

Tìm hiểu tia cực tím và cơ chế gây đột biến của tia cực tím đến tế bào thực vật trong dạy học môn Sinh học

Phạm Trường An*, Nguyễn Khắc Chung Thâm*

*ThS. Trương ĐH An Giang - ĐHQG TP.HCM

Received: 6/4/2023; Accepted: 10/4/2023; Published: 14/4/2023

Abstract: In plants, the study of mutation spectra has become a powerful approach for understanding the molecular mechanisms underlying DNA repair and mutagenesis. Ultraviolet (UV) radiation is an important environmental factor that affects plant growth and development. However, excessive exposure to UV radiation can cause mutations in plant cells, leading to detrimental effects on plant growth and survival. In this paper, we review the mechanisms by which UV radiation induces genetic mutations in plant cells.

Keywords: Ultraviolet, UV, Cyclobutane pyrimidine dimer, (6–4) Photoproduct, Mutations.

1. Đặt vấn đề

Cơ chế gây đột biến do bức xạ UV là một chủ đề rất được quan tâm trong lĩnh vực sinh học phân tử. Bức xạ cực tím (UVR) (chủ yếu là UV-B: 280–315 nm) là một trong những tác nhân mạnh có thể làm thay đổi trạng thái bình thường của sự sống bằng cách tạo ra nhiều tổn thương DNA gây đột biến và gây đột biến tế bào như chất làm giảm cyclobutane-pyrimidine (CPDs), 6-4 (6-4 PPs) và các đồng phân hóa trị Dewar của chúng cũng như sự phá vỡ chuỗi DNA bằng cách can thiệp vào tính toàn vẹn của bộ gen (S. W. Mpoloka, 2008).

Bức xạ UV được chia thành 3 vùng chính dựa trên tác động lên sức khỏe con người và môi trường: UV-A (400–315 nm), UV-B (315–280nm), UV-C (280–100nm); trong đó bức xạ UV-C là bức xạ có bước sóng ngắn nhất và vùng bức xạ nằm trong 253.7 nm nên UV-C thích hợp nhất để lựa chọn làm tác nhân gây đột biến (Katerova et al., 2009). Việc tìm hiểu cơ chế tác động của tia UV với thực vật sẽ là một công cụ quan trọng hỗ trợ trong việc học tập, nghiên cứu trong lĩnh vực Công nghệ sinh học (CNSH) nói riêng và nông nghiệp nói chung.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Cơ chế gây đột biến của tia UV đến tế bào thực vật

Tia ultraviolet (UV) cũng là một nguồn năng lượng kích thích đột biến gen như tia X, nhưng năng lượng photon của tia UV yếu hơn tia X nên khả năng xuyên sâu của nó cũng hạn chế. Tia UV gây ra đột biến bởi vì các cặp base thuộc gốc purin và pyrimidine hấp thụ mạnh ánh sáng trong quang phổ từ 254 đến 260 nm nhưng mạnh nhất là ở bước sóng 253.7 nm (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2008).

Khi sóng điện từ lan truyền đến tế bào thì điện trường trong sóng sẽ làm cho các electron trong tế bào dao động. Nếu cường độ điện trường đủ lớn, tức là cường độ ánh sáng kích thích đủ mạnh, thì electron có thể bị bật ra, bất kể bước sóng của sóng điện từ đó là bao nhiêu. Kết quả là tạo ra các gốc tự do và các gốc tự do đó có thể ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của phân tử DNA. Có 4 tác động:

**Lỗi của base trong quá trình sao chép DNA*

Quá trình này diễn ra trong quá trình phân bào, cụ thể là trong giai đoạn sao chép DNA.

**Hư tổn thủy phân, kết quả của hư tổn này là khử amin hóa của base, depurination và depyrimidination*

Loại thường gặp nhất của hư tổn thủy phân là khử amin của base cytosine. Khử amin là loại bỏ một nhóm amin của một phân tử. Enzyme xúc tác phản ứng này được gọi là deaminases. Sự khử amin cytosin thành uracil diễn ra ở một tỉ lệ đáng kể ở tế bào. Cặp base C: G sẽ chuyển thành T: A khi DNA tiến hành sao chép. Sự khử amin chuyển adenine thành hypoxanthine và hypoxanthine này bắt cặp liên kết hydro với cytosine hơn là thimine. Guanine sẽ chuyển thành xanthine và bắt cặp với cytosine chỉ bằng 2 liên kết hydro.

Depyrimidine là một quá trình phân cắt liên kết giữa đường deoxyribo với base pyrimidine. Nhưng quá trình depyrimidine diễn ra ở tần số thấp hơn depurine.

Depurination trong DNA là một phản ứng hóa học của deoxyribonucleosides purine, deoxyadenosine và deoxyguanosine, trong đó liên kết β -N-glycosidic được phân cắt thủy phân và phóng thích ra một base nucleic, adenine hoặc guanine (Rajesh P. Rastogi et al, 2010).

**Thiệt hại do oxy hóa*

Thiệt hại oxy hóa gây ra trực tiếp bằng bức xạ ion hóa trên phân tử DNA hoặc qua trung gian bức xạ UV gây ra các gốc tự do hay các loại phản ứng oxy hóa. Oxy hóa DNA là quá trình oxy hóa diễn ra trên phân tử DNA. Quá trình này xảy ra thường trên base guanine, bởi vì tiềm năng oxy hóa của base này cao hơn A, T, C.

Ở nồng độ các gốc oxy tự do cao và các loại phản ứng oxy hóa có thể gây ra thiệt hại cho cấu trúc tế bào, lipid, protein, cũng như DNA. Các gốc hydroxyl (OH) có thể làm hỏng tất cả các thành phần của phân tử DNA như amin hóa purine và pyrimidine và cũng như là xương sống deoxyribose, ức chế các chức năng bình thường của tế bào (Rajesh P. Rastogi et al., 2010).

**Các tác nhân alkyl hóa có thể gây ra sửa đổi base* Alkylation là việc chuyển một nhóm alkyl từ một phân tử này đến phân tử khác. Trong alkyl hóa các nhóm methyl or ethyl được chuyển đến các vị trí phản ứng trên các base và đến phosphate trong phân tử DNA.

2.2. UV-Induced Pyrimidine Photoproduct

Có ba nhóm tổn thương: Cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs), pyrimidine 6-4 pyrimidone photoproducts (6-4 PPs), và các đồng phân Dewar của nó.

CPDs được hình thành từ một cấu trúc vòng bốn liên quan đến C₅ và C₆ của hai base lân cận. Trong khi 6-4 PPs được hình thành bởi một liên kết C₆ (của 5' - end) và C₄ (3' - end) của pyrimidine tham gia thông qua việc sắp xếp lại của trung gian oxetan và azetidion. 6-4 PPs được chuyển đổi thành đồng phân hóa trị Dewar của nó khi tiếp xúc với bức xạ UV-A và UV-B và có thể được chuyển đổi lại thành 6-4 PPs khi tiếp xúc với bức xạ UV có bước sóng ngắn.

Các đồng phân diastereo của pyrimidine dimers có thể được phát hiện bằng các giải pháp khác nhau trong định hướng hai vòng pyrimidin tương đối so với vòng cyclobutane và xác định hướng tương đối của các liên kết C₅ - C₆ trong mỗi base pyrimidine.

Một trong những yếu tố phiên mã, TATA - box gắn với protein (TBP) thúc đẩy sự chọn lọc của 6 - 4 PPs trong TATA - box. Nơi mà các DNA bị bẻ cong nhưng CPDs được ưu tiên hình thành cạnh TATA - box và bên ngoài nơi mà các DNA không bị bẻ cong. Các lượng CPDs và 6-4 PPs tương ứng khoảng 75% và 25%. Tuy nhiên, tỉ lệ CPDs và 6-4 PPs chủ yếu phụ thuộc vào hai base lân cận tham gia hình thành dimer.

Một đặc tính quang hóa bổ sung cho cytosine

là sự hình thành của photo momomeric. "Cytosine photohydrate" như là kết quả của phản ứng photohydration. Các sản phẩm của quá trình oxy hóa base pyrimidine như glucol pyrimidine cũng được hình thành bằng phản ứng hydrat hóa (Rajesh P. Rastogi và cs, 2010).

2.3. UV-Induced Purine Photoproducts

TCT có khả năng sửa đổi các base purine của DNA đã được công nhận. Mức độ của adenine chứa photoproduct (A - T) là rất thấp (10⁻⁵ trong DNA nguyên thủy). Những tổn thương do tia cực tím có thể cho ra các sản phẩm cộng A - T đã được chứng minh là có thể gây đột biến.

Photodimerization của adenine (A) liên quan đến cycloaddition của liên kết đôi N₇-C₈ của 5 -A qua các vị trí C₆ và C₅ 3 -A và tạo ra một azetidion trung gian rất không ổn định. Điều này photoproduct trung gian trải qua con đường phản ứng cạnh tranh để tạo thành hai photoproducts adenine riêng biệt như adenin dimer (A = A) và P'orschke photoproduct. Cả hai photoproducts có thể được chuyển đổi thành 4,6-diamino-5 guanidinopyrimidine (DGPY) và 8-(5-aminoimidazol-4-yl) adenine (8-AIA) (Rajesh P. Rastogi et al., 2010).

2.4. Tiềm năng ứng dụng tia UV trong nông nghiệp và công nghệ sinh học

Tia UV (tia cực tím) có năng lượng cao và có thể được sử dụng trong CNSH thực vật để thực hiện các ứng dụng sau:

Kiểm tra chất lượng của cây trồng: Tia UV có thể được sử dụng để phát hiện những dấu hiệu của bệnh hoặc sâu bọ trên cây trồng. Sự xuất hiện của một số loại bệnh hoặc sâu bọ có thể được phát hiện bằng cách xem xét những thay đổi trong màu sắc và hình dạng của lá cây.

Tăng cường sản lượng: Tia UV có thể được sử dụng để tăng cường sản lượng của cây trồng trong một số trường hợp. Nó có thể được sử dụng để kích thích quá trình sinh sản của cây trồng và tăng cường quá trình chuyển hóa chất dinh dưỡng.

Tạo ra các loại cây mới: Tia UV có thể được sử dụng để tạo ra các loại cây mới thông qua quá trình tạo đột biến di truyền. Quá trình này được gọi là "tạo đột biến ở mức gen" và có thể được sử dụng để tạo ra các loại cây mới với các đặc tính khác nhau, chẳng hạn như khả năng chống lại bệnh tật hoặc khả năng chịu hạn.

Xử lý nước thải: Tia UV cũng có thể được sử dụng để xử lý nước thải trong công nghiệp. Nó có thể được sử dụng để tiêu diệt các loại vi khuẩn và virus có trong

nước thải, giúp làm sạch nước và bảo vệ môi trường.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng việc sử dụng tia UV trong CNSH thực vật cần được thực hiện cẩn thận và đúng cách để tránh gây hại cho cây trồng và môi trường.

2.5. Ứng dụng sử dụng tia UV để gây đột biến trên cây *Linh sam*

Nhằm đánh giá bước đầu khả năng gây đột biến của tia UV-B (bước sóng 253.7 nm), nhóm tác giả đã thực hiện thí nghiệm trên các hạt của cây *Linh sam* có nguồn gốc tại sông Hinh (tỉnh Phú Yên).

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 73 nghiệm thức và 12 lần lặp lại mỗi lần lặp lại là 1 hạt. Các nghiệm thức được đánh dấu từ T0 đến T72. Với 73 nghiệm thức là khoảng thời gian chiếu tia cực tím từ 0 giờ đến 72 giờ. Các hạt *linh sam* Sông Hinh sẽ được bóc vỏ để ánh sáng cực tím có thể xuyên sâu hơn vào DNA của các hạt, các hạt sẽ được xử lý ở nhiệt độ từ 22 – 25 °C. Sau đó các hạt này sẽ được xử lý và được bố trí ngẫu nhiên vào 876 ô trên khay và chiếu tia ở những thời gian đã dự kiến. Sau khi chiếu tia xong các hạt sẽ được xử lý tối trong 8 tiếng. Tiếp theo đó các hạt được đặt vào bóng gòn âm, sau 10 ngày các hạt nảy mầm sẽ được đem vào trồng trong khay để xem xét và quan sát sự sinh trưởng để tìm ra những cây đột biến có kiểu hình khác với cây nguyên thủy.

Kết quả cho thấy tia UV-B (bước sóng 253.7 nm) đã tạo ra được các đột biến trên các cá thể cây *Linh sam* sông Hinh, trong đó cụ thể là 5 dạng đột biến: *Maculata*, *Xantha*, hình dạng lá, dạng cây nhỏ và dạng cây rất nhỏ. Tần số xuất hiện đột biến *Maculata* là 0,81%, *Xantha* là 0,11%, hình dạng lá là 1,26%, dạng cây rất nhỏ là 0,23%, dạng cây nhỏ là 0,22%. Tổng tần số xuất hiện các loại đột biến là 2,62%.

Dạng đột biến *Maculata* được miêu tả bởi Imran M. Kozgar (2014), với các đặc điểm hình dạng lá có các chấm và vệt màu vàng hoặc trắng trên nền lá xanh và nó tồn tại đến khi cây trưởng thành, xuất hiện ở các nghiệm thức có thời gian chiếu xạ là 2, 11, 19, 62, và 71 giờ. Hình thức đột biến này được ghi nhận trong thí nghiệm với số cá thể đột biến là 7, tương ứng với tần số đột biến là 0,81%.

Dạng đột biến *Xantha* được miêu tả bởi Imran M. Kozgar (2014), với đặc điểm hình dạng lá có màu vàng tươi xuất hiện ở nghiệm thức có thời gian chiếu là 23 giờ. Hình thức đột biến này được ghi nhận trong thí nghiệm với số cá thể đột biến là 1, tương ứng với tần số đột biến là 0,11%.

Dạng lá bị đột biến có thùy xẻ sâu vào trong tạo

thành dạng lá chia thùy có hình dạng giống hình trái tim hoặc lá đột biến bị biến dạng tạo ra dạng lá lạ và có kích thước rất nhỏ, khác với hình dạng lá hình trứng ngược không chia thùy của lá cây *linh sam* Sông Hinh bình thường, xuất hiện ở các nghiệm thức có thời gian chiếu tương ứng là 11, 23, 29, 34, 39, 41, 42, 43, 53, và 65 giờ. Hình thức đột biến này được ghi nhận trong thí nghiệm với số cá thể đột biến là 11, tương ứng với tần số đột biến là 1,26%.

Dạng đột biến cây nhỏ có chiều cao cây từ 25% - 50% chiều cao của cây bình thường, xuất hiện ở các nghiệm thức có thời gian chiếu là 7 và 13 giờ. Hình thức đột biến này được ghi nhận trong thí nghiệm với số cá thể đột biến là 2, tương ứng với tần số đột biến là 0,22%.

3. Kết luận

Việc tìm hiểu các cơ chế gây đột biến của tia UV là rất cần thiết. Dựa trên những nghiên cứu và thử nghiệm hiện có, khả năng ứng dụng tia UV để tạo đột biến trên cây trồng là khả thi. Các nghiên cứu cho thấy rằng tia UV có thể gây ra đột biến gen trên cây trồng, giúp tạo ra những chủng cây mới có tính chất kháng bệnh, chịu được sự biến đổi khí hậu và tăng năng suất. Tuy nhiên, việc sử dụng tia UV cần phải được thực hiện đúng cách và với liều lượng phù hợp để không gây hại cho cây trồng và môi trường.

Ngoài ra, việc sử dụng tia UV để tạo đột biến trên cây trồng còn đang đối mặt với một số thách thức như khả năng ứng dụng thực tế chưa được chứng minh rõ ràng, mặc dù so với các PP gây đột biến bằng hóa chất hay sử dụng phóng xạ thì rõ ràng sử dụng tia UV có nhiều ưu điểm nổi trội; như chi phí thấp hơn, an toàn hơn và dễ thực hiện. Do đó, việc áp dụng PP này trong sản xuất nông nghiệp cần được tiếp tục nghiên cứu và đánh giá kỹ lưỡng để đảm bảo hiệu quả và an toàn cho cây trồng và con người.

Tài liệu tham khảo

1. Bùi Chí Bửu & Nguyễn Thị Lang (2008). *Di truyền phân tử*. NXB Nông Nghiệp. Hà Nội
2. Rajesh P. Rastogi và cs. (2010). *Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair*. *Journal of Nucleic Acids*. Volume
3. S. W. Mpoloka. (2008). *Effects of prolonged UV-B exposure in plants*. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 7 (25), pp. 4874-4883.
4. Imran M. Kozgar (2014). *Mutation Breeding in Chickpea: Perspectives and Prospects for Food Security*. *De Gruyter Open Poland*.