

電子顕微鏡による大豆根瘤細胞の観察

野 津 幹 雄^{*}

Mikio Nozu

Electron Microscopy of Soybean Nodule Cell

緒 言

作物の細胞とバクテリア群の共生、N固定ならびに異物に対する細胞の反応などの微細構造を検討したいと考え、比較的簡単に得られる大豆根瘤を選んだ。元来、共生の説明としてマメ科植物とバクテリアとは相互に助け合っているとされてきた。しかし根瘤はマメ科植物本来の組織ではなく、バクテリアが感染して形成された異常組織であるとも考えられる。井上らは根瘤に関し、構造⁽⁴⁾、バクテリアの侵入⁽⁵⁾について顕微鏡による詳細な観察をしている。筆者は大豆根瘤を、根瘤細胞と大豆根瘤菌との関係を中心に、根瘤自体の生育、老化も考えて観察しているが、ここにその一部として大豆根瘤の中期と思われる組織に限定して観察結果を提示する。本研究を行なうにあたり終始御指導賜った安達一明教授、小合龍夫助教授に謝意を表する。

材料および方法

大豆品種借金無を栽培し、着生した根瘤のうちから根瘤内の淡赤色の組織を1mm³大に摘出し、2%過マンガン酸カリペロナール緩衝液(pH 7.6)、1%オスミウムペロナール緩衝液(pH 7.6)により冷蔵庫内で3時間固定した。緩衝液で2回洗い、水洗(1時間)した後エタノールで脱水した。包埋にはスチレン-n-ブチルメタクリレート(4:5)を用いゼラチンカプセルに包埋、重合(55°C, 24時間)させた。なお、過マンガン酸カリ固定の場合は脱水に際し、1%燐タングステン酸で処理し、オスミウム固定液には1cc当り0.045grの蔗糖を含ませた。超薄切片は日立UM-3型ミクロームで作製、日立HS-6型電子顕微鏡で観察した。

観察および考察

大豆根瘤の淡赤色(おそらくleghemoglobin, DARTら⁽²⁾)の組織に限定した場合、バクテリアは細胞壁内外

に存在する(図1)。バクテロイド細胞中ではバクテロイドは10~20個が群をなしていることについては光学顕微鏡による井上ら⁽⁴⁾の報告があるが、事実数個が集団を作っている。しかしこの件について電子顕微鏡によると数個ずつ膜に包まれて細胞質中に埋まっていると表現したほうが適切である(図2, 4, 8)。バクテロイドを包んでいる膜は、バクテリアの寄主への感染機構、共生などの点から寄主細胞膜がバクテリアによって細胞質方向へ複雑に陥入されてできたものと考えており、バクテロイドがこの膜によって囲まれている間は寄生細胞壁の内側にあるとしても本質的には細胞(質)外に存在すると考えられるので、この膜がこわされるまでは共生の関係が保持されると思う。この点に関してはBERGERSENら⁽¹⁾の模式図を支持する。最近GOODCHILDら⁽³⁾は根瘤菌の感染と根瘤細胞の発育について鮮明な写真を報告している。バクテロイド細胞の核(図3)は大豆幼植物根端のものとは変わりはないが、バクテロイドの増殖、物理的圧迫などによって変形(図4)される。バクテロイドを包んでいる膜がこわれている細胞ではしばしば多くのプロプラスチッド(図5)が観察された。また根瘤組織中のバクテロイドの存在が認められない細胞(図6, 7)ではエンドプラズミックレティクルムがよく発達しており、過マンガン酸カリで電子密度が低く(図6, OB)、オスミウムで密度の高い球体(図7, OB)が観察されたが、これに類似のものはバクテロイド細胞にも認められるので根瘤細胞の一般の構造物であると思ってよい。また現在のところバクテロイド細胞にのみ針状結晶(図8)を観察しているが、これがどのようなものであるかは好オスミウム球体とともに説明できない。大豆根瘤菌はこん棒状である⁽⁴⁾が、同一根瘤内においても環境によっていろいろな形(図9, 10, 11)を示す。

図 の 説 明

- 図1 大豆根瘤組織のバクテリア。過マンガン酸カリ、 $\times 7,200$
- 図2 バクテロイドを包んでいる膜。オスミウム、 \times

^{*} 作物学研究室

- 18,000
- 図3 バクテロイド細胞の核。過マンガン酸カリ，×10,000
- 図4 核の変形。オスミウム，×13,000
- 図5 バクテロイド細胞のプラスチッド。過マンガン酸カリ，×18,000
- 図6 バクテリアのはいっていない根瘤の細胞。過マンガン酸カリ，×18,000
- 図7 バクテリアのはいっていない根瘤の細胞。オスミウム，×8,400
- 図8 バクテロイド細胞内の針状結晶。オスミウム，×9,600
- 図9 根瘤菌の外形。過マンガン酸カリ，×20,000
- 図10 根瘤菌の外形。オスミウム，×5,000
- 図11 根瘤菌の外形。オスミウム，×10,000
- 図中の略号：B バクテロイド，CM 細胞膜，CW 細胞壁，EM バクテロイドを包んでいる膜，ER エンドプラズミックレティкулム，N 核，NC 針状結晶，NM 核膜，NU 仁，OB 好オスミウム球体，PP プロプラスチッド。

摘 要

大豆根瘤細胞とバクテリア群の共生の場を検討するこ

とを試みた。バクテロイドは数個ずつ膜で囲まれた小室の中にあり、この膜は細胞膜に起源を發したものと考えられる。バクテロイドの核はバクテロイドの増殖などによって変形される。根瘤組織細胞にはしばしばバクテリアが認められないことがあるが、そこではエンドプラズミックレティкулム、好オスミウム球体が観察でき、またバクテロイド細胞にはプロプラスチッド、針状結晶が見られる。根瘤内の根瘤菌は必ずしもこん棒状ではなく、環境によって外形を異にする。

引用文献

1. BERGERSEN, F. J. and M. J. BRIGGS: *J. Gen. Microbiol.* 19 (8): 482~490, 1958
2. DART, P. J. and F. V. MERCER: *J. Bacteriol.* 91 (3): 1314~1319, 1966
3. GOODCHILD, D. J. and F. J. BERGERSEN: *J. Bacteriol.* 92 (1): 204~213, 1966
4. 井上重陽・藤田時雄: 日作紀 19 (3-4): 287~289, 1951
5. 井上重陽・清水 敦: 日作紀 19 (3-4): 290~292, 1951

Summary

Root-nodules of soybean infected by *Rizobium* were studied in electron microscope. Cubes of nodule tissue filled with bacteroids were fixed in KMnO_4 or OsO_4 , embedded in Styrene. Sections were cut with Hitachi UM-3 ultratome with glass knives and were examined with HS-6 electron microscope. The central tissue (pink to red) of root-nodule were filled up with bacteroids. And in the host celles, bacteroids were embedded in enclosing membrane. The author considered that enclosing membrane developed from host cell membrane, although there was no direct evidence whether the membrane enclosing some bacteroids was devided from the true cell membrane or not. The nuclei of bacteroid cells were similar to each other and some-times nuclei were deformed by multiplication and oppresion of bacteroids. Occasionally, proplastids and needle-like crystals were observed in the bacteroid cells. On the other hand, endoplasmic reticulum and electron-dense areas without limiting membrane were observed in the non-infected cell of nodule. These dense areas were presumed to be lipid rich globular bodies because they were more stained with osmium solution. Common forms of bacteroids were rod-shape, but often showed various shapes in nodules. It seemed that such bacterial deformations were produced by changes of local phenomenon in the nodule tissue.







