断变大, 所含纤维状物质也越来越丰富。其中少数小泡的体积很大, 通常为一般小泡的两倍左右, 甚至更大。它们里面的纤维状物质很多, 也特别致密, 有的几乎被纤维状物质所充满。无论这些小泡中的纤维状物质是多少, 它们和体积较小的小泡一样, 表面均无包围膜。有的小泡的体积更大, 泡的里面不是纤维状物质, 而是一团由一层膜紧紧包裹的细胞质, 细胞质中还有少量含有纤维状物质的小泡(图版 I-4)。有时一些体积很大的小泡虽然所含的纤维状物质不多, 但它们周围的细胞质却很丰富, 其中一些细胞质常常连同里面的小泡一起向这种体积很大的小泡内伸, 形成各种细胞质突起。由于这种突起的形成和伸入, 常常使这些小泡逐渐变为弯月形, 并将细胞质突起前端包围起来(图版 I-5)。根据这一现象, 我们推测含有细胞质小球的特大小泡可能就是由这种方式形成的。不过具有细胞质小球的小泡为数很少, 只有在个别体积较大的细菌才有发现, 而且一个细菌一般只有一个, 很少观察到一个细菌中有两个或两个以上的现象。它们常位于细菌端部, 很少存在于细菌的其他部位(图版 II-6), 其原因很可能与细菌端部细胞质特别丰富有关。

当细菌明显衰老时, 它的长度开始缩短, 宽度增加, 形状趋向椭圆形或圆形, 很少有正常侵染细胞中那些形状复杂的细菌, 即是典型的长杆状细菌一般也不多见。不仅如此, 细菌的电子透明区也越来越小, 它的周膜常常紧紧裹在细菌外面。此时的细菌壁不再曲曲弯弯, 变得相当光滑。但

有的细菌壁发生内陷, 形成深深的沟槽, 这种沟槽既可出现在细菌一边, 也可出现在细菌两边, 因此有的细菌呈肾形(图版 II-7), 有的则呈哑铃形(图版 II-8)。有趣的是细菌周膜并不一同内陷, 即使出现, 也非常不明显。观察表明, 这种现象似乎不属于细菌的正常分裂。因为它们的原生质已出现解体, 如染色变浅, 核糖体颗粒和 DNA 纤维消失, 小泡大大减少, 而且膜变得相当不清晰。有的细菌更为特殊, 它们不是在一处或两处发生细胞壁内陷, 而是在多处形成深深的狭缝, 将原生质分割为许多小块。不过这些小块并未完全分开, 因为它们在中央部分相互连在一起。这种细菌一般体积较小, 染色较深且不均匀, 但内部同样没有细胞的正常结构(图版 II-9)。

当这些细菌进一步衰老时, 最引人注目的变化是原生质越来越少, 普遍出现凝聚现象, 常常形成一些电子密度很高的团絮状物质。它们通常分散存在, 很少相互大片大片聚在一起。与此同时, 细菌中出现一种体积很小的泡, 它们里面既没有纤维状物质, 也没有细胞质, 是一片电子透明区域。一般位于质膜附近, 有的甚至与质膜连在一起, 因此它们可能由质膜内陷而成(图版 II-10)。然后随着细菌的彻底解体, 团絮状物质越来越少, 泡状成分逐渐增多, 最后整个细菌完全变成为一团泡膜状结构(图版 II-11)。

## 讨 论

豆科根瘤中的细菌在发育中, 一般都有多聚- $\beta$ -羟基丁酸盐颗粒(PHB), 甚至认为它是细菌中一种常见的贮藏物质, 其主要作用可能与细菌固氮对所需的电子和能量供应有关<sup>[8-9]</sup>。Werner 等认为<sup>[10]</sup>, 不同豆科根瘤中的 PHB 含量不同, 不是因寄

主植物品种不同,而是由于取样时根瘤年龄差异所致。然而,我们在箭舌豌豆根瘤中,不管它是幼龄和成熟细菌,还是衰老细菌都未见这种内含物,在豌豆和红豆草的根瘤中,也有同样现象<sup>[7,11]</sup>,可见 PHB 并不存在于所有根瘤中,更不可能在所有豆科根瘤中其含量都相同。根据我们的观察,它的作用是否如某些学者认为的那样重要值得探讨,即使那些作用存在,它也不可能在其中起着主要作用,至少在上述几种根瘤中是如此,否则对它们为什么能进行固氮就难以作出令人满意的回答。

箭舌豌豆根瘤中的细菌在发育成熟后均含有大量的小泡。观察表明,这些小泡里面不是空的,含有纤维状物质。开始不是出现在细菌端部的细胞质中,而是位于细菌中部细胞质里面,常常靠近质膜。当它们大量增加时,不是杂乱无章地由细菌两端向中部推进,而是沿质膜由中部同时向前后两个方向扩展,多呈单行排列,这种现象在小泡产生初期尤为明显。这些小泡不是多聚- $\beta$ -羟基丁酸盐颗粒,很可能是质膜体。虽然有这种结构的细菌为数不少,但在豆科根瘤细菌中却很少见<sup>[12]</sup>。根瘤细菌中有如此众多的质膜体,目前国内外尚无报道。因此,它可能是一种根瘤的固有特征之一。它的功能目前还不清楚,有待进一步研究。

豆科根瘤中的细菌在衰老过程中,其周膜均要急剧变大,在细菌周膜与细菌壁之间形成一个很大的电子透明区<sup>[5,11]</sup>。但是,我们在箭舌豌豆根瘤细菌的衰败中,不

仅没有发现这种现象,而且它们的电子透明区反而越来越小,有的细菌周膜几乎与细菌壁贴在一起,彼此之间没有或只有很小的间隙。我们认为,这不是由于细菌周膜收缩所致,因为此时的细菌周膜仍然相当光滑,未出现明显的褶皱,因此很可能是细菌体积增大所引起的。然而,多数学者认为,当侵染细胞发育成熟时,里面的细菌数量最多,细菌体最大,即这些细菌不再分裂,不再生长变大。衰老细菌体积普遍变大可能不是细菌的正常生长,而是细菌在解体过程中出现的水肿现象。这些细菌与正常细菌不同,它们原生质大量减少,浓度降低,染色变浅,长度变短,宽度增加,趋向椭圆形或圆形。

### 参 考 文 献

- [1] Cohen, H. P. et al.: *Protoplasma*, **132**: 69—75, 1986.
- [2] Atkins, C. A. et al.: *Planta*, **162**: 316—326, 1984.
- [3] Bassett, B. et al.: *Can. J. Microbiol.*, **23**: 873—883, 1977.
- [4] Werner, D. et al.: *Planta*, **162**: 8—16, 1984.
- [5] Pauu, A. S. et al.: *J. Bacteriol.*, **143**: 1480—1490, 1980.
- [6] 韩善华等: 植物学报, **30**: 117—123, 1988.
- [7] 韩善华等: 实验生物学报, **20**: 13—22, 1987.
- [8] Craig, A. S. et al.: *Arch. Microbiol.*, **89**: 23—32, 1973.
- [9] Wong, P. P. et al.: *Plant Physiol.*, **47**: 750—755, 1971.
- [10] Werner, D. et al.: *Planta*, **141**: 169—177, 1978.
- [11] 韩善华: 植物学报, **33**: 610—613, 1991.
- [12] Roth, L. E. et al.: *Eur. J. Cell Biol.*, **49**: 13—23, 1989.
- [13] Pauu, A. S. et al.: *Plant Physiol.*, **62**: 526—530, 1978.

## STUDY ON THE SENESCENCE OF BACTERIODS IN *VICIA SATIVA* ROOT NODULES

Han Shanhua

(Cell Biology Laboratory, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

When *Vicia sativa* root nodule is senescing, their bacteroidal ultrastructure appears to have many changes. Firstly, the surfaces of their peribacteroid membranes obviously enlarge, following, their cell walls become unsmooth and are often like wave-shaped and sawtooth-shaped. At the same time, a large amount of small vesicles contained fibrillar material locate near their plasma membranes but the vesicles are very different in size and inclusions, some of them are specially large, some large vesicles contain abundant fibrillar material, even are almost filled by fibrillar material, other large vesicles have a small cytoplasmic ball which contain some small vesicles with fibrillar material, the cytoplasmic ball locates in the large vesicle centre.

Companing the bacteroidal senescence, their length shortens, their width increases and the bacteroids tend to proximate round or oval. It is not only so but their electron-density is also obvious decrease, their protoplasmic structure has disappeared and forms some clustered electrondensity cotton fiber material, and there are some vesicles without fibrillar material near their plasma membranes. Finally, the senescent bacteroids completely disintegrate and become into some vesicular-shaped and membrane-shaped structure.

### Key words

*Vicia sativa* root nodule; Bacteroid;  
Senescence