

重离子射线照射对家蚕的生物影响

屠振力

(浙江大学动物科学学院, 杭州 310029)

摘要:为解明重离子射线的生物影响,调查了氖、碳及氮($^{20}\text{Ne}^{8+}$, LET = 300 keV/ μm ; $^{12}\text{C}^{5+}$, LET = 116 keV/ μm 和 $^4\text{He}^{2+}$, LET = 16.2 keV/ μm)等重离子射线照射家蚕(*Bombyx mori*)后的存活率及形态变化。重离子射线照射不同发育时期的幼虫后所引起的生物影响不同,幼虫的发育时期越早,照射后引起的生物影响越大;对同一时期的幼虫,随着剂量的增加,照射的生物影响加大;以化蛹率和羽化率为指标的放射线感受性在供试的3种射线间具有相似的变化倾向,只是射线的射程越长,照射的生物影响越大;对熟蚕卵巢存在部位的局部照射也显示相似的结果。同一射线的不同LET轨迹位置对家蚕的卵巢及真皮细胞的生物影响不同,用Mylar薄膜覆盖调节碳离子射线的射程,卵巢及真皮细胞越是接近射线高LET的Bragg峰,照射个体的鳞毛及卵的形成被强烈抑制。因此,重离子射线对家蚕的生物影响与细胞及植物种子等小个体不同,对于全体照射,重离子射线的射程长短所造成的生物影响比射线的LET大小所引起的生物影响要大;而对于局部照射,目的器官越是接近射线的高LET轨迹,照射的生物影响越大。

关键词:家蚕;重离子射线;能量传递性;射线轨迹;生物影响

Biological effects of heavy ions irradiation on the silkworm *Bombyx mori*

TU Zhenli

College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

Abstract: The biological effects of heavy ions were studied in silkworm larvae following irradiation using the depth control plant seed irradiation equipment currently installed in TIARA, JAERI. Larvae were irradiated at a whole-body or a local level with 50-MeV $^4\text{He}^{2+}$, 220-MeV $^{12}\text{C}^{5+}$, or 350-MeV $^{20}\text{Ne}^{8+}$ ions, and the survival rates and morphogenesis after irradiation were investigated. For individuals exposed at the whole-body level, the sensitivity to heavy ion beams increased, as measured by changes in pupation and emergence rates. Similar results were observed for all three kinds of irradiation: (a) for the larvae at the same developmental stage, the bio-effects increased with irradiation dose; (b) the projectile range caused greater effects than did LET. The different beams or the different track sections of the same beams had different bio-effects on ovary tissues and dermal cells. Adjusting the projectile range with Mylar film showed that greater bio-effects were clearly observed the nearer the organic target was to the Bragg Peak. Thus, bio-effects of heavy ion-ray radiation on silkworms were considered to be different than those seen for smaller targets such as cells and plant seeds. Following whole-body irradiation, the effects caused by different beams on larvae were varied and depended on stronger projectile ranges than those of LET. For local irradiation, the bio-effects of irradiation on larvae greatly depended on the track site of the target: the closer the target was to the Bragg peak, the more effects were observed.

Key Words: *Bombyx mori*; Heavy ion; Linear energy transfer (LET); Track section; Bio-effect

重离子射线是一种高能宇宙射线,具有很强的能量传递性(Linear energy transfer, LET),同时具有很高的相对生物效能(Relative biological effectiveness, RBE)^[1-2]。因为在宇宙空间大量存在,其照射后产生的危险性

基金项目:2007年公益性行业(农业)科研专项经费资助(nyhyzx07-020-04);国家重大基础研究发展计划(973计划,2005CB121003)

收稿日期:2009-07-06; **修订日期:**2009-12-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tuzl@zju.edu.cn

很高,是人类在宇宙长期工作和生活时所不能忽视的因素之一,因此解明重离子射线对生物的影响是目前重要的研究课题之一^[3-4]。人类广泛开展重离子射线对生物的影响研究始于 20 世纪 90 年代,主要集中在对植物的诱变作用及细胞的生物影响研究上^[2, 5-8]。

家蚕因为饲养方法简单,在遗传学、生理学上积累了丰富的研究成果,被认为是研究及解明放射线生物影响的最好的实验材料之一^[9],并已经进行了大量的基础研究,但这些研究主要用集中在 X-射线和 γ -射线等穿透力很强的放射线^[10-13],而对于宇宙中大量存在的高 LET 的重离子射线对家蚕的生物影响研究的报道很少,而且仅用其中的一种碳离子射线进行过研究^[14-18],对于不同重离子射线对家蚕的生物影响的研究还未见报道。

本研究用重离子射线全体或局部照射家蚕幼虫,调查了不同发育时期的幼虫对不同重离子射线的感受性,以及用 Mylar 薄膜覆盖调节射线的射程后照射个体的产卵性及形态变化。

1 材料与方法

1.1 试验昆虫

家蚕(*Bombyx mori*)着色非滞育系统(*pnd*),饲养条件为(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 70%—80%,16h 明 8h 暗。幼虫用人工饲料饲养,4 龄及 5 龄幼蚕供以下试验。

1.2 重离子射线照射装置及照射方法

利用日本原子能研究开发机构高崎研究所的重离子照射研究设施中的深度控制种子照射装置。全体照射方法:将幼虫置于重离子射线照射用试料台上,并用透明胶带纸作部分固定(厚度 63 μm),从幼虫的背部进行照射。局部照射方法:先在 2.0 mm 厚的丙烯酸树脂板上,制作 10mm $\times$ 6mm 大小的孔,将孔对准照射目的部位,并用透明胶带纸将幼虫部分固定在照射用试料台上,射线通过该孔对目的器官进行照射。所用射线的种类为:氦离子 $^4\text{He}^{2+}$, LET = 16.2 keV/ μm ; 碳离子 $^{12}\text{C}^{5+}$, LET = 116 keV/ μm 和 氖离子 $^{20}\text{Ne}^{8+}$, LET = 300 keV/ μm 。照射剂量为 10—500 Gy。氦、碳及氖离子射线的水中射程分别为 1.5 mm, 1.1 mm and 0.6 mm,树脂板的厚度为 2.0 mm,因此,3 种重离子射线均不能穿过该丙烯酸树脂板。事实上,通过离子轨迹检测器 Harzlas TNF-1 (modified CR-39, Nagase Landauer, Japan)已证实 3 种重离子射线能完全被该丙烯酸树脂板所遮蔽。

1.3 照射后的观察方法

照射后,4 龄及 5 龄幼虫与对照幼虫(未照射)同时用人工饲料饲养。熟蚕时将其放入事先垫有卫生纸的塑料容器内($\phi 6\text{cm} \times 3.5\text{cm}$),使其吐丝结茧,按常规方法调查结茧、化蛹及羽化时的生存率及形态异常。照射后羽化的雌性个体与正常雄蛾交尾,调查产卵数及受精率;同时在生理盐水中解剖产卵后的雌蛾,调查输卵管中的残存卵数,计算造卵数。每一处理的调查个体数为 12—18 头。

1.2 重离子射线的射程调节方法

局部照射时,通过在丙烯酸树脂板上的孔处覆盖 Mylar 薄膜(厚度:100 μm)来调节重离子射线的射程,根据射程需要重复覆盖 1—8 枚 Mylar 薄膜。使用的重离子射线为碳离子射线,从幼虫第 8 体节背部(生殖巢存在部位)进行照射,照射后调查产卵性及鳞毛形态。

2 结果

2.1 重离子射线全体照射的生物影响

2.1.1 对不同发育时期幼虫的生物影响

以 100 Gy 的 3 种重离子射线对四龄第 1 天到熟蚕为止的每一天幼虫进行全体照射,以化蛹、羽化时的存活率为指标的重离子射线的感受性如图 1:不同发育时期的家蚕表现出的照射影响不同,照射四龄幼虫后出现的影响比五龄幼虫的要大,而眠蚕时暂时表现为抵抗性降低。从同一龄期看,幼虫的发育时期越早,照射的生物影响越大;随着个体的发育,对重离子射线表现抵抗性,照射的影响渐渐减少。3 种重离子射线之间的变化趋势相同,只是射程长的碳离子及氦离子射线的照射影响比射程短的氖离子射线要大。

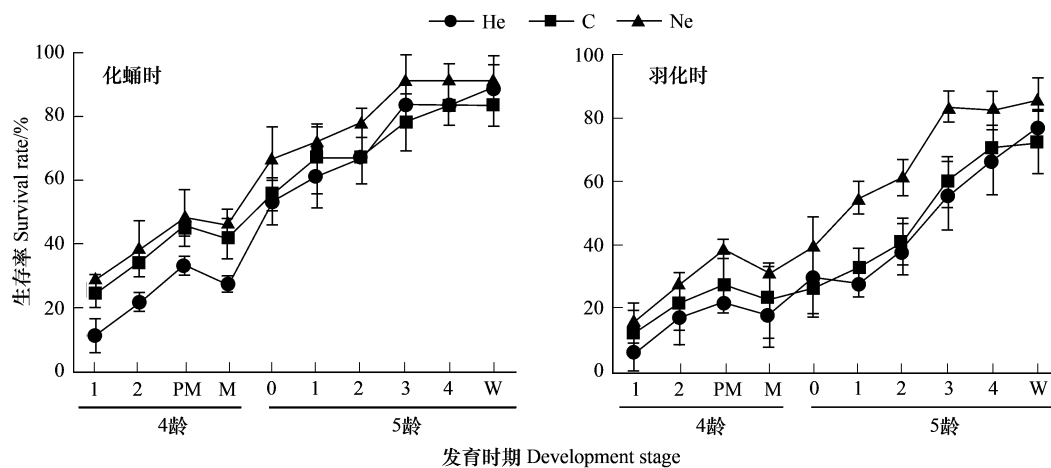


图1 不同时期家蚕受重离子射线照射后的存活率

Fig. 1 Survival after general irradiation (100 Gy) at the different development stage of the silkworm

PM: 将眠蚕; M: 眠蚕; W: 熟蚕

2.1.2 不同剂量照射对家蚕的生物影响

用10—500 Gy的3种重离子射线分别照射熟蚕,其结茧、化蛹及羽化时的生存率如图2:100Gy以下照射时,3种重离子射线对结茧率几乎没有影响;100 Gy以上时,碳和氦离子射线照射时,随着剂量的增加结茧率缓慢减少,500 Gy时还有约50%的个体能结茧;氦离子射线照射时,随着剂量的增加结茧率急速减少,500 Gy时照射个体完全不能结茧。蛹化率和羽化率的变动在3种重离子射线间也具有类似的倾向,都是随着照射剂量的增加而急速减少,只不过是减少的程度氦离子射线最小,碳离子射线次之,氦离子射线最大。

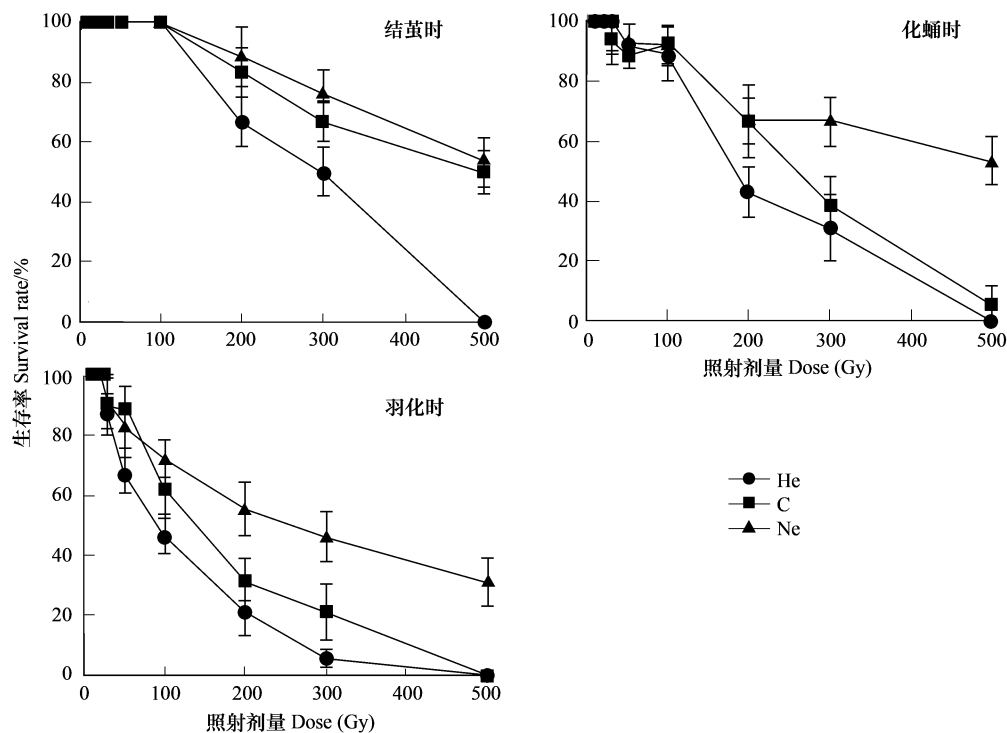


图2 不同重离子射线照射熟蚕后的存活率

Fig. 2 Survival after general irradiation with three different ions (10–500 Gy) at the wandering stage, in the silkworm

2.2 重离子射线局部照射的生物影响

2.2.1 对卵巢存在部位(第8体节背部)局部照射的影响

用3种不同的重离子射线局部照射熟蚕的卵巢,调查了产卵性的变化(表1),30 Gy的C离子照射时,产卵数和造卵数分别为132粒和200粒,50 Gy照射时不能造卵;而用Ne离子照射时,即使100 Gy照射,也能生成300粒以上的蚕卵;He离子照射的影响介于两者之间。对受精卵及孵化率的影响也具有相同的变化倾向。

表1 不同重离子射线照射对家蚕产卵性的影响
Table 1 Effects of different heavy ions on egg production of the silkworm, *Bombyx mori*

离子种类 Ion species	照射剂量 Dose/Gy	造卵数 No. of mature eggs produced (Mean ± S. D.)	产卵数 No. of eggs laid (Mean ± S. D.)	受精率/% % of fertilized eggs *	孵化率 Hatchability /% *
$^{20}\text{Ne}^{8+}$	30	387 ± 77	347 ± 61	95.9	87.7
	50	341 ± 49	322 ± 44	92.3	82.6
	100	318 ± 56	304 ± 48	94.1	84.0
$^{12}\text{C}^{5+}$	30	200 ± 57	132 ± 41	26.5	20.5
	50	0	0	—	—
	100	0	0	—	—
$^4\text{He}^{2+}$	30	235 ± 37	157 ± 48	72.5	48.8
	50	63 ± 44	47 ± 37	21.2	10.4
	100	0	0	—	—
对照 Control		459 ± 41	421 ± 35	99.2	92.1

* 照射雌性个体与没有照射的雄性个体交配

2.2.2 碳离子射线不同轨迹的照射影响

通过在丙烯酸树脂板上的孔处用Mylar薄膜覆盖调节碳离子射线的射程,调查了碳离子射线的不同轨迹对卵巢生殖能的影响(表2),覆盖一张Mylar薄膜与直接照射(0枚)相同,照射个体完全不能造卵;随着覆盖枚数的增加,造卵数、产卵数渐渐增加,当增加到6枚时,造卵数、产卵数与未照射的对照相似;受精率、孵化率也具有相同的倾向。同时增加覆盖Mylar薄膜枚数,调查了不同轨迹位置与鳞毛形成的关系(表3),在相同剂量的条件下,随着覆盖Mylar薄膜枚数的增加,鳞毛形成数量逐渐减少,当覆盖Mylar薄膜枚数达7枚时,几乎所有的照射个体都不能形成鳞毛(图3);但当增加到8枚时,既使用200 Gy照射,所有照射个体的鳞毛都能形成。

表2 通过Mylar薄膜覆盖调节碳离子射线的射程后的家蚕产卵性
Table 2 Effects of Mylar film covering local irradiation on egg production of silkworm, *Bombyx mori*

薄膜枚数/(100 μm/片) Film number	造卵数 No. of mature eggs produced (Mean ± S. D.)	产卵数 No. of eggs laid (Mean ± S. D.)	受精率/% % of fertilized eggs *	孵化率/% Hatchability *
0	0	0	—	—
1	0	0	—	—
2	57 ± 48	41 ± 31	16.5	10.7
3	244 ± 66	217 ± 59	48.3	33.7
4	358 ± 57	332 ± 44	64.9	63.1
5	423 ± 46	411 ± 32	92.7	90.9
6	462 ± 53	433 ± 48	98.6	93.5
对照 Control	458 ± 41	421 ± 35	99.2	92.1

Gy的碳离子射线局部照射熟蚕的卵巢,调查个体数为12—18头/区; * 照射雌性个体与没有照射的雄性个体交配

3 讨论

为了解明重离子射线对家蚕的生物影响,调查了氦、碳及氮等不同重离子射线全体或局部照射家蚕后的

存活率、产卵性及鳞毛形态等的变化。

表 3 碳离子射线的不同轨迹与成虫鳞毛形成的关系

Table 3 Effects of carbon-ion different track section on scaly-hair formation

剂量 Dose /Gy	枚数 Film number	观察个体数 No. of observation	正常个体数 No. of normal	鳞毛减少个体数 No. of scale-hairs decrease	鳞毛完全缺失个体数 No. of scale-hairs complete deletion
100	0	11	0	0	0
	3	12	12	0	0
	5	11	9	2	0
	7	11	4	6	1
	8	12	12	0	0
120	0	12	0	0	0
	3	11	9	1	1
	5	12	3	5	4
	7	12	0	3	9
	8	12	12	0	0
140	0	12	8	3	1
	3	12	10	2	0
	5	12	1	3	8
	7	11	0	1	10
	8	11	11	0	0
160	0	11	4	6	1
	3	12	3	6	3
	5	12	0	5	7
	7	11	0	0	11
	8	12	12	0	0
180	0	12	0	7	5
	3	12	1	6	5
	5	11	0	1	10
	7	12	0	0	12
	8	12	12	0	0
200	0	12	0	0	12
	3	12	0	1	11
	5	11	0	0	12
	7	12	0	0	12
	8	12	12	0	0

照射部位:熟蚕第 8 体节背部

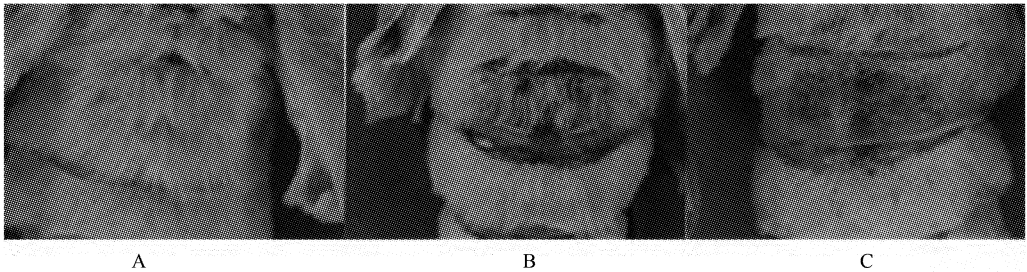


图 3 重离子射线局部照射后的成虫鳞毛的形态变化

Fig. 3 Abnormal morphology of scale-hairs in adult moths induced by radiosurgery with carbon ions at the wandering stage, in the silkworm

A: 薄膜枚数: 0 正常; B: 薄膜枚数: 3, 部分缺损; C: 薄膜枚数: 7 完全缺失

从化蛹、羽化时的生存率看,重离子射线对不同发育时期幼虫的生物影响不同,四龄幼虫比五龄幼虫的感性高,从同一龄期来看,随着个体的发育,对重离子射线的抵抗性增加(图 1),这本质上与 γ -射线照射不同

时期的家蚕卵,以孵化时的 LD_{50} 为指标的放射线感受性结果相似^[19]。因为一般情况下越是未分化的细胞其放射线感受性越高,随着细胞的发育逐渐显示抵抗性;家蚕也不例外,因为幼龄期的幼虫,将来发育或生存时必须的未分化细胞及组织受到的损伤较多;另外,照射个体即使受到的伤害程度很小,但随着发育伤害蓄积,最终导致致命性死亡。通常生物的放射线感受性用照射后 30 日或一定时间内 50% 的个体死亡的剂量 ($LD_{50/30 \text{ or time}}$) 来表示^[20-22],但昆虫因为一个世代比较短,而且由于存在变态等现象,很难决定 $LD_{50/30}$,所以昆虫通常以某一特定时期 50% 个体存活时的照射剂量来表示放射线抵抗性^[19],对熟蚕进行全体照射时,结茧、化蛹及羽化时的 LD_{50} 分别为:氦离子射线为 500、500、270 Gy,碳离子射线为 500、270、140Gy,氮离子射线 300、180、90Gy(图 3),射程长的氮离子的生物影响最大,射程短的氦离子影响最小,碳离子射线介于两者之间。用 γ -射线照射家蚕幼虫时,因为穿透力强,幼虫全身的所有器官组织均被照射到,而重离子射线照射家蚕幼虫背部时,照射深度有限,仅位于幼虫背部的组织器官被爆,存在于内部及腹侧的组织器官没有受到直接的影响,因此对家蚕幼虫背部进行重离子射线照射时,射程越长的重离子射线,使存在于皮肤表面到重离子射线的射程末端为止的真皮细胞、肌肉组织、脂肪体及生殖巢等组织器官大量受到照射,生物影响也就加大(图 1,图 2,表 1)。一般,对细胞或植物种子等小个体来说,重离子射线的 LET 越高,照射的生物影响越大^[2, 6-8, 23],而对于家蚕幼虫,因为个体相对细胞及植物种子为大,重离子射线照射时仅对表面及射程范围内的部分组织器官产生影响,因此与射线的 LET 相比,射程越长的射线照射所带来的生物影响越大(图 1,图 2,表 2)。实际上,对卵巢的局部照射也表现出相似的结果:射程短的氦离子射线照射对生殖影响较小,能正常发育,形成较多的蚕卵;射程长的碳和氮离子射线照射的生物影响大,特别是碳离子射线照射时完全不能形成卵(表 1,表 2)。熟蚕的皮肤表面到卵巢的距离为 0.3 mm,卵巢的最大幅处约为 0.7—0.75 mm,皮肤表面到卵巢全体的距离在 1.1 mm 以内;氦离子射线照射时,因照射深度较浅,重离子射线仅有一部分达到卵巢,所以影响较小,能够形成较多的卵。另一方面,深度较长的碳和氮离子射线能完全穿透卵巢,照射个体几乎不能形成蚕卵;氮离子射线的照射深度为 1.5 mm,理论上氮离子射线已经完全通过卵巢,应该不太有影响,但实际上在重离子通过的途中,引起大量的自由基等不安定因素^[24-26],最终出现重离子射线照射的生物影响,高剂量照射时使得一部分的生殖机能受到障碍,而在低剂量时照射的影响相对较小(表 1)。

射程不同的离子对卵巢的生物影响不同,理论上也可以通过控制同一射线的射程来验证。用密度已知的 Mylar 薄膜覆盖来调节碳离子射线的射程,随着覆盖枚数的增加,照射深度渐渐变浅,只有部分卵巢被照射到,所以照射的影响减少;当增加到 6 枚时,重离子射线照射不到卵巢,所以观察不到照射的影响,由此确认了存在于射程以外的组织器官没有受到影响(表 2)。进一步对鳞毛的影响调查也证明上述结论,用 Mylar 薄膜覆盖调节碳离子射线的射程使 Bragg 峰的位置接近生毛(真皮)细胞时,照射的生物影响加大(图 3),这是因为家蚕的鳞毛由一层紧邻表皮的真皮细胞分化发育而成,碳离子射线直接照射时其 Bragg 峰的位置远离真皮细胞层,所以直接照射的影响很小,但当覆盖一定 Mylar 薄膜枚数时,其射线的 Bragg 峰的位置刚好在该真皮细胞层附近(7 枚),所以几乎所有的照射个体都不能形成鳞毛,继续增加到 8 枚时,Bragg 峰的位置没有接触到真皮细胞层,所有没有照射的影响而使得照射个体的鳞毛都能形成。直接照射(0 枚)时鳞毛完全消失的剂量为 200 Gy;而当用 7 枚 Mylar film 覆盖时,鳞毛完全消失的剂量仅为 140—160 Gy(表 3),这是因为射线的不同轨迹其 LET 不同,而射线的 LET 越高,越能够高频率地引起修复困难的 DNA 损伤和细胞死亡^[27-30];所以用同样的剂量照射时,在高 LET 的轨迹处足已引起所有真皮细胞受损伤而致使死亡。

结果表明:重离子射线照射家蚕后的生物影响与细胞及植物种子等小个体不同,对于全体照射,重离子射线的射程长短所造成的生物影响比射线的 LET 大小所带来的生物影响要大;对于局部照射,目的器官越是位于射线的高 LET 轨迹,照射的生物影响越大。

致谢:本研究的部分内容在日本原子能研究开发机构高崎研究所内进行,感谢同研究机构照射设施的相关人员及小林泰彦博士所给予的帮助及指导。

References:

- [1] Kraft G. Radiobiological effects of very heavy Ions; Inactivation, induction of chromosome aberrations and strand breaks. Nuclear Science Application, 1987, 3: 1-28.
- [2] Blakely E A. Cell inactivation by heavy charged particles. Radiation and Environmental Biophysics, 1992, 31: 181-196.
- [3] Benghin V V, Petrov V M, Teltsov M V, Chernykh I V, Shumshurov V I. Dosimetric control on board the MIR space station during the solar proton events of september-october 1989. Nuclear Tracks and Radiation Measurements, 1992, 20: 21-23.
- [4] Iida T, Abe T, Fujitaka K, Noguchi K, Minato S, Furukawa M, Okano M. Radiation environment between seabed and space. Radioisotopes, 1998, 47: 493-509.
- [5] Goodhead D T. Initial events in the cellular effects of ionizing radiation; clustered damage in DNA. International Journal of Radiation Biology, 1994, 65: 7-17.
- [6] Rydberg B, Lobrich M, Cooper P K. DNA double-strand breaks induced by high-energy neon and iron ions in human fibroblasts. 1. Pulsed-field gel electrophoresis method. Radiation Research, 1994, 139: 133-141.
- [7] Tanaka A, Shimizu T, Yokota Y, Watanabe H. Effects of heavy ions on the germination and survival of *Arabidopsis thaliana*. International Journal of Radiation Biology, 1997, 72: 121-127.
- [8] Hase Y, Shimono K, Inoue M, Tanaka A, Watanabe H. Biological effects of ion beams in *Nicotiana tabacum* L. Radiation and Environmental Biophysics, 1999, 38: 111-115.
- [9] Henneberry T J, Sullivan W N. Effect of gamma-radiation on eggs of the silkworm. Nature, 1963, 200: 1121-1122.
- [10] Miki M, Murakami A. γ -ray-induced mutations of female primordial germ-cells during organogenesis in the silkworm (*Bombyx mori* L.). The Journal of Sericultural Science of Japan, 1979, 48: 59-64.
- [11] Nakajima M, Takimoto T, Miyakoda T. Radiation effects on silkworm, *Bombyx mori* L., with special reference to the changes in the frequencies of induced somatic mutations during different stages of larval development. The Journal of Sericultural Science of Japan, 1972, 41: 359-364.
- [12] Kurata K. Effects of ^{60}Co γ -irradiation on the synthesis of nucleic acids in the posterior silk gland and on the cocoon shell weight of the silkworm, *Bombyx mori*. The Journal of Sericultural Science of Japan, 1983, 52: 336-340.
- [13] Sun H, Liu C, Mu L, Chen S, Li F, Shao Y, Tang L, Zhou Y. Silkworm Growth under ^{60}Co - γ Beam Radiation. Acta Laser Biology Sinica, 2008, 17(3): 327-332.
- [14] Tu Z, Kobayashi Y, Kiguchi K, Watanabe H. Applicability of radiosurgery with heavy ion beams to inactivate specific organs in living organisms. Radiation and Environmental Biophysics, 2002, 41: 231-234.
- [15] Tu Z, Kobayashi Y, Kiguchi K, Watanabe H, Yamamoto K. Effects of heavy-ion radiosurgery on the hemopoietic function of the silkworm *Bombyx mori*. Journal of Radiation Research, 2002, 43(3): 269-275.
- [16] Tu Z, Shi M, Kobayashi Y, Kiguchi K. Antibacterial activity of silkworm hemolymph after hemopoietic organ being injured with radiosurgery. Journal of Applied Entomology, 2004, 128: 687-690.
- [17] Kiguchi K, Shirai K, Kanekatsu R, Kobayashi Y, Tu Z, Funayama T, Watanabe H. Radiosurgery using heavy ion microbeams for biological study: Fate mapping of the cellular blastoderm-stage egg of the silkworm, *Bombyx mori*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, 2003, 210: 312-315.
- [18] Ling E, Shirai K, Kanekatsu R, Kiguchi K, Kobayashi Y, Funayama T, Watanabe H. Contribution of circulating hemocytes to the regeneration of heavy ion beams($^{12}\text{C}^{5+}$) irradiated hematopoietic organs in the silkworm, *Bombyx mori*, through the way of phagocytosis of injured cells after invasion. Developmental and Comparative Immunology, 2006, 30: 531-543.
- [19] Murakami A, Miki M. Age-dependent changes of radiosensitivity in embryo of *Bombyx mori*. J. Radiation Research, 1972, 13: 183-192.
- [20] Siemann D W, Hill R P, Penney D P. Early and late pulmonary toxicity in mice evaluated 180 and 420 days following localized lung irradiation. Radiation Research, 1982, 89: 396-407.
- [21] Julian D Down, Gordon Steel. The expression of early and late damage after thoracic irradiation; A comparison between CBA and C57BI mice. Radiation Research, 1983, 96: 603-610.
- [22] Kobayashi S, Nishimura M, Shimada Y, Suzuki F, Matsuoka A, Sakamoto H, Hayashi M, Sofuni T, Sado T, Ogiu T. Increased sensitivity of acid heterozygous mice to ionizing radiation. International Journal of Radiation Biology, 1997, 72: 537-545.
- [23] Wada S, Natsuhori M, Ito N, Funayama T, Kobayashi Y. Detection of DNA damage induced by heavy-ion irradiation in the individual cells with comet assay. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, 2003, 206: 553-556.
- [24] Huttermann J, Schaefer A. Heavy-ion-induced free radical formation in solid DNA-constituents; Quantitative and structural aspects. Applied

- Radiation and Isotopes, 1989, 40: 915-921.
- [25] Koizumi H, Ichikawa T, Yoshida H, Namba H, Taguchi M, Kojima T. Radical formation in the radiolysis of solid alanine by heavy ions. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, 1996, 117: 431-435.
- [26] Miller Jay H, Bolger Gordon, Kempner Ellis. Radiation target analysis of enzymes with stable free radicals. Radiation Physics and Chemistry, 2001, 62: 33-38.
- [27] Heilmann J Rink H, Taucher-Scholz G, Kraft G. DNA strand break induction and rejoining and cellular recovery in Mammalian cells after heavy-ion irradiation. Radiation Research, 1993, 135: 46-55.
- [28] Goodwin E H, Blakely E A, Tobias C A. Chromosomal damage and repair in G1-phase chinese hamster ovary cells exposed to charged-particle beams. Radiation Research, 1994, 138: 343-351.
- [29] Blakely E A, Kronenberg A. Heavy-ion radiobiology: New approaches to delineate mechanisms underlying enhanced biological effectiveness. Radiation Research, 1998, 150 (Suppl.): S126-145.
- [30] Høglund E, Blomquist E, Carlsson J, Stenérlov B. DNA damage induced by radiation of different linear energy transfer: initial fragmentation. International Journal of Radiation Biology, 2000, 76: 539-547.

参考文献:

- [13] 孙辉,刘朝良,穆莉,陈仕才,李锋,邵引刚,汤良文,周炎. ^{60}Co -辐射对家蚕生长发育的影响. 激光生物学报, 2008, 17(3): 327-332.