

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2012.00514

用激光剥蚀电感耦合等离子体质谱研究小麦籽粒元素的共分布

王云霞^{1,2} 杨连新^{1,*} Walter J. HORST²

¹ 扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏扬州 225009; ² Institute of Plant Nutrition, Leibniz University of Hannover, 30419 Hannover, Germany

摘要: 增加粮食可食用部分微量营养元素的浓度, 需要更好地了解其在植株, 特别是籽粒内的运输和分布规律。激光剥蚀电感耦合等离子体质谱(laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, LA-ICP-MS)是一种测定植物组织中元素空间分布的新技术。采用该技术对成熟小麦籽粒中锰(Mn)、铜(Cu)、锌(Zn)和磷(P)的空间分布及其关联程度定量研究。结果表明, 所测元素在籽粒不同部位的浓度分布差异很大。Cu、Zn 和 P 浓度均以糊粉层最高, 胚乳最低, 胚居中, 浓度最大差异分别达 15、42 和 33 倍; Mn 浓度则以胚最高, 胚乳最低, 糊粉层居中, 浓度最大差异达 9 倍。籽粒同一部位不同位置的元素浓度亦不相同, 外周胚乳(靠近糊粉层)的元素浓度大于内侧胚乳部位对应元素的浓度, 胚最外侧盾片部位的元素浓度大于胚中间位置的元素浓度, 且各元素趋势一致。比较分析发现, 麦粒不同部位元素的浓度变化存在明显的同步性, 籽粒中 P 浓度高的部位金属元素(Mn、Cu 和 Zn)浓度也高。这说明不同元素在向籽粒不同部位运输和积累过程中可能存在密切关联性。

关键词: 激光剥蚀电感耦合等离子体质谱(LA-ICP-MS); 小麦; 籽粒; 元素; 共分布

Element Colocalization in Wheat Seed Revealed by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS)

WANG Yun-Xia^{1,2}, YANG Lian-Xin^{1,*}, and Walter J. HORST²

¹ Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology of Jiangsu Province, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; ² Institute of Plant Nutrition, Leibniz University of Hannover, 30419 Hannover, Germany

Abstract: For enhancement of micronutrient concentrations in edible parts of food crops, element uptake and partition in plants, especially in seeds, should be better understood. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) is a recently developed technology for examining mineral elements distribution in plant tissues. By using this technique, we quantitatively measured distributions of manganese (Mn), copper (Cu), zinc (Zn), and phosphorus (P) in different parts of wheat seeds. The concentrations of Cu, Zn, and P were the highest in aleurone layer and the lowest in endosperm with the difference of 15, 42, and 33 folds, respectively. The Mn concentration was the highest in embryo, which was 9-fold higher than the lowest concentration in endosperm. The concentration gradients of measured elements were also found in same parts of wheat grain. The concentrations of P, Mn, Cu, and Zn in endosperm close to aleurone layer were higher than those in the middle of wheat seed. Similarly, the element concentrations in scutellum were higher than those in embryo axis. The four elements had similar distribution pattern in wheat seed with a clear synchronization. This phenomenon suggested the colocalization of these elements in wheat seeds. Therefore, the translocations and accumulations of P, Mn, Cu, and Zn in wheat seeds might be closely related to each other, and the finding is useful for wheat biofortification programs in the future.

Keywords: Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS); Wheat; Seed; Elements; Colocalization

微量元素缺乏对人类健康构成的威胁已经受到 (即生物强化, biofortification) 或有效性是解决这一全世界的普遍关注^[1-4], 增加主食中微量元素含量 问题的有效方法^[3-4]。尽管前人对微量元素在植物中

本研究由国家自然科学基金项目(31101101, 31171460), 德国研究基金(DFG, HO931/23-1), 江苏高校优势学科建设工程资助项目以及江苏省高校自然科学重大基础研究项目(08KJA210003)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 杨连新, E-mail: lxyang@yzu.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: yxwang@yzu.edu.cn

Received(收稿日期): 2011-07-07; Accepted(接受日期): 2011-10-12; Published online(网络出版日期): 2012-01-04.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20120104.1650.010.html>

的运输进行了大量研究,但迄今为止对元素在植物体内的运输及其在籽粒中的空间分布尚不清楚^[5],其中一个主要瓶颈是研究手段的局限性。对作物食用部分中元素空间分布的常用检测方法有几种:其一是对籽粒不同组织机械分离,但此法只能对种皮、胚和胚乳中元素浓度的差异进行粗略估计^[6];其二是用染色剂对特定元素染色,但这也只能半定量地估测特定元素的浓度和分布^[7];近年来发展了X-射线分析和电子显微镜结合技术,例如同步X-射线荧光(S-XRF)图像^[10]和高分辨率二次离子质谱(SIMS)技术^[11],可对特定元素进行更为精确的定位,但通常难于动态追踪元素的时空分布^[12];最近激光剥蚀电感耦合等离子体质谱(laser ablation-inductively coupled-plasma mass spectrometry, LA-ICP-MS)技术在植物组织微量元素的精确定量上取得了重要突破。该技术通过脉冲激光束与样品相互作用,产生气溶胶被引入等离子体炬中激发、电离,经质谱分析器依据其质核比分离和收集,进而识别并测量未知试样的组分。其主要特点是,任何类型的固体均可作为试样,且极小试样量即可分析(只需几微克);激光直接汽化固态试样避免繁重的化学溶解过程,减少分析过程中的损失和交叉污染的风险;分辨率高(最小分辨率可达2~5 μm),检测极限达 10^{-9} ;定量测定不同元素或同一元素各同位素的空间分布。最重要的是这一方法与稳定同位素的使用相结合,可精确追踪特定时期进入植物体元素的运动轨迹,特别适用于研究籽粒微量元素在植物体内的积累转运机制^[12]。LA-ICP-MS技术是最新开发的一项技术,其在生物强化领域的潜在使用价值刚刚被重视^[13-16],目前国内外利用该技术研究植物种子中元素空间分布的报道非常有限^[2,12,16-17]。

我们通过前期试验,已摸索出一套专门针对小麦种子的LA-ICP-MS测定方法,包括标准样品的制备^[2,12,17]。同时研究发现小麦成熟种子锌浓度的空间分布差异很大,其中糊粉层部位的锌浓度(432 mg kg^{-1} ,最高)是胚乳部位(14 mg kg^{-1} ,最低)的31倍,说明提高胚乳中锌含量(而非籽粒全锌)是解决人类锌缺乏的关键^[17]。但其他元素浓度在籽粒不同部位是否存在类似的差异?不同元素间是否存在共分布(co-localization)特征?其可能机理是什么?这些问题均是生物强化研究领域急待回答的重要科学问题,直接关系到生物强化策略的制定。本试验以成熟小麦籽粒为研究对象,首次利用已建立的LA-ICP-MS技术^[2,12,17]研究金属元素锰(Mn)、铜(Cu)和锌(Zn)和

非金属元素磷(P)在籽粒不同部位的浓度及其共分布特征,旨在为建立主要粮食作物生物强化的有效途径提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

春小麦 *Segetoria* 的种子播种在装满基质(4 L)的 Micherlich 盆中,每盆15株,共4盆,植株生长在玻璃温室中。全生育期总施氮量为每盆1.2 g,于分蘖期、拔节期和抽穗期分3次等量施用,总施钾量为每盆0.8 g,于分蘖期和拔节期分2次等量施用。磷肥施用量为每盆0.2 g,与适量微肥在分蘖中期一次性施用。于小麦成熟期每盆取8个单茎,每个单茎麦穗中间部位的2个代表性籽粒用于LA-ICP-MS测定籽粒元素的分布,其他籽粒经粉碎磨样后用ICP-MS测定小麦种子元素浓度。

1.2 用 LA-ICP-MS 方法测定籽粒中 Mn、Cu、Zn 和 P 的浓度

1.2.1 样品准备 将小麦种子浸泡在去离子水中于4℃过夜后用手动切片机(MT.5530, Euromex Microscopen B.V. Arnhem, Netherlands)制作横切片,用双面胶(Tesa AG, Hamburg, Germany)将其固定在载玻片上,风干24 h后上机分析。

1.2.2 校正标准样品制作 将10 g小麦面粉与10 mL不同浓度的混合元素标准液(由1 000 mg L^{-1} ICP SPEX 标准液稀释而成)混合,60℃下烘干48 h,用振动磨粉机(Puvisette, Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Germany)充分混匀,取50 mg在真空压片机上以2 000 kg的压力加压5 min压成直径为5 mm的薄片标准样。将小麦种子横切片和标准样品同时置激光剥蚀池内(Supercell, New Wave Research, Fremont, CA, USA),在同一实验条件下测定。

1.2.3 LA-ICP-MS 工作参数 UP193 激光系统(UP193 Solid State Laser, UP193 SS)基于193 nm准分子激光器的激光剥蚀平台控制样品的剥蚀进度,具有极高的精确度和机械稳定性。将激光侵蚀的样品通过氩气传输到ICP-MS中进行测定。ICP-MS型号为7500 cx (Agilent Technology, Santa Clara, CA, USA);载气流量Ar 0.25 L min^{-1} ;辅助气流量Ar 1.25 L min^{-1} ;反映模式Off;RF (radio frequency)功率1300 W;激光剥蚀系统为UP193SS, 193 nm (New Wave Research, Fremont, CA, USA);激光脉冲10 Hz;扫描(取样)直径50 μm ;扫描速度20 $\mu\text{m s}^{-1}$;样品表面能量密度2 J cm^{-2} 。测定元素为P、Cu、Zn、Cd

和 ^{13}C , 其中 ^{13}C 作为内标来标准化激光剥蚀进样量。

1.2.4 用 ICP-MS 测定小麦种子和标准样的元素浓度
称取标准样或磨样后的小麦种子样品 0.1 g, 在马弗炉 480 干消化 16 h, 灰化后溶解在 1 mL 1:3 (HNO_3 : H_2O) 的超纯 HNO_3 中, 用 9 mL 去离子水稀释后过滤, 然后用 ICP-MS 测定滤液中各种元素的浓度, 计算籽粒样品中各元素浓度。每个样品 4 次重复。

2 结果与分析

2.1 自制标准样的元素浓度

UP193 激光剥蚀系统随机软件使所有取样和测定过程均可通过电脑操作。图 1-a 显示标准样中已知浓度的各元素信号强度, 包括 P、Mn、Cu 和 Zn; 图 1-b 为扣除各元素信号强度背景值后计算出的 P、Mn、Cu 和 Zn 与 ^{13}C 的比值。 ^{13}C 作为内标以消除质谱随时间的信号强度变化和剥蚀量的差异。根据校正标准样元素浓度和元素与 ^{13}C 的信号强度比值, 得到各元素浓度和对应元素与 ^{13}C 信号强度比值的函数关系, $y_{\text{P}}=0.75x+0.0031$, $R^2=1.0000$; $y_{\text{Mn}}=51.445x+7.1219$, $R^2=0.9996$; $y_{\text{Cu}}=121.87x+0.3701$, $R^2=0.9999$; $y_{\text{Zn}}=559.05x-2.5931$, $R^2=1.0000$ 。其中 y 为元素浓度, x 为对应元素与 ^{13}C 信号强度比值。根据这一关系以及样品中元素与 ^{13}C 的信号强度比值可推算样品的元素浓度。

2.2 籽粒不同部位的元素浓度

将样品放入剥蚀池后, 首先用系统高分辨率成像光学系统对样品表面形貌进行图像采集(图 2-a), 然后即可方便地在图片上选择测定部位。图 2 为小麦籽粒各部位的软件主窗口屏幕截图, 分别代表籽粒横切面(图 2-a)、糊粉层和胚乳(图 2-b)、胚(图 2-c)

和盾片(图 2-d)。激光沿着操作者指定部位(长度 300~500 μm 、宽度 50 μm 的直线, 图 1 中黄线所围区域所示, 下同)自动进行剥蚀取样, 剥蚀样品通过氦气传输到 ICP-MS, 经分析后给出各元素的信号值(CPS, counts per second)。

用 LA-ICP-MS 测定小麦籽粒糊粉层、胚(盾片)和胚乳(图 2)的锌浓度(图 3), 其中每一样品数值为 300~500 μm 扫描路径上的 46~78 个连续测定值的均值, 即每 6.45 μm 获得一个数据。由图 3 可知, P、Mn、Cu 和 Zn 的浓度在糊粉层分别为 16.4、80.9、25.8 和 347.4 mg kg^{-1} , 胚中分别为 8.4、150.1、7.9 和 195.8 mg kg^{-1} , 而胚乳中分别为 0.6、8.7、2.1 和 8.4 mg kg^{-1} 。可见小麦成熟种子中元素的空间分布很不均匀, 主要分布在胚(Mn)或胚乳四周的糊粉层(P、Cu 和 Zn), 而胚乳中的浓度很低。P、Mn、Cu 和 Zn 最高和最低浓度分别相差 33、9、15 和 42 倍。

盾片是籽粒胚外侧连接胚乳的组织(图 2-a, d)。盾片部位 P、Mn、Cu 和 Zn 浓度比胚轴对应元素的浓度分别增加 141% (图 3-a)、83% (图 3-b)、295% (图 3-c)和 12% (图 3-d), 均达显著水平。说明籽粒胚不同位置的元素浓度亦存在较大差异。

2.3 胚乳不同位置的元素浓度

胚乳是小麦籽粒最主要的部位, 一般占籽粒总重的 82.5%。为了解胚乳不同位置元素浓度的空间分布, 进一步测定了腹沟维管组织一侧从外到内的 3 个部位, 即糊粉层、外周胚乳(靠近糊粉层)和内侧胚乳(图 4)。与图 3 结果一致, 糊粉层各元素的浓度均大于胚乳中对应元素的浓度(表 1)。另外, 从胚乳不同位置看, 外周胚乳的元素浓度大于内侧胚乳对应元素的浓度, P、Mn、Cu 和 Zn 分别增加 5%、22%、192%和 176%, 除 P 外, 差异均达显著水平(表 1)。

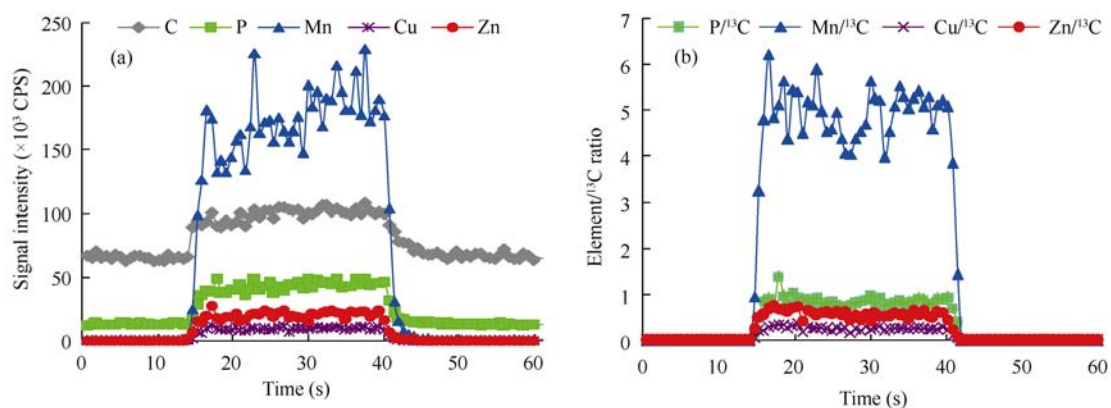


图1 LA-ICP-MS 标准样品中 P、Mn、Cu、Zn 和 ^{13}C 的信号强度(a)与元素与 ^{13}C 的信号比(b)

Fig. 1 Signal intensities of P, Mn, Cu, Zn, and ^{13}C (a) and the ratio of element to ^{13}C (b) of the standard measured by LA-LCP-MS

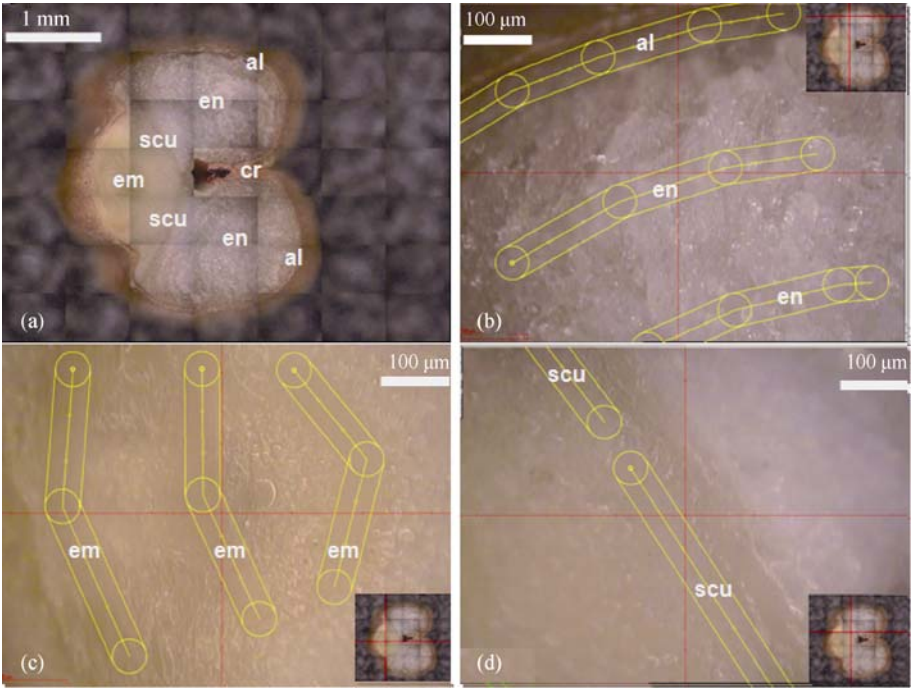


图 2 小麦种子横切面(a)及 LA-ICP-MS 测定部位糊粉层和胚乳(b)、胚(c)和盾片(d)

Fig. 2 Cross section of wheat seed (a) and the localization of aleurone layer and endosperm (b), embryo (c), and scutellum (d) by LA-ICP-MS
al: 糊粉层; en: 胚乳; em: 胚; scu: 盾片; cr: 腹沟维管组织。

al: aleurone layer; en: endosperm; em: embryo; scu: scutellum; cr: crease vascular tissue.

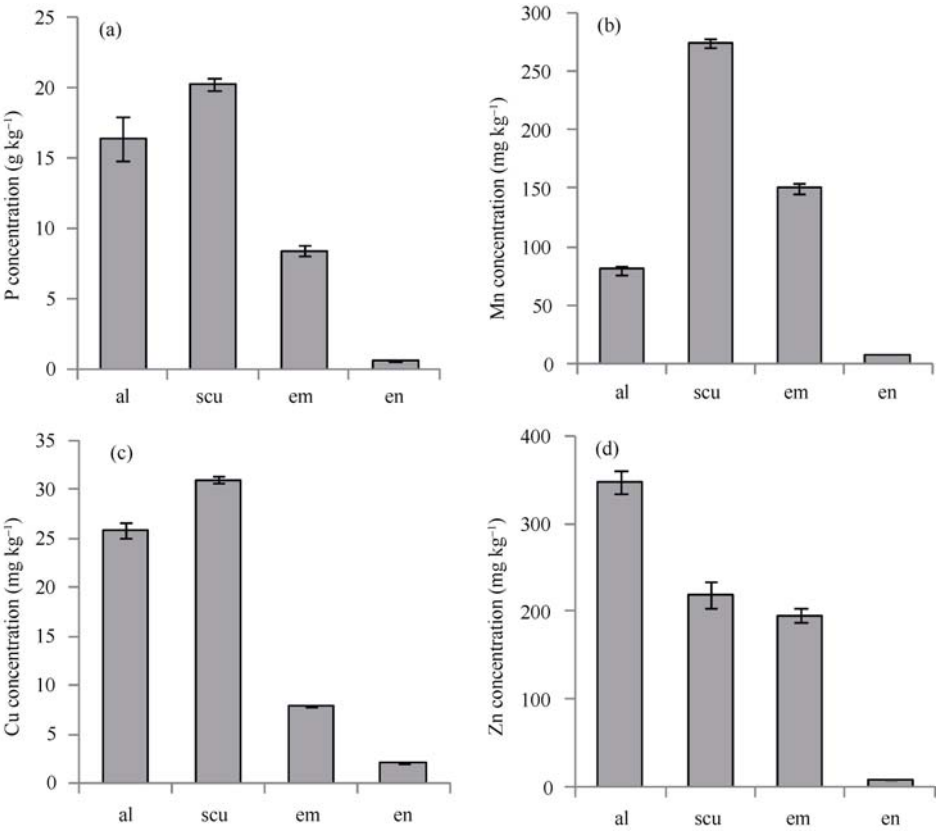


图 3 LA-ICP-MS 测定的小麦籽粒不同部位的元素浓度

Fig. 3 Concentrations of P (a), Mn (b), Cu (c), and Zn (d) in different parts of wheat grains measured by LA-ICP-MS
数据为 3 次重复的平均值±标准误。al: 糊粉层; scu: 盾片; em: 胚; en: 胚乳。

Data are shown as means±SE of three replicates. al: aleurone layer; scu: scutellum; em: embryo; en: endosperm.

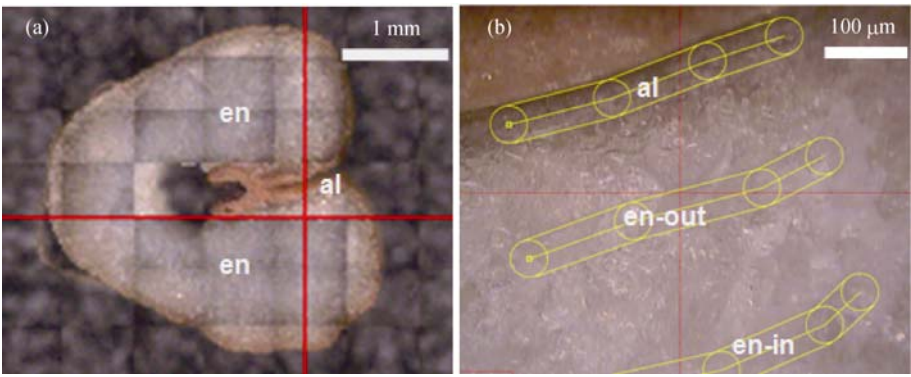


图 4 小麦种子横切面(a)及 LA-ICP-MS 测定的糊粉层及胚乳不同位置(b)
Fig. 4 Cross section of wheat seed (a) and the localization of aleurone layer and endosperm at different positions from the aleurone layer (b)
al: 糊粉层; en: 胚乳; en-out: 籽粒外周胚乳; en-in: 籽粒内侧胚乳。
al: aleurone layer; en: endosperm; en-out: endosperm-out; en-in: endosperm-in.

表 1 IA-ICP-MS 测定的胚乳不同位置的元素浓度
Table 1 Concentrations of elements in endosperm at different positions from the aleurone layer of wheat grains by LA-ICP-MS

部位 Position	P (g kg ⁻¹)	Mn (kg kg ⁻¹)	Cu (kg kg ⁻¹)	Zn (kg kg ⁻¹)
糊粉层 Aleurone layer	17.0±1.61	80.5±5.62	18.9±1.23	252.2±20.73
外周胚乳 Endosperm-out	0.74±0.04	11.9±0.41	5.1±0.41	20.1±1.60
内侧胚乳 Endosperm-in	0.70±0.08	9.8±0.16	1.7±0.11	7.3±0.59

数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误。Data are shown as means ± SE of three replicates.

2.4 元素在籽粒不同部位的共分布

对小麦籽粒的整个横切面连续剥蚀取样, 依次为种皮 糊粉层 胚乳 糊粉层 腹沟维管组织 糊粉层 胚乳 种皮(图 5-a, b)。图 5-c 为 LA-ICP-MS 测定过程中系统屏幕上同步出现的各元素信号强度, 信号大小反映了元素浓度的高低(图 6)。结果进一步证明小麦籽粒糊粉层的元素(P、Mn、Cu 和 Zn)浓度远远大于胚乳中对应元素的浓度(图 5 和图 6)。腹沟维管组织金属元素的浓度明显小于糊粉层中金属元素的浓度, 但大于胚乳中元素的浓度, 不同金属元素含量趋势一致(图 5-c; 图 6-b, c, d)。与金属元素不同, 非金属元素 P 在腹沟维管组织的浓度很低, 与胚乳部位几乎没有差异(图 5-c, 图 6-a)。比较元素的连续分布可清楚地发现, 籽粒不同部位各元素(P、Mn、Cu 和 Zn)浓度的动态变化表现出明显的同步性: 某一元素浓度高的部位其他元素的浓度亦高(图 5 和图 6), 说明本试验所测元素在籽粒中存在明显的共分布特征。

3 讨论

近年来, LA-ICP-MS 测定植物籽粒中元素含量和分布已有几例报道。Meharg 等^[18]利用 LA-ICP-MS 对糙米中 As 的分析表明, As 主要分布于糙米外层,

即果皮和糊粉层区域。LA-ICP-MS 法测定的结果与 S-XRF (synchrotron-based X-ray fluorescence)法得到的结果一致; Wirth 等^[16]利用 LA-ICP-MS 证实转基因(烟酰胺合成酶和铁蛋白)水稻籽粒中 Fe 含量高于野生型水稻籽粒, 并且发现野生型稻米中铁的分布均匀, 而转基因稻米中铁的分布不均匀。测定中发现稻米样品中含铁较高的点很可能是铁蛋白在有限空间积累的结果; Wang 等^[12]利用小麦离体穗培养, 结合稳定同位素 ⁷⁰Zn 的使用, 采用 LA-ICP-MS 技术对小麦籽粒锌浓度的空间分布定量研究发现, 提高锌处理水平, 锌向胚乳中转运的效率降低, 可能与锌进入胚乳的两大障碍有关, 这两大障碍分别位于小穗轴与籽粒连接点以及籽粒腹沟维管组织与胚乳之间; 我们曾采用 LA-ICP-MS 和酸消解溶液雾化进样, 以 ICP-MS 法测定自制校正标准样和小麦整粒种子的锌浓度, 发现这 2 种方法的测定结果很接近且重复间变异较小, 证实 LA-ICP-MS 这一空间分布定量分析方法的可靠性^[17]。但是以上研究均为利用 LA-ICP-MS 对单一元素测定, 还未见同时对多种元素空间分布定量分析的报道。

锌被认为是人类最易缺乏的微量营养物质^[3]。本研究发现, 成熟麦粒锌浓度的空间分布差异非常明显, 糊粉层和胚的锌浓度分别是胚乳锌浓度的 42

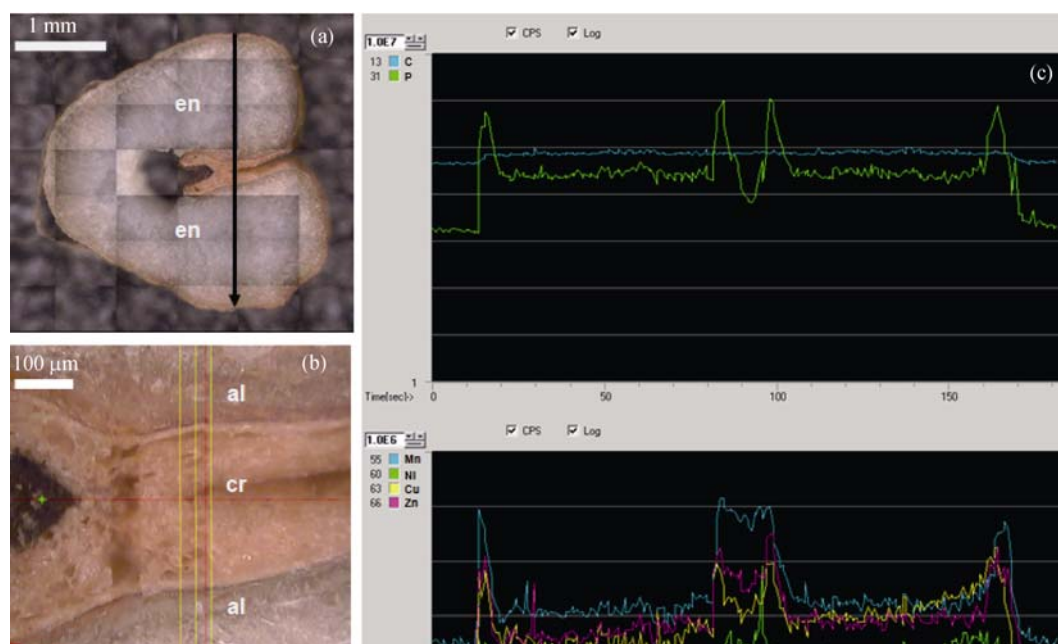


图 5 LA-ICP-MS 测得各元素在小麦籽粒不同部位的信号强度

Fig. 5 Counts per second (CPS) of elements in the different parts of wheat grains

a 为小麦籽粒横切片, 黑色箭头示激光剥蚀取样位置及方向; b 为放大后的腹沟维管组织及周边部位; c 为元素 C 和 P(上图)和金属元素 Mn、Ni、Cu 和 Zn(下图)的信号强度, 为 3 次独立测定的代表。

a: cross section of wheat grain, the laser ablation scanning of the seed cross-section started at the seed coat and moved through the cross-section in the direction of the black arrow; b: enlargement of the laser scanning area of the crease vascular tissue in (a); c: a screen grab of the PC screen saved directly after the LA-ICP-MS analysis, showing signal intensity of C, P (upper) and Mn, Cu, Zn, Ni (down) across the entire cross section. Data in (c) are representative of three independent measurements.

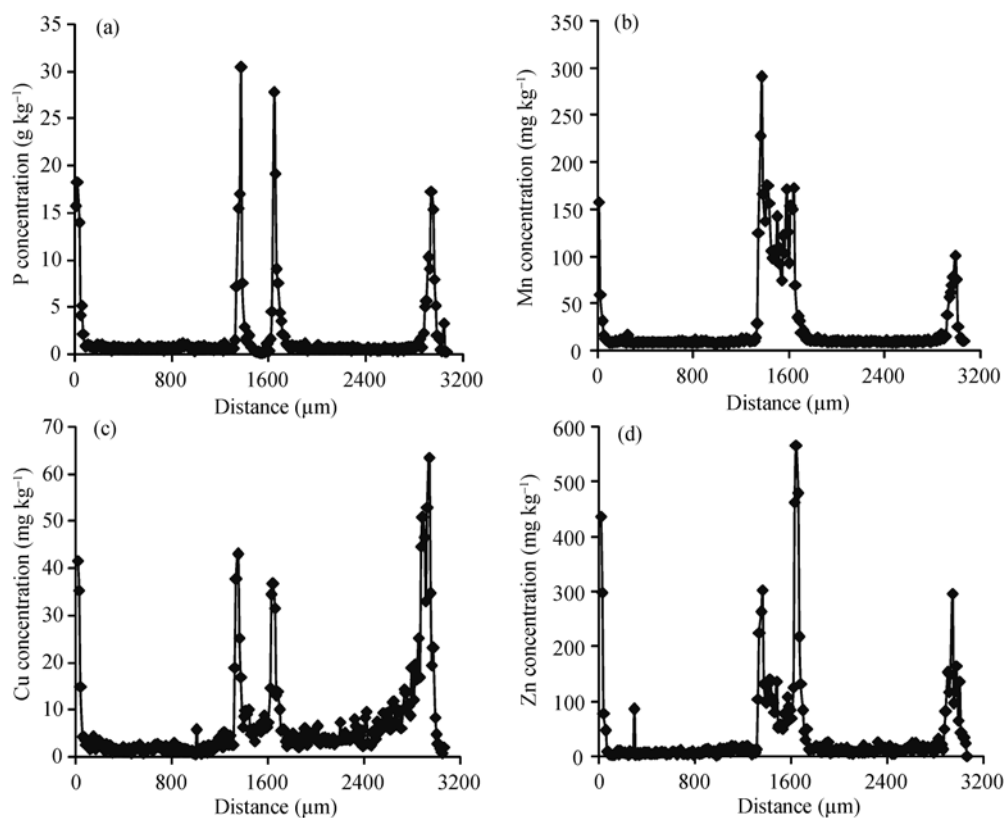


图 6 LA-ICP-MS 测定的小麦籽粒横切面 P(a)、Mn(b)、Cu(c)和 Zn(d)元素浓度的连续分布

Fig. 6 Concentrations of P (a), Mn (b), Cu (c), and Zn (d) along the entire cross section of wheat grains measured by LA-ICP-MS

此图为 3 次独立测定的代表。The images shown are representative of three independent measurements.

倍和23倍(图3-d),这与前报的研究结果基本一致^[17]。研究还发现,其他被测元素亦表现出相似的趋势:均以糊粉层(P和Cu)或胚(Mn)的浓度最高,胚乳的浓度最低,P、Mn和Cu最大浓度差异分别达33、9和15倍(图3-a至c)。与P和Zn相比,Mn和Cu在籽粒中的空间分布差异较小。作物成熟种子盾片的贮藏物质主要为蛋白质和植酸盐^[19],盾片在种子萌发时能形成和分泌出多种水解酶降解胚乳物质,供胚生长之用。相比胚的其他部位(如胚根和胚轴),盾片具有较高的铜锌浓度^[20]。种子糊粉层或胚具有较高微量元素含量的可能原因是这些部位高浓度的肌醇六磷酸和蛋白质行使了矿质元素库的功能^[3]。植物种子糊粉层和胚储藏较高浓度的矿质元素一方面有利于增强种子的生命力,促进种子的发芽,具有重要的生物学意义,但另一方面糊粉层和胚的元素浓度远远高于胚乳对以面食为主食的人群健康构成负面影响。因为通常糊粉层和胚在小麦加工过程中被去除,所以成熟麦粒经精加工之后,为人类直接食用的面粉(胚乳部分)微量元素含量大幅度降低。因此提高胚乳中微量元素含量是解决人类微量元素缺乏的关键^[17]。

籽粒中的植酸(phytic acid)和蛋白质是籽粒磷(P)的主要贮藏化合物。关于植酸与微量元素的关系,前人观点不尽一致。多数研究认为植酸通过与微量元素的螯合降低了食物中微量元素的给性,进而影响人体对微量元素的吸收和利用。但亦有研究发现很多作物突变体的植酸较低但微量元素含量并不低^[21-22],说明种子中的植酸并不一定是微量元素的库。已有文献报道籽粒中蛋白质和锌浓度间存在高度正相关^[3],说明蛋白质也可能是微量元素的库,这为通过施氮调控籽粒锌含量提供了可能^[23-25]。本研究比较分析发现,籽粒不同部位元素P与3个金属元素(Mn、Cu和Zn)的浓度变化存在明显的共分布特征:除腹沟维管组织,籽粒中磷浓度高的部位金属元素浓度也高(图5和图6)。这一结果预示在微量元素生物强化的研究中,可以通过增加蛋白质而不是植酸的方法提高籽粒特别是胚乳中的微量元素。

本研究还发现腹沟维管组织几乎没有P但存在一定浓度的Mn、Cu和Zn(图5和图6),这说明籽粒对大量元素磷进入胚乳的调控与微量元素存在差异。养分进入胚乳的途径为腹部维管束,腹部维管束内侧的珠心突起与胚乳间的部位称为“池”,维管束与胚乳细胞间没有共质体联系^[26]。根据小麦籽粒的解剖特点,来自腹部维管束的养分,必须首先卸

至质外体的“池”,然后通过“池”边的厚壁糊粉层细胞进入胚乳。相比籽粒其他部位,珠心突起的转移细胞中许多金属转运蛋白基因高水平表达^[27],说明转移细胞中的元素通过这些转运蛋白被卸至“池”。各转运蛋白的数量和效率可能是限制相关金属元素进入胚乳的重要因素^[12]。本研究中利用LA-ICP-MS发现腹沟维管组织中高浓度的Mn、Cu、Zn也可能表示金属元素在卸至“池”之前,临时储藏于转移细胞的液泡中。以上结果说明胚乳中较低的金属元素含量是植物自身调节的结果,这一调节机制具有重要的生物学意义。因为对生物细胞而言,过高的浓度将起毒害作用,保持一定的元素浓度才能保证子代的正常发育。

4 结论

利用LA-ICP-MS技术对小麦籽粒中P、Mn、Cu和Zn的分布定量分析发现,其含量差异很大,在糊粉层或胚(包括盾片)的分布远远大于在胚乳中,最大相差40倍以上。各元素在籽粒不同部位的浓度变化存在明显的同步性,表现共分布特征,这一结果为深入探讨生物强化研究中解除元素间共积累的关系,提高有益元素含量,减少有害元素含量奠定了基础。

References

- [1] Cakmak I. Enrichment of fertilizers with zinc: an excellent investment for humanity and crop production in India. *J Trace Elem Med Biol*, 2009, 23: 281–289
- [2] Cakmak I, Pfeiffer W H, McClafferty B. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chem*, 2010, 87: 10–20
- [3] Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant Soil*, 2008, 302: 1–17
- [4] Waters B M, Sankaran R P. Moving micronutrients from the soil to the seeds: genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Plant Sci*, 2011, 180: 562–574
- [5] Ghandilyan A, Vreugdenhil D, Aarts M G M. Progress in the genetic understanding of plant iron and zinc nutrition. *Physiol Plant*, 2006, 126: 407–417
- [6] Bityutskii N P, Magnitskiy S V, Korobeynikova L P, Lukina E I, Soloviova A N, Patsevitch V G, Lapshina I N, Matveeva G V. Distribution of iron, manganese, and zinc in mature grain and their mobilization during germination and early seedling development in maize. *J Plant Nutr*, 2002, 25: 635–653
- [7] Choi E Y, Graham R, Stangoulis J. Semi-quantitative analysis for selecting Fe- and Zn-dense genotypes of staple food crops. *J Food Compos Anal*, 2007, 20: 496–505
- [8] Otegui M S, Capp R, Staehelin L A. Developing seeds of Arabi-

- dopsis* store different minerals in two types of vacuoles and in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell*, 2002, 14: 1311–1327
- [9] Vogel-Mikuš K, Pongrac P, Kump P, Nečemer M, Simčič J, Pelicon P, Budnar M, Povh B, Regvar M. Localisation and quantification of elements within seeds of Cd/Zn hyperaccumulator *Thlaspi praecox* by micro-PIXE. *Environ Pollut*, 2007, 147: 50–59
- [10] Lombi E, Scheckel K G, Pallon J, Carey A M, Zhu Y G, Meharg A A. Speciation and distribution of arsenic and localization of nutrients in rice grains. *New Phytol*, 2009, 184: 193–201
- [11] Moore K L, Schröder M, Lombi E, Zhao F J, McGrath S P, Hawkesford M J, Shewry P R, Grovenor C R M. NanoSIMS analysis of arsenic and selenium in cereal grain. *New Phytol*, 2010, 185: 434–445
- [12] Wang Y X, Specht A, Horst W J. Stable isotope labelling and zinc distribution in grains studied by laser ablation ICP-MS in an ear culture system reveals zinc transport barriers during grain filling in wheat. *New Phytol*, 2011, 189: 428–437
- [13] Becker J S, Dietrich R C, Matusch A, Pozebon D, Dressier V L. Quantitative images of metals in plant tissues measured by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim Acta B*, 2008, 63: 1248–1252
- [14] Wu B, Zoriy M, Chen Y X, Becker J S. Imaging of nutrient elements in the leaves of *Elsholtzia splendens* by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Talanta*, 2009, 78: 132–137
- [15] Shi J, Gras M A, Silk W K. Laser ablation ICP-MS reveals patterns of copper differing from zinc in growth zones of cucumber roots. *Planta*, 2009, 229: 945–954
- [16] Wirth J, Poletti S, Aeschlimann B, Yakandawala N, Drosse B, Osorio S, Tohge T, Fernie A R, Günther D, Gruijssem W, Sautter C. Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin. *Plant Biotechnol J*, 2009, 7: 631–644
- [17] Wang Y-X(王云霞), Yang L-X(杨连新), Horst W J. Quantification and spatial distribution of zinc in wheat grains by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-S). *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 2011, 34(2): 18–22 (in Chinese with English abstract)
- [18] Meharg A, Lombi E, Williams P, Scheckel K, Feldmann J, Raab A, Zhu Y, Islam R. Speciation and localization of arsenic in white and brown rice grains. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 1051–1057
- [19] Xu S-X(徐是雄), Chen Q-R(陈庆让), Ma Z-Y(马正勇). Histochemical studies of scutellum during germination of oat seed by light microscopy and immunofluorescent localization of oat globulin. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1983, 25(6): 505–511 (in Chinese with English abstract)
- [20] Mazzolini A P, Pallaghy C K, Legge G J F. Quantitative microanalysis of Mn, Zn, and other elements in mature wheat seed. *New Phytol*, 1985, 100: 483–509
- [21] Liu J C, Ockenden I, Truax M, Lott J N A. Phytic acid-phosphorus and other nutritionally important mineral nutrient elements in grains of wild-type and low phytic acid (*lpa1-1*) rice. *Seed Sci Res*, 2004, 14: 109–116
- [22] Ren X L, Liu Q L, Fu H W, Wu D X, Shu Q Y. Density alteration of nutrient elements in rice grains of a low phytate mutant. *Food Chem*, 2007, 102: 1400–1406
- [23] Kutman U B, Yildiz B, Ozturk L, Cakmak I. Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. *Cereal Chem*, 2010, 87: 1–9
- [24] Erenoglu E B, Kutman U B, Ceylan Y, Yildiz B, Cakmak I. Improved nitrogen nutrition enhances root uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of zinc (^{65}Zn) in wheat. *New Phytol*, 2011, 189: 438–448
- [25] Shi R L, Zhang Y Q, Chen X P, Sun Q P, Zhang F S, Römhild V, Zou C Q. Influence of long-term nitrogen fertilization on micro-nutrient density in grain of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Cereal Sci*, 2010, 51: 165–170
- [26] Wang Z(王忠), Gu Y-J(顾蕴洁), Li W-F(李卫芳), Chen G(陈刚), Shi H-Y(石火英), Chen X-H(陈秀花). Development of wheat endosperm and pathway of nutrient entering the endosperm. *Acta Agro Sin* (作物学报), 1998, 24(5): 536–543 (in Chinese with English abstract)
- [27] Tauris B, Borg S, Gregersen P L, Holm P B. A roadmap for zinc trafficking in the developing barley grain based on laser capture microdissection and gene expression profiling. *J Exp Bot*, 2009, 60: 1333–1347