



图9 真空圆形基底拉伸

国际上,生物力学目前最热的领域是应力(主要指机械应力)作用下细胞的响应,特别是与细胞生长和重建有关的研究。这些研究正不断向纵深发展,探索包括环境应力如何传递至单个细胞,应力信号如何被细胞感受,又如何转换到DNA水平的基因调节,并最终导致代谢、分泌、粘附状况的变化等问题。这些是生物力学(细胞力学)尚未完全明了的基础性内容,同时也是组织工程学的重要基础。体外分离细胞和加载培养技术的发展,使我们能够对细胞力学行为进行更为深入的研究。对于实验技术而言,无论是手段、方法和原理都有待进一步改进和完善。仍需对实验技术和方法不断进行革新,研制更合理、更完善的细胞力学实验装置,更好地模拟细胞的在体环境,以便更加精确、实时地测量加载时细胞的应力和应变,更加深入地认识和了解细胞的力学转导机理。

参 考 文 献

- [1] Beckerle M C, et al. ,1990, *Cell Motil Cytoskeleton*, **16** (1): 7-13.
- [2] Gooh K J, et al. ,1997, Mechanical forces: their effects on cell and tissues, TX, USA: Springer-Verlag, 4-4.
- [3] 柳兆荣等,2001,中国生物医学工程学报, **20**(2): 187-192.
- [4] Nguyen K T, et al. ,2001, *Ann Biomed Eng*, **29**(2): 145-152.
- [5] McAister T N, et al. ,2000, *Biochemical and Biophysical Reseach Commun*, **270**(2): 643-648.
- [6] Chiu J J, et al. ,1998, *J Biomech Eng*, **120**(1): 2-8.
- [7] Truskey G A, et al. ,1995, *J Biomech Eng*, **117**(2): 203-210.
- [8] Dewey C F, et al. ,1981, *J Biomech Eng*, **103**(3): 177-185.
- [9] Langille L B. ,1984, *Biorheology*, **21**(3): 333-346.
- [10] 李绵洋等,2002,中华医学杂志, **82**(4): 267-270.
- [11] 张西正等,2002,北京生物医学工程, **21**(1): 40-42.
- [12] Zahalak G L, et al. ,1990, *J of Biomechanical Engineering*, **112**: 283-294.
- [13] Wang N, et al. ,1993, *Science*, **260**(5111): 1124-1127.
- [14] Rubin J,1997, *J Cell Physiol*, **170**(1): 81-87.
- [15] 邢东明等,2001,解剖学报, **32**(4): 385-387.
- [16] Leung D Y,1977, *Exp Cell Res*, **109**(2): 285-298.
- [17] Ives C L,1986, *In Vitro Cell Dev Biol*, **22**(9): 500-507.
- [18] Carosi J A, et al. ,1992, *J Cells Physiol*, **151**(1): 29-36.
- [19] 李小彤等,2002,中华口腔医学杂志, **37**(2): 135-138.
- [20] Owan I, et al. ,1997, *Am J Physiol*, **273**(3 Pt 1): C810-815.
- [21] Brighton C T, et al. ,1991, *J Bone Joint Surg Am*, **73**(3): 320-331.
- [22] Gilbert J A, et al. 1994, *J Biomech*, **27**(9): 1169-1177.
- [23] 邹淑娟等,2002,现代口腔医学杂志, **16**(3): 214-215.
- [24] Vandenburg H H, et al. 1991, *J Biomech*, **24** (Suppl 1): 91-99.
- [25] Soma S, et al. ,1997, *Arch Oral Biol*, **42**(3): 205-211
- [26] Banas AJ, et al. ,1985, *J Cell Sci*, **75**: 35-42

地球外空间环境引起植物变异的研究进展

刘 敏* 薛 淮 潘 毅 张纯花 张文利

(中国科学院遗传与发育生物学研究所 100101 北京)

摘 要 空间诱变育种是近年来迅速发展起来的空間生命科学研究领域,由于空间环境具有超真空、微重力、宇宙射线、宇宙磁场以及超洁净的特殊条件,使植物在空间环境中发生了目前地面尚不能模拟的变化。本文将近年来在返回式地面卫星、神舟飞船和俄罗斯和平号空间站搭载的种子进行的细胞学、生理学以及 RAPD 分子检测等方面的研究工作进行了初步总结,目前该领域中还有许多问题有待进一步深入探讨。

植物空间诱变育种是近年来迅速发展起来的集航天技术、生物技术与农业育种技术相结合的空间生命科学领域。空间环境是空间科学研究的一个特

殊的重要领域,其具有超真空、微重力、宇宙射线、宇

* 联系人。E-mail: mliu@genetics.ac.cn

宙磁场以及超洁净的特殊环境^[1],这一特殊的环境是目前地面上尚无法模拟的,植物种子及种苗在空间环境中发生了较显著变异是公认的事实,其有关机理方面的研究已在全世界引起关注,不过空间诱变机理至今仍不清楚,它涉及生物学、物理学等多种学科。我国在空间诱变机理方面的研究目前还处于起步阶段。

由于空间诱变具有变异频率高、有效变异多、变异幅度大等特点^[2],正日益受到各国科学家的重视,一些航天大国以及我国都正将空间诱变机理研究提到了重要的议事日程上来。

从1960年开始,国外通过卫星搭载各种植物材料50多次,研究了空间条件对植物生长发育、生理生化及遗传特性的影响^[3,4];空间微重力、高能粒子对植物种子和植株的影响^[5];植株和细胞在空间条件下生长、发育及其衰老过程^[6];低等植物在空间生长规律等^[7]。例如前苏联将枞树种子送入太空,在后代中获得快速生长的变异植株;美国将番茄种子送上太空达6年之久,回收后选育,也获得变异的太空番茄。另外美国又将小麦种子放入空间站,研究了在空间条件下种子从发芽到植株再结出小麦种子整个生长发育过程^[8]。据美国威斯康星大学空间实验室的最新报道,他们于1997年曾在和平号空间站进行了大豆、小麦的空间种植,现在与孟山多公司进行大豆、拟南芥及一些香料作物如玫瑰的空间诱变工作,以期提高玫瑰油的品质等。

我国自1987年以来,利用8颗返回式地面卫星和4次高空气球进行搭载农作物种子。2001年统计数字表明:总计有22个省市,70多个单位搭载了65种作物,370多个品种,研究了空间条件对农作物诱变的作用,培育出一批新的突变类型和具有优良农艺性状的新品系和新品种^[3]。经卫星搭载的水稻种子,其变异频率为12.5%,比地面对照的变异频率提高100倍。

中国科学院遗传与发育研究所曾对太空甜椒87-2(原种为龙椒2号)、黄瓜航遗1号及番茄进行过细胞学、生理学及分子生物学方面的研究工作^[5]。刘敏等对太空甜椒87-2进行过氧化物同工酶及RAPD分子标记检测的结果表明:太空搭载的甜椒的扩增产物比对照龙椒2号多出1条带。在太空椒87-2与地面对照龙椒2号的过氧化物同工酶分析中,太空椒87-2的酶带与对照相比有明显的加粗现象,从而说明太空椒87-2酶的活性及代谢关系都发生了变化,该品种目前遗传性状已十分稳定,单果平

均重400克,亩产已达万斤以上,Vc含量提高15%。目前,太空甜椒在我国北方地区推广面积达20万亩左右,取得了良好的经济效益。在取得了上述检测结果的基础上,目前正在对太空甜椒87-2进行RFLP实验。

太空黄瓜航遗1号在搭载上天之前进行了种子纯度检测,证明了黄瓜种子在搭载之前纯度达到了100%,经1996年返回式地面卫星搭载在地面种植一代后,从在田间随机取样的过氧化物同工酶检测结果来看,卫星搭载的种子后代酶的活性出现增强或减弱的变化。同时也进行了RAPD分子标记检测,酶的活性变化的植株其分子标记图谱有相应改变,初步证明了太空环境确实使黄瓜种子发生了DNA方面的变异。太空黄瓜经地面五代种植选育后,现在已获得了一个高产优质的新品系,平均单果重1000克,长40厘米,且果肉爽脆、果型直,具有良好的商品性状,亩产达1.1至1.2万斤,在甘肃、河北、北京、四川等地种植反映很好,良好的性状经四代以上种植也已稳定。对其进行RAPD分子标记初步检测,证明了太空黄瓜航遗1号遗传性状已经稳定(结果待发表)。对太空番茄进行的RAPD分子标记的初步检测,与太空甜椒87-2、太空黄瓜航遗1号的结果基本一致^[6]。

在作物太空育种取得初步成效的同时,太空花卉育种也出现了令人兴奋的结果,例如卫星搭载的一串红、万寿菊、醉蝶等植株中均得到了大花型、花期长及花色的变化等一系列良好的突变性状。刘敏等从RAPD检测结果中,初步证明这些变异是由DNA发生变化而产生的(结果待发表)。

最近,刘敏等对和平号空间站搭载五年的番茄种子进行了第一代、第二代地面种植,同时进行了细胞学、生理学及遗传学等方面的研究,从地面种植情况来看,在外观上番茄植株发生了很大差异。播种了30粒种子,其中21粒萌发,但有3粒萌发时子叶呈灼烧状,推断是射线灼伤了子叶及生长点所致。其余植株虽然生长健壮且开花结实,但其出现了性状分离。例如第一代植株不仅高矮大小相差悬殊,而且叶片也发生了变异,另外每一单株的过氧化物同工酶的活性都发生了变化,从而表明在太空环境中种子生理生化等特性方面确实出现差异,这也与太空甜椒87-2、太空黄瓜航遗1号、太空番茄研究结果相类似,和平号空间站搭载的种子在太空中持续五年,受太空复杂的综合因素影响时间长,因此变异尤为突出。第二代地面种植时,仍表现出遗传性状

的不稳定,对其各项遗传学检测正在进一步深入进行。

在细胞学检测方面,细胞内叶绿体膨大变形现象仍然存在^[7],线粒体嵴消失的现象与太空椒87-2、太空黄瓜航遗1号的细胞学观察以及模拟微重力实验的结果十分相似^[8,9],说明了太空环境对植物的作用是相似的。

最近,中科院遗传与发育所在神舟3号飞船上成功搭载了试管苗,这些葡萄、兰花、树莓试管苗在空间飞行7天后,不仅生长速度比地面对照快,而且分化能力也大大加强。

经空间飞行后,试管苗平均高度比搭载前增加了4-6厘米,而地面对照试管苗在这段时间内高度增加了约1厘米,这与失重因素有一定关联^[10]。试管苗搭载材料为带有小苗的愈伤组织,太空飞行后,愈伤组织分化能力明显加强,平均每个试管由原来的1株小苗增加到5-10株。而地面对照试管内在这段时间内分化几乎没有进展。以目前分化成苗的情况观察,畸形苗及徒长苗明显增多,外观变异平均在50%左右,这样高的变异率是当今任何一种诱变技术无法比拟的。目前,对“神舟3号”飞船搭载的试管苗的各项跟踪检测正在顺利进行。

总之,无论是我国的返回式地面卫星及飞船还是俄罗斯“和平号”空间站搭载的种子,在地面上产生变异是无可争辩的事实,而且在细胞学、生理学方面的变异有许多相同之处。各国科学家对植物空间诱变表示了极大的兴趣与关注,下面将对空间诱变归纳为如下几种较为典型的变化:

第一,空间诱变对形态学性状的影响

从目前搭载的种子,试管苗生长情况看,经空间处理后其后代在形态学上都出现显著的变异。例如卫星搭载的水稻在SP₂代中,分蘖数、穗粒长、穗粒数、粒型、千粒重等农艺性状发生变异^[3],太空甜椒87-2不仅果型大,产量高,植株高大,而且抗病性好^[5],另外空间处理的大麦和小麦种子与地面对照相比,植株茎秆变粗且有矮化现象分蘖增多等。

第二,空间诱变对植物生长发育的影响

一方面,Rasmussen等^[12]1994年发现在空间条件下,原生质体的细胞壁合成缓慢,纤维素合成速率较低而果胶酶合成速率较高。另一方面,刘敏等^[9]发现微重力条件可以使细胞内淀粉粒增多,加速细胞的衰老过程,在最近飞船搭载的树莓试管苗中也有细胞淀粉粒增多的现象出现。

另外,长时间的宇宙射线的辐射,使植物种子子

叶灼伤,从而导致幼苗生长畸形,生长缓慢,植株矮小,甚至花器官发育不完全,果实败育等现象。俄罗斯和平号空间站搭载五年的番茄种子就出现了上述变化。

第三,空间诱变对细胞亚显微结构的影响

空间环境对正常植物来说是一个不正常的生存环境,例如微重力条件下,所呈现的细胞壁和细胞器的变化是典型的植物在逆境条件下发生的变化,是由于植物细胞的各个部分在这种逆境胁迫作用下呈现出适应性结果。刘敏等^[9]对马铃薯和香石竹在模拟微重力条件下进行研究,实验结果表现出叶绿体片层结构扭曲、变形、断裂、边缘模糊、线粒体内含物溢出,以及嵴不明显,细胞壁收缩,及细胞内含物呈现出无序排列状态等变化。

第四,空间诱变对植物光合作用的影响

Tripathy等^[13]研究了太空小麦的生长和光合反应,发现与地面对照植株相比,幼芽的干重降低了25%,而O₂的释放量的测定表明,在限定光强条件下,水平不受显著影响,另外微重力条件下植株叶的光补偿点提高了约33%,他们认为可能是由于叶的暗呼吸速率提高造成的。

第五,空间诱变对细胞中钙水平及分布的影响

钙离子是植物生长发育必需的营养元素之一,它是细胞壁的主要成分,细胞中的游离钙具有偶联胞外信号和胞内生理生化反应的作用。钙离子作为第二信使参与了微重力作用下引起的植物细胞的信号传导^[14],赵琦^[15]等在模拟微重条件下的实验结果表明,钙离子主要分布和积累在芦笋根的表皮叶表皮细胞中,他们指出钙离子的分布与微重力作用有显著的相关性,对钙离子的吸收,分布和运转均有重要影响,Sievers^[16]等指出细胞质中钙离子浓度变化可以反过来刺激质膜对钙离子的束缚力甚至影响到质子泵,在微重力的刺激下,细胞中钙离子浓度及分布发生变化,细胞质中游离钙离子与钙调蛋白结合后,植物细胞中的某些酶类被激活从而引发一系列的生理生化反应。

第六,空间诱变对种子活力的影响

种子活力常以种子有无呼吸作用及呼吸的强弱来表示,高文远^[18]等研究发现红花种子经空间飞行后,其平均发芽率及过氧化物同工酶活性均高于地面对照,这一结果指出微重力和辐射对红花种子发芽产生影响。吴岳轩^[18]等指出空间飞行可提高番茄种子活力和促进初期生长,俄罗斯和平号空间站搭载五年的番茄种子,仍有70%的萌发率,而普通

在地面上的番茄种子,在4℃恒温下种子如放置五年后,萌发率低于30%,如在常温下保存五年,萌发率只有3%。

第七,空间诱变对蛋白质的影响

空间条件处理的番茄种子种植后叶片的过氧化物酶和酯酶同工酶谱带比对照增加^[6],另有报道指出小麦种子的酯酶谱带相应比对照减少^[2],甜椒的过氧化物同工酶谱带颜色明显比地面对照深^[5],这些现象表明不同作物对空间处理的生物学反应不同。董君^[19]等指出微重力不足以改变蛋白质肽链的构象及与蛋白质分子联系较强的溶剂分子的结合状况,但微重力可能改善与蛋白质分子联系较弱的有序水分子结构,并且微重力下蛋白质晶体质量改善的显示程度可能与蛋白质晶体的溶剂含量相关。这些发现从一个方面揭示了微重力改进蛋白质晶体质量的机理。

第八,空间诱变对于DNA影响

刘敏等^[5]对卫星搭载的甜椒、韩冬等^[6]对卫星搭载的番茄都进行了RAPD分子标记检测,发现空间诱变使DNA发生了变化。邱芳等^[20]对绿豆种子的突变体和原始对照品系之间进行了RAPD检测,从100个随机引物中选到了3个特异性的引物,并将其中一个特异扩增产物换成了稳定的SCAR标记。邢金鹏等^[21]对卫星搭载的水稻农垦58大粒型突变系及对照进行了RAPD分析,找出与大粒性状有关的特异片段OPA18-3, Southern杂交测定了拷贝数,克隆到了Ruc18中,OPA18-3特异标记定位在水稻第11条染色体上,证明了突变系在DNA水平上发生了变异。

空间诱变正日益受到世界各国科学家的关注,由于植物发生空间诱变是超真空、微重力、宇宙射线辐射、宇宙磁场等诸多因素综合作用的结果,就目前对空间条件研究的水平上看,仅仅将模拟微重力、重粒子辐射作为单因子进行研究取得了一些进展,但空间条件是一个复杂的综合因素,目前人们还无法将诸因素分解开来逐一对植物变异进行研究,还有许多问题有待进一步探索,尤其是在遗传学方面的研究有待深入,在分子生物学及基因组水平上分析空间诱变是一个十分艰巨的工作,但该项研究将为真正揭示空间诱变的本质提供了重要的理论依据,

并将对空间植物育种等工作给予相应的理论保障。

参 考 文 献

- [1] 杨垂绪、梅曼彤,太空放射生物学,1995,中山大学出版社.
- [2] 李金国、蒋兴村、王长城等,1996,遗传学报,23(1):48-55.
- [3] 李源祥、蒋兴村、李金国等,1998,航天医学与医学工程,11(1):21-25.
- [4] 陈芳远、蒋兴村等,1994,中国水稻科学,8(1):5.
- [5] 刘敏、王亚林、薛淮等,1999,核农学报,13(5):291-294.
- [6] 韩东、李金国、梁红健等,1996,航天医学与医学工程,9(6):72-76.
- [7] 李社荣、刘敏等,1998,中国空间技术,6:63-67.
- [8] 李社荣、刘雅楠等,1998,核农学报,12(5):274-280.
- [9] 刘敏、王亚林、薛淮等,1999,航天医学与医学工程,12(5):360-363.
- [10] 刘敏、薛淮、张赞等,2000,植物生理学报,26(5):12-18.
- [11] 樊秋玲、刘敏,2002,航天医学与医学工程,15(3):231-234.
- [12] Rasmussen O, etc. 1994, *Physiologia-Plantarum*, 92(3):404-411.
- [13] Tripathy BC et al., Growth and photosynthetic responses of wheat plants growth in space. *Plant Physiology*, 1992, 100(2), 692-698.
- [14] Kordym EL et al., 1984, *Adv Space Res*, 4(10):23-26.
- [15] 赵琦、李京淑、徐继,1998,航天医学与医学工程,1998, 11(1):30-34.
- [16] Siever A, Hensel W. Gravity perception in plants "Fundamental of Space Biology" Japan Sci. Press, Tokyo, Springer Verlag, Berlin. Eds. Asashima M, malacinski GM, 1990, 43-55.
- [17] 高文远、赵淑平、薛岚,1997,中国药学杂志,32(3):135-138.
- [18] 吴岳轩、曾高华,1998,园艺学报,25(2):165-169.
- [19] 董君、潘冀森、王耀萍等,1998,航天医学与医学工程, 11(1):26-29.
- [20] 邱芳、李金国、翁曼丽等,1998,中国农业科学,31(6):38-43.
- [21] 邢金鹏、陈受宜、朱立煌等,1995,航天医学与医学工程,8(2):109-112.

来 函 照 登

《细胞生物学杂志》2003年第2期发表的“LeETR1反义基因对番茄的遗传转化”一文(120页)图5,“1-5为反义LeETR1转基因番茄植株(阴性对照)”应为“3-5为反义LeETR1转基因番茄植株(阴性对照)”。