

文章编号:1000-8551(2005)04-00-05

离子辐射育种研究进展

唐掌雄^{1,2} 刘志芳¹ 邵俊明¹ 龚胤昕²

(1. 中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081;2. 中国农业科学院原子能利用研究所,北京 100094)

摘要:本文重点介绍能量为(MeV/u)级离子辐射的生物效应和离子辐射育种研究的国内外现状,以及作者在该领域中的初步研究结果,简述了低能离子束(几十 keV)在辐射育种研究中遇到的一些问题。

关键词:离子辐射;突变育种;布喇格峰效应

PROCESS IN IONS IRRADIATION MUTAGENETIC BREEDING

TANG Zhang-xiong^{1,2} LIU Zhi-fang¹ SHAO Jun-ming¹ GONG Yin-xin²

(1. Institute of Crop Breeding and Culture, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing, 100081;

2. Institute of Atomic Energy Application, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing, 100094)

Abstract: Biological effects of ion irradiation at energy level of MeV/u, international and national status of breeding research, and the author's research results on this area are introduced in this paper. The problems which existed in breeding research of ion irradiation at low energy (keV level) are also listed.

Key words: ions radiation; mutagenetic breeding; Bragg peak effect

近40年来,随着航天事业的发展,特别是载人宇宙飞船的升空,人们对空间辐射(高能量的电子、质子和高原子序数粒子)引起的辐射效应甚为关注,并进行空间生命科学的研究。与此同时,各种高能粒子加速器的建立(核物理学研究和辐射治癌医疗应用),对具有不同能量,带不同电荷的加速离子(^1P - ^{238}U)的辐射生物效应研究也引起了各国学者的重视。离子辐射生物效应研究是以哺乳动物及其细胞为材料为主,而对离子辐射植物的生物效应研究较少。本文综述了离子辐射的特点,以及离子辐射在植物诱变育种方面的进展。

1 离子辐射的特点

离子辐射($^1\text{P}^{238}\text{U}$)与X、 γ (低LET)辐射相比在辐射生物学方面有着独特的优势:(1)离子辐射的电离密度大,是属于高传能线密度辐射(高LET),其产生的相对生物效应(RBE)也高,有关不同LET辐射引起的相对生物效应的关系如图1所示。RBE与LET的关系从 γ 射线开始随LET的增加而增加,当LET在100~200keV/ μm 时RBE为最大,然后RBE随LET增加反而减小。X射线(能量大于25keV)和 ^{60}Co 射线的LET为0.27keV/ μm 的RBE为1时,离子辐射的RBE远大于1,且离子辐射的RBE与离子所带电荷有关。(2)离子辐射的能量损失在小的区域内,故剂量集中度高,因而对生物体产生的总体生理损伤较小。(3)离子辐射在物质中的射程末端产生布喇格(Bragg)峰效应(高电离密度率);此时的LET更大(其相对剂量也更大),如图2所示。同时也在物体中产生质量的沉积和电荷交换作用。(4)

收稿日期:2004-11-18

基金项目:国家自然科学基金项目(39870445,10275090)

作者简介:唐掌雄(1934-),男,上海市,研究员,长期从事核技术和核技术农业应用研究。联系电话:01062895280。

低 LET 辐射(γ 、 e^-)与生物体作用产生较多易修复的 DNA 单链断裂;而高 LEF 辐射易产生较多的难以修复的 DNA 双链断裂,故其诱导的染色体畸变的有效性较低 LET 辐射高数倍。

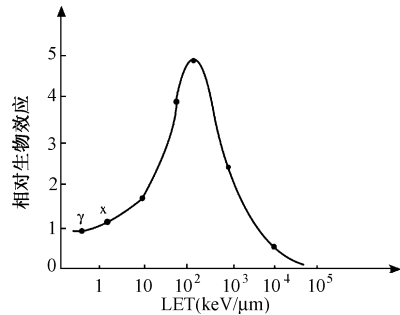


图 1 传能线密度与相对生物效应曲线

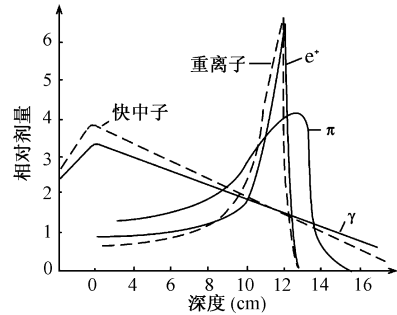


图 2 不同辐射的能损所产生的相对剂量关系和布喇格峰

离子辐射物质所接受的吸收剂量 D 可用下列公式来估算^[9]：

$$D(Gy) = 1.6 \times 10^{-9} \times LET(keV/\mu m) \times F(粒子/cm^2) \times 1/(密度)$$

表 1 不同能量的 3 种离子辐射在水中的射程和 LET

能量 (MeV/μm)	¹ P		¹² C		¹⁶ O	
	射程(μm)	LET(keV/μm)	射程(μm)	LET(keV/μm)	射程(μm)	LET(keV/μm)
1	20	27.0	6.5	1000	5.0	1800
2	70	16.2	29.1	591	21.8	1050
3	140	12.0	55.0	410	41.0	6710
4	230	9.5	83.5	330	62.7	607
6	470	6.9	165	247	134	439
8	790	5.5	271	197	203	350
10	1180	4.6	400	164	301	291
16	2800	3.1	905	112	694	199
20	4180	2.6	1381	93	1036	165
50	21800	1.2	6800	44	4500	78
75	45000	1.0	10500	32	9000	55

2 离子辐射育种研究进展

2.1 国外研究概况

有关离子辐射植物的生物效应的研究,Smith^[11]在 1967 年报导有用不同的电离辐射(X-250keV、不同能量中子 0.43 ~ 14.7MeV、μ 介子-7GeV、介子-8GeV 和¹P-28GeV)辐照玉米种子,研究其对玉米 4 和 5 叶片上产生的黄绿扇形体(yg_s)的变异的细胞遗传效应,发现不同电离辐射引起的相对生物效应差异较大。

Hirono 等^[2]用拟南芥种子为试材,应用多种辐射能量的加速重离子(⁴He、⁷Li、¹²C、¹⁶O、²⁰Ne、⁴⁰Ar,其 LET 值为 74 ~ 1890keV/μm),并经调整大布喇格(Bragg)峰刚好落在种子内最敏感的茎分生组织区内,以达到最强的辐照效果,并分析辐射引起的植物生长抑制,瘤状物形成以及体细胞突变(植株上有黄绿斑点)等所需的辐射剂量,辐射引起的这些现象与相对生物效应有关。

Slater 和 Tobias^[3]用高空气球搭载玉米种子;Peterson 观察经“阿波罗”飞船搭载的玉米种子发育成的植株,发现其生长发育均出现不正常,并在叶片上出现黄色条斑变异^[4]。

此后,Yang 等^[5]和 Mai 等^[6]用同一玉米品种种子(具有标记基因的杂合体 LW₁/1W₁)进行了一系列重离子辐射(⁴He-225MeV/u、¹²C-400MeV/u、¹⁶O-200MeV/u、²⁰Ne-400MeV/u、⁴⁰Ar-500MeV/u)和高空飞行搭载试验,研究其辐射生物效应,二者的实验结果相似。

Tarasenk^[7]曾用高能质子处理马铃薯块茎的芽,根尖细胞染色体异常诱变效率较射线高 10 ~ 17 倍。

近年来,日本学者采用 220MeV (18.3MeV/u) 的 ^{12}C 离子辐照处理植物种子、植株以及花粉均获得良好效果。Watanabe^[8]报导用 150Gy 的 ^{12}C 离子辐照拟南芥种子,在植株生长期再加紫外线辐照,结果选育出多个具有抗紫外辐射基因的拟南芥新品系。Nagatom^[9]用 5~15Gy ^{12}C 离子辐照试管菊花苗,选育出一批花色变异不同于 辐射变异的新品系,Inone^[10]用 100Gy ^{12}C 离子辐照野生烟草花粉(具有抗病性),再与栽培用的烟草杂交,克服了远缘杂交不亲和的问题,其杂交株成活率比 辐射提高 30 倍。

2.2 国内研究概况

2.2.1 低能(keV)离子辐射诱变育种 从 20 世纪 80 年代始,我国余增亮等^[12]和其他学者对 ^7N (30keV) 低能离子辐射处理植物种子进行了大量研究,所用的注量范围为 $10^{16} \sim 10^{17}$ 粒子/ cm^2 ,选育出一批新品种,并已推广应用。但不能确定其机理是低能 ^7N 离子直接进入种胚内起作用,还是由其产生的次级射线(辐射与种皮相互作用)引起的辐射生物学效应。

通过不同方法的实验和理论推算,卫增泉等确认其为次级辐射效应的结果^[13]。得出此结果的理由有 3 点:(1)用宽松的理论估算 ^7N (30keV) 离子的射程远小于 $1\mu\text{m}$,而小麦的种皮大于 $40\mu\text{m}$ (其他种子的种皮大于 $50\mu\text{m}$),二者相差甚远;(2)采用离子辐射的注量为 $10^{16} \sim 10^{17}$ 粒子/ cm^2 ,如果是离子直接进入种胚内起作用,则其吸收剂量太大;后面介绍的高能离子(^1P 、 ^{12}C 、 ^{16}O 等)辐射能引起植物材料突变用的离子注量只为 $10^7 \sim 10^{11}$ 粒子/ cm^2 ,二者相差甚远;(3)在用 $10^{16} \sim 10^{17}$ 粒子/ cm^2 注量辐照时会使得种子升温太高,被辐照种子时有糊焦状出现,而高温热效应也能引起染色体畸变。

2.2.2 高能离子辐射生物效应研究 目前将粒子能量大于 1MeV/u 以上的粒子称作高能离子辐射。刘振声等^[14]用加速重离子(^{56}Fe -600MeV/u, ^{40}Ar -570MeV/u)辐照水稻获得良好的诱变效果;邓红等^[15]采用 ^{40}Ar -400MeV/u,剂量为 100Gy 辐照水稻,在第 5 代获得了遗传性状稳定的增产 14% 以上的变异新品种。

丘运兰等^[16]用高能离子(^{20}Ne -245 MeV/u, ^{40}Ar -400MeV/u, ^{56}Fe -600MeV/u)辐射玉米研究其诱变效应,发现其相对生物效应远大于 辐射。

颜红梅等^[17]用 ^{16}O 离子(75MeV/u),注量为 $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^8$ / cm^2 辐照春小麦种子,在第 5 代获得几个增产达 36% 的优良新品系。

卫增泉等^[18]和其他单位合作,采用重离子 ^{12}C (45~75MeV/u) 辐照春麦、马铃薯等农作物种子以及其他植物(新疆白皮瓜、荷兰豆、草籽、中药材、花籽等)和微生物等,均取得了良好的效果。

刘录祥等^[19]用高能 ^7Li 离子(42.3MeV)辐照春麦和冬麦获得了多个新品系;此外还模拟宇宙线的混合高能粒子场(μ 、 e^+ 、 e^- 、 ^1P 、)对小麦、蕃茄和花卉等进行辐照生物效应的研究,也获得了与 射线处理相比可显著提高其相对生物效应的实验结果。

2.3 作者的研究工作

自 20 世纪 80 年代始我国的航天诱变育种研究取得了许多成果,但缺少基础性研究^[20]。到目前为止,大家公认的航天诱变育种的物理基础是由宇宙辐射(高能量的质子、电子和高原子序数粒子如: ^4He 、 ^{12}C 、 ^{16}O 、 ^{56}Fe 等)、微重力、弱磁场、振动和瞬间高温等多因素综合协同作用,而宇宙辐射是起主导作用的因素。为了配合航天育种的基础研究,我们从 1995 年始在地面上用加速高能离子(^1P 、 ^{12}C 、 ^{16}O)模拟空间环境辐照种子,取得了初步的预期结果。

2.3.1 质子辐照种子的生物效应研究 宇宙辐射中 80% 以上的成份是高能质子,因此进行质子辐照的生物效应研究是很有必要的。我们试验中所用质子能量为 2~9MeV,注量为 $2 \times 10^9 \sim 7 \times 10^{10}$ / cm^2 ;辐照的农作物种子有冬麦和大麦^[21]、高粱^[22]、玉米、水稻、甜瓜和西瓜。结果显示质子辐照所引起的有益突变显著高于 射线,同时还取得其他一些初步结果: 获得了第 5 代稳定的突变新品系原冬 219 冬小麦^[23],其产量比原品种增产 10% 以上,且株高降低 10cm 以上; 在甜高粱的实验中获得了早熟 15d 和具有抗高粱花叶病的新品系等多个种质材料; 与中国农科院作物研究所合作,用质子辐照的粳稻实验中第 3 代获得了 3 个新品系,其产量增加 10%~19%,且品质有所提高; 与河北省唐山地区农科所^[24]合作用质子辐照西瓜种子,在第 6 代获得了优质新品种,2003 年在该地区推广上千亩; 我们还协助浙江农科院原子能利用研究所王彩莲等^[25]用质子辐照水稻,获得了具有早抽穗、矮秆、千粒重增加等有益突变的新材料。

在质子辐照农作物种子试验中,当代幼苗生长情况出现了 3 个很有意义的结果;在后面所述的重离子辐照种子中也有类似的结果,概述如下:

2.3.1.1 注入能量、贯穿能量和布喇格(Bragg)峰效应 在同一辐射注量下,能量为 2~6MeV 质子辐照小麦时,辐射损伤随能量的增加而加大,以 6MeV 的辐射损伤最大;当质子能量大于 8MeV 时其辐射损伤反而变小,此时质子似已穿透小麦种胚,在胚内不产生 Bragg 峰效应,则种胚内的总吸收剂量变小,因而辐射损伤反而变小,如图 3 所示。因此我们可把 2~6MeV 的质子能量称作小麦的注入能量,即此时的质子都停留在小麦种胚内,不同能量的辐射离子停留在不同深处并产生 Bragg 峰效应。

大于 8MeV 质子的能量可称作小麦的贯穿能量。对不同作物种子和不同离子辐射,所对应的最大注入能量和最小贯穿能量是不同的。例如, ^{12}C 离子辐照玉米种子,其注入能量约为 4~16MeV/u,而用 45MeV/u 时已为贯穿能量。

2.3.1.2 高比率的条状叶绿素缺失变异

用 2~6MeV 质子辐照小麦、大麦、玉米和高粱种子时,在当代幼苗的第 1 叶片上,沿中央叶脉处均出现条状叶绿素缺失变异,其变异率与能量有关,其中以 4MeV 的质子辐照所出现的缺失率最高达 90%~100%,如图 3 所示。这种现象与同步辐射(软 X 和超软 X)辐照小麦、大麦和高粱种子时相似^[26]。这种现象在 γ 辐射中未见报道。

2.3.1.3 最低注入能量 用能量小于 2MeV 质子辐照大麦(表 2),当处理带有稃壳的种子时其幼苗苗高要高于对照,显示无辐射损伤作用,此时没有条状叶绿素变异;而当处理剥离稃壳的种子时其苗高要远低于对照,此时出现条状叶绿素缺失变异,显示出辐射损伤。这就说明,当用低于 2MeV 质子辐照有稃壳的大麦时,质子不能直接进入种胚内起作用。同样在用小于 1.5MeV 质子和小于 3.2MeV/u ^{12}C 离子辐照小麦时都不能直接进入小麦种胚内起作用。上述能量可称作最低注入能量。

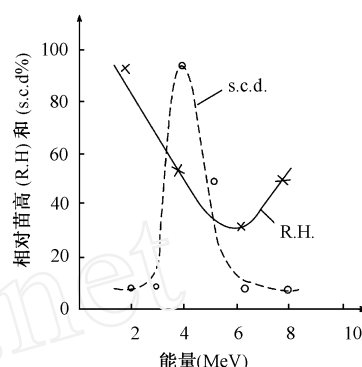


图 3 质子辐射对小麦种子苗期生长的影响

2.3.2 重离子辐照农作物种子的研究

2.3.2.1 ^{12}C 、 ^{16}O 离子辐射冬麦的生物效应

实验中采用

表 2 质子辐照对大麦的幼苗生长的影响

质子	稃壳	相对苗高 (%)	条状叶绿素缺失率 (%)
2MeV,	有	104.0	0
$2 \times 10^9/\text{cm}^2$	无	81.5	75

4 个能量即 3.2、8、16、75 (MeV/u) 和 4 个注量即 2、4、8、12 ($\times 10^8$ 粒子/ cm^2)。实验结果显示,用 3.2MeV/u 能量辐照后,当代幼苗未见辐射损伤,且个别剂量反而出现刺激效应,表明在此情况下离子未能进入小麦种胚内。在上述注量下,能量为

16MeV/u 处理种子能发芽,但全都死亡。而采用 75MeV/u 高能量时,其相对苗高要高于对照,表现为贯穿能量。在能量为 8MeV/u 处理幼苗出现有条状叶绿素缺失变异。用 8MeV/u 和 75MeV/u 的 ^{12}C 和 ^{16}O 离子辐照冬麦,在 M_2 代均出现有益变异,其变异效率明显高于 γ 辐射。

2.3.2.2 ^{12}C 和 ^{16}O 离子辐射甜高粱的生物效应 在 M_1 代幼苗表现与辐射小麦相似,而在 M_2 代获得了含糖量均比原品种提高 1 倍的 3 个新品系。

2.3.2.3 ^{12}C 离子辐照自交系玉米的生物效应 采用 5 个能量,即 4、8、12、16、45 (MeV/u) 和 4 个注量,即 5、10、12、40 ($\times 10^7$ 粒子/ cm^2) 进行辐照玉米的实验,观察当代幼苗生长状况。当 ^{12}C 能量为 4~16MeV/u 时其辐射损伤随能量的增加而加大,呈现为注入式能量,其中 16MeV/u 的辐射损伤最大;而当能量为 45MeV/u 时辐射损伤反而减小,表现为贯穿能量。在 M_2 代出现早熟、矮秆、多穗等有益变异,雄花和雌穗的也有明显变化。初步观察认为高能 ^{12}C 离子辐照玉米引起的变异率远高于 γ 辐射。

此外,特别要提出,我们在 2003 年用返回式卫星搭载的 100 粒玉米种子的飞行实验中,发现有 1 株幼苗的第 1 叶片上也出现条状叶绿素缺失变异。

3 展望

高能加速器造价高昂,一定程度上限制了离子辐照植物生物学效应的研究,但在科研人员的不断努力下该领域的研究还是取得了一系列可喜的进展,其中一些结果显示:离子辐射植物产生的诱变频率和突变谱均远高于 γ 辐射;且离子辐射可做到能量的微调,可控制离子注入种胚内的特定部位起作用,这为探索定位辐射诱变提供了可能。还要提出一点,近年来在转基因技术方面应用重离子辐射处理受体材料,使外源 DNA 更易进入受体细胞,从而提高基因导入率和转化效率,此技术应用已受到广泛重视。离子辐射植物生物学效应的研究,将提供一种较好的辐射诱变新手段,从而促进辐射育种的研究和应用。

参考文献:

- [1] Smith H H. Relative biological effectiveness of different types of ionizing radiations: Cytogenetic effects in maize. *Rad Res. Supplement*, 1967, 7: 190 ~ 195
- [2] Hirono Y, Smith H H, et al. Relative biological effectiveness of heavy ions in producing mutations, tumors and growth inhibition in the Crucifer plant, *Arabidopsis*. *Rad Res*, 1970, 44: 204 ~ 223
- [3] Slater J V, Tobias C A. Effects of Cosmic radiation on Seed differentiation and development. *Rad Res*, 1963, 19: 218
- [4] Peterson D D, Benton E V, et al. Biological effects of high-LET Particles on Corn Seed embryos in the Apollo-Soyuz test Project-Biostack Experiment. *COSPAR. Life Sciences and Space Res.* 1977, 15: 151 ~ 155
- [5] Yany T C, Tobias C A. Potential use of heavy-ion radiation in crop improvement, *Gamma Field Symposia*, Japan, 1979, 18: 141 ~ 151
- [6] Mei M, Qiu Y, et al. Mutational effects of space flight on Zea mays seeds. *Adv. Space Res*, 1994, 14: 33 ~ 39
- [7] Tarasenko N O. Comparative mutagenic effectiveness of physical factors on plants. *Zhurnal*, 1985, 3: 55 ~ 65
- [8] [B114] Watanabe H. Feasibility of ion beams on plant breeding. The 23rd Japan Conference on Radiation and Radiotopes Proceedings, Tokyo International Exhibition Center, December 8 ~ 10, 1998
- [9] [B123] Nagatomi S. Characteristics of chrysanthemum mutants regenerated from *in vitro* explants irradiated with $^{12}\text{C}^{5+}$ ion beam. The 23rd Japan Conference on Radiation and Radiotopes Proceedings, Tokyo International Exhibition Center, December 8 ~ 10, 1998
- [10] [B124] Inoue M. characteristics of the ion beam exposure for overcoming the Corss incompatibility. The 23rd Japan Conference on Radiation and Radiotopes Proceedings, Tokyo International Exhibition Center, December 8 ~ 10, 1998
- [11] 杨垂绪,梅曼彤. 太空放射生物学. 广州: 中山大学出版社, 1995. 7
- [12] 余增亮,邱晓俭,霍裕平. 离子注入生物效应及育种研究进展. *安徽农学院学报*, 1991, 18(4): 251 ~ 257
- [13] 卫增泉,袁世斌,颜红梅,等. 低能离子注入小麦种子胚内的射程分布. *原子核物理评论*, 2003, 20(3): 218 ~ 221
- [14] 刘振声,丘泉发,黄文忠,等. 加速重离子辐射对水稻的生物学效应研究. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1991, 9(3): 139 ~ 144
- [15] 邓红,梅曼彤,卢永根,等. 加速器氦离子在水稻育种中的应用. *核农学报*, 1994, 8(2): 70 ~ 74
- [16] 丘运兰,梅曼彤,何运康,等. 加速重离子辐射对玉米的诱变效应. *华南农业大学学报*, 1991, 12(1): 48 ~ 54
- [17] 颜红梅,王浩瀚,王菊芳,等. 重离子束定点诱变育种初探. *原子核物理评论*, 2001, 18(3): 174 ~ 176
- [18] 卫增泉,颜红梅,梁剑平,等. 重离子束在诱变育种和分子改造中的应用. *原子核物理评论*, 2003, 20(1): 38 ~ 41
- [19] 刘录祥,王晶,赵林妹,等. 作物空间诱变效应及其地面模拟研究进展. *核农学报*, 2004, 18(4): 247 ~ 251
- [20] 王乃彦. 开展航天育种的科学研究工作,为我国农业科学技术的发展做贡献. *核农学报*, 2002, 16(5): 257 ~ 260
- [21] 唐掌雄,施巾帼,巩玲华,等. 质子辐照麦类种子对苗期生长的影响. *核农学报* (现已合并到核农学报), 1997, 18(6): 260 ~ 262
- [22] 唐掌雄,施巾帼,宋高友,等. 质子、同步辐射(超软 X)和 γ 射线辐照高粱的生物效应研究. *青岛大学学报(增刊)*, 1997: 282 ~ 285
- [23] 施巾帼,孙国庆,等. 质子对小麦诱变效应及作用机理研究. *核农学报*, 2002, 16(2): 65 ~ 69
- [24] 孙逊,唐掌雄,等. 质子速(H^+)处理西瓜种子诱变效应研究. *中国西瓜甜瓜*, 2002, 4: 1 ~ 2
- [25] 王彩莲,陈秋方,慎玖,等. 几种新的诱变因素对水稻的诱变效应. *核农学报*, 2000, 14(5): 268 ~ 273
- [26] 唐掌雄,施巾帼,胡江朝,等. 同步辐射(软 X 射线,紫外)辐照农作物的生物效应研究. *物理*, 1995, 24(12): 758 ~ 761