# 鱼腥藻异形胞的观察及诱导实验

厦门大学生命科学学院

# 实验目的

- 了解固氮蓝藻鱼腥藻7120的形态特征，掌握其培养方法和实验操作技术。
- 利用光学显微镜观察鱼腥藻营养细胞和异形胞的差异并设计实验诱导异形胞的形成。

# 蓝藻异形胞

- 异形胞：丝状蓝藻产生的一种与繁殖有关的特别类型的细胞，由营养细胞特化而成的。圆形色淡，成熟的异形胞是透明的，其细胞壁在与相邻细胞相接处有钮状增厚部(极节球)。具有异形胞的蓝藻能固氮，当水中氮缺乏时，异形胞的数目显著增加。
- 蓝藻通过异形胞固定的氮，除供给藻细胞本身的生长发育外，还会通过含氮化合物的分泌和藻细胞的分解，释放出大量的氨态氮，大大增加了水体和土壤的肥力，在农业生产中具有重要的应用价值。

# 异形胞和普通的营养细胞特征比较

- 体积稍大
- 胞壁外有明显增厚而形成包被
- 细胞质中的颗粒状物质溶解消失
- 异形胞内不含藻胆素, 但仍含叶绿素a
- 类囊体破碎，至细胞两端形成极球
- 核质分布均一
- 仅具光系统I（PSI）, 而不具能放氧的光系统II(PSII)
- 呼吸速率较高，不能固定碳，内含有固氮酶
- 异形胞一经形成就不再分裂，异形胞常将藻丝分隔为藻殖段

# 异形胞分化的机制——细胞应激基因调控

- 鱼腥藻7120是一种丝状体固氮蓝藻，在氮源缺乏的情况下，大约每隔10个营养细胞形成1个异形胞。异形胞的形成与氮源和光源等外界因素密切相关，进而由基因调控异形胞的形成。
- 本实验将观察鱼腥藻异形胞的形成和探索影响其发育的环境因子。

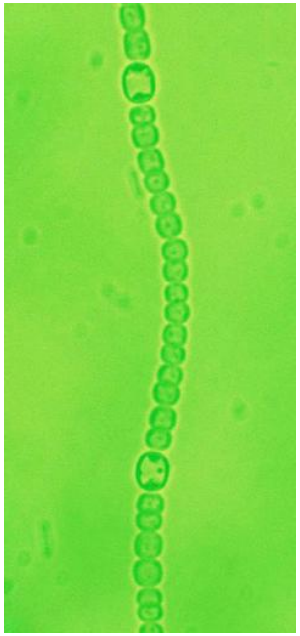

**图1** 固氮蓝藻鱼腥藻分化形成异型胞。 **图2** 当HetR第152位氨基酸突变后，鱼腥藻无法形成异型胞。

- 实验材料
  - 蓝藻：鱼腥藻*Anabaena* sp. PCC 7120.
- 实验设备，仪器
  - 普通光学显微镜，光照摇床
- 实验耗材
  - 50ml三角瓶，纱布，载玻片，盖玻片

# 培养基

- 培养基为含氮或无氮的 BG11($BG11_0$)培养基

BG-11培养基配方如下[g/L]：

①$NaNO_3$ 1.5　　$Na_2CO_3$ 0.02

②$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075

③$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.036

④柠檬酸 0.006 柠檬酸铁胺 0.006 EDTA•2Na 0.001

⑤$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.04

⑥1000倍微量元素母液：

| | | | |
|---|---|---|---|
| $H_3BO_3$ | 2.86 | $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ | 1.81 |
| $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.222 | $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | 0.3 |
| $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ | 0.079 | $Co(NO3)_2 \cdot 6H_2O$ | 0.0494 |

BG11无氮培养基($BG11_0$)组成是把培养基中的$NaNO_3$替换为NaCl

# 实验步骤

1.显微镜观察提前准备好的在含有$NaNO_3$的BG11和以NaCl取代$NaNO_3$ 的$BG11_0$ 培养基中培养的鱼腥藻7120 (*Anabaena* sp. PCC 7120)，观察异形胞有无并计算异形胞频率。

2.根据以下不同培养条件设计，然后将经过$BG11_0$洗涤过3次的鱼腥藻（事先用BG11培养）4ml接种到该培养基(16ml)，置于摇床上光照培养. 温度28~30℃，光强为100mmol/($m^2$×s)，转速为130 r/min.

1）氮源浓度的影响:在BG11无氮培养基($BG11_0$)中添加不同浓度的$NaNO_3$

2）氮源种类的影响

以$NH_4Cl$或尿素取代BG11中的$NaNO_3$

3）光强和光质的影响

在含有$BG11_0$培养基的三角瓶以双层塑料薄膜包裹起来，使光强为正常条件下的一半，考察光强对鱼腥藻异形胞发育的影响；还可以考虑用红色薄膜包裹以考察红光的影响。

3.计算异形胞频率

将不同培养条件下培养2天后取出的样品置于光学显微镜下观察，分别计数营养细胞和异形胞的数目，并计算异形胞占细胞总数的百分比。为了减小误差，每个样品统计1000个以上细胞，并重复3次取平均值。

- 作业：

  1.绘制鱼腥藻一段藻丝体，包含营养细胞和异形胞。

  2.计算不同条件下异形胞发生的频率，列表比较。

- 思考：

  - 影响鱼腥藻异形胞形成的因素有哪些？分别有何影响？