

巨型线粒体形成机理的探讨*

韩善华

(四川师范大学生物系, 成都 610066)

郑国钊

(兰州大学细胞生物学研究室, 兰州 730000)

摘 要

我们用透射电镜观察了大豆根瘤中巨型线粒体的形成。在细菌侵染初期, 寄主细胞中的线粒体一般呈随机分布, 然后逐渐移向细胞壁, 常常位于造粉体周围。进而体积变大, 相互接触, 发生融合, 变为一个较大的线粒体。当这种线粒体进一步相互融合时, 最后就形成了一种十分罕见的巨型线粒体。由于它是线粒体相互融合而成, 因此往往留下一些融合痕迹。

关键词 大豆根瘤; 侵染细胞; 融合; 巨型线粒体

生物固氮是当前世界上最为活跃的研究领域之一, 其中又以共生固氮最为重要, 它不仅固氮量最大, 固氮效率最高, 而且还涉及到低等微生物与高等植物之间的物质交换、信息传递和能量供应。共生固氮是在一种极其精细而复杂, 又高度专一化结构—根瘤中进行的, 所以自发现生物固氮以来, 对根瘤结构就十分重视。对于根瘤的研究已有一个多世纪了, 但直到 1958 年, Bergersen 等^[1]才首次使用电镜研究了豆科根瘤。随后 Tu^[2]、Newcomb^[3]和 Roth 等^[4]又相继进行了研究。然而在众多的研究中却没有发现其中线粒体的形成和结构有何奇特变化, 即使在 Sutton^[5]有关根瘤发育和衰老的长篇综述中也未涉及这一问题。

我们在丰收 11 号大豆根瘤中首次发现它的侵染细胞中有一种巨型线粒体^[6], 随后对它与质体的关系进行了研究^[7]。那么这种巨型线粒体是怎样形成的? 为什么只出现在成熟侵染细胞中? 无疑就成为人们十分关心的问题, 为此我们进行了这一研究。

* 国家自然科学基金资助课题。

本文于 1993 年 2 月 6 日收到。

This paper was received on Feb. 2, 1993.

材 料 和 方 法

植物材料的培养和根瘤菌的接种,电镜样品的制备和观察等方法详见前文^[7]。

结 果

在大豆根瘤幼龄侵染细胞中,线粒体一般为杆形,粗而短,表面比较光滑,没有明显的凹陷。随着侵染细胞的发育,它便从细胞内部移向细胞壁,集中位于胞间隙附近。这些线粒体常位于造粉体周围,少则 3—4 条,多则 6—7 条(图版 I—1)。

随着线粒体的不断增长,彼此之间的距离越来越小,有的甚至完全靠在一起。虽然如此,但它们并未相互融合,每个线粒体还保持着自己的完整性(图 2)。

当侵染细胞发育成熟时,位于造粉体周围的线粒体数量明显减少,一般由原来的 5 条左右而变为 2—3 条。与此同时,这些线粒体的长度却大大增加。其中一条常常变为一种极其罕见的巨型线粒体,将附近的一个体积很大的造粉体不同程度地包围起来(图 3)。在它的一端或两端,有时还与附近的线粒体贴在一起,二者的内外膜已经消失,只有一层结构不清的膜存在于它们之间,可能这是它们融合后产生的新膜(图 4)。

在这种巨型线粒体的表面上,一般都有一种程度不同的凹陷,根据其形状和部位,它们可分为两种。一种呈 V 形,数量很少,通常一条线粒体上只有一个。它们中间既可以有核糖体颗粒,也可以有膜状物质,或者二者皆有。这种凹陷多出现在线粒体端部附近,而且只存在于线粒体不靠造粉体一侧(图 3)。

在巨型线粒体上还有一种凹陷,常呈 V 形,而且是成对出现,分别位于线粒体两侧。这种凹陷通常都在线粒体的中间部分,只有偶尔才位于线粒体端部附近(图 4)。这种凹陷的数量与线粒体长度有关,长的线粒体较多,短的线粒体较少,通常为 1—2 个。当造粉体周围的线粒体由于相互不断融合,最后只剩下一条时,其长度可以完全包住这个造粉体。在这种特大线粒体上,一般没有凹陷,即使偶尔发现,它也相当不明显,只是微微比其他部分较窄而已(图 5)。所以如此,很可能是这些线粒体由于进一步发育变大,使凹陷部分不断向外扩张所致。

讨 论

丰收 11 号大豆根瘤与众不同,它的侵染细胞在由幼龄向成熟发育过程中,线粒体的数量不仅不迅速增多,反而越来越少,最后一个造粉体周围往往只有 2—3,甚至只有一条。这种现象在过去根瘤研究中从未见到过报道,属我们首次发现。我们认为这种奇特现象的产生有 4 种可能性。一、线粒体大量解体。众所周知,当根瘤侵染细胞发育成熟时,共生固氮活动达到顶峰,此时需要大量的能量来满足固氮需要,在此情况下,作为“动力厂”的线粒体的功能只能加强不能削弱,因此此时出现大量线粒体解体实属不可能。二、几条线粒体首尾相接,紧紧靠在一起,以致误认为它们是一条线粒体。大量观察表明,虽然这些

巨型线粒体上有 V 形凹陷,但我们从未发现在这些凹陷处有任何由 4 层膜(即 2 层外膜和 2 层内膜)组成的隔板存在,将线粒体基质分为互不相通的几部分,可见这种巨型线粒体不是几条粘在一起,而是只有一条。三、由于细胞中造粉体数量增多,其中一些造粉体周围的线粒体移到另一些造粉体附近,致使每个造粉体周围的线粒体的平均数量减少。观察表明,造粉体数量并未增多,也未见到线粒体的上述移动现象,因此这种可能性也不存在。四、相临线粒体彼此融合。我们认为这种可能性最大,因为线粒体相互融合既可以使造粉体周围的线粒体数量减少,由几条变为一条,又可使线粒体长度增加,使它等于或大于融合前几条线粒体长度之和,这与我们观察到的现象完全符合。更为重要的是我们看到了线粒体之间的融合和由融合而形成的一层新膜(图 4)。

在这些巨型线粒体上一般都有 1—2 个成对的 V 形凹陷,我们认为这可能是由 2—3 条线粒体相互融合后留下的痕迹。由于线粒体相互融合不同时进行,有早晚之别,因而由融合而产生的 V 形凹陷的深浅也各不相同,常随融合后时间的增长而变得越来越浅,最后乃至完全消失。

在成熟的侵染细胞中,线粒体首先彼此靠拢,进而粘在一起,甚至相互融合,由四层膜而变为层染色较深的融合膜。接着融合膜断裂,在两条线粒体之间形成一条狭窄的通道。将两条线粒体中原来彼此分离的线粒体基质连在一起,于是线粒体的整个融合过程便告结束。由此不难看出,大豆根瘤中线粒体间的相互融合与豌豆根瘤中细菌周膜之间的相互融合十分相似^[8]。因而我们推测,细胞中膜间的相互融合尽管各有千秋,但也有一定的相似性。

在大豆根瘤侵染细胞中,内质网常常产生大量的小泡,并移向细菌周膜,与细菌周膜融合^[9]。Robertson 等^[10]还发现,高尔基体产生的小泡也能与细菌周膜融合。由此可见,在侵染细胞中,特别是在它的发育前期,膜系统是十分活跃的。因此,线粒体之间进行相互融合也并非完全不可能。

对于线粒体相互融合有何意义目前还不十分清楚,但有一点是相当明显的,就是通过相互融合可以增加线粒体的体积。我们知道,线粒体中有许多酶和辅酶,其中包括三羧酸循环和氨基酸代谢所需要的酶类。因此它体积的变大,基质容量的增加,无疑有助于将质体中淀粉的迅速水解,释放出大量能量,以满足侵染细胞和细菌在固氮中的需要。正因为如此,所以这一现象一般只出现在成熟的侵染细胞中,而在刚侵染的细胞和已经衰老的侵染细胞中却很少出现,非侵染细胞中完全没有这种现象。

参 考 文 献

- [1] Bergersen, F. J. and Briggs, M., *J. Gen. Microbiol.*, 1958, 19, 482—490
- [2] Tu, J. C., *Phytopathology*, 1976, 66, 1065—1071
- [3] Newcomb, E. H. et al., *Protoplasma*, 1989, 150, 150—159
- [4] Roth, L. E. and Stacey, G., *Eur. J. Cell Biol.*, 1989, 49, 13—23
- [5] Sutton, W. D., In *Nitrogen Fixation*, Vol. 3. Legumes (Ed. Broughton, W. J.), Clarendon Press, Oxford, New York, 1983, P145—259
- [6] 韩善华, A. F. Yang, 1987, *微生物学报*, 27, 217—221

- [7] 韩善华,郑国昌,1991,科学通报,36,378—380
[8] 韩善华,郑国昌,1989,微生物学报,29,413—417
[9] 韩善华,1991,植物学报,33,610—613
[10] Robertson, J. G. et al., J. cell. Sci., 1978, 30, 129—149

STUDY ON MECHANISM OF FORMATION OF THE HUGE MITOCHOMDRION

Han Shanhua

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

Zheng Guochang

(Cell Biology Laboratory, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract

Formation of the huge mitochondrion was observed by transmission electron microscopy. The distribution of mitochondria is usually disorder in young infected cells, then they gradually move to the cell walls and often locate around amyloplasts. Due to their becoming large in size, so they often attach together each other, even fuse into some larger mitochondria. When the larger mitochondria continuously fuse with other mitochondria, they finally become into some very rare huge mitochondria and left some fused marks.

Key words Soybean root nodule; Infected cell; Fusion; Huge mitochondrion

图 版 说 明

1. 造粉体(AP)周围有多条线粒体(M)并相互靠拢(小箭头)。×25,000; 2. 造粉体(AP)周围的线粒体有的已粘在一起(小箭头)。×10,000; 3. 造粉体(AP)周围的线粒体上有U形(空箭头)凹陷产生。×35,000; 4. 造粉体(AP)周围的线粒体上有明显的V形凹陷(大箭头),其中一条线粒体正与一条小的线粒体融合(小箭头)。×15,000; 5. 造粉体(AP)周围只有一条巨型线粒体(M),但V形凹陷(大箭头)已变得很不明显。×20,000

Explanation of Figures

1. There are some mitochondria round an amyloplast (AP) and they drew closer to each other (small arrow). $\times 25000$; 2. Two mitochondria surrounded an amyloplast (AP) have struck together (small arrow). $\times 10000$; 3. A mitochondrion surrounded an amyloplast (AP) possesses U—shape (hollow arrow) and V—shape (large arrow) hollowes $\times 35000$; 4. The mitochondria surrounded amyloplasts (AP) possess obvious V—shape (hollow) and V—shape (large arrow) hollowes, one of them is fusing with a small mitochondrion (small arrow). $\times 15000$ 5. A specially large mitochondrion (M) surrounds an amyloplast (AP) but its V—shape hollow (large arrow) has been unobvious. $\times 20000$

成果简介

25%去草净粉剂

特点:

本品为水稻插秧田除草剂。1990 年经省内外植保专家鉴定为国内首创,国际先进水平的产品。在黑龙江、吉林、辽宁、河北、四川、内蒙等地进行试验示范,证明本品是插秧田最佳除草剂,具有杀草谱广、低毒、持效期长、成本低、使用方便,对水稻安全等特点。可有效防除稗草、牛毛草、眼子菜、四叶萍、鸭舌草、狼把草、谷精草、泽泻、三棱草等多种一年生和多年生杂草,可做到一次性施药基本上控制水稻整个生育期杂草的危害。

使用方法:

在水稻插秧缓苗后施药,对以稗草为主的地块,可在插秧后 7—10 天施用;对以阔叶草为主的地块适当晚施,可在插秧后 13—15 天施用。施药量:每 1000 平方米水田,用本品 450—500 克(辽宁以南地区酌减)加过筛湿润细土 20—25 公斤,充分搅拌后闷 2—3 小时,均匀撒施。施药后,必须保持 3—5 厘米深的水层 5—7 天,当水层不足时,要及时缓流补水。

注意事项

①田面要整平;②灌水时,水深不得淹心叶;③砂地、漏水田慎用或禁用;④本品对鱼有微毒,施药后 10 日内不要把含药水排入鱼塘;⑤本品应贮放在阴凉干燥处,谨防潮湿。

效益:

应用 25%去草净粉剂(亩成本 6.8~7.5 元),比单用丁草胺+农得时或丁草胺+草克星亩成本可节省 20~30%。

(黑龙江省农科院北方农化应用技术研究)

图版 I

