

返回式卫星搭载暹罗鱼腥藻 返地后的细胞学观察*

陈浩峰¹ 傅 纓² 宋立荣¹ 刘永定¹

¹(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

²(武汉大学生命科学院)

摘 要

本文采用暹罗鱼腥藻为实验材料,在利用返回式卫星进行搭载实验后,对其进行了普通光镜、荧光标记观察及电镜观察,并定量测定了返地鱼腥藻的DNA含量.结果发现搭载返地样品与地面对照有较明显差异.

关键词 暹罗鱼腥藻 — 空间环境 — 微重力

藻类尤其是微藻因其生长繁殖周期短、生长速度快、光合效率高等特点,在受控生态生命保障系统(CELSS)中最有应用前景,所以藻细胞在空间微重力条件下的生长问题引起许多研究者的重视. Popova等^[1]以小球藻为材料进行过微重力对其细胞超微结构影响的研究,刘永定、杨劭等^[2,3]报道过以小球藻和稻田鱼腥藻等作材料进行卫星搭载实验后藻细胞结构的研究结果.

本实验利用1996年10月成功发射的我国第17颗返回式科学实验卫星,以暹罗鱼腥藻(*Anabaena siamensis*)为材料,观察了返地后藻体的超微结构、细胞显微荧光现象与地面对照的差异,并定量比较测定了搭载与对照的DNA含量,以期了解空间环境对微藻细胞结构的影响.

1 材料与方法

1.1 电镜制样观察

采用暹罗鱼腥藻(*Anabaena siamensis*)作为实验材料,藻种来自中国科学院典型培养物保藏中心淡水藻种库.利用卫星上装载的“空间通用生物培养箱”进行搭载实验^[4],飞行期间培养箱内温度为 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$,光照为 $12\text{--}16\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,微重力水平为 $10^{-4}\text{--}10^{-5}\text{g}$.于地面设同样温控及光照条件的对照.

* 国家载人航天工程资助项目

1.2 电镜制样观察

电镜样品的制备基本参照 Reimann 的方法^[5]进行, 用 HA 7000 透射电镜观察、摄影。

1.3 荧光标记观察

荧光标记参照 Timmer^[6]的方法, 用 10^{-4} mol/L 金霉素 (Chlorotetracycline, CTC) 染色 20 min 观察膜结合钙; 以 2×10^{-5} mol/L Fluphenazine (FPZ) 染色 20 min 观察活化钙调素, 0.05% 脱色水溶性苯胺蓝 (DAB) 染色 20 min 观察细胞外胼胝质, 在 Olympus IMT-2 倒置显微镜下观察、摄影。

1.4 细胞 DNA 含量的测定

参照 Coleman 等^[7]的方法, 将离心收集的藻体, 用 Carnoy 固定液固定于载玻片上, 加入 $0.2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4, 6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI) 染色 30 min 后, 用显微荧光光度计测量搭载返地样品及对照样品中藻细胞的荧光强度, 每个样品测 50 个细胞以上, 并进行比较。

2 结果与讨论

将搭载的鱼腥藻样品与地面对照进行光学显微观察, 发现搭载返地藻样的丝体长度比地面对照丝体长得多 (见图 1(a)、(b)), 一般由 30—60 个藻细胞组成, 最长可达 100 个以上, 而地面对照藻丝体则相对较短, 一般在 20 个左右; 搭载藻丝体两端及中间均有异形胞, 对照藻丝体异形胞则主要着生于两端。

以 DAPI 特异性结合测定 DNA 含量显示, 回收初期搭载返地藻样比对照低 40% (见表 1)。据此可以推测, 微重力可能在一定程度上影响藻细胞 DNA 的复制, 从而导致细胞分裂速度下降, 生长速度降低。同时也可能因为微重力干扰了分裂细胞的分裂与分离, 才使得丝体加长。

表 1 暹罗鱼腥藻搭载与对照样品的 DNA 含量比较

处理	搭载	对照
DNA 含量	56.1	82.6

注: 表中数值取任意单位

光镜观察搭载与对照藻细胞表面均存在 CTC 荧光, 但搭载样品的荧光强度普遍要比对照高, 见图 1(c)、(d)。因为 CTC 特异性与细胞膜钙结合说明经过微重力处理的藻细胞上结合的 Ca^{2+} 较对照多。在高等植物的向重力性研究中, Roux^[8]认为, Ca^{2+} 可能在微重力信号传导时起重要作用; Kouduym^[9]等研究指出, 微重力下大豆幼苗根细胞的 Ca^{2+} 水平增加。可以推测, 搭载藻细胞在膜上聚集较高水平的 Ca^{2+} 可能是微重力作用的结果。

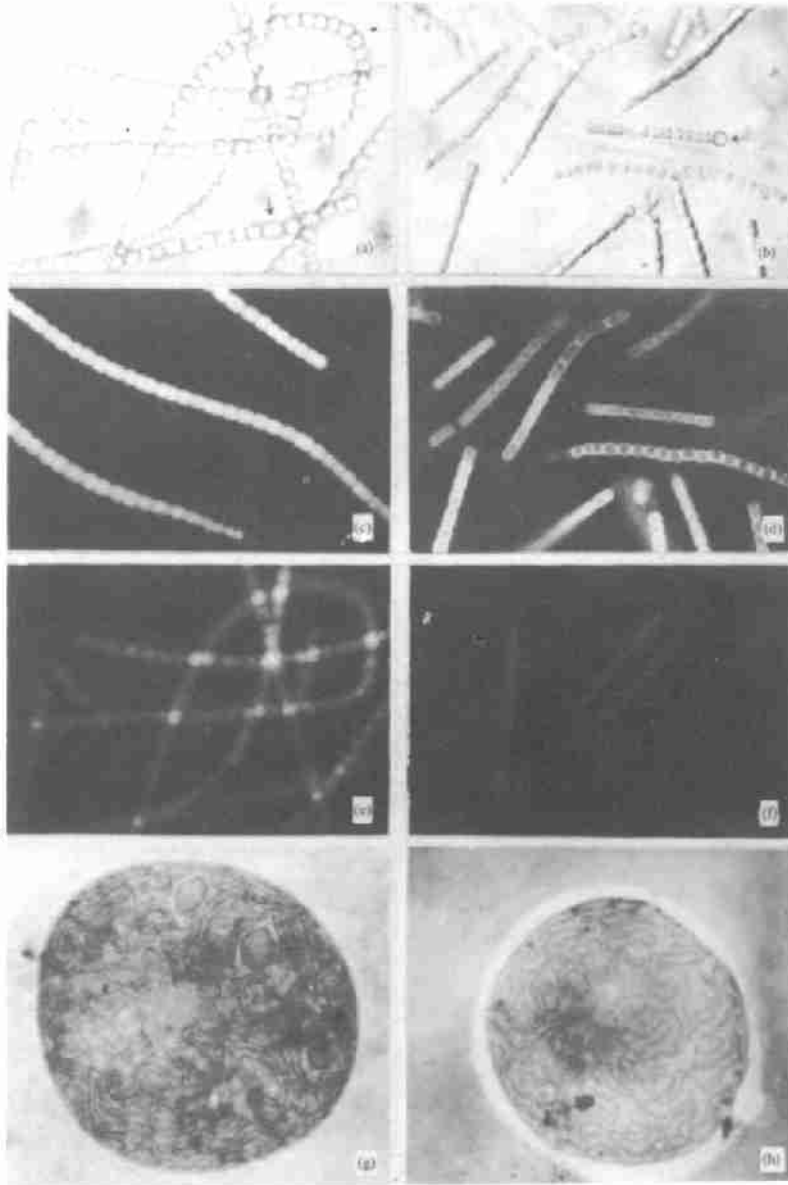


图 1 (a)干涉差摄影照片, $\times 590$, 显示搭载藻细胞, 箭头所指为异形胞; (b)干涉差摄影照片, $\times 590$, 显示地面对照藻细胞; (c)荧光显微照片, $\times 590$, 显示搭载藻细胞膜钙 CTC 荧光; (d)荧光显微照片, $\times 590$, 显示地面对照藻细胞 CTC 荧光; (e)荧光显微照片, $\times 590$, 显示搭载藻细胞胍胍质 DAB 荧光; (f)荧光显微照片, $\times 590$, 显示地面对照藻细胞胍胍质 DAB 荧光; (g)搭载后藻细胞横截面透射电镜照片, $\times 12\ 000$; (h)地面对照藻细胞横截面透射电镜照片, $\times 12\ 000$

Fig.1 (a)Interference contrast micrograph, space flight alga cells, arrowhead shows the heterocyst, $\times 590$; (b)Interference contrast micrograph, control alga cells, $\times 590$; (c)Fluorescence micrograph, shows CTC fluorescence of space flight alga cells, $\times 590$; (d)Fluorescence micrograph, shows CTC fluorescence of control alga cells, $\times 590$; (e)Fluorescence micrograph, shows DAB fluorescence of space flight alga cells, $\times 590$; (f)Fluorescence micrograph, shows DAB fluorescence of control alga cells, $\times 590$; (g)Transverse electron micrograph of space flight alga, $\times 12\ 000$; (h)Transverse electron micrograph of control alga, $\times 12\ 000$

图 1(e)、(f) 显示搭载藻细胞与对照的胼胝质荧光. 可以看出, 前者荧光强度亦稍强于后者, 表明搭载藻细胞胞外胼胝质较多.

FPZ 染色观察, 在搭载藻与对照中可以观测到活化钙调素的存在. 透射电镜显示对照藻细胞(图 1(h)) 内类囊体片层较为稀疏, 胞内羧体较少而且体积较小; 搭载藻细胞(图 1(g)) 类囊体片层则很密集, 胞内羧体较多而且体积较大; 对照藻细胞外有较多的胞外物质积累, 细胞膜相对较厚; 而搭载组胞外物质少, 细胞膜相对较薄.

综上所述可以看出, 搭载藻细胞在多方面发生了较明显的变化, 印证了它在生理特性上的变化^[4], 而且在地面实验室的后期培养中这些变化比较稳定, 所以有可能鱼腥藻细胞在经过空间飞行后产生了遗传上的变化, 但还需进一步的实验工作加以证明.

参 考 文 献

- [1] Popova A F, Sytnik K M. Peculiarities of ultrastructure of *Chlorella* cells growing aboard the Bio-10 during 12 days. *Adv. Space Res.*, 17(6/7):99—102
- [2] 刘永定, 林惠民, 戴玲芬, 杨劭. 返地卫星搭载对鱼腥藻和小球藻的影响. *科学通报*, 1993, 38(2):177—180
- [3] 杨劭, 戴玲芬, 林惠民, 刘永定. 返地卫星搭载蛋白核小球藻性状分离. *水生生物学报*, 1993, 17(4):375—376
- [4] 陈浩峰等. 空间环境对微藻种群增长及其生理特性的影响. *空间科学学报*, 1997, 17(增刊):67—72
- [5] Reimann B E F, Duke E L, Floyd G L. Fixation, embedding, sectioning, and staining of algae for electron microscopy. In:Gantt E ed. *Handbook of Phycological Methods (Developmental and Cytological Methods)*. 1980. 285—304
- [6] Timmers A C J, Schel J H N. Immunocytochemichel localization of camodulin during carrot somatic embryogenesis. In:Nijkamp H J J, Van Derplas L, Van Aartrijk J ed. *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Pub., 1990. 443—448
- [7] Coleman A W, Maguire M J, Coleman J R. Mithramycin and 4'-6-diamindino-2-phenylindole(DAPI)-DNA staining for fluorescence microspectrophotometric measurement of DNA in nuclei, plastids, and virus particles. *J. Histochem. Cytochem.*, 1980, 29:779—801; 959—968
- [8] Roux S J. Calcium as a mediator of plants' directional growth response to gravity. In:Asashima M, Malacinski G M ed. *Fundamentals of Space Biology*. 57—67
- [9] Kordyum E L *et al.* The role of calcium ions in ctyological effects of hypogravity. *Adv. Space Res.*, 4(12):23—26

THE CYTOLOGICAL OBSERVATION OF *Anabaena siamensis* AFTER SPACE-FLIGHT BY A RETRIEVED SATELLITE

CHEN Haofeng¹ FU Ying² SONG Lirong¹ LIU Yongding¹

¹(*Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072*)

²(*School of Life Science, Wuhan University*)

Abstract

A strain of microalga-*Anabaena siamensis* had been carried in the retrievable satellite and travelled in space for 15 days to study the influence of space environment to the cytological structure of microalgae. After been retrieved, by means of light microscopic, electron microscopic and fluorescence dyeing observation, and the determination of DNA contents, obvious difference was found between the space flight and the ground control samples.

Key words *Anabaena siamensis*, Space environment, Microgravity, Cytological observation