

研究  
简报

## 神舟 3 号飞船搭载的树莓试管苗超微结构及其 RAPD 分析

张文利 潘毅 薛淮 张纯花 刘敏<sup>\* \*</sup>

(中国科学院遗传与发育生物学研究所,北京 100101)

### Ultrastructure and RAPD Analysis of Blackberry Seedlings in vitro Carried Back by the "SHEN ZHOU-3" Spaceship

ZHANG Wei-Li, PAN Yi, XUE Huai, ZHANG Chur-Hua, LIU Min<sup>\*</sup>

(Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

已有研究表明,植物进入太空后,其生长、发育、细胞组织结构以及基因组均发生不同程度的变化。例如,大豆<sup>[1]</sup>及三叶草<sup>[2]</sup>受空间微重力的影响使其生长明显加快,许多植物的形态及细胞学行为也受太空环境影响<sup>[3~10]</sup>;另外,空间微重力可以改变植物基因表达水平<sup>[11~14]</sup>,半胱氨酸等放射性保护剂的应用进一步证实太空射线可损伤植物染色体<sup>[15]</sup>。但目前有关太空飞行对植物试管苗亚细胞超微结构及其基因组影响的报道较少。本文对神舟 3 号飞船搭载并成功回收的树莓试管苗进行了细胞亚显微结构及 RAPD 分子标记的初步分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 树莓试管苗的准备和搭载以及树莓电镜样品的

将同一瓶树莓试管苗随机平均分在两个试管中。一个试管在组培室模拟搭载条件并采用悬挂式培养;另一个试管在 2002 年发射的神舟 3 号飞船上搭载,在飞船成功回收后立即将树莓试管苗取出并进行细胞亚显微结构及 RAPD 分子标记检测。其电镜样品的制备参照刘敏<sup>[16]</sup>等方法,在 JEOL 100CX、33k 透射电镜下进行观察并拍照。

### 1.2 DNA 的提取、RAPD 反应及电泳分析

分别参照 Porebski<sup>[17]</sup>和 Williams<sup>[18]</sup>等报道的方法提取叶片 DNA 并进行 RAPD 反应。其扩增产物用 2.2% 琼脂糖凝胶电泳分离,溴化乙锭染色后紫外光下观察拍照。

## 2 结果

### 2.1 航天树莓超微结构变化

2.1.1 整体细胞形状 与正常的近似椭圆形的细胞相比,航天树莓的细胞变圆,体积增大且细胞内容物排列紊乱

并贴壁分布,核体积变小且核仁异常,同时还出现部分细胞淀粉粒增多等现象(图版 -1b,4)。

2.1.2 叶绿体 由图版 -2b 可见,与地面对照叶绿体的正常形态相比,空间飞行的树莓叶片叶绿体体积增大,结构紊乱,外形扭曲,基质片层方向不定,且基粒片层膜皱缩。

2.1.3 线粒体 与地面对照相比,航天树莓线粒体体积相对变小,数量增多并排列紧密,在整体上出现浓密的电子基质区(图版 -3b)。

### 2.2 RAPD 分析结果

RAPD 分析结果(见图 1)表明,在所用的引物中,航天试管苗被扩增的条带数均多于地面对照(其中部分差异带用箭头表示),表明树莓试管苗经空间飞行后出现 RAPD 扩增多态性。从而暗示,空间条件有可能导致植物 DNA 水平上的变化。

## 3 讨论

电镜观察结果显示,经太空飞行,树莓试管苗的叶绿体片层结构发生了变化(图版 -2b),叶绿体扭曲变形,使植株光合作用受到了不同程度的影响,当叶绿体体积增大时,植株的光合作用效率提高,同化作用增强,植株生长高大健壮;反之,光合作用因叶绿体损伤而降低,引起光补偿点提高,导致叶色变黄、植株矮小并发育不良。航天树莓这种叶绿体结构变化与我们对俄罗斯和平号空间站搭载的番茄叶绿体超微结构观察的结果相类似(结果未发表)。当然,太空环境对植物叶绿体的损伤机制,以及经太空飞行的植物叶绿体的超微结构变化与植物返回地面后生长和发育等差异的相关性如何,均有待进一步观察与研究。

同时,与地面对照相比,太空植物出现线粒体嵴消失以

\*

作者简介:张文利(1970-),男,安徽人,博士研究生,主要从事植物分子遗传学研究。\*通讯作者:刘敏。

Received(收稿日期):2003-09-01,Accepted(接受日期):2004-02-23.

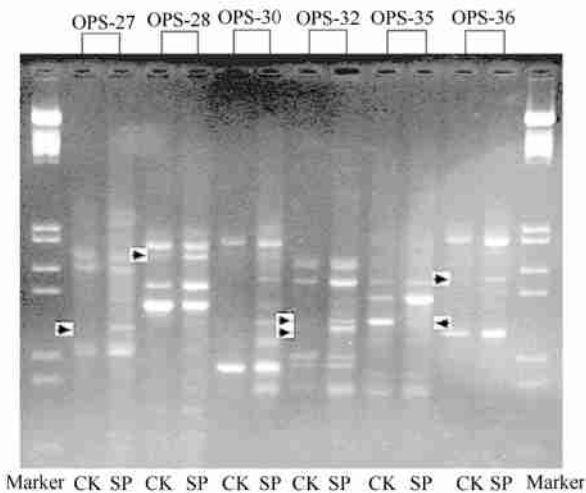


图 1 RAPD 扩增结果

Fig. 1 Profile of RAPD of blackberry leaves in vitro

随机引物 OPS-27、OPS-28、OPS-30、OPS-32、OPS-35 及 OPS-36 的核苷酸序列分别为 5'-GAAACGGGTG3、5'-GTGACGTIAGG3、5'-GTGATCCGAG3、5'-TCGCGGATAG3、5'-TTCGGAACCC-3 和 5'-ACCCAGACGAA-3。Marker: DNA 标准分子量 ( / *EcoR* + *Hind* ); CK: 地面对照; SP: 神舟 3 号飞船搭载试管苗。

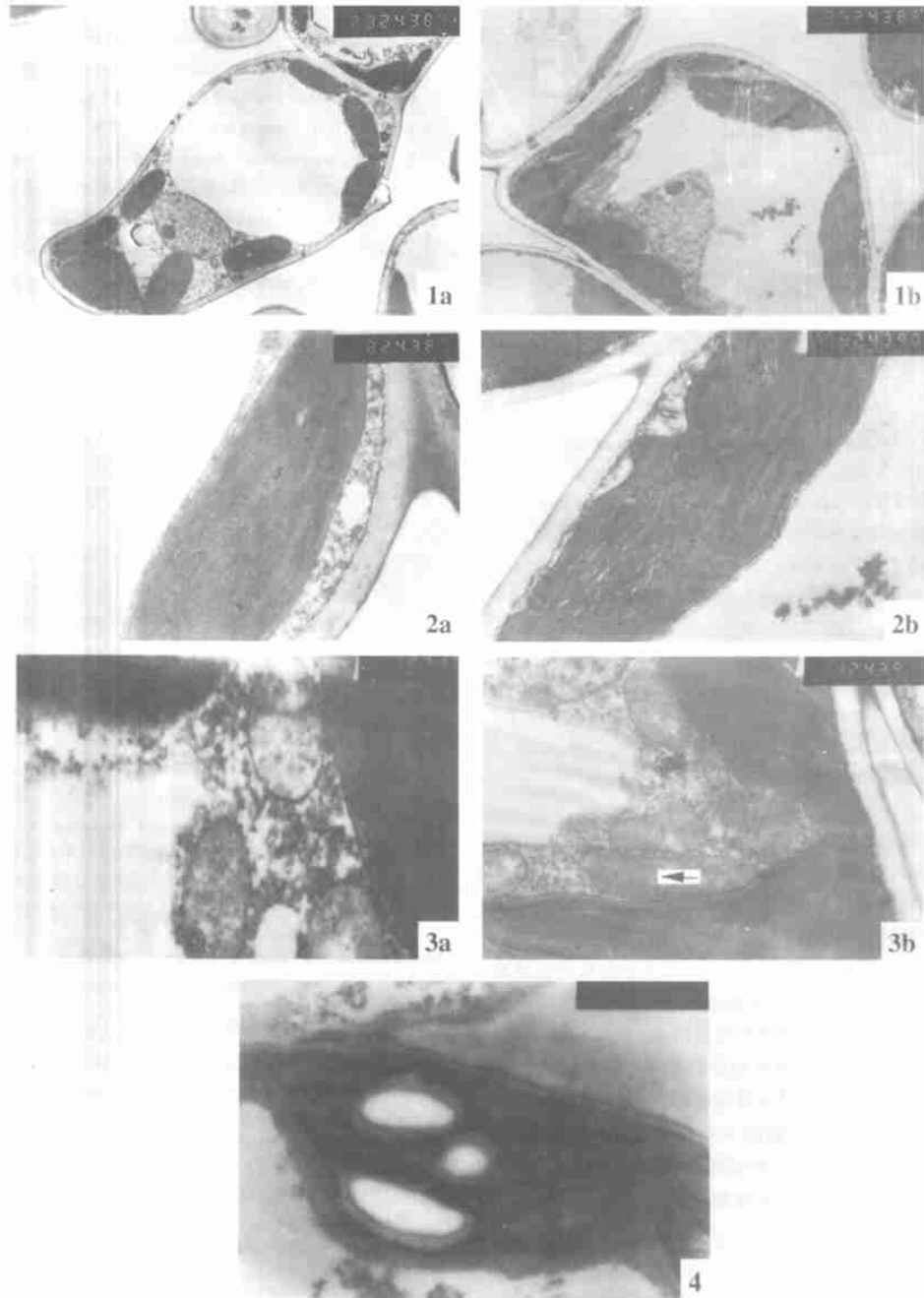
10-mer primers, OPS-27, OPS-28, OPS-30, OPS-32, OPS-35, OPS-36 each oligonucleotide sequence was 5'-GAAACGGGTG3, 5'-GTGACGTIAGG3, 5'-GTGATCCGAG3, 5'-TCGCGGATAG3, 5'-TTCGGAACCC-3, 5'-ACCCAGACGAA-3, respectively. / *EcoR* + *Hind* was used as molecular marker. CK: Control; SP: Tuber seedlings carried back by the "SHEN-ZHOU 3" spaceship.

及淀粉粒增多等现象(图版 -3b, 4)。首先, 植物线粒体数量上升, 在短期内可引起其能量代谢加速, 进而通过代谢胁迫补偿来增强其对逆境的适应性; 其次, 线粒体内含物溢出等损伤必将使植物的能量供应失调, 进而导致植株的生理生化等过程变化。同样, 空间飞行的树莓试管苗淀粉粒明显增多(图版 -4), 推测可能是树莓细胞在空间飞行中需加速自身的生命活动来适应外界环境变化的结果。

另一方面, Halstead<sup>[11]</sup>等研究发现空间环境条件确实可导致植物体基因组的变化甚至损伤植物染色体, 并推测这可能是太空环境损伤生物细胞的一种共同机制。本文 RAPD 分析进一步证明空间飞行引起了树莓 DNA 多态性的变化, 这可能与空间射线等对其影响有关。

## References

- [1] Brown C S, Hilaire E M, Guikema J A, Pfastuch W C, Johnson C F, Stryjewski E C, Peterson B, Vordermark D S. Metabolism, ultrastructure and growth of soybean seedlings in microgravity: results from the BRIC-01 and BRIC-03 experiments. *ASGSB Bull*, 1995, **9**: 93
- [2] Gallegos GL, Odum W R, Guikema J A. Effect of microgravity on stress ethylene and carbon dioxide production in sweet clover (*Melilotus alba* L.). *J Grav Physiol*, 1995, **2**: 155 - 156
- [3] Laurinavicius R, Sveigxdiene D, Rakleviciene D, Kenstaviiien P. Ontogeny of plants under various gravity condition. *Adv Space Res*, 2001, **28**: 601 - 606
- [4] Kitaya Y, Kawai M, Tsuruyama J, Takahashi H, Tani A, Goto E, Saito T, Kiyota M. The effect of gravity on surface temperatures of plant leaves. *Plant Cell Environ*, 2003, **26**(4): 497 - 503
- [5] Klymchuk D O, Kordyum EL, Vorobyova TV, Brown C S, Chapman D K. Microgravity mediated changes in phytoferritin accumulation in soybean root cap cells. *J Gravit Physiol*, 2000, **7**(2): 79 - 80
- [6] Bingham G E, Levinskikh M A, Sytchev V N, Podolsky G. Effects of gravity on plant growth. *J Gravit Physiol*, 2000, **7**(2): 5 - 8
- [7] Bubenheim D L, Stieber J, Campbell W F, Salisbury F B, Levinski M, Sytchev V, Podolsky I, Chernova L, Podolsky I. Induced abnormality in mir- and earth grown super dwarf wheat. *Adv Space Res*, 2003, **31**(1): 229 - 234
- [8] Salisbury F B, Campbell W F, Carman J G, Bingham G E, Bubenheim D L, Yendler B, Sytchev V, Levinskikh M A, Ivanova I, Chernova L, Podolsky I. Plant growth during the greenhouse experiment on the mir orbital station. *Adv Space Res*, 2003, **31**(1): 221 - 227
- [9] Roux S J, Chatterjee A, Hillier S, Cannon T. Early development of fern gametophytes in microgravity. *Adv Space Res*, 2003, **31**(1): 215 - 220
- [10] Voeste D, Levine L H, Levine H G, Blum V. Pigment composition and concentrations within the plant (*Ceratophyllum demersum* L.) component of the STS-89 C. E. B. A. S. Mini-Module spaceflight experiment. *Adv Space Res*, 2003, **31**(1): 211 - 214
- [11] Kamada M, Fujii N, Aizawa S, Kamigaichi S, Mukai C, Shimazu T, Takahashi H. Control of gravimorphogenesis by auxin: accumulation pattern of CS-IAA-one mRNA in cucumber seedlings grown in space and on the ground. *Planta*, 2000, **211**: 493 - 501
- [12] Takahashi H, Kamada M, Yamazaki Y, Higashitani A, Yamazaki Y, Kobayashi A, Takano M, Yamasaki S, Sakata T, Mizuno H, Kaneko Y, Murata T, Kamigaichi S, Aizawa S, Yoshizaki I, Shimazu T, Fukui K. Morphogenesis in cucumber seedlings is negatively controlled by gravity. *Planta*, 2000, **210**: 515 - 518
- [13] Maccarrone M, Tacconi M, Battista N, Valgattari F, Falciani P, Finazzi-Agro A. Lipoxygenase activity during parabolic flights. *J Gravit Physiol*, 2001, **8**(1): 123 - 124
- [14] Paul A L, Daugherty C J, Bihn E A, Chapman D K, Norwood K L, Ferl R J. Transgene expression patterns indicate that spaceflight affects stress signal perception and transduction in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, **126**(2): 613 - 621
- [15] Halstead T W, Dutcher F R. Plants in space. *Annual Review of Plant Physiology*, 1987, **38**: 317 - 345
- [16] Liu M (刘敏), Xue H (薛淮), Wang YL (王亚林), Zhang Z (张赞), Zhang C-H (张纯花). Effects of horizontal clinostat treatment to ultrastructure of potato cell. *J Cell Biol (细胞生物学杂志)*, 2002, **24**(6): 365 - 368
- [17] Porebski S, Bailey L G, Baum B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol Biol Repr*, 1997, **15**: 8 - 15
- [18] Williams J G K, Kubelik A R, Livak K J, Rafalski J A, Tingey S V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res*, 1990, **18**: 6 531 - 6 535



图版说明: 图 1: 整体细胞形状(1a 对照,  $\times 2\ 800$ ; 1b 飞船搭载,  $\times 3\ 500$ ); 图 2: 叶绿体结构(2a 对照,  $\times 18\ 000$ ; 2b 飞船搭载,  $\times 10\ 000$ ); 图 3: 线粒体结构(3a 对照,  $\times 21\ 000$ ; 3b 飞船搭载,  $\times 14\ 000$ ); 图 4: 飞船搭载后细胞质内淀粉粒增多现象。

**Explanation of Plate:** Fig. 1: The shape of the whole cell (1a control, amplification:  $\times 2\ 800$ ; 1b tuber seedlings carried on the spaceship, amplification:  $\times 3\ 500$ ); Fig. 2: The structure of the chloroplast (2a control, amplification:  $\times 18\ 000$ ; 2b tuber seedlings carried on the spaceship, amplification:  $\times 10\ 000$ ); Fig. 3: The structure of the mitochondria (3a control, amplification:  $\times 21\ 000$ ; 3b tuber seedlings carried on the spaceship, amplification:  $\times 14\ 000$ ); Fig. 4: Phenomenon of significant increase in number of starch grains in plasma of tuber blackberry seedlings after returned from the space.