

重金属复合处理对小麦锌铜镍镉积累和分布的影响

王云霞¹, 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:为增加粮食可食用部分有益元素的浓度,同时减少有毒重金属元素的含量,需要更好地了解元素在植株和籽粒内的运输和分布。在温室盆栽条件下,以春小麦为供试材料,设置对照(不添加重金属)和重金属复合处理(同时添加铜、锌、镍、镉,以不影响小麦生长为前提),研究锌(Zn)、铜(Cu)、镍(Ni)、镉(Cd)在成熟植株和籽粒不同部位的分布特点。结果表明,重金属复合处理对小麦成熟期籽粒和秸秆产量、收获指数以及粒重均无显著影响,但使小麦各器官重金属浓度均显著增加,增幅因不同器官和不同元素而异。籽粒中 Zn、Cu、Ni 和 Cd 浓度分别增加 1.8、0.5、48.1 倍和 45.3 倍。重金属复合处理还显著改变了 Zn 和 Ni 在地上部各器官中的分配模式,对照小麦吸收的 Zn 更易向生殖器官中转运,处理植株则更多地滞留在营养器官中,而 Ni 呈相反的趋势。激光剥蚀电感耦合等离子体质谱仪(LA-ICP-MS)对籽粒糊粉层和胚乳的定量分析表明,重金属复合处理使糊粉层 Zn 和 Cu 浓度仅增加了 78%和 86%,而糊粉层 Ni 和 Cd 浓度分别增加了 30 倍和 121 倍。重金属复合处理使胚乳 Zn 和 Cu 浓度分别增加了 49%和 48%,使 Ni 和 Cd 浓度均超出小麦标准中 Ni 和 Cd 的最大允许浓度(对照籽粒胚乳中没有检测到 Ni 和 Cd)。以上结果表明,在小麦生物强化实践中,在增加有益营养元素(如 Cu 和 Zn)的同时亦存在有毒重金属(如 Ni 和 Cd)超标的巨大风险。

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

中图分类号: X503.231 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2011)11-2145-07

The Accumulation Pattern of Zn, Cu, Ni, Cd in Wheat Grown in Heavy-metal Enriched Substrate

WANG Yun-xia¹, YANG Lian-xin^{1*}, 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: The better understanding of mineral elements accumulation in plants and distribution in grains is the prerequisite for increasing the concentration of beneficial elements and minimizing the content of toxic heavy metals in edible parts of cereal crops. The effect of elevated concentrations of Zn, Cu, Ni and Cd in a peat substrate on wheat yields and the metal contents of the plants were studied in a pot experiment. The distribution and possible co-localization of the beneficial micronutrients and toxic heavy metals in the wheat grain were examined by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry(LA-ICP-MS). The metals were added jointly to the peat substrate as sulfates. Combined heavy metals added to peat substrate did not affect grain yield, single grain dry weight, straw dry weight and harvest index of wheat at maturity. However, great changes on metals distribution in plants or grains as affected by heavy metal treatments were observed. Zn, Cu, Ni and Cd concentrations in the grain, chaff, leaf, leaf sheath and stem were significantly enhanced by heavy metal addition but the enhancement varied with different elements or plant organs. Elevated heavy metal supply increased the concentrations of Zn, Cu, Ni and Cd in wheat grains by factors of 1.8, 0.5, 48.1 and 45.3, respectively. The distribution pattern of Cu and Cd in different organs of wheat were not affected by heavy metal treatments, but the distribution pattern of Zn and Ni were significantly changed by heavy metal treatments. High percentages of Zn were translocated in grains at normal Zn supply conditions, but more Zn was retained in vegetative organs by heavy metal treatments. The changes in distribution pattern of Ni showed different trends compared to Zn. LA-ICP-MS analysis of wheat grains revealed that Cu, Zn, Ni, and Cd were distributed in a similar way with the high concentrations in the aleurone layer and low concentrations in the starchy endosperm.

收稿日期: 2011-05-14

基金项目: 国家自然科学基金(31101101, 31171460), 德国研究基金(DFG, H0931/23-1), 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 王云霞(1974—), 女, 江苏盐城人, 副研究员, 主要从事作物逆境生理和全球变化生物学方面的研究。E-mail: yxwang@yzu.edu.cn

* 通讯作者: 杨连新 E-mail: lxyang@yzu.edu.cn

Elevated heavy metal supply increased the concentrations of beneficial elements Zn and Cu by 78% and 86%, toxic heavy metals Ni and Cd by 30 and 121 folds in aleurone layer, respectively. Elevated heavy metal supply increased the concentrations of Zn and Cu in starchy endosperm by 49% and 48%, respectively. The concentrations of Ni and Cd in starchy endosperm were not detectable under control conditions, but elevated heavy metal supply increased Ni and Cd concentrations to levels far over the maximum permitted levels set by food standards for heavy metals. These results indicated that heavy metals could accumulate in plants to levels that did not impair plant growth but might be detrimental to human health when the plant was consumed. In addition, the co-localization of beneficial micronutrients Zn, Cu and toxic heavy metals Ni, Cd in the wheat grain might imply a possible risk of the micronutrient bio-fortification strategy.

Keywords laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry(LA-ICP-MS); wheat; heavy metals; co-localization

微量营养元素缺乏对全世界超过 30 亿人口特别是发展中国家人口的健康构成威胁^[1-2]。微量元素缺乏通常与小麦、水稻和玉米等主要粮食作物籽粒中微量元素浓度较低有关^[3]。因此,增加谷类作物籽粒的微量元素含量(生物强化, biofortification)亦就成为研究的热点领域,受到越来越多的关注^[2,4-8]。但迄今为止,生物强化研究尚未取得突破性进展,主要制约因素是我们对控制营养元素向籽粒内运输的相关生理过程及其分子机制缺乏足够的了解^[7,9]。

锌和铜是人类和动植物必需的微量营养元素,当食物链中的微量元素含量低于一定水平时,强化食品对人类健康有益,但是当锌和铜摄入过量时,它们又成了对人体有害的元素。镍和镉是有毒重金属,许多国家食品安全标准中都对镍镉在食品中的最高允许浓度作了规定。由于植物体内锌铜等微量营养元素的转运子也会协助有毒重金属元素(如镉)的吸收^[10],加上金属元素的化学性质存在相似性,它们在籽粒里很可能存在共分布(colocalization)的特征。因此,通过生物强化手段提高小麦籽粒微量元素含量的同时,亦有可能同时增加了有毒重金属元素的含量,从而可能导致粮食中有毒重金属超标。例如,在生产上增施锌肥被认为是提高籽粒锌含量最直接的方法^[1,11],但锌肥中通常含有与锌化学性质相似的杂质元素镉,两者被植物吸收和在体内的转运途径相似^[12],长期施用可能会造成食物链重金属污染。因此,研究谷粒中是否存在这种共分布及其调控非常重要。

最新应用于植物组织元素定位分析的激光剥蚀电感耦合等离子体质谱仪(Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, LA-ICP-MS)在精确定量上取得了重要突破。这项技术已在地球科学上得到大量的应用,在作物科学上的运用才刚刚开始^[8,13-17],目前只有相当有限的文献涉及植物种子中元素的空间分布^[8,16-17]。Wirth等^[16]在国际上首次利用 LA-ICP-MS 技术分析了水稻籽粒不同部位元素的浓

度,结果证实转基因水稻籽粒中 Fe 含量高于野生型水稻籽粒。采用这一技术,笔者等^[17]最新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($432 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)是胚乳部位($14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的 31 倍,这是国内首篇关于 LA-ICP-MS 法测定谷粒微量元素空间分布的报道。本研究设置重金属复合处理(同时添加锌铜镍镉,以不影响小麦生长为前提),采用 LA-ICP-MS 技术结合酸消解溶液雾化进样 ICP-MS 法测定小麦植株和籽粒不同部位的元素浓度,评估微量元素锌铜与有毒重金属镍镉在小麦籽粒不同部位共分布的风险,旨在为建立主要粮食生物强化的安全途径提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料培育与处理

春小麦 *Segetoria* 的种子播种在装满基质(4 L)的 Micherlich 盆中,每盆 15 株,植株生长在玻璃温室中。在播种前 5 周对生长基质进行重金属处理, ZnSO_4 、 CuSO_4 、 Ni_2SO_4 和 CdSO_4 溶解于适量的去离子水中,以一定比例(Zn 150、Cu 150、Ni 100、Cd $5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 基质鲜重)与基质混匀。对照处理的基质与相同量的去离子水混匀。对照和处理的盆静置于温室中 5 周使整个体系达到平衡。氮和钾肥在分蘖期和拔节期分两次施用,每期均为 $0.4 \text{ g} \cdot \text{盆}^{-1}$ 。磷肥施用量为 $0.2 \text{ g} \cdot \text{盆}^{-1}$,与适量微肥在分蘖中期一次性施用。

1.2 小麦成熟期主要农艺性状、植株不同器官干重和 Zn、Cu、Ni、Cd 浓度的测定

于小麦成熟期收获地上部分,按麦穗、叶片、叶鞘和茎秆分开装袋, 70°C 烘干至恒重后分器官称重,计算收获指数。对烘干的麦穗进行手工脱粒,分籽粒和谷壳样品分别称重。部分籽粒用于 LA-ICP-MS 测定籽粒元素的共分布,其余籽粒及植株其他部分样品经过粉样后,取适量样品置于马弗炉,于 480°C 干消化 16 h,灰化后溶解在 1 mL 1:3($\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}$)的超纯

HNO₃ 中,用 9 mL 去离子水稀释后过滤,然后用 ICP-MS(7500cx 2008, Agilent)测定滤液中 Zn、Cu、Ni、Cd 各种元素浓度。每个样品 4 次重复。

1.3 LA-ICP-MS 测定籽粒胚乳和糊粉层 Zn、Cu、Ni、Cd 的浓度

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

(2)校正标准样品制作:10 g 小麦面粉与 10 mL 不同浓度的混合重金属标准液(由 1 000 mg·L⁻¹ ICP SPEX 标准液稀释而成)混合,60 °C 下烘干 48 h。添加重金属的面粉样用振动磨粉机(Puverisette, Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Germany)充分混匀,取 50 mg 在真空压机上以 2 t 的压力加压 5 min 压成直径为 5 mm 的薄片标准样。小麦种子横切片和标准样品同时置于激光剥蚀池(Supercell, New Wave Research, Fremont, CA, USA)内,在同一实验条件下进行测定。

(3)LA-ICP-MS 工作参数:UP193 激光系统(UP193 Solid State Laser, UP193 SS)利用一种基于 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。激光侵蚀的样品通过氦气传输到 ICP-MS 中进行测定。ICP-MS 型号 7500cx(Agilent Technology, Santa Clara, California, USA),主要参数如下: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 1 300 W;激光剥蚀系统为 UP193SS, 193 nm(New Wave Research, Fremont, CA);激光脉冲 10 Hz;扫描(取样)直径 50 μm;扫描速度 10 μm·s⁻¹;样品表面能量密度 2 J·cm⁻²。测定元素为 Ni、Cu、Zn、Cd 和 ¹³C,其中 ¹³C 作为内标来标准化激光剥蚀进样量。

(4)ICP-MS 测定小麦种子和标准样的重金属浓度:称取标准样或磨样后的小麦种子样品 0.1 g,在马弗炉 480 °C 干消化 16 h,灰化后溶解在 1 mL 1:3 (HNO₃:H₂O)的超纯 HNO₃ 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。每个样品 4 次重复。

2 结果与分析

2.1 成熟期小麦主要农艺性状

重金属复合处理对成熟期小麦主要农艺性状的影响列于表 1。重金属复合处理使小麦每盆生物产量略有下降,但没有达显著水平。生物产量为籽粒和秸秆产量的总和,重金属复合处理使籽粒和秸秆产量略有下降但均未达显著水平。相似地,植株单个籽粒重量对重金属复合处理的响应亦未达显著水平。收获指数为籽粒产量占总生物量的比例,反映光合产物向籽粒的分配效率。本研究表明对照和处理的收获指数分别为 0.37±0.02 和 0.38±0.05,重金属处理后使收获指数略有增加,但未达显著水平。本文重金属复合处理是在前期预备试验基础上进行设置,对小麦生长和产量无显著影响,切合试验的预期设想,即研究对植株生长无可见伤害的重金属复合污染是否影响粮食的营养品质。

2.2 成熟期植株不同部位元素浓度

重金属复合处理对成熟期小麦植株各部位锌(Zn)浓度的影响示于图 1a。由图可知:与对照相比,重金属复合处理使小麦叶片、叶鞘、茎秆、谷壳和籽粒中的锌浓度分别增加了 20、32、8、14 倍和 3 倍,以叶片组织(包括叶片和叶鞘)增幅最大,籽粒增幅最小;对照小麦各器官 Zn 浓度从大到小依次为籽粒(50 mg·kg⁻¹)>茎秆>叶片>谷壳和叶鞘(11 mg·kg⁻¹),而处理小麦各器官 Zn 浓度依次为叶片(397 mg·kg⁻¹)>叶鞘>茎秆>谷壳>籽粒(141 mg·kg⁻¹)。说明正常条件下(对照)锌向生殖器官(籽粒)转运的效率较高,而处理小麦中的锌主要滞留在营养器官(叶片、叶鞘和茎秆)中。

重金属复合处理对成熟期小麦植株各部位铜(Cu)浓度的影响示于图 1b。由图可知:与对照相比,处理小麦叶片、叶鞘、茎秆、谷壳和籽粒中的 Cu 浓度分别增加 0.99、0.10、1.35、0.89 倍和 0.55 倍,其中对茎鞘的影响未达显著水平,同其他元素相比(图 1a, c, d),小麦各器官 Cu 浓度对复合处理的响应最小。例如处理小麦籽粒中 Cu、Zn、Cd 和 Ni 的浓度分别比对照籽粒增加 0.6、1.8、46.3 倍和 48.1 倍,无论对照和处

表 1 重金属复合处理对成熟期小麦主要农艺性状的影响

Table 1 Effect of combined heavy metal treatment on agrinomial traits of wheat at maturity

处理	生物产量/g·盆 ⁻¹	籽粒产量/g·盆 ⁻¹	秸秆产量/g·盆 ⁻¹	收获指数	粒重/mg
对照	91.8±3.3	34.2±2.0	57.7±1.7	0.37±0.02	45.6±0.6
重金属复合处理	88.8±1.9	33.4±2.4	55.4±2.4	0.38±0.05	43.7±0.4

理小麦,不同器官中的铜浓度比较接近,其中对照小麦各器官Cu浓度的变幅为 $3\sim 6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,处理小麦各器官的Cu浓度变幅为 $6\sim 9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,均低于国家粮食标准中Cu最大允许量 $10.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的卫生标准。

重金属复合处理对小麦植株各部位镍(Ni)浓度的影响示于图1c。由图可知:与对照相比,处理小麦叶片、叶鞘、茎秆、谷壳和籽粒中的Ni浓度分别增加了10、3、13、11倍和49倍,籽粒部位的增幅明显大于植株的其他部位;对照小麦体内各器官Ni浓度从大到小依次为叶鞘($2.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)>叶片>谷壳>茎秆和籽粒($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),而处理小麦各器官Ni浓度依次为籽粒($23.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)>叶片>谷壳>叶鞘>茎秆($6.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。说明对照小麦营养器官是镍积累的主要部位,而在重金属复合处理下,Ni较易向籽粒中迁移和转运,使籽粒中Ni浓度大幅增加。

图1d为小麦各器官镉(Cd)浓度对重金属复合处理的响应。由图可知:与对照相比,处理小麦叶片、叶鞘、茎秆、谷壳和籽粒中的Cd浓度分别增加了58、42、22、72倍和46倍,重金属复合处理对小麦植株各器官Cd浓度的影响大于对应器官其他元素浓度的

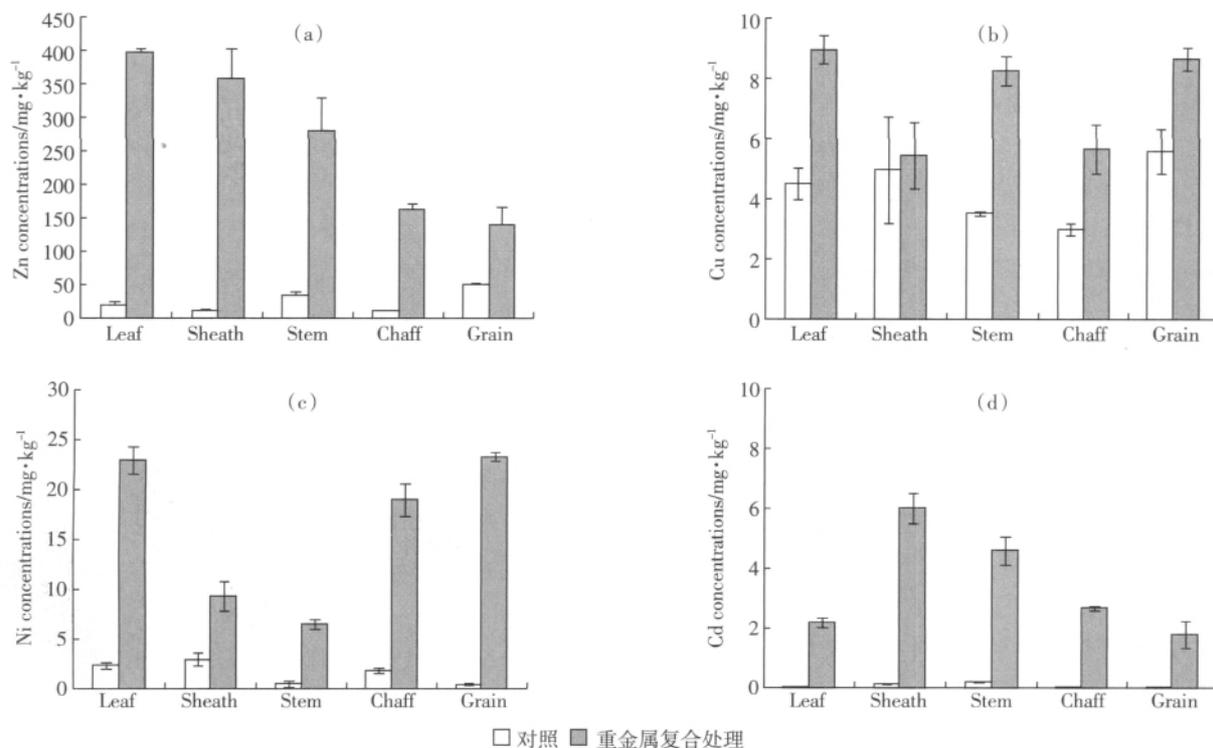
影响,无论是对照和处理小麦,植株各器官Cd浓度均以茎秆或叶鞘最大,明显大于其他器官。说明无论对照还是重金属处理条件下茎秆组织均为镉积累的主要部位。

2.3 成熟小麦籽粒胚乳和糊粉层的元素浓度

图2为LA-ICP-MS应用软件的主窗口屏幕截图,示测定小麦籽粒的胚乳(图a)和糊粉层(图b)部位。插图小麦籽粒横切面图像,两条红色线条的交叉点指示激光取样的部位。激光沿着操作者指定位置(图中黄色圆柱形所示)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)。运用同样的方法测定自制标准样各元素的信号值,结合标准样各元素浓度计算样品的元素浓度。

图3所示为LA-ICP-MS测定的小麦籽粒不同部位元素浓度,其中每一样品数值为 $500\sim 700\text{ }\mu\text{m}$ 扫描(测定)路径上的200~280个连续测定值的均值(即每 $2.5\text{ }\mu\text{m}$ 获得1个数据)。由图可知:

(1)对照小麦籽粒胚乳中均没有检测到Ni和Cd,而处理小麦胚乳Ni和Cd浓度分别为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和



图中所示为4次独立取样的平均值及标准误

White and gray columns indicate control and heavy metal treatments. Bars show standard error, $n=4$.

图1 重金属复合处理对成熟小麦各部位Zn(a)、Cu(b)、Ni(c)和Cd(d)浓度的影响

Figure 1 Effect of combined heavy metal treatment on Zn (a), Cu (b), Ni (c), Cd (d) concentrations of different organs of wheat at maturity

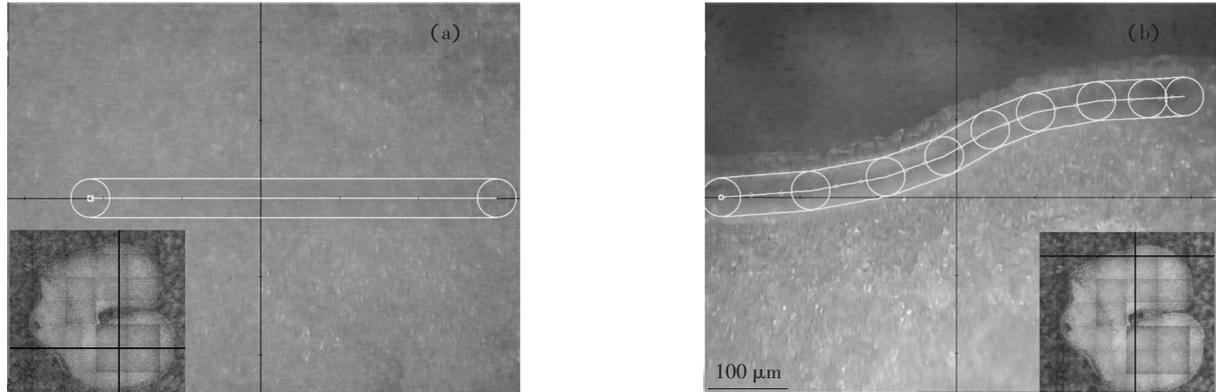
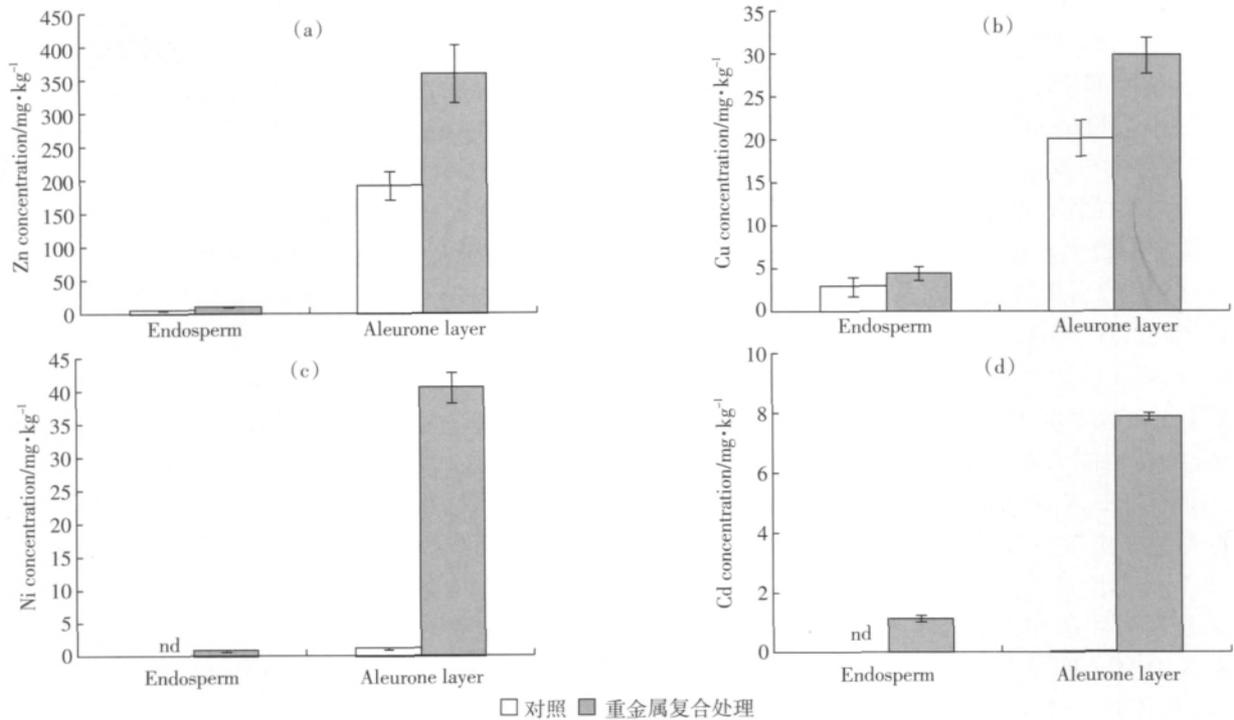


图2 LA-ICP-MS测定小麦种子中胚乳(a)和糊粉层(b)示意图

Figure 2 The localization of endosperm(a) and aleurone layer(d) by LA-ICP-MS



图中所示为4次独立取样的平均值及标准误;nd表示元素没有检测到。

Bars show standard error, n=4. nd, not detectable.

图3 重金属复合处理对成熟小麦籽粒胚乳和糊粉层 Zn(a)、Cu(b)、Ni(c)和 Cd(d)浓度的影响

Figure 3 Effect of combined heavy metal treatment on Zn (a), Cu (b), Ni (c), Cd (d) concentrations of endosperm and aleurone layer of wheat seeds

1.2 mg·kg⁻¹。对糊粉层而言,重金属复合处理使其 Ni 和 Cd 浓度分别由 1.3、0.1 mg·kg⁻¹ 增加到 40.5、7.9 mg·kg⁻¹,增幅分别达 30 倍和 121 倍。

(2)重金属复合处理使胚乳 Zn 和 Cu 浓度由 6.3、3.0 mg·kg⁻¹ 分别增加到 11.3、4.5 mg·kg⁻¹,增幅分别达 49%和 48%。对糊粉层而言,处理植株的糊粉层 Zn 和 Cu 浓度由 192.4、20.1 mg·kg⁻¹ 分别增加到 358.5、29.8 mg·kg⁻¹,增幅分别达 78%和 86%。

(3)小麦成熟种子糊粉层中的元素浓度远大于胚乳中的元素浓度。对照条件下,籽粒糊粉层 Zn 和 Cu 的浓度分别是胚乳 Zn 和 Cu 浓度的 30 倍和 7 倍,而对处理小麦而言,糊粉层 Zn、Cu、Ni 和 Cd 的浓度分别是胚乳部位对应元素浓度的 32、7、41 倍和 7 倍。

由此可见,重金属复合处理使小麦成熟种子各部位锌铜镍镉均明显增加(共分布)。其中糊粉层部位的增幅大于胚乳部位的增幅,重金属镍镉的增幅远大于

锌铜的增幅,籽粒糊粉层中各元素的浓度均明显大于胚乳中的元素浓度,最大相差41倍(Ni)。

3 讨论

在前期研究的基础上,本研究设置了不影响小麦生长和产量的Zn、Cu、Ni和Cd 4种元素的重金属复合处理。成熟期测定表明,重金属复合处理对小麦籽粒和秸秆的产量、收获指数以及粒重均无显著影响(表1),实现了试验预期设定的目标。

尽管重金属复合处理对小麦生长没有影响,但使小麦各部位重金属浓度显著增加,增幅因不同器官和不同元素而异(图1)。对Ni而言,小麦籽粒的增幅(49倍)明显大于叶片、叶鞘、茎秆、谷壳部位的增幅(3~10倍);对Zn而言,叶鞘部位的增幅(20~32倍)明显大于其他部位(3~14倍);对Cd而言,叶片组织和籽粒部位的增幅(41~58倍)明显大于茎秆部位的增幅(22倍)。与其他元素不同,处理对植株各部位Cu浓度的影响最小(<1.5倍)。由于不同器官元素浓度的响应存在较大差异(铜除外),因此重金属复合处理亦显著改变了元素在地上部各器官中的分配模式,特别是Zn和Ni。对Zn来说,对照小麦叶片、叶鞘、茎秆、谷壳和籽粒的浓度比例为1.8:1.0:3.0:1.0:4.6,而处理小麦为2.8:2.6:2.0:1.2:1.0,说明低锌条件下小麦籽粒对Zn的富集能力较强,而高锌条件下Zn更易滞留在营养器官中;对Ni而言,对照小麦叶片、叶鞘、茎秆、谷壳和籽粒Ni浓度的比例为4.9:6.2:1.1:3.8:1.0,而处理小麦对应部位Ni浓度的比例为3.5:1.4:1.0:2.9:3.6,说明对照条件下小麦营养器官特别是叶片组织富集Ni的能力明显大于籽粒,而重金属胁迫条件下,Ni向籽粒转运的能力明显增强,与Zn的趋势完全相反。这种分配模式的差异是否与元素之间复杂的交互作用有关值得深入研究^[18-19]。

相对其他器官,与人类健康直接相关的谷粒元素浓度更受关注。本研究表明,重金属复合处理后整粒种子Zn、Cu、Ni和Cd浓度分别由对照的50.1、5.6、0.5 mg·kg⁻¹和0.4 mg·kg⁻¹增加到140.7、8.6、23.2 mg·kg⁻¹和1.8 mg·kg⁻¹(图1),有毒元素Ni和Cd浓度的增幅明显大于Zn、Cu浓度的增幅,且均已明显超过食品标准中Ni和Cd的最大允许值^[20]。轻度重金属胁迫条件下,作物生长未受影响但籽粒元素含量明显超标在水稻上亦有报道^[21-22]。以上结果说明当生长基质中重金属可给性不受限制时(如本试验),作物籽粒有积累高浓度重金属的能力。Waters等^[23]发现全生育期

营养液培养的小麦籽粒Zn浓度是正常大田小麦籽粒的5倍,认为这可能是水培条件下植株得到持续的Zn营养所致。

与人类营养和食品安全直接相关的是胚乳中的元素浓度,本研究利用激光剥蚀电感耦合等离子体质谱仪(LA-ICP-MS)重点对人类食用部位的胚乳及其四周的糊粉层元素含量进行了定量分析,结果发现糊粉层中元素的浓度远大于胚乳中的元素浓度,其中Zn浓度两部位相差30倍,而Ni的浓度相差更是高达40倍(图3),这与笔者之前锌的研究结果一致^[18,17]。籽粒糊粉层部位具有较高元素含量可能与该部位肌醇六磷酸和蛋白质的浓度较高有关^[22]。元素主要累积在胚乳四周的糊粉层,这些部位在谷粒加工过程中大部分被去除,导致人类直接食用的面粉(胚乳部分)的有益和有毒元素含量均明显下降,很明显这给微量元素的生物强化带来了挑战,但同时亦减少了有毒重金属进入食用面粉的风险。

本试验LA-ICP-MS测定另一个重要的发现是,重金属复合处理使小麦胚乳和糊粉层的有益元素(Zn和Cu)浓度只增加了50%~80%,但使对应部位有毒元素(Ni和Cd)浓度剧增:处理小麦的胚乳Ni和Cd的浓度均明显超标(对照胚乳没有检测到Ni和Cd的含量),糊粉层Ni和Cd浓度的增幅高达30倍和121倍,这一结果是否与元素之间的拮抗作用有关尚需探明^[18],但可以肯定的是在小麦生物强化实践中,在增加有益营养元素的同时亦可能存在有毒重金属超标的风险,而且这种风险很大。笔者最新LA-ICP-MS分析表明,不同元素(磷、锰、铜和锌)在小麦籽粒各部位(种皮、糊粉层、胚乳、糊粉层和腹沟维管组织)的浓度变化确实存在明显的共分布特征^[24]。

4 结论

尽管重金属复合处理下小麦产量没有明显下降,但籽粒特别是人类食用部位胚乳中的有益和有毒重金属元素含量均已明显增加,且后者的增幅更大,超出了小麦国家标准中重金属的最大允许浓度。说明在小麦生物强化实践中,在增加有益营养元素的同时亦存在有毒重金属超标的巨大风险。因此,有必要深入开展微量营养元素与有毒重金属元素在谷粒不同部位的关联程度及其调控机理的研究。

参考文献:

[1] Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic

- biofortification[J]. *Plant and Soil*, 2008, 302 :1-17.
- [2] White P J, Broadley M R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets :Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine[J]. *New Phytologist*, 2009, 182 :49-84.
- [3] Graham R D, Welch R M, Saunders D A, et al. Nutritious subsistence food systems[J]. *Advances in Agronomy*, 2007, 92 :1-74.
- [4] Nestel P, Bouis H E, Meenakshi J V, et al. Biofortification of staple food crops[J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136 :1064-1067.
- [5] Allen L, de Benoist B, Dary O, Hurrell R(Eds). WHO/FAO Guidelines on food fortification with micronutrients[M]. 2006.
- [6] Mayer J E, Pfeiffer W H, Beyer P. Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, 11 :166-170.
- [7] Waters B M, Sankaran R P. Moving micronutrients from the soil to the seeds :Genes and physiological processes from a biofortification perspective[J]. *Plant Science*, 2011, 180 :562-574.
- [8] 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[J]. *New Phytologist*, 2011, 189 :428-437.
- [9] Poletti S, Gruissem W, Sautter C. The nutritional fortification of cereals [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2004, 15 :162-165.
- [10] Brinch-Pedersen H, Borg S, Tauris B, et al. Molecular genetic approaches to increasing mineral availability and vitamin content of cereals[J]. *Journal of Cereal Science*, 2007, 46 :308-326.
- [11] Cakmak I, Pfeiffer W H, McClafferty B. Biofortification of durum wheat with zinc and iron[J]. *Cereal Chemistry*, 2010, 87 :10-20.
- [12] Harris N S, Taylor G J. Remobilization of cadmium in maturing shoots of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52 :1473-1481.
- [13] Becker J S, Dietrich R C, Matusch A, et al. Quantitative images of metals in plant tissues measured by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. *Spectrochim Acta B*, 2008, 63 :1248-1252.
- [14] Wu B, Zoriy M, Chen Y X, et al. Imaging of nutrient elements in the leaves of *Elsholtzia splendens* by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)[J]. *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[J]. *Planta*, 2009, 229 :945-954.
- [16] Wirth J, Poletti S, Aeschlimann B, et al. Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin[J]. *Plant Biotechnol J*, 2009, 7 :631-644.
- [17] 王云霞, 杨连新, Horst W J. 激光剥蚀电感耦合等离子体质谱仪(LA-ICP-MS)定量分析小麦籽粒锌元素的空间分布[J]. *南京农业大学学报*, 2011, 34(2) :18-22.
- WANG Yun-xia, YANG Lian-xin, Horst W J. Quantification and spatial distribution of zinc in wheat grains by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2011, 34(2) :18-22.
- [18] 王吉秀, 祖艳群, 李元. 镉锌交互作用及生态学效应研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(增刊) :256-260.
- WANG Ji-xiu, ZU Yan-qun, LI Yuan. The interaction of cadmium and zinc and its ecological effects[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(Suppl) :256-260.
- [19] 徐加宽, 杨连新, 王余龙, 等. 水稻对有毒重金属元素的吸收与分配机理的研究进展[J]. *植物学通报*, 2005, 22(5) :614-622.
- XU Jia-kuan, YANG Lian-xin, WANG Yu-long, et al. Advances in the study uptake and accumulation of heavy metal in rice and its mechanisms[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2005, 22(5) :614-622.
- [20] Huang M, Zhou S, Sun B, et al. Heavy metals in wheat grain :Assessment of potential health risk for inhabitants in Kunshan, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 405 :54-61.
- [21] Liu J G, Li K Q, Xu J K, et al. Interaction of Cd and five mineral nutrients for uptake and accumulation in different rice cultivars and genotypes[J]. *Field Crops Research*, 2003, 83 :271-281.
- [22] 吴启堂, 陈卢, 王广寿. 水稻不同品种对 Cd 吸收累积的差异和机理研究[J]. *生态学报*, 1999, 19(1) :104-107.
- WU Qi-tang, CHEN Lu, WANG Guang-shou. Differences on Cd uptake and accumulation among rice cultivars and its mechanism[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, 19(1) :104-107.
- [23] Waters B M, Uauy C, Dubcovsky J, et al. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60 :4263-4274.
- [24] 王云霞, 杨连新, Horst W J. 用激光剥蚀电感耦合等离子体质谱(LA-ICP-MS)研究小麦籽粒元素的共分布[J]. *作物学报*, 2011(已录用)
- WANG Yun-xia, YANG Lian-xin, Horst W J. Element colocalization in wheat seed revealed by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry(LA-ICP-MS)[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011 (Accepted).