

# 关于根瘤菌类菌体有无细胞壁的探讨

于代冠

(中国农业科学院土肥所,北京)

根瘤菌与豆科植物共生产生固氮的特殊结构——根瘤,固氮的根瘤中既含根瘤菌又含类菌体。在共生的条件下,根瘤菌诱导根瘤的发育,自我繁殖,合成固氮酶并转化为类菌体。以前认为只有类菌体才能固氮,后经 Child 和 Scowcroft 研究发现,豇豆根瘤菌 32H1 与非豆科植物细胞共培养也能固氮<sup>[1,2]</sup>。Dilworth 和 Tjepkema 分别证明了根瘤菌在固体培养基和液体培养基中也能固氮<sup>[3]</sup>。但类菌体的固氮效率远远高于离体的根瘤菌这一点是毫无疑问的。

类菌体的一般概念是:随着根瘤的发育,进入根瘤细胞内的菌体逐渐膨大为粗杆状或球状,有的则一端膨大或分叉成为梨形、棒槌形、“T”形或“Y”形,染色后表现出明显的环节状;在根瘤内具有这些特殊形态的根瘤菌称为类菌体<sup>[4]</sup>。Pankhust 曾建议“只把存在于成熟的,有固氮活性的含菌植物细胞中的细菌称为类菌体”<sup>[5]</sup>。类菌体与根瘤菌在超微结构、组成及功能方面都有差别<sup>[6]</sup>。到目前为止,类菌体有无细胞壁还不十分明确,本文主要针对此问题进行讨论。

Jordan 等首先观察到豌豆根瘤菌类菌体的细胞壁合成受抑制<sup>[7]</sup>, Mackenzie 等也发现三叶草根瘤菌类菌体有同样现象<sup>[8]</sup>, Van Rensburg 等用花生根瘤作为材料,直接观察了花生根瘤菌向类菌体转化的形态,指出杆状的根瘤菌首先转变为多形态的类菌体,以后变为球形,随之细胞壁消失,最后变为原生质体。并认为细胞壁消失是植物因子参与的结果<sup>[9]</sup>。Van Brussel 用豌豆根瘤菌说明其类菌体对渗透压敏感而根瘤菌对渗透压不敏感,类菌体细胞壁中的庚糖含量(0.3—0.6%)低于根瘤菌

(1—2%)<sup>[6]</sup>。Ching 等从大豆根瘤中分离出三个组分:根瘤菌、正在转化的根瘤菌和成熟的类菌体。用电镜观察三个组分,发现在根瘤菌和正在转化的根瘤菌组分中均能看到细菌的厚细胞壁,并指出“偶然壁化的双层膜”(the occasional-walled double membrane)是根瘤菌和类菌体的中间发育状态。在成熟的类菌体组分中,单层膜(single membrane)和聚- $\beta$ -羟丁酸颗粒清晰可见,但未提到有无细胞壁<sup>[10]</sup>。Bai 等人用电镜观察了纯培养的大豆根瘤菌和大豆根瘤中类菌体的细胞壁膜(cell wall membrane)的变化,发现存在于根瘤菌外细胞壁的“微小突出物”(the minute projection)脱落或消失,有时能看到一些残存的碎片。从而指出,根瘤菌的细胞壁在与豆科植物建立共生的过程中发生了明显的变化<sup>[11]</sup>。此外,我们在观察沙打旺根瘤的超微结构时发现,沙打旺根瘤菌的类菌体全部呈球形,其类菌体的细胞双层膜清晰可见,未看到有细胞壁的存在。

从上述报道中看出,在豌豆根瘤菌、三叶草根瘤菌、花生根瘤菌、大豆根瘤菌和沙打旺根瘤菌中都能观察到类菌体细胞壁的变化。虽然 Van Rensburg 等认为花生根瘤菌首先转变为多形态的类菌体,然后变为球形,随之失去细胞壁而转变为原生质体,但他没提到此原生质体是否就是类菌体。值得注意的是,他们采集根瘤进行观察的连续时间是在播种后 11—25 天,仅在 10 多天内根瘤菌就完成了从杆状到原生质体的转变,那么称之为“多形态的类菌体”的寿命最多也就是 10 多天。这似乎是不可能的,因为类菌体是主要固氮者,一般认为在植物开花期达到固氮高峰,但从播种到开花期需要几个月的时间。因此,作者认为 Van Rensburg 等

人提到的“原生质体”可能就是类菌体。作者所观察的沙打旺根瘤是在播种后 28 天采集的,此时的根瘤细胞内充满了脱壁的球形类菌体。这说明,没有细胞壁类菌体不是偶然出现在某种植物根瘤细胞内的。其它几种根瘤菌类菌体(如豌豆根瘤菌、大豆根瘤菌和三叶草根瘤菌)虽未提到脱壁,但都认为细胞壁发生了明显的变化。值得一提的是,根瘤的采集时间一般是在植物生长 2—4 周,此时正是根瘤菌浸染、自身繁殖和向类菌体转化的阶段,看不到类菌体脱壁可能是由于时间未到的缘故。此外,Ching 等在观察正在转化的大豆根瘤菌组分时所提到的“偶然壁化的双层膜”和 Bai 等在观察大豆根瘤中类菌体时所提到的“细胞壁膜”以及外细胞壁的“微小突出物”是否就是细胞壁,因为根瘤菌壁外层没有荚膜或其它膜类物质。再者, G<sup>-</sup> 菌的细胞壁本身就有 4—5 层结构。鉴于以上事实与分析,作者认为: 根瘤菌侵入寄主植物细胞后,在植物有关因子(如脱壁酶)的作用下,逐步将根瘤菌的细胞壁溶解掉,使其转化为类菌体。因此细胞壁的存在是区别根瘤菌与类菌体的主要标志之一,而类菌体的形态变化主要是由于脱掉细胞壁的缘故。至于有些类菌体为什么不呈现球形,而呈现其它形状?其原因可能是,如果根瘤菌在体外脱壁,无疑是球形,但在根瘤细胞内就不一定是球形,因为受植物细胞的特殊环境影响,甚至同一种根瘤菌在不同寄主中,其类菌体所呈现的形态也不一样<sup>[12]</sup>。

类菌体的繁殖力试验间接证明了类菌体无细胞壁。曹燕珍等报道,四种快生型根瘤菌(紫云英、苜蓿、三叶草和苕子)在根瘤细胞内具有繁殖能力者小于 0.27%,能繁殖的这一小部分没有形态变化,而 99% 以上的根瘤菌已转化为多形态的类菌体,这种已分化的类菌体不能繁殖。慢生型大豆根瘤菌在根瘤细胞内的繁殖率高达 81%,大豆根瘤菌的类菌体没有形态变化,并具有繁殖力<sup>[13]</sup>。四种快生型根瘤菌的类

菌体不能繁殖的结果可以间接说明,类菌体脱掉了细胞壁,因为属于 G<sup>-</sup> 的根瘤菌脱壁后是不能复壁繁殖的。至于说类菌体不能繁殖是由于其它分化原因,还有待探讨。因为迄今发现,高等植物分化的组织细胞具有全能性,象原核生物的细菌不可能分化到不能繁殖的状态。另外,关于慢生型大豆根瘤菌在根瘤细胞内的繁殖率可达 81%。我们设想,根瘤采集的时间较早(文献中未提到采集时间),大部分根瘤菌还未完成脱掉细胞壁向类菌体的转化,具有繁殖能力是可能的。

总之,类菌体是否脱壁的问题很重要,它直接涉及到类菌体的形态、繁殖力以及与寄主植物建立共生关系等一系列问题,值得进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 1 Child J J: *Nature*, 253: 350—351, 1975.
- 2 Scowcroft W R and Gibson A H: *Nature*, 253: 351—352, 1975.
- 3 Tjepkema J et al.: *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 65(2): 625—628, 1975.
- 4 陶天申,陈廷伟:“豆科植物—根瘤菌的共生固氮”引自《生物固氮进展》尤崇构主编,上海科技出版社,184—212,1988。
- 5 Pankhurst C E: in *Current Perspectives in Nitrogen Fixation* (Ed. Gibson, A. H. & Newton, W. E., Australian Academy of Science, Canberra), 304, 1981.
- 6 Bergersen F J: *Formation and Function of Bacteroids, in the Biology of Nitrogen Fixation* (Ed. A. Quispel, North Holland Publishing Co. Amsterdam), 473—498, 1974.
- 7 Jordan D C & Coulter W H: *Can. J. Microbiol.*, 11: 709—720, 1965.
- 8 Mackenzie C R Vail W J & Jordan D C: *J. Bact.*, 113: 387—393, 1973.
- 9 Van Rensburg H J, Hahn J S & Strydom B W: *Phytophyactica*, 5: 119—122, 1973.
- 10 Ching T M & Hedtke S: *Plant Physiol.*, 60: 771—774, 1977.
- 11 Bai A K Shantharam S & Verma D P S: *Can. J. Microbiol.*, 26: 1096—1103, 1980.
- 12 Sraphorst J L & Strydom B W: *Phytophyactica*, 4: 87—92, 1972.
- 13 曹燕珍,周俊初,陈华燊:中国科学(B辑),3:237—243, 1984。