

白菜 DNA 对盐藻细胞生长发育的影响

郭金耀, 杨晓玲

(淮海工学院 海洋学院, 江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏 连云港 222005)

摘要: 试验研究白菜 DNA 对盐藻细胞生长、形态大小与物质积累的影响。结果表明: 随着白菜 DNA 浓度的提高, 对盐藻细胞的生长发育会产生越来越大的影响; 对盐藻细胞培养 16 d 后, 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的白菜 DNA 使培养液中的盐藻细胞密度降低 18.8%, 而细胞长度平均增加 5.9%, 宽度则平均减少 15.9%, 细胞蛋白质和 β -胡萝卜素合成的总量分别减少 20.5% 和 25.9%; 说明白菜 DNA 会干扰盐藻细胞的生命活动, 可对盐藻细胞的生长发育造成较大影响。

关键词: 白菜 DNA; 盐藻细胞; 影响

中图分类号: S 634.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)17-0179-03

在细胞的生命活动过程中, DNA 通过转录 RNA 指导蛋白质的形成, 成为生命活动的控制中心。生物的遗传物质 DNA 是生物遗传信息的载体, 在生物的系统发育过程中, 它的稳定传递决定了生物遗传的稳定性, 而它的变化则决定了生物遗传的变异。

在自然界, 由于生物种类和数量的多样性, 不同物种的遗传物质 DNA 经常发生传播混杂, 特别是转基因技术的出现, 更使得 DNA 基因在不同物种之间的传播混杂概率大大增加, 并且这种 DNA 基因的传播混杂不

仅发生在目标生物中^[1-3], 它也在非目标生物中广为出现^[4]。为了保护环境的安全性, 许多科学工作者对转基因生物的安全性问题开展了研究^[5-7]。随着自然环境变化的加剧和人类活动的增多, 目前关于环境中自然发生的 DNA 基因随机传播混杂对生物的作用越来越突出, 在一定程度上影响着生物多样性的变化。试验以盐藻为材料, 研究了白菜 DNA 对其生长发育的影响, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

盐藻(*Dunaliella salina*) 由中国海洋大学提供, 试验前经扩繁并培养至对数生长期。白菜(*Brassica Campes-tris*) DNA, 用改良 SDS 法^[8] 从白菜菜芯细胞中提得。DNA 的 $\text{OD}_{260}/\text{D}_{280}$ 的比值在 1.8~2.0 之间。

1.2 试验方法

第一作者简介: 郭金耀(1956-), 男, 教授, 现从事海洋藻类生理学研究。E-mail: gjyao6688@yahoo.com.cn。

基金项目: 江苏省海洋生物技术重点实验室开放课题资助项目(HS08010); 淮海工学院自然科学基金资助项目(Z2007033)。

收稿日期: 2010-05-31

[5] 王瑗瑄, 王立平. 利用洋葱根尖微核技术对洗涤剂诱变效应的研究[J]. 河北北方学院报(自然科学版), 2007, 23(2): 23-27.

[6] 叶亚新. 3 种家用化学品的微核效应的研究[J]. 农业环境保护, 2000, 19(5): 315-316.

[7] 鄢洪强, 唐正义, 姜贤仕, 等. 3 种除草剂微核效应的比较研究[J]. 内江师范学院报, 2005, 20(2): 65-66.

[8] 王映雪. 微核技术在环境监测中的应用概况[J]. 云南环境科学, 2000, 19(4): 53-55.

[9] J. Rank. The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay [M]. *Ekologija*, 2003: 38-42.

[10] Rank J, Nielsen M H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures [J]. *Hereditas*, 1993, 18: 49-53.

[11] Chauhan L K S, Saxena P N, Sundararaman V, et al. Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa* [J]. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1998, 62: 152-163.

Genetic Aberration of Onion Root Tip Cells Induced by Herbicides

CHEN Li-yang

(College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025)

Abstract: In this paper, micronucleus test of onion (*Allium cepa*) root tip cells using different concentrations of herbicides as stress treatment respectively was applied to verify the genetic toxicity effect of three types of herbicides (acetochlor, chlorimuron-ethyl and fomesafen). The results showed that the three types of herbicides could induce micronuclei and high frequency of various chromosomal aberrations.

Key words: herbicide; onion; genetic aberrations

1.2.1 试验处理 取盐藻培养液 4 000 r/min 离心 5 min, 收集盐藻细胞, 将其洗入新鲜培养基中, 使培养液的 OD₄₅₀ 值约为 0.2。然后将其分为 4 份, 分别加入白菜 DNA, 使培养液中白菜 DNA 的最终浓度分别为: 0、0.5、1.0、1.5 μg/mL。并将它们分别装于 100 mL 三角瓶, 每瓶 60 mL, 每重复 3 瓶。将三角瓶放置于培养箱内培养。白天 25℃, 晚上 20℃, 白天光照强度为 3 500 lx。适时检测盐藻细胞的生长发育情况。

1.2.2 盐藻细胞大小的测定 测定时将培养液混合均匀, 然后用胶头滴管吸取一小滴培养液, 置于洁净的载玻片上, 加上少许的甲醛使盐藻细胞停止运动, 盖上盖玻片后于目镜 10 倍×物镜 40 倍下观察, 随机选取盐藻细胞测定其长度和宽度, 重复 30 次, 计算每一处理条件下盐藻细胞的平均长度和宽度。

1.2.3 盐藻细胞密度、蛋白质及 β-胡萝卜素含量的测定 参照郭金耀等^[9]的方法进行。

2 结果与分析

2.1 白菜 DNA 对盐藻细胞大小的影响

对处理盐藻细胞培养 16 d 后, 测定分析不同浓度白菜 DNA 培养液中, 盐藻细胞的形态大小发生的变化, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 加有白菜 DNA 的盐藻细胞与对照组中细胞大小出现明显差异。加有白菜 DNA 的盐藻细胞长度都较对照组的长, 而宽度却又比对照组的短, 而且随着白菜 DNA 浓度的增大, 盐藻细胞形态大小较对照组差异越大。当对盐藻细胞培养 16 d 后, 1.5 μg/mL 的白菜 DNA 使细胞的长度平均增加 5.9%, 宽度则平均减少 15.9%。说明在加入白菜 DNA 后, 盐藻细胞整体上变得细长了。

2.2 白菜 DNA 对盐藻细胞密度的影响

在盐藻培养过程中, 每 3 d 测定 1 次培养瓶中盐藻细胞的密度, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 白菜 DNA 对盐藻细胞在不同的生长阶段有不同的作用: 在培养的早期(约 7 d 以前), 白菜 DNA 可能作为一种营养物质被盐藻细胞吸收, 可促进盐藻细胞生长, 使细胞繁殖速度加快, 使盐藻细胞密度增加, 从而呈现出盐藻细胞密度较对照组大的现象, 所以白菜 DNA 浓度越大盐藻细胞密度就越高; 在处理培养至第 10 天时, 随着盐藻细胞对白菜 DNA 的逐渐利用, 白菜 DNA 作为营养物质的来源

减少, 盐藻细胞的生长能力会渐渐降低; 在以后的继续培养中, 白菜 DNA 又逐渐抑制了盐藻细胞的生长, 使盐藻细胞密度逐渐比对照组降低, 尤其是在培养至 16 d 时, 盐藻细胞形态大小也变得较对照组细而长, 说明白菜 DNA 可能干扰了盐藻细胞正常的遗传特性, 使盐藻细胞正常的生命活动发生了变异; 盐藻细胞密度降低的幅度很大, 并且表现为加入的白菜 DNA 浓度越高, 盐藻细胞的密度越低, 在试验范围内, 白菜 DNA 的浓度越大, 对盐藻细胞的影响越大, 1.5 μg/mL 的白菜 DNA 使培养液中的盐藻细胞密度降低 18.8%。

2.3 白菜 DNA 对盐藻细胞蛋白质积累的影响

培养 16 d 后, 测定分析不同浓度白菜 DNA 培养液中的盐藻细胞蛋白质含量, 结果如图 3 所示。由图 3 可知, 培养 16 d 后, 加入白菜 DNA 的培养液中盐藻细胞蛋白质含量比对照组降低, 并且随着白菜 DNA 浓度的递增, 培养液中盐藻细胞蛋白质含量降低的幅度在增加。即白菜 DNA 浓度越高, 培养液中盐藻细胞蛋白质含量越低, 所呈现的规律与相同条件下不同浓度白菜 DNA 对盐藻细胞密度的影响一样。在试验中, 1.5 μg/mL 的白菜 DNA 使培养液中细胞蛋白质合成的总量减少 20.5%。加入白菜 DNA 使盐藻细胞蛋白质合成减少, 可能是盐藻细胞密度降低的直接原因。盐藻细胞蛋白质的形成是盐藻遗传信息表达的结果, 培养液中盐藻细胞蛋白质含量降低, 可能是盐藻细胞的遗传机制受到了白菜 DNA 的影响。

2.4 白菜 DNA 对盐藻细胞 β-胡萝卜素积累的影响

在培养 16 d 后, 测定分析不同浓度白菜 DNA 培养液中的盐藻细胞 β-胡萝卜素含量, 结果如图 4 所示。由图 4 可知, 不同浓度白菜 DNA 培养液中的盐藻细胞 β-胡萝卜素含量的变化规律与相同条件下培养液中的盐藻细胞蛋白质含量变化规律完全一致。即随着白菜 DNA 浓度的增加, 培养液中的盐藻细胞 β-胡萝卜素含量逐渐降低。1.5 μg/mL 的白菜 DNA 使细胞 β-胡萝卜素合成的总量减少 25.9%。说明白菜 DNA 的加入在影响盐藻细胞蛋白质合成、细胞生长和细胞形态大小的同时, 也抑制了盐藻细胞的 β-胡萝卜素积累量, 可能盐藻细胞的 β-胡萝卜素合成代谢过程受到了白菜 DNA 的干扰。

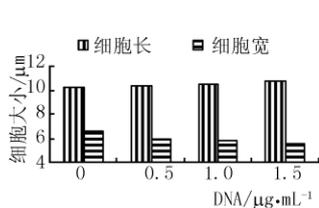


图 1 白菜 DNA 对盐藻细胞大小的影响

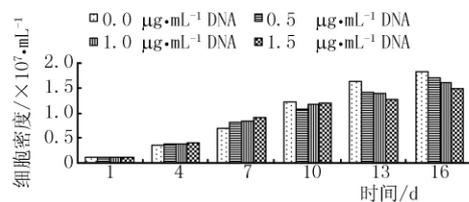


图 2 白菜 DNA 对盐藻细胞密度的影响

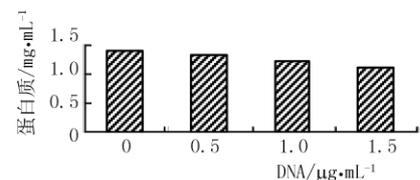


图 3 白菜 DNA 对盐藻蛋白质积累的影响

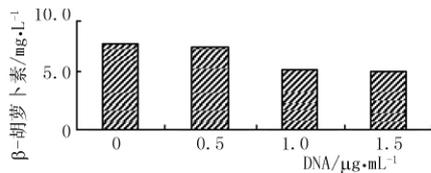


图4 白菜 DNA 对盐藻 β-胡萝卜素积累的影响

3 讨论

3.1 白菜 DNA 对盐藻细胞的营养作用

盐藻(*Dunaliella salina*)是一种耐盐性极强的单细胞藻类。盐藻个体呈梨形、卵形或椭圆形,其体型微小,一般为 14 μm×22 μm 左右,无细胞壁,柔软的原生质体外包着一层薄胶鞘,具有 2 条等长的鞭毛,可自由游动。盐藻细胞核位于细胞前部中央,核孔数量较多。其繁殖主要靠细胞纵裂的无性生殖^[10]。在盐藻的生长发育过程中,要不断从外界环境中吸收营养物质,以满足自身代谢的需要。当将白菜 DNA 加入到盐藻培养液中后,因培养液中盐藻细胞代谢活动和高盐环境的影响,白菜 DNA 可能会发生一定程度的降解,形成大小不等的片段,或核苷酸单体等,或直接作为无壁的盐藻细胞可以吸收利用的营养物质,被盐藻细胞吸收利用,促进盐藻细胞的生长,使培养 7 d 后的培养液中盐藻细胞密度增加。

3.2 白菜 DNA 对盐藻细胞生长的影响

当对盐藻细胞培养 16 d 后,加入 1.5 μg/mL 的白菜 DNA,可使培养液中的盐藻细胞密度降低 18.8%,而细胞的长度平均增加 5.9%,宽度则平均减少 15.9%,细胞蛋白质和 β-胡萝卜素合成的总量分别减少 20.5%和 25.9%。说明白菜 DNA 片段可能进入盐藻细胞里,参与了盐藻细胞遗传信息表达系统的活动,从而强力干扰

盐藻细胞的正常生命活动,造成了对盐藻细胞的影响。已经有研究表明,有多种不同的方法都可使外源基因加入目标生物的基因组中^[2-4,11]。另外,盐藻细胞没有细胞壁包裹,它对外界环境中物质的吸收可能更加容易。但白菜 DNA 基因在盐藻细胞中的存在和作用方式仍有待深入研究。试验结果表明,盐藻细胞对白菜 DNA 的进入并没有一个不可逾越的屏障。到目前为止,虽然还不知道白菜 DNA 影响盐藻细胞代谢的作用机理,但白菜 DNA 一旦进入盐藻细胞后就会对其产生重大影响。这也可能是生物多样性形成的原因之一。

参考文献

- [1] 曲姗姗,刘丽君,寇坤,等.农杆菌介导法将 Bt (cryIA)基因导入大豆的研究[J].大豆科学,2009,28(2):186-194.
- [2] 洪德峰,张学舜,刘俊恒,等.花粉管通道法在玉米转基因中的应用[J].中国种业,2009(4):11-13.
- [3] 黄海燕,王爱民,石耀华.转基因技术在水产动物中的运用[J].基因组学与应用生物学,2009,28(2):398-404.
- [4] 李俊,张春雷,李光明.转基因甘蓝型油菜向其近缘种的基因漂移研究进展[J].江西农业学报,2009,21(3):32-37.
- [5] 刘岭峰,曹江山,吴文花,等.转基因食品安全性评价及我国管理现状[J].江西农业学报,2009,21(4):155-158.
- [6] 魏伟,裴克全,桑卫国,等.转 Bt 基因棉花生态风险评价的研究进展[J].植物生态学报,2002,26(增刊):127-132.
- [7] 王丽冰,刘立军,颜亨梅.转 Bt 抗虫基因水稻的研究进展和生物安全性及其对策[J].生命科学研究,2009,13(2):182-188.
- [8] 王景雪,孙毅,高武军.一种简便实用的植物总 DNA 提取方法[J].山西大学学报(自然科学版),2000,23(3):271-272.
- [9] 郭金耀,杨晓玲.营养方式对盐藻生长与物质积累的影响[J].江苏农业科学,2007(1):138-140.
- [10] 刘亚军,赵文.杜氏藻的生物学和生态学研究进展[J].大连水产学院学报,2004,19(2):126-131.
- [11] 姜志磊,刘德璞,李晓辉,等.转基因抗虫玉米 Bt 毒蛋白的时空表达分析[J].吉林农业科学,2008,33(6):35-37.

Chinese Cabbage DNA Influence on Growth of *Dunaliella salina* Cells

GUO Jin-yao, YANG Xiao-ling

(Key Construction Lab of Marine Biotechnology of Jiangsu Province, College of Marine, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005)

Abstract: The Chinese cabbage DNA was mixed into the medium of *Dunaliella salina*, it is detected that Chinese cabbage DNA affected cell growth and the material accumulation of *Dunaliella salina*. The results showed that the Chinese cabbage DNA to cell growth will produce more and greater impact with the increase of concentration. When the *Dunaliella salina* cultivated in 16 d, Chinese cabbage DNA at 1.5 μg/mL made *Dunaliella salina* cell density to drop by 18.8%, the average length of the cells increased by 5.9% and the average width of cells was down 15.9%, production of proteins and β-carotene was down respectively 20.5% and 25.9%. That will demonstrate that cabbage DNA interfere with normal metabolism of *Dunaliella salina* cells and had great influence on growth of *Dunaliella salina* cells.

Key words: Chinese cabbage DNA; *Dunaliella salina* cells; influence