

文章编号: 1007-4627(2017)04-0779-05

# 低能离子注入育种中次级效应影响的模拟研究

李成波<sup>1,2</sup>, 李晓明<sup>1,2</sup>

(1. 北京市辐射中心, 北京 100875;

2. 北京师范大学核科学与技术学院, 离子束与材料改性教育部重点实验室, 北京 100875)

**摘要:** 低能离子注入育种作为一种有效的育种方法在实践中进行了大量的尝试并取得了一系列重要成果, 但其作用机理一直都存在着巨大的争议, 特别是射程很短的低能重离子如何穿透到种子内部触发生物效应。本研究利用 SRIM、CASINO、Geant4 模拟程序对低能离子注入生物样品的离子注入深度进行模拟和定量分析, 并对次级粒子可能产生的影响进行了定量模拟研究。结果显示, 低能重离子本身射程一般都小于  $1\ \mu\text{m}$ , 选用轻离子、提高注入能量、采用干种子进行注入, 都有利于增加穿透深度。次级过程中, 反冲质子的最大射程比初级入射离子的稍大, 不能显著提升穿透能力。次级过程产生的粒子中只有 X 射线可以明显提高穿透种子的深度, 只要剂量足够大, 总会有少量 X 射线穿透到很深的地方。

**关键词:** 离子注入育种; 低能离子射程; 次级粒子; X 射线

**中图分类号:** Q691.5    **文献标志码:** A    **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.34.04.779

## 1 研究背景

20 世纪 80 年代, 我国科学家余增亮等<sup>[1]</sup>首先将离子注入技术应用于农作物育种, 发现低能离子束在水稻上引起诱变效应, 并对离子注入育种机理做了初步探讨, 认为低能离子注入育种是注入离子通过能量沉积、质量沉积、动量传递、电荷交换等作用, 对细胞造成严重的刻蚀, 引起生物遗传大分子的物理损伤、最终产生复杂的生物学效应。

离子注入育种按照离子能量分为低能离子注入(几到几十 keV/u)和高能离子注入(几到几百 MeV/u)。离子注入诱变育种(尤其是高能离子注入育种)具有一些显著的优点: 线性传能密度(LET)高、具有布拉格峰(Bragg)效应, 电离区域集中, 能产生较多的 DNA 双链断裂, 突变率高、突变谱广, 深度和剂量可控等。离子注入育种被广泛地应用于植物育种、微生物育种以及生命起源及进化等方面, 并且取得了一系列重要的成果<sup>[2-7]</sup>。

然而, 时至今日, 对低能离子注入育种的作用机理仍然存在巨大争议<sup>[8-17]</sup>。争论的关键点是: 对于通常小于 100 keV 的低能重离子而言, 若用常规 SRIM 程序计算, 其在生物材料中的射程一般都小于  $1\ \mu\text{m}$ , 几乎不可能穿透种皮(厚度一般都在几十  $\mu\text{m}$  甚至到 mm 量级)深入种子内部与生物敏感的胚芽等发生离子相互作用。

卫增泉等<sup>[8-12]</sup>通过不同的实验和理论推算, 认为低能离子注入育种不可能是低能离子直接穿透作用于种胚的结果(射程太短  $< 1\ \mu\text{m}$ ), 提出其主要是次级辐射效应特别是次级 X 射线造成的结果, 注入过程中的真空高温热效应对种子也可能产生影响。余增亮等<sup>[13, 14]</sup>认为生物样品中存在一些微型通道, 加上注入离子不断刻蚀, 会使得一些离子能进入到更深层。周宏余等<sup>[15-17]</sup>的一些实验证明能在比 SRIM 估算的射程更远的地方检测到极少量的入射重离子。Cloetens 等<sup>[18]</sup>发现种子中的确存在一些不规则的微米量级的空隙通道网络。

为了进一步深入探讨低能重离子育种机制, 本文将对低能重离子及其次级粒子在种子中的穿透过程进行模拟和分析, 以期给出定量的讨论。

## 2 模拟分析及结果讨论

我们以 100 keV 的氮离子  $^{14}\text{N}^+$  注入种子为模拟对象。离子在材料输运过程中会逐渐因碰撞电离等作用损失能量而最终停止, 同时会在传输碰撞中产生次级粒子, 这些次级粒子主要包括次级电子、次级 X 射线以及反冲核。因为相同能量的离子, 质量越轻, 射程越远, 所以, 材料中的反冲的轻核对增加射程深度比较有利, 生物材料主要成分为 C, H, O, N 等, 我们主要对反冲的 H 核进行研究。

收稿日期: 2016-11-15;    修改日期: 2017-01-10

基金项目: 北京市科学技术研究院改革与发展项目

作者简介: 李成波(1974-), 男, 河北沧州人, 副研究员, 博士, 从事粒子物理与核物理研究; E-mail: lichengbo2008@163.com.

入射重离子及反冲H核在材料中的射程可以用SRIM程序<sup>[19]</sup>计算；因为SRIM不能模拟电子输运，次级电子在材料中的射程采用CASINO程序<sup>[20]</sup>计算；SRIM, CASINO程序都不能用于计算X射线，为此，我们将采用开源的Geant4<sup>[21]</sup>模拟框架来对X射线在材料中的穿透进行模拟研究。

我们选取3种简化材料模拟程序中的生物样品：种子、水、脱水的干种子，基本参数见表1。

表 1 3种模拟材料的基本参数

模拟材料	成分质量比	密度/(g/cm <sup>3</sup> )
水	H-O,2.0:16.0	1.0
湿种子	C-H-O-N-P, 19.0:11.0:65.0:3.0:2.0	1.0
干种子	C-H-O-N-P, 51.0:5.0:32.0:9.0:3.0	0.5

### 2.1 低能离子注入生物样品模拟分析

首先，我们利用SRIM程序计算了100 keV的<sup>14</sup>N<sup>+</sup>离子分别在水、湿种子、干种子中的射程，分别为0.43, 0.42, 0.76 μm。可以看出，<sup>14</sup>N<sup>+</sup>离子在湿种子中的射程与水中相近，由于干种子失去水分密度变小(假设为一半)，因此<sup>14</sup>N<sup>+</sup>在干种子中的射程要比湿种子中的远(约为2倍)，但无论如何，其射程都没有超过1 μm。离子在湿种子中的射程可以近似用水中射程来表征，在干种子中的射程近似与密度成反比。

我们接着计算了不同能量、不同种类的重离子在种子中的射程，如图1所示。从图中数据可以看出，对于相同能量的不同离子，轻离子的射程较远，所以选用质量数较轻的离子注入有利于提高穿透深度。另一方面，无论何种离子，其射程都会随能量增加而增大，所以高能离子注入育种效果会更优越。另外，选用干种子能提高离子的穿透深度。然而，即便是最轻的H<sup>+</sup>离子在100 keV时在干种子中射程也只有3.5 μm，即使能量提高到300 keV时其射程也只有10.8 μm，而文献中低能重离子能量一般都在100 keV以下，最高也不超过300 keV，所使用的离子一般都是较重的<sup>12</sup>C<sup>+</sup>,

<sup>14</sup>N<sup>+</sup>, <sup>16</sup>O<sup>+</sup>甚至更重的<sup>56</sup>Fe<sup>+</sup>, <sup>64</sup>Cu<sup>+</sup>等，其射程会更低，一般都小于1 μm，最多也不超过3 μm，难以穿透几十微米甚至毫米量级厚的种皮进入种子内部。

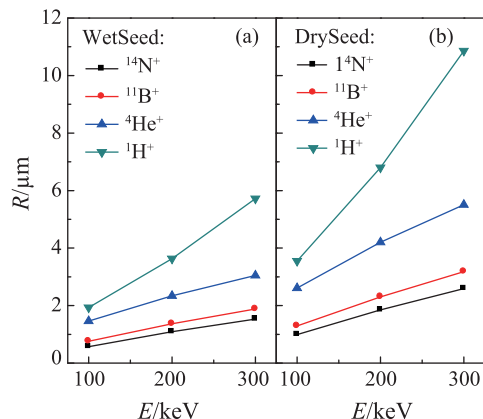


图 1 (在线彩图)不同能量(E)、不同种类的重离子在湿种子(a)与干种子(b)中的射程(R)比较

### 2.2 次级粒子可能产生的影响分析

#### 2.2.1 反冲质子

考虑低能重离子<sup>14</sup>N<sup>+</sup>与材料中的H(假设碰撞前处于静止状态)发生碰撞，并假设碰撞发生在材料表面，此时，注入离子能量尚未损耗保持最大，按照弹性碰撞理论，由能量动量守恒，得到反冲质子的最大能量为

$$E_{\max} = \frac{4mM}{(m+M)^2} E_0。$$

式中 $E_0$ 表示入射离子能量， $M$ 表示入射离子质量， $m$ 表示反冲质子质量。当注入<sup>14</sup>N<sup>+</sup>离子能量为100和300 keV时，最大反冲质子能量分别为24.9和74.7 keV。表2列出了利用SRIM程序计算出反冲质子在种子中的射程与初始入射离子的射程比较结果。从表中数据可以看出，反冲质子的最大射程比初级入射离子的射程稍有增加，其中，低能、干种子中射程增加比较明显，但总体提升能力不大(<30%)，因此，入射离子产生的次级反冲质子并不能显著增加穿透深度。

表 2 低能<sup>14</sup>N<sup>+</sup>离子在种子中的射程与反冲质子(H<sup>+</sup>)最大能量对应射程的比较

$E_N$ /keV	$E_{H_{\max}}$ /keV	注入材料	$R_N$ /μm	$R_{H_{\max}}$ /μm	$(R_{H_{\max}} - R_N)/R_N$
100	24.9	干种子	0.99	1.26	27%
100	24.9	湿种子	0.57	0.70	23%
300	74.7	干种子	2.59	2.82	9%
300	74.7	湿种子	1.53	1.53	0%

### 2.2.2 次级电子

考虑入射离子碰撞产生的次级电子，假设电子为静止的自由电子(束缚电子还要克服原子的束缚能，碰撞后得到的动能会更小)，按照碰撞理论，对 100 和 300 keV 的  $^{14}\text{N}^+$  离子，次级电子可以获得的最大能量分别为 15.6 与 46.7 eV。

利用 CASINO 程序对 47 eV 的电子在种子中的注入过程进行模拟，电子穿透深度分布见图 2。结果显示，在湿种子(图 2(a))与干种子(图 2(b))中，电子的最可几穿透深度分别为 0.65 和 1.5 nm，其远远小于入射离子本身在材料中的射程(大约小 3 个量级)，由此可见，入射离子产生的次级电子根本无法增加粒子穿透能力。

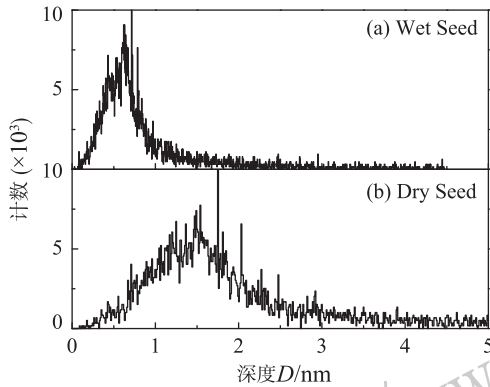


图 2 CASINO 程序模拟 47 eV 的电子在种子中的穿透深度分布

### 2.2.3 次级 X 射线

在离子注入过程中，荷能离子会与介质分子或原子发生相互作用，只要离子能量足以使原子内壳层电子得到激发或电离，内壳层上就会出现空穴，当外壳层电子跃迁入内层填补空穴时，就会以发射 X 射线或俄歇电子的形式释放原子中过剩的能量。因此，特征 X 射线也是离子注入次级过程的一种产物。种子中主要含有 C, H, O, N 等轻元素，低能离子激发 C, N, O 元素产生的能量最高的是  $K_{\alpha}$  系特征 X 射线，分别为： $E_{12\text{C}}^{K_{\alpha}} = 277$  eV,  $E_{14\text{N}}^{K_{\alpha}} = 392$  eV,  $E_{16\text{O}}^{K_{\alpha}} = 525$  eV。这些 X 射线能量都较低，属于软 X 射线。

X 射线与物质的相互作用机制不同于带电粒子，X 射线穿过介质时表现为一种强度衰减行为，服从指数衰减规律，没有射程的概念，而用半衰减厚度  $x_{1/2}$  表示使其强度衰减到一半所需要的厚度。当然也可以用  $x_{1/10}$ ,  $x_{1/100}$  等来表示衰减率更高的厚度参数，只要有足够的初始强度，总会有一小部分可以穿透到更深的厚度。

由于 SRIM 与 CASINO 程序无法模拟 X 射线，我们

采用 Geant4 模拟框架编程对低能离子激发 C, N, O 元素产生的  $K_{\alpha}$  特征 X 射线在水、湿种子、干种子 3 种材料中的穿透情况进行了模拟。图 3 是  $^{16}\text{O}$  的特征 X 射线在湿种子穿越过程中强度随深度的变化模拟结果，拟合后可以计算出衰减厚度  $x_{1/2}$ ,  $x_{1/10}$  等。

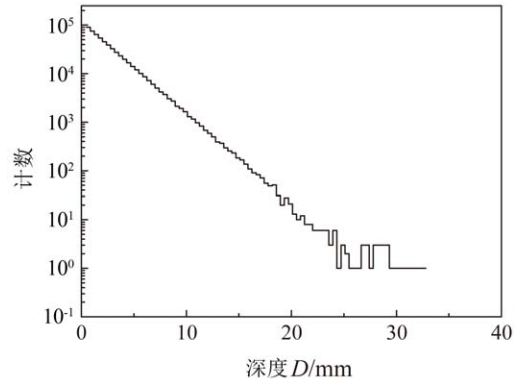


图 3  $^{16}\text{O}$  的特征 X 射线在湿种子穿越过程中强度随深度  $D$  的变化

我们可以进一步把衰减率与穿透厚度数据作图(如图 4 所示)。从图 4(a) 可以看到，有 1/10 的  $^{16}\text{O}$  元素 X 射线可以穿透 5.3  $\mu\text{m}$  厚的湿种子，有 1/100 的 X 射线可以穿透 10.6  $\mu\text{m}$ ，甚至有 1/10<sup>6</sup> 的 X 射线可以穿透到 31.7  $\mu\text{m}$ ，这已经是一般种皮的典型厚度了。

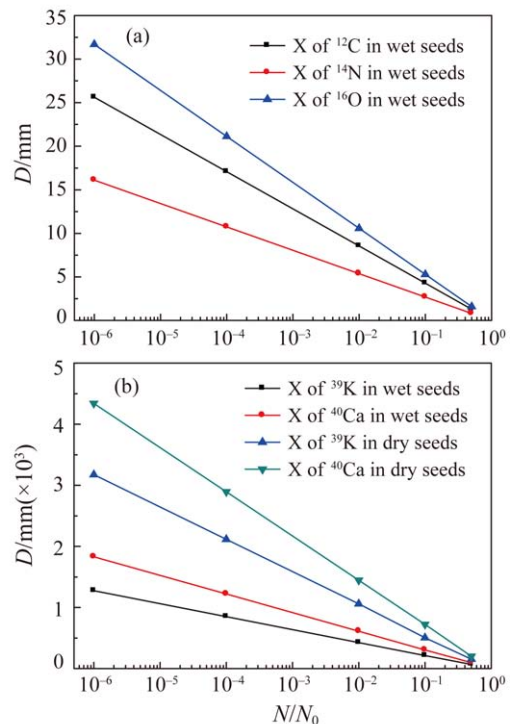


图 4 (在线彩图) X 射线穿透深度  $D$  与穿透率  $N/N_0$  的关系

如果进一步考虑到种子中的微量元素(钾、钙等)激发产生的特征 X 射线，其能量比氧的要高很多

( $E_{39\text{K}}^{K\alpha} = 3589 \text{ eV}$ ,  $E_{40\text{Ca}}^{K\alpha} = 4012 \text{ eV}$ )。模拟计算结果显示于图 4(b), 可见钾、钙的特征 X 射线穿透能力更强, 最远可以到达几毫米。因此, 只要有足够强度的次级 X 射线, 就总会有少量 X 射线穿透到足够深的地方。

因为 X 射线是次级过程, 是低 LET 值的非带电粒子, 而且 X 射线随深度呈指数衰减, 它能产生的生物效应要比高能离子直接产生效应弱很多, 这也是低能离子注入实验中普遍存在的所需要的注入剂量比高能离子注入剂量高好几个量级的原因之一。

图 5 显示了利用 Geant4 程序模拟计算 C, N, O 3 种元素的特征 X 射线在湿种子、水、干种子 3 种材料中的衰减厚度的比较。从图中可见, 不同材料中衰减厚度与 X 射线能量并非简单的线性关系, 升降变化趋势也有所不同, 这是因为 X 射线在不同材料中的穿透率和 X 射线与材料中的原子核和材料中的电子反应截面有关系。

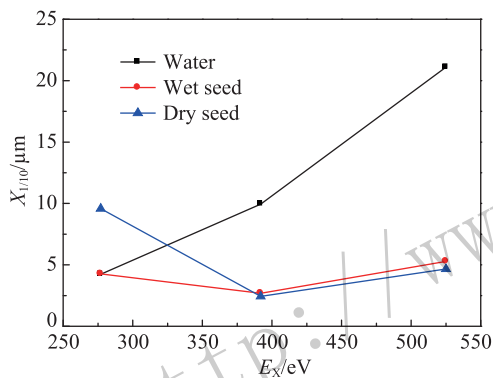


图 5 (在线彩图) 不同特征 X 射线在不同材料中的衰减厚度  $x_{1/10}$  比较

应该指出的是, 以上模拟过程中所使用的种子材料模型都没有考虑其微观结构。实际上, 种皮可能具有复杂的、非均匀的多相疏松结构。余增亮等<sup>[8-12]</sup>提出离子通道假设认为生物样品中存在一些微型通道, 而且大剂量前导注入离子可为后续离子开凿通道, 而使后续离子达到远远超过自身射程的深部种胚细胞。Cloetens 等<sup>[18]</sup>发现种子的细胞间隙中的确存在一些不规则的微量量级的空隙通道网络。周宏余等<sup>[15-17]</sup>的实验证明能在比 SRIM 估算的射程更远的地方检测到极少量的入射重离子。我们认为, 由于离子沟道效应, 这些生物通道网络能增加部分离子的穿透深度, 但因沟道分布和走向的不规则性, 只能使得极少量的离子可以穿透到几十到几百微米的深度, 这也是低能离子注入剂量比高能离子注入剂量高几个量级的原因之一。综上所述, 低能离子注入育种很可能是极少量离子穿透的直接作用和次级效应 (尤其是次级 X 射线) 共同作用的结果。

### 3 结论

我们对低能离子注入种子样品的离子注入深度及可能的次级过程进行了定量模拟, 结果表明, 低能离子本身在种子中的射程很短, 一般不超过  $1 \mu\text{m}$  (即使通过生物沟道效应也只有极少量的离子可以深入几百微米)。选用轻离子、提高注入能量、采用干种子注入都有利于提升穿透深度, 但最大只能达到约  $10 \mu\text{m}$ 。次级过程中的次级电子能量很低, 无法增加粒子的穿透深度。次级过程产生的反冲氢核的射程比初始注入离子射程稍远, 对提高穿透能力的贡献不大。而次级过程激发的特征 X 射线可以到达离子本身无法到达的深度, 只要有足够大的剂量, 总会有少部分能穿透到几十微米甚至更深到几毫米。X 射线的穿透能力与 X 射线能量及种子材料的组成情况具有密切关系。由于次级 X 射线属于低 LET 辐射, 且强度随深度呈指数衰减, 次级 X 射线的生物诱变效率明显低于高能离子的直接作用效率。因此, 低能离子注入育种更适合于微量量级的微生物, 高能离子注入育种在毫米量级的农作物育种中更具有优势。

总之, 次级过程中唯一可以明显增加穿透深度的是次级 X 射线。低能离子注入育种很可能是极少量离子穿透生物沟道的直接作用和次级效应 (尤其是次级 X 射线) 共同作用的结果。要彻底弄清低能离子注入育种的作用机理, 可能需要综合考虑注入离子及其次级过程, 以及不同生物材料特有的微观管道结构, 还要考虑是否是注入过程中的真空环境、温度变化等因素产生的影响。

### 参考文献:

- [1] YU Zengliang, HE Jianjun, DENG Jianguo, *et al.* *Anhui Agricultural Sciences*, 1989(1): 12. (in Chinese)  
(余增亮, 何建军, 邓建国, 等. *安徽农业科学*, 1989(1): 12.)
- [2] WU Ding, LU Guihong. *China Brewing*, 2002, **21**(s1): 31. (in Chinese)  
(吴定, 路桂红. *中国酿造*, 2002, **21** (s1): 31.)
- [3] FENG Zhihua, SUN Qiling. *Sichuan Food and Fermentation*, 2002, **38**(2): 6. (in Chinese)  
(冯志华, 孙启玲. *食品与发酵科技*, 2002, **38**(2): 6.)
- [4] LI Huanqin, WANG Wenlei, WANG Zhaokai, *et al.* *Amino Acids & Biotic Resources*, 2016, **38**(2): 1. (in Chinese)  
(李欢琴, 王文磊, 王昭凯, 等. *氨基酸和生物资源*, 2016, **38**(2): 1.)
- [5] LIU Jianguang, WANG Yongqiang, Zhao Guiyuan, *et al.* *Crops*, 2016(3): 12. (in Chinese)  
(刘建光, 王永强, 赵贵元, 等. *作物杂志*, 2016(3): 12.)
- [6] GUO Xiaopeng, ZHANG Miaomiao, MIAO Jianshun, *et al.* *J Radiat Res Radiat Process*, 2015, **33**(4): 7. (in Chinese)

- (郭晓鹏, 张苗苗, 缪建顺, 等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2015, **33**(4): 7.)
- [7] MIAO Jianshun, YANG Jianshe, ZHANG MiaoMiao, *et al.* J Radiat Res Radiat Process, 2014, **32**(2): 1. (in Chinese)  
(缪建顺, 杨建设, 张苗苗, 等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2014, **32**(2): 1.)
- [8] WEI Zengquan, LIU Yuyan, WANG Guiling, *et al.* J Radiat Res Radiat Process, 1993(02): 90. (in Chinese)  
(卫增泉, 刘玉岩, 王桂玲, 等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1993(02): 90.)
- [9] WEI Zengquan, HAN Guangwu, MA Shouwu, *et al.* Nuclear Techniques, 1995(2): 90. (in Chinese)  
(卫增泉, 韩光武, 马受武. 核技术, 1995(2): 90.)
- [10] WEI Zenquan, HAN Guangwu, ZHOU Guangming, *et al.* ACTA Biophysica Sinica, 1996, **20**(2): 315. (in Chinese)  
(卫增泉, 韩光武, 周光明, 等. 生物物理学报, 1996, **20**(2): 315.)
- [11] WEI Zengquan, LI Wenjian, XIE Hongmei, *et al.* Laser Biology, 1996(3): 888. (in Chinese)  
(卫增泉, 李文建, 邝红梅, 等. 激光生物学报, 1996(3): 888.)
- [12] YUAN Shibin, WEI Zengquan, GAO Qingxiang. Acta Laser Biology Sinica, 2002, **11**(1): 70. (in Chinese)  
(袁世斌, 卫增泉, 高清祥. 激光生物学报, 2002, **11**(1): 70.)
- [13] HAN Jianwei, YU Zengliang. Acta Biophysica Sinica, 1998, **14**(4): 757. (in Chinese)  
(韩建伟, 余增亮. 生物物理学报, 1998, **14**(4): 757.)
- [14] SONG Daojun, YU Xun, YAO Jianming, *et al.* Acta Biochimica et Biophysica sinica, 1998(6): 570. (in Chinese)  
(宋道军, 余汛, 姚建铭, 等. 生物化学与生物物理学报, 1998(6): 570.)
- [15] WANG Xinfu, LU Ting, ZHOU Hongyu, *et al.* Atomic Energy Science and Technology, 2002, **36**(6): 531. (in Chinese)  
(汪新福, 陆挺, 周宏余, 等. 原子能科学技术, 2002, **36**(6): 531.)
- [16] XIE Jingyi, ZHOU Hongyu, WANG Ping, *et al.* Acta Physica Sinica, 2003, **52**(10): 2530. (in Chinese)  
(谢竞神, 周宏余, 王平, 等. 物理学报, 2003, **52**(10): 2530.)
- [17] HUANG Xuchu, HOU Juan, LIU Xiaoyong. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2009, **23**(6): 976. (in Chinese)  
(黄旭初, 侯娟, 刘效勇. 核农学报, 2009, **23**(6): 976.)
- [18] CLOETENS P, LERBS-MACHE S. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, **103**(39): 14626.
- [19] SRIM: <http://www.srim.org/>.
- [20] CASINO: <http://www.gel.usherbrooke.ca/casino/>.
- [21] Geant4: <http://geant4.web.cern.ch/geant4/>.

## Simulation of the Secondary Effect of Low Energy Ions Implanting in Seeds

LI Chengbo<sup>1,2,1)</sup>, LI Xiaoming<sup>1,2</sup>

(1. Beijing Radiation Center, Beijing 100875, China;

2. Key Laboratory of Beam Technology and Material Modification of Ministry of Education, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

**Abstract:** The breeding method by low-energy ion implantation has been proved to be a valuable breeding method by a large number of practical attempts, but the mechanism of the method has always been in a large dispute. The most difficult thing to be understood is how the low energy heavy ion with such a short range (normally shorter than 1  $\mu\text{m}$ ) can penetrate into the inner part of seeds to trigger the biological effects. In this paper, simulations with quantitative analysis were performed for the low energy ion implanting into biological samples and the effects caused by the secondary particles using SRIM, CASINO and Geant4 simulation programs. The results showed that the ranges of low energy heavy ions are normally less than 1  $\mu\text{m}$ . The ranges can become longer if dry seeds and light ions are used with a higher energy. The ranges of recoil protons are only a little longer than that of the primary ions. Among the secondary particles produced in the ion implanting process, only the X-ray can obviously increase the penetration depth in seeds. There always will be a small amount of X-rays which can penetrate into the deeper place in the seed if the ion dose is high enough.

**Key words:** breeding by ion implanting; range of low energy ion; secondary particle; X-ray

**Received date:** 15 Nov. 2016; **Revised date:** 10 Jan. 2017

**Foundation item:** Reform and Development Project of Beijing Academy of Science and Technology

1) E-mail: [lichengbo2008@163.com](mailto:lichengbo2008@163.com).