

外源 Ca^{2+} 对模拟微重力环境中鱼腥藻细胞质膜透性和 光合特性的影响

李根保 王高鸿 李敦海 宋立荣 刘永定

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 以鱼腥藻为材料, 研究了外源 Ca^{2+} 对模拟微重力环境中微藻细胞膜透性的影响。实验结果表明: 提高培养基中的 Ca^{2+} 浓度可减轻由模拟微重力造成的膜透性增大, 有助于稳定细胞膜结构和功能。同时, 外源 Ca^{2+} 降低了藻细胞光系统 II (PS II) 的光化学效率(以荧光参数 F_v/F_m 表示)下降的幅度, 表明外源 Ca^{2+} 对模拟微重力环境下鱼腥藻细胞光合作用的损伤, 有良好的防护效应。

关键词: Ca^{2+} ; 膜透性; 叶绿素 a 荧光; 微重力; 鱼腥藻 PCC7120

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-3207(2003)02-0136-004

已有许多的研究报道空间环境影响质膜结构和功能。胡章立^[1]报道在回转器中培养的盐生杜氏藻的质膜制剂中 H^+ -ATPase 活性比对照较高。Palladina 等^[2]发现回转器中生长 5d 的大豆幼苗分离出的质膜中 Ca^{2+} -ATPase 活性下降。在以前的工作中, 回转器中的微藻质膜脂质过氧化, 质膜透性增大^[3]。很明显, 这与微重力环境导致植物生理代谢的紊乱和细胞结构的改变有关。

Ca^{2+} 是细胞代谢的重要调控子。作为第二信使, 在偶联胞外信号和胞内生理生化反应中发挥重要的作用。在一些非生物胁迫中, Ca^{2+} 对保护植物脆性以及环境适应中起到了一个重要作用^[4-9]。近几年的生理研究表明, 外源 Ca^{2+} 可以增强植物对逆境的适应性, 减轻逆境对植物所造成的伤害^[10-12]。张宗申等^[12]和 Gong 等^[13]分别以玉米和辣椒为材料, 研究了外源 Ca^{2+} 对植物抗热性的影响, 认为外源 Ca^{2+} 在稳定细胞结构方面发挥作用, 后者还从细胞化学的角度探讨了这一机制。外源 Ca^{2+} 对于由重力变化引起的质膜改变是否也能起到类似的作用? 它对微重力下细胞的某些生理改变能否施加影响? 有关这方面的信息还未见报道, 本文对此作了初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 藻种 鱼腥藻(*Anabaena* sp. PCC7120)由中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻种库(FACHB-collection)提供。以 BG-11 培养基中的钙浓度(0.245mmol/L)为对照浓度, 设三个 Ca^{2+} 浓度: 0mmol/L; 0.245mmol/L; 0.490mmol/L。通道抑制剂 La^{3+} 的浓度为 5.0mmol/L。

1.2 微重力模拟 将生长在不同培养基中的样品, 置于水平回转器(8r/min)上, 在 25℃, 光照 $50\mu\text{E}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下水平回转。经计算样品受到的微重力水平小于 $10^{-3}g$ 。

1.3 膜透性测定 按照报道方法进行^[14]。用 DDS-IIA 型电导仪测定电导率, 利用电导率与总电导率的比值, 计算相对电导率, 以此表示质膜相对透性。

1.4 叶绿素荧光效率分析 用便携式植物效率分析仪(PEA, Hansatech[®], U. K.)测定叶绿素荧光。激发光强为最大光强的 50% ($1500\mu\text{E}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 暗适应时间不少于 15min, 记录时间 5s, 测定均在室温下进行。用可变荧光(F_v)与最大荧光(F_m)的比值 F_v/F_m 表示光合效能活性的大小。

本文所有实验数据均重复 3 次以上, 取平均值。

收稿日期: 2002-06-06; 修订日期: 2002-11-15

基金项目: 921 国家载人航天工程项目资助

作者简介: 李根保(1970—), 男, 河南省新县人; 博士; 主要从事藻类生理生态学和空间生物学的研究

通讯作者: 刘永定, liuyd@ihb.ac.cn

2 结果

2.1 外源 Ca^{2+} 对微重力下的鱼腥藻细胞膜透性的影响

在胁迫环境下, 首先受到破坏的往往是质膜。质膜结构和功能的变化导致内电解质外渗。以 BG-11 培养基中的 Ca^{2+} 为对照, 高浓度 Ca^{2+} (2 倍于对照) 明显降低了细胞质膜透性, 无 Ca^{2+} 的培养基中, 微藻细胞的膜透性高于对照(图 1)。在处理的 72h, 无 Ca^{2+} 培养基中的细胞质膜透性比对照高 16%, 比高浓度 Ca^{2+} 处理高 45%。结果说明, 外源 Ca^{2+} 减缓了由微重力环境引起的质膜透性的增大, 起到稳定质膜的作用。

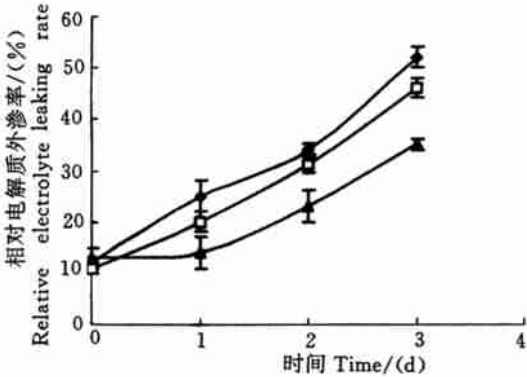


图 1 外源 Ca^{2+} 对模拟微重力下的鱼腥藻 sp. PCC7120 细胞膜透性的影响

Fig. 1 The effect of exogenous Ca^{2+} on the membrane permeability of *Anabaena* sp. PCC7120 cells under simulated microgravity (◆- 0, □- 0.245, ▲- 0.490mmol/L)

2.2 外源 Ca^{2+} 对微重力下的鱼腥藻细胞的 Fv/Fm 比值的影响

图 2 是回转器中, 生活在不同 Ca^{2+} 浓度培养基

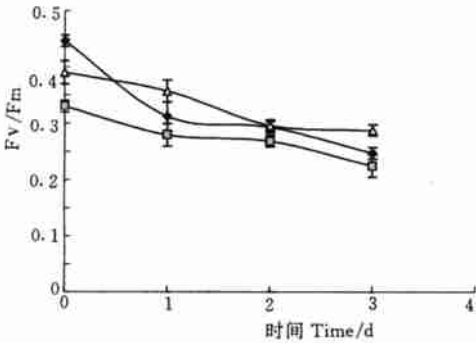


图 2 外源 Ca^{2+} 对模拟微重力下的鱼腥藻 PCC7120 细胞 Fv/Fm 比值的影响

Fig.2 The effect of Ca^{2+} on the Fv/Fm in *Anabaena* sp. PCC7120 cells under simulated microgravity (◆- 0, □- 0.245, ▲- 0.490mmol/L)

中的鱼腥藻细胞的叶绿素荧光参数 Fv/Fm 的比值。尽管在模拟微重力下三种处理的藻细胞的光合效率都呈下降趋势, 但下降幅度不同。在无钙的培养基中, Fv/Fm 比值在第一天呈直线快速下降, 降幅度最大为 35%, 在有钙的培养基中 Fv/Fm 比值下降缓慢。下降幅度随钙浓度升高而降低, 高钙的下降幅度最小为 26%。

2.3 La^{3+} 对微重力下的鱼腥藻细胞膜透性的影响

在正常培养基中 (BG-11) 加入 5.0mmol/L La^{3+} 后, 微重力下膜透性直线上升(图 3)。24h 后就检测不到 Fv/Fm , 细胞颜色变黄。

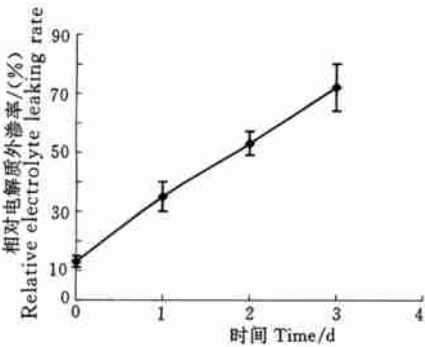


图 3 La^{3+} 对微重力下的鱼腥藻 PCC7120 细胞膜透性的影响

Fig. 3 The effect of La^{3+} on the membrane permeability of *Anabaena* sp. PCC7120 cells under simulated microgravity

3 讨论

对习惯于 1g 重力场的生物而言, 微重力环境是一个逆境。与其他非生物胁迫一样, 微重力对生物体在不同结构层次上产生影响。经回转器处理的微藻细胞质膜透性增强, 表征光合效率的 PS II 荧光参数 Fv/Fm 值下降(另文发表)。张宗申等^[12]和 Gong 等^[13]的研究结果表明, 外源 Ca^{2+} 预处理能够降低质膜的透性。本文实验结果表明, 增加外源 Ca^{2+} , 可以减轻由模拟微重力环境导致的微藻质膜透性变化(图 1), 而且能减缓荧光参数 Fv/Fm 值下降的幅度, 说明增强了 PS II 的光合效率(图 2)。

Kordyum 等^[15]报道, 微重力下大豆根细胞的 Ca^{2+} 水平是增加的。Belyavaskaya 等^[16]指出, 空间飞行对膜结合 Ca^{2+} 的影响可能是通过膜从外界环境流入钙的提高所致。外源 Ca^{2+} 增加了鱼腥藻藻胞外的 Ca^{2+} 的浓度, 改变了胞内外的 Ca^{2+} 的浓度差, 有利于 Ca^{2+} 的内流。再者, Ca^{2+} 是联结膜上磷脂的磷酸根和蛋白质羧基间的桥梁, 可直接作用于质膜。胡章立的结果说明 Ca^{2+} 对藻细胞微重力效应是必

需的。细胞对微重力的反应时,质膜上的 Ca^{2+} 通道被激活,适使得胞内自由 Ca^{2+} 水平增高,并通过 Ca^{2+} -ATPase 以及 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向通道抑制 Ca^{2+} 的外流。外源 Ca^{2+} 可能增强了这一过程^[16]。高浓度的 Ca^{2+} 直接或间接的作用一定的靶酶,产生相应的生理生化过程,使细胞对该环境作出相应的反应。因此,作者认为外源 Ca^{2+} 对膜的稳定性作用是通过激活 Ca^{2+} -ATPase,使其保持较高活性有关^[17],即钙信使系统参与了该过程。 La^{3+} 是通过抑制质膜上 Ca^{2+} -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向通道和阻断 Ca^{2+} 通道而起作用。在正常培养基中加入 5.0mmol/L La^{3+} 后,微重力下膜透性直线上升(图3)。这说明 Ca^{2+} 降低膜透性能被 Ca^{2+} 的抑制剂削弱,也证明了上述的推测。

叶绿素荧光 Fv/Fm 的比值反映了 PS II 活性的大小,任何影响 PS II 效能的环境胁迫均会使 Fv/Fm 的比值降低^[18]。如图2所示,在微重力环境中,鱼腥藻细胞的 Fv/Fm 的比值呈下降趋势。而外源 Ca^{2+} 能减缓这一过程。张宗申等^[12]报道外源 Ca^{2+} 处理后的植物细胞对微结构受胁迫伤害的程度轻于对照,其中,叶绿体中 Ca^{2+} 分布增多,内囊体膜上 Ca^{2+} -ATPase 活性增强,说明 Ca^{2+} 可以通过保护膜系统,在一定程度上维持了叶绿体的正常功能^[17]。本文外加 Ca^{2+} 可降低 Fv/Fm 的下降幅度,可能的原因有二:一是补偿内囊体膜上流失的 Ca^{2+} ,光合膜的稳定性得到提高,确保 PS II 电子传递和 D1CP 光还原正常进行^[19];另一方面,膜的稳定性又为膜上的 Ca^{2+} -ATPase 提供了其发挥功能的结构基础,在微重力下维持胞内 Ca^{2+} 的低水平,行使第二信使的功能,对环境作出适应性反应。在 BG-11 培养基中加入 La^{3+} ,24h 后检测不到 Fv/Fm ,72h 细胞最后死亡。这也证明了 Ca^{2+} -ATPase 在对逆境反应和适应中发挥了作用。

参考文献:

- [1] Hu Zhangli. Biological responses of microalgae to space flight and the related molecular mechanism [D]. Ph. D. thesis of the Chinese academy of sciences, 1997. [胡章立. 几种微藻的空间生物学效应及其分子机制. 中国科学院理学博士学位论文, 1997]
- [2] Palladina T O, Kordyum E L, Bilyav's Ka NO. Activity and localization of transport ATPase in cells of pea seedling roots during hypogravitation [J]. *Ukr. Bot. Zh.*, 1984, **41**: 54—57
- [3] Li G B, Wang G H, Song L R, et al. Lipid peroxidation in microalgae cells under simulated microgravity [J]. *Space medicine & medicine engineering*, 2002, **15**(4): 270—272. [李根保, 王高鸿, 宋立荣, 等. 模拟微重力下微藻细胞的脂质过氧化[J]. 航天医学与医学工程, 2002, **15**(4): 270—272]
- [4] Takagi S, Yamamoto K T, Furuya M, et al. Cooperative regulation of cytoplasmic streaming and Ca^{2+} fluxes by Pfr and photosynthesis in *Vallisneria mesophyll* cells [J]. *Plant physiol.*, 1990, **94**: 1702—1708
- [5] Kreimer G, Witman G B. Novel toudr induced Ca dependent phobic response in a flagellate green alga [J]. *Cell Motil. Cytosked.*, 1994, **29**: 97—109
- [6] Du Pont F M. Effect of temperature on the plasma membrane and tonoplast ATPase of barley roots [J]. *Plant Physiol.* 1989, **89**: 1401—1402
- [7] Monroy A F, Sarhan F, Shindsa R S. Cold induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation and gene expression evidence for a role of calcium [J]. *Plant physiol.*, 1993, **102**: 1227—1234
- [8] Li M R, Liu H X, Wang Y R, et al. Effects of calcium on the cold resistance of rice seedlings [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1996, **22**(4): 379—384. [李美如, 刘鸿先, 王以柔, 等. 钙对水稻幼苗抗冷性的影响[J]. 植物生理学报, 1996, **22**(4): 379—384]
- [9] Zhao K F, Lu Y F, Zhang B Z, et al. Influence of calcium on alleviating NaCl induced injury effects in wheat seedling [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1993, **35**(1): 51—56. [赵可夫, 刘元芳, 张宝泽, 等. Ca 对小麦幼苗低盐害效应的研究[J]. 植物学报, 1993, **35**(1): 51—56]
- [10] Lu S Y, Li Y C, Guo Z F, et al. Enhancement of drought resistance of rice seedling by calcium [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 1993, **13**(3): 161—164. [卢少云, 黎用朝, 郭振飞, 等. 钙提高水稻幼苗抗旱性的研究. 中国水稻科学, 1999, **13**(3): 161—164]
- [11] Zou Q, Huang X H, Wang D Y, et al. Effect of calcium on muskmelon seedling hamed by acid rain [J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 1999, **23**(2): 186—191. [周青, 黄晓华, 王东燕, 等. 钙对酸雨伤害甜瓜幼苗的影响. 植物生态学报, 1999, **23**(2): 186—191]
- [12] Zhang Z S, Li R Q, Wang J B. Effect of Ca^{2+} pretreatment on plasma permeability, GSH and AsA contents, and calcium distribution in pepper mesophyll cells under heat stress [J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, **25**(2): 230—234. [张宗申, 利容千, 王建波. 外源 Ca^{2+} 处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH、AsA 含量及 Ca^{2+} 分布的影响. 植物生态学报, 2002, **25**(2): 230—234]
- [13] Gong M, Li Y J, Dai X, et al. Involvement of calcium and calmodulin in the acquisition of heat shock induced thermotolerance in maize seedlings [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1997, **150**: 615—621
- [14] Tang Z C. Experimental Handbook of Modern Plant Physiology [M]. Beijing: Science press, 1999. [汤章城, 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999]
- [15] Kordyum E L, Belyavskaya N A, Palladina T A and Tarasenko V A. The role of calcium ions in cytological effects of hypogravity [J]. *Adv. space Res.*, 1984, **4**(12): 23—26
- [16] Belyavskaya N A. Free and membrane bound calcium in microgravity and microgravity effects at the membrane level [J]. *Adv. Space Res.*, 1996, **17**: 169—177

[17] Zhang Z S, Li R Q, Wang J B. Effect of Ca^{2+} pretreatment on the Ca^{2+} -ATPase activity in the mesophyll cells of Pepper seedling under heat stress [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 2001, **27**(6): 451—454. [张宗申, 利容千, 王建波. Ca^{2+} 预处理对热胁迫下辣椒叶肉细胞中 Ca^{2+} -ATP 酶活性的影响. 植物生理学报, 2001, **27**(6): 451—454]

[18] Li D H, Song L R, Liu Y D. Response of photosynthetic activities of *Nostoc spheroids* Kütz. (Cyanobacterium) to the salt stress [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, **23**(5): 420—424. [李敦海, 宋立荣, 刘永定. 葛仙米光合活性对盐胁迫的反应. 水生生物学报, 1999, **23**(5): 420—424]

[19] Yuan S, Li G F. Study on the binding state of calcium in photosystem II (PS II) oxygen evolution complex [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1991, **33**(11): 881—886. [袁生, 李功藩. PSII 放氧复合物中 Ca^{2+} 结合状态的研究. 植物学报, 1991, **33**(11): 881—886]

EFFECTS OF EXOGENOUS Ca^{2+} ON THE MEMBRANE PERMEABILITY AND PHOTOSYNTHETIC CHARACTERISTICS OF *ANABAENA* sp. PCC7120 CELLS UNDER SIMULATED MICROGRAVITY

LI Gen-Bao, WANG Gao-Hong, LI Duan-Hai, SONG Li-Rong and LIU Yong-Ding
(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract: In this study, the effects of exogenous Ca^{2+} on the membrane permeability and photosynthetic characteristics of *Anabaena* sp. PCC7120 cells under simulated microgravity were studied. Simulated microgravity was provided by a slowly horizontal rotating clinostat. Physiological characteristics of *Anabaena* sp. PCC7120 cells in three different content of Ca^{2+} were measured. During 72h of treatment, the membrane permeability of *Anabaena* sp. PCC7120 cells was higher 16% in Ca^{2+} -free medium than that in the control (0. 245mmol/L), and higher 45% than that in medium of high concentration of Ca^{2+} (0. 490mmol/L). The photochemistry efficiency (expressed as Fv/Fm) of *Anabaena* sp. PCC7120 cells decreased under simulated microgravity, but the range of decreasing was different in three different treatments. In Ca^{2+} -free medium, the value of Fv/Fm quickly decreased at the first day, and the decreasing range reached 35% at the third day. However, in the Ca^{2+} -complete medium, the value of Fv/Fm decreased slowly. With increasing concentration of Ca^{2+} in medium, the decreasing range was only 26% in medium of high concentration of Ca^{2+} (0. 490mmol/L) at the end of experiments. The treatment with Ca^{2+} channel inhibitor showed that the second messenger was involved in the protective process. Experimental results showed that increased Ca^{2+} in medium could alleviate membrane permeability induced by simulated microgravity, and lessened the decreasing range of photochemistry efficiency in *Anabaena* sp. PCC7120 cells. Exogenous Ca^{2+} might enhance stabilization of plasma membrane. Moreover, exogenous Ca^{2+} might alleviate the microgravity-induced damage of photosynthesis of *Anabaena* sp. PCC7120 cells.

Key words: Ca^{2+} ; Membrane permeability; Chlorophyll a fluorescence; Microgravity; *Anabaena* sp. PCC7120