

中能离子束注入与贯穿辐照对小麦种子萌发生长的影响

颜红梅 卫增泉 李文建 李 强 党秉荣 韩光武

(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

张金莲 胡 钺

(甘肃省农科院粮作所 兰州 730070)

摘要 研究了中能氮离子束辐照对不同品种春小麦干种子萌发生长的影响, 根据实验室和大田的试验结果, 春小麦干种子萌发力和幼苗生长随辐照剂量增加而明显减弱, 并且注入辐照与贯穿辐照对其造成的影响有较大区别, 在种子萌发过程中, 由注入造成的抑制明显高于贯穿。从大田出苗率存活曲线来看, 对三个不同品种, 注入与贯穿的半致死剂量 D_{50} 分别处在 $10^7 \sim 10^8 \text{ions/cm}^2$ 和 $10^8 \sim 10^9 \text{ions/cm}^2$ 范围内。

关键词 中能离子, 春小麦, 注入, 贯穿

重离子对植物的诱变育种, 在我国是 80 年代兴起的一门新技术。我国不少科学家首先在作物改良和生物效应研究方面取得了令人鼓舞的进展。尤其重离子辐照与 X、 γ 射线或中子辐照相比, 在生物诱变学方面有其明显的独特优势。例如重离子是高 LET 粒子, 并具有 Bragg 峰, 当它注入到生物体内时, 除了能发生能量和电荷的交换外, 还存在入射粒子的质量沉积过程, 因而可得到比 X、 γ 射线较高的突变率, 而且它作用到生物分子、细胞所造成的辐照损伤通常不易修复。本工作采用外束技术, 对春小麦干种子, 用 48 MeV/u 和 20 MeV/u $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子, 剂量分别为 5×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 和 $1 \times 10^9 \text{ions/cm}^2$, 在常温常压下进行了贯穿与注入辐照, 接着对其萌发生长进行观察与研究。

1 材料和 方法

1.1 材料

作物种子为 82-579、定西-24、88-12 3 个品种的春小麦。选择大小均匀、籽粒饱满、无破损、无虫蛀、无霉菌污染的风干种子用作试验材料。

1.2 辐照过程及氮离子参数

种子胚朝上, 按同心圆排列插在直径 40 mm 的金属小盘上, 每小盘 60 粒, 每 10 小盘安装在一个可旋转的大塑料盘上。将装好种子的大盘胚朝束流方向安装在近代物理研究所的 HIRFL 辐照终端 TL 2 上, 在常温常压的大气环境中进行辐照, 剂量采用自由空气电离室测定, 数据获取与样品更换均由计算机远程自动操作。

国家自然科学基金委重点资助项目

收稿日期: 初稿 1995-02-14, 修改稿 1995-05-10

诱变源为电荷态+7价的氮离子束, 能量为48 MeV/u, 作为贯穿离子(它在水中射程约为6 mm)。将它降能至20 MeV/u, 作为注入离子(它在水中射程约为1 mm)。束斑均为 $\phi 40$ mm, 是由束流扫描系统完成的, 其截面上的束流均匀度约为95%。离子束辐照剂量分别为 5×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 和 1×10^9 ions/cm²。

1.3 辐照后的处理

将辐照处理后的种子取60粒分成两组, 各30粒均匀排列在两个培养皿内, 加入适量清水, 室温下培养, 每日换水一次, 观察, 记录发芽情况。当对照组发芽种子数超过半数时, 统计各组发芽数, 以百分比表示发芽势。对照组发芽结束时, 统计各组的总发芽数, 以百分比表示发芽率。并且分别测量小麦幼苗植株第一叶高度, 以平均值表示它们的生长势。同时也播入大田, 采用裂区设计排列, 品种为主因子, 剂量为副因子, 每种处理种子播3行, 每行40粒, 行长1.2 m, 行距0.2 m, 重复3次。以辐照环境(种子置于实验大厅辐射场内, 但不直接受离子束辐照)与自然环境的样品(种子处在天然环境中, 不置于实验大厅辐射场内)作为对照。

2 结果与讨论

2.1 对作物种子萌发力的影响

图1和图2分别为定西-24春小麦干种子经N⁷⁺离子不同剂量注入和贯穿后, 在实验室萌发至6 d植株第一叶高度对比。从图1、图2表示的实验室结果中可以看到, 辐照小麦萌发高度均低

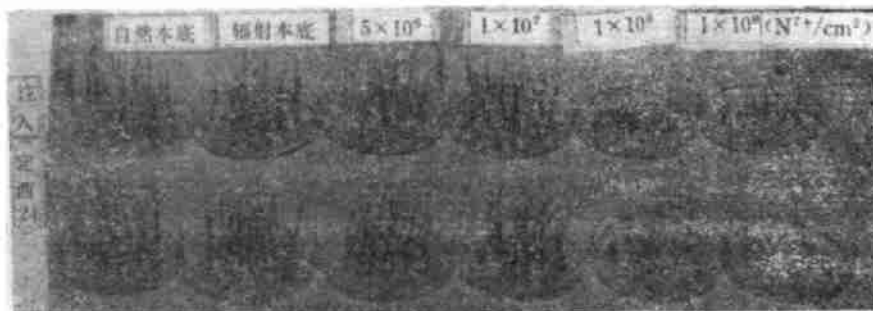


Fig 1. Effect of ion implantation with different dose on the germination of wheat seeds (Dingxi-24) at room

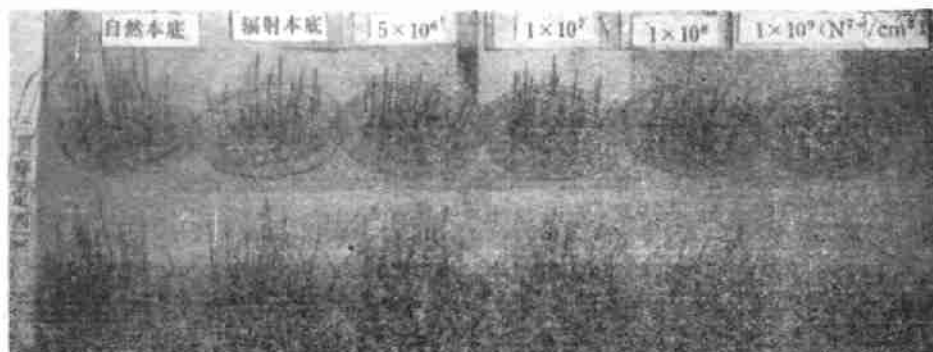


Fig 2. Effect of ion penetration with different dose on the germination of wheat seeds (Dingxi-24) at room

于对照,并随着 N^{7+} 离子剂量的增大,小麦幼苗越来越矮^[1],到离子剂量达到 10^9ions/cm^2 时,贯穿种子几乎全部致死,注入剂量在 10^8ions/cm^2 时几乎全部致死,这显示了重离子对种子萌发力有着明显的抑制和损伤作用,而且注入比贯穿的抑制和损伤作用更强。这是因为重离子注入的 Bragg 峰处在胚部 1 mm 左右的深度上,因而 20 MeV/u 的离子能量全部被胚接受,每个注入离子转移给胚的总能量为 280 MeV。而贯穿情况,重离子的 Bragg 峰已穿出麦种,以离子贯穿时 LET 为 $65 \text{keV}/\mu\text{m}$ (对贯穿离子能量 48 MeV/u 而言)及贯穿麦胚的平均深度为 1 mm(麦粒整个长度为 5 mm)计,则每个贯穿离子转移给胚的能量为 65 MeV,沉积在整个麦粒中的总能量为 325 MeV。这个总能量要比注入时大。但可能由于注入时能量集中在胚部以及存在离子质量沉积效应,因此注入比贯穿的生物效应强,且损伤更大。图中高剂量辐照中存在个别萌发较旺的“特殊情况”,可能主要是由大面积束流不均匀性造成的。

2.2 对存活率的影响

关于出苗率与剂量关系的大田结果,从表 1 可见,对于贯穿,在较小的剂量范围内,存活率随剂量的增加而缓慢下降,这说明此时细胞的损伤还不很严重。而在注入情况下(见表 2),在与贯穿的相同的较小剂量范围内,存活率随剂量的增加而急剧下降,表明这时细胞已经受到严重损伤,死亡率已在 50%左右^[2]。在较小的剂量范围内就能引起明显的死亡率改变,这是注入作用强于贯穿的具体反映^[3]。从根尖细胞的镜检中发现了各种畸变类型:如微核、小核、桥、断片、游离染色体、落后染色体和环形染色体等。注入的畸变频率为 17.58%~35.12%,贯穿的畸变频率为 11.88%~34.19%。从生物学效应来看,对于注入和贯穿情形,其畸变频率范围的高低与存活率的大小是一致的。当剂量在 $1 \times 10^9 \text{ions/cm}^2$ 时,胚根细胞中的染色体畸变频率反而有所下降,产生这种原因,可能是剂量达到一定值时,严重抑制了细胞的分裂过程(表 3)(另文待发表)。这种受损细胞在修复过程中,如果发生错修复,例如在染色体上的基因出现重复,易位或倒位等,

Tab 1. Effect of ions penetrating wheat on emergence rate and seedling height in the field

Tested materials	Dose/ions cm^{-2}	Emergence rate/%				Seedling height/cm			
		I	II	III	\bar{x}	I	II	III	\bar{x}
82-579	5×10^6	80.9	68.3	91.7	80.3	12.3	11.0	12.3	11.9
	1×10^7	86.4	72.5	95.0	84.6	13.9	10.3	14.0	12.7
	1×10^8	77.5	78.3	84.2	80.0	10.4	9.5	9.6	9.8
	1×10^9	0.8	0.8	0.8	0.8	6.8	7.5	6.9	7.1
	Background at irradiation hall	86.7	83.3	90.0	86.7	13.2	11.0	13.5	12.6
	Background at the nature	82.5	78.3	94.2	85.0	13.0	11.5	11.9	12.1
88-12	5×10^6	77.5	80.0	85.8	81.1	11.9	12.2	13.0	12.4
	1×10^7	88.3	75.0	74.2	79.2	13.0	12.7	12.6	12.8
	1×10^8	57.5	54.2	70.0	60.6	9.2	8.4	8.9	8.8
	1×10^9	0	0	0	0				
	Background at irradiation hall	85.0	75.8	94.2	85.0	11.8	12.5	12.5	12.3
	Background at the nature	85.8	69.2	81.7	78.9	11.8	10.8	13.5	12.0
Dingxi-24	5×10^6	85.8	84.2	70.0	80.0	12.2	12.9	14.0	13.0
	1×10^7	79.2	77.5	87.5	81.4	13.8	13.1	12.7	13.1
	1×10^8	75.8	75.0	64.2	71.7	10.9	9.4	10.1	10.1
	1×10^9	0.8	0	0.8	0.5	6.7		6.6	6.7
	Background at irradiation hall	83.3	90.0	74.2	82.5	13.6	12.5	10.3	12.1
	Background at the nature	75.8	81.6	80.8	79.4	13.7	10.9	11.3	12.0

Tab 2. Effect of ions implanting wheat on the emergence rate and seedling height in the field

Tested materials	Dose/ions·cm ⁻²	Emergence rate/%				Seedling height/cm			
		I	II	III	\bar{x}	I	II	III	\bar{x}
82-579	5×10 ⁶	83.5	86.6	68.3	79.4	13.4	12.2	14.0	13.2
	1×10 ⁷	92.5	98.3	90.0	93.6	13.8	13.1	12.7	13.2
	1×10 ⁸	15.0	20.8	7.5	14.4	8.9	8.9	9.7	9.2
	1×10 ⁹	12.5	14.2	10.0	12.2	9.2	9.6	11.2	10.0
	Background at irradiation hall	86.7	83.3	90.0	86.7	13.2	11.0	13.5	12.6
	Background at the nature	90.8	95.8	78.3	88.3	12.1	13.7	14.5	13.4
88-12	5×10 ⁶	70.8	80.0	59.2	70.0	11.6	11.8	12.6	12.0
	1×10 ⁷	81.6	90.0	85.8	85.8	12.8	10.8	12.2	11.9
	1×10 ⁸	12.5	7.5	8.3	9.4	8.0	6.8	7.2	7.3
	1×10 ⁹	2.5	0	2.5	1.7	6.6		7.5	7.1
	Background at irradiation hall	85.0	75.8	94.2	85.0	11.8	12.5	12.5	12.3
	Background at the nature	91.7	89.2	94.2	91.7	14.9	12.8	12.4	13.4
Dingxi-24	5×10 ⁶	83.3	91.7	80.8	85.0	13.2	13.8	14.1	13.7
	1×10 ⁷	93.3	85.8	85.8	88.3	13.7	14.1	12.7	13.5
	1×10 ⁸	40.0	31.7	25.0	32.2	11.9	9.5	11.1	10.8
	1×10 ⁹	13.3	14.2	20.8	16.1	10.4	9.6	10.5	10.2
	Background at irradiation hall	83.3	90.0	74.2	82.5	13.6	12.5	10.3	12.1
	Background at the nature	90.0	84.2	86.7	87.0	12.4	11.9	13.4	12.6

则就造成基因突变, 这就构成了作物品种改良的基础。细胞死亡的发生机理可能与染色体畸变的不可修复有关, 其分子基础是 DNA 障碍, 包括 DNA 合成不足、DNA 合成异常和 DNA 不均匀分配, 导致了细胞内遗传物质失常, 细胞生长障碍, 最终死亡^[4]。

2.3 对小麦幼苗生长的影响

从表 1 和表 2 可以看出, 重离子注入与贯穿春小麦干种子后, 1×10⁸ 和 1×10⁹ions/cm² 两种剂量对幼苗生长抑制作用明显。经在三叶后期调查, 5×10⁶ 和 1×10⁷ions/cm² 两种剂量处理的种子, 幼苗高度与对照相当, 差别不大。而 1×10⁸ 和 1×10⁹ions/cm² 处理的种子, 各品种比对照低 1.8~6.3 cm, 特别是 1×10⁹ions/cm², 幼苗生长缓慢, 表现丛生状态, 甚至不能抽穗而死亡。

Tab 3. Effects of heavy ion irradiation on chromosomal aberration frequency in radicle cells of wheat

Irradiation type	Dose/ions·cm ⁻²	Cell number with micronuclei	Aberrant cell number	Micronucleus frequency/%	Aberration frequency/%
CK	0	9	12	0.045	0.06
Implantation	5×10 ⁶	3342	3516	16.71	17.58
	1×10 ⁷	5406	5624	27.03	28.12
	1×10 ⁸	6843	7023	34.22	35.12
	1×10 ⁹	5873	6117	29.87	30.59
Penetration	5×10 ⁶	2258	2375	11.29	11.88
	1×10 ⁷	3891	4106	19.46	20.53
	1×10 ⁸	6517	6837	32.59	34.19
	1×10 ⁹	4844	5003	24.22	25.02

Examined cell 2×10⁴

2.4 方差分析与极差测验

从表2和表3中看出, 1×10^8 与 1×10^9 ions/cm² 两种剂量处理过的春小麦干种子, 贯穿辐照的田间出苗率明显低于对照, 其中 1×10^9 ions/cm² 的出苗率仅为 0~0.8%, 已到致死界限; 注入辐照的田间出苗率同样明显低于对照, 经方差分析与多重比较, 贯穿与注入在 1×10^8 、 1×10^9 ions/cm² 剂量间与对照差异达极显著水准。 5×10^6 、 1×10^7 ions/cm² 两种剂量处理的春小麦干种子, 贯穿田间出苗率大部分略高于对照或与对照相当, 经方差分析与多性比较, 5×10^6 、 1×10^7 ions/cm² 与对照间差异不显著。而注入 5×10^8 ions/cm² 与对照间差异达显著水准, 1×10^7 ions/cm² 与对照差异不显著。

同样离子注入后, 品种间效应也不一样, 88-12 较为敏感, 88-12 与定西-24、82-579 间差异达显著水准。

参 考 文 献

- 1 卫增泉等. 核技术, 1991, 14(6): 380
- 2 刘及等编著. 放射损伤学, 第一版. 原子能出版社, 北京: 1981
- 3 姚月琛等. 甘肃省核学会一九九四年会议文集
- 4 刘及等编著. 放射损伤学, 第一版. 原子能出版社, 北京: 1981

EFFECTS OF MEDIUM ENERGY ION BEAM RADIATION IN IMPLANTATION AND PENETRATION ON THE GERMINATION AND THE GROWTH OF WHEAT SEEDS

Xie Hongmei Wei Zengquan Li Wenjian Li Qiang Dang Bingrong
Han Guangwu

(*Institute of Modern Physics, Academia Sinica, Lanzhou 730000*)

Zhang Jinlian Hu Yue

(*Gansu Institute of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070*)

ABSTRACT The effects of medium energy N ion beam irradiation on the germination and the growth of different kinds of wheat seeds are discussed in this paper. According to the results of test in laboratory and the field, the germination and the seedling growth of wheat seeds with irradiation dose were evidently inhibited. Furthermore, there was a larger difference between implantation and penetration. In the course of the seed germination the inhibition resulting from the implantation was clearly stronger than that from the penetration. From survival curves of emergence rates of three different strains in the field, the half-lethal doses of implantation and penetration (D_{50}) are in the range of ($10^7 \sim 10^8$) ions/cm² and ($10^8 \sim 10^9$) ions/cm² respectively.

KEYWORDS Heavy ions, Wheat, Implantation, Penetration