

氮离子束注入与贯穿小麦种子的生物效应初步研究

李文建 卫增泉 颜红梅 李 强 韩光武 党秉荣 周光明

(中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000)

杨汉民 汪丽虹 高清祥

(兰州大学生物系, 兰州 730000)

摘要 采用 47.9 MeV/u 和 20.4 MeV/u $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子束对小麦种子进行生物学效应研究。结果表明: 1) 重离子的贯穿和注入对小麦种子的生长势均有明显的抑制作用, 剂量越大, 抑制作用越强, 而且注入作用高于贯穿; 2) 在种子的根尖细胞中出现的染色体畸变具有多种类型, 畸变频率高于对照组 198~592 倍, 而且注入比贯穿作用强; 3) 注入和贯穿处理两者同样有明显的诱变作用, 可引起 DNA 的损伤和修复。

关键词 氮离子束, 注入, 贯穿, 生长势, 损伤和修复, DNA, 染色体畸变

重离子束作为一种新的辐射源, 以其独特的优势^[1]正在生命科学中显示出诱人的应用前景, 日益引起人们的重视和兴趣。然而国际上对这个领域的研究, 几乎都集中于高能重离子的辐射生物学及其在肿瘤治疗应用上的研究^[2]; 对低能域(keV 水平)的研究, 迄今仍主要是离子注入用于材料科学上^[3]。

我国近几年首创的低能(<200 keV)离子注入生物效应及诱变育种的研究, 取得了令人鼓舞的成果^[4]。然而, 中能离子束生物效应研究还不多见, 特别是中能离子注入和贯穿的生物实验的对比研究, 迄今尚未见报道。

本工作是在中国科学院近代物理研究所的重离子加速器上采用外束技术, 将 47.9 MeV/u 和 20.4 MeV/u $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子束对小麦种子分别进行贯穿和注入, 着重讨论上述两种辐照方式的生物学效应及其它们的不同特性。

1 材 料 和 方 法

1.1 离子束选取

采用 $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子束, 能量取 47.9 MeV/u 和 20.4 MeV/u 两种; 束流强度 0.2 nA; 照射剂量用空气电离室测定, 样品的辐照剂量分别为 5×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 $1 \times 10^9 \text{ p/cm}^2$ 。

1.2 样品准备

实验前, 挑选大小均匀、颗粒饱满和无损伤无霉菌污染的 82-579 风干春小麦种子。将该种子插入直径为 40 mm 的聚四氟乙烯小盘中, 种胚朝上, 按同心圆排列, 每小盘 60 粒, 每 10 个小盘固定于一个可旋转的大塑料盘上。

国家自然科学基金“八五”重点课题

收稿日期: 初稿 1994-10-01, 修改稿 1994-12-12

1.3 离子的辐照过程

将装载样品的大塑料盘安装在 HIRFL 辐照装置上^[5], 置于室温大气环境中, 由步进马达带动, 依次接受照射, 剂量数据获取与样品更换均由微机自动操作。以未辐照种子作对照。

1.4 辐照后的处理方法

将辐照后的种子 50 粒分成两组, 均匀排列在两个培养皿内, 加入适量清水, 25℃条件下萌发, 每日换水一次, 观察记录发芽情况。当小麦生长到第 7 天时, 测植株高度(第一片真叶的高度作为株高), 以平均值表示它们的生长势。实验时, 一次一组根尖 2~3 条在 60℃、1mol/L HCl 中水解 15 min, 用席夫试剂染色 15 min, 常规压片法制成临时压片, 各组 10 个根尖, 统计根尖细胞中染色体畸变类型和频率。DNA 合成过程的处理采用 ³H-TdR 标记法。将氮离子注入和贯穿处理的种子置于培养皿内, 25℃条件下萌发培养, 分别培养 4、6、8、10、12、14、16、18 和 20 h 后取出种子, 每个时间梯度剥取 8 粒种胚, 分成两组作为重复, 称重后放入含有 1 ml³ H-TdR(7.4×10⁴Bq/ml)溶液的小玻璃瓶内, 25℃条件下标记培养 4 h, 用蒸馏水冲洗 5 次, 然后将种子转入 5 ml 离心管内, 在 80℃烘箱内烘干、加高氯酸和 H₂O₂ 各 3 滴, 消化处理 4 h 左右(至无色透明), 最后转入闪烁瓶内, 加入 4 ml 无水酒精、6 ml 闪烁液(PPO 0.4% + POPOP 0.01%)于 FJ-2100 双道液闪计数器上计数, 以 cpm 表示 ³H-TdR 的相对掺入量。

2 结果和讨论

2.1 ¹⁴N⁷⁺ 离子贯穿和注入对小麦种子生长势的影响

表 1 为 ¹⁴N⁷⁺ 离子贯穿和注入小麦种子后, 生长势随剂量变化的规律。从结果可以看出, 不论是贯穿还是注入, 其生长势均随辐照剂量增加而衰减; 辐照剂量相同时, 注入测到的生长势比贯穿测到的生长势为小。由此表明, 小麦种子的初始生长过程在不同程度上都受到 ¹⁴N⁷⁺ 离子产生的抑制作用, 辐照剂量越大, 抑制作用越强, 而且注入比贯穿损伤严重。

Tab 1. The dependence of growing power for wheat seeds on ¹⁴N⁷⁺ ion dose with penetration and implantation

Irradiated method	Dose/p·cm ⁻²	Testable seeds	Total highness for plant stem/cm	Growing power/cm	Relative growing power/%
Contral	0	50	424.0	8.48	100.0
Implantation	5×10 ⁶	50	166.8	3.34	39.4
	1×10 ⁸	50	158.3	3.17	37.4
	1×10 ⁹	50	92.4	1.85	21.8
Penetration	5×10 ⁶	50	276.7	5.53	65.2
	1×10 ⁸	50	200.0	4.09	47.2
	1×10 ⁹	50	101.3	2.03	23.9

2.2 ¹⁴N⁷⁺ 离子贯穿和注入对根尖细胞染色体畸变的影响

¹⁴N⁷⁺ 离子辐照(贯穿和注入)小麦种子后根尖细胞中出现的染色体畸变类型有: 微核、畸形核、核碎裂、桥、断片、落后染色体、游离染色体等。表 2 是小麦种子的染色体微核率与畸变率随 ¹⁴N⁷⁺ 离子贯穿和注入剂量的变化。从表 2 可以看出, 小麦种子的染色体微核率和总畸变率都超过对照组几百倍, 两种辐照方式的微核率和畸变率均与剂量呈正相关性, 但较为特殊的是, 1×10⁹p/cm² 照射小麦种子后, 这种微核率和总畸变率反而都有所下降, 这可能是由于剂量过大, 严重抑制了细胞分裂过程, 降低了细胞分裂指数, 从而减少了细胞分裂过程中再次出现结构变化

Tab 2. The dependence of chromosomal micro-nucleus rates and aberration frequencies for wheat seeds on $^{14}\text{N}^{7+}$ ion dose with penetration and implantation

Irradiated mothed	Dose/p·cm ⁻²	Observable cell No.	Micro-nucleus cell No.	Aberration cell No.	Micro-nucleus rate/%	Aberration frequency/%
Control	0	20000	9	12	0.045	0.06
Implantation	5×10^6	20000	3342	3516	16.71	17.58
	1×10^7	20000	5406	5624	27.03	28.12
	1×10^8	20000	6843	7023	34.22	35.12
	1×10^9	20000	5873	6117	29.87	30.59
Penetration	5×10^6	20000	2258	2375	11.29	11.88
	1×10^7	20000	3891	4106	19.46	20.53
	1×10^8	20000	6517	6837	32.59	34.19
	1×10^9	20000	4844	5003	24.22	25.02

所致。另外，从注入和贯穿的比较可知，注入的染色体微核率和总畸变率高于贯穿的染色体微核率和总畸变率，所以注入比贯穿引起的染色体突变频率为高。

2.3 $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子贯穿和注入对 DNA 合成过程的影响

图 1 表示了 $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子注入和贯穿处理小麦种胚内非按期 DNA 合成 (DNA 损伤修复) 的动态过程，它表明 $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子处理能够引起小麦种胚 DNA 期外合成，即 DNA 损伤的修复合成，其修复合成的高峰期在种子萌发时间后正常的 DNA 复制高峰 (14 h) 来到之前 4 h (贯穿) 和 6 h (注入)。注入组比贯穿组期外 DNA 合成来得早，而且修复复制效率较高，这主要是注入组处理引起了小麦种胚细胞内 DNA 相对比较严重的损伤。贯穿组出现的正常的 DNA 合成延后现象，可能是由于外期 DNA 合成和正常的 DNA 合成的时间间隔较近，而未完全修复的损伤影响了随后的 DNA 复制^[6]。上述结果表明：中能 $^{14}\text{N}^{7+}$ 离子注入和贯穿处理后小麦种胚内均有非按期 DNA 合成。如果 DNA 损伤修复不完全或修复出现错误，都将导致突变，这为重离子诱变育种提供了遗传学依据。

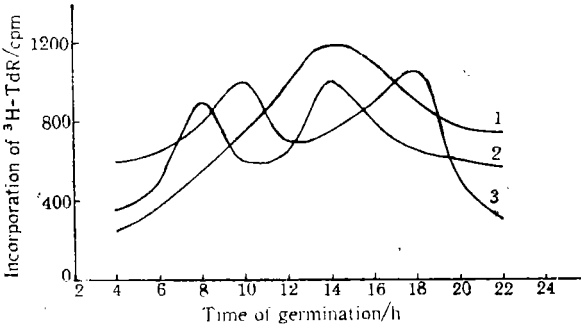


Fig 1. The incorporation of ^3H -TdR during the early period of germination in wheat seed embryos implanted and penetrated by $^{14}\text{N}^{7+}$ ion beam
(1) CK (2) implantation, $1 \times 10^7\text{p}/\text{cm}^2$
(3) penetration, $1 \times 10^7\text{p}/\text{cm}^2$

参 考 文 献

1 卫增泉, 刘玉岩, 王桂玲等.核技术, 1991, 14(6): 380
2 Todd P et al. Radiat. Res., 1985, 104(2): S5—S316
3 姚新民, 刘宏清, 黄兴鼎等.核物理动态, 1992, 9(2): 19
4 余增亮, 霍裕平.第二次全国离子注入生物效应学术会议论文摘要, 合肥, 1993, 9: 1
5 卫增泉, 刘玉岩, 王桂玲等.核技术, 1991, 14(6): 341
6 丘泉发, 刘振声, 李宝健等.遗传学报, 1984, 11: 361

(下转第 166 页 Continued to p 166)

SOME INVESTIGATIONS ON THE NATURE OF REACTION PROCEEDING OF RADIATION INDUCED GRAFTING IN THE POLYETHYLENE—ACRYLIC ACID SYSTEM

Jiang Qikang

(China Textile University, Shanghai 200051)

Sun Hongbin

(Shanghai Functional Polymeric Material Research Institute, Shanghai 200090)

Zhang Zhiping

(East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

ABSTRACT Direct radiation grafting of acrylic acid (AA) and methacrylic acid (MAA) onto polyethylene (PE) films were studied. The investigation of the nature and characters of grafting proceeding were performed. The penetration of grafting onto the thin PE film was studied and the mechanism discussed. This involves an initial stage whereby the grafted surface layer deforms the PE allowing further monomer to penetrate. It was shown that the surface grafting was dynamic controlled and the penetration of monomer depended on the polarity of monomer.

KEYWORDS Polyethylene, Acrylic acid, Methacrylic acid, Radiation, Surface grafting, Penetration grafting, Diffusion

(上接第 169 页 Continued from p 169)

PRELIMINARY STUDIES ON THE BIOLOGICAL EFFECTS OF WHEAT SEEDS IMPLANTED AND PENETRATED BY NITROGEN ION BEAMS

Li Wenjian Wei Zengquan Xie Hongmei Li Qiang Han Guangwu

Dang Bingrong Zhou Guangming

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

Yang Hanmin Wang Lihong Gao Qingxiang

(Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

ABSTRACT The biological effects of wheat seeds irradiated by 47.9 MeV/u and 20.4 MeV/u $^{14}\text{N}^{+7}$ ion beams were studied respectively. The results showed: (1) The heavy ions of both penetration and implantation can all significantly inhibit growing power of wheat seeds. The greater dose is, the greater growing power is inhibited, and implantation influence on growing power is stronger than penetration. (2) In root tip cells of irradiated seeds, a great variety of chromosomal aberrations were observed, the aberration frequencies were several hundred times higher than that of the corresponding controls and the implantation surpasses the penetration. (3) The seeds treated by implantation and penetration have same evident effect of mutation and can induce DNA damage and repair.

KEYWORDS Nitrogen ion beam, Penetration, Implantation, Growing power, Damage and repair, DNA, Chromosomal aberration