

288-290

· 综述与专论 ·

S188

13

# 离子注入在生物改良上的应用

吴跃进<sup>1)</sup> 余增亮<sup>2)</sup> 吴家道<sup>1)</sup> 霍裕平<sup>2)</sup> 邱励俭<sup>2)</sup>

(安徽省农业科学院 合肥 230031<sup>1)</sup> 中国科学院等离子体物理研究所 合肥 230041<sup>2)</sup>)

本文简述近年来离子注入应用于植物、动物、微生物品种改良及离子束介导外源基因转移等方面的研究进展。

**关键词:** 离子注入 生物改良 基因转移

80年代中期,正当国内外纷纷开展离子注入材料表面改性研究时,中国科学院等离子体物理研究所和有关单位合作,另辟蹊径,将离子注入技术应用到生物品种的改良,在理论上和实践上均取得了较大的进展。经过研究初步明确低能离子与生物相互作用既有能量沉积、动量传递的过程<sup>[1,2]</sup>,又有粒子注入、电荷交换的过程,这些过程的联合作用,引起强烈的生物学效应。国内外学者以极大兴趣开展这项工作,并以植物、动物、微生物为对象,在不同水平上进行了深入研究,在物理学和生物学的结合上发展成一门新兴的交叉学科,形成了独特的技术体系,在生物品种改良和外源基因转移方面取得了较大进展,创造了显著的经济效益和社会效益。

## 1. 离子注入技术应用于植物品种改良

离子注入技术首先被应用于作物品种改良,其中水稻的研究起步最早。用离子注入改良水稻广亲和系,选育出几个综合性状好的广亲和系,1989年通过技术鉴定,被列为我国同位素与辐射技术发展大事件之一<sup>[3-5]</sup>。最先用离子注入诱变选育的2个水稻品种,中熟早籼 S9042 和早熟晚粳 D9055,通过区试,生产试验表现产量高、米质优、抗病性强,1994年通过安徽省品种审定委员会审定。其中晚粳 D9055 被评为安徽省优质稻米。迄今

两个水稻品种已在生产上累计推广40多万hm<sup>2</sup>,创造了较大的经济效益和社会效益,成为世界上首例用该方法选育的农作物新品种。在水稻方面进展较快的还有浙江农业大学,用氮离子注入改造优质早籼903,获得的优质、高产、早熟突变系已进入品系比较试验<sup>[6]</sup>。安徽农业大学利用离子注入棉花种子,选育出高产、优质、抗病虫害和早熟的新品系4个<sup>[7]</sup>,其中2个品系参加省级区试,一个抗棉花红铃虫兼抗棉铃虫的新品系参加全国抗虫棉品比试验。山东烟台农科所利用N<sup>+</sup>离子束辐照蕃茄早霞干种子,M<sub>1</sub>出现早熟大果变异株,M<sub>2</sub>趋于稳定,从中选出的5个品系单果重较对照增加12.3%~30.5%,其中突变系62-7-3-6与91-1<sup>10</sup>杂交配制的杂交组合烟辐1号,与早霞及91-1<sup>10</sup>F<sub>1</sub>相比,早熟果重增加8.0%,前期单果重增加18.3%,总产量增加17.3%;较对照西粉3号增产30.9%;目前已进入生产试种<sup>[9]</sup>。安徽农科院在小麦、甘薯上都选育出了综合性状好的新品系,分别参加省级和北方大区区试。其它作物如大豆、玉米、烟草、谷子及茶树等品种改良也都取得不同程度的进展<sup>[9,10]</sup>。

林木品种改良,虽然起步晚,但进展较快。安徽农业大学利用离子束辐照处理杨树枝条,经扦插获得速生率显著提高的新品系;板栗的芽经离子束处理后嫁接,可提高挂果率,且糖分含量和耐贮性也有明显改善。

离子注入的应用为作物品种改良提供了

\* 该项目为国家“八五”攻关,国家自然科学基金资助项目。

一条新的技术途径,创造了一批有特点的新的基因型材料。如华中农业大学利用氮离子注入水稻无融合生殖材料,使后代无融合生殖频率从14%提高到48%,这对水稻一系法杂种优势利用具有重要意义<sup>[11]</sup>。中科院华南植物所重复了该项试验,也获得了高频率无融合生殖材料,引起国内外学者的关注。北京农业大学用 $N^+$ 束辐照法国小麦品种Premebi,出现复杂和多样型染色体结构变异,从 $M_2$ 获得人工创造的非整倍体变异,这为小麦非整倍体培育提供了一条有效途径<sup>[12]</sup>。崔海瑞(1995)用剂量为 $4 \times 10.6N^+/cm^2$ 的离子束辐照四倍体黑麦,中期I许多染色体串联在一起,在赤道板上形成一条染色体链,类似于拉马克月见草(*Oenothera lamarckiana*)中所特有的伦纳氏复合体(Renner's complex)。这是染色体连续易位的结果,若能进一步确定,将对固定麦类作物的杂种优势具有重要意义。安徽农业大学利用离子束处理玉米种子获得一高光效的多穗型材料,是玉米高产育种一种极其珍贵的基因资源。

## 2. 离子注入技术应用于动物和微生物品种改良

离子注入技术应用于动物品种改良最早的工作是由安徽农科院在家蚕上开展的。他们应用氮离子注入蚕卵和蚕蛹,不仅观察到一些特殊的生物效应,而且自1990年以来从离子注入后代中选育出一批优良的基因型材料,经选择有全茧量和茧层量增大,纤度增粗趋势。其中 $M_0$ 有一稳定雌突变个体,全茧量3.25g,茧层量2.6g,经氮离子束辐照育成的粗纤度品系配成一代杂交种,纤度达3.71旦尼尔,接近国家“八五”粗纤度蚕品种3.8旦尼尔的攻关指标<sup>[13]</sup>。

离子注入技术在微生物上应用起步虽晚,但诱变效果十分显著,取得了可喜的成果。中国科学院等离子体物理研究所先后对 $\alpha$ -淀粉酶菌种和利复霉素生产菌种进行改良,经诱变筛选利复霉素发酵水平提高40%,化学效价达6300单位,该诱变菌投入生产试用,效价提高20%。浙江农科院利用离子束辐照糖化酶生产菌不同生长阶段的孢

子,结果表明离子束诱发的正突变率高于 $\gamma$ 射线,经筛选摇瓶发酵产酶活力从出发菌1.5万单位提高到平均2万单位,最高可达2.6万单位,传代试验产酶性能稳定,现已投入生产。用离子注入诱变玫瑰黄链霉菌,其供试菌的总变异和正突变率分别为79.43%和26.73%,从正突变菌株中筛选到2个高产、稳定菌株,其效价比出发菌分别提高61.5%和75.3%<sup>[14]</sup>。1993年投产,已为5000万只(头)禽(畜)治疗肠道疾病,总有效率达95%以上,取得明显的经济效益。

## 3. 离子注入的当代效应及其利用

离子注入可引起明显的当代效应,包括遗传效应和生理效应。在生理效应中除了损伤和抑制作用外,还对辐射当代生物产量和品质改良有明显的效应。中国农科院和北京师范大学用35keV的 $N^+$ ,剂量为 $10^{14} \sim 10^{15} N^+/cm^2$ ,处理甜菊干种子,两年结果均显示在合适的能量和剂量下,氮离子处理能显著提高甜菊产量,总产糖量比对照增加83%,尤其是莱包迪A甙(Rebaudioside A)产量比对照增加162%<sup>[15]</sup>。据国外研究,甜菊的甜味成分有8种,其中主要的甜菊糖甙(Stevioside)甜度为蔗糖的200倍,有异味;而莱包迪A甙甜度为蔗糖的450倍,味近白糖,虽可通过加酶水解获得,但工艺复杂、成本高,不易应用。氮离子注入定向提高莱包迪A甙含量,为甜菊品质育种开辟了一条新路,对甜菊利用将产生推动作用。目前此项技术正在进一步推广应用。安徽农科院用 $N^+$ 离子注入烟草种子,使当代烟叶内外观品质大幅度提高,如S79-1种子经 $N^+$ 离子处理,当代烟叶使上中等烟比例、均价、产值分别较对照提高70.33%,43.75%和36.32%;尼古丁含量较对照提高8.55%;全磷、全钾含量较对照提高14.63%和17.72%,而全氮、蛋白质、氯离子含量较对照分别下降6.95%,9.68%和27.4%。从而提高了烟叶香吸味及燃烧性<sup>[16]</sup>。由于烟草和甜菊的种子小,繁殖系数大,处理成本低,效益高,利用当代效应是可行的。

另一方面,许多研究表明,离子注入可诱

发能遗传的当代突变。如安徽农科院用  $N^+$  离子注入早籼水稻品种陆伍红干种子, 当代出现可遗传的黄化突变体。该突变体的特点是苗期叶片黄色, 随着植株生长发育和温度升高逐渐转绿正常, 遗传分析表明是受一对隐性基因控制的温敏型叶绿素突变体。目前已将该隐性基因转育到光敏核不育材料中, 育成了具有黄化标记性状的光敏核不育系, 这对水稻两系法的杂交制种及杂种鉴定具有重要意义<sup>[17,18]</sup>。此外, 安徽农业大学和山东烟台农科所用氮离子注入棉花和番茄干种子, 当代获得了可遗传短果枝棉花突变体和番茄早熟大果突变体<sup>[6]</sup>。这对加速育种进程和揭示离子束作用机理具有重要意义。

#### 4. 离子注入应用于植物转基因与远缘杂交

在离子束与生物体相互作用过程中, 粒子的注入、动量的传递和电荷交换可导致植物细胞质表面被刻蚀, 引起细胞膜透性和跨膜电场的改变<sup>[19]</sup>。根据这一原理, 近几年来发展了一种离子束介导的转基因技术。安徽农科院和安徽农业大学利用该法将 GUS 基因导入水稻和棉花带壁细胞<sup>[20~22]</sup>, 并将外源潮霉素抗性基因 (hph) 导入水稻种质细胞, 获得了转基因株<sup>[23]</sup>。同时, 利用该法将玉米全 DNA 导入水稻种胚细胞, 其后代植株表现典型的玉米性状且能稳定遗传, 目前已从中选出多个玉米稻品系。应用此法将野生棉 DNA 导入陆地棉品种种胚细胞, 其后代也获得了部分野生棉性状的表达。由此可见, 离子注入作为一种新的外源基因导入方法, 对植物品种的改良具有重要作用。当然, 这一方法的应用还需进一步完善, 以便提高转化效率和扩大作物应用范围。

另一方面, 离子注入技术在克服远缘杂交的困难方面也有一些应用报道。如北京农业大学利用氮离子注入普通小麦品种和四倍体黑麦干种子, 分别与未处理的二倍体黑麦和八倍体小黑麦杂交, 结果表明处理母本可明显提高远缘杂交结实率, 平均提高约 2.5%, 这对克服远缘杂交不亲和性具有积极

作用。安徽农业大学利用氮离子注入海岛棉和陆地棉杂交  $F_1$  种子, 其后代遗传稳定明显加快, 并从中选出了综合陆地棉和海岛棉性状的稳定优良品系<sup>[24]</sup>。这可能预示着离子注入在加速远缘杂种遗传稳定上具有独特作用。

综上所述, 离子注入作为一种新技术应用于生物品种改良是有效的。由于这一技术应用时间不长, 许多问题仍有待进一步研究。就离子种类而言, 目前基本上是利用氮离子, 但不同离子对生物体的作用特点及其诱变谱和诱变频率是有差异的。因此有必要加强其它离子的作用机理及诱变规律的研究和多学科的协同攻关, 进一步完善离子束介导转基因技术, 发展离子束的细胞加工和定位诱变技术, 使离子注入在生物品种改良中发挥更大作用。

#### 参 考 文 献

- 1 Yu Zengliang et al. Radiat Phys Chem, 1994, 41(4): 349~352
- 2 Shao Chulin et al. Radiat Phys Chem, 1994, 41(6): 651~654
- 3 Yu Zengliang et al. Nucl Instrum Method, 1991, B59: 705~708
- 4 国家自然科学基金学科发展战略研究报告 核技术, 北京: 科学出版社, 1991. 162
- 5 吴跃进等. 核农学通报, 1990, 11(4): 154~156
- 6 夏英武等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 241~245
- 7 郑冬官等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 315~317
- 8 邱振祥等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 321~325
- 9 江峰慧等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 295~298
- 10 王 钰等. 中国甘薯, 1994, 7(4): 202~209
- 11 蔡得田等. 华中农业大学学报, 1991, 10(3): 223~227
- 12 吴兰佩, 崔海瑞等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(5): 233~240
- 13 李 圣等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 326~329
- 14 黄文彩. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 282~285
- 15 舒世珍等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 299~302
- 16 林国平等. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 317
- 17 吴跃进等. 安徽农业科学, 1991, (1): 1~3
- 18 吴跃进等. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 258~261
- 19 余增亮等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 260~264
- 20 Yu Zengliang et al. Nucl Instrum Method, 1993, B 80/31: 1323~1333
- 21 程备久等. 安徽农业大学学报, 1993, 20(增): 19~27
- 22 杨剑波等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 330~335
- 23 杨剑波等. 科学通报, 1994, 39(16): 1530~1534