

# 大豆根瘤中公共细菌周膜形成的一种特殊方式<sup>\*</sup>

韩善华

(四川师范大学生物系, 成都 610066)

用透射电镜观察了大豆根瘤中公共细菌周膜的形成。在细菌周膜发育中, 它的表面常常形成一些凸起和凹陷, 而且相互嵌合, 不过常为双嵌合。由于嵌合细菌周膜发生融合, 因而在两个相邻细菌电子透明区之间形成两个狭窄的通道, 通道之间是一些含有丰富核糖体的寄生细胞质, 但不含细胞器。随着融合面积的不断扩大, 这些细胞质变得越来越少, 最后完全消失。于是两个彼此独立的细菌周膜就完全变为一个公共的细菌周膜。融合后的细菌周膜还可继续融合, 但融合机率则随着融合次数的增加变得越来越小。

**关键词** 大豆根瘤; 细菌周膜; 融合; 公共细菌周膜

大豆根瘤在固氮细胞生物学的研究中占有极其重要的地位, 是该研究中使用最多的材料之一。早在 1958 年, Bergersen 等<sup>[1]</sup>就发现大豆根瘤中的细菌经常多个存在于一个细菌周膜中, 他们认为, 这种现象的产生是由于细菌分裂时, 它的细菌周膜未分裂所致。后来 Day 等<sup>[2]</sup>在大豆根瘤中也观察到同样现象, 但他们未对这一现象出现的原因加以明确说明。我们在研究大豆根瘤时发现, 随着侵染细胞由幼龄发育到成熟, 细胞中的公共细菌周膜逐渐增多, 然后又渐渐减少<sup>[3]</sup>。可见, 它的出现明显与侵染细胞的发育有关。

我们在研究豌豆根瘤时观察到, 当被侵染的细胞发育成熟时, 它的里面常常有多个细菌位于一个公共细菌周膜中<sup>[4]</sup>。但这种现象的产生不是因为细菌与其周膜分裂不同步, 而是由于细菌周膜彼此融合的结果。其后, 我们又在红豆草根瘤中观察到大量的细菌周膜融合现象, 有时一个公共细菌周膜中多达 10 个左右的细菌<sup>[5]</sup>。大豆根瘤中公共细菌周膜的形成是否也与细菌周膜融合有关? 其特点如何? 这是人们十分关心的问题, 为此我们进行了这一研究, 现报道如下。

## 材料和方 法

供试材料为中国丰收 11 号大豆, 植物材料的培养和根瘤菌的接种、根瘤电镜样品的制备和观察等方法详见前文<sup>[3]</sup>。

## 结 果

在刚被侵染的细胞中, 一般都是一个细菌有一个细菌周膜。这些细菌周膜表面比较光

本文于 1992 年 5 月 21 日收到。

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金资助课题。张兰珍同志参加部分实验工作, 特此致谢。

滑,它的内侧的电子透明区也较小,里面除了有时有少量的电子密度较高的物质外,很少有其他可见成份(图版 I-1)。

当被侵染细胞继续发育时,由于其中的一些细菌与其细菌周膜分裂不同步,经常是 2 个或 2 个以上的细菌同时存在于一个细菌周膜中,再不是一个细菌有一个细菌周膜(图版 I-2)。由此而形成的细菌周膜表面光滑,膜的内侧通常没有线状物或呈弧形分布的泡状物,但有时有少量的纤维状物质(图版 I-3)。这些纤维状物质可能是高尔基体小泡和内质网小泡与细菌周膜融合的结果<sup>[6,7]</sup>,因为这些小泡中一般都含有纤维状物质(图版 I-4)。

在大豆根瘤中还有一种十分引人注目的现象,那就是当细菌周膜变大时,它的表面常常形成一些凸起和凹陷。这种现象的产生可能与细菌周膜各部分变大的速度不同有关。当某一部分变大较快时,它便向外形成凸起,而另一部分变慢时,它便向内变为凹陷。大豆根瘤中细菌周膜上凸起和凹陷的形成虽然在细菌密度很低的细胞中也有发现,但出现的机率很低,一般只有 1-2%,甚至完全没有(图版 I-1)。

随着被侵染细胞的进一步发育,细菌周膜上形成凸起和凹陷的现象明显增多,加之细菌密度变大,以致相邻两个细菌周膜上的凸起和凹陷相互接近,进而彼此融合。不过这种融合不是常见的单嵌合,而是十分罕见的双嵌合。即细菌周膜上形成的凸起不是 A 形,而是 M 形,与此相嵌合的凹陷不是 V 形,而是 W 形(图版 I-5)。偶尔也有单嵌合,特别有趣的是有些单嵌合常常是一个细菌周膜大面积外移,凸起的前端不是很尖,而是相当平滑,与之相嵌合的另一个细菌周膜则大幅度的内陷,有时甚至内陷到细菌细胞壁附近。凹陷的底部很平滑也很宽,其宽度有时多达整个细菌周膜周长的六分之一至五分之一左右(图版 I-6)。细菌周膜之间的相互嵌合可能是一种正常生理现象,而不是相互压挤的结果,至少绝大部分是如此。如图版 I-5 中箭头所指的相互嵌合的下面一个细菌,除了嵌合部分外,周围没有靠得很近的细菌。相反,左面中间几个细菌上下都有细菌相邻,但并不都出现明显的嵌合,因此用简单的挤压来解释上述现象就难以令人信服。

双嵌合细菌周膜的融合过程比单嵌合更为复杂。首先,膜上的两个凸起与其将要嵌合的凹陷要逐渐靠拢,进而相互完全嵌合,否则融合就不能发生。这种融合既不是在整個嵌合部分同时进行,也不是在嵌合部分中的任意点进行,而是首先发生在凸起的端点与其嵌合的对应部分。由于它们有两个凸起,因此融合后一般都要形成两个狭窄的通道,将原来彼此分离的两个细菌电子透明区连接起来。此时通道之间是寄主细胞质,里面除有丰富的核糖体颗粒外,很少有其他细胞器(图版 I-7)。随着嵌合部分的继续融合,在两个细菌电子透明区之间便形成一些大小不等、形状不同的通道,将原来呈片的寄主细胞质分割为一些小块(图版 I-8)。由于融合进一步扩大,于是将二者之间的寄主细胞质挤压出去,变得越来越少,最后完全消失,使两个彼此分离的细菌周膜变为一个公共的细菌周膜。与此同时,两个细菌的电子透明区也完全连在一起,成为一个公共的电子透明区(图版 I-9)。

大豆根瘤中的公共细菌周膜有两种来源,一种是由细菌与其细菌周膜分裂不同步产生的,一种则来自细菌周膜互相融合。观察表明,它们所形成的公共细菌周膜是明显不同的,主要差异是前者表面比较光滑,圆整,近似圆形或椭圆形,后者通常不圆整,多呈亚铃形、三环形或者四环形,而且在融合处常常留下近似 V 形的痕迹,在其附近的电子透明区

中还往往有一块三角形的染色较深的物质(图版 I-9)。

大豆根瘤中细菌周膜相互融合并不完全局限于两个未融合过的细菌周膜,因为一个融合过的细菌周膜还能与另一个细菌周膜融合,这个细菌周膜既可以是未融合过的,也可以是融合过的,若是前者便形成一个内含3个细菌的公共细菌周膜(图版 I-10)。但在整个观察中很少发现3个细菌周膜、4个细菌周膜或更多细菌周膜同时融合在一起的现象,即使在密度很大时也是如此,原因目前还不清楚。虽然细菌周膜通过相继融合的方法使其公共细菌周膜中的细菌逐渐增多,但不是无限的。因为我们发现,细菌周膜间的相互融合的几率与其融合次数呈负相关,即融合机率随融合次数的增加而减少。所以在大豆根瘤中,细菌周膜的融合多为1-2次,3次或3次以上的现象一般不多见。大豆根瘤中有许多较大的公共细菌周膜,但它们不是由于细菌周膜相互融合所致。而是来自细菌与其细菌周膜分裂不同步。

## 讨 论

到目前为止,对豆科根瘤中细菌周膜融合研究不多,仅在三叶草和紫花豌豆<sup>[8]</sup>、中国豌豆<sup>[4]</sup>和红豆草<sup>[5]</sup>等少数几种根瘤中有过公开报道。我们认为,它可能不是个别根瘤具有的特殊现象,而有一定的普遍性,因为我们在其他根瘤中也相继发现了这种现象(未发表资料)。报道不多的主要原因可能是:①未受到普遍重视,在观察中不注意这一问题;②有些根瘤的细菌周膜融合机率较低,往往不易发现;③当根瘤中既有细菌与其细菌周膜分裂不同步,又有细菌膜相互融合时,常常将后者产生的公共细菌周膜误认为是前者的作用,例如在大豆根瘤中就是如此。我们相信,还会有许多根瘤菌也有周膜的相互融合现象。

细菌周膜的相互融合在不同根瘤中其方式也不尽相同。例如 Gunning<sup>[8]</sup>在研究三叶草和紫花豌豆根瘤时指出,它们的细菌周膜融合十分简单,只要两个相邻细菌周膜接触即可,彼此之间不需要发生某些特定的形态结构变化,如在细菌周膜表面形成凸起和凹陷等。并认为该融合是一种可逆的暂时现象,即两个细菌周膜可以相互融合,但融合后又可分开成为两个彼此独立的细菌周膜。然而,我们发现中国张家川豌豆根瘤中的细菌周膜融合则不一样,在融合前,必须要在细菌周膜上形成凸起和凹陷,而且相邻的两个细菌周膜上的凸起和凹陷还一定要相互嵌合,否则细菌周膜融合就不能发生。由融合而形成的细菌周膜极不稳定,很快发生断裂,使两个原来彼此独立的细菌周膜变为一个公共的细菌周膜,而且这种公共细菌周膜是非常稳定和不可逆的<sup>[9]</sup>。

大豆根瘤中的细菌周膜融合独具一格,既不同于三叶草型,也不同于我们发现的豌豆型。虽然它们在融合之前也要形成凸起和凹陷,但不是一般的单嵌合,而是多嵌合。图版 I-7 清楚显示。由此而形成的融合通道不是通常的一条,而是两条。进一步融合时则形成多条,通道之间还夹杂着一些寄主细胞质(图版 I-8)。这种融合方式在过去众多根瘤中还未见报道,属首次发现。这种现象在侵染细胞中,特别是在即将成熟的侵染细胞中随时可见,其融合频率一般在20%左右,有的甚至还高,而且只与被侵染细胞的发育有关,与样品制备无联系。因此,它可能是遗传特性的一种反映。

1975年 Tu<sup>[10]</sup>认为,被侵染细胞的固氮活性与单位体积内细菌周膜总的表面积呈正

相关。当大豆根瘤中的被侵染细胞发育成熟时,细菌体积达到最大,数量达到最多,固氮活性也达到最高。Goodchild 等<sup>[1]</sup>曾指出,大豆根瘤中细菌发育成熟(类菌体)的形态标志是多个细菌位于一个公共的细菌周膜中。因此,大豆根瘤中公共细菌周膜的形成是细菌在发育中一种结构上的重要变化。是一种正常的细胞学现象,是一定功能的反映。因此,这种现象的产生不是偶然的,可能具有重要的生物学意义。主要有两点:一是公共细菌周膜的形成有利于增加侵染细胞中单位体积内细菌的数量。使体积相同的细胞中可以容纳更多的细菌,这样无疑可以大大提高根瘤的固氮能力。二是在保证侵染细胞中有足够细菌的前提下,也有利增加细菌周膜总的表面积,促进了细菌与寄主细胞之间的物质交换、信息传递和能量供应。这对固氮活性处于高峰时期的细菌尤为重要,因为此时它们需要从寄主细胞那里获得足够的营养和能量,同时又必须将固定的氮及时通过细菌周膜输到寄主细胞中,否则细菌中氮的浓度过大就会引起氨中毒。所以 OBrain 等<sup>[12]</sup>认为,根瘤固氮活性的控制可能是通过细菌周膜对固氮代谢产物的调节来实现的。

在豆科根瘤中,公共细菌周膜的产生一方面保证了被侵染细胞中有足够的细菌,另一方面又有利于细菌周膜总的表面积有所增加,为侵染细胞固氮能力的最大发挥提供了一种最佳条件。因此,从某种意义上讲,这种现象的产生可能是根瘤这种共生固氮结构在长期进化中的一种进步。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Bergersen, F. J. and M. Briggs; *J. Gen. Microbiol.*, **19**:482-490, 1958.
- [ 2 ] Day, D. A. et al.; *Aust. J. Plant Physiol.*, **16**: 69-84, 1989.
- [ 3 ] 韩善华等; *微生物学报*, **27**:217-222, 1987.
- [ 4 ] 韩善华等; *实验生物学报*, **20**:13-21, 1987.
- [ 5 ] 韩善华; *植物学报*, **32**:809-811, 1990.
- [ 6 ] Robertson, J. G. et al.; *J. Cell. Sci.*, **30**:129-149, 1978.
- [ 7 ] 韩善华; *植物学报*, **33**:610-613, 1991.
- [ 8 ] Gunning, B. E. S.; *J. Cell. Sci.*, **17**:307-317, 1970.
- [ 9 ] 韩善华, 郑国田; *微生物学报*, **29**:413-417, 1989.
- [ 10 ] Tu, J. C.; *Phytopathology*, **65**:447-454, 1975.
- [ 11 ] Goodchild, D. J. and F. J. Bergersen; *J. Bacteriol.*, **92**:204-213, 1966.
- [ 12 ] OBrain, M. R. et al.; *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.*, **84**:8390-8393, 1987.

## A SPECIAL MODE OF FORMATION OF COMMON PERIBACTEROID MEMBRANES IN SOYBEAN ROOT NODULES

Han Shanhua

(Department of Biology, Sichuan Normal University, Chengdu 610066)

Formation of common peribacteroid membranes in soybean root nodules was observed by transmission electron microscopy. The surfaces of peribacteroid membranes

during development often form some protrusions and hollows, and occur chimera each other, most of them is a kind of rare dichimera. Then chimera peribacteroid membranes occur fusion, forming two narrow passageways between the electron empty spaces of adjacent bacteroids and there is some cytoplasm which contains abundant ribosomes but not organelle, between two passageways. With increase of fused area, the host cytoplasm gradually is divided into some small blockes and becomes smaller and smaller, finally completely disappears. At the same time, two independent peribacteroid membranes become into a common peribacteroid membrane. The peribacteroid membranes occurred fusion may continuously fuse with another peribacteroid membrane which may be usual peribacteroid membrane, also fused peribacteroid membrane, but with increase of fused number, their fused probability becomes lesser and lesser.

**Key words** Soybean root nodule; Peribacteroid membrane; Fusion; Common peribacteroid membrane

### 图版说明

#### Explanation of plates

##### 图版 I

1. 幼龄感染细胞中的细菌,有的细菌周膜上有凸起,凸起中含有一些电子密度很高的物质(箭头)( $\times 30000$ ); 2. 一个正在分裂的细菌,它的上方有两个含有两个细菌的公共细菌周膜( $\times 25000$ ); 3. 由细菌分裂而产生的公共细菌周膜,它们的表面比较光滑( $\times 25000$ ); 4. 来自高尔基体(D)和内质网(ER)的小泡中含有纤维状物质,其中一些小泡已经贴在细菌周膜上( $\times 23000$ ); 5. 细菌周膜融合中的双嵌合现象(箭头)( $\times 25000$ )。

##### 图版 II

6. 细菌周膜的大面积嵌合现象(箭头)( $\times 40000$ ); 7. 细菌周膜融合后形成的两条狭窄的通道(三角形),通道之间有一片寄主细胞质( $\times 54000$ ); 8. 两个细菌周膜间的寄主细胞质(三角形)已被分割为小块( $\times 55000$ ); 9. 在公共细菌周膜中常有三角形的电子密度较高的物质位于融合处(三角形)附近的电子透明区(ES)中( $\times 50000$ ); 10. 由3个细菌周膜融合而产生的一个公共细菌周膜,它有一个公共的电子透明区(ES)( $\times 30000$ )。

##### Plate I

1. Some bacteroids in an young infected cells, their peribacteroid membranes have some protrusions which contain some electron-density material (arrow); 2. Peribacteroid membranes with two bacteroids locate above a dividing bacteroid; 3. A common peribacteroid membrane derived from bacteroidal division, its surface is comparatively even; 4. Some vesicles derived from dictyosomes (D) and endoplasmic reticulum (ER) have attached on the peribacteroid membranes and there is some fibrillar material in them; 5. There is some dichimera phenomons (arrow) during peribacteroid membrane fusion.

##### Plate II

6. There is some bigger chimera in area during the peri-bacteroid membrane fusion; 7. After two adjacent peribacteroid membranes fusion, they form two narrow passae-ways (triangle) and there is some host cytoplasm between two passageways; 8. The host cytoplasm (triangle) between two peribacteroid membranes is been dividing some small blockes; 9. There are two triangle electron density material near fused part in the electron empty space; 10. Three peribacteroid membranes form a common peribacteroid membrane by fusion and occures a common elctron empty space (ES).