

重离子辐照微生物效应及诱变育种进展

缪建顺^{1,2,3} 杨建设³ 张苗苗^{1,2} 曹国珍^{1,2} 李文建^{1,2} 陆 栋^{1,2}

¹ (中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

² (甘肃省微生物资源开发利用重点实验室 兰州 730000)

³ (西北师范大学生命科学学院 兰州 730070)

摘要 重离子束作为一种高效的、典型的诱变辐射源广泛用于生物育种。不同质量数、电荷数和不同能量的重离子束作用于生物细胞有特殊的过程和作用,其先后经历物理、化学和生物学三个阶段,最终引发终点生物学效应,如辐射低剂量超敏感现象,活性氧代谢变化等。本文重点探讨重离子束辐照微生物体后出现的主要终点生物效应,以及近年来重离子辐照微生物诱变育种在工农业等方面取得的成果。

关键词 重离子辐照, 低剂量辐射超敏感效应, 增强的辐射抗性, 活性氧, 抗氧化酶, 微生物育种

中图分类号 Q937, TL99

重离子束是一种高效的人工电离辐射,加速的重离子对生物细胞的作用是一个非常复杂的过程,具有特殊的生物学效应,与其他理化因素诱发的生物学效应相比既有相似性又有其特殊性。重离子与生物分子相互作用可分为物理过程、化学过程和生物学过程^[1]。加速的重离子与生物分子首先发生物理碰撞,从微观来看主要是原子核的相互作用,紧接着相互作用的分子电离或电子激发,引起分子结构或构象的化学变化,在与靶生物分子相互作用中,能量逐步损失,最后停留在靶细胞中,最终可能引起生物大分子生物学功能的改变。重离子辐照在生物品种改良方面具有突出优势,在微生物、植物等生物品种选育中取得了良好的效果。如中国科学院近代物理研究所用重离子辐照甜高粱、小麦、大豆、蓖麻等植物,已获得多个有利突变体;同时重离子辐照黑曲霉、酿酒酵母、阿维菌素生产菌等微生物已筛选获得高产稳定菌株^[2-4]。由于重离子辐照对机体的损伤可以发生在多个位点和多种分子,对生命体的影响是一个非常复杂的过程,所以其产生生物学效应的确切分子机制目前不甚明了。本文重点就目前研究最为集中的重离子辐照微生物的主要生物学效应和重离子辐照微生物诱变育种应用两个方面做一综述,试图通过这些方面的探讨增进对重离子

束与生命体关系的进一步认识,进而为做好重离子束应用和资源开发提供参考和建议。

1 重离子辐照诱导微生物效应

辐射作为对生物胁迫形式的一种,随着剂量的不同对生物会有不同的影响。重离子束为特殊的辐射形式,对生物体有着特殊的作用和过程。例如加速的重离子传能线密度(Linear energy transfer, LET)大,离子接触受体样品后首先发生物理过程,引起细胞表面穿孔^[5],甚至直接穿透微生物,而在此过程发生能量沉积,并伴随发生一系列的化学反应,改变生物大分子的结构或空间构象,最终引起生物大分子生物学功能的改变,产生终极生物学效应。

生物接受低剂量辐照时会有一些基础性反应来应对胁迫,比如引发辐射低剂量超敏感现象,通过影响自由基代谢等其它方式转化胁迫损伤,我们把这一系列反应称为初级反应。

1.1 低能量重离子束引发辐射低剂量超敏感现象

通过对重离子束辐照细胞后致死效应的大量研究发现,在一定剂量区域内随吸收剂量增加,存活曲线出现相似的“马鞍形”变化趋势^[6-8],即随剂量的增加,细胞存活率先急剧下降,而随后细胞的存

基金资助:中国科学院西部之光人才培养计划项目(Y306010XB0)和国家自然科学基金(U1232126)资助

第一作者:缪建顺,男,1990年1月出生,2012年6月毕业于西北师范大学,现为西北师范大学在读硕士研究生,主要从事重离子辐照生物机理研究, E-mail: mjshun8223@163.com

通讯作者:陆栋,博士,副研究员, E-mail: ld@impcas.ac.cn

收稿日期:收稿 2013-12-13; 修回 2014-1-24

活率有所上升,最后再下降,他们将低剂量范围内这种反常剂量存活效应称为 HRS/IRR,即低剂量辐射超敏感效应(Low-dose hyperradiosensitivity, HRS)及增强的辐射抗性(Increased radioresistance, IRR)^[9]。王鹏银等^[10]选用 10 keV N^+ 离子注入酒精酵母 AY-15 研究其诱变效应,结果表明,AY-15 菌株存活率曲线是典型的“马鞍型”剂量-效应曲线,“马鞍型”区域内具有较高的突变率。杨天佑等^[11]用低能 N^+ 注入 *E.coli* 发现小于 $10 \times 10^{14} \text{ cm}^{-2}$ 低剂量离子注入大肠杆菌可诱发 HRS/IRR 效应,并且 HRS/IRR 的诱发过程与细胞内抗氧化酶的诱导酶活变化过程关系密切。吴健等^[12]用低能 N^+ 注入白色链霉菌,再次得到了“马鞍形”曲线,存活率的马鞍点出现在 $5 \times 10^{15} \text{ cm}^{-2}$ 注量处。而宋乐等^[13]研究认为单独的辐照不能形成“马鞍型”曲线,必须借助真空,盐胁迫等条件。

“诱导修复”模型被人们广为接受^[14]。这种模型有两种解释:第一种认为受到辐照损伤的细胞要启动各种修复途径,受辐照剂量要达到一定的阈值,这种阈值可能是特定的 DNA 损伤,而一定剂量的辐射(低于临界值)不足以激发修复效应,结果导致高的致死率,即 HRS 效应;而高于阈值的辐射能诱发损伤修复效应,使得辐照细胞相对升高,即为 IRR 效应^[15]。然而,还有一种解释认为不同剂量的辐照导致 DNA 结构的变化不同,可能一定剂量下造成的损伤更有利于损伤修复,从而提高了 DNA 修复率,一定程度增加了细胞存活率^[16]。虽然 HRS/IRR 现象的具体机制暂不清楚,但可以肯定的是该现象与细胞损伤修复机制有关联,但是在有些研究中 HRS/IRR 现象并不明显,Joiner 等^[17]研究指出这可能与细胞修复机制和 LET 等因素有关。

1.2 低剂量的辐照引起微生物中活性氧增加

活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是生物体内正常代谢时,氧化还原过程由于电子传递异常而产生的一种高活性的中间产物,通常具有强氧化性。ROS 的产生是对自身或外界损伤的基础反应,在多种生理和病理过程中扮演着重要的角色。例如 ROS 可作为第二信使在 AKT 途径、线粒体介导的 Caspase 凋亡途径、细胞周期蛋白调控等信号途径中发挥重要功能^[18],而过量的 ROS 对酶、脂膜等会产生氧化毒性,引起代谢紊乱。大量研究表明,电离辐射诱发动植物细胞产生活性氧 ROS,微生物

细胞也不例外。ROS 的产生是射线辐照细胞后理化反应的结果,而随着射线能量在细胞内沉积,理论上 ROS 不断增加。

重离子辐照能够使受照细胞生成 ROS,通常包括超氧自由基($\cdot O_2^-$)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)等^[19-20],这类物质不仅可以破坏蛋白质、膜磷脂和核酸等生物大分子,还可以攻击细胞膜和细胞器,最终导致细胞受损,甚至凋亡或坏死^[21]。如王洁等^[22]用碳离子对四尾栅藻的辐照,随着辐照剂量的增加,其致死率呈明显上升趋势。其认为藻细胞受到重离子辐照后,有可能产生活性氧和自由基,导致叶绿素分子破坏,使光合作用效率降低,还可能改变生物大分子的构象和构型,从而影响其功能,导致蛋白质合成受阻,引起脂质过氧化,抗氧化酶活性下降,严重时即可产生致死效应。宋道军等^[23]研究发现,重离子辐照含水量较高的单细胞微生物时,细胞内所生成的自由基的浓度随着注入剂量的增大而升高,当达到一定水平后便趋于饱和。而刘敬等^[24]用一定剂量的重离子辐射诱导大肠杆菌 BL21,研究旁观者效应发现受照细胞比对照细胞生长的慢,自由基清除剂 DMSO(二甲基亚砷)可以部分抵消这种效应。结果表明,重离子辐照确实产生了大量的 ROS,而 ROS 可能与大肠杆菌 BL12 中的旁观者效应有关。余思邈等^[25]的研究也认为自由基可能是引发旁观者效应的重要信号分子。

1.3 低剂量的重离子辐照引起微生物抗氧化酶系启动

活性氧与电离辐射损伤效应有关,一定程度上对辐射损伤起推动作用。如 Gao 等^[26]的实验证明,细胞内 ROS 的积累可能引起放射增敏作用。而细胞在长期的进化过程中形成了一套完整的抗氧化酶体系,通过这些酶来降低氧化损伤,又称为保护酶。细胞内消灭 ROS 的保护酶有多种,主要有超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GPX)等,它们能通过化学反应降低 ROS 含量,保护细胞免受活性氧毒害^[27]。

SOD 是一种普遍存在于生物体内的含有金属离子的酸性蛋白酶,也是一类重要的氧自由基清除剂^[28]。它能催化超氧阴离子(O_2^-)歧化为过氧化氢(H_2O_2),而过氧化氢对细胞仍有毒害作用。此时以

铁卟啉为辅基的有强催化能力的 CTA，能将 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ，而 POD 可以催化 H_2O_2 氧化有毒性的酚类和胺类，降低 H_2O_2 含量，防止 H_2O_2 与 O_2 继续生成毒性更强的 $\cdot\text{OH}$ 。这 3 者在清除氧自由基时有协同作用，酶活基本都表现为先上升后下降的变化趋势，但在不同情况下，其活性变化又有区别。例如，宋道军等^[29]早年研究发现， N^+ 注入大肠杆菌(*E.coli*)和耐辐射微球菌(*D.radiodurans*)，随注入剂量的增加，SOD 和 CAT 活性先不变后增加，到一定剂量活性下降。但整体 *E.coli* 中二者活性低于 *D.radiodurans*，并提前出现活性下降。而 POD 变化则不同，在 *D.radiodurans* 中，POD 酶活并不随辐照剂量变化而变化，基本保持低而稳定的活性，在 *E.coli* 中 POD 酶活相对高，且辐照达到一定剂量后 POD 酶活上升。大量研究发现，受胁迫后保护酶变化有相同规律，起初这些酶一般活性变化不明显，可能是这些酶在启动时刺激物需要达到一定量的积累，而直接刺激物的产生取决于辐照剂量，所以辐照剂量到一定量后酶活性开始上升，减少 ROS 损伤，但到一定辐射剂量，酶活性开始下降，直到低于对照，这可能是由于辐照剂量超出了生物机体的接受范围，导致代谢紊乱造成的。这与动物细胞受电离辐射后的规律相似^[30]。图 1 为重离子辐照细胞中活性氧的新陈代谢过程。

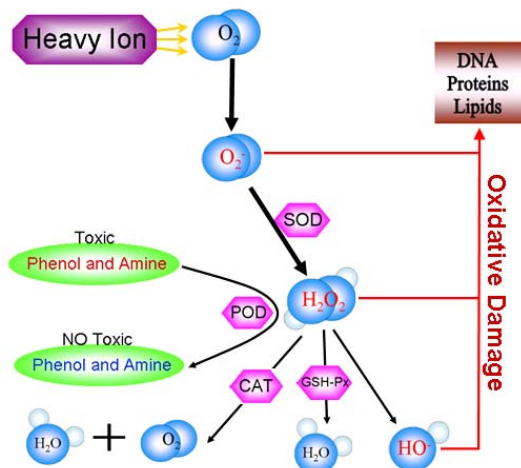


图 1 重离子辐照细胞中活性氧的新陈代谢过程

Fig.1 Active oxygen metabolism process in cells irradiated by heavy ion

重离子辐照生物产生的生物学效应还包括对细胞表面的切割与蚀刻，引起分子结构及电性的改变，对 DNA 的损伤、修复和变异等。虽然目前对重离子辐照生物产生生物学效应的具体机制研究还不够透彻，但在应用方面的丰硕成果证明了此项研究的

重要价值，也为重离子束资源的研究与开发奠定了基础。

2 重离子辐照微生物应用

我国从 1986 年开始用离子束法改良生物性状，通过辐照诱变获得微生物新基因、新性状，最终得到高产、稳定、低耗、抗菌的理想工业菌种^[31]。重离子束运用于生物学领域，使得辐照诱变育种在植物、微生物上有了更快的发展。由于重离子束辐照优越性明显，目前已经在食品、药品、农业、能源等多个方面有了重要进展。

中、高能离子束有其特殊的物理性质，如高激发性、传能线密度(LET)高和相对生物学效应(Relative biological effectiveness, RBE)大、尖锐的能量损失峰(Bragg 峰)及氧增强比(Oxygen enhancement ratio, OER)较小等^[32]，并可精确控制入射深度和部位，同时注入离子的质量也可以选择，特别是兰州重离子加速器冷却储存环(HIRFL-CSR)建成出束后，使得可供选择的离子质量范围更广^[33]。微生物种类繁多、代谢多样、可塑性强，依托重离子辐照诱变育种的优越性，将为发掘新型能源、开发保健食品、进行环境治理等带来更多的希望。

2.1 微生物药物

微生物药物的研究开发，关键在于微生物优良菌种的选育。近年来重离子以其独特的优势，在辐照药用微生物诱变育种方面取得了重大进展。例如早前中国科学院近代物理研究所用 $7 \text{ MeV} \cdot \text{u}^{-1} \text{ O}^{6+}$ 离子对庆大霉素生产菌绛红色小单孢菌进行诱变处理，通过选育使效价提高了 30%^[34]。虞龙等^[35]比较了 H^+ 、 N^+ 、 Ar^+ 注入 Vc 生产菌的诱变效应差异，并筛选出 4 株 Vc 高产菌，其糖酸（克分子）转化率达 94.8%，为企业带来了显著的经济效益，也为当时工业微生物的选育提供了一条全新的途径。XU Dejun 等^[36]用氮离子注入农杆菌 ATCC 4452，筛选出突变株 ATX 12，辅酶 Q10 产量升高，后经条件优化辅酶 Q10 生产较原始菌株增加约 245%。刘梅等^[37]把土壤中分离得到的 MPA 产生菌 F-663 经过紫外线、微波等诱变处理得到短密青霉菌(*Penicillium brevicompactum*) M-51，为得到高产菌株，进一步对该菌株进行了离子注入诱变处理。经过筛选获得产霉酚酸能力提高 30.1%的突变株 M-163，经过连续传代试验，其遗传性状稳定。

2.2 微生物食品

利用重离子辐照进行微生物菌种改良在食品生产中也得到了广泛的应用,并取得了显著的经济效益和社会效益。如 YUAN Chengling 等^[38]用 N^+ 注入花生四烯酸(5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid, AA)产生菌 *Mortierella alpina*, 筛选获得 AA 高产菌株 I49-N18, AA 产量达到 $4.66 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 解决了花生四烯酸难工业化生产的问题。而胡伟等^[2]用重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐照黑曲霉菌株,在辐照剂量为 60 Gy 时,正突变率最高,获得高产黑曲霉菌株,柠檬酸产量比原始菌株增加 18%。YANG Yingge 等^[39]通过氮离子束注入米根霉 PW352 得到突变米根霉菌株 RLC41-6。通过发酵实验发现其不单可以高产 L(+)-乳酸,还可以高效的利用木糖发酵。在最佳条件下,利用 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的木糖生产的 L(+)-乳酸达到 $77.39 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 微生物资源在现代农业中的应用

依托重离子高效的诱变效应,建设以微生物肥料、微生物农药、微生物饲料、环境激素和环境工程微生物等为核心的农业清洁生产技术,具有广阔的应用前景。WANG Peng 等^[40]用低能离子束照射工业菌株米根霉(*Rhizopus oryzae*),获得的突变株 RQ4015 能有效的利用葡萄糖和木糖产生 L-乳酸,为麦草秸秆转化提供了新经济方向。又如杀虫杀螨剂阿维菌素,由于其低毒高效污染小,市场不断扩大,王曙阳等^[4]用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照阿维链霉菌,研究其代谢效应,发现 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对阿维链霉菌代谢影响有利于阿维菌素(高效杀虫剂)合成,进一步筛选获得稳定性良好的突变株 ZJAV-Y1-203^[41],阿维菌素 B1a 组分产量稳定在 $4460\text{--}4588 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,较出发菌株提高 11.1%–14.7%。

2.4 微生物资源能源

微生物开发新能源在沼气、酒精等方面取得重要进展,微生物油脂发酵可能成为生物柴油产业和生物经济的重要研究方向,而重离子辐照选育优良菌株是一种不可替代的育种手段。陆栋等^[3]用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐照酵母 *Saccharomyces cerevisiae*, 多次筛选获得高产酒精酵母 C03A。以甜高粱茎秆汁液为发酵原料,通过优化发酵条件,菌株 C03A 发酵 36 h 乙醇产量达到 13.2% (体积分数),比原始菌株乙醇产量提高 1.6%。WANG Peng 等^[42]用氮离子注入高山被孢霉菌 (*Mortierella alpina*), 筛选获得突变株

MAI502-8,能有效利用葡萄糖和木糖产生微生物油脂,经过发酵条件优化,油脂产量比原来增加 1.84 倍。Guangrong Hu 等^[43]首次尝试用碳离子($^{12}\text{C}^{6+}$)辐照微藻 *Desmodesmus*, 期望通过诱变获得具有增强脂质生产的突变体。其用 60–120 Gy 的重离子束处理样品,并使用不同浓度尼罗红(Nile red)或者 Bodipy 进行染色,结合流式细胞仪进行分析分选,实现高通量筛选,最终筛选获得突变株 D90G-19 油脂产率比野生型提高 20.6%,再次证明重离子辐照结合高通量筛选是改良生物性状的有效手段。

2.5 其他

重离子辐照诱变微生物在色素、酶制剂和环境工程等多个方面都有较理想的效果。如秦红霞等^[44]用 N^+ 离子注入紫色红曲菌 M5 (*Monascus purpureus*) 选育获得色素高产菌株,红色素和黄色素产量相比于原菌株提高了 121%。梅建凤等^[45]用 N^+ 离子注入法筛选获得类芽孢杆菌突变菌株,其产琼胶酶活力显著上升并可稳定遗传。值得一提的是 LIU Qingmei 等^[46]用低能 N^+ 束注入石油降解菌 SP-5-3, 获得突变菌株 S-34, 表面增大近 5 倍, 乳化活性比野生类型增加 13 倍, 该菌株是一种很有前途的水域石油污染的生物治理菌。

3 展望

重离子束作为特殊的电离辐射源,辐照生物细胞的作用发生在多种分子和多个位点,不同离子对同种细胞的辐射效应不同,同种离子对不同细胞的辐射效应也有差异,加之研究过程受到辐射剂量、辐射强度、氧效应等因素的影响,各种生物学效应产生的具体机制尚不明了,所以理论有待进一步研究。而微生物 DNA 含量低,且真核和原核基因结构存在差异,又受重离子辐照装置等客观条件的限制,辐照生物效应理论研究缓慢。虽然应用方面已有大量的研究成果,但受理论限制,进展较为缓慢。所以阐明重离子对微生物损伤的分子机制及突变剂量阈值,既有重要的理论价值,又有潜在的应用价值。

新的生物学技术也为重离子诱变微生物机理研究提供了新的途径。比如基因组学、蛋白质组学、基因猝灭技术及 RNA 干扰技术等,已经被广泛用于生物代谢调控研究。新的生物学技术和重离子辐照技术相结合,能够更高效的、定点的诱变微生物,

提高育种效率，未来将在开发微生物资源、降低能耗、改善环境等方面，发挥巨大的作用。

目前，重离子束辐照处理微生物菌株，在为食品工业、医药行业提供高转化率的发酵新菌种并使之产业化等方面，已显示出极大的优势和先进性，开创了重离子束在微生物育种应用方面的崭新局面。比如以非食品为基础生产生物燃料仍然处于初级阶段^[47]，利用微生物生产高级醇已经成功，但产量和产率有待提高，重离子辐照育种从某种意义上讲仍是一种不可替代的手段。随着科研信息化手段对微生物研究与应用的不断推动，实现资源共享，结合重离子辐照诱变技术，将推动我国乃至全球生物产业的快速发展。

参考文献

- 1 朱宝珠, 张丰收, 王志萍, 等. 重离子生物分子作用中的电子能损 [J]. 原子核物理评论, 2007, **24**(2): 138-141.
ZHU Baozhu, ZHANG Fengshou, WANG Zhiping, *et al.* Electronic Energy Loss in Heavy Ion-biomolecule Interaction [J]. Nuclear Physics Review, 2007, **24**(2): 138-141.
- 2 胡伟, 陈积红, 张珍, 等. 重离子辐照柠檬酸菌株的诱变选育 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2012, **30**(1): 53-57.
HU Wei, CHEN Jihong, ZHANG Zhen, *et al.* Mutation breeding of *Aspergillus niger* for producing citric acid by heavy ion beam [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2012, **30**(1): 53-57.
- 3 陆栋, 王颖, 刘青芳, 等. ^{12}C 离子束辐照对酵母发酵能力的影响 [J]. 核技术, 2010, **33**(5): 350-353.
LU Dong, WANG Ying, LIU Qingfang, *et al.* Improved ethanol fermentation of a yeast mutant by C-12 ion beam irradiation [J]. Nuclear techniques, 2010, **33**(5): 350-353.
- 4 王曙阳, 薄永恒, 王丽华, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对阿维链霉菌代谢效应研究 [J]. 原子核物理评论, 2013, **30**(2): 195-200.
WANG Shuyang, BO Yongheng, WANG Lihua, *et al.* Metabolic effect of streptomyces avermitilis irradiated by ion beam of $^{12}\text{C}^{6+}$ [J]. Nuclear Physics Review, 2013, **30**(2): 195-200.
- 5 李仁民, 王菊芳, 李文建. 重离子束在微生物诱变育种及生物能源开发中的应用 [J]. 原子核物理评论, 2007, **24**(3): 234-237.
LI Renmin, WANG Jufang, LI Wenjian. Application of heavy ion beams to microbial mutation breeding and exploitation of biological energy [J]. Nuclear Physics Review, 2007, **24**(3): 234-237.
- 6 邵春林, 余增亮. 离子束辐照下微生物、植物组织存活模型的研究 [J]. 核技术, 1997, **20**(7): 423-430.
SHAO Chunlin, YU Zengliang. Studies on survival model for organism of plants and microbes irradiated by low energy ions [J]. Nuclear techniques, 1997, **20**(7): 423-430.
- 7 韩荣飞, 吴跃进, 卞坡, 等. 低能重离子剂量-存活率效应及其拟合模型探讨 [J]. 原子核物理评论, 2009, **26**(4): 352-355.
HAN Rongfei, WU Yuejin, BIAN Po, *et al.* Studies on effects of low energy heavy ion implantation and model simulation [J]. Nuclear Physics Review, 2009, **26**(4): 352-355.
- 8 李培睿, 闫世梁, 张东辉, 等. 氮离子注入生物絮凝剂产生菌的诱变效应研究 [J]. 核技术, 2008, **31**(3): 193-196.
LI Peirui, YAN Shiliang, ZHANG Donghui, *et al.* Mutagenic effects of biofloculant-producing strains by N^+ ion implantation [J]. Nuclear Techniques, 2008, **31**(3): 193-196.
- 9 Joiner M C, Marples B, Lambin P, *et al.* Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms [J]. International Journal of Radiation, 2001, **49**(2): 379-389.
- 10 王鹏银, 郝欣, 郭学武, 等. 离子注入诱变选育低产高级醇酿酒酵母菌株 [J]. 酿酒科技, 2008, **1**(2): 17-26.
WANG Pengyin, HAO Xin, GUO Xuewu, *et al.* Screening of saccharomyces cerevisiae strains with low yield of higher alcohols by ion implantation [J]. Liquor-making Science & Technology, 2008, **1**(2): 17-26.
- 11 杨天佑, 王铁固, 田静, 等. 低能 N^+ 注入 *E.coli* 诱发的 HRS/IRR 与抗氧化物酶关系的初探 [J]. 原子核物理评论, 2010, **27**(2): 197-201.
YANG Tianyou, WANG Tiegou, TIAN Jing, *et al.* Research on relation of HRS/IRR and antioxidases in *E.coli* implanted by 30 keV N^+ [J]. Nuclear Physics Review, 2010, **27**(2): 197-201.
- 12 吴健, 戴桂馥, 李金芳, 等. 低能离子注入和 UV 照射白色链霉菌的生物学效应 [J]. 核技术, 2005, **28**(8): 598-602
WU Jian, DAI Guifu, LI Jinfang, *et al.* Biological effects of N^+ ion implantation and UV radiation on *Streptomyces albus* [J]. Nuclear Techniques, 2005, **28**(8): 598-602.
- 13 宋乐, 韩荣飞, 许学, 等. 马鞍型剂量-效应曲线的可能机制: 水稻种子低剂量辐照后的盐胁迫和真空胁迫的适

- 应性反应 [J]. 核技术, 2011, **34**(10): 745-749.
- SONG Le, HAN Rongfei, XU Xue, *et al.* Low dose radiation induced adaptive response upon salt stress and vacuum stress: a possible mechanism for the effect of saddle-like dose response curve [J]. Nuclear Techniques, 2011, **34**(10): 745-749.
- 14 金晓东, 李强. 低剂量辐射超敏感性研究进展 [J]. 原子核物理评论, 2007, **24**(3): 228-233.
JIN Xiaodong, LI Qiang. Progress in low dose radiation related hyper-radiosensitivity [J]. Nuclear Physics Review, 2007, **24**(3): 228-233.
 - 15 Chandna S, Dwarakanath B S, Khaitan D, *et al.* Low-dose radiation hypersensitivity in human tumor cell lines: effects of cell-cell contact and nutritional deprivation [J]. Radiation Research, 2002, **157**(5): 516-525.
 - 16 Joiner M C, Marples B, Lambin P, *et al.* Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms [J]. International Journal of Radiation, 2001, **49**(2): 379-389.
 - 17 Joiner M C, Lambin P, Malaise E P, *et al.* Hypersensitivity to very-low single radiation doses: Its relationship to the adaptive response and induced radioresistance [J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 1996, **358**(2): 171-183.
 - 18 Mosel M, Li P, Drlica K, *et al.* Superoxide-Mediated Protection of Escherichia coli from Antimicrobials [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, **57** (11): 5755-5759.
 - 19 Sun J, Chen Y, Li M, *et al.* Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1998, **24**(4): 586-593.
 - 20 Anand A J, Dziki W H, Imam A, *et al.* Radiation-induced red cell damage: role of reactive oxygen species [J]. Transfusion, 1997, **37**(2): 160-165.
 - 21 Mukherjee D, Manna M, Selvaraj S, *et al.* Radiation induced effects on viability and antioxidant enzymes of crustaceans from different habitats [J]. Journal of Environmental Biology, 2010, **1**(31): 251-254.
 - 22 王洁, 谢树莲. 碳离子辐照对四尾栅藻的致死率研究 [J]. 安徽农业科学, 2013, **41**(6): 2555-2556.
WANG Jie, XIE Shunlian. Effect of irradiation of carbon ions beam on the lethal rate of *Scenedesmus quadricauda* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, **41**(6): 2555-2556.
 - 23 宋道军, 余汛, 韩建伟, 等. 离子注入不同辐射敏感性微生物自由基与存活关系的研究 [J]. 激光生物学报, 1998, **7**(4): 245-248.
SONG Daojun, YU Xun, HAN Jianwei, *et al.* The relation of ESR spectrum and survival by N^+ ion implantation in *D. radiodurans* and *E. coli* [J]. Acta Laser Biology Sinica, 1998, **7**(4): 245-248.
 - 24 LIU Jing, LI Wenjian, CHEN Jihong, *et al.* Bystander effects induced by heavy ions in *Escherichia coli*. BL21 [J]. IMP & HIRFL Annual Report, 2008, **3**(29): 78.
 - 25 余思逊, 海春旭, 梁欣, 等. ^{60}Co 辐照肿瘤细胞对未照射细胞的旁观者效应及 Trolox 的干预作用 [J]. 癌变. 畸变. 突变, 2008, **20**(3): 0212-0215.
YU Sixun, HAI Chunxu, LIANG Xin, *et al.* The bystander effects of ^{60}Co - γ irradiated osteogenic sarcoma cells on nonirradiated cells and the intervention of trolox [J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2008, **20**(3): 0212-0215.
 - 26 Gao M C, Jia X D, Wu Q F, *et al.* Silencing prx1 and/or prx5 sensitizes human esophageal cancer cells to ionizing radiation and increases apoptosis via intracellular ROS accumulation [J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, **32**(4): 528-536.
 - 27 Du C B, Gao Z, Venkatesha V A, *et al.* Mitochondrial ROS and radiation induced transformation in mouse embryonic fibroblasts [J]. Cancer Biology & Therapy, 2009, **8**(20): 1962-1971.
 - 28 迟乃玉, 张庆芳, 刘长江. SOD 的化学特性及其应用 [J]. 沈阳农业大学学报, 1999, **30**(2): 171-175.
CHI Naiyu, ZHANG Qingfang, LIU Changjiang. The chemical properties embellishment of SOD and its application [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 1999, **30**(2): 171-175.
 - 29 宋道军, 李红, 余增亮. N^+ 离子注入对不同辐射敏感性微生物超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性的影响 [J]. 生物物理学报, 1998, **14**(2): 325-330.
SONG Daojun, LI Hong, YU Zengliang. Effect of N^+ ion implantation on SOD, CAT, POD activity of different radiosensitivity microorganisms [J]. Acta Biophysica Sinica, 1998, **14**(2): 325-330.
 - 30 Datkhile K D, Mukhopadhyaya R, Dongre T K, *et al.* Increased level of superoxide dismutase (SOD) activity in larvae of *Chironomus ramosus* (Diptera: Chironomidae) subjected to ionizing radiation [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2009, **149**(4): 500-506.
 - 31 YU Zengliang, YU Liangdeng. Introduction to ion beam biotechnology [M]. Springer, 2006.

- 32 Hall E J. Radiobiology for the radiologist. Fourth Edition [M]. J B Lippincott Company, 1994.
- 33 夏佳文, 詹文龙, 魏宝文, 等. 兰州重离子加速器冷却储存环 [J]. 强激光与粒子束, 2008, **20**(11): 1787-1794.
XIA Jiawen, ZHAN Wenlong, WEI Baowen, *et al.* Heavy ion cooler-storage-ring synchrotron in Lanzhou [J]. High Power Laser and Particle Beams, 2008, **20**(11): 1787-1794.
- 34 颜红梅, 卫增泉, 李文建. 7 MeV/u O^{6+} 离子对庆大霉素生产菌诱变的初步研究 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 1995, **13**(2): 99-101.
XIE Hongmei, WEI Zengquan, LI Wenjian. Preliminary study of qdms reproductive actinomyces induced by 7 MeV/u O^{6+} ions [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 1995, **13**(2): 99-101.
- 35 虞龙, 许安, 王纪, 等. 低能离子注入在Vc高产菌株选育中的应用 [J]. 激光生物学报, 1999, **8**(9): 217-220.
YU Long, XU An, WANG Ji, *et al.* The application of low energy ion implantation in breeding of high yield Vc strains [J]. Acta Laser Biology Sinica, 1999, **8**(9): 217-220.
- 36 XU Dejun, ZHENG Zhiming, WANG Peng, *et al.* Breeding of coenzyme Q10 produced strain by low-energy ion implantation and optimization of coenzyme Q10 fermentation [J]. Plasma Science and Technology, 2008, **10**(6): 758-763.
- 37 刘梅, 张鹏, 崔晓兰, 等. 离子注入选育霉酚酸高产菌株及其发酵条件研究 [J]. 微生物学报, 2006, **46**(5): 816-819.
LIU Mei, ZHANG Peng, CUI Xiaolan, *et al.* Studies on the breeding by ion implantation and cultivation of mycophenolic acid producing strain [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2006, **46**(5): 816-819.
- 38 YUAN Chengling, WANG Ji, YAO Jianming, *et al.* Breeding of arachidonic acid producing strain by low-energy ion implantation and production in large-scale [J]. High Technology Letters, 2003, **13**(6): 22-25.
- 39 YANG Yingge, FAN Yonghong, LI Wen, *et al.* Optimization of L(+)-lactic acid production from xylose with rhizopus oryzae mutant RLC41-6 breeding by low-energy ion implantation [J]. Plasma Science and Technology, 2007, **9**(5): 638-642.
- 40 WANG Peng, LI Juan, WANG Li, *et al.* L(+)-Lactic acid production by co-fermentation of glucose and xylose with Rhizopus oryzae obtained by low-energy ion beam irradiation [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2009, **36**(11): 1363-1368.
- 41 王曙阳, 陈积红, 李文建, 等. 阿佛曼链霉菌的 $^{12}C^{6+}$ 离子辐照效应及高产菌株选育 [J]. 原子核物理评论, 2010, **27**(1): 82-86.
WANG Shuyang, CHE Jihong, LI Wenjian, *et al.* Research on mutation breeding of high-producing strains from streptomyces avermitilis irradiated by ion beam of $^{12}C^{6+}$ [J]. Nuclear Physics Review, 2010, **27**(1): 82-86.
- 42 WANG Peng, ZHANG Lamei, ZHENG Zhiming, *et al.* Microbial lipid production by co-fermentation with Mortierella alpine obtained by ion beam implantation [J]. Chemical Engineering & Technology, 2011, **34**(3): 422-428.
- 43 HU Guangrong, FAN Yong, ZHANG Lei, *et al.* Enhanced lipid productivity and photosynthesis efficiency in a desmodesmus sp. mutant induced by heavy carbon ions [J]. PloS One, 2013, **8**(4): 1-8.
- 44 秦红霞, 周立平, 嘉晓勤. N^+ 离子注入筛选高产色素的红曲菌株及其发酵条件的研究 [J]. 中国酿造, 2011, **1**(4): 68-71.
QIN Hongxia, ZHOU Liping, JIA Xiaoqin. Mutation breeding of Monascus pigments strain by N^+ ion implantation [J]. China Brewing, 2011, **1**(4): 68-71.
- 45 梅建凤, 唐中秀, 王琦, 等. 低能 N^+ 离子注入诱变选育琼胶酶高产菌株 [J]. 浙江工业大学学报, 2013, **41**(1): 53-64.
MEI Jianfeng, TANG Zhongxiu, WANG Qi, *et al.* Mutant breeding of high-activity agarase producing strains by low-energy N^+ ion implantation [J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2013, **41**(1): 53-64.
- 46 LIU Qingmei, YAO Jianming, PAN Renrui, *et al.* A mutant strain of a surfactant-producing bacterium with increased emulsification activity [J]. Plasma Science & Technology, 2005, **7**(3): 2885-2892.
- 47 Lan E I, Liao J C. Microbial synthesis of n-butanol, isobutanol, and other higher alcohols from diverse resources [J]. Bioresource Technology, 2013, **135**(1): 339-349.

Microbial mutagenic effects and mutation breeding advances induced by heavy ion beams

MIAO Jianshun^{1,2,3} YANG Jianshe³ ZHANG Miaomiao^{1,2} CAO Guozhen^{1,2} LI Wenjian^{1,2} LU Dong^{1,2}

¹(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

²(Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application, Lanzhou 730070, China)

³(College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT As an efficient and typical radiation source, heavy ion beam was widely used in biological mutagenesis breeding. The heavy ion beams of different mass, different charge number and different energy have their special processes and effects when interacting with the biological cells, which underwent physical, chemical and biological three stages, and led to end point biological effects ultimately, such as low doses of radiation sensitive phenomena and active oxygen metabolism changes. This article focuses on the primary endpoint of biological effect about the micro-organisms after the heavy ion beam irradiation, and the achievements made by heavy ion irradiation for microbial mutation breeding in agriculture and industry field in recent years.

KEYWORDS Heavy ion irradiation, Low-dose hyperradiosensitivity (HRS), Increased radioresistance(IRR), Reactive oxygen species (ROS), Antioxidant enzymes, Microbial breeding

CLC Q937, TL99