

文章编号: 1007-4627(2007)04-0294-05

# 重离子辐射植物的诱变效应研究及应用\*

曲 颖, 李文建, 周利斌, 王转子, 董喜存, 余丽霞, 刘青芳, 何金玉

(中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000)

**摘 要:** 重离子生物技术已引起人们的广泛关注, 植物育种是重离子生物技术研究和应用的热点之一。简要介绍了重离子的基本特征和在育种应用中的优势, 综述了重离子辐射对植物分子、细胞、个体 3 个水平的诱变效应研究及重离子辐射育种取得的进展。

**关键词:** 重离子; 诱变效应; 植物育种

**中图分类号:** Q691 **文献标识码:** A

## 1 引言

近年来, 重离子作为一种新兴的辐射源, 由于自身独特的优势使其在生命科学研究中具有重要地位, 并在植物育种中取得了巨大的经济和社会效益, 为植物育种提供了新途径。

重离子与中性辐射 X,  $\gamma$  射线和中子等在物理学和生物学上差别很大, 也与质量很轻、带负电荷的电子差别很大<sup>[1]</sup>。重离子在穿越介质过程中具有较高的传能线密度(LET), 在其离子径迹上有较大的能量沉积, 属致密电离辐射, 能够诱发更多的生物损伤。因此, 相同剂量辐照下, 重离子比稀疏电离(如 X/ $\gamma$ )具有高得多的相对生物学效应(RBE)<sup>[2]</sup>。高 LET 辐射引起 DNA 双链断裂增加, 表现出局部损伤严重。重离子束在能量沉积过程中, 其射程末端存在一个尖锐的能量损失峰, 即 Bragg 峰。由 Bragg 峰可知重离子能量沉积的空间分辨很好, 它可以使生物体系受到严重影响的部位是局部的。因此, 重离子辐射在有更多生物学效应的同时能提高存活率, 有利于获得更多突变体。

## 2 重离子辐射植物的诱变效应

### 2.1 分子水平的诱变效应

辐射损伤 DNA, 但生物体内存在着很强的修复系统, DNA 损伤可以得到修复, 如果修复不完全或错误, 就会在 DNA 复制时出现差错, 随之引起细胞内一系列大分子和细胞结构的异常而诱发变异, 这

也是诱变育种的分子遗传学基础。重离子辐照能诱发植物 DNA 非按期合成。在 Ar<sup>+</sup> 辐照的烟草种子中观察到了先于 DNA 大量复制之前的一个 DNA 合成峰, 即 DNA 非按期合成<sup>[3]</sup>。能否进行 DNA 的非按期合成(修复合成), 是细胞损伤修复能力的一个重要体现。DNA 非按期合成峰的出现, 说明了重离子辐照不仅损伤了 DNA, 而且能诱发 DNA 的修复合成, 因此重离子辐射可用于植物的诱变育种<sup>[3]</sup>。

重离子辐射能诱发基因组当代可遗传变异, 并具有较高的变异频率。这对于提高育种效率、加快育种进程具有重要意义。在空间搭载的水稻种子中, 受空间高原子序数、高能粒子轰击的种子, 其当代植株基因组发生变异, 部分多态性可遗传至后代, 暗示了空间高能重离子辐射对诱导基因组多态性及遗传表型变异的有效性<sup>[4]</sup>。谷运红等<sup>[5]</sup>在 N<sup>+</sup> 辐照的拟南芥中也得到了当代可遗传的变异条带; 同时将分析 DNA 变异频率的计算方法统一后, 发现与空间飞行或卫星搭载的植物相比, N<sup>+</sup> 注入的拟南芥 DNA 条带变异率最高, 认为与空间微重力、高真空的环境相比, 重离子是更为有效的诱变手段, 具有突变频率高的特点。基因组 DNA 突变率与重离子注入剂量相关, 剂量愈大, 突变程度愈高<sup>[5]</sup>。

基因突变的分子基础是 DNA 序列构成的变化, 因此了解 DNA 碱基突变的类型和特点将有助于阐

\* 收稿日期: 2007 - 03 - 05; 修改日期: 2007 - 04 - 23

\* 基金项目: 中国科学院西部之光人才培养计划项目(O706100XB0)

作者简介: 曲 颖(1978 -), 女(汉族), 辽宁鞍山人, 博士, 从事重离子辐照育种研究; E-mail: quying102@impcas.ac.cn

述诱变机制。 $N^+$ 注入诱发了拟南芥 DNA 多位点的碱基变异<sup>[6]</sup>。在检测的条带中,平均每 16.8 个碱基就会出现一个碱基变异位点,相对于质粒上的 LacZ 基因平均 40—50 个碱基检测出一次变异,拟南芥 DNA 似乎具有更高的碱基突变率<sup>[6,7]</sup>。无论质粒还是拟南芥 DNA,这种 DNA 水平直接诱变所表现的多位点碱基变异的特点可能在一定程度上反映了重离子具有高诱变效率的内在原因<sup>[7]</sup>。拟南芥 DNA 碱基突变类型以单碱基置换为主,碱基缺失或插入的比例较小;每种碱基均可以被其他 3 种碱基替换,但胸腺嘧啶最易发生变异。基因脱落可能是重离子辐照引起碱基突变的重要原因之一<sup>[6]</sup>。质粒 LacZ 基因突变仅发生在调控区域中与转录和转译相关的碱基位点<sup>[8]</sup>,并且其“热点”常常在 TG 与 CT 之间<sup>[7]</sup>;而拟南芥 DNA 突变主要在 GA 与 TC 之间,而且嘌呤突变的位点周围嘌呤为多,嘧啶突变的位点周围嘧啶为多<sup>[9]</sup>。重离子对植物和质粒 DNA 的影响不同,暗示着重离子对活细胞 DNA 产生突变作用的机制似乎更为复杂。

重离子对 DNA 序列的改变,通过基因表达最终将反映在 mRNA 和蛋白质水平上。 $N^+$ 辐照烟草后,筛选到稳定白化突变体 ali<sup>[10]</sup>。ali 叶肉细胞的叶绿体数目与野生型相似,但是缺少发育完全的叶绿体和堆叠的类囊体膜。进一步研究发现,色素减少、叶绿体发育停滞与基因表达改变有关。核基因编码的 Lhc 和 rbcS 的转录水平与野生型差别不大,而叶绿体编码的光合基因 rbcL 和 psbA 表达显著减少,同时缺少 Rubisco-L, Rubisco-S 和 PSII-D1 蛋白。可见 ali 是叶绿体基因表达被改变的新的白化苗突变体。在重离子辐照的水稻、拟南芥中也分别筛选到了叶绿素缺失突变体,叶绿素缺失可能与基因缺失和重排有关<sup>[11,12]</sup>。通过蛋白质组学方法研究  $N^+$  注入的向日葵种子,在对照和处理种子中分别获得了不同的特异蛋白点,质谱鉴定发现处理组的两个特异蛋白分别与转录因子 HAM59 有 23.48% 的匹配率、与亮氨酸拉链蛋白的同源蛋白 HAHB-4 有 23.20% 的匹配率。作者认为重离子引起蛋白质组的差异可能是 DNA 变异在翻译水平上的表现,最终可能导致植物生长发育的变化<sup>[13]</sup>。

## 2.2 细胞水平的诱变效应

植物可遗传的变异除了基因突变还包括染色体

变异。通过细胞学方法观测到重离子辐照引起植物细胞染色体的变异包括微核、断片、染色体桥、染色体缺失、落后染色体、染色体断裂、染色体易位和插入等<sup>[14-16]</sup>。染色体畸变类型与 LET 无关<sup>[14]</sup>,而与剂量、细胞分裂期及细胞类型有关。在棉花和麦类中,低剂量  $N^+$  注入可引起减数分裂后期 I 整个基因组落后,高剂量时减数分裂后期 II 落后染色体中出现双桥和着丝点提前分离等稀有结构<sup>[17]</sup>。 $N^+$  注入的小麦种子,其根尖细胞中以无着丝粒片段和染色体缺失为主,而在花粉母细胞中以染色体桥和落后染色体为主<sup>[15]</sup>。重离子诱发细胞微管骨架的异常变化,导致形成极向不同步移动排布和不对称形态的纺锤体,这可能是染色体异常分配和微核形成的原因<sup>[18]</sup>。染色体畸变率与辐照剂量呈正相关<sup>[19]</sup>,也与辐射敏感性有关<sup>[20]</sup>。以 1% 的染色体总畸变率为准,禾本科牧草对  $Ne^{10+}$  辐射敏感性比豆科牧草敏感性高近 5 倍。染色体畸变率与植物存活率密切相关,随着畸变率上升存活率下降<sup>[14]</sup>。在小麦和黑麦中均发现,虽然重离子辐照诱发染色体数量变异频率较小,但染色体数量的变异对选育非整倍体育种材料有重要意义<sup>[21]</sup>。染色体的结构和数量的改变均可导致生物性状的改变,从而为植物育种提供了必要的基础材料。

## 2.3 个体水平的诱变效应

重离子对分子、细胞水平的微观作用经过植物生长发育,最终表现出个体生物学效应。重离子辐照对植物生命活动的影响具有双重效应,低剂量常表现为刺激效应,而高剂量则带来抑制效应。 $C^{12+}$  辐照后,沙打旺种子的发芽势、发芽率以及多种抗氧化酶活性都随剂量增加先升高后降低<sup>[22]</sup>。李玉峰等<sup>[23]</sup>采用更为详细的剂量梯度研究了  $N^+$  注入对紫花苜蓿的生物学效应,结果表明低剂量的  $N^+$  注入对紫花苜蓿种子存在当代刺激效应,随  $N^+$  剂量增加呈现出“降-升-降”的“马鞍型”剂量效应曲线。 $N^+$  注入甘草种子也发现了这种效应趋势<sup>[24]</sup>。“马鞍型”曲线可能是重离子辐照诱导的新的修复机制作用的结果<sup>[23]</sup>,同时它表明了离子注入生物体内自由基产生和清除是一个动态反应过程<sup>[24]</sup>。重离子对植物生长发育过程的促进作用还有待于进一步研究。

重离子辐照引起种子胚活力、幼苗和根生长、

育性及愈伤组织不定根生长发育等改变<sup>[25-27]</sup>；引起光合系统、自由基代谢和膜脂过氧化等生理生化变化<sup>[26, 28, 29]</sup>；引起植物荧光特性、发光光谱等物理学特性的改变<sup>[26]</sup>。有些改变仅仅是植物对重离子辐照损伤的应答，不一定表现为遗传；有些变化则可传递给下一代，经过若干代分离形成稳定的生物学性状。对于已分化的分生组织，辐照后常发育形成突变细胞组织和正常细胞组织构成的嵌合体<sup>[30]</sup>。重离子对作物品质和农艺性状的改变将加快新品种的选育<sup>[31]</sup>，对花瓣、花型、花色的改变都将有助于短期内获得商业品种<sup>[32]</sup>。

### 3 在植物诱变育种中的应用

1986 年，我国余增亮研究员首先发现低能重离子的诱变效应。通过低能重离子注入，在水稻中先后选育成功了抗虫抗病性强的 S<sub>9042</sub>、米质优的 D<sub>9055</sub> 和早粳 14、高产的中粳 63 和晚粳 M3122、高产早熟的晚粳 48 和晚粳 M1148<sup>[33]</sup>。仅 1998 年以来，水稻新品种已在安徽、湖北、江苏、江西等省推广 1 500 万亩，增产 9.6 亿公斤。在小麦中育成高产优质多抗的皖麦 32 号、皖麦 42、皖麦 43 及皖麦 9 210。在其他作物中选育出了高产、优质、抗病虫和早熟的 4 个棉花新品系、早熟高产的玉米自交系及高产的鲁番 7 号番茄。此外，在大豆、烟草、甜菜、甘薯及花卉百日草中都分别获得了新品系。

目前根据能量将重离子分为 10—100 MeV/u 的中能重离子，100—1 000 MeV/u 的高能重离子<sup>[1]</sup>。利用兰州重离子研究装置提供的重离子束对植物进行辐射育种。在小麦中选育出了抗旱优质的春小麦 95—119，矮秆、抗逆、高产、优质的春小麦 M-920 和丰产、高蛋白含量、抗黑穗病的陇辐 2 号<sup>[34, 35]</sup>。春小麦 95—119 和 M-920 已在甘肃省中、西部地区试种近万亩，深受农户欢迎；陇辐 2 号在测产试验和多点生产示范中农艺性状表现突出，已经过审定被正式命名。此外，对马铃薯、新疆白皮脆瓜、荷兰豆、牧草、岷山当归和牵牛花等植物的辐照，都获得了相应的有益突变株系，具有推广价值<sup>[34]</sup>。

### 4 小结

重离子辐射在植物育种中取得了显著性进展，

并获得了一定的经济和社会效益，但仍然还有许多不完善和有待开发的地方。系统地研究重离子辐射的分子、细胞遗传学规律和机理，重离子不同质量和能量组合与终点生物学效应的相关性等将有助于重离子辐射诱变机理的阐述和诱变育种效率的提高，对定向育种也具有重要意义。重离子辐射育种给植物品种改良注入了新的活力，随着这一技术的发展和完善，重离子生物技术必将会为农业创造出更丰富的种质资源。

### 参考文献 (References) :

- [1] Wei Zengquan. *Acta Laser Biology Sinica*, 2003, **12**(5): 321 (in Chinese).  
(卫增泉. *激光生物学报*, 2003, **12**(5): 321.)
- [2] Kranert T, Schneider E, Kiefer J. *Int J Radiat Biol*, 1990, **58**: 975.
- [3] Wang Chongying, Wang Lihong, Gao Qingxiang, *et al.* *J Radiat Res Radiat Proc*, 1996, **14**(4): 222 (in Chinese).  
(王崇英, 汪丽虹, 高清祥等. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1996, **14**(4): 222.)
- [4] Luo Yi, Wang Xujie, Mei Mantong, *et al.* *Acta Biophys Sinica*, 2006, **22**(2): 131 (in Chinese).  
(骆艺, 王旭杰, 梅曼彤等. *生物物理学报*, 2006, **22**(2): 131.)
- [5] Gu Yunhong, Yu Zengliang, Qin Guangyong, *et al.* *Chinese High Technology Letters*, 2003, **12**: 33 (in Chinese).  
(谷运红, 余增亮, 秦广雍等. *高技术通讯*, 2003, **12**: 33.)
- [6] Chang Fengqi, Li Yingxin, Liu Xuanming, *et al.* *Progress in Natural Science*, 2003, **13**(3): 259 (in Chinese).  
(常凤启, 李银心, 刘玄明等. *自然科学进展*, 2003, **13**(3): 259.)
- [7] Yang Jianbo, Wu Lijun, Li Li, *et al.* *Science in China*, 1995, **B25**(12): 1 273 (in Chinese).  
(杨剑波, 吴李君, 李莉等. *中国科学*, 1995, **B25**(12): 1 273.)
- [8] Wang Q, Zhang G, Du Y H, *et al.* *Mutat Res*, 2003, **528**: 55.
- [9] Zhang Genfa, Nie Yanli, Shi Xiaoming, *et al.* *Acta Genetica Sinica*, 2004, **31**(9): 1 021 (in Chinese).  
(张根发, 聂艳丽, 石小明等. *遗传学报*, 2004, **31**(9): 1 021.)
- [10] Bae C H, Tomoko A, Tomoki M. *Anna Bot*, 2001, **88**: 545.
- [11] Abe T, Matsuyama T, Sekido S, *et al.* *J Radiat Res*, 2002, **43**: s157.
- [12] Shikazono N, Yokota Y, Kitamura S, *et al.* *Genetics*, 2003, **163**: 1 449.
- [13] Dong Guijun, Zhang Weidong, Chen Shuangyan, *et al.* *Acta Bio-*

- physics Sinica, 2004, **20**(4): 269(in Chinese).  
(董贵俊, 张卫东, 陈双燕等. 生物物理学报, 2004, **20**(4): 269.)
- [14] Hase Y, Yamaguchi M, Inoue M, *et al.* Int J Radiat Biol, 2002, **78**(9): 799.
- [15] Wu L F, Yu Z L. Radiat Environ Biophys, 2001, **40**: 53.
- [16] Kitamura S, Inoue M, Ohmido N, *et al.* Nucl Instr and Meth, 2003, **B206**: 548.
- [17] Song Yun, Zhang Huaiyu, Chang Zhijian. Molecular Plant Breeding, 2004, **2**(2): 301(in Chinese).  
(宋 云, 张怀渝, 畅志坚. 分子植物育种, 2004, **2**(2): 301.)
- [18] Gu Yuehua, Cheng Yinghong, Tang Jianbin, *et al.* Acta Laser Biology Sinica, 1997, **6**(3): 110(in Chinese).  
(顾月华, 程颖红, 唐健杉等. 激光生物学报, 1997, **6**(3): 110.)
- [19] Xie Hongmei, Wang Haohan, Wang Jufang. Nuclear Physics Review, 2001, **18**(3): 174(in Chinese).  
(颀红梅, 王浩瀚, 王菊芳. 原子核物理评论, 2001, **18**(3): 174.)
- [20] Xie Hongmei, Hao Jifang, Wei Zengquan, *et al.* Acta Laser Biology Sinica, 2003, **12**(5): 347(in Chinese).  
(颀红梅, 郝冀方, 卫增泉等. 激光生物学报, 2003, **12**(5): 347.)
- [21] Yu Zengliang. An Introduction of Ion Beam Biotechnology. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1998, 216(in Chinese).  
(余增亮. 离子束生物技术引论. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1998: 216.)
- [22] Zhou Libin, Li Wenjian, Li qiang, *et al.* Acta Laser Biology Sinica, 2003, **12**(5): 350(in Chinese).  
(周利斌, 李文建, 李 强等. 激光生物学报, 2003, **12**(5): 350.)
- [23] Li Yufeng, Liang Yunzhang, Yu Zengliang. Pratacultural Science, 2006, **23**(1): 13(in Chinese).  
(李玉峰, 梁运章, 余增亮. 草业科学, 2006, **23**(1): 13.)
- [24] Wei Shenglin, Liu Jingnan, Wang Tao, *et al.* Acta Pratacultural Sinica, 2004, **13**(5): 112(in Chinese).  
(魏胜林, 刘竞男, 王 陶等. 草业学报, 2004, **13**(5): 112.)
- [25] Luo Hongbing, Zhao Kui, Guo Jiyu, *et al.* Nuclear Physics Review, 2004, **21**(3): 238(in Chinese).  
(罗红兵, 赵 葵, 郭继宇等. 原子核物理评论, 2004, **21**(3): 238.)
- [26] Kalimullah M, Gaikwad J U, Thomas S, *et al.* Plant Science, 2003, **165**(3): 447.
- [27] Zhou L B, Li W J, Ma S, *et al.* Nucl Instr and Meth, 2006, **B244**: 349.
- [28] Li Wenjian, Wei Zengquan, Xie Hongmei, *et al.* J Radiat Res Radiat Proc, 1994, **12**(4): 228(in Chinese).  
(李文建, 卫增泉, 颀红梅等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1994, **12**(4): 228.)
- [29] Choudhary D, Srivastava M, Sarma A, *et al.* Radiat Environ Biophys, 1998, **37**(3): 177.
- [30] Bae C H, Abe T, Nagata N, *et al.* Plant Science, 2000, **151**: 93.
- [31] Zhou Xinwei, Chen Yihai, Liu Jingyang, *et al.* Jiangsu Agricultural Science, 2003, **4**: 1(in Chinese).  
(周新伟, 陈益海, 刘敬阳等. 江苏农业科学, 2003, **4**: 1.)
- [32] Yamaguchi H, Nagatomi S, Morishita T. Nucl Instr and Meth, 2003, **B206**: 561.
- [33] Guo Gao, Qian Kun. Anhui Agricultural, 1998, **25**(5): 4(in Chinese).  
(郭 高, 钱 坤. 安徽农业, 1998, **25**(5): 4.)
- [34] Wei Zengquan, Xie Hongmei, Liang Jianping, *et al.* Nuclear Physics Review, 2003, **20**(1): 38(in Chinese).  
(卫增泉, 颀红梅, 梁剑平等. 原子核物理评论, 2003, **20**(1): 38.)
- [35] Zhao Lianzhi, Wang Yong, Zhen Dongsheng, *et al.* Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2005, **19**(1): 80(in Chinese).  
(赵莲芝, 王 勇, 甄东生等. 核农学报, 2005, **19**(1): 80.)

## Research and Application of Mutagenic Effects in Plants Irradiated by Heavy Ion Beams<sup>\*</sup>

QU Ying<sup>1)</sup>, LI Wen-jian, ZHOU Li-bin, WANG Zhuan-zi, DONG Xi-cun, YU Li-xia, LIU Qing-fang, HE Jin-yu  
(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** Heavy ion biotechnology has received much attention since the mid-1980s, when the first mutagenic effect of heavy ion beams was found in rice. Since then, plant breeding is one of the focuses in heavy ion biotech-

\* Received date: 5 Mar. 2007; Revised date: 23 Apr. 2007

\* Foundation item: Westem Light Talents Training Program of Chinese Academy of Sciences (0706100XB0)

1) E-mail: quying102@impcas.ac.cn

nology. In this paper we outlined the recent developments in plant breeding by heavy ion beams. We introduced briefly the essential characteristics and superiority of heavy ion beams applied in plant breeding, and reviewed further the mutagenic research in three levels( e. g. , molecular, cell and individual) of plants. At last, we summarized artificial mutants obtained in plants irradiated by heavy ion beams.

**Key words:** heavy ion; mutagenic effect; plant breeding