CNIC-00945
CSNAS-0088

CN9502553

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE AND TECHNOLOGY REPORT

^{7}Be 和^{7}Li 注入玉米种子的示踪研究

STUDY ON THE IMPLANTATION OF ^{7}Be AND ^{7}Li ION BEAMS INTO CORN SEED BY TRACER TECHNIQUE

(*In Chinese*)

中国核情报中心
原子能出版社

VOL № 04 China Nuclear Information Centre
Atomic Energy Press

郑兴耘：1968年毕业于北京农业大学农学系，1982年在中国农业科学院获农学硕士学位。

Zheng Xingyun: Graduated from Agronomy Department of Beijing Agricultural University in 1968. Received MS degree in agronomy at the Chinese Academy of Agricultural Sciences in 1982.

CNIC-00945
CSNAS-0088

^{7}Be和^{7}Li注入玉米种子的示踪研究*

郑兴耘　陈景坚　郑企成　杨俊成

（中国核工业总公司核农学研究所**，北京）

摘　要

进行了用HI-13串列加速器产生的33 MeV和14 MeV ^{7}Be放射性离子束照射玉米种子的研究，^{7}Be在种皮的沉积份额分别为58%和94.5%，在胚体中的沉积份额分别为42%和5.5%。按运动离子射程公式计算，14 MeV的^{7}Be离子束在种子中的射程只有30 μm左右，不能直接穿过75～135 μm厚的种皮。事实说明离子注入种子有更复杂的机制。试验还用36 MeV剂量为1.6×10^{15}离子/cm^{2}的^{7}Li离子束照射玉米种子，剥皮前后也都探测到了^{7}Be离子的存在，^{7}Be在胚体中沉积份额达12%，用放射性自显影方法也证实了^{7}Be在种子内的存在。^{7}Be属于内靶核反应^{1}H(^{7}Li,^{7}Be)n的产物。^{7}Li束流是进行生物诱变研究的理想束流，它通量高，诱变机制不仅有能量、质量和电荷的作用，还有内靶核反应效应，预期有较高的诱变频率，有希望诱变出自然库中尚没有的突变体。

* 由中国原子能农学会（CSNAS）供稿。
** 中国农业科学院原子能利用研究所。

STUDY ON THE IMPLANTATION OF ^{7}Be AND ^{7}Li ION BEAMS INTO CORN SEED BY TRACER TECHNIQUE*

(*In Chinese*)

Zheng Xingyun Chen Jingjian Zheng Qicheng Yang Juncheng
(INSTITUTE OF NUCLEAR-AGRICULTURAL SCIENCES, CHINA NATIONAL NUCLEAR CORPORATION**, BEIJING)

ABSTRACT

The radioactive ion beam of ^{7}Be with the energy of 33 MeV and 14 MeV respectively, which was provided by the HI-13 Tandem accelerator, was used to irradiate the corn seed No. Yuanqi-123. The results showed that the fractions of ^{7}Be ion beam deposited in seed-skin for two cases are 58% and 94.5% respectively, in the embryo of seed are 42% and 5.5% respectively, by detecting the 478 keV γ-rays from the ^{7}Be decay. According to the physical calculation, the range of the ^{7}Be ion beam with the energy of 14 MeV in seed was only about 30 μm, so it was impossible for going through a seed-skin of 75 to 135 μm in thikness. When the corn seed was irradiated by the ^{7}Li ion beam with the energy of 36 MeV and the accumulated dose was about 1.6×10^{15} ion/cm^{2}, the nuclear reaction of $^{1}H(^{7}Li,^{7}Be)n$ occurred. It was certificated by determining the typical ^{7}Be γ-ray spectrum of 478 keV and by radioautograph that 12% of ^{7}Be ion existed in the embryo of seed. A helpful means to clarify the mechanism of the ion implantation and biological effects was provided as the radioactive ion beam facility had been built at the HI-13 Tandem accelerator. It was expected that the higher mutation frequency and useful genetic variation would exist following this study because of the effects of energy, mass as well as the internal target nuclear reaction.

* Contributed by the Chinese Society of Nuclear-Agricultural Sciences (CSNAS).
** Namely: Institute for Application of Atomic Energy, CAAS.

前 言

离子注入生物诱变的研究已进行了30多年，在60～70年代，国外曾用宇宙射线的高能量离子辐射或用人工加速器的高能量离子注入植物或动物体诱发变异[1~3]。所用离子能量为MeV或GeV级。如此高能的离子照射种子，往往穿透种子胚部，不会在种子内形成Bragg峰，不会有较大的质量沉积，难以产生显著而广泛的诱变效应。

80年代后期，我国科学工作者开始进行了离子注入生物诱变研究。1987年中国科学院等离子体物理研究所首先用低能N^{+}离子注入水稻种子[4~7]，1988年中国农业科学院作物育种栽培研究所和北京师范大学低能核物理研究所，用低于200 keV的离子注入生物体进行研究[8,9]。1992年国家自然科学基金委员会将离子注入生物诱变效应及机理研究列为重点研究项目，应用的离子有N^{+}、P^{+}和Fe^{++}，试验的生物材料近20种，不仅在基础研究方面取得了一些成就，还培育出两个水稻新品种，其中一个被评为安徽省优质米新品种。

国内离子注入生物诱变研究虽然取得了令人鼓舞的结果，但在理论上尚有很多不解的问题。例如低能离子在种子中的射程，理论上只有0.1～1.0 μm[8]；而种皮的厚度一般为50～60 μm。物理学界有的专家认为，这些低能的离子束不可能直接注入到种子胚部细胞；生物诱变方面有的专家认为，只有离子直接注入胚部细胞才能有显著的诱变效应。目前离子注入研究在诱变育种上取得的结果，是注入离子直接诱变效应还是注入离子的次级效应尚不清楚。因此，用放射性离子束注入生物体，进行同位素示踪，研究离子注入的深度和质量能量沉积规律及生物效应，这是揭示离子注入生物诱变机制的关键之一。

本文报道用放射性^{7}Be次级离子束和非放射性^{7}Li离子束照射玉米种子的实验结果。

1 试验材料和方法

1.1 放射性^{7}Be次级离子束和非放射性^{7}Li离子束。

离子束由中国原子能科学研究院核物理研究所HI-13串列加速器的束流线上引出[10]。用38 MeV的^{7}Li初级束流轰击一个大气压的H_2靶产生^{7}Be，再经过逐级分离、加速获得水平方向的33 MeV的^{7}Be次级束流用于照射玉米种子。^{7}Be及散入的一部分^{7}Li离子束的能量分布见图1。^{7}Li离子束由加速器产生的初级束流直接引出。

1.2 供试材料

选用原齐-123自交系同一果穗的种子*。

1.3 靶片的制作

托片为厚0.4 cm，直径为9.82 cm的铝板，用生物靶片胶**将玉米种子粘在靶片上，种胚背向靶片，种脐朝圆心，由中心向外紧密排列，粘好后在室温下晾24 h以上，使胶充分凝固（见图2）。

1.4 离子注入方法

将靶片放到照射室，垂直于束流线，靶片中心正对束流，在真空下照射。

1.5 玉米种子剥皮

---

* 玉米种子由中国农科院原子能利用研究所张维强提供。

** 生物靶片胶是作者为离子注入生物诱变试验研制的专用胶。

玉米种子在植物学上实属果实。其种皮包括果皮、果肉、种皮三部分。剥皮后剩下胚和胚乳，我们称之为胚体。为了确定离子束是否注入到胚体内部，必须剥去种皮，测定胚体中沉积的放射性物质的活度。皮要剥干净，并且不损伤胚体，操作过程不使沉积到种皮的离子移动到胚体。剥皮效果见图 3。

将剥下的种皮用常规方法测量其厚度，结果各部分厚度不同，靠近种脐部分厚，远离种脐部分薄，厚度范围为 75～135 μm。

1.6 样品的放射性探测

(1) γ谱分析测量。将玉米种子从托片上取下，除净种子上粘的胶，按种子在靶片上的位置用 Ge (Li) γ谱仪分组测定^{7}Be 的活度。剥净种皮后再测定胚体的^{7}Be 活度。对^{7}Li 束流照射的种子按同样方法进行测定。

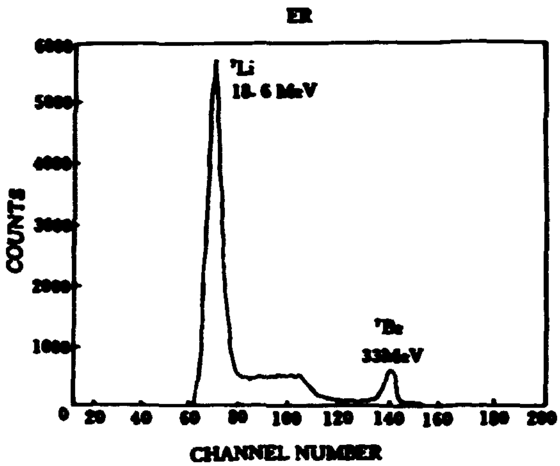

图 1 用于玉米种子照射的次级束^{7}Be 及散入^{7}Li 的能量分布 E(^{7}Li) =38 MeV (初级)

Fig. 1 Energy Distributions of ^{7}Be and ^{7}Li Ion Beam

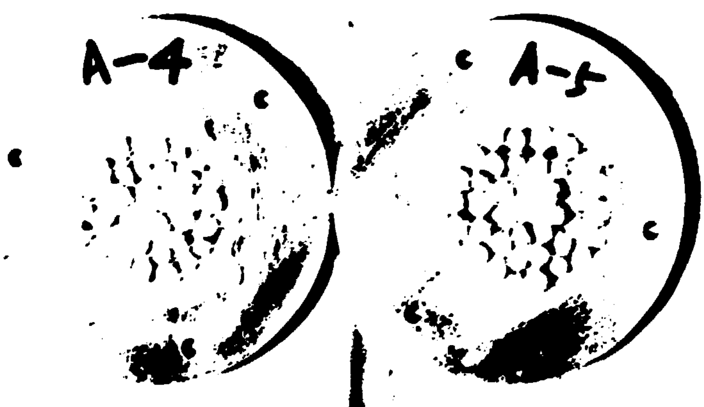

图 2 A－4，用 36 MeV 注量率为 2.2×10^{11}离子/ (cm^2·s) 的^{7}Li 束流照射 2 h 后的靶片（种子有明显褐黄色变）。A－5，未照射的对照靶片。^{7}Be 及散入^{7}Li 的能量分布

Fig. 2 Target A－4 Irradiated by ^{7}Li Ion Beam with the Energy of 36 MeV and A－5 ck

图 3 剥皮的玉米种子

Fig. 3 Corn Seed without Skin

(2) 放射性自显影。将处理种子沿胚中心纵剖为两半，用 X 光片对种子剖面进行 30 d 感光后，通过暗室技术得到放射性自显影照片。

1.7 处理设置

试验设置的 5 个处理为：

(1) 用 33 MeV 的 ^{7}Be 离子束照射玉米种子 20 h，注入剂量 3.6×10^8离子/cm^2。

(2) 用 33 MeV 的 ^{7}Be 离子束照射玉米种子 16 h，注入剂量 2.8×10^8离子/cm^2。

(3) 在靶片前放置 60 μm 厚的铝箔进行降能处理，使 ^{7}Be 束流能量降到 14 MeV，照射玉米种子 8 h，注入剂量 1.4×10^8离子/cm^2。

(4) 用 36 MeV 的 ^{7}Li 束流照射玉米种子 2 h，注入剂量为 1.6×10^{15}离子/cm^2。

(5) 以未照射的种子作对照。

对处理 1，3，4 的种子均在剥皮前后分别取样并测量其放射性活度，计算穿过种皮进入胚体的份额。处理 1，3，4，5 均取样进行放射性自显影实验。处理 2 经 γ 谱仪鉴定有 ^{7}Be 离子注入后用于观察生物效应。各处理剩下的种子，进行生物效应观察。

2 结果分析

2.1 ^{7}Be 离子注入玉米种子的沉积规律

处理 1，3，4 的种子剥皮前后，经 γ 谱仪测到的 ^{7}Be 衰变放出的 478 keV 特征 γ 峰的强度及有关数据列于表 1。由表 1 可以看出，在处理 1 中，处于靶片径向不同位置的种子所接受的离子数是不同的，从中心沿径向顺序，第一、二、三圈的种子，每粒种子每分钟的放射性计数分别为 9.14、7.86 和 1.11。这说明靶中心束流最强，向外逐渐减弱。而且中心部位的种子沉积到胚体内的离子份额最高。第一圈和第二圈沉积到种皮的份额分别为 58%和 75.6%，沉积到胚体的份额分别为 42%和 24.4%。第一圈沉积到胚体内的份额是第二圈的 1.72 倍。这可能与离子注入的角度和能量有关。

从表 1 还可看出，不同能量的离子束照射种子，剥皮前后放射性活度的比不同，即离

子沉积到胚体的份额不同。以^{7}Be 的 33 MeV 束和 14 MeV 束照射种子，第一、二圈沉积到胚体内份额的平均值分别为 33.2%和 5.5%，后者约为前者的 1/6。显然离子束的能量越大，在种子中的射程越远，就能更多地穿过种皮沉积于胚体内。

表 1 玉米种子放射性测量结果

Table 1 Radioactive Determination of the Corn Seed

样品号 No.	照射条件 Irradiating Conditions	种子状态 State of Seed		测量时间 (s) Detecting Time (s)	478 keV 总计数 Counts	每分钟每粒种子计数 Counts/(min·seed)	计数比值 (去皮/带皮) (%) Rate (%) (no seed-skin/with seed-skin)
A_1	33 MeV ^{7}Be 20 h 剂量：3.6×10[illegible]离子/cm^2 Dose: 3.6×10[illegible] ions/cm^2	第三圈 17 粒种子 Third Ring 17 Seeds		600	189	1.11	
		第一圈 6 粒 First Ring 6 seeds	去皮前 With seed skin	30000	18280	9.14	42.0
			去皮后 Without seed skin	19001	4861	3.84	
		第二圈 6 粒 Second Ring 6 seeds	去皮前 With seed skin	7810	6139	7.86	24.4
			去皮后 Without seed skin	21221	4068	1.92	
A_2	14 MeV ^{7}Be 8 h 剂量：1.4×10[illegible]离子/cm^2 Dose: 1.4×10[illegible] ions/cm^2	第一、二圈 12 粒 First and Second Ring 12 seeds	去皮前 With seed skin	31250	7334	1.17	5.5
			去皮后 Without seed skin	333300	4517	0.06	
A_3	36 MeV ^{7}Li 2 h 剂量：1.6×10^{15}离子/cm^2 Dose: 1.6×10^{15} ions/cm^2	中心 5 粒 Middle 5 seeds	去皮前 With seed skin	1230	10564	103.07	12.1
			去皮后 Without seed skin	4200	4347	12.42	

根据运动粒子射程公式估算，33 MeV ^{7}Be 离子在玉米种子中的射程约为 130 μm，14 MeV 的约为 30 μm，14 MeV 能量级的^{7}Be 离子束不能穿过 75～135 μm 厚的种皮进入胚体。事实是离子注入深度超过了传统物理学运动粒子射程公式估算的深度。这是因为：一．在物理学上，介质对运动离子的阻止本领、离子在介质中的射程、离子束的能量等物理量都是统计平均值，都对应着一定的分布。二．运用运动粒子射程公式是以均匀介质为前提，而种子包括种皮并非均匀介质，各部分厚度、细胞组成、细胞结构、分子组成都不相同。所以不能用粒子射程公式准确计算离子束注入到种子中的深度。作者认为，解决离子注入种子深度及沉积规律最好的方法之一，是选择具有 β 或 α 衰变的离子注入试样，利用显微自显影技术进行离子在生物材料中分布的定位研究。

2.2 ^{7}Li 离子束注入种子的内靶核反应

用 36 MeV 注量率为 2.2×10^{11}离子/(cm^2·s) 的^{7}Li 离子束照射玉米种子 2 h，用 Ge (Li) γ谱仪测量样品放射性活度，不仅探测到^{7}Be 衰变发射的 478 keV 特征 γ 峰，而且还探测到 511 keV 特征 γ 峰，对后者进行跟踪测量，鉴定其半衰期为 1.83 h，初步认为它是^{18}F 的衰变辐射。这说明用^{7}Li 离子束照射玉米种子，^{7}Li 不仅与生物材料中的氢发生 ^{1}H(^{7}Li,^{7}Be)n 核反应生成^{7}Be，而且还与其它元素发生了另一种核反应生成了^{18}F。

将用 36 MeV 的^{7}Li 束照射 2 h 的种子与其它处理的种子相比较，其外观颜色有明显褐黄色变；而其它处理组观察不到色变效应。在发芽试验中，该处理种子全部致死；而其它处理的种子均能发芽，但发芽势、发芽率与对照有差异，幼苗出现黄色条纹等畸变效应，还

观察到根尖染色体畸变。作者认为这主要是该处理照射剂量过大，相当于其它处理的10^6～10^7倍。

初次实验表明，串列加速器产生的^{7}Li离子束可作为一种生物诱变源。它的优点是，束流通量高，为^{7}Be束流的10^6倍，用它进行生物诱变，照射时间短，可以大大降低成本，对生物试样具有复合诱变效应，不仅有能量、质量、电荷的作用，还伴随内靶核反应，可以改变分子的元素组成，引起较高的变异频率，变异幅度大，有可能诱变出自然库中还没有的突变体。

^{7}Li离子束是非放射性离子束，它不仅具有其它非放射性离子束的特点，还能在注入生物体时产生放射性^{7}Be，这对于生物学、物理学领域的同位素示踪研究有着广泛的实用意义。

2.3 离子注入玉米种子的放射性自显影

将处理1，3，4和对照组的玉米种子沿胚中间纵切为两半，进行种子剖面自显影，曝光30 d；处理1，3组未观察到放射性物质的影象，与对照组相同。处理4观察到在正对离子束流的种胚方向有一条约1.5 mm宽的黑影，说明非放射性^{7}Li束流照射种子，在种子内部引起内靶核反应，产生了放射性物质^{7}Be，从而使X光胶片感光，而产物^{7}Be的产额比^{7}Be束直接注入的份额大得多。处理1，3种子内部^{7}Be沉积量太小，它放出的γ射线在X光片上引起的黑度太弱，不足以与本底区分开来。

由于处理4的自显影是γ辐射所致，其射线源厚度较大（1.5～2 mm），成像的几何线度被放大，因此不能精确地反映离子注入玉米种子的深度。

3 结　论

(1) 14 MeV和33 MeV的^{7}Be离子束能穿过玉米种皮进入胚体，靶片中心的玉米种子在胚体中沉积的离子份额分别占5.5%和42%，离子沉积到胚体的份额与离子的能量有关。

(2) 离子注入种子的深度及沉积部位是个复杂的问题。种子是非均匀介质，物理学上的运动粒子射程公式的应用是以均匀介质为前提条件的，所以用它估算的注入深度与实际有一定差距，离子注入生物材料的深度及沉积规律有待于深入研究。

(3) 36 MeV的^{7}Li束流注入玉米种子，在种子内能发生内靶核反应而生成^{7}Be和^{18}F。其诱变作用除了质量、能量、电荷作用外还有内靶核反应，所以其诱变效应强烈。^{7}Li属初级束流，离子通量高，大约是次级束流的10^5～10^6倍，辐照时间短，还能利用其内靶核反应进行示踪研究，是一种较为实用的生物诱变源，有可能利用它诱变出自然库中没有的突变体。

(4) 显微放射自显影术是研究离子注入生物诱变效应与机制的直观而简便的方法，但要选择产生软β衰变的核素或α衰变的核素注入试样才能准确定位。

(5) 用放射性离子注入生物体进行离子注入生物诱变机制与效应的研究，其方法可行，结果可靠。串列加速器是进行该项研究的必备手段，它可产生多种放射性和非放射性离子束，束流能量连续可调，范围也较宽，较适合进行生物诱变研究。

本项研究曾受到国家自然科学基金委员会和中国原子能科学研究院的重视和大力支持，其中方勤学博士、白希祥研究员、柳卫平副研究员、赵文荣副研究员、程业浩副研究员等专家和领导在辐照处理和放射性测量方面做了大量工作。本研究还得到中国农业科学院作物育种栽培研究所朱凤绥先生的关心和指导，作者一并深表谢意。

参 考 文 献

[1] Curtis H J, Smith H H. Corn seeds affected by heavy cosmic ray particles. Science, 1963, 141: 158

[2] Slater J V, Tobias C A. Effects of cosmic radiation on seed differentiation and development. Radiation Research, 1963, 19: 218

[3] Yang T C, Tobias C A. Potential use of heavy-ion radiation in corp improvement. Gamma-Field Symposia, 1979, 18: 141

[4] 王学勤等. 离子注入在水稻育种上的应用研究简报. 安徽农业科学，1988，(3)：95

[5] 余增亮等. 离子注入水稻诱变育种机理初探. 安徽农业科学，1989，(1)：12

[6] 吴跃进等. 离子束辐照在水稻广亲和系选育中的应用研究. 核农学通报，1990，11 (4)：154

[7] 余增亮等. 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

[8] 朱凤绥，卫俊智，陆挺. N^+离子注入的生物效应和机理的研究. 作物杂志，1992，(3)：8～9

[9] 陆挺等. 离子注入引起的植物变异的研究. 北京师范大学学报（自然科学版），1991，27 (4)：421～425

[10] Bai Xixiang et al. A facility for production and utilization of radioactive beams. Nuclear Physics. A. 1994

（京）新登字077号

图书在版编目（CIP）数据

^{7}Be和^{7}Li注入玉米种子的示踪研究＝STUDY ON THE IMPLANTATION OF ^{7}Be AND ^{7}Li ION BEAMS INTO CORN SEED BY TRACER TECHNIQUE/郑兴耘等著 —北京：原子能出版社，1995. 3

Ⅰ. ^{7}Be… Ⅱ. 郑… Ⅲ. 玉米，辐射育种；诱变育种-研究 Ⅳ. S513

中国版本图书馆CIP数据核字（95）第06329号

原子能出版社出版发行
责任编辑：孙凤春
社址：北京市海淀区阜成路43号 邮政编码：100037
中国核科技报告编辑部排版
核科学技术情报研究所印刷
☆
开本787×1092 1/16・印张1/2・字数12千字
1995年3月北京第一版・1995年3月北京第一次印刷

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT