

小麦萌发种子辐射损伤的热敏化效应

郭房庆 顾瑞琦

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032)

摘要 研究了热对X射线引起的小麦萌发种子辐射损伤的影响。实验表明,热能增强辐射损伤,产生辐射热敏化效应。照射后热处理(41℃或44℃, 20 min)显著增强辐射引起的生长抑制,并导致根尖细胞中微核细胞率显著增加。在4.30—8.60 Gy的剂量范围内,热处理增强辐射损伤的效果最显著。辐射热敏化效果取决于热处理在照射前后施加的顺序,其中照射后热处理辐射损伤的增强效果显著高于照射前热处理。小麦萌发种子照射后短时间内(15 min)对热处理敏感,随时间延长,敏感性降低。照射间歇期内进行热处理能够抑制大部分的分次照射效应。根据以上结果,认为热对辐射损伤的增强效应是由于热抑制了辐射损伤修复的缘故,这和动物细胞的实验结果是一致的。

关键词 辐射热敏化, X射线, 微核, 分次照射, 小麦

大量的动物细胞实验已经表明热处理能抑制DNA损伤的修复,增强细胞的辐射损伤^[1-4],而且这种增强效应取决于热处理的温度和施加的顺序^[5,6]。国际上关于热对高等植物细胞辐射损伤影响的报道很少,国内的研究工作还处于起步阶段,因此研究热处理对细胞辐射损伤的影响有较重要的理论和应用价值。热对植物细胞辐射损伤修复过程影响的研究是人们认识外界因素对植物细胞损伤修复作用机制的重要途径之一;在植物辐射育种工作中,普遍存在诱变率较低和突变谱较窄的问题,其中主要原因是由于植物细胞的修复能力较强,绝大部分的DNA损伤可被细胞修复的缘故。热处理抑制细胞的修复过程,导致细胞DNA损伤增加,从而为提高植物细胞突变率提供了一条有效途径。

1 材料与 方法

1.1 材料预处理

小麦品种为扬麦五号(*Triticum aestivum* L. Yangmai No.5)。种子经2%漂白粉表面消毒20 min,用自来水冲洗干净。浸种3 h,种子在25℃的条件下萌发24 h。将露白的种子胚向上整齐排列于培养皿中进行X射线及热处理。

1.2 辐射处理

X射线由国产F₃₄-I型深部X射线治疗机产生,200 kV,15 mA,滤板0.25 mm Cu+1 mm Al,剂量率2.15 Gy/min。

1.3 热处理

材料放置于恒温恒湿箱中,温度控制44±0.1℃和41±0.1℃,除文中说明外,时间为20 min,相对湿度80%。照射前、照射后热处理除文中说明者外,均为即刻处理。

1.4 萌发种子的培养

辐射及热处理后的种子排列于尼龙网上,置于光照恒温培养箱内,温度25℃,用自来水培养,

国家自然科学基金资助项目

收稿日期:初稿 1993-06-30,修改稿 1993-09-08

生长 6 天后测量小麦幼苗株高。

1.5 萌发种子株高观察

每个实验组 40 粒种子，处理后 6 天测量株高，以此作为生长抑制的指标。每个实验重复三次，数据进行 t 检验。

1.6 根尖细胞微核的观察

参照《植物生理学实验手册》的方法。每组取 3 个样品，每个样品观察 1000 个细胞。记录微核细胞数，结果为 3 个样品的平均值。

2 结 果

2.1 照射后热处理的敏化效应

小麦萌发种子经 X 射线辐照后，热处理对其幼苗生长的抑制作用有增强效应，即存在辐射热敏化效应(见图 1)。在肩区的剂量范围内(0—4.0 Gy)，照射后热处理对生长的抑制程度和单纯的热处理(44℃，20 min)的抑制程度相当，相对株高比对照矮 14% 左右。这表明在肩区的剂量范围内，辐射和热的复合处理对生长的抑制作用主要表现为热处理的抑制作用。随着剂量的增加，在 4.30—8.60 Gy 的范围内，热处理对辐射损伤的增强效应非常显著，辐射和热的复合处理对生长的抑制程度超过了辐射和单独热处理对生长的抑制程度之和。例如，剂量为 6.45 Gy 时，辐射处理株高比对照矮 18.9%，热处理为 14.0%，两者之和为 32.9%，而复合处理和对照相差 48.1%，照射后热处理在该剂量范围内对辐射损伤的增强效应，即辐射热敏化效应是很显著的。剂量大于 8.6 Gy 时，复合处理中热敏化效应逐渐减少。

以微核为指标，观察小麦幼苗根尖的变异情况，也证明辐射后热处理显著增加根尖细胞微核率，这和以小麦幼苗株高为指标得出的结果是一致的。各组处理根尖细胞微核细胞数和微核率见表 1，随着剂量增加，辐射后热处理的根尖细胞微核率显著高于单独的 X 射线处理。在 4.30—8.60 Gy 的剂量范围内，这种增强效果最显著。随着剂量的增加，两种处理之间微核细胞率的差距在缩小，这和两种处理对生长抑制的作用趋势是基本一致的。

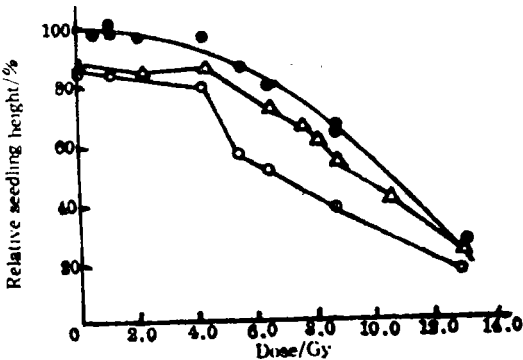


Fig 1. Enhancement of radiation-induced growth inhibition in wheat seedlings by heat treatment (44℃, 20 min) (●) X-ray (△) heat before irradiation (○) heat after irradiation

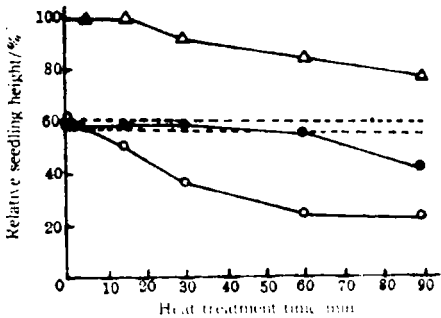


Fig 2. Effect of heat treatment before and after irradiation on the growth of wheat seedlings heat treatment, 41℃ dose, 7.5 Gy (△) heat alone (●) heat before irradiation (○) heat after irradiation

Tab 1. Enhancement of chromosome aberration by heat treatment after irradiation

Dose /Gy	Observed cells	X-ray treatment		Heat after irradiation	
		Aberrant cells	Aberrant rate	Aberrant cells	Aberrant rate
1.075	3000	31±8	1.00±0.26	48±7	1.6±0.22
4.30	3000	54±8	1.80±0.25	104±8	3.5±0.26
6.45	3000	71±4	2.40±0.12	153±4	5.1±0.16
8.60	3000	93±2	3.10±0.07	154±2	5.1±0.07
12.90	3000	119±10	4.00±0.32	177±4	5.9±0.13
CK	3000	13±4	0.43±0.03		
Heat	3000	15±3	0.50±0.07		

Heat treatment 44℃, 20 min

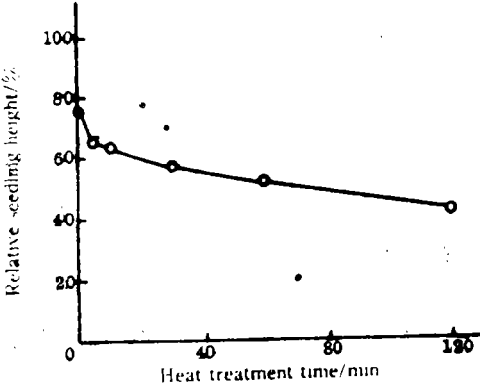


Fig 3. Effect of heat treatment (44℃) duration on wheat seedling height after 6.45 Gy irradiation

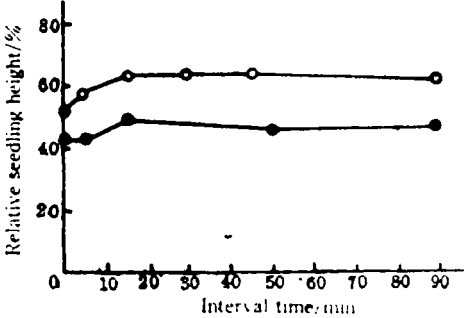


Fig 4. Effect of interval time between radiation and heat treatment(44℃, 20 min) on wheat seedling height (○) 6.45 Gy after irradiation (●) 8.60 Gy after irradiation

2.2 热处理在照射前后的次序效应

实验中采用不同温度以及同一温度不同时间的热处理，观察到照射后即刻热处理对辐射损伤的增强效果显著高于照射前即刻热处理。图 1 和图 2 反映了热在照射前后处理的顺序不同对辐射损伤增强效果的影响。图 1 表示 44℃下 20 min 的热处理。在肩区范围内，照射后热处理和照射前热处理对生长的抑制效果相当，无统计学差异。在 4.30—8.60 Gy 的剂量范围内，照射后热处理对生长的抑制程度显著高于照射前热处理，差异显著(P<0.05)。随剂量进一步增大，两种不同顺序处理之间的差距越来越小。

图 2 表示在 41℃下不同时间长度的热处理，其结果也显示照射后热处理对生长的抑制程度显著高于照射前热处理。照射前热处理 60 min 与单纯 X 射线处理对生长的抑制没有显示统计学差异，热处理时间延长至 90 min 时才与 X 射线处理对照呈显示差异。而照射后热处理 15 min 就与 X 射线处理对照显示呈差异，且热处理时间为 90 min 时，其对生长的抑制程度也显著高于照射前处理的指标。

2.3 照射后热处理的时间效应

照射后即刻短时间热处理对生长的抑制作用最为显著，随热处理时间的延长，对生长的抑制程度降低。图 3 表示经 6.45 Gy 辐射后，不同时间的热处理对生长的抑制作用。照射后即刻 5 min 的热处理对生长的抑制程度为 11.2%，占照射后即刻 120 min 热处理抑制程度的 36.8%，而前者处理时间仅占 120 min 的 4.2% 可见照射后短时间内植物细胞对热处理是非常敏感的。

辐射和热处理的时间间隔实验也表明了同样的结果。图4表示经6.45和8.60 Gy两种剂量辐照后, 热处理的时间间隔效应对生长抑制作用的影响。对于6.45 Gy的辐射处理, 间隔5 min和15 min其株高显著高于照射后即刻进行热处理的指标, 间隔时间进一步延长至30—90 min, 其株高和间隔15 min没有显示统计学差异($P < 0.05$)。这说明照射后短时间内(15 min)细胞对热处理是较为敏感的, 在辐射和热处理的间隔时间内, 细胞辐射损伤得到部分恢复, 表现为株高的增长。8.60 Gy的处理趋势和6.45 Gy是一致的, 只不过在该剂量条件下, 间隔5 min热处理和即刻热处理, 株高差异不显著, 要间隔15 min差异方能显示出来。

2.4 热处理对分次照射效应的影响

实验选择8.60 Gy的剂量研究了热处理对分次照射效应的影响。分次照射采用4.30 Gy两次照射, 中间间隔20 min, 并在此间隔期内进行热处理(44℃, 20 min)。图5显示热处理对分次照射效应的抑制情况。分次照射的株高指标显著高于一次照射的指标, 两者相差28.8%, 分次照射效应是很显著的; 而在分次照射中间进行热处理, 和一次照射后即热处理的株高仅相差7.2%。可见热处理严重抑制了分次照射效应。

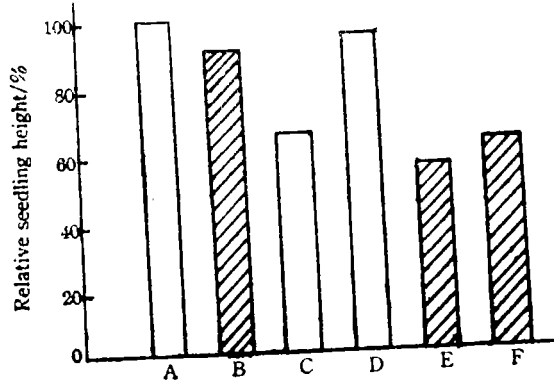


Fig 5. Influence of heat treatment (44℃, 20 min) on fractionated irradiation in wheat seedlings

□ no heated ▨ heated

- A, control
- B, heat treatment (44℃, 20 min) alone
- C, 8.60 Gy irradiation
- D, 4.30 Gy irradiation + interval time (20 min) + 4.30 Gy irradiation
- E, 8.60 Gy irradiation + heat(44℃, 20 min)
- F, 4.30 Gy irradiation + heat(44℃, 20 min) + 4.30 Gy irradiation

3 讨 论

由于在癌症放疗和DNA辐射损伤与修复研究中的广泛应用, 辐射热敏化已成为国际上的一个研究热点。关于辐射热敏化的机理, 已有大量的报道表明热处理导致细胞辐射敏感性的增强, 细胞死亡率升高是由于热抑制了细胞对辐射引起的亚致死损伤和潜在致死性损伤的修复^[6]。辐射敏感性的增强和染色体畸变产生之间有高度的相关性^[6-7]。

热抑制DNA修复至少有两种不同的机制: 1) 使修复酶失活; 2) 改变染色质的结构, 导致损伤位点和修复系统的接近程度降低。

在本文实验系统中, 照射前、后热处理对辐射损伤所引起的生长抑制都有增强效应, 且照射后热处理效果显著大于照射前热处理。通过根尖细胞微核细胞率的观察也证实热处理能导致细胞染色体畸变率显著增高。小麦分次照射效应是照射间歇期内细胞对亚致死损伤和潜在致死性损伤的修复造成的^[8]。图5表明, 热处理能显著降低分次照射效应, 也表明热处理抑制了照射间歇期内细胞对亚致死损伤和潜在致死性损伤的修复。以小麦萌发种子为材料得出的结果和动物细胞的实验结果是一致的。本实验中, 照射后热处理的敏化效果显著大于照射前热处理。从热抑制修复的角度, 认为这可能是由于照射后短时间内细胞的修复活动比较活跃, 照射后热处理对修复的抑制程度较高, 而照射前热处理对修复影响较小的缘故。

E. Dikomey^[9]用X射线处理CHO细胞后, 从修复过程的动力学发现修复过程有两个时相,

慢修复和快修复。通常快修复半修复时间为 2—20 min。并且认为快修复过程是 SSb 的修复^[10]。慢修复过程的半修复时间为 30—300 min, 其为 DSb 的修复^[11]。图 3 的结果显示, 照射后短时间内(5 min), 热处理的作用是最显著的, 5 min 的热处理对生长的抑制程度为 11.2%, 占 120 min 热处理抑制程度的 36.8%, 而时间仅占 120 min 的 4.2%, 这就足以说明照射后 5 min 内 DNA 损伤修复活动是很活跃和迅速的, 对热处理是很敏感的, 而随后的修复活动对热处理较不敏感。图 4 的结果从另一面也说明照射后短时间内对热是较为敏感的, 间隔较短时间进行热处理和照射后即刻热处理的差异很显著。而随间隔时间的延长, 与间隔 5 min 没有显示统计学差异, 以上说明辐射损伤修复大多数是在照射后短时间内完成的, 此时热处理对修复活动的抑制最显著。从图 3 和图 4 及分次照射的结果来推论, 植物细胞的 DNA 修复过程可能也存在快修复和慢修复的过程, 且快修复过程——亚致死损伤的修复对热处理敏感, 而慢修复过程较不敏感。

热处理对辐射损伤的增强效应与植物细胞的修复活动密切相关。在肩区的剂量范围内(0—4.30 Gy), 辐射和热复合处理对生长的抑制效果和单纯热处理的抑制作用相当, 这可能是由于剂量较低, DNA 损伤较少, 植物细胞修复活动较弱的原因, 对热处理不敏感。随着剂量的增大, DNA 损伤增多, 细胞修复活动增强, 热处理对细胞修复活动抑制强烈, 致使一部分 DNA 损伤不能被修复, 从而表现为热处理对辐射损伤——生长抑制作用的增强效应。剂量大于 8.60 Gy 时, 热处理的增强效应逐渐减少, 可能是由于剂量进一步增大, 不仅造成 DNA 损伤, 而且对细胞的修复系统也产生较严重的伤害, 细胞修复活动水平下降, 因此热处理对细胞修复的抑制作用所导致的敏化效应也逐渐减弱。

对动物细胞的研究报道表明, 当细胞在低剂量处理时, 其热敏化效应大于在较高剂量的处理^[12-13]。从本实验结果来看, 当剂量在肩区范围内, 虽然剂量较低, 但热敏化效应却较小, 因此当低剂量处理时, 细胞修复活动水平较低, 热敏化效应不显著。较高剂量的处理对细胞的修复系统产生严重损伤, 细胞的修复活动也处于较低水平, 这时热敏化效应也不显著。本文观察到在 4.30—8.60 Gy 的剂量范围内热敏化效应最显著。

参 考 文 献

- 1 Westra A, Dewey W C. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1971, 19: 467
- 2 Joshi D et al. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1978, 34: 233
- 3 Hahn G M. *Hyperthermia and Cancer*, 1982, New York and London: plenum press
- 4 Haveman J. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1983, 43: 267
- 5 Field S B, Bleehen N M. *Cancer Treatment Review*, 1979, 6: 63
- 6 Dewey W C, Hopwood L E, Sapareto S A, et al. *Radiology*, 1977, 123: 463
- 7 Dewey W C, Sapareto S A, Betten D A. *Radiat. Res.*, 1978, 76: 48
- 8 顾瑞琦, 沈惠明. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1990, 8, (3): 159
- 9 Ekkehad D. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1982, 41(6): 603
- 10 Ahnstrom G, Edvardson K A. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1974, 26: 293
- 11 Ahnstrom G, Edvardson K A. *DNA Repair Mechanisms*, New York: Academic Press, 1978: 469
- 12 Gerner E W, Oval J H, Manning M R et al. *Int. J. Radiat Biol. Phys.*, 1983, 9: 1401
- 13 Ling C C, Robinson E. *Radiat. Res.*, 1988, 114: 379

ENHANCEMENT OF RADIATION DAMAGE IN GERMINATING WHEAT SEEDS BY HYPERTHERMIA

Guo Fangqing Gu Ruiqi

(Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica, Shanghai 200032)

ABSTRACT Enhancement of X-ray induced radiation damage in germinating wheat seeds by heat treatment (44°C or 41°C, 20 min) has been investigated. The enhancement effect of heat treatment after irradiation was more significant than that of heat treatment before irradiation at dose range of 4.3–8.6 Gy. It was observed that germinating wheat seeds were very sensitive to heat treatment within 15 min after irradiation, which indicated that the repair of radiation damage was very active and rapid in a short period after irradiation. The repair of radiation damage in interval of fractionated irradiation was severely inhibited by heat treatment. The sensitivity of seeds to heat treatment corresponded with the levels of their repair activities. The more active the repairs of the seeds are, the more sensitive to heat treatment the seeds show. It was assumed that the enhancement of radiation damage by heat treatment in germinating wheat seeds was attributed to the inhibition of radiation damage repair by heat treatment, which is similar to the results of animal experiments.

KEYWORDS Hyperthermia, X-ray, Micronuclei, Fractionated irradiation, Wheat

(上接第 154 页 Continued from P 154)

DETERMINATION OF PROJECTION RANGE OF 7 MeV/u $^{16}\text{O}^{6+}$ IONS IN CR-39 SOLID STATE TRACK DETECTOR

Wang Guiling Wei Zengquan Li Wenjian Xie Hongmei

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

ABSTRACT Projection range of 7 MeV/u $^{16}\text{O}^{6+}$ ions implanted into CR-39 solid state track detector which is the material equivalent to biosamples is determined in the paper. Using measured data in the experiments, the projection range of the heavy ions in CR-39 (e. i. ion implantation depth) is analysed and discussed according to both etching rate ratio and statistics rule of residual range distribution. Results from the both ways are $32.5 \pm 6.2 \mu\text{m}$ and $30.5 \pm 6 \mu\text{m}$ respectively which are in agreement with each other well. The methods in the paper possess practical value to research on locating induced mutation in biosamples implanted by heavy ions.

KEYWORDS CR-39 solid state track detector, Projection range, Surface etching rate, Radial etching rate, Axial direction etching rate