

中能氩离子束辐照麦胚 自由基的 ESR 研究

李文建 卫增泉 颜红梅 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 用 ESR 波谱技术,研究了室温下中能氩离子(20.7 MeV/u)辐照小麦种子胚部产生的自由基,观察了自由基的稳定性。实验结果表明,种子中自由基浓度随种子含水量线性增加;自由基浓度随辐照剂量增加,然后趋于饱和;讨论了自由基与种子损伤的关系。根据实验数据和自由基扩散理论估算了自由基在麦胚中的扩散距离。

关键词 中能氩离子,小麦,ESR 波谱,自由基,辐照剂量,扩散距离

离子注入麦胚引起麦胚中生物大分子(DNA)吸收辐射能量而受损伤,这种损伤在修复过程中产生的错误,表现为遗传物质的突变。损伤过程中高度活性的中间体即自由基起着重要作用,^[1,2]因此探测自由基的产额及其变化规律是十分必要的。本文用电子自旋共振(ESR)波谱探讨了氩离子束照射小麦种子胚部产生的自由基的行为。

1 材 料 和 方 法

1.1 实验材料

选用定西 24 小麦整颗干种子,为兰州地区 6 月份自然环境中的干种子,含水量 3%。含水量值是同干燥 40 h 后的种子比较得到的。用水浸泡不同时间得到不同含水量的种子,然后将干、湿种子插入样品盘由氩离子束辐照种子胚部,在室温、干燥条件下存放 3—10 d 后,取整颗种子进行测量。

1.2 照射条件

中能氩离子束照射源由兰州重离子研究装置(HIRFL)产生,它的初始能量为 25 MeV/u,引出时经气体探测器、20 μ 镍窗和 2 cm 空气隙衰减后到达小麦胚表面处的氩离子能量降为 20.7 MeV/u,它在水中的 LET 约为 700 keV/ μ m,在麦胚中的射程估算约为 800 多微米。氩离子束的辐照剂量为 6.1×10^7 — 7.1×10^9 $^{40}\text{Ar}^{16+}/\text{cm}^2$,每个样品均采用连续照射到预定剂量值的方式。

1.3 种子的 ESR 波谱测定

采用美国 Varian E-115 型 EPR 谱仪,操作于 X 波段(~ 9.5 GHz)和 100 kHz 场调制,于

国家自然科学基金资助项目

收稿日期:初稿 1993-10-01,修改稿 1993-12-14

室温下记录一次微商 EPR 谱。以 Mn^{2+}/ZnS 中第 3—4 两条 EPR 谱线间距 (6.81 mT) 和 DPPH (二苯基苦基肼基, $g = 2.0036$) 为标准确定试样的 EPR 参量。

2 结果与讨论

2.1 自由基寿命和稳定性

在种子受辐照后的第三天开始测定其 ESR 谱, 然后不定期地测定种子 ESR 谱峰强度随时间的变化。观测期间, 种子在室温、干燥条件下保存。结果表明受辐照样品中自由基含量在两个多月时间内无明显的衰减。图 1 是不同含水量的小麦受氩离子束辐照后, 自由基随时间的变化。可见含水量高者, 自由基的衰减比较快。这主要是含水量高的种子, 产生的自由基浓度较高(参见图 2), 因而自由基的复合率也就比较高。图 1 还表明, 氩离子辐照在小麦种子中产生了较长寿命的自由基。

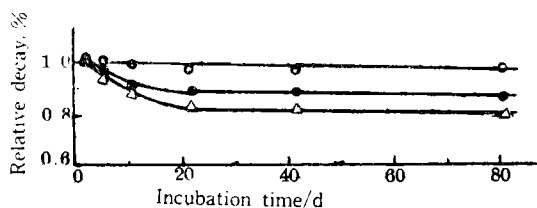


Fig 1. The relationship of free radicals in wheat seeds and incubation time moisture content;

(○) 3%, (●) 23%, (△) 31%

2.2 自由基与种子含水量的关系

图 3 是相同剂量的 $^{40}Ar^{15+}$ 离子辐照干(含水量 3%)、湿(含水量 23% 和 31%)小麦胚部后测得的 ESR 波谱。图 2 来源于图 3。为了直观表现出含水量与自由基之间的关系, 将自由基的相对含量(峰强度)与含水量的关系作图而成。由图 3 可见, 未辐照的种子测出的 ESR 信号较弱, 其信号强度(峰峰高)为 20 mm; 而被辐照的种子 ESR 波谱中都出现了较强的自由基信号峰, 表明受辐照的种子中产生了大量的自由基。比较干、湿种子产生自由基的 ESR 峰峰高可知, 种子湿度越大, 辐照后产生的自由基浓度就越高。这表明, 种子中的水在电离辐射作用下, 产生了羟自由基 $\cdot OH$ 、水合电子 e_{aq}^- 和 $H\cdot$ 自由基, 它们还可能与生物分子发生加成反应、抽氢反应或电子俘获反应, 从而产生了象 5(6)-羟基(氢)-6(5) 嘧啶自由基、8-羟基腺嘌呤、核糖自由基、尿嘧啶自由基等新的比较稳定的自由基^[3]。种子中含水量越大, 水辐解产生的自由基就越多, 因而进一步与生物分子作用

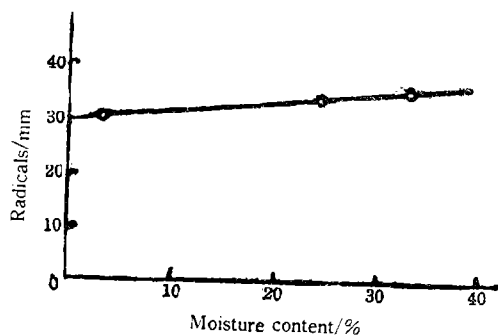


Fig 2. The relationship of free radical concentration and moisture content of wheat seeds under the condition of dose of $3.5 \times 10^8 {}^{40}Ar^{15+}/cm^2$

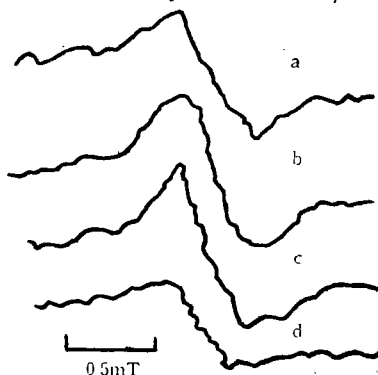


Fig 3. ESR spectrum in wheat seeds implanted by argon ions. implanting dose for (a), (b), and (c) is $3.5 \times 10^8 {}^{40}Ar^{15+}/cm^2$ and moisture content is 3%, 23%, and 31% respectively; (d) without implantation of $^{40}Ar^{15+}$ and with 3% moisture content

产生的新的比较稳定的自由基也就越多。

2.3 自由基浓度与辐照剂量的关系

图4是不同剂量辐照31%含水量小麦的ESR谱峰强度变化。结果表明,ESR谱峰强度随辐照剂量的增加而增强。在一定的辐照剂量下,出现了自由基饱和现象,这主要是高剂量照射时,自由基浓度增大,提高了自由基的复合率,使得自由基的增额和复合量达到了平衡。

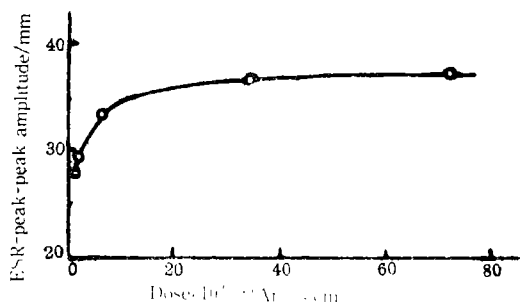


Fig 4. The relationship of free radical concentration in wheat seeds with 31% moisture content and dose

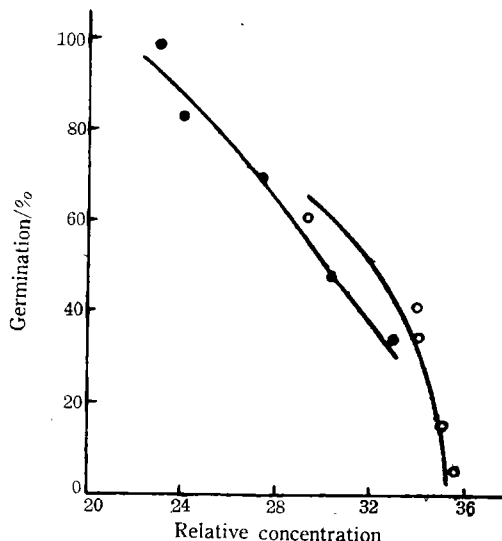


Fig 5. Germination fraction of dry and wet seeds as a function of free radical concentration, (free radical concentration is presented by ESR peak-peak amplitude (●) dry seeds, moisture content 3% (○) wet seeds, moisture content 31%)

2.4 自由基浓度与种子发芽率的关系

用经受不同剂量辐照的小麦种子在室温下进行发芽成活试验,观测干湿种子自由基含量与种子发芽率的关系。实验结果见图5。可见当种子的自由基含量低时,发芽率高;当种子中自由基含量达到一定值时,发芽率值陡然下降,表明此时种子受到了极其严重的损伤,大部分种子不能存活,生长受到严重抑制。比较干湿种子的两条曲线发现,种子中产生的自由基浓度相同时,干种子的发芽率低于湿种子的发芽率。这个结果表明,如果干湿种子的自由基浓度相同,则由图3和图4可知,只有当干种子在较高剂量照射,而湿种子在较低剂量照射时才有可能。例如,在本实验中,干种子的照射剂量为 $7.1 \times 10^9 \text{ } ^{40}\text{Ar}^{15+}/\text{cm}^2$ 时,自由基峰峰高为 33 mm;而湿种子的照射剂量为 $3.5 \times 10^8 \text{ } ^{40}\text{Ar}^{15+}/\text{cm}^2$ 时,自由基峰峰高则为 34 mm。因此,相同自由基时干种子发芽率低,是高剂量照射所致。另外还可以看出,当发芽率相同时,湿种子的自由基浓度高。这是由于同样剂量照射时,湿种子比干种子产生的自由基浓度高,所以在生物大分子产生同样损伤的情况下,湿种子就比干种子需要的辐照剂量为小。

2.5 自由基在麦胚细胞中的扩散距离

根据湿条件下生物材料受照射产生自由基($\text{OH}\cdot$, e^-_{aq} , $\text{H}\cdot$ 等)的扩散理论和DNA分子圆柱形双螺旋链构型,可得干湿条件下照射,存活率均达37%时剂量分别为 D_{37}^d 和 D_{37}^w 的关系式^[4],

$$(D_{37}^d/D_{37}^w) - 1 = 2 q Y N_1 (r_0/\rho) / \sigma \cdot N_0 (r_0/\rho) \cdot (r_0/\rho) \quad (1)$$

式中, q 是自由基首先同生物分子发生碰撞的作用几率, Y 是每次初级电离形成的自由基数目, r_0 为 DNA 分子的半径, σ 为靶材料密度, ρ 为自由基扩散距离, N_0 、 N_1 是诺埃曼函数。 $N_1(r_0/\rho)/N_0(r_0/\rho) \cdot (r_0/\rho)$ 项已有与 (r_0/ρ) 函数关系的标准曲线。因此, 只要 q 、 Y 、 σ 值选定, D_{H}^{a} 、 D_{H}^{w} 在实验中测定, 那么从标准曲线上就能找到 r_0/ρ , 于是自由基扩散距离 ρ 即可得到。

利用本实验 20.7 MeV/u $^{40}\text{Ar}^{16+}$ 注入不同含水量的小麦种子(3%、31%), 通过萌发实验, 测得各自的 D_{H}^{a} 和 D_{H}^{w} 分别为 8×10^9 、 7×10^8 $^{40}\text{Ar}^{16+}/\text{cm}^2$, 取 $\sigma = 1.1 \text{ g/cm}^3$ (麦胚主要成分是蛋白质与脂肪), q 约为 0.8, Y 取 2.7。再利用(1)式与标准曲线, 便得到

$$(r_0/\rho) = 0.545$$

$$\rho = 10^{-9} \text{ m} / 0.545 = 1.83 \times 10^{-9} \text{ m}$$

从计算结果可知, 只有自由基($\text{OH}^\cdot$ 、 e^-_{aq} 、 $\text{H}^\cdot$)在 DNA 分子附近产生才能对其造成损伤, 在细胞外产生的自由基不能进入细胞(细胞膜厚 $6 \times 10^{-9} \text{ m} - 10^{-8} \text{ m}$)触及 DNA 分子。

综上所述, 氩离子束辐照小麦种子能产生大量的自由基, 并且有些自由基的寿命很长。在常温下, 测得的自由基的 ESR 谱峰为一单峰。本实验证实了, 在处理条件相同的情况下, 高含水量种子辐照后, 自由基含量高, 发芽率低, 自由基的存在确实是引起种子严重损伤的重要因素之一。

参 考 文 献

- 1 邓建国, 余增亮. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 263
- 2 程备久, 王公明. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 276
- 3 朱壬葆, 刘永, 罗祖玉. 辐射生物学, 北京: 科学出版社, 1987: 73
- 4 Bhattacharjee S B, Das Gupta N N. Radiat. Res., 1962, 16: 773

ESR STUDIES OF FREE RADICALS IN WHEAT EMBRYOS FOLLOWING ARGON ION BEAMS WITH MEDIUM ENERGY EXPOSURE

Li Wenjian Wei Zengquan Xie Hongmei Han Guangwu

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

Zhang Jinlian Hu Yue

(Institute of Grain Crops, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou 730070)

ABSTRACT Free radicals were studied at room temperature using ESR spectroscopic method after wheat embryos were irradiated with argon ion beams with medium energy (20.7 MeV/u). The stability of the radicals was observed. Experimental results show that the radical concentration in seeds linely increases with moisture content of seeds; the radical concentration increases with irradiation dose and gradually reaches a saturation state. The relationship of the radicals and damage to seeds was discussed. According to experimental data and radical diffusion theory the diffusion distance of the radicals in wheat embryos was estimated.

KEYWORDS Argon ion, Ion beams, Wheat, ESR spectroscopy, Free radical, Irradiation dose, Diffusion distance