

# 医学・生物学電子顕微鏡技術研究会会誌

Journal of Technical Research Conference for Medical and Biological Electron Microscopy

Vol. 13 No. 2

Japanese Society of Electron Microscopic Technology in Biology and Medicine

医学・生物学電子顕微鏡技術研究会

## 凍結切断法によるレンゲ根粒の SEM 観察 (SEM Observation of Root Nodules of *Astragalus sinicus* by Freeze Cracking Method)

田知本正夫・古賀博則

Masao TACHIMOTO, Hironori KOGA

石川県農業短期大学附属農業資源研究所

Research Institute of Agricultural Resources, Ishikawa Agricultural College

### 【はじめに】

レンゲ (*Astragalus sinicus* L.) は中国、日本など東アジアの水田で緑肥として利用されるマメ科植物であり、根にレンゲ根粒菌 (*Rhizobium huakuii*) が共生して直径数 mm の根粒が形成され、空中窒素を固定利用することができる。レンゲ根粒の内部構造を観察するため、あらかじめ固定した試料をアルコール中で自然切断する方法を試み、好結果を得たので報告する。

### 【材料と方法】

マメ科植物試験栽培用の透明ポリエチレン製シードパック (米国 Northrap King 社製) に殺菌レンゲ種子 (丸大岐阜レンゲ) を播種し、レンゲ根粒菌 (ACCC13005 株) を接種して約 4 週間、人工気象器 (25 °C、12L : 12D) で栽培した。形成された根粒を 2.5% グルタルアルデヒドおよび 1% オスミウム酸で固定した後、エタノール系列で 90% エタノールまで脱水し、液体窒素に浮かべたアルミ小容器中で 90% エタノールに浸して自然に切断するのを待ち、適当な断面が得られるまで凍結切断を繰り返した。切断試料は常法により脱水・臨界点乾燥した後、金コーティング処理し、SEM (JEOL JSM-35CF) で根粒の内部構造を観察した。

### 【結果】

90% エタノール中での凍結切断では断面が平滑過ぎ、根粒内部の構造がわかりにくかったため、イオンエッチング処理 (AC500V, 5mA) を数分間行い、再コーティングすると効果的であった (Fig. 1)。レンゲ根粒菌が増殖している植物細胞には液胞が発達しており (Figs. 2, 3)、根粒菌は細胞質部分にのみ増殖しているのが観察された。これは *Rhizobium* 属根粒菌が感染する他のマメ科植物根粒と同様の構造であった<sup>2, 3)</sup>。また根粒菌は通常の培養菌体よりも大きなバクテロイド ( $\phi 1 \times 2 \mu\text{m}$  程度) として存在していた (Fig. 4)。菌体の周囲には粘質物のような物質が存在し、根粒菌の分泌する菌体外高分子物質と考えられた。なお、根粒の形成時期による構造上の大きな違いは液胞の大小以外は特に確認されなかった。

### 【参考文献】

- 1) 松村浩二・村中祥悟：医学・生物学電顕技術研究会誌 7(2)：10, 1993
- 2) 野津幹雄：ダイズ根瘤の電顕観察、島根大農研報 14: 120-130, 1980
- 3) 野津幹雄：樹脂切断によるクローバー根瘤の SEM 像、島根大農研報 15: 94-100, 1981

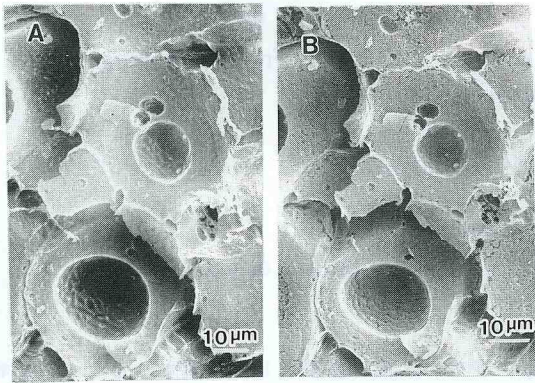


Fig. 1. イオンエッチング処理の効果  
(A 処理前, B 処理後)  
Effect of ion etching treatment.  
(A, no etching ; B, etching treatment)

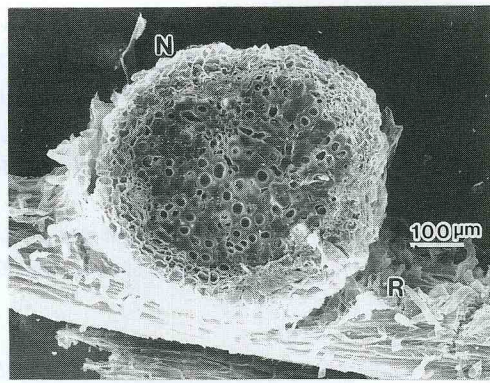


Fig. 2. レンゲ根粒の断面  
(N 根粒, R 植物根)  
Cross section of a root nodule of *A. sinicus*.  
(N, nodule; R, plant root)

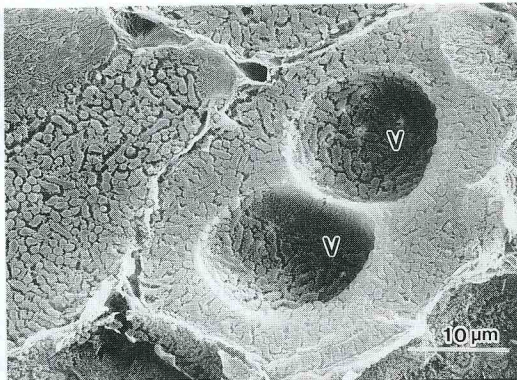


Fig. 3. レンゲ根粒細胞 (V: 液胞)  
Nodule cells of *A. sinicus*. V: Vacuole

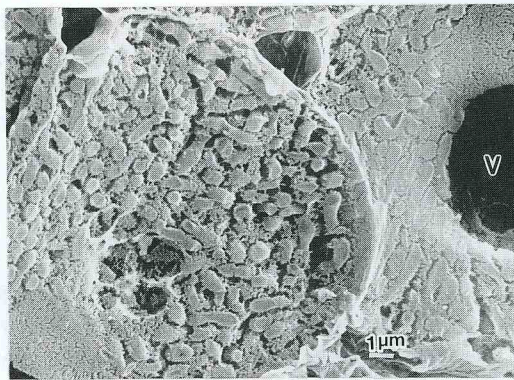


Fig. 4. 根粒内のバクテロイド  
Bacteroids in a nodule cell.