

DOI: 10.11766/trxb201805110096

# 不同施硒方式对水稻硒利用效率的影响\*

张城铭 周鑫斌<sup>†</sup>

(西南大学资源环境学院, 重庆 400716)

**摘要** 采用盆栽试验方法, 研究土壤施硒和叶面喷硒两种施硒方式(均为硒酸钠形态)对水稻籽粒硒生物强化以及营养品质的影响机制。结果表明: 等量施硒条件下, 土壤施硒和叶面施硒两种方式均能显著提高水稻地上部和籽粒硒含量, 土壤施硒水稻地上部和籽粒硒含量分别为叶面喷硒处理的 8.9 倍和 5.3 倍, 说明在等量施硒条件下土壤施硒较叶面施硒更能有效提高籽粒硒含量。叶面喷硒处理的籽粒硒分配系数为土壤施硒的 2 倍, 说明硒通过叶片向籽粒转运速率较通过根系到籽粒的转运速率更快。土壤施硒能够显著提高籽粒中镁、硫、铁、锰和锌等矿质营养元素含量。相比对照组, 土壤施硒和叶面喷硒的水稻籽粒粗蛋白分别提高 8% 和 4.5%, 丝氨酸和酪氨酸含量说明施硒能够提高水稻营养品质, 以土壤施硒效果更佳。

**关键词** 水稻; 土壤施硒; 叶面喷施; 生物强化; 营养品质

**中图分类号** S143.7<sup>†1</sup> **文献标识码** A

硒 (Se) 是一种对人体健康至关重要的微量元素, 主要以硒蛋白形式在体内发挥多种抗氧化功能, 修复 DNA 损伤, 提高免疫力, 降低罹患癌症的风险<sup>[1]</sup>。然而我国大约 72% 的土壤存在不同程度的缺硒或低硒, 人均日硒摄入量为  $26.5 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ , 部分地区甚至低于  $10 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ , 达不到中国营养学会推荐的  $50 \sim 200 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ <sup>[2]</sup>, 造成了潜在的健康风险。硒生物强化是一种将无机硒通过作物吸收代谢转化为有机硒积累至可食部分的策略<sup>[3]</sup>。水稻是我国的主食, 通过施用硒肥提高水稻籽粒硒含量对人们的健康具有重要意义。

水稻硒的农艺生物强化手段一般包括土壤施硒和叶面喷硒两种方式。研究表明, 以上两种施硒方式均能有效提高水稻籽粒硒积累<sup>[4-5]</sup>, 但其硒吸收转运途径却不尽相同: 土壤施硒一般经过三个阶段, 首先被水稻根部吸收, 再转运至地上部和叶

中, 最后再由叶分配至籽粒中<sup>[6-7]</sup>; 叶面喷硒则由叶片直接转运至籽粒。两种不同施硒方式硒转运途径的不同对水稻籽粒硒生物强化效率影响是否存在差异, 哪一种途径效率更高尚不清楚, 这严重制约着人们选择合适的提高水稻籽粒硒含量的生物强化方法。此外, 硒进入水稻根内之后很快代谢成多种含硒氨基酸<sup>[8]</sup>, 硒和硫具有相似化学性质, 硒甚至会取代一些含硫氨基酸中硫的位置, 形成诸如硒代氨基酸等其他氨基酸和蛋白质<sup>[9]</sup>, 可能对稻米营养品质有一定影响, 但两种施硒方式对稻米营养品质效应的比较研究尚未见报道。为此, 本实验在等量施硒的条件下, 分别进行水稻叶面喷硒和土壤施硒, 比较两种不同施硒方式对水稻籽粒硒生物强化效应和营养品质的影响。这对于有效调控水稻籽粒硒生物强化, 进而满足人体硒营养健康具有重要的理论和实践意义。

\* 国家自然科学基金项目 (31672238) 和重庆市基础科学与前沿技术研究 (cstc2017jcyjAX0425) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31672238) and the Program of Basic Research and Frontier Technology of Chongqing in China (No. cstc2017jcyjAX0425)

<sup>†</sup> 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zxbissas@163.com

作者简介: 张城铭 (1992—), 男, 四川遂宁人, 硕士研究生, 主要从事植物硒营养生理研究。E-mail: zhangcm1992@outlook.com

收稿日期: 2018-05-11; 收到修改稿日期: 2018-08-20; 优先数字出版日期 (www.cnki.net): 2018-09-19

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试水稻品种为重庆高产水稻宜香优2115。供试土壤采自重庆市北碚区西南大学紫色土地，采用多点取样法采集0~20 cm表层土，土壤类型为中生代侏罗系沙溪庙组灰棕紫色沙泥岩母质上发育的中性紫色水稻土（潜育水耕人为土），其基本理化性质如下：pH 6.5，有机质13.45 g·kg<sup>-1</sup>，碱解氮28.16 mg·kg<sup>-1</sup>，有效磷10.23 mg·kg<sup>-1</sup>，速效钾101.2 mg·kg<sup>-1</sup>，有效硫3.10 mg·kg<sup>-1</sup>，全铁29.1 g·kg<sup>-1</sup>，全铝8.1 g·kg<sup>-1</sup>，全硒0.23 μg·kg<sup>-1</sup>，有效硒16.0 μg·kg<sup>-1</sup>，阳离子交换量18.5 cmol·kg<sup>-1</sup>。供试土壤经自然风干后磨碎过1 mm筛，充分混匀用于盆栽试验。

### 1.2 试验方法

试验在西南大学资源环境学院植物营养学植物培养室内进行（白天光照时间14 h，光强度260~350 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>，白天温度28℃，夜晚温度20℃，相对湿度60%~70%）。采用盆栽试验，聚乙烯塑料盆尺寸为直径30 cm、高50 cm，每盆装入供试土壤5.26 kg，与基肥（N 0.15 g·kg<sup>-1</sup>，P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 0.1 g·kg<sup>-1</sup>，K<sub>2</sub>O 0.15 g·kg<sup>-1</sup>，分别以尿素、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和KCl作为肥源）反复混匀，试验期间加去离子水保持土壤淹水（2~3 cm）至水稻收获。试验以不施硒肥为对照，设土壤施硒和叶面喷硒两种施硒方式，两种方式的施硒总量是相同的：通过人工加入硒酸钠（Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>）的方法，于水稻幼苗移栽前每千克供试土壤添加0.75 mg硒与基肥充分混合施入，该硒浓度不会对水稻生长产生毒害作用<sup>[4]</sup>。叶面喷硒方法于水稻扬花期（此时叶片发育成熟）使用聚乙烯塑料布包裹水稻的办法来喷硒，分三次喷施含硒浓度为50 μmol·L<sup>-1</sup>的溶液共1 L，每三天均匀喷施一次，喷施时间为早上八点至九点；喷施时添加表面活性剂有利于增加硒在水稻叶面上的润湿、黏附与渗透，表面活性剂选择脂肪醇聚氧乙烯醚，浓度为0.3 mmol·L<sup>-1</sup>；叶面喷施所用硒肥同为硒酸钠（Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>），叶面喷施的硒浓度对水稻生长也无不利影响<sup>[5]</sup>，同时用1 L去离子水按相同方法叶面涂抹土壤施硒处理和对照处理的水稻，每个处理重复5次。水稻种子经10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>（v/v）表面消毒15 min后用去离子水彻底洗净，于不

透光培养盆中催芽24 h，种子露白后移至酸洗后的石英砂（保持湿润）中育苗，7 d后移栽。每桶移栽2~4株生长情况一致的幼苗（最终保留2株）。

### 1.3 试验测定与质量控制

水稻成熟期收获水稻植株，将其按不同的器官（根、茎和籽粒）进行分离，并用去离子水冲洗干净后烘干、磨碎，保存于密封塑料袋用于生物量及化学测定。所有玻璃器皿均于10%稀盐酸溶液中浸泡过夜，用去离子水洗净后烘干使用。

植株总硒的测定：植株样品经电热炉加混合酸（HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>=4:1）消化后，用原子荧光光谱法（AFS，AFS-920，北京吉天仪器有限公司）测定溶液中的Se含量<sup>[10]</sup>。

植株总氮和总磷的测定：植株样品经混合酸（H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HClO<sub>4</sub>）消化后，总氮采用半微量凯氏定氮法测定，总磷采用钒钼黄比色法测定<sup>[11]</sup>。

植株镁（Mg）、铁（Fe）、锰（Mn）、锌（Zn）和硫（S）的测定：植株样品消化处理同总硒的测定。四种金属元素（Mg、Fe、Mn、Zn）采用原子吸收分光光度法测定；S的测定取滤液20 mL加入1粒搅拌籽后置于电磁搅拌器上依次加入1:1 HCl 1 mL、无水乙醇5 mL，0.5%阿拉伯胶100℃水溶液后搅匀，加入1 mol·L<sup>-1</sup> BaCl<sub>2</sub>溶液5 mL后准确搅拌1 min后取下，于分光光度计波长420 nm下测定<sup>[11]</sup>。

植株硼（B）的测定：植株样品于瓷坩埚经马福炉灰化后，冷却后准确加入1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 10 mL，水浴加热10 min后用热纯水转移定容100 mL，用电感耦合等离子体原子发射光谱法（ICP-AES，Optima 2000，Perkin Elmer Co，Waltham，MA，美国）测定<sup>[11]</sup>。

为验证消化过程和随后分析的准确性和精度，标样（GBW07605，中国标准物质研究中心）和空白与样品同时消化，以确保消煮后计算回收率<sup>[12]</sup>。

水稻籽粒硒形态的测定：准确称取磨碎水稻籽粒0.200 0 g于离心管中，加入蛋白酶K 20 mg，脂肪酶Ⅶ 10 mg，30 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl（三羟甲基氨基甲烷盐酸）缓冲液（pH 7.5）5 mL，置于37℃恒温摇床中24 h，遮光，摇床设置60 r·min<sup>-1</sup>。后移至离心机中离心30 min，离心机设置3 000 r·min<sup>-1</sup>，上清液过0.22 μm滤膜，滤液采用高效

液相色谱-电感耦合等离子体质谱仪 (HPLC-ICP-MS, NexION300X, 美国) 联合测定法测定硒的五种形态: 硒代蛋氨酸 (SeMet)、甲基硒代半胱氨酸 (MeSeCys)、硒代半胱氨酸 (SeCys)、硒酸钠 (SeVI) 和亚硒酸钠 (SeIV) [6]。

水稻籽粒营养品质的测定: 水稻籽粒于 500~550℃ 马福炉中焚烧至质量恒定, 得到总灰分含量, 准确灰分含量为  $\pm 0.01\% \sim 0.03\%$ 。总氮乘以 5.95 得到粗蛋白含量 [13]。采用农业部测定方法 [14] 测定直链淀粉含量。采用索氏提取法 (SEM, BSXT-06, 上海比朗仪器制造有限公司) 测定脂质。氨基酸采用盐酸水解法测定 [15]。

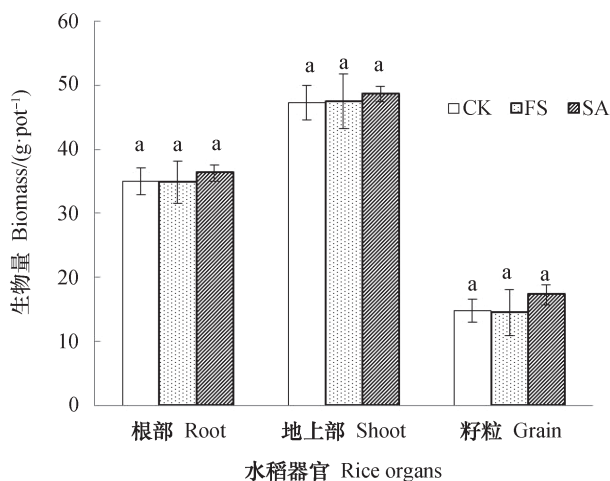
#### 1.4 试验数据处理

使用 Excel 2010 和 SPSS 18.0 软件进行绘图及单因素方差分析处理, 采用最小显著差异法 (LSD) 统计方法进行显著性检验。

## 2 结果

### 2.1 不同施硒方式对水稻生物量的影响

与对照组相比, 叶面喷硒和土壤施硒两种处理方式对于水稻根部、地上部和籽粒各器官的生物量无显著影响 (图1), 说明该试验的土壤施硒和叶面施硒用量对水稻生长未产生不利影响。



注: CK: 对照, FS: 叶面喷硒, SA: 土壤施硒。图中同一部位不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同 Note: CK: Control, FS: Foliar application of Se, SA: Application of Se into soil. Different letters in the same part mean significant difference at  $P < 0.05$ . The same below

图1 不同施硒方式下水稻根部、地上部和籽粒的生物量  
Fig. 1 Biomass of root, shoot and grain of rice relative to Se application method

### 2.2 不同施硒方式对水稻体内各部位硒含量的影响

土壤施硒处理对于提高水稻各部位硒含量的效果最为显著, 根部、地上部和籽粒硒含量均显著高于叶面喷硒处理 (图2)。叶面喷硒和对照组水稻根部硒含量极少, 分别为  $0.09$  和  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 而土壤施硒水稻根部硒含量则高达  $8.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。对于地上部和籽粒而言, 土壤施硒处理硒含量分别为叶面喷硒的 8.9 倍和 5.3 倍, 说明土壤中的硒能够更好地被水稻各个器官吸收利用。

由图3可以看出, 施硒方式的不同, 硒在水稻

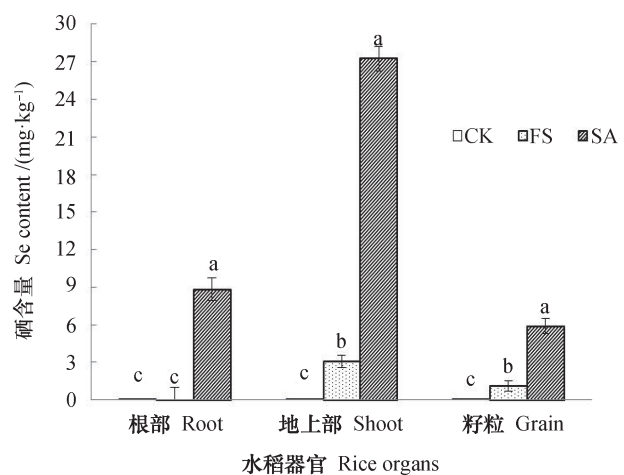
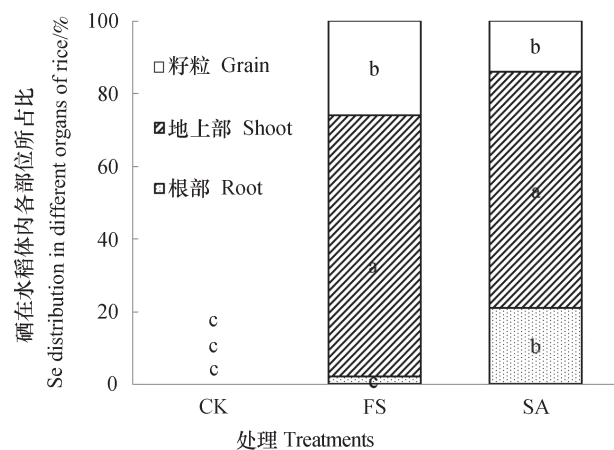


图2 不同施硒方式下水稻根部、地上部和籽粒的硒含量  
Fig. 2 Se content in root, shoot and grain of rice relative to Se application method



注: 图中同一处理不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Note: Different letters in the same part mean significant difference at  $P < 0.05$

图3 不同施硒方式下水稻根部、地上部和籽粒硒所占比例

Fig. 3 Se distribution in root, shoot and grain of rice relative to Se application method

体内各部位所占的比例不同。土壤施硒和叶面喷硒两种不同施硒方式下水稻地上部中的硒分配系数仍然是最大的, 分别为65%和72%, 说明水稻体内的硒主要积累在地上部。土壤施硒处理根部硒分配系数为21%, 相比之下, 叶面喷硒处理根部硒含量所占比例极少, 约为2%; 同时, 叶面喷硒处理水稻籽粒中的硒分配系数为26%, 约为土壤施硒处理的2倍, 这说明叶面喷硒能够更好地将硒转运至籽粒中, 而不需要被根部积累, 阻止硒的转运。综上所述, 两种施硒方式下水稻硒含量差异的关键在于根部吸收土壤中的硒较叶面吸收机制更加高效。

### 2.3 不同施硒方式对水稻籽粒硒形态的影响

两种施硒方式下水稻籽粒各形态的硒含量差

异较大, 土壤施硒处理各形态硒含量均远高于叶面喷硒处理(表1), 这可能与水稻籽粒硒含量高低有关。但两种不同施硒方式水稻籽粒中各形态硒在所有形态硒中所占比例几乎无差异, 说明不同施硒方式对水稻籽粒中硒形态分布无显著影响。两种施硒方式下水稻籽粒中有机硒(SeMet、MeSeCys和SeCys)占有形态硒的92.7%, 无机硒(Se(VI)和Se(IV))在所有形态硒中仅占7.3%(表1), 说明水稻籽粒中的硒主要以有机态的形式存在。其中, SeMet是最主要的存在形式, 占有形态硒的82%; 其次是MeSeCys和SeCys, 分别占6.5%和4.2%, Se(VI)和Se(IV)含量基本一致。说明施入的无机硒在水稻体内不仅会向有机态转化, 也会向不同形态的无机态转化。

表1 不同施硒方式下水稻籽粒硒形态

Table 1 Forms of Se in grain of rice relative to Se application method

处理 Treatments	SeMet /(mg·kg <sup>-1</sup> )	MeSeCys /(mg·kg <sup>-1</sup> )	SeCys /(mg·kg <sup>-1</sup> )	Se(VI) /(mg·kg <sup>-1</sup> )	Se(IV) /(mg·kg <sup>-1</sup> )	Sum /(mg·kg <sup>-1</sup> )
FS	0.533 ± 0.051	0.042 ± 0.002	0.026 ± 0.021	0.022 ± 0.001	0.025 ± 0.004	0.648 ± 0.105
SA	2.925 ± 0.895	0.234 ± 0.123	0.158 ± 0.085	0.127 ± 0.022	0.132 ± 0.058	3.576 ± 1.235

注: SeMet: 硒代蛋氨酸; MeSeCys: 甲基硒代半胱氨酸; SeCys: 硒代半胱氨酸; Se(VI): 硒酸钠; Se(IV): 亚硒酸钠  
Note: SeMet: Selenomethionine; MeSecys: Methylselenocysteine; Secys: Selenocysteine; Se(VI): Selenate; Se(IV): Selenite

### 2.4 不同施硒方式对水稻籽粒必需矿质元素含量的影响

不同施硒方式对水稻籽粒必需矿质元素的含量均有不同程度的影响(表2)。施硒方式对籽粒氮含量无显著影响, 但相比对照组, 籽粒氮含量在叶面喷硒处理和土壤施硒处理下仍然分别减少了2.8%和8.8%; 籽粒磷含量和硼含量也符合这一规律: 施硒处理相比对照组均有所减少, 但土壤施硒处理籽粒磷含量显著低于叶面喷硒和对照组, 后两

者之间无显著差异; 土壤施硒处理籽粒硼含量和叶面喷硒之间无显著差异, 且均显著低于对照组。对于所有金属元素(镁、铁、锰和锌)而言, 土壤施硒处理下籽粒含量均显著高于叶面喷硒和对照组; 叶面喷硒处理籽粒除了锰含量显著高于对照组以外, 其他金属元素含量均与对照组无显著差异。籽粒硫含量和锰含量规律相似, 土壤施硒处理籽粒硫含量显著高于叶面喷硒, 叶面喷硒处理硫含量显著高于对照组。

表2 不同施硒方式下水稻籽粒矿质元素含量

Table 2 Contents of mineral elements in grain of rice relative to Se application method/(g·kg<sup>-1</sup>)

矿质元素 Mineral elements	氮 N	磷 P	镁 Mg	硫 S	铁 Fe	锰 Mn	锌 Zn	硼 B
CK	21.41a	2.52a	0.82b	1.42c	13.51b	17.73c	17.01b	1.74a
FS	21.31a	2.42a	0.81b	1.65b	14.52b	18.15b	17.23b	1.12b
SA	19.52a	2.14b	1.32a	1.80a	15.98a	20.36a	17.66a	0.98b

## 2.5 不同施硒方式对水稻籽粒粗蛋白、淀粉、脂质和灰分的影响

除粗蛋白以外,不同施硒方式对水稻籽粒其他指标(淀粉、脂质和灰分)含量无显著影响(表3)。

水稻施硒能够显著提高籽粒粗蛋白含量,相比对照组,土壤施硒处理和叶面喷硒处理分别提高了8.1%和4.5%,这可能是由于硒能够促进水稻籽粒合成更多的蛋白质。

表3 不同施硒方式下水稻籽粒粗蛋白、淀粉、脂质和灰分情况

Table 3 Nutritional status of grain of rice relative to Se application method/(g·kg<sup>-1</sup>)

营养元素 Nutrition elements	淀粉 Starch	粗蛋白 Crude protein	脂质 Lipid	灰分 Ash
CK	724a	66.3b	9.2a	3.8a
FS	734a	69.3a	9.5a	3.4a
SA	730a	71.7a	9.2a	3.7a

## 2.6 不同施硒方式对水稻籽粒氨基酸含量的影响

在测得的16种氨基酸中,不同施硒处理对其其中11种氨基酸(天冬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸和组氨酸)在水稻籽粒中的含量基本无显著影响(表4)。与对照相比,两种施硒处理下籽粒中丝氨酸和酪氨酸含量均高于对照组,其中酪氨酸含量在土壤施硒处理下显著高于叶面喷硒处理,前者是后者的1.15倍;丝氨酸含量在两

种不同施硒方式之间差异不显著,但叶面喷硒处理下含量略高于土壤施硒处理。籽粒中的半胱氨酸含量在施硒处理下显著降低,其中叶面喷硒处理降低程度更显著。籽粒中甲硫氨酸含量在土壤施硒处理和叶面施硒处理之间无显著差异,相比对照组均显著降低。籽粒中精氨酸含量在土壤施硒处理下显著降低,在叶面施硒处理下显著升高。综上所述,施硒方式的不同对水稻籽粒氨基酸的影响是不同的。

表4 不同施硒方式下水稻籽粒氨基酸含量

Table 4 Contents of amino acids in grain of rice relative to Se application method/(g·100g<sup>-1</sup>)

氨基酸 Amino acid	Ser	Asp	Thr	Glu	Cys	Ala	Pro	Val
CK	0.286b	0.508a	0.223a	1.004a	0.327a	0.171ab	0.249a	0.395a
FS	0.312a	0.501a	0.213b	0.978a	0.301c	0.168b	0.261a	0.385a
SA	0.305a	0.495a	0.225a	0.995a	0.318b	0.182a	0.253a	0.378a
氨基酸 Amino acid	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg
CK	0.150a	0.268ab	0.465a	0.284b	0.327b	0.223a	0.127a	0.455b
FS	0.130b	0.236b	0.477a	0.290b	0.335ab	0.221a	0.123a	0.477a
SA	0.132b	0.312a	0.462a	0.335a	0.345a	0.224a	0.129a	0.432c

注: Ser: 丝氨酸; Asp: 天冬氨酸; Thr: 苏氨酸; Glu: 谷氨酸; Cys: 半胱氨酸; Ala: 丙氨酸; Pro: 脯氨酸; Val: 缬氨酸; Met: 甲硫氨酸; Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Tyr: 酪氨酸; Phe: 苯丙氨酸; Lys: 赖氨酸; His: 组氨酸; Arg: 精氨酸  
Note: Ser: Serine; Asp: Aspartate; Thr: Threonine; Glu: Glutamate; Cys: Cysteine; Ala: Alanine; Pro: Proline; Val: Valine; Met: Methionine; Ile: Isoleucine; Leu: Leucine; Tyr: Tyrosine; Phe: Phenylalanine; Lys: Lysine; His: Histidine; Arg: Arginine

## 3 讨论

### 3.1 不同施硒方式对水稻籽粒硒生物强化效应的影响

本研究的喷硒剂量对水稻的生长不会产生毒

害作用(图1)。两种施硒方式对水稻籽粒生物量均无显著影响,与陈雪等<sup>[16]</sup>的研究结果一致,而Boldrin等<sup>[17]</sup>却认为叶面喷硒能够显著提高水稻产量。可见,施硒对水稻产量提高的效果很大程度上受到实验条件和管理方法的影响。两种施硒方式均

能显著提高水稻地上部及籽粒硒含量（图2），其中，土壤施硒处理下水稻体内总硒及各部位的硒含量均显著高于叶面喷硒，说明土壤中施入的硒能够更好地被水稻吸收利用，而水稻叶片吸收硒的能力较弱。其原因可能有以下两点：一方面，相比前人的叶面喷施亚硒酸盐相关研究<sup>[5]</sup>，本实验中叶面喷施亚硒酸盐所表现的富硒效应较差，可能和硒源形态差异有关。叶面喷施的亚硒酸盐能够较快的被叶片吸收转运，而土壤施加的亚硒酸盐容易被土壤固定，从而降低其生物有效性<sup>[18-19]</sup>；相反，本研究所施用的亚硒酸盐不容易被土壤表面铁铝氧化物固定，具有更强的生物有效性<sup>[20]</sup>。另一方面，叶面喷硒仅在扬花期进行，硒在叶面接触的时间较短，并且叶面部分硒溶液会发生蒸腾损失，也可能部分硒在叶面中同化为有机硒挥发，进而导致叶面硒的籽粒利用率不高；而土壤中的硒与水稻根系接触时间长，吸收更加充分。

从图3可以看出，两种不同施硒方式下，硒在水稻体内各部位的分配系数差异显著。本试验中，叶面喷硒处理水稻籽粒硒的分配系数为土壤施硒处理的2倍，反之，土壤施硒处理水稻根部硒的分配系数较叶面喷硒处理高约12倍。可能是由于土壤中吸收的亚硒酸盐70%以上均积累在地上部（特别是茎叶）<sup>[16]</sup>，从而降低硒的转运效率。因此，相比通过根系吸收转运至籽粒中的过程，水稻硒从叶面直接通过韧皮部转运至水稻籽粒中的过程可能更加高效，能够将进入植物体内的硒更多地分配至籽粒中，避免了在长距离运输过程中的损失。因此，提高叶片吸收硒的效率是水稻硒生物强化的关键，尚需要进一步研究。

土壤施硒和叶面喷硒处理之间籽粒硒含量差异巨大（图2），导致土壤施硒处理籽粒有机硒含量显著高于叶面喷硒（表1），但两种不同施硒方式下水稻籽粒中有机硒含量占总硒比例基本相等且均大于80%（表1），结果与之前的研究<sup>[21-22]</sup>相似，说明叶面喷硒可能会降低水稻籽粒有机硒含量，但不会降低其转化率，有机硒（硒蛋白和含硒多糖）依然是植株体内硒的主要形式<sup>[23]</sup>。一般认为，亚硒酸盐进入植物体之后，首先通过硫酸化酶和还原酶作用转化为亚硒酸盐，此反应主要发生在叶绿体中<sup>[24]</sup>，这也是水稻籽粒中最终检测出少量亚硒酸盐的重要原因之一（表1）。亚硒酸盐还原至硒化

物的过程由亚硫酸盐还原酶介导，仅发生在叶绿体中<sup>[24-25]</sup>；还原型谷胱甘肽（GSH）也能将亚硒酸盐还原，其过程也多发生在叶绿体中<sup>[25-26]</sup>。硒代蛋氨酸（SeCys）向其他硒代氨基酸转化的过程也受到两种叶绿体酶（胱硫醚- $\gamma$ -合成酶C $\gamma$ S和胱硫醚- $\beta$ -裂解酶CbL）的调控<sup>[27]</sup>。综上所述，水稻体内亚硒酸盐转化为有机硒的过程发生在叶片中，证明了施硒方式并不会影响硒在水稻体内的同化代谢过程。

### 3.2 不同施硒方式对水稻营养品质的影响

如表2所示，两种不同施硒方式下水稻籽粒其他矿质元素含量的变化表明了硒和其他元素可能存在某些相互关系。土壤施硒籽粒中的磷（P）含量显著降低，可能是由于亚硒酸盐和磷可能共用磷转运子，两者之间是竞争抑制的关系<sup>[28]</sup>。本试验的硒源为亚硒酸钠，同时，叶面喷硒处理籽粒硒转化量也极少，因此，叶面喷硒对磷的吸收转运无影响；而土壤施硒籽粒中亚硒酸盐转化得多。此外，土壤施入的亚硒酸钠会被部分转化为亚硫酸钠<sup>[29]</sup>，进而降低水稻籽粒磷含量。Feng等<sup>[30]</sup>认为，中国蕨体内镁含量升高是一种应对硒毒害的调节机制，可能与之类似，土壤施硒显著增加了水稻籽粒Mg含量（表2）。施硒均显著提高水稻籽粒S含量（表2），说明硒硫存在协同关系，与前人结果一致<sup>[31]</sup>。水稻籽粒Fe、Mn和Zn含量在土壤施硒处理下均显著提高，与Boldrin等<sup>[17]</sup>的结果一致，说明亚硒酸盐和这些金属元素可能存在协同作用，增强了这些元素的吸收。水稻籽粒B含量在外源硒的加入下显著降低，两者之间可能存在拮抗抑制作用，其中的机制尚有待进一步研究。

粗蛋白、淀粉、脂质和灰分含量是水稻籽粒营养品质的重要指标，对稻米的食用品质具有重要影响。从表3可以看出，除粗蛋白含量显著提高，两种施硒方式对水稻籽粒其他营养指标均无显著影响。周遗品<sup>[32]</sup>研究表明，通过施用适量硒肥可提高稻米中蛋白质和氨基酸含量，可能与硒进入水稻体内形成硒蛋白有关。对16种测得的氨基酸进行比较后发现，两种施硒处理下水稻籽粒中半胱氨酸（Cys）和甲硫氨酸（Met）含量相比对照组均显著降低（表4）。半胱氨酸和甲硫氨酸均是含硫氨基酸，硒进入植物体内沿着硫代谢途径取代了含硫氨基酸中的硫，形成了硒代硫氨基酸（硒代半胱

氨酸、硒甲基硒代半胱氨酸、硒代甲硫氨酸、硒甲基硒代甲硫氨酸等)<sup>[33]</sup>, 从而导致含硫氨基酸含量减少, 其中, 叶面喷硒处理含硫氨基酸较土壤施硒减少得更多, 也从侧面证明了土壤中施入的硒酸盐部分被转化为亚硒酸盐, 但其机理还有待于进一步研究。施硒显著提高了丝氨酸(Ser)和酪氨酸(Tyr)含量(表4)。研究表明, 酪氨酸这类支链氨基酸对植物细胞骨架的结构有重要影响, 维护植物细胞结构形态<sup>[34]</sup>, 说明施硒可能增强水稻抗性。朱晔荣等<sup>[35]</sup>在报告中指出, 内源丝氨酸可能与植物衰老有关。施硒提高了水稻籽粒丝氨酸含量, 是否进一步促进籽粒成熟, 还需要从分子水平进一步探究。土壤施硒下水稻籽粒精氨酸含量显著降低, 而叶面喷硒下精氨酸含量反而显著升高(表4)。由于精氨酸具有贮藏氮元素营养的功能, 其含量变化可能与氮元素的增减有关。

综上所述, 两种不同施硒方式影响水稻营养品质差异是由水稻籽粒富集的硒含量多少决定的。土壤施硒水稻籽粒中的硒含量显著高于叶面施硒, 其有机硒含量、亚硒酸盐含量也因此显著高于叶面施硒。其结果导致了土壤施硒水稻籽粒中有更多的硒和其他元素产生相互(拮抗、协同)作用, 并且进入水稻体内的代谢过程, 进一步影响水稻籽粒的蛋白质和氨基酸水平, 影响其营养品质。

## 4 结 论

在等量施硒条件下, 土壤施硒和叶面喷硒两种方式均能显著提高水稻地上部和籽粒硒含量, 土壤施硒较叶面喷硒更能有效提高籽粒硒含量, 但是硒通过叶片向籽粒转运能力较通过根系至籽粒的转运能力更强。施硒方式的不同对水稻籽粒硒形态无显著影响, 说明施硒方式仅影响水稻体内硒的转运而对其同化代谢无影响。施硒能够显著提高水稻籽粒中镁、硫、铁、锰和锌等部分矿物质营养元素含量, 进而提高水稻营养品质, 以土壤施硒效果更佳。两种施硒处理下籽粒中丝氨酸和酪氨酸含量均显著提高, 其中, 酪氨酸含量在土壤施硒处理下显著高于叶面喷硒处理。综上所述, 土壤施硒酸钠对于水稻籽粒硒生物强化以及营养品质提高效果均强于叶面喷硒。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Cai X L, Wang C, Yu W Q, et al. Selenium exposure and cancer risk: An updated meta-analysis and meta-regression. *Scientific Reports*, 2016 ( 6 ) : Article number 19213
- [ 2 ] Xia Y M, Hill K E, Byrne D W, et al. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81: 829-834
- [ 3 ] Sharma P, Aggarwal P, Kaur A. Biofortification: A new approach to eradicate hidden hunger. *Food Reviews International*, 2017, 33 ( 1 ) : 1-21
- [ 4 ] 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
- [ 5 ] 周鑫斌, 施卫明, 杨林章. 叶面喷硒对水稻籽粒硒富集及分布的影响. *土壤学报*, 2007, 44 ( 1 ) : 73-78  
Zhou X B, Shi W M, Yang L Z. Effect of foliar application of selenite on selenium accumulation and distribution in rice ( In Chinese ). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44 ( 1 ) : 73-78
- [ 6 ] 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 ( 17 ) : 6706-6711
- [ 7 ] Carey A M, Scheckel K G, Lombi E, et al. Grain accumulation of selenium species in rice ( *Oryza sativa* L. ). *Environmental Science and Technology*, 2012, 46 ( 10 ) : 5557-5564
- [ 8 ] 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 ( 1 ) : 92-102
- [ 9 ] El Kassis E, Cathala N, Rouached H, et al. Characterization of a selenate-resistant Arabidopsis mutant. Root growth as a potential target for selenate toxicity. *Plant Physiology*, 2007, 143 ( 3 ) : 1231-1241
- [ 10 ] Fujii R, Deverel S J, Hatfield D B. Distribution of selenium in soils of agricultural fields, western San Joaquin Valley, California. *Soil Science Society of America Journal*, 1988, 52 ( 5 ) : 1274-1283
- [ 11 ] 杨剑虹, 王成林, 代亨林. 土壤农化分析与环境监测.

- 北京: 中国大地出版社, 2008
- Yang J H, Wang C L, Dai H L. Soil chemical analysis and environmental monitoring (In Chinese). Beijing: China Land Press, 2008
- [ 12 ] 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
- [ 13 ] Amagliani L, O' Regan J, Keny A L, et al. Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2017, 59: 18-26
- [ 14 ] 中华人民共和国农业部. NY/T83-1988: 米质测定方法. 北京: 中国标准出版社, 1988
- The Ministry of Agriculture of the People' s Republic of China. NY/T83-1988: The standard for the method of the rice quality determination (In Chinese). Beijing: China Standard Press, 1988
- [ 15 ] 穆乃耀, 唐设, 陈文珠, 等. 氮素粒肥缓解水稻灌浆期高温胁迫的生理机制研究. *南京农业大学学报*, 2017, 40 ( 1 ) : 1-10
- Mu N Y, Tang S, Chen W Z, et al. Research of nitrogen granular fertilizer alleviating high temperature stress at rice grain filling stage and its physiological mechanism (In Chinese). *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2017, 40 ( 1 ) : 1-10
- [ 16 ] 陈雪, 沈方科, 梁欢婷, 等. 外源施硒措施对水稻产量品质及植株硒分布的影响. *南方农业学报*, 2017, 48 ( 1 ) : 46-50
- Chen X, Shen F K, Liang H T, et al. Effects of exogenous selenium application on rice yield, quality, distribution of selenium in seedling (In Chinese). *Journal of Southern Agriculture*, 2017, 48 ( 1 ) : 46-50
- [ 17 ] Boldrin P F, Faquin V, Ramos S J, et al. Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, 31: 238-244
- [ 18 ] Barrow N J, Whelan B R. Testing a mechanistic model. VII. The effects of pH and of electrolyte on the reaction of selenite and selenate with a soil. *Journal of Soil Science*, 1989, 40 ( 1 ) : 17-28
- [ 19 ] Neal R H, Sposito G. Selenate adsorption on alluvial soils. *Soil Science Society of America Journal*, 1989, 53 ( 1 ) : 70-74
- [ 20 ] Rovira M, Gimenez J, Martinez M, et al. Sorption of selenium (IV) and selenium (VI) onto natural iron oxides: goethite and hematite. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 150: 279-284
- [ 21 ] Deng X F, Liu K Z, Li M F, et al. Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. *Field Crop Research*, 2017, 211: 165-171
- [ 22 ] Longchamp M, Castrec-Rouelle M, Biron P, et al. Variations in the accumulation, localization and rate of metabolization of selenium in mature *Zea mays plants* supplied with selenite or selenite. *Food Chemistry*, 2015, 182: 128-135
- [ 23 ] 赵萍, 刘笑笑, 王雅, 等. 富硒小麦提取物中硒含量及其抗氧化特性. *食品科学*, 2014 ( 15 ) : 94-98
- Zhao P, Liu X X, Wang Y, et al. Selenium content and antioxidant activity of selenium-enriched wheat (In Chinese). *Food Science*, 2014 ( 15 ) : 94-98
- [ 24 ] Pilon-Smits E A H, Quinn C F. Selenium metabolism in plants. *Cell Biology of Metals and Nutrients*, 2010, 17: 225-241
- [ 25 ] Terry N, Zayed A M, de Souza M P, et al. Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*, 2000, 51: 401-432
- [ 26 ] Anderson J W. Selenium interactions in sulfur metabolism//Sulfur nutrition and assimilation in higher plants: Regulatory, agricultural and environmental aspects. The Netherlands The Hague: SPB Academic Publishing, 1993: 49-60
- [ 27 ] Sort T G, Ellis D R, Salt D E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 2005, 86 ( 3 ) : 373-389
- [ 28 ] Zhang L H, Hu B, Li W, et al. OsPT2, a phosphate transporter, is involved in the active uptake of selenite in rice. *New Phytologist*, 2014, 201: 1183-1191
- [ 29 ] Das S, Chou M L, Jean J S, et al. Water management impacts on arsenic behavior and rhizosphere bacterial communities and activities in a rice agro-ecosystem. *Science of the Total Environment*, 2015, 542 ( Pt A ) : 642-652
- [ 30 ] Feng R W, Wei C Y, Tu S X, et al. Effects of Se on the uptake of essential elements in *Pteris vittata* L. *Plant and Soil*, 2009, 325: 123-132
- [ 31 ] Barack P, Goldman I L. Antagonistic relationship between selenate and sulfate uptake in onion (*Allium cepa*): Implications for the production of organosulfur and organoselenium compounds in plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45 ( 4 ) : 1290-1294
- [ 32 ] 周遗品. 硒对水稻蛋白质和氨基酸含量影响的初步研究. *石河子农学院学报*, 1995, 31 ( 3 ) : 19-22



- Zhou Y P. The effect of selenium on the contents of proteins and ammonia-acids in rice ( In Chinese ). *Journal of Shihezi Agricultural College*, 1995, 31 ( 3 ) : 19–22
- [ 33 ] Wanger P D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition*, 2002, 21 ( 3 ) : 223–232
- [ 34 ] Alves M, Chicau P, Matias H, et al. Metabolic analysis revealed altered amino acid profiles in *Lupinus albus* organs as a result of boron deficiency. *Physiologia Plantarum*, 2011, 142 ( 3 ) : 224–232
- [ 35 ] 朱晔荣, 陶汉林, 吕宪禹, 等. 细胞分裂素对光呼吸途径的调节及抗衰老分子机制//中国植物生理学会. 中国植物生理学会全国学术年会暨成立40周年庆祝大会学术论文摘要汇编. 杭州: 中国植物生理学会, 2003: 199
- Zhu Y R, Tao H L, Lü X Y, et al. Cytokinin on the photorespiratory pathway regulation and molecular mechanism of anti-aging//The Chinese Society for Plant Physiology. The collection of abstracts of Thesis on the National Academic Annual Conference and 40<sup>th</sup> Anniversary Celebration of The Chinese Society for Plant Physiology ( In Chinese ). Hangzhou: The Chinese Society for Plant Physiology, 2003: 199

## Effects of Different Selenium Application Methods on Se Utilization Efficiency of Rice

ZHANG Chengming ZHOU Xinbin<sup>†</sup>

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

**Abstract** 【 Objective 】 Application of Se fertilizer is an important agronomic rice Se biofortification measure, and is usually done in two ways, i.e. foliar spray (FS) and application in soil (SA). However, as affected by the way of Se application, Se absorption and translocation of Se into rice grain varies in mechanism. Therefore, it is of great practical significance to study the differences between the two Se application methods in effect on Se absorption and translocation and nutritional quality of rice. 【 Method 】 A pot experiment was conducted to study mechanisms of FS and SA affecting Se biofortification and nutritional quality of rice grains. 【 Result 】 Results show that the two methods did not vary much in effect on rice growth. The same in Se application rate, the two methods both increased Se content in rice shoot and grain significantly. However, the content of Se in rice shoot and grain was 8.9 and 5.3 times as high in SA as in FS, respectively, which indicates that SA could more effectively increase Se content in rice grain than FS. But the distribution coefficient of Se in grain was 2 times higher in FS than in SA, which demonstrates that the mechanism of transporting Se from leaf into grain was more effective than that from root to grain. However, no significant effect on Se form in rice grains relative to Se application method, which indicates that Se application methods affected only transport, rather than assimilation of Se in rice. SA could significantly increase the contents of magnesium (Mg), sulfur (S), iron (Fe), manganese (Mn) and zinc (Zn) in rice grain. Compared with the control (No Se applied), SA and FS was 8% and 4.5% higher in content of crude protein in rice grain, respectively, which shows that Se can improve nutritional quality of rice, and the effect of SA was more significant than that of FS. Meanwhile, Se application can also increase the content of serine (Ser) and tyrosine (Tyr) as compared with CK, and, the effect on Tyr was more significant in SA than that in FS or 1.15 times as higher in the former than in the latter. 【 Conclusion 】 Therefore, considering cost-effectiveness, SA is better than FS in applying selenate, for it improves more significantly Se content and nutritional quality of rice grains.

**Key words** Rice; Soil selenium application into soil; Foliar selenium application; Biofortification; Nutritional quality

( 责任编辑: 陈荣府 )