

文章编号: 1004-0374(2009)01-0011-04

# 同步辐射在植物科学研究中的应用

孙卫宁\*

(上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海 200032)

**摘要:** 同步辐射是一种新型的光源, 逐步被广泛应用于物理、化学、材料以及生命科学等研究领域。本文简单介绍了同步辐射在植物科学领域的应用成果。

**关键词:** 同步辐射; 植物科学; 光源

**中图分类号:** Q63; Q94 **文献标识码:** A

## Synchrotron radiation and plant science

SUN Wei-ning\*

(Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences,  
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Synchrotron radiation is developed to be a new type of light resource which is widely applied in physics, chemistry, material science and biological researches. This review briefly introduced the recent applications of synchrotron radiation related techniques in plant science.

**Key words:** synchrotron radiation; plant science; light resource

同步辐射是高速的荷电粒子在速度改变时所释放出的电磁辐射。同步辐射最初是高能物理研究中的副产品, 但是由于其本身所具备的优异性能, 比如高亮度、高准直性、广谱性、高度极化、脉冲性、偏振性、相干性及高纯净性等特点, 从20世纪60年代起, 人们开展了同步辐射的应用研究, 结果令人鼓舞, 因此同步辐射成为了一种新的光源, 被广泛应用于物理、化学、材料、生命科学及纳米科技等研究领域, 至今同步光源已经发展到第三代光源。其中生命科学是同步辐射应用发展最快、成果最多的领域。同步辐射的应用基础是通过光与物质的相互作用进行的<sup>[1]</sup>。同步辐射与物质的相互作用方式包括散射和吸收, 由此衍生出来的实验方法包括X射线衍射、X射线散射、吸收谱、X射线相衬成像(X-ray phase contrast image)等等。同步辐射为解析生物大分子结构、亚细胞结构、研究细胞中离子分布等提供了新的手段。本文将从元素分布、细胞组织结构、水分运输以及红外光谱等几个方面简单介绍同步辐射技术在植物科学研究中的应用成果。

### 1 金属元素分布

植物在生长过程中可以从土壤中吸收各种矿物质元素, 包括营养元素如铁、镁, 以及有害的重金属离子, 如砷、锰、镉等等。这些元素吸收后被储存在特定的细胞结构中, 如液泡中, 不同的植物对营养元素的吸收效率也不相同。以往的研究通过离子检测技术, 能够测定某种离子在植物中的积累量, 并通过组织解剖初步分析特定组织中的离子含量情况。而采用同步辐射技术, 可以在不破坏植物结构的条件下, 了解某种或几种元素的分布情况, 以及离子的价态。比如Cs与K具有相似的化学特性, 因此可以被植物借助相同的离子通道吸收。在拟南芥的一项研究中, 为了研究植物中Cs的分布及其与K的相关性, 研究人员借助基于显微聚焦同步辐射的X射线荧光成像技术(microfocused synchrotron-based X-ray fluorescence,  $\mu$ XRF)研究了金属离子在拟南芥中的分布<sup>[2]</sup>。当拟南芥材料在1mmol/L Cs和

收稿日期: 2008-11-25

\*通讯作者: wnsun@sibs.ac.cn

20mmol/L K 溶液中时, Cs 分布在表皮毛(trichome)附近, 与 K 的分布一致(图 1)。当植物处于 K 缺乏的条件下时, 表皮毛基部的 Cs 浓度升高, 说明 Cs 进入了植物细胞内。这种基于显微聚焦同步辐射的荧光成像技术为研究大量或微量金属元素在植物中的分布以及对植物生长的影响提供了新的手段, 使研究人员可以更直观地了解离子的分布情况。

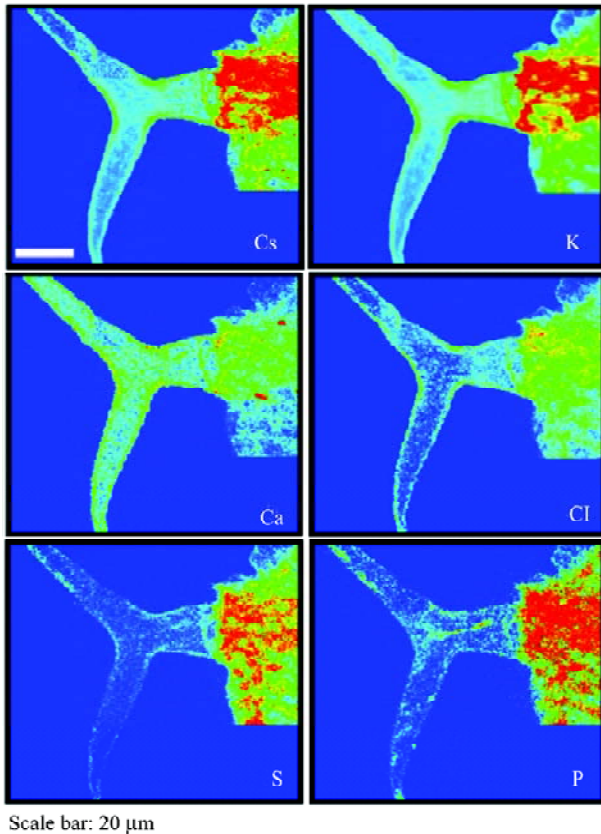


图 1 mXRF 技术研究拟南芥中 K、Cs 等离子的分布和吸收<sup>[2]</sup>

图中所示为拟南芥在含 1 mmol/L Cs 和 20 mmol/L K 的培养基中处理 4 d 后, 表皮毛基部金属离子分布

同步辐射技术还被应用于离子通道蛋白的功能研究。离子通道蛋白能够特异性地运输一种或几种金属离子, 对植物的发育起重要的作用。比如拟南芥的 VIT1 蛋白是位于液泡膜上的离子通道, 能够运输 Fe 离子和 Mg 离子。借助同步辐射技术, 可以发现拟南芥 *vit1* 基因突变体的种子中金属离子分布的差异(图 2)<sup>[3]</sup>。同时借助电脑软件, 还可以通过三维的扫描成像, 看到植物组织内部的元素分布情况及含量, 几种不同元素分布的叠加情况以及元素间的相互联系。与传统的成像技术相比, 同步辐射技术的

优越性还体现在样品材料的制备上, 无需任何处理, 并且对生物材料来说是一种无损伤的检测, 因此可以最大限度保持金属离子或元素在植物组织细胞中分布的自然状态, 尤其适合于检测种子一类水分含量较少、结构比较致密、相对比较稳定的材料。

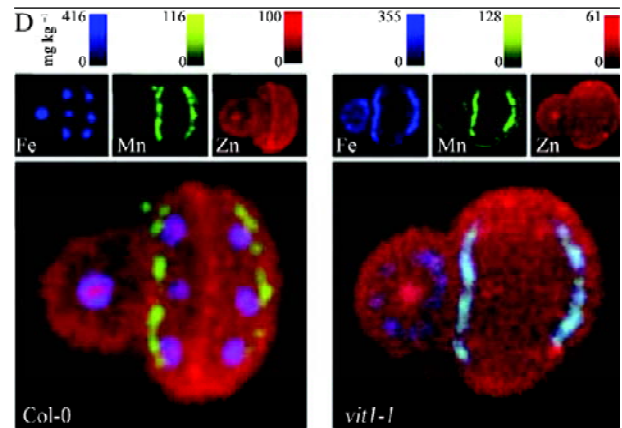


图 2 mXRF 技术研究金属离子 Fe、Mn、Zn 在拟南芥野生型种子 *Col-0* 和 *vit1-1* 突变体中的分布和含量差异<sup>[3]</sup>

除了检测金属元素的种类和分布, 同步辐射技术还可以应用于元素价态的鉴定, 因此也被用于研究离子在植物中的运输。Smith 等<sup>[4]</sup>报道了一项关于砷的吸收、转运以及转化的研究工作。借助 X 射线近边吸收谱学(X ray absorption near-edge structure, XANES), 研究人员成功地分析了亚砷酸盐、五价砷酸盐和三价砷-硫化物在废矿污染的水中生长的萝卜组织中的分布和浓度。从 X 射线吸收谱(X-ray absorption spectroscopy, XAS)的分析结果表明培养基中的砷酸盐在被根吸收后, 部分的砷酸盐通过木质部转运到地上部, 同时五价砷酸盐被还原成三价砷-硫化物, 砷在茎和叶中主要以三价砷化合物形式存在(图 3)。与其他的离子鉴定手段如 HPLC-ICP-MS 相比, 后者虽然可以检测元素的含量变化, 但是却无法鉴定元素价态的变化。因此同步辐射技术为研究植物对金属元素吸收、转运以及重金属离子解毒等等提供了更加灵敏和精准的分析方法。

## 2 细胞组织结构

细胞和组织的结构特点是细胞的功能基础, 结构与功能的相关性往往是人们研究的兴趣所在, 另一方面又存在很多的未知, 比如氧气是如何在植物细胞间扩散的。正如前面所提到, 同步辐射在样品制备和无损检测方面的优越性避免了在进行细胞结构研究时样品固定切片等繁琐过程, 并且能提供常

规切片显微观察所不能提供的信息。Cloetens等<sup>[5]</sup>为了观察拟南芥成熟种子空隙中存在的氧气与种子萌发的关系，对拟南芥材料进行X射线断层扫描，并用定量相位层析技术(quantitative phase tomography)进

行三维重建，得到完整种子的虚拟切片、单细胞的三维图像以及种子的细胞间隙(图4)，为研究种子萌发初期呼吸作用和线粒体重建提供了结构基础。类似的扫描技术也被应用于水果的细胞和组织结构的研究。同步辐射技术的成功应用首次获得了苹果和梨果实内部分辨率在1.4 μm的组织图像和分辨率为0.7 μm的细胞排列图像<sup>[6]</sup>。在这样高的分辨率条件下，已经可以清楚地看到细胞的形态、细胞壁以及细胞间的空隙。同步辐射技术的应用有助于了解植物器官内部的结构特点，最大限度地保持了植物组织的在自然条件下的状态。

### 3 水分运输

水是生命的源泉，水分运输是维持植物正常生长发育和生命活动所必需的，因此植物的水分运输是植物学的研究热点。由于水无色、不带电荷的特点给观察水分在体内运输带来一些困难。最近有文章报道了利用同步辐射技术观察疏导组织中空穴的填充过程，为水分运输的研究提供了新的思路和研究手段。水分在木质部中传输，由于蒸腾大于水分吸收等原因，在木质部导管中的水柱可能被气泡所阻塞，形成空穴，即空化现象。空化现象随着水分供应恢复可以得到恢复。关于空化现象的恢复提出了很多的模型，但是这些模型都有一些缺陷，因

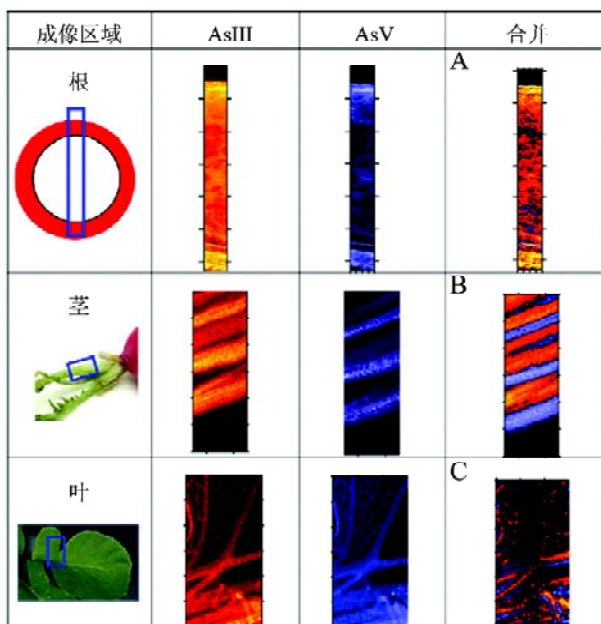


图3 XAS成像比较萝卜根茎叶中三价砷和五价砷的分布和浓度<sup>[4]</sup>

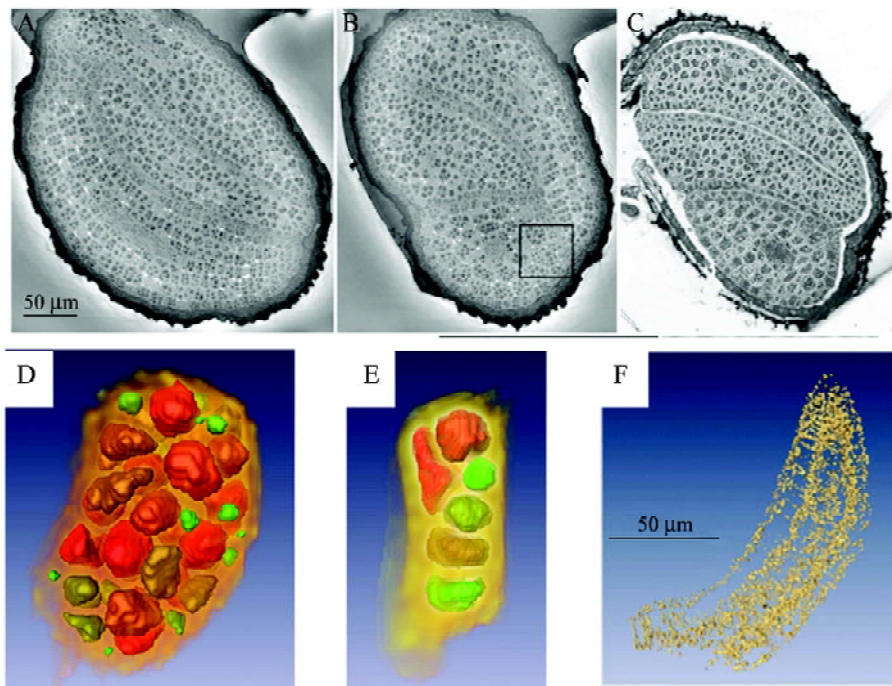


图4 拟南芥种子虚拟切片，单细胞三维图像以及种子的细胞间隙<sup>[5]</sup>

注：A、B 分别为同一粒种子的虚拟纵切和横切；C 为常规切片方法得到的拟南芥种子横切图；D、E 分别为拟南芥叶肉细胞和栅栏组织细胞单细胞三维成像；F 为种子下胚轴的细胞间隙

此需要有更加直接的实验证据。虽然同步辐射不能直接观察水流,但是通过间接观察疏导组织中空穴的填充,间接了解水分运输过程。最近 Lee 和 Kim<sup>[7]</sup> 用 X 射线显微成像技术研究了竹子离体叶片和茎段在反复的失水和复水过程中的水分运输。该技术采用了相位衬度成像的原理,即 X 射线与不同的物体作用后,由于不同物体的吸收、反射和衍射差异,产生相差,相差被捕获后还原解析成图像<sup>[8]</sup>。由于 X 射线相位衬度成像的分辨率可以达到 1–2  $\mu\text{m}$ ,因此可以观察到空化现象发生时水柱在导管中形成的凹液面(图 5)。在实时影像观察中,研究人员在检测样品和 X 射线之间巧妙地增加了一个遮挡板,以减少 X 射线对植物的伤害,从而更真实地反映水分运输的情况。通过记录凹液面在导管中的位置变化,可以计算出空化现象恢复过程中水分运输的动态变化。

#### 4 红外光谱

红外显微光谱技术(infrared microspectroscopy, IMS)在植物的结构与生长发育的研究中被广泛地应用。由于常规的红外光源低亮度、低空间分辨率,得到的显微光谱信噪比差,限制了红外显微光谱技术的应用。同步辐射由于其高亮度,成为了红外光谱技术的理想光源。同步辐射-红外显微光谱技术(synchrotron radiation infrared microspectroscopy, SR-IMS)在植物研究中的应用刚刚起步,最初应用于一些结构和组成较为单一的组织,比如种子<sup>[9–11]</sup>,目前也应用于研究整体植物的各个组织不同区段内的功能性组分的分布情况,如脂类、蛋白、酚类物质和多糖等等<sup>[12]</sup>。对整体植物研究较少的原因可能是植物组织的组成成分较为复杂,包含了一些纤维素、木质素等生物大分子,给 SR-IMS 的应用带来些困难。

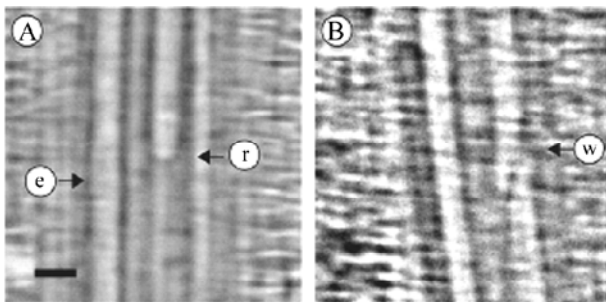


图 5 竹子叶片 X 射线显微成像<sup>[7]</sup>。

图中所示离体竹子叶片在空气中失水后在导管中形成空穴以及在复水后空穴填充时形成的气液界面(凹液面)。A 中箭头 e 和 r 所指分别为空的和复水中的导管, B 中 w 为导管末端

#### 5 结语

由于同步辐射光源众多的优越性和广泛的应用性,已经成为生命科学研究中一种不可或缺的研究手段。近年来随着实验技术本身的发展,通过多种同步辐射方法的联用,扩大了同步辐射在材料科学、生命科学等方面的应用范围。作为国家重大科学工程,我国的第三代光源已经在上海建成,并进入调试阶段,预计 2009 年将陆续开通生物大分子晶体、XAFS、衍射等七条光束线站,将为生命科学研究提供先进的综合研究平台,推动生命科学研究在纳米水平上的发展。

#### [参 考 文 献]

- [1] 洗鼎昌. 同步辐射的现状和发展. 中国科学基金, 2005, 6: 321–5
- [2] Isaure MP, Fraysse A, Devès G, et al. Micro-chemical imaging of cesium distribution in *Arabidopsis thaliana* plant and its interaction with potassium and essential trace elements. *Biochimie*, 2006, 88(11): 1583–90
- [3] Kim SA, Punshon T, Lanzirrotti A, et al. Localization of iron in *Arabidopsis* seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1. *Science*, 2006, 314(5803): 1295–8
- [4] Smith PG, Koch I, Reimer KJ. Uptake, transport and transformation of arsenate in radishes (*Raphanus sativus*). *Sci Total Environ*, 2008, 390(1): 188–97
- [5] Cloetens P, Mache R, Schlenker M, et al. Quantitative phase tomography of *Arabidopsis* seeds reveals intercellular void network. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(39): 14626–30
- [6] Verboven P, Kerckhofs G, Mebatsion HK, et al. Three-dimensional gas exchange pathways in pome fruit characterized by synchrotron X-ray computed tomography. *Plant Physiol*, 2008, 147(2): 518–27
- [7] Lee SJ, Kim Y. *In vivo* visualization of the water-refilling process in xylem vessels using X-ray micro-imaging. *Ann Bot*, 2008, 101(4): 595–602
- [8] Hwu Y, Hsieh HH, Lu MJ, et al. Coherence-enhanced synchrotron radiology: refraction versus diffraction mechanisms. *J Appl Phys*, 1999, 86(8): 4613–8
- [9] Yu PQ, McKinnon JJ, Christensen CR, et al. Chemical imaging of microstructures of plant tissues within cellular dimension using synchrotron infrared microspectroscopy. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(20): 6062–7
- [10] Yu PQ, McKinnon JJ, Christensen CR, et al. Using synchrotron transmission FTIR microspectroscopy as rapid, direct, and nondestructive analytical technique to reveal molecular microstructural-chemical features within tissue in grain barley. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(6): 1484–94
- [11] Yu PQ. Application of cluster analysis (CLA) in feed chemical imaging to accurately reveal structural-chemical features of feed and plants within cellular dimension. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(8): 2872–80
- [12] Dokken KM, Davis LC. Infrared imaging of sunflower and maize root anatomy. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(26): 10517–30