

水稻品种间吸收和转运硒特性差异机制研究^{*}

周鑫斌^{1,2†} 于淑惠¹ 赖凡³

(1 西南大学资源环境学院, 重庆 400716)

(2 西南大学土壤多尺度界面过程与调控重庆市重点实验室, 重庆 400716)

(3 西南大学计算机与信息科学学院, 重庆 400716)

摘要 采用溶液培养试验比较了富硒水稻与非富硒水稻对硒的吸收和运输特征, 期望揭示富硒水稻秀水 48 和非富硒水稻丙 9652 籽粒硒累积差异部分生理机制。结果表明, 两品种水稻根部对硒吸收的 K_m 值差异不大, 但富硒水稻秀水 48 的 V_{max} 是非富硒水稻的 1.57 倍, 两品种水稻根系对硒的共质体吸收皆受载体调控。硒吸收时间动力学试验证实秀水 48 茎中硒的浓度和含量在各个处理时间段均要高于丙 9652, 富硒水稻秀水 48 的木质部汁液中硒的浓度大约是非富硒水稻丙 9652 的 2 倍, 在相等蒸腾速率的条件下, 秀水 48 地上部硒含量显著高于丙 9652, 说明两品种水稻向地上部转运硒的能力差异显著, 秀水 48 更易将根中的硒转运到地上部, 高效的转运体系是富硒品种地上部硒含量高的关键所在。富硒水稻具备很强的向地上部转运硒的能力, 部分原因在于其根部木质部对硒的装载能力较强。

关键词 水稻; 硒; 吸收; 转运

中图分类号 S511.3*2

文献标识码 A

硒是人类必需的微量营养元素, 对人类的健康扮演了十分重要的角色^[1]。硒可以通过减少体内氧自由基, 保护有机体免受氧化性损伤^[2-3], 从而提高机体的免疫力。地方流行病如克山病(KSD)、大骨节病(KBD)和部分癌症的发生与人体缺硒密切相关^[4-5], 营养学会推荐每人每日摄取硒量为 50 ~ 200 μg ^[4]。我国土壤缺硒面积较大, 约有 72% 的地区土壤处于缺硒和低硒状态^[6]。水稻是我国主要粮食作物和主食, 提高水稻籽粒硒含量被认为改善我国人体膳食硒营养的主要途径^[7]。最理想的策略是筛选和培育籽粒富硒水稻品种, 增加水稻可食部分硒含量^[8]。不同水稻品种籽粒硒含量存在较大差异, 富硒水稻品种秀水 48 籽粒硒含量是非富硒品种丙 9652 的 3 倍^[9]。到目前为止, 两品种水稻吸收和转运硒特性差异机制还非常薄弱。探明两品种水稻根部对硒的吸收和硒经木质部装载运输到茎的两个生理过程的差异, 有助于进一步阐明水稻籽粒硒累积差异的生理机理, 这对提高水稻籽粒

硒含量具有非常重要的理论及现实意义。

1 材料与方法

1.1 植物材料与生长条件

试验采用富硒水稻品种秀水 48 和非富硒水稻品种丙 9652 作为试验材料, 前期研究结果表明两者籽粒硒含量相差 3 倍^[9]。试验在西南大学植物生长室内进行(白天光照时间 14 h, 光强度 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 白天/夜晚温度 25 $^{\circ}\text{C}$ /20 $^{\circ}\text{C}$)。水稻幼苗的培养参考 Zhou 的方法^[10]。营养液每 3 天更换一次, 每个试验至少重复 3 次。

1.2 水稻对硒吸收动力学试验

水稻的硒吸收试验使用的 20 d 龄的水稻幼苗, 在吸收试验之前, 将 20 d 龄的水稻幼苗转移到含有 0.5 mmol L^{-1} CaCl_2 和 2 mmol L^{-1} MES 的营养液中 (pH 5.6) 24 h。吸收试验在光照开始后的 2 h 开始。用含有 0.5 mmol L^{-1} CaCl_2 和 2 mmol L^{-1} MES

* 国家自然科学基金项目(31101610; 31372141)、中央高校基本科研业务费专项资金项目(XDJK2013B045)、土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放基金重点课题(0812000030, Y052010014)资助

† 通讯作者, E-mail: zxbissas@swu.edu.cn

作者简介: 周鑫斌(1978—), 男, 博士, 副教授, 主要从事植物硒营养生理研究。E-mail: zxbissas@163.com

收稿日期: 2013-11-24; 收到修改稿日期: 2014-01-26

(pH 5.6) 并添加 $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ Se (亚硒酸盐) 作为吸收营养液。

硒吸收浓度动力学试验, 两品种水稻幼苗分别放入含有 100 ml 不含硫的营养液 ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$ KH_2PO_4 , $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 和 $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ MgCl_2 , pH 5.5) 中 1 h, 然后转移至 100 ml 吸收溶液的塑料器皿中, 并给吸收溶液不断地充气。吸收溶液含有不同的亚硒酸盐的浓度 (0、10、20、30、60、80、100、150、200、250、300、350、400、450、500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Na_2SeO_3 , pH 5.5)。每种浓度 3 次重复。用蒸馏水弥补器皿蒸腾损失, 为保持吸收溶液中硒浓度的一致性, 吸收溶液每隔 30 min 更换一次。水稻幼苗处理 10 h 后移除, 依次用自来水和去离子水冲洗干净, 放入含有 2 mmol L^{-1} 的 Mes-Tris 和 5 mmol L^{-1} CaCl_2 (pH 5.8) 的洗脱液中冰浴 30 min, 然后 75°C 烘干, 称重, 测定根和茎中硒含量, 水稻样品硒的硝化和测定采用 Zhang 等的方法^[11], 消化后的样品用 AF-610A 原子荧光光谱仪测定 (下同), 植株以国家标准物质茶叶 (GWB07605) 作为内标, 测定回收率为 $(98.6 \pm 5)\%$ 。

1.3 蒸腾抑制剂对硒的吸收

水稻预培养两周后, 将水稻放入含有 $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ 脱落酸 (ABA) 的溶液中 1 h, 随后放入含有 $2.89 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($\text{Se } 500 \mu\text{g L}^{-1}$) Na_2SeO_3 溶液中培养 6 h, 蒸腾速率的测定方法依据 Greger 和 Johansson 的方法^[12]。

1.4 木质部中装载硒的浓度动力学特征

预培养两周后的水稻幼苗, 将其放入含有不同浓度硒溶液中 ($\text{Se } 0 \sim 100 \mu\text{g L}^{-1}$), 10 h 后收集木质部液, 测定木质部液硒含量^[13]、茎和根硒含量, 每次处理 3 次重复。

1.5 土壤培养试验

土壤培养试验在自然光的温室大棚中进行。种子催芽后, 水稻幼苗生长在石英砂中 20 d, 待水稻幼苗生长到约 15 cm 左右开始移栽。盆栽试验所用土壤采自紫色土肥力和肥料效益国家监测基地的表层紫色土 (0 ~ 15 cm), 土壤施硒 1 mg kg^{-1} , 土壤 pH 5.24, 有机质 18.78 g kg^{-1} , 碱解氮 87.6 mg kg^{-1} , 有效磷 37.8 mg kg^{-1} , 速效钾 112 mg kg^{-1} , 试验结束后, 分根、茎、叶、稻壳、糙米分别取样, 分别测定硒含量。

1.6 统计分析

用 Excel 2003 和 SPSS 18.0 软件进行统计分析及绘图, 采用 Duncan 统计方法进行显著性分析。

2 结果

2.1 两品种水稻对硒的吸收动力学特征参数

利用 Michaelis-Menten 方程拟合两品种水稻硒吸收动力学曲线 ($R^2 > 0.98$), 计算出两水稻品种的 V_{max} 和 K_m 的值 (如表 1), 秀水 48 的 V_{max} 值显著高于丙 9652, V_{max} 表示吸收所能达到的最大速率, 值越大表示吸收的内在潜力越大。两品种水稻的 K_m 值差异不显著, K_m 表示根系对所吸收离子的亲和能力, 越小表示根系对离子的亲和能越大, 秀水 48 的 K_m 值小于丙 9652。以上说明富硒品种秀水 48 达到饱和吸收的硒浓度显著高于丙 9652, 秀水 48 根部存在着高效的硒转运体系, 秀水 48 根系硒吸收能力显著强于丙 9652。

表 1 富硒水稻秀水 48 和非富硒水稻丙 9652 根系硒吸收特征参数

Table 1 Parameters of Se absorption by roots of Se-enriching rice 'Xiushui 48' and Se-ordinary rice 'Bing 9652'

水稻品种 Rice cultivars	V_{max} ($\text{nmol}^{-1} \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$, FW)	K_m ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
秀水 48 Xiushui 48	294.3 a	1.915 a
丙 9652 Bing 9652	186.8 b	2.040 a

注: 同一列中不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平, 下同
Note: Different lowercase letters in the same column represent significant difference at $p < 0.05$

2.2 茎中积累硒的时间过程分析

两种水稻品种从根部到茎中的迁移转化规律如图 1a 所示, 两品种水稻茎中硒的累积量随着处理时间的增加而增加, 秀水 48 茎中硒的累积量在处理时间段均要高于丙 9652。秀水 48 茎中硒累积量是丙 9652 的 1.25 倍 ~ 1.82 倍。图 1b 表示秀水 48 茎根硒总量比是丙 9652 的 1.37 倍 ~ 1.86 倍, 说明秀水 48 对硒从根部到茎中的转移和累积能力要显著强于丙 9652。

2.3 木质部中装载硒的分析

两品种水稻茎中硒含量随着培养液中硒浓度的增加而逐渐增加, 秀水 48 增加的幅度大于丙 9652。两品种水稻木质部汁液中硒的含量与茎中硒的含量呈显著的正相关关系 ($r = 0.99, p < 0.01$), 这些结果说明茎中硒的积累与木质部的硒装载能力有很大的关系 (图 2 a, 图 2b)。

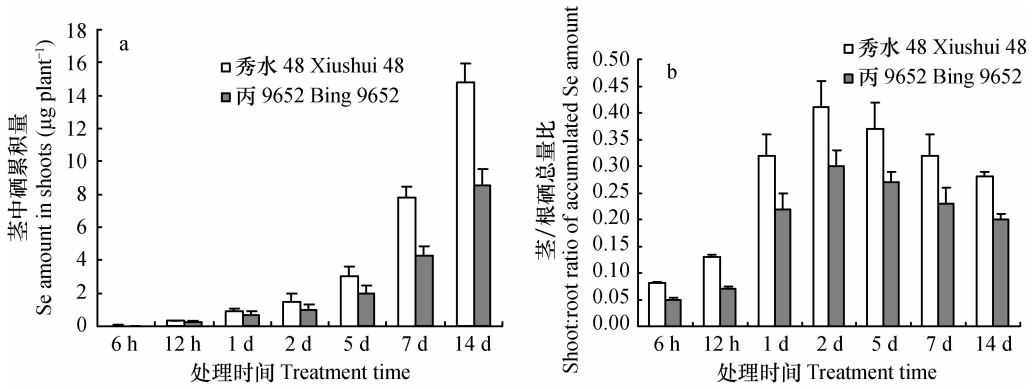


图 1 水稻地上部积累硒的时间过程分析 (a 为茎中硒积累量; b 为水稻茎根总硒量比)

Fig. 1 Time-course analysis of Se accumulation into shoots: (a Se accumulation in shoots; b Shoot/root ratio in Se accumulation)

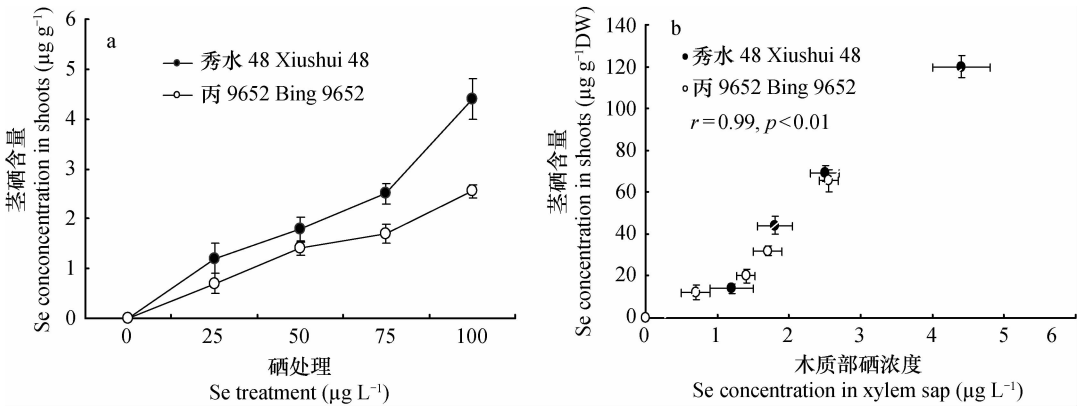


图 2 两品种水稻硒从根到茎转运的浓度效应分析 (a 茎中硒含量; b 茎中木质部液硒含量与茎硒含量的相关性分析)

Fig. 2 Dose-dependence analysis of root-to-shoot translocation of Se in two rice cultivar (a Se concentration in shoots; b Relationship between Se concentrations in xylem sap and in shoots)

2.4 脱落酸 (ABA) 处理对水稻硒从根到茎迁移的影响

在正常和加硒处理条件下,秀水 48 的蒸腾速率要显著高于丙 9652,加硒不影响水稻蒸腾速率。喷施脱落酸(ABA)可以显著抑制蒸腾作用,抑制了

硒从根向茎中的转移的蒸腾拉力,脱落酸处理后,秀水 48 蒸腾速率减少了 76%,丙 9652 减少了 64.71%,ABA 处理后两品种水稻的蒸腾速率几乎相等(图 3a)。

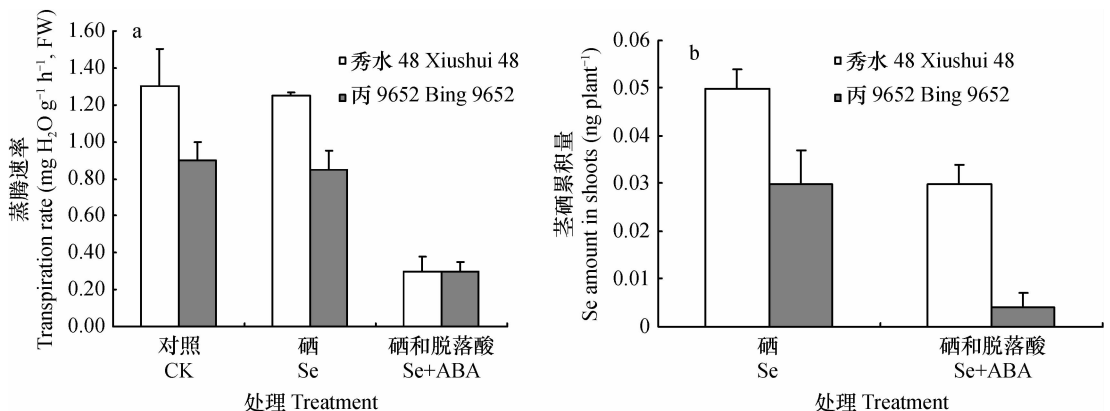


图 3 两品种水稻蒸腾速率(a)及 ABA 处理对茎硒累积(b)的影响

Fig. 3 Transpiration rates of the two rice cultivars (a) and effect of ABA treatment on Se accumulation (b) in their shoots

ABA 处理减少了硒在茎中的积累,两品种水稻地上部硒含量均显著下降(图 3b)。换言之 ABA 处理后虽然两品种水稻的蒸腾速率一致,但是富硒水稻秀水 48 地上部累积的硒量仍然高于非富硒水稻丙 9652,是丙 9652 的 7.5 倍。即蒸腾作用不是造成富硒水稻地上部硒含量高的主要原因。

2.5 土壤培养实验中的硒在籽粒和木质部汁液中的积累

如表 2 所示,两种水稻品种在土壤培养实验中根、茎、叶、籽粒和木质部汁液中的硒的浓度。地上部组织硒的浓度包括茎、叶、糙米和稻穗,秀水 48 都要高于丙 9652,是丙 9652 的 1.19 倍~1.52 倍,木质部汁液中硒在秀水 48 中是丙 9652 的 2.33 倍。秀水 48 根中硒的浓度要略低于丙 9652,可能秀水 48 根中的硒更容易转运出去。

表 2 两品种水稻根、地上部及木质部液硒含量

Table 2 Se concentrations in shoot, root ($\mu\text{g g}^{-1}\text{DW}$) and xylem sap ($\mu\text{g L}^{-1}$) of the two rice cultivars in the experiment

水稻不同部位 Different tissues of rice	品种 Cultivar		比率 Ratio
	秀水 48 Xiushui 48	丙 9652 Bing 9652	秀水 48/丙 9652 Xiushui 48/Bing 9652
糙米 Brown rice	4.50	1.30	3.46
稻穗 Spikelets	3.80	2.50	1.52
叶 Leaf	3.50	2.50	1.40
茎 Stems	0.89	0.75	1.19
木质部汁液 Xylem sap	20.30	8.70	2.33
根 Roots	12.40	13.5	0.92

3 讨论

本文以两个代表性水稻品种富硒水稻秀水 48 和非富硒水稻丙 9652 为研究对象,主要从水稻根对硒的吸收和木质部装载运输硒到茎中两个步骤来阐明造成水稻籽粒硒含量差异的部分生理机制。水稻根系对亚硒酸盐的吸收主要受载体蛋白调控。Zhao 等证实,水稻亚硒酸盐的吸收主要受硅转运子 OsNIP 2;1 调控,缺失硅转运子 OsNIP 2;1 导致水稻茎和木质部液硒含量显著下降^[14]。富硒与非富硒水稻的动力学参数 K_m 差异不大,说明两者根系质膜上硒的运输系统类似,硅转运子 OsNIP 2;1 对硒的亲合力相近。而富硒水稻品种 V_{\max} 值是非富硒水稻的 1.58 倍,这表明秀水 48 根系质膜上硒的相应运

输载体数量较多或活性较强,这很可能是富硒水稻籽粒硒含量较高的机理之一。

尽管富硒水稻根系 V_{\max} 值显著高于非富硒水稻,前者是后者的 1.58 倍,但也不足以解释富硒水稻秀水 48 的木质部汁液中硒的浓度大约是非富硒水稻丙 9652 的 2 倍。根系吸收的硒通过木质部运输到植物的其他部分^[15]。两品种水稻向地上部转运硒的能力存在着显著差异(图 1a 和图 1b)。秀水 48 茎中硒累积速率显著大于丙 9652,两品种水稻木质部汁液中硒的含量与茎中硒的含量呈显著的正相关关系,这些结果说明茎中硒的积累与木质部的硒装载能力有很大的关系(图 2 a 和图 2b)。这些结果表明在两品种水稻中存在着不同的木质部装载调控体系。随着培养液硒浓度升高,水稻木质部汁液中硒含量显著升高也进一步证实了上述结论。Li 等^[16]与 Zhang 等^[17]曾报道,植物供给亚硒酸盐在根部很快转化成有机硒的形态通过木质部向地上部转运。木质部装载过程的快慢直接关系到硒元素的长距离运输效率,富硒水稻秀水 48 可以高效快速地将硒从根系通过木质部运输到地上部是其重要特征。

在土培试验也显示,富硒水稻秀水 48 木质部液硒含量是丙 9652 的 2.33 倍,富硒水稻具备很强的向上转运硒的能力,秀水 48 地上部各部位硒含量均高于丙 9652,而秀水 48 根中硒的含量则低于丙 9652。这也从另一个侧面印证了我们以前的试验结果,秀水 48 可以将吸收进入根中的硒较多的向地上部分分配^[18]。富硒品种根部到木质部硒的装载和运输能力显著高于非富硒品种。导致了在木质部汁液硒含量和各营养和生殖器官中硒的含量均高于非富硒品种,富硒水稻根对硒的吸收能力强和木质部装载能力强是导致籽粒硒含量高的的重要原因。

4 结论

秀水 48 和丙 9652 两品种水稻根部对硒吸收的 K_m 值差异不大,但富硒水稻秀水 48 的 V_{\max} 是非富硒水稻的 1.57 倍,说明富硒水稻根系质膜上硒的相应运输载体数量较多或活性较强,秀水 48 根系载体蛋白对硒的运输能力较强。在等蒸腾速率的条件下,秀水 48 地上部硒含量显著高于丙 9652,这说明两品种水稻向地上部转运硒的能力差异显著,富硒水稻具备很强的向地上部转运硒的能力,部分

原因在于其根部木质部对硒的装载能力较强,高效的转运体系是富硒品种地上部硒含量高的关键所在,秀水 48 可以将吸收进入根中的硒较多的向地上部营养器官和生殖器官分配。

参 考 文 献

- [1] Zayed A, Lytle C M, Terry N. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*, 1998, 206(2):284—292
- [2] Stadtman T C. Selenium-dependent enzymes. *Annual Review Biochemistry*, 1980, 49:93—110
- [3] Combs G F Jr. Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: The case for selenium. *Biofactors*, 2000, 12(1/4):39—43
- [4] Rayman M P. The importance of selenium to human health. *Lancet*, 2000, 356(9225):233—241
- [5] Duffield-Lillico A J, Reid M E, Turnbull B W, et al. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: A summary report of the nutritional prevention of cancer Trial. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 2002, 11(7):630—639
- [6] Cao Z H, Wang X C, Yao D H, et al. Selenium geochemistry of paddy soils in Yangtze River Delta. *Environment International*, 2001, 26(5/6):335—339
- [7] Liu Q, Wang D J, Jiang X J, et al. Effects of the interactions between selenium and phosphorus on the growth and selenium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26(2/3):325—330
- [8] Yang X E, Chen W R, Feng Y. Improving human micronutrient nutrition through biofortification in the soil-plant system: China as a case study. *Environmental Geochemistry and Health*, 2007, 29(5):413—428
- [9] 周鑫斌, 施卫明, 杨林章. 富硒与非富硒水稻品种对硒的吸

- 收分配的差异及机理. *土壤*, 2007, 39(5):731—736. Zhou X B, Shi W M, Yang L Z. Genotypical differences and characteristics of Se uptake and accumulation in rice (In Chinese). *Soils*, 2007, 39(5):731—736
- [10] Zhou X B, Shi W M, Zhang L H. Iron plaque outside roots affects selenite uptake by rice seedlings (*Oryza sativa* L.) grown in solution culture. *Plant and Soil*, 2007, 290(1/2):17—28
- [11] Zhang L H, Shi W M, Wang X C. Difference in selenite absorption between high- and low-selenium rice cultivars and its mechanism. *Plant and Soil*, 2006, 282(1):183—193
- [12] Greger M, Johansson M. Cadmium effects on leaf transpiration of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiologia Plantarum*, 1992, 86:465—473
- [13] Zhou X B, Shi W M. Effect of root surface iron plaque on Se translocation and uptake by Fe-deficient rice. *Pedosphere*, 2007, 17(5):580—587
- [14] Zhao X Q, Mitani N, Yamaji N, et al. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiology*, 2010, 153(4):1871—1877
- [15] Sun G X, Liu X, Williams P N, et al. Distribution and translocation of selenium from soil to grain and its speciation in paddy rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science and Technology*, 2010, 44:6706—6711
- [16] Li H F, McGrath S P, Zhao F J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 2008, 178:92—102
- [17] Zhang L H, Shi W M, Wang X C. Difference in selenium accumulation in shoots of two rice cultivars. *Pedosphere*, 2006, 16(5):646—653
- [18] 周鑫斌, 施卫明, 杨林章. 水稻子粒硒累积机制研究. *植物营养与肥料学报*, 2008, 14(3):503—507. Zhou X B, Shi W M, Yang L Z. Study on mechanisms of selenium accumulation in rice grains (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2008, 14(3):503—507

MECHANISMS OF DIFFERENCES IN SELENIUM ABSORPTION AND TRANSPORT BETWEEN RICE PLANTS DIFFERENT IN CULTIVAR

Zhou Xinbin^{1,2†} Yu Shuhui¹ Lai Fan³

(1 College of Resource and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China)

(2 Chongqing Key Laboratory of Soil Multi-scale Interfacial Process, Southwest University, Chongqing 400716, China)

(3 College of Computer and Information Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract A hydroponic experiment was carried out to compare Se-enriching rice ‘Xiushui 48’ with Se ordinary rice ‘Bing 9652’ in Se absorption and Se transport, in expectation of revealing physiological mechanisms of the difference between the two rice cultivars in selenium accumulation in grains. Results show that the two cultivars did not differ much in K_m of Se absorption by roots, but Xiushui 48 was 1.57 times as high as Bing 9652 in V_{max} . The absorption of Se symplast by roots of the two rice plants was dependent on carrier. Selenium absorption time dynamics tests demonstrate that selenium concentration and content in stems of Xiushui 48 was higher than that of Bing 9652 in all the treatments and all the time,

and selenium concentration in the xylem sap of Xiushui 48 was about twice as high as that of Bing 9652. The same in transpiration rate, Xiushui 48 was significantly higher than Bing 9652 in Se content in shoot, which indicates that the two cultivars varies sharply in capacity of transport Se to shoots, that Xiushui 48 can transport Se from roots to shoots more easily, and that efficient transport system is the key to high Se content in shoots of Se enriching rice. Se enriching rice is highly capable of transporting selenium to shoots, partly because of the strong Se carrying capacity of its root xylem.

Key words Rice; Selenium; Absorption; Transport

(责任编辑:汪枳生)